

Entwicklung des neuronalen Antwortverhaltens im Hippocampus der  
Ratte und den daraus resultierenden BOLD-fMRT Antworten  
während wiederholter elektrischer Stimulation des *Tractus perforans*

Der Fakultät für Naturwissenschaften  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg  
zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor rerum naturalium**  
**(Dr. rer. nat.)**

von Dipl.-Biol. Stephanie Riemann  
geb. am 27.10.1984 in Stuttgart

Gutachter: Prof. Dr. Frank Angenstein

Prof. Dr. Detlef Balschun

eingereicht am: 24.10.2017

verteidigt am: 16.04.2018

## **Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei allen, die mich während meiner Promotionszeit unterstützt haben bedanken.

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Frank Angenstein bedanken. Er hat diese Arbeit mit viel Geduld betreut und mich darin unterstützt Neues auszuprobieren. Bedanken möchte ich mich auch für die vielen wissenschaftlichen Diskussionen und die Konferenzteilnahmen, die mir ermöglicht wurden.

Bei Karla Krautwald möchte ich mich für die Einführung in die *in vivo* Präparation, organisatorische Unterstützung und die gemeinsam durchgeführten MRT Messungen bedanken.

Meiner (Büro-)Kollegin Dr. Cornelia Helbing möchte ich ebenfalls meinen Dank aussprechen für das freundschaftliche Verhältnis, die wissenschaftliche Diskussion und die Beantwortung von so mancher Frage.

Bei Sandra Dittmann möchte ich mich für die schnelle und kompetente Hilfe bei organisatorischen Fragen bedanken.

Dr. Nicole Angenstein und Antje Schasse danke ich für die Beantwortung von Fragen zur statistischen Auswertung der Daten.

Bei den Mitarbeitern des Speziallabors für Nichtinvasive Bildgebung des Leibniz-Instituts für Neurobiologie möchte ich mich dafür bedanken, dass ich als Gast und Angestellte des DZNEs freundlich aufgenommen wurde und an Aktivitäten des Speziallabors wie Geburtstags- und Weihnachtsfeiern teilnehmen durfte.

Dr. Jörg Stadler danke ich für die technische Betreuung des Kleintier MRTs.

Schlussendlich möchte ich mich bei allen, die mich während meiner Doktorandenzeit moralisch unterstützt haben, bedanken. Meinen Eltern und meinen Schwestern, die immer für mich da waren, möchte ich dabei meinen Dank aussprechen. Für die moralische Unterstützung und geduldiges Zuhören möchte ich mich auch bei meinem Freund bedanken.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>3</b>
2.1	Der Hippocampus.....	4
2.1.1	Aufbau des Hippocampus und Funktion der einzelnen Substrukturen.....	4
2.1.2	Verbindungen des Hippocampus zu anderen Hirnregionen.....	7
2.2	Lernen und Gedächtnis- Funktion des Hippocampus und weiterer Gehirnregionen.....	9
2.3	Lokale Feldpotentiale und Populationsspike .....	14
2.3.1	Populationsspike in der Granularzellschicht des <i>Gyrus dentatus</i> .....	14
2.4	Magnetresonanztomographie .....	16
2.4.1	Funktionelle Magnetresonanztomographie.....	17
2.5	Neurovaskuläre Kopplung .....	18
2.5.1	Neurone .....	19
2.5.2	Interneurone.....	20
2.5.3	Astrocyten .....	20
2.5.4	Endothelzellen.....	21
2.5.5	Pericyten .....	21
2.5.6	Glatte Muskulatur .....	22
2.5.7	Physikalische Grundlagen und Modelle.....	22
2.6	Zielstellung .....	24
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>26</b>
3.1	Herkunft und Haltung der Versuchstiere.....	26
3.2	Vorbereitung der Elektroden.....	26
3.3	Präparation und Elektrodenimplantation.....	27
3.4	Kombinierte fMRT - Elektrophysiologie Messungen .....	29
3.5	Stimulationsprotokolle .....	32
3.6	Lernexperimente in der Shuttle-Box .....	35
3.7	Versuche in der Freilaufbox.....	36
3.8	Auswertung und Datenanalyse.....	38
3.8.1	Lernexperimente in der Shuttle-Box .....	38
3.8.2	Versuche in der Freilaufbox.....	38
3.8.3	Elektrophysiologische Daten .....	38

3.8.4	Auswertung der MRT Messungen .....	40
3.8.5	Statistische Auswertungen .....	45
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>46</b>
4.1	Kurzfristige Änderungen neuronaler und hämodynamischer Antworten im Verlauf einer Messung .....	47
4.1.1	Einfluss der Pulsfrequenz auf neuronale und BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 1).....	49
4.1.2	Einfluss der Länge einer hochfrequenten Pulsfolge auf das neuronale Antwortverhalten und die BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 2) .....	53
4.1.3	Einfluss des Pulsmusters auf neuronale und BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 3).....	57
4.1.4	Veränderungen von neuronalem Antwortverhalten und BOLD Antworten während Stimulation mit wechselnden Stimulationsmustern innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 4) .....	63
4.2	Langfristige Änderungen von neuronalen und hämodynamischen Antworten zwischen mehreren aufeinanderfolgenden fMRT/Elektrophysiologie Messungen.....	68
4.2.1	Vergleich von neuronalen und BOLD Antworten zwischen zwei im Abstand von vier Tagen erfolgten fMRT/Elektrophysiologie Messungen .....	69
4.2.2	Vergleich von neuronalen und BOLD Antworten zwischen zwei im Abstand von vier Tagen erfolgten Messungen, bei der die Stimulation als CS in einer aktiven Vermeidungsaufgabe verwendet wurde .....	72
4.2.3	Auswirkungen von mehrfacher elektrischer Stimulation des <i>Tractus perforans</i> an drei auf einander folgenden Tagen, bei der die Stimulation keine verhaltensrelevante Bedeutung hatte .....	90
4.2.4	Spezifität der Veränderungen in neuronalen Netzwerken durch elektrische Stimulation .....	104
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>116</b>
5.1	Variabilität von neuronalen- und BOLD Antworten innerhalb einer Messung.....	116
5.1.1	Stimuli, physiologische Relevanz und neuronales Antwortverhalten.....	116
5.1.2	Variabilität der BOLD Antworten innerhalb einer Messung .....	121
5.1.3	Zusammenhänge zwischen neuronalem Antwortverhalten und resultierender BOLD Antwort .....	125
5.1.4	Kann von einer gemessenen BOLD Antworten auf das zugrundeliegende neuronale Aktivitätsmuster geschlossen werden? .....	127
5.2	Variabilität von neuronalen und fMRT Antworten zwischen aufeinanderfolgenden Messungen .....	133

5.2.1	Veränderungen im BOLD und in der Elektrophysiologie bei Stimulation des <i>Tractus perforans</i> mit kurzen hochfrequente Pulsfolgen .....	137
5.2.2	Veränderungen im BOLD und in der Elektrophysiologie bei Stimulation des <i>Tractus perforans</i> mit kurzen kontinuierliche 5 Hz Pulsfolgen.....	143
5.2.3	Bedeutung des Hippocampus und weiterer Gehirnregionen beim aktiven Vermeidungslernen .....	146
5.3	Wie und wann kann man eine BOLD Antwort im Hippocampus interpretieren .....	148
<b>6</b>	<b>Ausblick</b> .....	<b>150</b>
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>152</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>154</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>182</b>
	Anhang zum Ergebnisteil .....	182
	Auswirkungen von Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll mit höherer Intensität .....	238
	Neurophysiologische Effekte im <i>Gyrus dentatus</i> und BOLD Signale im rechten dorsalen Hippocampus und im gesamten Gehirn.....	238
	Lebenslauf.....	242
	Publikationen.....	243

## 1 Zusammenfassung

Die fMRT (funktionelle Magnetresonanztomografie) bietet als nicht invasive Methode, die Möglichkeit komplexe Funktionen des Gehirns zu untersuchen. Mit der BOLD (Blut Sauerstoffgehalt abhängige: *blood oxygenation level - dependent*) fMRT werden lokale Veränderungen der neuronalen Aktivität in einer Region jedoch nur indirekt dargestellt. Um die Zusammenhänge zwischen einem veränderten neuronalen Antwortverhalten und den daraus resultierenden BOLD Antworten zu untersuchen, wurden elektrophysiologische Ableitungen, während gleichzeitiger BOLD fMRT Messungen durchgeführt. Dabei wurde der *Tractus perforans*, ein Faserbündel, das monosynaptisch zum *Gyrus dentatus* des Hippocampus projiziert, elektrisch stimuliert und das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen zeitgleich mit den BOLD Signalen im gesamten Gehirn aufgezeichnet.

Im naiven Tier wurde zunächst untersucht, welche Rückschlüsse aus einer BOLD Antwort auf das neuronale Antwortverhalten gezogen werden können. Dazu wurde der *Tractus perforans* während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messungen mit unterschiedlichen Frequenzmustern stimuliert. Dabei zeigte sich, dass es nur dann möglich ist Rückschlüsse aus einer BOLD Antwort auf das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen zu ziehen, wenn der Verlauf der BOLD Antwort inner-und außerhalb des Hippocampus berücksichtigt wird. Sowohl die Grundfrequenz (1,5,10,20 Hz) als auch die Anzahl der zusätzlich überlagerten Pulse mit hoher Frequenz (kurze Pulsfolgen im Abstand von 10 ms) bestimmte dabei den charakterischen Verlauf der BOLD Signalintensität im Hippocampus und das BOLD Aktivierungsmuster im gesamten Gehirn.

In einem zweiten Schritt wurde untersucht, wie vorhergehende Stimulationen des *Tractus perforans* die BOLD Antworten und das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen beeinflussen. Dazu wurde der *Tractus perforans* an drei aufeinanderfolgenden Tagen in einem unterschiedlichen Kontext stimuliert. Während die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* für eine Gruppe von Ratten keine verhaltensrelevante Bedeutung hatte, wurde das Stimulationsprotokoll in einer zweiten Gruppe als konditionierter Stimulus in einer aktiven Vermeidungsaufgabe genutzt. Beide untersuchten Stimulationsprotokolle (kurze hochfrequente und kurze kontinuierliche niederfrequente Pulsfolgen) waren als konditionierte Stimuli geeignet die gewünschte Verhaltensreaktion auszulösen. Die Tiere, die in der Freilaufbox mit derselben Anzahl von Pulsen wie die Trainingsgruppen stimuliert wurden,

konnten dem Stimulus keinen verhaltensrelevanten Kontext zuordnen. Es zeigte sich bei den fMRT/Elektrophysiologie Messungen am Tag nach den Verhaltens-/Stimulationsexperimenten, dass sowohl das Stimulationsprotokoll als auch der Kontext in dem das Stimulationsprotokoll präsentiert wurde, einen Einfluss auf die Signalverarbeitung im Hippocampus und die generierten BOLD Antworten hat. Dabei erhöhte sich die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus nur bei Verwendung des hochfrequenten Stimulationsprotokolls. Diese Veränderungen in der Verarbeitung des Stimulus ließen sich auch nach zwei Wochen in einer weiteren fMRT/Elektrophysiologie Messung nachweisen. Die BOLD Antwort im Hippocampus blieben auch nach vorhergehender Stimulation unverändert.

Schließlich wurde die Spezifität der gemessenen Veränderungen untersucht. Dazu wurde nach der dritten Elektrophysiologie/fMRT Messung eine weitere fMRT/Elektrophysiologie Messung durchgeführt, bei der ein anderes Stimulationsmuster verwendet wurde. Dabei zeigte sich, dass auch Stimulation mit dem niederfrequenten Stimulationsprotokoll zu Veränderungen führt, die bei höheren Stimulationsfrequenzen sichtbar wurden. Die durch hochfrequente Stimulation erzeugten Veränderungen in der Signalverarbeitung waren auch bei Stimulation mit einem anderen Frequenzmuster, das ebenfalls hochfrequente Pulse enthielt, sichtbar.

Es können nun somit im naiven Tier Rückschlüsse von der BOLD Antwort auf das zugrundeliegende neuronale Antwortverhalten im *Gyrus dentatus* gezogen werden. Da vorhergehende Stimulationen die neuronale Aktivität und die BOLD Antworten längerfristig verändert, muss eine vorhergehende Stimulation miteinbezogen werden, möchte man Rückschlüsse von einer BOLD Antwort auf das zugrundeliegende neuronale Antwortverhalten ziehen.

## 2 Einleitung

Die hippocampale Formation ist eine Hirnregion, die aus verschiedenen Subregionen (Cornu ammonis 1-4 (CA1-4), *Gyrus dentatus*, Subikulum, entorhinale Cortex) besteht (Amaral & Witter 1989) und als Bestandteil des limbischen Systems für Lernen und Gedächtnis eine wichtige Rolle spielt (Knierim & Neunuebel 2016; Kesner & Rolls 2015; Treves & Rolls 1994; Suzuki & Eichenbaum 2000; Lisman 1999). Schon früh wurde vermutet, dass es durch das Lernen zu Veränderungen in der neuronalen Aktivität im Hippocampus kommt (Bliss et al. 1973). Die Fähigkeit der Neurone, auf einen Stimulus mit einem veränderten neuronalen Antwortverhalten zu reagieren, wird als synaptische Plastizität bezeichnet (Kandel et al. 2014; Nader et al. 2000; Berger 1983; Collingridge & Bliss 1987). Diese Veränderungen in der neuronalen Verarbeitung können elektrophysiologisch nachgewiesen werden. Mit elektrophysiologischen Methoden wird die neuronale Aktivität meist nur lokal, also in der Nähe der Ableitelektrode, erfasst.

Der Hippocampus ist stark mit anderen Gehirnregionen wie dem präfrontalen Cortex, dem Nucleus accumbens, dem Septum und der Amygdala vernetzt (White & McDonald 2002; Mulder et al. 1997; Swanson & Cowan 1977) und erhält vorverarbeitete Informationen aus anderen Gehirnregionen, wie dem entorhinalen Cortex (Chrobak et al. 2000; Deadwyler et al. 1975), die im Hippocampus verarbeitet und anschließend weiter geleitet werden. Damit ist es möglich, dass es auch in Zielregionen des Hippocampus zu Veränderungen neuronaler Aktivität kommt, deren Ursache eine veränderte Signalverarbeitung im Hippocampus sein kann (Canals et al. 2009; Laroche et al. 1990; Maren & Fanselow 1995). Solche globalen Veränderungen der Verarbeitung eingehender Informationen lassen sich mit Hilfe der fMRT (funktionelle Magnetresonanztomografie) darstellen. Die fMRT Messung kann neuronale Aktivität allerdings nur indirekt darstellen, da dabei meistens Veränderungen im Blutfluss, oder wie bei der BOLD (blood oxygenation level-dependent) fMRT, der Sauerstoffgehalt des Blutes genutzt wird, um die Aktivierung einer Hirnregion darzustellen.

## 2.1 Der Hippocampus

### 2.1.1 Aufbau des Hippocampus und Funktion der einzelnen Substrukturen

#### **2.1.1.1 Aufbau der einzelnen Substrukturen**

Aufgrund seiner Form, die einem Seepferdchen ähnelt, bekam der Hippocampus seinen Namen (Hippocampus = lateinisch Seepferdchen). Der Hippocampus ist wie der Neocortex, in Schichten aufgebaut (Förster et al. 2006; Amaral & Witter 1989; O'Keefe, John; Nadel et al. 1978). Die hippocampale Formation kommt in beiden Hemisphären des Gehirns vor und lässt sich in verschiedene Abschnitte unterteilen. Zur hippocampalen Formation zählen der entorhinale Cortex (EC), der bei Nagern in mediale und laterale Bereiche unterteilt wird, der subikuläre Komplex, der in Subikulum, das Pre-/oder Parasubikulum sowie das Postsubikulum unterteilt werden kann, der *Gyrus dentatus* und der Hippocampus proper. Der Hippocampus proper lässt sich weiter in die CA1-4 (Cornu Ammonis, Ammonshorn – CA) unterteilen, wobei die CA3 weiter in CA3a-CA3c untergliedert werden kann. In den CA Regionen 1-3 bilden die Pyramidenzellen den Haupttyp der Neurone (Lorente De Nó 1934; Amaral & Witter 1989; Swanson & Cowan 1977). Die Zellkörper der Pyramidenzellen liegen dabei im sogenannten stratum pyramidale. Die CA2 macht im Verhältnis zu den anderen CA-Regionen einen relativ kleinen Teil des Hippocampus proper aus (Dudek et al. 2016; Amaral et al. 2007). Eine Besonderheit der CA3 Region stellt die starke Verknüpfung der Pyramidenzellen unter einander dar, die zur Bildung rekurrenter Kreisläufe dienen, mit denen eingehende Signale verstärkt werden (Goodrich-Hunsaker et al. 2008; Lisman 1999). Die CA4 enthält polymorphe Zellen und liegt in den Blättern der Struktur des *Gyrus dentatus* (Dudek et al. 2016; Safina et al. 1992). Der *Gyrus dentatus* ist histologisch aus drei Schichten aufgebaut: das relativ zellarme *Stratum moleculare*, das *Stratum granulare* und die polymorphe Schicht des Hilus ( $\cong$  CA4), der Mooszellen und verschiedenen Interneuron-Typen enthält. In der Granularzellschicht (*Stratum granulare*) liegen die Zellkörper der Granularzellen, deren Dendriten sich in der Molekularschicht (*Stratum moleculare*) befinden. Die Granularzellen sind erregend (exzitatorische) glutamaterge Neurone, die Interneurone hingegen hemmend (inhibitorisch) GABAerg. Die Molekularschicht lässt sich weiter in die innere und die äußere Molekularschicht untergliedern (Ribak & Seress 1983; Treves et al. 2008). Der entorhinale Cortex ist im Gegensatz zu den CA1-3 Regionen und dem *Gyrus dentatus* aus sechs Zellschichten (I-VI) aufgebaut. Dabei sind die Schichten II, III, V und VI

zelluläre Schichten, während die Schichten I und IV keine spezifische Struktur besitzen (R D Burwell & Amaral 1998).

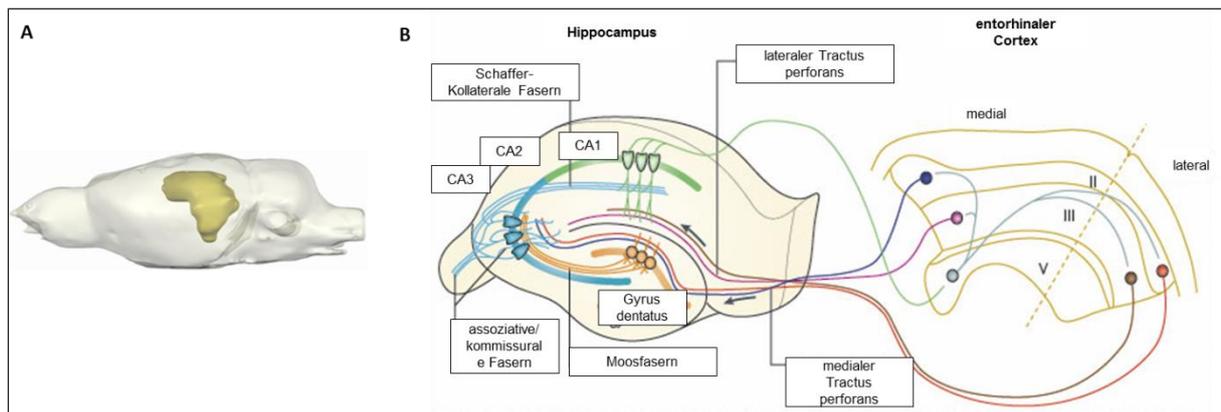
### **2.1.1.2 Verknüpfungen der einzelnen hippocampalen Substrukturen untereinander**

Die Dendriten der inneren Molekularschicht des *Gyrus dentatus* werden von den Commisuralfasern des contralateralen Hilus innerviert (Swanson & Cowan 1977; Amaral & Witter 1989; Seroogy et al. 1983). Aus der IV-VI Schicht des entorhinalen Cortex wurden ebenfalls Projektionen zu den Granularzellen des *Gyrus dentatus* nachgewiesen (Deller et al. 1996). Aus der zweiten Schicht des entorhinalen Cortexes zieht ein Faserbündel, der *Tractus perforans*, zur äußeren Molekularschicht des *Gyrus dentatus*. Dort terminieren die Fasern des *Tractus perforans* an den Körnerzellen (Hjorth-Simonsen & Jeune 1972; Lømo 1971; Steward 1976). Der *Tractus perforans* verbindet damit den entorhinalen Cortex funktionell mit dem *Gyrus dentatus*, den CA-Regionen und dem Subikulum (Bliss et al. 1973; Lømo 1971). Dabei projiziert der *Tractus perforans* auch direkt zur Molekularschicht des Subikulums (Amaral & Witter 1989). Von den Körnerzellen im *Gyrus dentatus* ziehen die marklosen Moosfasern als Faserbündel zur CA3, wo sie mit den Axonen der Pyramidenzellen und Interneuronen Synapsen bilden (Treves et al. 2008; Amaral 1993; Ribak et al. 1985). Aus der II. Schicht des entorhinalen Cortex erhalten die Pyramidenzellen der CA3 zusätzliche direkte Eingänge (Neves, Cooke, Bliss, et al. 2008; Chrobak et al. 2000; Burwell et al. 1995). Im *Stratum radiatum* der CA3 kommen außerdem Informationen aus der CA3 der contralateralen Hemisphäre an. Von der CA3 ziehen die glutamatergen Schaffer Kollateralen zu den Pyramidenzellen der CA1 (Ishizuka et al. 1990). Die Pyramidenzellen der CA3 (vor allem von der dem *Gyrus dentatus* am nächsten gelegenen CA3c) projizieren ihrerseits zum *Gyrus dentatus* zurück, wo sie vor allem inhibitorische GABAerge Neurone und Moosfasern aktivieren (Scharfman 2012; Ishizuka et al. 1990). Die glutamatergen Verbindungen, über die Informationen vom *Gyrus dentatus* zur CA3 und von dort weiter zur CA1 übermittelt werden, wird als trisynaptische Bahn bezeichnet (Neves, Cooke & Bliss 2008; Scharfman 2012; Amaral & Witter 1989; Amaral 1993). Die Pyramidenzellen der CA2 erhalten bilaterale Eingänge über die Schaffer Kollateralen aus der CA3 (Dudek et al. 2016). Neben eingehenden Signalen aus der CA3 erhalten die Pyramidenzellen der CA1 direkte Eingänge aus dem entorhinalen Cortex über den *Tractus perforans* (Jones 1993; Witter et al. 1988). CA1 Neurone innervieren das Subikulum monosynaptisch (O' Mara 2006). Sowohl Neurone aus

dem Subikulum, als auch aus der CA1 und der CA3 projizieren als ein Faserbündel - die Fimbria-Fornix Fasern - zu den Schichten V und VI des entorhinalen Cortex (Chrobak et al. 2000).

### **2.1.1.3 Funktion der Teilbereiche der hippocampalen Formation**

Die Funktion des *Gyrus dentatus* ist es neue räumliche und zeitliche Informationen über die Moosfasern zur CA3 zu leiten, ohne dass dabei früher gespeicherte Informationen beeinträchtigt werden. Dies wird auch als „pattern separation“ bezeichnet (Treves et al. 2008; Kesner 2013; Treves & Rolls 1994). Der *Gyrus dentatus* übernimmt als eine der Eingangsregionen der hippocampalen Formation eine Filterfunktion für die eingehenden Informationen (Acsády & Káli 2007; Hsu 2007). Es wird angenommen, dass die CA1 Informationen aus hippocampalen und corticalen Regionen integriert und selektiv an die Zielregionen weiterleitet (Ciocchi et al. 2015; Goodrich-Hunsaker et al. 2008). Für das soziale Gedächtnis scheint die CA2 eine bedeutende Rolle zu spielen (Dudek et al. 2016). Die CA3 Region ist besonders wichtig für die Speicherung neuer räumlicher Information (Knierim & Neunuebel 2016), und das Kurzzeitgedächtnis (Kesner 2007; Kesner et al. 2004). Der entorhinale Cortex sendet verarbeitete Signale zum Hippocampus, wo diese weiterverarbeitet und über die EC-Hippocampus-EC Schleife zum Teil wieder zum entorhinalen Cortex zurück geleitet werden (Jones 1993; Takehara-Nishiuchi 2014; Swanson & Cowan 1977). Ebenfalls an einer Schlüsselposition für Ausgänge aus dem Hippocampus liegt das Subikulum. Seine anatomische Lage legt eine Beteiligung bei einer Vielzahl von Funktionen nahe. Dabei verstärkt das Subikulum ausgehende Signale. Es wird angenommen, dass das dorsale Subikulum eher bei räumlicher Orientierung und Gedächtnisbildung wichtig ist, während das ventrale Subikulum eher an der Verarbeitung von Emotionen beteiligt ist (O'Mara et al. 2009; O' Mara 2006). Die anatomischen Verbindungen des Hippocampus sind entlang der dorsoventralen Achse unterschiedlich, was sich in der Funktion des dorsalen und des ventralen Hippocampus widerspiegelt. Es wird angenommen, dass der dorsale Hippocampus eher für Lernen und räumliche Navigation verantwortlich ist, während der ventrale Hippocampus bei Furcht abhängigem Verhalten aktiviert wird (Strange et al. 2014; Tannenholz et al. 2014; Bannerman et al. 2004).



**Abbildung 2.1 | Anatomische Lage des Hippocampus im Gehirn der Ratte und neuronale Verbindungen innerhalb der hippocampalen Formation** (modifiziert nach Neves, Cooke & Bliss 2008)

A: Lage des Hippocampus (dunklere Farbe) im Gehirn der Ratte. B: Dargestellt sind die Verbindungen innerhalb des Hippocampus und mit dem entorhinalen Cortex. Die drei wichtigsten Strukturen sind in deutlich voneinander abgrenzbare Schichten unterteilt. Klassischerweise werden die neuronalen Verbindungen als trisynaptische Schleife beschrieben. Die trisynaptische Schleife besteht aus den folgenden Verbindungen: Der wichtigste neuronale Eingang ist der *Tractus perforans* über den polymodale sensorische Information aus der II Schicht des EC in zum *Gyrus dentatus* geleitet wird. Von dort aus projizieren die Moosfasern zur CA3. Über die Schaffer-Kollaterale wird die CA1 von der CA3 innerviert. Zusätzlich erhält die CA3 Eingänge aus der II Schicht des EC (nicht dargestellt).

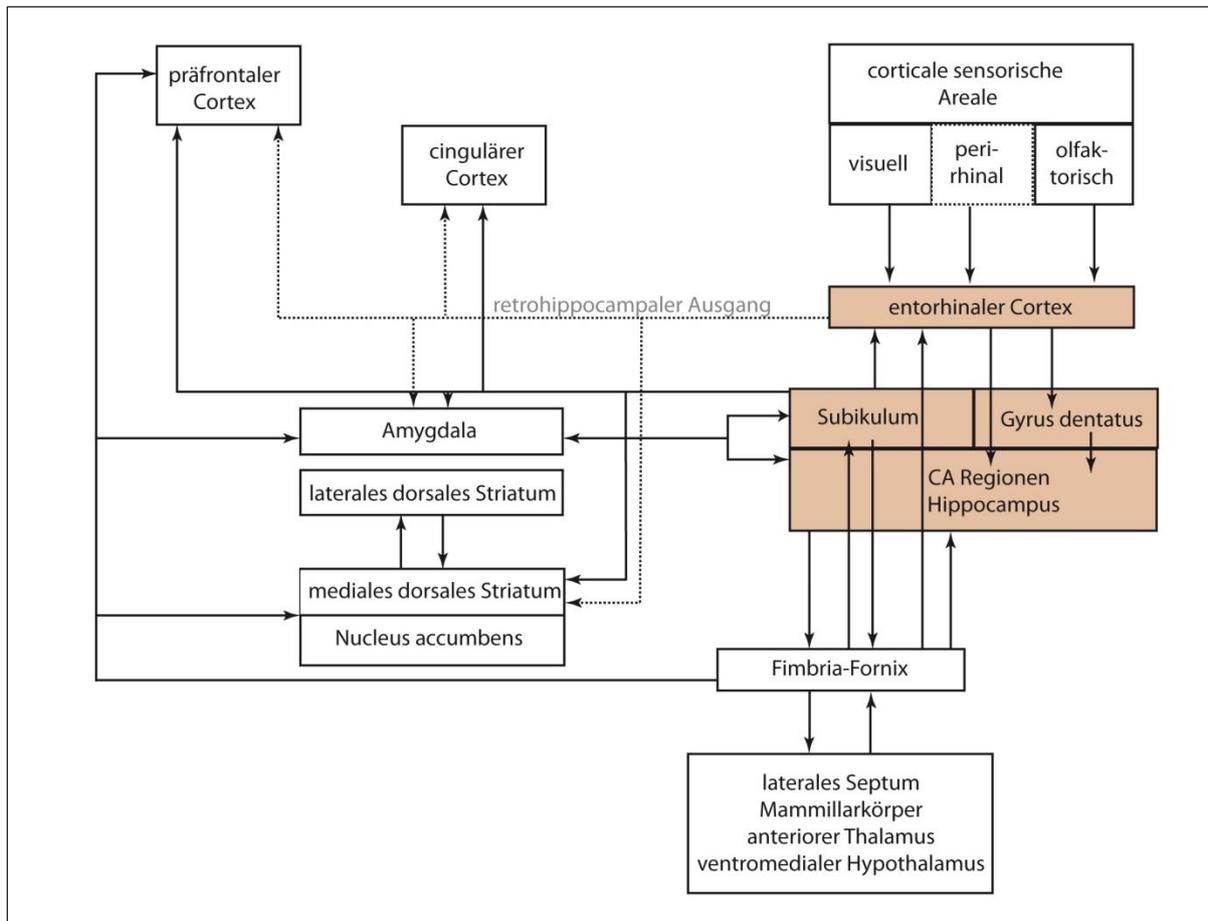
### 2.1.2 Verbindungen des Hippocampus zu anderen Hirnregionen

Der Hippocampus ist, wie andere Gehirnregionen auch, in globale neuronale Netzwerke eingebunden und so mit anderen Regionen des Gehirns anatomisch und funktionell verknüpft. Die hippocampale Formation ist ein Bestandteil des limbischen Systems, zu dem das anteriore Cingulum (Acc), der Nucleus accumbens (NAcc), die basolaterale Amygdala (BLA), die Substantia nigra und das ventrale Tegmentum (VTA/Sn) gehören (Morgane et al. 2005; Witter et al. 1989). Der entorhinale Cortex erhält in den Schichten II und III synaptische Eingänge von neocortikalen Regionen, wie dem perirhinalen Cortex und von primären sensorischen Arealen. Somit erhält der EC sensorischen, olfaktorische und visuelle Informationen. Zusätzlich erhält der entorhinale Cortex Eingänge aus subcortikalen Regionen wie der BLA, der VTA, dem Locus caeruleus, dem Septum und dem Hypothalamus (Jones 1993; White & McDonald 2002; O' Mara 2006). Neurone aus den Schichten V-VI, die vom Hippocampus proper innerviert werden, projizieren vor allem zum Neocortex (Chrobak et al. 2000). Der cinguläre Cortex, ein Teilgebiet des medialen präfrontalen Cortex, projiziert zu

den tieferen Schichten des entorhinalen Cortex und erhält Eingänge aus dessen höheren Schichten (Insel & Takehara-Nishiuchi 2013; Rebecca D. Burwell & Amaral 1998). Der mediale präfrontale Cortex (mPFC) entspricht in seiner Funktion dem präfrontalen Cortex beim Menschen (Sigurdsson & Duvarci 2015).

Der anteriore cinguläre Cortex projiziert monosynaptisch zur CA1 und zur CA3 des dorsalen Hippocampus (Sigurdsson & Duvarci 2015). Efferenzen der CA1 projizieren über drei verschiedene Nervenbahnen direkt zu corticalen Regionen (Jay & Witter 1991). Aus der dorsalen Region der CA1 gibt es Projektionen zum retrosplenialen Cortex und aus dem ventralen Teil zu visuellen, somatosensorischen, gustatorischen, olfaktorischen und viszeralen Gehirnarealen sowie zur Amygdala und der agranulären Insula, die bei der Ratte zum Allocortex gehört, und aus orbitalen Arealen. Über die Fornix Fasern aus allen CA1 Bereichen werden das anteriore Cingulum, der präfrontale Cortex und orbitale Areale innerviert (Cenquizca & Swanson 2007). Das ventrale Subikulum projiziert ebenfalls zur Fimbria-Fornix (Meibach & Siegel 1976). Der subikuläre Komplex wird teilweise unter dem Begriff Subikulum zusammengefasst (O' Mara 2006). Nach dieser Definition gibt es Afferenzen zum ventralen Subikulum aus dem ventralen *Nucleus mammilaris*. Weitere Eingänge erhält das Subikulum vom medialen Septum, dem Nucleus des diagonalen Bandes und dem Thalamus. Der vertikale Abschnitt des diagonalen Bands (VDB) enthält Neurone, die die hippocampale Formation cholinerg innervieren (Baxter et al. 1995; Gaykema et al. 1990; Nyakas et al. 1987). Vom distalen Drittel des Subikulums bestehen Projektionen zur basolateralen Amygdala und zum präfrontalen Cortex. Das proximale Subikulum bildet efferente Verbindungen mit dem ventralen Striatum und dem daneben liegenden Nucleus Accumbens (DeFrance & Yoshihara 1975; White & McDonald 2002; Kelley & Domesick 1982; Lavenex & Amaral 2000).

Im Abschnitt „Lernen und Gedächtnis“ wird die Funktion der mit dem Hippocampus direkt oder indirekt in Verbindung stehenden Gehirnregionen in Bezug auf Lernen und Gedächtnis kurz erläutert. Die Signalweiterleitung vom Hippocampus zu dessen Zielregionen erfolgt in Abhängigkeit von der zu bewältigenden Aufgabe und dem Kontext (Ciocchi et al. 2015). Verbindungen der Hirnregionen untereinander, die mit der hippocampalen Formation afferent oder efferent verbunden sind, sind in Abbildung 2.2 dargestellt.



**Abbildung 2.2 | Verbindungen der hippocampalen Formation zu anderen Hirnregionen** (modifiziert nach White & McDonald 2002)

Dargestellt sind die wichtigsten anatomischen Verbindungen des Hippocampus zu anderen Regionen. Die Verbindung zum Nucleus des diagonalen Bands (VDB) ist dabei nicht mitberücksichtigt.

## 2.2 Lernen und Gedächtnis- Funktion des Hippocampus und weiterer Gehirnregionen

Nicht nur auf Grund seines laminaren Aufbaus, sondern vor allem wegen seiner Bedeutung für Lernen und Gedächtnis, ist der Hippocampus eine häufig untersuchte Gehirnstruktur. Die Bedeutung des Hippocampus für das Lernen wurde 1954 am berühmten Fall des Patienten H.M. und ein paar Jahre später an weiteren Patienten untersucht. H.M., dem aufgrund von Epilepsie der Hippocampus sowie Teile des angrenzenden Temporallappens entfernt wurden, konnte keine neuen Gedächtnisinhalte bilden, während ältere Erinnerungen nur teilweise vom Gedächtnisverlust betroffen waren (Scoville & Milner 1957). Sowohl für das Erlernen als auch für das Wiederauffinden von gespeicherten Erinnerungen sind nicht einzelne Neurone, sondern Gruppen von Neuronen, die in neuronale Netzwerke eingebunden sind, entscheidend.

Selektive Reaktivierung dieser neuronalen Gruppen führt dabei zur effektiven Erinnerung, während Inaktivierung zu verminderter Gedächtnisleistung führt (Holtmaat & Caroni 2016). Die Gedächtnisbildung lässt sich in verschiedene Phasen unterteilen (Abbildung 2.2). Dabei werden Lernen, bzw. der Erwerb einer Fähigkeit und Konsolidierung unterschieden. Konsolidierung bezeichnet dabei den labilen, störanfälligen Prozess bei dem das Gelernte physisch gespeichert wird. Bei der Gedächtniskonsolidierung kommt es nicht nur zu funktionellen, sondern auch zu strukturellen Veränderungen in neuronalen Netzwerken (Dudai & Morris 2013; Draganski & May 2008; Draganski et al. 2006; Korte & Schmitz 2016). Danach kann das Gelernte in derselben, oder einer ähnlichen Situation abgerufen werden (Quillfeldt 2006; Lechner et al. 1999)

Die Gedächtnisformen lassen sich auf unterschiedliche Arten, beispielsweise nach der Dauer in der die Gedächtnisinhalte gespeichert werden, ihrer Funktion, sowie nach der Art der Gedächtnisinhalte unterteilen (Quillfeldt 2006; Squire 2004; Deiana et al. 2011). Das Arbeitsgedächtnis speichert und manipuliert Informationen für kurze Zeit, ist in seiner Kapazität sehr begrenzt und hinterlässt keine, zumindest elektrophysiologisch messbaren, dauerhaften Spuren. Das Arbeitsgedächtnis wird benötigt, um Informationen kurzzeitig zu speichern und zu bearbeiten (Quillfeldt 2006; Tsutsui et al. 2016; Kesner & Churchwell 2011). Diese Form des Gedächtnisses wird im Folgenden, trotz ihrer Bedeutung bei psychischen Erkrankungen wie beispielsweise Schizophrenie (Schwarz et al. 2016; Sigurdsson & Duvarci 2015), nicht mit berücksichtigt. Abbildung 2.3 stellt eine mögliche Unterteilung des Gedächtnisses in verschiedenen Formen dar, wobei sich hier vor allem an Tierversuchen orientiert wird. Die Dauer, in der die Gedächtnisinhalte gespeichert werden, wurde hier nicht mitberücksichtigt. Als explizites oder deklaratives Gedächtnis wird das Erinnerungsvermögen für Fakten, Objekte und Ereignisse bezeichnet, während das implizite oder nicht deklarative Gedächtnis Bewegungsabläufe und unbewusste Wahrnehmungen meist für lange Zeit speichert (Scoville & Milner 1957; Schacter & Tulving 1994). Diese Unterteilung ist bei Tierexperimenten deutlich schwieriger als beim Menschen (Quillfeldt 2006).

Der Hippocampus ist vor allem für die Speicherung expliziter Gedächtnisinhalte von Bedeutung (Quillfeldt 2006; Squire 2004; Bunsey & Eichenbaum 1996; Eichenbaum et al. 1996). Um das explizite Gedächtnis bei Tieren zu untersuchen werden Verhaltensexperimente genutzt, bei denen eine räumliche und zeitliche Integration zum Erlernen und Bewältigen der Aufgabe essenziell ist (Luo et al. 2011; Bunsey & Eichenbaum 1996). Die sogenannten „*place cells*“ im Hippocampus sowie die „*grid cells*“ im entorhinalen Cortex, die an

bestimmten Stellen im Raum feuern und damit die Information über die Orientierung im Raum enthalten, spielen dabei eine wichtige Rolle (Moser et al. 2008; O'Keefe 1979)

Bei expliziten Gedächtnisinhalten wird die Konsolidierung häufig als cortico-hippocampale Interaktion beschrieben (Kandel et al. 2014; Kitamura et al. 2017; Izquierdo & Medina 1997). Der präfrontale Cortex scheint nach der Idee der komplementären Lernsysteme vor allem für das langfristige Abspeichern von Gedächtnisinhalten wichtig zu sein. Beim Erlernen einer Aufgabe ist der Hippocampus entscheidend, während die Gedächtnisinhalte später in neuronalen Netzwerken, für die der präfrontale Cortex benötigt wird, abgespeichert werden. Der Hippocampus ist laut der „*multiple trace*“ Theorie für das Wiederauffinden gespeicherter Informationen notwendig (O'Reilly et al. 2014; Moscovitch et al. 2006; Moscovitch & Nadel 1998; Rajasethupathy et al. 2015), wobei dabei der präfrontale Cortex ebenfalls für einige Gedächtnisinhalte benötigt wird (Euston et al. 2012). Neben der „*multiple trace*“ Theorie existieren die Standard Konsolidierungs-Theorie und die „*cognitive map*“ Theorie, die sich alle mit der Speicherung und dem Wiederauffinden von Gedächtnisinhalten und der Beteiligung verschiedener hippocampaler und neocorticaler Regionen beschäftigen (Goodrich-Hunsaker et al. 2008; Moscovitch et al. 2006). Der präfrontale Cortex ist unter anderem notwendig für das Belohnungslernen. Euston und Kollegen vermuten, dass die Funktion des präfrontalen Cortex darin besteht, Verbindungen zwischen Kontext, Ort, Ereignis und (emotionaler) Reaktion herzustellen (Euston et al. 2012). Für das Langzeitgedächtnis von hippocampusabhängigen Gedächtnisinhalten ist ebenfalls die Verbindung zwischen entorhinalem Cortex und cingulärem Cortex von Bedeutung (Insel & Takehara-Nishiuchi 2013). Es wird angenommen, dass der entorhinale Cortex als Schnittstelle zwischen Hippocampus und neocorticalen Regionen fungiert. In der Phase der Konsolidierung werden Verbindungen zwischen entorhinalem Cortex und präfrontalem Cortex/ anteriorem cingulärem Cortex verstärkt. Der entorhinale Cortex ist somit der „Torwächter“ für Gedächtnisinhalte bei deren Erlernen sowohl der Hippocampus als auch der entorhinale Cortex beteiligt waren (Takehara-Nishiuchi 2014).

Für das implizite Gedächtnis sind in Abhängigkeit vom Gedächtnisinhalt das Cerebellum, das Striatum und die Amygdala notwendig (Kandel et al. 2014; Squire 2004). Die basolaterale Amygdala ist bei der Erfassung der emotionalen Bedeutung wichtig und wird daher unter anderem beim Furcht-Lernen, aktiven Vermeidungsaufgaben, für deren Bewältigung sie essenziell ist (Ramirez et al. 2015; Maren 2005; Wassum & Izquierdo 2015) und Lernen durch Belohnung (Wassum & Izquierdo 2015; Luo et al. 2011) aktiviert. Es wird angenommen, dass die Amygdala eine modulierende und konsolidierungsfördernde Funktion

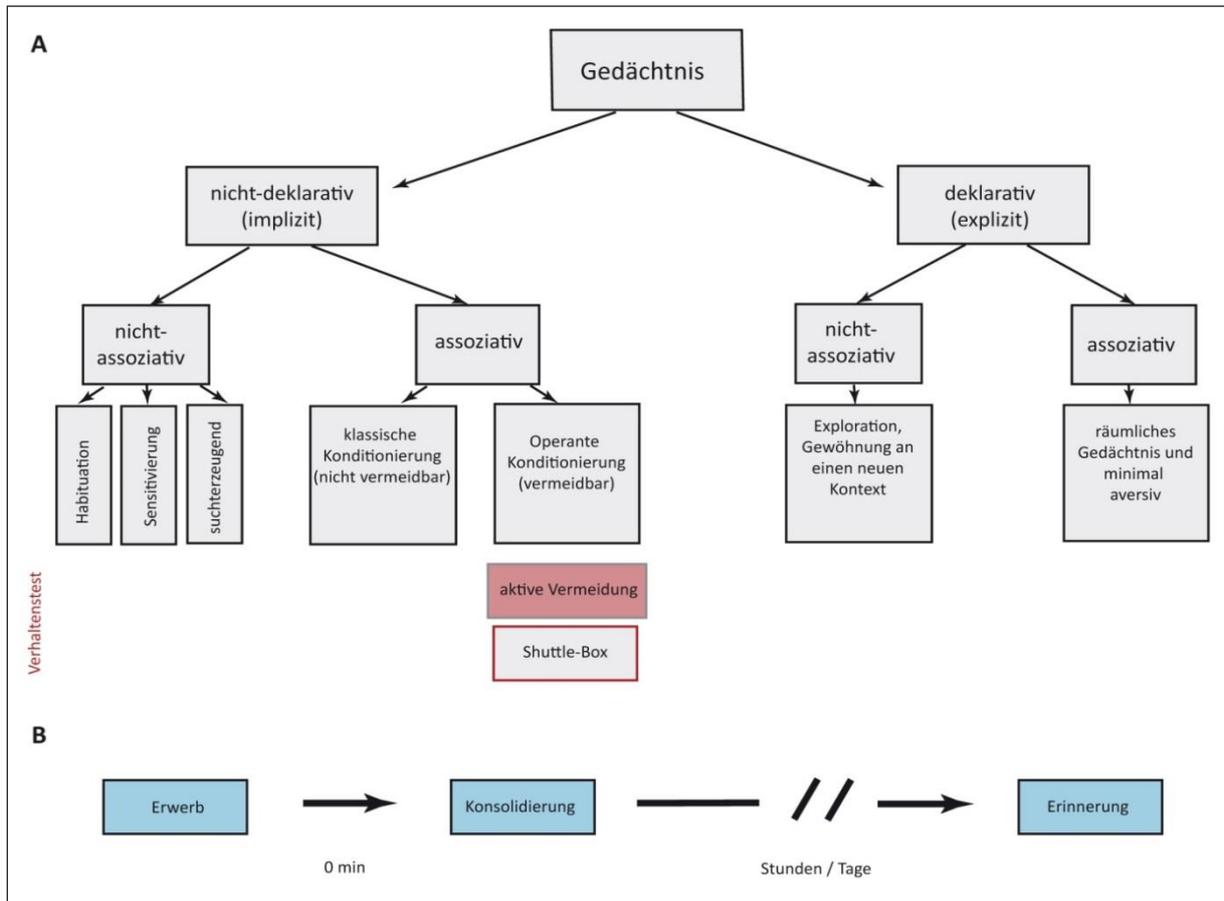
einnimmt. Aktivierung der BLA führt dabei zur Verstärkung neuronaler Plastizität und der Speicherung von Gedächtnisinhalten in den entsprechenden Zielregionen (Hermans et al. 2014). Das dorsale Striatum ist sowohl beim zielgerichteten Lernen als auch bei der Habituation beteiligt und wird insbesondere beim Lernen von Bewegungsabläufen aktiviert (Lovinger 2010; Burton et al. 2015). Der Nucleus accumbens integriert Informationen aus limbischen und corticalen Regionen und ist an zielgerichtetem belohnungsorientiertem Verhalten beteiligt (Salamone et al. 1997; Khani & Rainer 2016).

Strukturelle und funktionelle Veränderungen von Neuronen und ihren Verbindungen, die durch Lernprozesse ausgelöst werden, werden auch auf zellulärer Ebene elektrophysiologisch untersucht. Langzeitpotenzierung (LTP) und Langzeitdepression (LTD) sind Formen der synaptischen Plastizität, die die Effizienz der Signalübertragung verstärken, bzw. vermindern (Klausnitzer et al. 2004; Hansen & Manahan-Vaughan 2015; Bliss et al. 1973). Die LTP ist häufig N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) -Rezeptor abhängig (Bashir et al. 1991; Liu et al. 2004; Collingridge & Bliss 1987), kann aber auch in einigen Regionen NMDA-Rezeptor unabhängig sein (Bear & Kirkwood 1993; Kandel et al. 2014). Im Hippocampus sind die zur CA3 projizierenden Moosfasern ein Beispiel für aktivitätsabhängige, jedoch nicht NMDA-Rezeptorvermittelte Plastizität (Kandel et al. 2014).

Solche Veränderungen der synaptischen Effizienz nach häufiger Aktivierung des präsynaptischen Neurons sind in verschiedenen Hirnregionen wie dem Hippocampus, der Amygdala (Blaise & Hartman 2013; Sigurdsson et al. 2007), dem NAcc (Kombian & Malenka 1994), dem Striatum (Lovinger 2010), dem präfrontalen Cortex (Ruan et al. 2014; Otani et al. 2003; Laroche et al. 1990), dem visuellen Cortex (Teyler 1989) und der VTA (Stelly et al. 2016; Overton & Clark 1997) nachgewiesen worden.

Langzeitpotenzierung lässt sich nach ihrer Dauer in verschiedene Phasen unterteilen. Die frühe LTP ist transient und Proteinsynthese unabhängig, während die späte LTP zu einer veränderten Proteinsynthese führt, bei der zunächst regulatorische Proteine hergestellt werden, die während der späteren Phase zur Bildung von Proteinen, die die neuronale Effizienz und Konnektivität verändern, benötigt werden (Reymann & Frey 2007; Kukushkin & Carew 2017). Veränderungen der Genexpression führen zu Veränderungen in neuronalen Netzwerken. Nach der Speicherung von Gelerntem kommt es über langsamere Prozesse zur systemischen Konsolidierung. Dadurch werden Gedächtnisinhalte für Monate oder Jahre abgespeichert (Kandel et al. 2014).

Der *Gyrus dentatus* gehört zu den wenigen Gehirnregionen, in denen auch im Erwachsenenalter Neurogenese stattfinden kann. Es wird angenommen, dass die Entstehung neuer Neurone und deren Einbindung in neuronale Netzwerke lernabhängig ist bzw. durch Lernen gefördert wird (Deng et al. 2010; Vivar & van Praag 2013; Gould et al. 1999). Die Neurogenese im *Gyrus dentatus* wird durch Laufen ebenfalls angeregt (Deng et al. 2010; Nilsson et al. 1999; Kempermann et al. 1998).



**Abbildung 2.3 | Einteilung von Lern- und Gedächtnisprozessen** (modifiziert nach Quillfeldt 2006)

A: Dargestellt ist eine mögliche Unterteilung der verschiedenen Gedächtnisarten. Dabei sollte beachtet werden, dass es nicht unbedingt möglich ist für am Menschen durchführbare Verhaltensversuche eine Entsprechung im Tierversuch zu entwickeln. Die erste Unterscheidung des dargestellten Entscheidungsbaumes kommt aus der Forschung am Menschen, wo häufig die Begriffe „deklarativ“ und „nicht deklarativ“, statt dem hier verwendeten explizit und implizit benutzt werden. Wird eine Verbindung zwischen Stimulus und Antwortverhalten hergestellt, so fällt die zu erlernende Aufgabe in die Kategorie der assoziativen Aufgaben. Die Unterscheidung zwischen vermeidbaren und nicht vermeidbaren Verknüpfungen von Stimulus und Antwortverhalten ist aus der Sicht des Tieres zu verstehen. Während bei der klassischen Konditionierung keine Entscheidung das Antwortverhalten zu beeinflussen möglich ist, kann das Tier in der Shuttle-Box den schmerzhaften Stimulus durch Springen auf die andere Seite der Box vermeiden.

B: Nach der Gedächtniskonsolidierungstheorie können verschiedene Phasen unterschieden werden. Der Erwerb oder das Erlernen einer Fähigkeit, der labile Prozess der Konsolidierung in dem Veränderungen auf molekularer aber auch auf Netzwerkebene stattfinden und die Erinnerung, die erst später überprüft werden kann. Für das Erlernen kann nur ein Versuchsdurchlauf notwendig sein oder auch mehrere Versuchsdurchgänge. Direkt nach dem Lernen beginnt die Phase der Konsolidierung. Bei der Shuttle-Box Aufgabe ist der Ablauf des Experiments in der Phase des Erlernens und während der Überprüfung des Gelernten gleich.



---

## 2.3 Lokale Feldpotentiale und Populationsspike

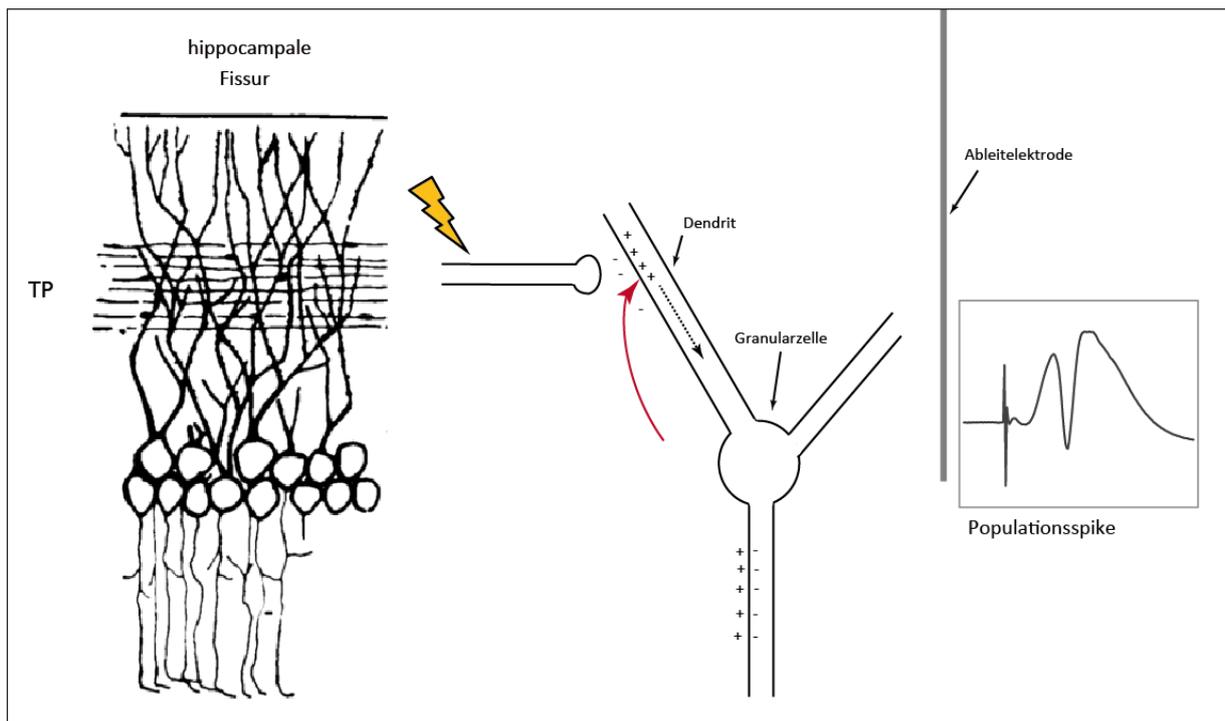
Bei der Messung von lokalen Feldpotentialen (LFP) handelt es sich um eine Methode, die elektrische Aktivität von Nervenzellen mit Hilfe von Elektroden zu messen. Die Ableitelektroden sitzen dabei außerhalb der Nervenzellen (extrazellulär), d.h. die gemessenen Signale stellen eine Summation der Aktivität der Zellen in der Umgebung der Elektroden dar. Weiter entfernte oder schnelle Änderungen der Ionenverteilung haben weniger Einfluss auf die gemessenen Signale als Veränderungen, die durch Nervenzellen in der näheren Umgebung der Ableitelektrode, da das Gewebe um die Elektroden als Filter wirkt.

### 2.3.1 Populationsspike in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus*

Wie der Name „Populationsspike“ vermuten lässt, handelt es sich hier um die Summation vieler Spikes, die als Summenaktionspotential detektiert werden können. Die in Schichten aufgebaute Struktur des *Gyrus dentatus* (siehe Abschnitt Aufbau des Hippocampus und Funktion der einzelnen Substrukturen) ermöglicht es, Summenaktionspotentiale in der Granularzellschicht dieser Region zu detektieren. Wird der *Tractus perforans* mit ausreichender Stärke gereizt, erfolgt eine monosynaptische Weiterleitung des elektrischen Signals zu den glutamatergen Synapsen in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus*. Aus der präsynaptischen Endigung wird Glutamat freigesetzt, das an der postsynaptischen Membran Ionenkanäle aktiviert. Im Ruhezustand ist das Membranpotential von Neuronen negativ, d.h. der extrazelluläre Raum, in dem sich die Ableitelektrode befindet, ist im Vergleich zum Inneren der Nervenzelle positiv geladen. Durch den durch das Öffnen der Ionenkanäle verursachten Einstrom positiv geladener Ionen ( $\text{Na}^+$ ) an der postsynaptischen

Membran der apikalen Dendriten der Granularzellen kehrt sich das Verhältnis um. Es entsteht ein exzitatorisches (erregendes) postsynaptische Feldpotential (fEPSP), das elektrotonisch entlang der Dendriten weitergeleitet wird. Der Bereich um die Zellkörper ist zunächst weiterhin im Vergleich zum Zellinneren, aber auch im Vergleich zum Bereich der apikalen Dendriten, positiv geladen. Zwischen Dendriten („sink“) und Zellkörpern („source“) bilden sich somit Feldlinien aus. Das extrazellulär im Bereich der Zellkörper registrierbare Potential besitzt eine positive Polarität.

Wenn die Stimulation stark genug ist und die Entladungsschwelle der Granularzellen erreicht wird, werden Aktionspotentiale generiert. Das fEPSP wird damit vom Summenaktionspotential überlagert. Im Bereich des Zellsomas öffnen sich spannungsabhängige Natriumkanäle, so dass es zu einem Einstrom positiv geladener Ionen kommt. Dieser Natrium Einstrom weist eine dem EPSP entgegengesetzte Polarität auf. Durch die gleichzeitige Entladung vieler Granularzellen kann ein Summenaktionspotential - der Populationsspike gemessen werden.



**Abbildung 2.4 | Entstehung des Populationsspikes** (modifiziert nach Bliss et al. 1973)

Die anatomischen Grundlagen im *Gyrus dentatus* sind auf der rechten Seite der Abbildung dargestellt, während die linke Seite eine schematische Darstellung einer Granularzelle mit den für das Verständnis der Entstehung des Populationsspikes notwendigen Feldlinien (roter Pfeil) und den elektrischen Ladungen zeigt. Beispielhaft ist ein Populationsspike, der im Bereich der Zellkörper gemessen wird, dargestellt. Der gelbe Blitz symbolisiert die elektrische Stimulation des *Tractus perforans*. Als gestrichelter Pfeil ist die elektrotonische Weiterleitung zum Zellkörper dargestellt. Da es sich um ein Summenaktionspotential handelt, sind die

Vorgänge an einer einzelnen Zelle nicht ausreichend, damit ein Populationsspike gemessen werden kann. Je größer der messbare Populationsspike ist, desto mehr Granularzellen in der Nähe der Ableitelektrode feuern gleichzeitig (Andersen et al. 1971). Nähere Erklärungen zur Entstehung des Populationsspikes sind im Text beschrieben. TP: *Tractus perforans*.



## 2.4 Magnetresonanztomographie

Im Gegensatz zur Ableitung lokaler Feldpotenziale ist die Magnetresonanztomographie (MRT) eine nicht invasive Methode, bei der bisher keine schädlichen Auswirkungen nachgewiesen werden konnten (Redding et al. 2017; Fatahi et al. 2016). Sie zählt zu den bildgebenden Verfahren und wird in der Medizin hauptsächlich eingesetzt, um Aufnahmen von Geweben und Organen für die Diagnostik zu erstellen.

Bei der Magnetresonanztomografie werden starke Magnetfelder (bis zu 16,4 Tesla bei Kleintier-MRTs) verwendet, um die physikalische Eigenschaft des Kernspins zu nutzen. Atomkerne mit einer ungeraden Anzahl an Protonen oder Neutronen haben einen Kernspin (Eigendrehimpuls) und besitzen daher ein magnetisches Dipolmoment. Besonders wichtig für die Magnetresonanztomographie sind wegen ihrer Häufigkeit im Körper Wasserstoffatome. In einem starken Magnetfeld, wie es bei der MRT verwendet wird, richten sich die Kernspins entweder in Richtung des magnetischen Felds aus, oder in die entgegengesetzte Richtung des Magnetfelds. Dabei sind die in Richtung des Magnetfelds ausgerichteten Spins leicht in der Überzahl. Dadurch entsteht nach außen hin eine schwache Magnetisierung. Die Spins präzessieren mit der sogenannten Larmorfrequenz, die von der Stärke des Magnetfeldes und vom Kerntyp abhängt, um ihre eigene Achse. Wirkt ein hochfrequenter Puls (HF-Puls) mit der Larmorfrequenz senkrecht auf die Spins, so ändern die Spins ihre Richtung und präzessieren mit der gleichen Phase (Quermagnetisierung). Anschließend richten sich die Spins wieder entlang des Magnetfeldes aus, was als Relaxation bezeichnet wird. Die Relaxation besteht aus zwei voneinander unabhängigen Prozessen, dem Zerfall der Quermagnetisierung und dem Aufbau der Längsmagnetisierung. Die Quermagnetisierung zerfällt schneller (innerhalb der Zeit  $T_2$ ) als sich die Längsmagnetisierung wiederaufbaut (in der Zeit  $T_1$ ). Durch Magnetfeldinhomogenitäten, deren Gründe unter anderem in der technischen Inhomogenität des Magneten liegen, zerfällt die Quermagnetisierung tatsächlich schneller (in der Zeit  $T_2^*$ ).

Die Relaxationszeiten sind gewebespezifisch unterschiedlich und hängen außerdem von der Feldstärke ab. Durch Induktion, die sich durch die Änderung der Richtung der Spins ergibt, entsteht in der Messspule eine Spannung.

Für die Ortskodierung der Signale werden Gradienten genutzt. Unter einem Gradienten versteht man die Änderung der Stärke des Magnetfeldes in einer bestimmten Richtung. Da die Larmorfrequenz der Spins von der Stärke des Magnetfeldes abhängt, können Gradienten in den drei Raumrichtungen für die Ortskodierung (Frequenz- und Phasenkodierung) verwendet werden. Die Larmorfrequenz ist also an verschiedenen Stellen unterschiedlich. Aus den gemessenen Informationen kann mit Hilfe der Fourier Transformation ein zweidimensionales Bild berechnet werden. Es entsteht ein MR-Bild aus verschiedenen Grauwerten.

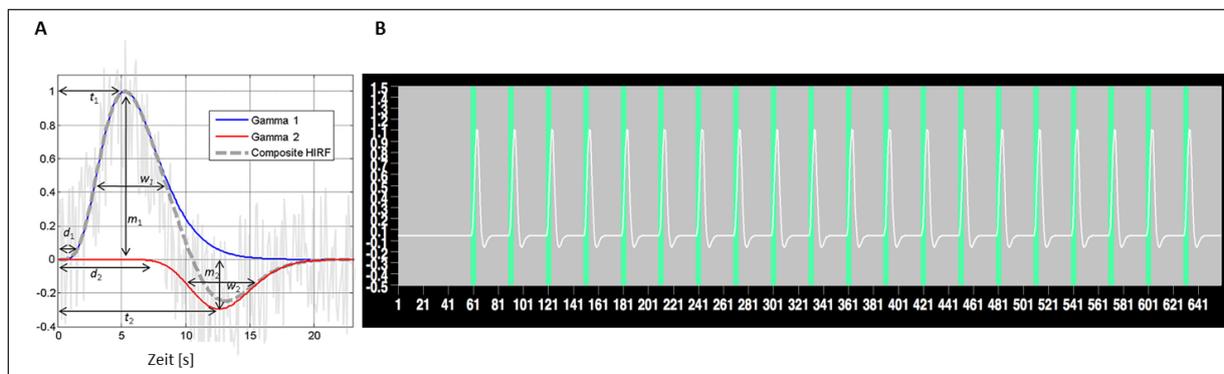
### 2.4.1 Funktionelle Magnetresonanztomographie

Während die Magnetresonanztomografie in der Medizin vor allem zur Diagnostik eingesetzt wird, dient die fMRT (funktionelle Magnetresonanztomografie) häufiger der Erforschung von Funktionen des Gehirns (Logothetis 2008; Ogawa et al. 1993; Ogawa et al. 1990). Bei der fMRT wird oft die BOLD (Blut Sauerstoffgehalt abhängige: *blood oxygenation level - dependent*) Antwort auf einen Stimulus untersucht (Arthurs & Boniface 2002; Kim & Ress 2016; Haller & Bartsch 2009). Die Grundlage dafür sind die unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften von oxygeniertem- und desoxygeniertem Hämoglobin. Oxygeniertes Hämoglobin ist paramagnetisch, während desoxygeniertes Hämoglobin diamagnetisch ist. Durch diamagnetisches desoxygeniertes Hämoglobin entstehen Magnetfeldinhomogenitäten. Die Spins dephasieren also schneller und die Stärke des gemessenen MRT Signals ist geringer. Erfasst werden die Veränderungen des Oxygenierungsgrads des Blutes meist mit T2\* gewichteten Messungen (Haller & Bartsch 2009). Beschrieben wird die Änderung des oxygenierten Hämoglobins auf einen Stimulus mit der hämodynamischen Antwortfunktion (haemodynamic response function - HRF) (Martin 2014; Haller & Bartsch 2009). Die Reaktion der BOLD Antwort beginnt normalerweise ca. 500 ms nach Stimulusbeginn und erreicht ihren Höhepunkt 3-5 Sekunden später (Hillman 2014). Veränderungen im BOLD Signal auf einen Stimulus werden also immer im Vergleich zum Ruhezustand gemessen und werden daher nicht als Absolutwerte angegeben.

Die BOLD Antwort wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst, die noch nicht genau erforscht sind. Dazu zählen der zerebrale Blutfluss (*cerebral blood flow - CBF*), das zerebrale

Blutvolumen (*cerebral blood volume* - CBV) und der zerebrale metabolische Verbrauch von Sauerstoff (*cerebral metabolic rate of oxygen consumption* -CMRO<sub>2</sub>).

Mit der funktionellen Magnetresonanztomografie können Veränderungen von BOLD Signal Intensitäten im gesamten Gehirn mit hoher räumlicher Auflösung (z.B. 400x400x800 µm) dargestellt werden. Die zeitliche Auflösung ist aufgrund der hämodynamischen Trägheit, im Gegensatz zur Registrierung lokaler Feldpotenziale jedoch gering. Durch Kombination der beiden Methoden können die Vorteile beider Verfahren genutzt werden. Ein weiterer Vorteil gleichzeitig die neuronale Antwort elektrophysiologisch zu erfassen und zur selben Zeit die BOLD Antwort zu messen ist, dass damit der Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und BOLD erforscht werden kann.



**Abbildung 2.4.1 | Hämodynamische Antwortfunktion** (modifiziert nach Martin 2014)

A: Darstellung der hämodynamischen Antwortfunktion (graue, gestrichelte Linie). Die HRF setzt sich typischerweise aus zwei Gamma Funktionen zusammen (rot und blau). In hellgrau ist die verrauschte Messung abgebildet. B: Beispiel für die HRF einer 22 minütigen Messung (2 Minuten Baseline, 20 Minuten mit Stimulation). In grün dargestellt sind die Phasen der Stimulation, weis die angenommene HRF. Die Werte der x-Achse geben die Wiederholungen an. Alle 2 Sekunden entsteht in diesem Beispiel somit eine funktionelle Aufnahme.

## 2.5 Neurovaskuläre Kopplung

Unter neurovaskulärer Kopplung versteht man den Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivierung und der darauffolgenden Veränderungen des lokalen zerebralen Blutflusses (*CBF* - *cerebral blood flow*). Da das Gehirn keine Energiespeicher besitzt, ist dieser Mechanismus von erheblicher Bedeutung für die Energie- und Sauerstoffversorgung der Gehirnzellen (Attwell et al. 2010; Robinson & Jackson 2016), sowie den Abtransport von Stoffwechselprodukten wie Laktat und Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) (Drake & Iadecola 2007). Den größten Teil des Energieverbrauchs macht die Wiederherstellung des

Ruhemembranpotentials aktivierter Neurone aus (Harris et al. 2012). Während einer verstärkten neuronalen Aktivität erhöht sich lokal die Blutversorgung, wodurch der Sauerstofftransport in das Zielgebiet deutlich den Sauerstoffverbrauch der aktivierten Neurone übersteigt (Leithner & Royl 2014; Fox & Raichle 1986). Dies wird auch als funktionelle Hyperämie bezeichnet (Attwell et al. 2010; Longden et al. 2016). Eine mögliche Ursache für den höheren Blutfluss in die aktivierte Region ist, dass dies als Schutzmechanismus fungiert, da das Gehirn nach mehr als einer Sekunde Sauerstoffmangel Schaden nehmen würde (Leithner & Royl 2014). Im Gehirn sind Neurone, Gliazellen, Blutgefäße und Endothelzellen anatomisch und funktionell eng verknüpft (Chen et al. 2014; Drake & Iadecola 2007; Lecrux & Hamel 2011) und werden deshalb auch als „neurovaskuläre Einheit“ bezeichnet (Drake & Iadecola 2007; Longden et al. 2016; Dormanns et al. 2016; Lecrux & Hamel 2011). Je nach Größe und Art der Blutgefäße sind verschiedene Zelltypen an der neurovaskulären Kopplung beteiligt. Große zerebrale Arterien an der Oberfläche des Gehirns verästeln sich in kleinere Arterien und Arteriolen. Im Folgenden wird die Beteiligung der einzelnen Zelltypen kurz beschrieben, wobei es sich jedoch immer um ein Zusammenspiel der Bestandteile der neurovaskulären Einheit handelt, die sich gegenseitig beeinflussen und deren Zusammenhänge hier nur unvollständig beschrieben werden können.

### 2.5.1 Neurone

Erhöhte neuronale Aktivität führt mit einer Verzögerung von wenigen Sekunden zu einem Anstieg des zerebralen Blutflusses. Der Energie- und Sauerstoffverbrauch durch neuronale Aktivität kontrolliert jedoch nicht direkt den CBF, d.h. dass nicht ein Sauerstoff- oder Glukosemangel zur Steigerung des CBF führt (Attwell, David; Iadecola 2002; Fox & Raichle 1986). Glutamaterge Neurone beeinflussen auch nicht direkt die glatte Muskulatur der Blutgefäße. Wird Glutamat ausgeschüttet, bewirkt dies über Calcium- abhängige Signalkaskaden die Freisetzung vasoaktiver Substanzen, wie z.B. Arachidonsäure und Stickstoffmonoxid (NO) (Drake & Iadecola 2007; Attwell et al. 2010; Litwack 2014). Bei einer glutamatergen Transmission, die auch NMDA-Rezeptoren aktiviert, wird die an NMDA-Rezeptoren gekoppelte NO-Synthase mit aktiviert, was zu einer NO-Ausschüttung führt. Dies bewirkt in der glatten Muskulatur der Gefäße eine Dilatation (Koehler et al. 2009; Dormanns et al. 2016; Busija et al. 2007). NO diffundiert schnell und vermittelt damit nicht

nur die schnellen Mechanismen der neurovaskulären Kopplung, sondern wirkt nicht nur lokal (Dormanns et al. 2016).

### 2.5.2 Interneurone

Vasomotorisch aktive Interneurone werden von Neuronen innerviert und haben einen direkten Kontakt zu Mikrogefäßen (Cauli 2004). Verschiedene Interneurontypen können sowohl zur Vasokonstriktion als auch zur Vasodilatation führen. In einer *in vitro* Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Ausschüttung von vasoactive intestinal Peptid (VIP) und Stickstoffmonoxid im cerebralen Cortex zu Vasodilatation führt, wohingegen die Freisetzung von Neuropeptid Y und Serotonin von Interneuronen zur Vasokonstriktion führt (Cauli 2004).

### 2.5.3 Astrocyten

Astrocyten, die untereinander über *gap junctions* verbunden sind, sind die am häufigsten vertretenen Gliazellen im Gehirn. Neben ihrer Funktion Glutamat und andere Neurotransmitter aus dem extrazellulären Raum zu entfernen, spielen sie eine wichtige Rolle bei der neurovaskulären Kopplung. Für die Vermittlerrolle zwischen Neuronen und Blutgefäßen spricht ihre Lage zwischen Neuronen und Blutgefäßen und die hohe Anzahl von Synapsen (ca.  $10^5$  /Astrocyt,) (Takano et al. 2006; Koehler et al. 2009; Drake & Iadecola 2007). Arteriolen sind eng mit den Endigungen von Astrocyten verknüpft, die den Durchmesser der Arteriolen beeinflussen können (Drake & Iadecola 2007; Metea 2006). Wird Glutamat, der häufigste erregende Neurotransmitter im Gehirn, freigesetzt, so bindet er unter anderem an metabotrope Glutamat Rezeptoren in der Astrocytenmembran, die Phospholipase C wird aktiviert, was zu einem intrazellulären Kalziumanstieg führt. Der durch neuronale Aktivität ausgelöste Kalziumanstieg in Astrocyten erfolgt mit einer Verzögerung von ca. 1,2 Sekunden. Der Kalziumanstieg in den Endfüßchen der Astrocyten aktiviert die Phospholipase A2, die Arachidonsäure mobilisiert. Über durch Arachidonsäure-Metabolite vermittelte Signalwege kommt es daraufhin zur Vasodilatation (Koehler et al. 2009). Astrocyten besitzen auch Adenosinrezeptoren, über deren Aktivierung es ebenfalls zu einem intrazellulären Kalziumanstieg kommen kann. Des Weiteren wird diskutiert, ob Adenosintriphosphat (ATP) von Astrocyten freigesetzt werden kann, das dann zu Adenosin hydrolysiert wird. Adenosin aktiviert Purinrezeptoren in der glatten Muskulatur und führt damit zur Dilatation der glatten

Muskulatur (Koehler et al. 2009). Astrocyten vermitteln jedoch nicht nur Vasodilatation, sondern auch Vasokonstriktion. In einer *in vitro* Studie konnte gezeigt werden, dass die gebildeten metabolischen Substrate entscheidend dafür sind, ob es zur Vasokonstriktion oder Vasodilatation kommt (Gordon et al. 2008). Bei Absenkung des Sauerstoffgehalts erhöht sich die intrazelluläre Kalziumkonzentration, Glykolyse und Laktatausschüttung werden erhöht. Sinkt jedoch die Sauerstoffkonzentration, erhöht sich der Gehalt des extrazellulären Adenosins, dass die Astrocyten vermittelte Verengung der Kapillaren verhindert und somit die Erweiterung gefördert wird (Gordon et al. 2008). Ein weiterer diskutierter Signalweg zur Beeinflussung des Blutflusses durch Astrocyten ist die Ausschüttung von Kalium. Schon eine relativ geringe Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration ( $\sim 10 \text{ mM } [K^+]_o$ ) führt zur Hyperpolarisation der Gefäßmuskulatur und damit zu einer Erweiterung der Gefäße (Koehler et al. 2009; Attwell et al. 2010; McCarron & Halpern 1990). Weitere Botenstoffe wie VIP, Noradrenalin, NO und Somatostatin werden als durch Astrocyten vermittelte Einflussfaktoren auf die neurovaskuläre Kopplung diskutiert (Koehler et al. 2009). Es gibt Hinweise, dass Astrocyten zusätzlich den tonischen, von neuronaler Aktivität unabhängigen, zerebralen Blutfluss beeinflussen können (Rosenecker et al. 2015).

### 2.5.4 Endothelzellen

Endothelzellen selbst können auch zur Vasodilatation beitragen und diese weiterleiten. In einer *in vivo* Studie konnte gezeigt werden, dass eine Unterbrechung der endothelialen Signalweiterleitung, als Reaktion auf Stimulation des somatosensorischen Cortexes, die retrograde Dilatation von Arterien in der Pia mater beeinträchtigt (Chen et al. 2014).

### 2.5.5 Pericyten

Neben den Astrocyten können auch Pericyten die Kontraktion der Blutgefäße und damit ihren Durchmesser regulieren (Moreno et al. 2013; Attwell et al. 2010; Peppiatt et al. 2006). Pericyten sind räumlich isolierte kontraktile Zellen, die an Kapillaren sowohl an geraden Abschnitten als auch an Verzweigungen anliegen und verschiedene Formen haben können (Attwell et al. 2015; Hamilton et al. 2010). *In vitro* Studien haben gezeigt, dass Pericyten auf vasoaktive Faktoren wie Angiotensin II, Endothelin 1 und Tromboxan A<sub>2</sub> mit Kontraktion reagieren, während Prostacyclin und die Catecholamine Serotonin, Histamin und

Noradrenalin eine Dilatation bewirken. Von Neuronen freigesetzte Botenstoffe wie NO und VIP wirken ebenfalls über Pericyten dilatierend. Außerdem reagieren Pericyten in Kultur mit einer Erweiterung von Blutgefäßen auf einen sinkenden pH-Wert. Eine Absenkung des extrazellulären pH-Werts tritt normalerweise in Folge von erhöhtem Energieverbrauchs von Zellen auf. Allerdings ist die Expression von kontraktilen Proteinen *in vitro* in Pericyten höher als *in vivo* (Hamilton et al. 2010).

### 2.5.6 Glatte Muskulatur

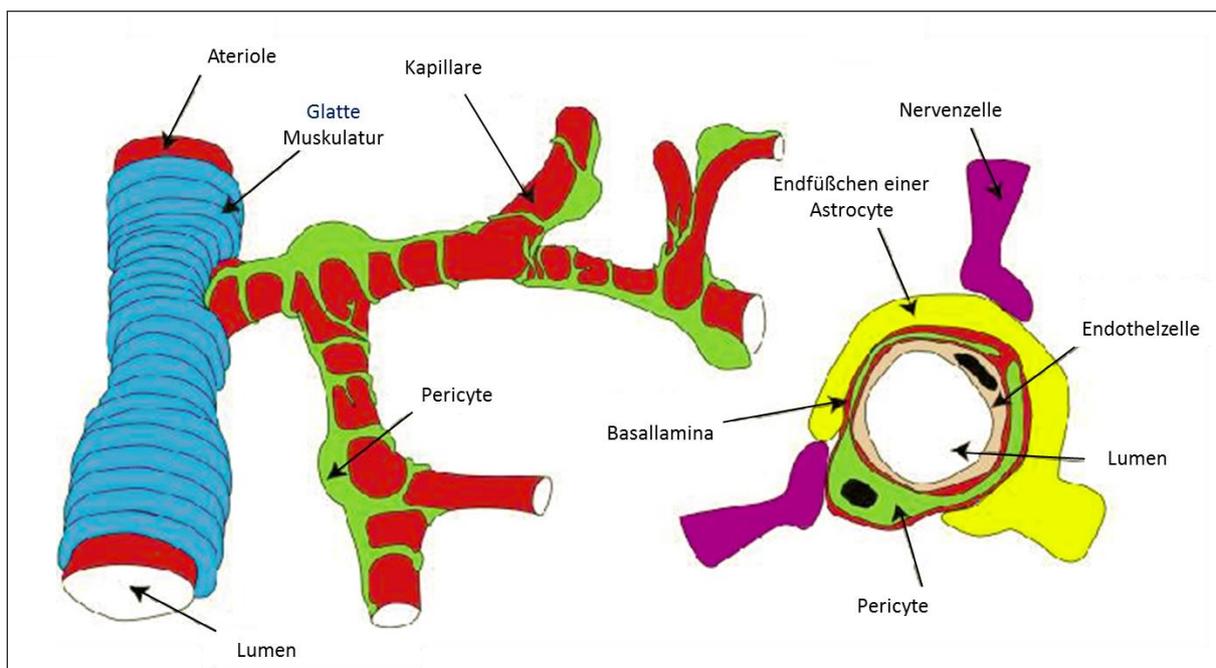
Arteriolen sind von mehreren Schichten glatter Muskulatur umgeben, während Kapillaren keine Muskulatur besitzen (Attwell et al. 2015). Wie im Abschnitt über die Beteiligung von Astrocyten an der neurovaskulären Kopplung bereits erwähnt, besitzt die glatte Muskulatur der Arteriolen Rezeptoren für Adenosin, deren Aktivierung zur Dilatation führt (Koehler et al. 2009). Kalium, das bei Aktivität von Neuronen als  $K^+$  Ionen in den Extrazellulärraum strömt, wird in manchen mathematischen Modellen so wie in *in vitro* und *in vivo* Studien ein wichtiger Einfluss auf die glatte Muskulatur zugeschrieben (Longden & Nelson 2016). Der Einstrom von Kalium über zelleinwärts gerichtete Ionenkanäle führt dabei zur Hyperpolarisation der Muskelzellen und damit zu deren Dilatation und somit zur Erweiterung der Arteriolen. Astrocyten scheinen in diesen Prozessen als Vermittler zu fungieren. Wie bereits erwähnt, reagiert die glatte Muskulatur auf NO Freisetzung mit Dilatation. Dabei aktiviert NO die Guanylatcyclase, was zu einer Erhöhung des zyklischen Guanosinmonophosphats (cGMP) führt (Litwack 2014). Besonders wichtig für die Kontrolle des Durchmessers von Arteriolen ist die sogenannte myogene Autoregulation. Eine Erhöhung des intravaskulären Drucks von 5 mm Hg auf 40 mm Hg führt zur Depolarisation des Membranpotentials der glatten Muskulatur, zu einem Kalziumanstieg und damit zur Konstriktion. Hyperpolarisation führt hingegen zur Dilatation (Longden et al. 2016).

### 2.5.7 Physikalische Grundlagen und Modelle

Es ist bisher immer noch nicht eindeutig geklärt ob die neurovaskuläre Kopplung primär durch *feedback*-Prozesse (d.h., durch Metabolite wie Laktat oder Adenosin, die bei erhöhter neuronaler Aktivität durch den Verbrauch von ATP entstehen) oder durch *feed-forward* Prozesse (d.h., durch neuronal induzierte und Glia-vermittelte Freisetzung von Transmitter

und vasoaktiven Substanzen) erfolgt (Attwell et al. 2010). Es existieren bisher verschiedene Modelle, deren Ziel es ist die Mechanismen der neurovaskulären Kopplung abzubilden (Kim & Ress 2016; Martin et al. 2006b; Zheng et al. 2010; Buxton et al. 2004), diese werden jedoch immer wieder angepasst, da die Zusammenhänge zwischen neuronaler Aktivität noch nicht vollständig geklärt sind und zusätzlich nicht in jeder Gehirnregion gleich ablaufen (Devonshire et al. 2012; Sloan et al. 2010). Außerdem kann bisher nicht zwischen dem Beitrag von exzitatorischen und inhibitorischen Neurone zur neurovaskulären Kopplung unterschieden werden (Arthurs & Boniface 2002).

Neben der neurovaskulären Kopplung spielt auch die Autoregulation, über die cerebrale Blutgefäße bei unterschiedlichem Blutdruck (60-150 mm Hg) den Blutfluss konstant halten, eine wichtige Rolle bei der Regulation des zerebralen Blutflusses (Litwack 2014; Filosa et al. 2016).



**Abbildung 2.5 | Aufbau der neurovaskulären Einheit mit den an der neurovaskulären Kopplung beteiligten Zelltypen** (modifiziert nach Hamilton et al. 2010)

Die Glatte Muskulatur umschließt Arteriolen ringförmig. Pericyten umschließen Blutgefäße hingegen nicht vollständig. Der rechte Teil der Abbildung zeigt einen Querschnitt durch eine Kapillare und die zur neurovaskulären Einheit gehörenden Zelltypen.

## 2.6 Zielstellung

Beim Menschen wird die fMRT genutzt um komplexe Funktionen des Gehirns wie beispielsweise Lern- und Gedächtnisprozesse zu erforschen. Da die fMRT nur indirekt Auskunft über die zu Grunde liegende neuronale Aktivität liefern, ist das Verständnis der neurovaskulären Kopplung besonders wichtig für die Beurteilung von fMRT Signalen (Zheng et al. 2010; Moreno et al. 2013; Logothetis & Pfeuffer 2004). BOLD Messungen gehören zu den häufigsten in der fMRT genutzten Methoden in der Erforschung von Gehirnfunktionen des Menschen, daher sind die Grundlagen der BOLD Entstehung von besonderer Wichtigkeit (Arthurs & Boniface 2002; Kim & Ress 2016; Logothetis & Pfeuffer 2004). Um die Zusammenhänge zwischen BOLD Antwort und neuronaler Aktivität zu erforschen, müssen verschiedenen Methoden kombiniert werden, um gleichzeitig die BOLD Antwort und die neuronale Aktivität messen zu können (Martin 2014; Angenstein 2014). Hier können Tierversuche, bei denen Elektrophysiologie und fMRT simultan kombiniert werden, einen bedeutenden Beitrag zur Erforschung der Zusammenhänge leisten (Martin 2014; Angenstein et al. 2007; Logothetis & Pfeuffer 2004; Logothetis 2003), da eine Kombination beider Methoden beim Menschen aus ethischen Gründen meist nicht möglich ist.

Eine Korrelation zwischen neuronaler Aktivität und daraus resultierender BOLD Antwort ist schwierig, da die verzögerte Reaktion des fMRT-Signals auf einen Stimulus im Sekunden-Bereich liegt, wohingegen die elektrophysiologische Antwort im Millisekunden-Bereich erfolgt. Somit wird also immer der Versuch unternommen, Signale mit unterschiedlicher räumlicher und zeitlicher Auflösung mit einander zu korrelieren (Henson & Rugg 2003; Heeger & Ress 2002). Zum Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und BOLD Signal existieren unterschiedliche Ergebnisse. Es wird diskutiert, ob die BOLD Antwort die Spiking-Aktivität (Kahn et al. 2013; Mukamel et al. 2005), synaptische Aktivität (Viswanathan & Freeman 2007; Raichle & Mintun 2006), bestimmte Frequenzbänder in den lokalen Feldpotenzialen (Nir et al. 2007; Niessing 2005; Ekstrom et al. 2009; Lu et al. 2016; Magri et al. 2012), die meistens eine Kombination aus prä- und postsynaptischen Signalen enthalten, oder die lokale Verarbeitung in neuronalen Netzwerken (Angenstein et al. 2009; Angenstein 2014; Canals et al. 2008; Harris 2010) am besten widerspiegelt. Dabei sind die Zusammenhänge zwischen BOLD Signal und Elektrophysiologie nicht unbedingt linear (Ekstrom 2010; Hewson-Stoate et al. 2005).

Mit dem experimentellen Ansatz, den *Tractus perforans* elektrisch zu stimulieren und gleichzeitig die Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* zu messen, während die BOLD Antwort im Hippocampus und im gesamten Gehirn erfasst wird, lässt sich eine definierte Eingangs-/synaptische Aktivität vorgeben, deren Ausgangsaktivität direkt elektrophysiologisch gemessen werden kann, da der *Tractus perforans* monosynaptisch zum *Gyrus dentatus* projiziert.

Stimulus-induzierte Signaländerungen, die mit der fMRT gemessen werden, liegen meistens in Bereichen von ca. 1-5%, so dass vor allem bei kurzen Stimuli größtenteils eine mehrfache Wiederholung des Stimulus erforderlich ist, um das Signal-Rausch Verhältnis zu verbessern (Haller & Bartsch 2009). Wiederholte Stimulation ermöglicht es zeitliche Veränderungen der neuronalen Aktivität und der resultierenden fMRT Antworten zu untersuchen. Daraus ergibt sich die Frage, wie vorangegangene Stimulation mit demselben, oder einem anderen Pulsmuster die nachfolgende Messung sowohl elektrophysiologisch als auch in Bezug auf das BOLD Signal beeinflusst. Die Frage nach dem Einfluss vorhergehender Stimulation lässt sich auf die Auswirkungen vorhergehender Messungen, so wie vorhergehender Stimulationen in einem anderen Kontext ausweiten.

Die Fragen, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden sollten waren:

1. Wie wirken sich vorhergehende Stimulationen auf kurz- und langfristige Veränderungen von neuronalem Antwortverhalten und den daraus resultierenden BOLD Antworten aus?
2. Lassen sich aus der gemessenen BOLD Antwort Rückschlüsse auf die zugrundeliegenden neurophysiologischen Aktivitätsmuster ziehen?
3. Wie beeinflusst der Kontext, in dem ein Stimulationsmuster präsentiert wird, die neurophysiologischen Antworten und die fMRT Signale?

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Herkunft und Haltung der Versuchstiere

Die für die Versuche verwendeten Wistar Ratten (Hannoveraner Stamm) stammten aus der hauseigenen Zucht des Leibniz-Instituts für Neurobiologie, Magdeburg. Zunächst befanden sich die Ratten in Gruppenhaltung von bis zu 5 Tieren. Die Ratten wurden im Alter von 8 bis 9 Wochen mit einem Gewicht von 270-320g in Käfigen aus Makrolon mit Metallabdeckung (M4, Bioscience; Castrop-Rauxel, Deutschland) aus der Tierhaltung des Leibniz-Instituts für Neurobiologie in die Interimstierhaltung des Speziallabors für nicht invasive Bildgebung gebracht. Dort herrschte eine relative Luftfeuchtigkeit von 50-60% und eine Temperatur von  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . Der Tag-/Nacht Zyklus wurde mit 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit simuliert, wobei die Lichtphase von 6 bis 18 Uhr andauerte. Futter (Sniff, R/M-H, Soest, Deutschland) und Wasser standen den Versuchstieren *ad libitum* zur Verfügung.

Vor Beginn der Präparation wurden die Ratten in Einzelkäfige (M3, Bioscience; Castrop-Rauxel, Deutschland) gesetzt.

Das Land Sachsen-Anhalt genehmigte die Versuche (1218DZNE).

#### 3.2 Vorbereitung der Elektroden

Sowohl die monopolare Ableitelektrode als auch die bipolare Reizelektrode bestanden aus MRT-kompatiblen Teflon-ummanteltem Wolfram Draht. ( $\text{Ø } 114 \mu\text{m}$ , Wolfram Teflon-isoliert, A-M Systems, Inc., Carlsborg, USA). Der Draht wurde zunächst in einem vom Leibniz-Institut für Neurobiologie entwickelten Spannapparat befestigt und an 5 mm breiten Pappstreifen festgeklebt (Araldit Rapid 2-Komponentenkleber; Roth). Um die Teflon-Isolierung zu entfernen, wurden die aus der Pappe herausragenden Enden einer Seite mit einem Feuerzeug abgeflammt.

### 3.3 Präparation und Elektrodenimplantation

Die Präparation erfolgte unter Pentobarbital (Pentobarbital sodium salt C-II, Sigma, Inc, 50 mg/kg intraperitoneal) Narkose. Um eine ausreichende Narkosetiefe sicherzustellen, wurde der Zwischenzehenreflex getestet und in entsprechenden Zeitabständen (1-2 Stunden) jeweils nachnarkotisiert.

Für die bewegungsfreie Positionierung der Elektroden wurden die Ratten in einer stereotaktischen Apparatur befestigt (TSE Systems, Bad Homburg, Deutschland bzw. STOELTING, Wood Dale, USA). Mit Hilfe von Ohrstiften wurden die Tiere eingespannt. Die Schneidezähne der Ratte wurden in der Zahnhalterung eingehakt und von oben mit einem Nasenbügel befestigt. Dabei wurde der Kopf der Tiere sowohl in der vertikalen als auch in der horizontalen Ebene gerade ausgerichtet.

Zunächst wurde mit einer Schere das Fell an der Kopfoberseite zwischen den Ohren und Richtung Nase entfernt. Anschließend wurde die Haut entlang der Sagittallinie mit einem Skalpell durchtrennt und zu den Seiten geklappt. Zur Fixierung wurden vier Arterienklemmen verwendet, die die Unterhaut während der weiteren Präparation nach außen hielten. Mit einem Heidemanspatel wurde die Knochenhaut auf der Schädeloberfläche entfernt und die Schädeloberfläche mit 3%iger Wasserstoffperoxid Lösung gereinigt und desinfiziert.

Für die korrekte Bestimmung der Elektrodenpositionen wurden die Mikromanipulatoren eingesetzt und die entsprechenden Stellen mit Tinte auf der Schädeloberfläche markiert. Die Position von Reiz- (RE) und Ableitelektrode (AE) wurde unter Zuhilfenahme des stereotaktischen Atlases von Paxinos & Watson (1998) bestimmt (AE: anterior-posterior (AP): -4,0 mm; medio-lateral (ML): 2,3 mm; dorsoventral (DV): 3,2-3,6 mm; RE: AP: -6,9 mm; ML: 4,1 mm; DV: 2,2-2,6 mm). Somit befand sich die Reizelektrode im *Tractus perforans*, die Ableitelektrode in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus*.

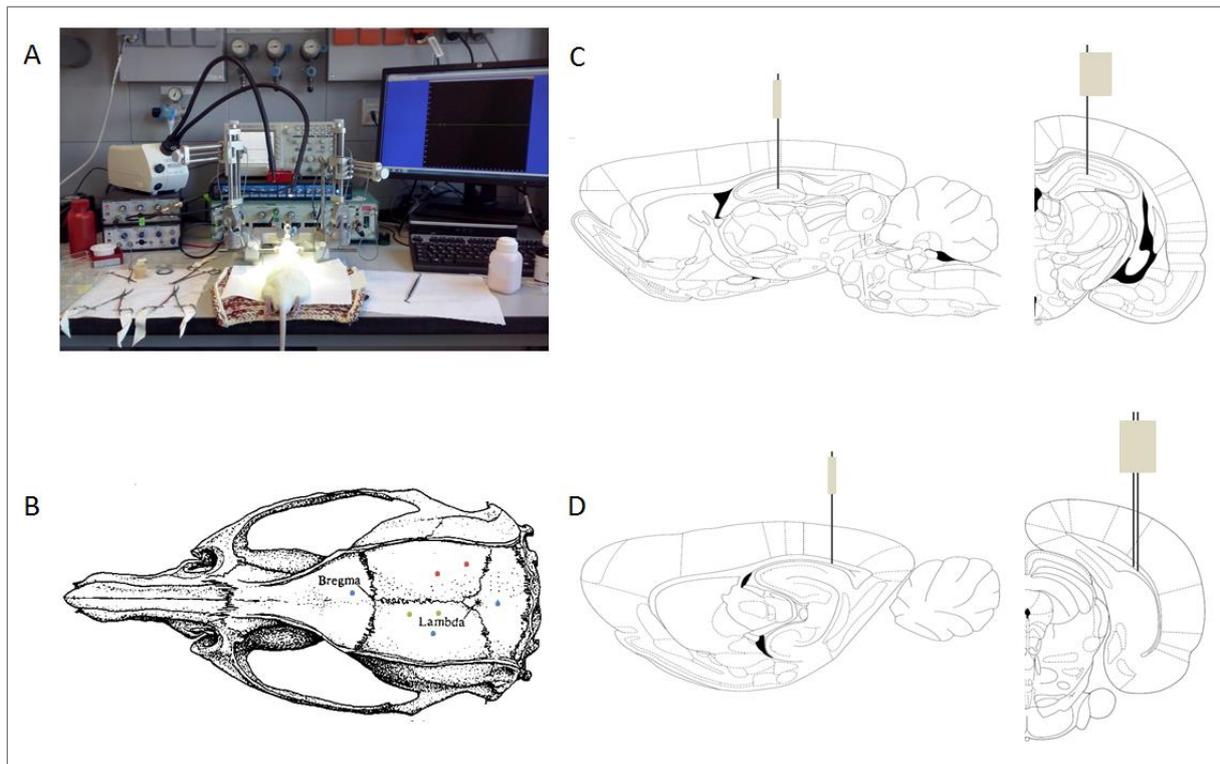
Anschließend wurden mit einem Zahnbohrer (Eickemeyer, Tuttlingen, Deutschland; mit Rosenkopfböhrer-Aufsatz 1,2 mm, Meisinger, Neuss, Deutschland) an den für Reiz- und Ableitelektrode bestimmten Positionen Löcher in das Schädeldach gebohrt. Zusätzlich wurden Löcher für Erdungs-/und Referenzelektrode aus Silberdraht und drei Plastikschrauben (0,80 x 0,125 mm, Plastics One Inc, Roanoke; USA) angebracht. Um die Auflagefläche zu vergrößern, wurden die Silberdrähte ( $\varnothing$  125  $\mu$ m, A-M Systems, Inc, Carlsborg, USA) an der Spitze kugelförmig angeschmolzen und anschließend epidural befestigt. Dazu wurde Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) verwendet.

Zunächst wurde dafür die Dura an Reiz- und Ableitstelle angeritzt. Nach Befestigung von Plastikschrauben und Erdungs-/und Referenzelektroden wurden Reiz- und Ableitelektrode so justiert, dass ein Summenaktionspotenzial mit maximaler Amplitude abgeleitet werden konnte. Die Silberdrähte sowie der Wolframdraht der Ableitelektrode wurden durch einen Plastiksockel (PVC-P, ThyssenKrupp Plastics GmbH, Garbsen) geführt, die Enden der Reizelektrode durch einen weiteren. Die Reizelektrode wurden mit einem Stimulator (A-M Systems, Inc, Carlsborg, USA) verbunden.

Die Signale, die mit der Ableitelektrode aufgenommen wurden, wurden verstärkt (differential AC amplifier, Modell 1700, A-M System, Carlsborg, USA) und am Oszilloskop (HM 507, HAMAG Instruments, Mainhausen Deutschland) sichtbar gemacht. Durch zusätzliche Übertragung zu einem PC konnte das Signal mit einem am Leibniz-Institut für Neurobiologie entwickelten Programm (INTRACELL) aufgezeichnet und gespeichert werden. Für die Umwandlung von analogen in digitale Signale wurde ein Analog-/Digitalwandler (CED 1401+; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) verwendet. Mit Hilfe von Testpulsen (biphasische Rechteckpulse, Dauer 0,1 msec, 400  $\mu$ A) wurden die an den Mikromanipulatoren eingespannten Elektroden auf die endgültige Tiefe eingestellt.

Etwa 30 Minuten nach Erreichen der endgültigen Elektrodenpositionen wurden Plastikschrauben, Plastiksockel und Elektroden durch den zuvor verwendeten Zahnzement zu einem Sockel verbunden.

Die Wundränder wurden mit Wundpuder (Chlorhexidin Heilpuder, RIEMSER Pharma GmbH, Greifswald) versorgt und den Tieren eine Kombination aus Schmerzmittel und Antibiotikum subkutan (2,5 mg/kg Resflor, Merck MSD Animal Health GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) injiziert. Zwischen dem Präparationstag und dem Beginn der Versuche lag mindestens eine Woche. Die Versuchstiere wurden ab der Präparation in Einzelkäfigen gehalten.



**Abbildung 3.1 | Präparation und Elektrodenposition** (modifiziert nach Paxinos & Watson 1998):

A: Ratte eingespannt in der Stereotaxie vor Beginn der Präparation. Dargestellt sind die während der Präparation verwendeten Geräte. Am PC wurden die gemessenen Signale mit INTRACELL dargestellt. B: Rattenschädel einer männlichen Wistar Ratte. Eingezeichnet sind die Elektrodenpositionen (rot), die Position der Schrauben, mit denen der Sockel aus Zahnzement befestigt wurde (blau) und die Referenz- und Ableitелеktroden (grün). C: Position der monopolaren Ableitелеktrode (coronale und sagittale Ansicht). D: Position der bipolaren Stimulationselektrode (coronale und sagittale Ansicht).

### 3.4 Kombinierte fMRT - Elektrophysiologie Messungen

Die kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen wurden mit einem 4,7 T Kleintier-MRT (4,7 Tesla Bruker Biospec 47/20 Magnetresonanz-Scanner (Bruker Bio Spin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland)) mit einem Innendurchmesser von 20 cm durchgeführt. Der Kleintierscanner war mit einem BGA12 (400 mT/m) Gradientensystem (Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) ausgerüstet. Ein Kleintier-Spulensystem (50 mm (DotyScientific Inc., Columbus, SC, USA)) wurde für die Radiofrequenz (RF) Anregung und die Signalaufnahme genutzt. Die Kabel der Reiz-/ und Ableitелеktroden wurden durch die Öffnung des Kleintier-MRTs gelegt und mit Stimulator und Verstärker verbunden, die sich im benachbarten Raum zum MRT befanden, um Störungen durch die Geräte zu vermeiden.

Vor Beginn der Messung wurde die Ratte gewogen um die Dosis für den initialen Bolus der Medetomidin-Gabe während der kombinierten fMRT-Elektrophysiologie-Messung bestimmen zu können. Zunächst wurde das Versuchstier mit Isofluran (2% gemischt mit N<sub>2</sub>:O<sub>2</sub>, 50:50 v:v) narkotisiert. Dazu wurde die Ratte in einen Plastikbehälter gesetzt, in den das Narkosegasgemisch einströmen konnte.

Anschließend wurde die Ableitbarkeit des Populationsspikes getestet. Hierfür wurde das Versuchstier auf die Kunststoffliege gelegt. Anschließend wurden die vorderen Schneidezähne der Ratte in den schwenkbaren Zahnhalter eingehakt und die Gaszufuhr so umgeschaltet, dass das Tier weiterhin immobilisiert blieb.

Für die Bestimmung der Amplitude des Populationsspikes wurde ein biphasischer Rechteckpuls mit einer Impulsbreite von 0,2 ms pro Halbwelle verwendet. Die Populationsspikes wurden verstärkt (Verstärkungsfaktor 100, Verstärker: differential AC Amplifier, Modell 1700, A-M System, Carlsborg, USA), am Oszilloskop (HM 507, HAMAG Instruments, Mainhausen Deutschland) dargestellt und mit INTRACELL aufgezeichnet. Die Zwischenschaltung eines Analog-/Digitalwandler (CED 1401+; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) war notwendig, um die abgeleiteten Signale auf dem PC darzustellen und zu speichern.

Um ein Tier für eine Messung zu verwenden, wurde eine Populationsspike-Amplitude von mindestens 5 mV bei einer Reizintensität von 400 µA als Kriterium festgelegt. Wurde eine Ratte mehrmals innerhalb eines Versuches für kombinierten fMRT-elektrophysiologische Messungen verwendet, so galt das Kriterium ausschließlich für die erste Messung. Für alle weiteren Messungen war ein messbarer Populationsspike die Voraussetzung.

Erfüllte das Versuchstier die Kriterien für die Messung, wurde ein Anfangsbolus Medetomidin-hydrochlorid (Domitor®, Pfizer GmbH, Karlsruhe, Deutschland; Bolus von 50 µg/kg s.c.) gegeben. Die Narkose wurde nach 15 Minuten von der Inhalationsnarkose komplett auf Infusionsnarkose (100 µg/kg/Stunde subcutan (s.c.)) umgestellt.

Für die Bestimmung der Reizintensität wurde eine Input/Output-Kurve erstellt. Dazu wurde der *Tractus perforans* in Abständen von 2 Minuten gereizt (0,2 ms/Halbwelle, Abstand zwischen den Reizen 10 s). Die aus drei Einzelaufnahmen bei gleicher Reizintensität gemittelten Werte (Amplitude und Latenz der Populationsspikes und Anstieg des EPSPs) wurden aufgezeichnet. Die Reizintensität wurde in 100 µA-Schritten von 100 bis 600 µA erhöht. Ab 400 µA wurde der Abstand zwischen den Stimulationen mit unterschiedlicher Reizintensität auf 4 Minuten verlängert. Die Reizintensität für die kombinierte elektrophysiologische fMRT-Messung wurde für die meisten Versuche (bis auf die mit 500

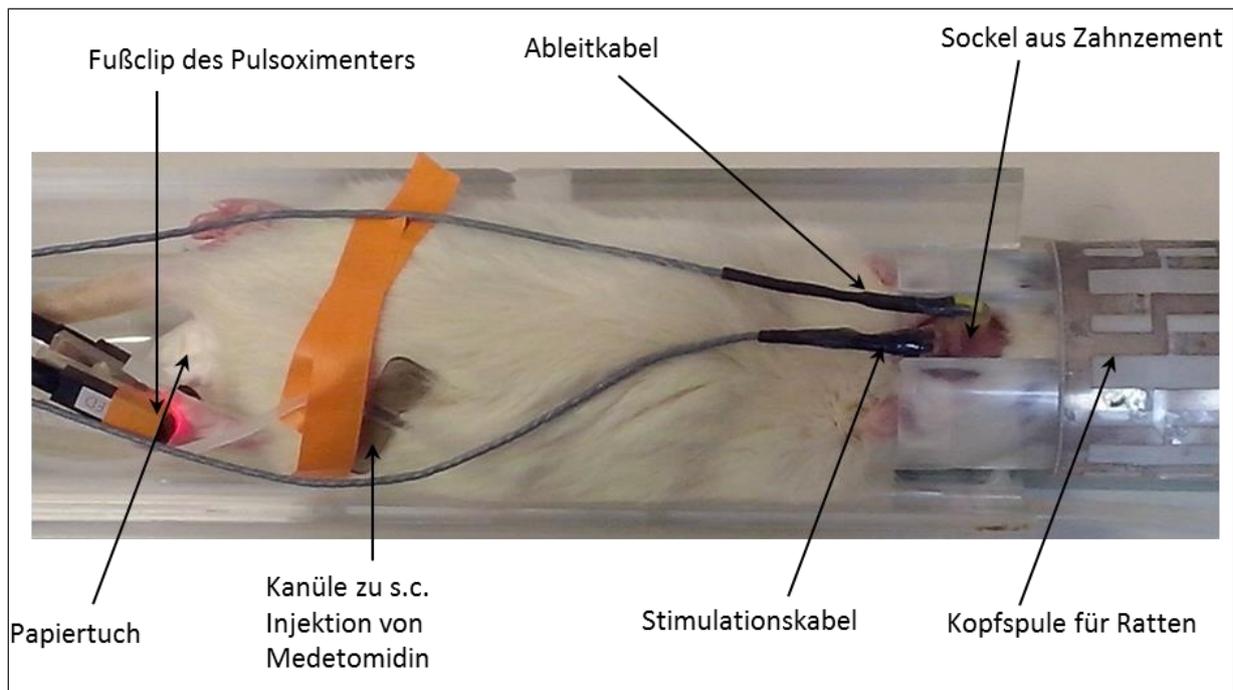
$\mu\text{A}$  stimulierte Gruppe) so gewählt, dass die Amplitude des Populationsspikes in etwa bei 50% der maximal erreichbaren Amplitude lag (d.h. die für die weitere Messung verwendete Reizintensität lag zwischen 200 und 300  $\mu\text{A}$ ).

Vor Beginn der funktionellen Messungen wurden anatomische Aufnahmen des Rattengehirns gemacht. Es wurden 10 horizontale  $T_2$  gewichtete Spin-Echo Aufnahmen mit einer RARE-Sequenz (*rapid acquisition relaxation enhanced*) mit den Parametern TR: 4000 ms, TE: 15 ms, Schichtdicke: 0,8 mm, Sichtfeld (FOV, *Field of view*): 37x37 mm, 265x265 Matrix, RARE-Faktor: 8 mit 4 Mittelungen, erstellt. Die Gesamtzeit der anatomischen Messung betrug 8 Minuten und 32 Sekunden. Für die 22 Minuten dauernde funktionelle MRT-Messung wurde eine EPI (echo planar imaging) Sequenz verwendet. Die Parameter hierfür waren: TR: 2000 ms, TE: 24 ms, Schichtdicke: 0,8 mm, FOV: 37x37 mm, 92x92 Matrix.

Die MRT Messungen wurden mit Hilfe der Software ParaVision 4.0 (Bruker Bio Spin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland) erstellt. Die Anzahl- und die Dicke der gemessenen Schichten waren bei der funktionellen Messung und der anatomischen Messung die gleiche.

Die Erfassung der Input/Output Kurve und die für die MRT-Messung notwendigen Einstellungen erfolgte zeitgleich. Während des gesamten Versuchs wurden die Blut-Sauerstoffsättigung so wie Atmungs- und Herzrate mit einem MRT kompatiblen Sensor (Pulse Oxymeter, MouseOx TM, Star Life Sciences Corp. Pittsburgh PA, USA) überwacht und über die zugehörige Software am PC dargestellt. Der Sensor zur Überwachung der Vitalfunktionen wurde vor Beginn der Messung am Fuß der Ratte angebracht. Das Versuchstier wurde durch Warmwasser-Schläuche in der Kunststoffliege von der ventralen Seite gewärmt, um einem Abfall der Körpertemperatur durch die Narkose entgegenzuwirken. Die Temperatur des Wassers im Umwälzthermostat (E5-B12, Roth) lag dabei bei 39-40°C.

Wenn die Ratte für Verhaltensversuche verwendet wurde, wurde dem Tier im Anschluss an die Messung Atipamezolihydrochloridum (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  s.c., Antisedan®, Provet AG, Lyssach, Schweiz) s.c. injiziert, um die folgenden Verhaltensversuche nicht durch Nachwirkungen der Narkose zu beeinflussen.



**Abbildung 3.2 | Ratte kurz vor Beginn der fMRT/Elektrophysiologie Messung**

Bevor der Kopf der Ratte in die Spule gezogen wurde, wurden die Kanüle zur Aufrechterhaltung der Narkose, und der Fußclip des Pulsoximeters befestigt. Das Papiertuch wurde benötigt, da Medetomidin muskelrelaxierend wirkt.

### 3.5 Stimulationsprotokolle

Jedes der Stimulationsprotokolle dauerte 20 Minuten und begann mit einer 2 Minuten andauernden Baseline. Anschließend wurde pro Minute 8 Sekunden lang stimuliert. Damit ergab sich eine Ruhephase von 52 Sekunden zwischen den Stimulationsphasen.

Die elektrophysiologische Antwort der Granularzellen des *Gyrus dentatus* wurde ausschließlich während der Stimulationsphasen aufgezeichnet. Wurden Nachentladungen zwischen den *Trains* am Oszilloskop beobachtet, wurde dies zusätzlich notiert. In Abbildung 3.3 sind die verwendeten Stimulationsprotokolle dargestellt. Die mit INTRACELL aufgezeichneten Signale wurden zuvor zwischen 1 und 5 kHz gefiltert.

Für die verschiedenen Fragestellungen wurden folgende Protokolle verwendet:

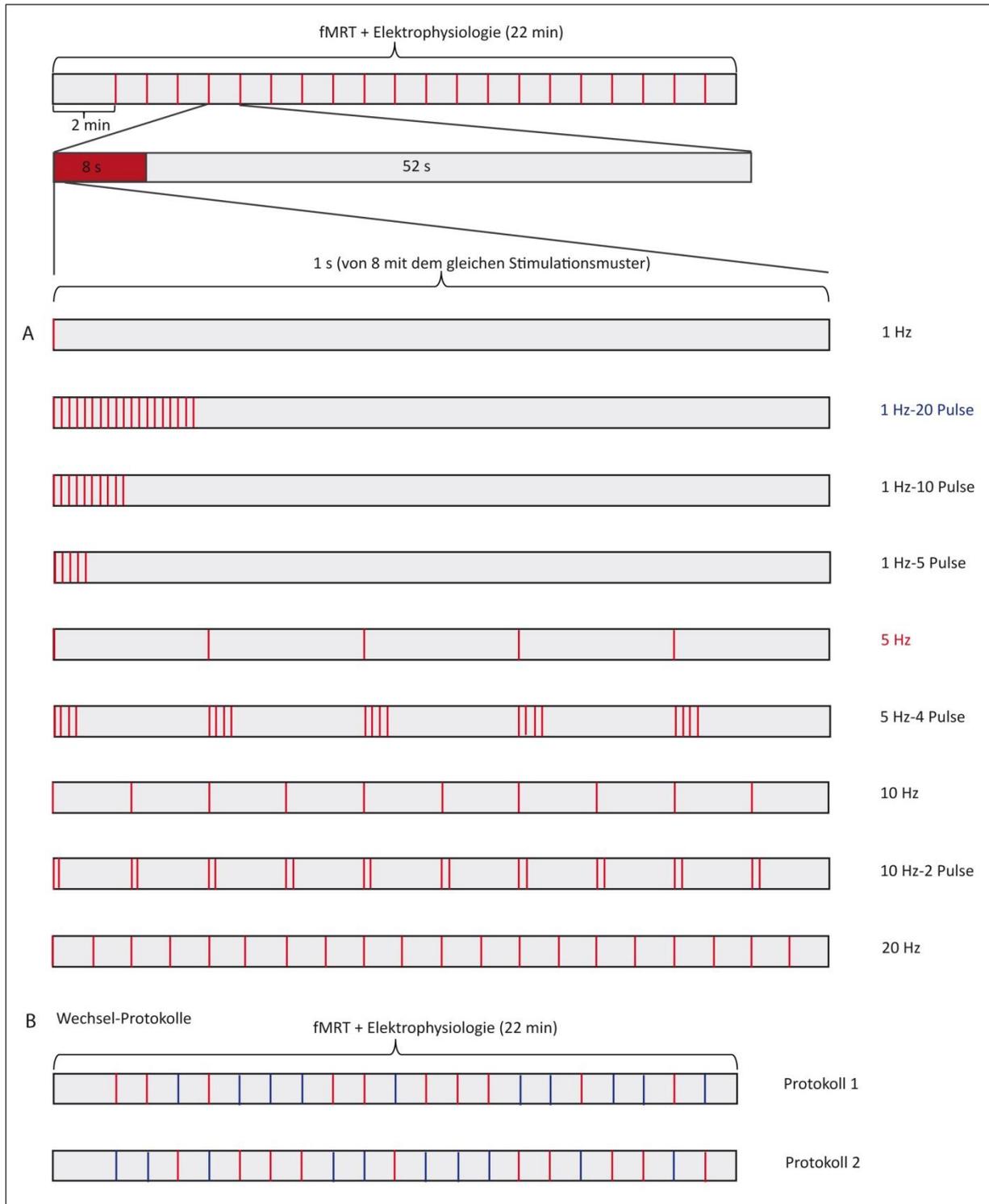
Experiment 1 (kontinuierliche Stimulation): 1 Hz, 5 Hz, 10 Hz, 20 Hz

Experiment 2 (1 Hz Grundrhythmus mit unterschiedlicher Anzahl an Pulsen im 100 Hz Abstand): 1 Hz, 1 Hz-5 Pulse, 1 Hz-10 Pulse, 1 Hz-20 Pulse

Experiment 3 (gleich Anzahl von Pulsen (20) bei unterschiedlichen Stimulationsmustern): 5 Hz-4 Pulse, 10 Hz-2 Pulse, 1 Hz-20 Pulse

Die Abtastrate für die elektrophysiologischen Signale lag bei 10 kHz.

Die Protokolle, die für die Untersuchung des Einflusses vorhergehender Stimulation des *Tractus perforans* in vorhergehenden fMRT/Elektrophysiologie Messungen und zwischen Messzeitpunkten verwendeten wurden, sind in Abbildung 3.4 aufgeführt. Zusätzlich wurden fMRT/Elektrophysiologie Messungen mit dem 5 Hz Protokoll bei höherer Intensität (500  $\mu$ A) durchgeführt. Für diese Experimente lag die Abtastrate der elektrophysiologischen Signale bei 5 kHz.



**Abbildung 3.3 | Übersicht über die verwendeten Stimulationsprotokolle**

Alle Messungen dauerten 22 Minuten (2 Minuten Baseline-Messung ohne Stimulation, 20 Minuten mit Stimulation). Am Anfang jeder Minute wurde unabhängig vom Stimulationsprotokoll für 8 Sekunden stimuliert. Somit ergab sich eine Ruhephase von 52 s bis zur nächsten Stimulation. A: Darstellung der Stimulationsprotokolle. Jeder rote Strich symbolisiert die Gabe eines elektrischen Pulses. B: Verlauf der Wechsel-Protokolle. Dabei wurde mit 5 Hz (rot) und dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll (blau) stimuliert. Diese beiden Stimulationsprotokolle entsprechen den in (A) gezeigten Protokollen.

### 3.6 Lernexperimente in der Shuttle-Box

Ein Tag nach der ersten (initialen) fMRT Messung wurden die Tiere trainiert. Es wurde an den drei darauffolgenden Tagen für 1 Stunde pro Tag ( $\cong$  60 Trainingsdurchgänge, á 1 Minute) eine Lernaufgabe gestellt.

Hierfür wurde eine sogenannte aktive Vermeidungsaufgabe gewählt. Das Versuchstier bekam einen konditionierten Reiz (*CS conditioned stimulus*). Wurde die Aufgabe (Sprung über die Hürde auf die andere Seite der Box) nicht korrekt ausgeführt, folgte ein schmerzhafter unkonditionierter Reiz (*UCS unconditioned stimulus*). Für die aktive Vermeidungsaufgabe wurde eine Shuttle-Box (HASOMED GmbH, Magdeburg, Deutschland) genutzt. Diese Box bestand aus zwei gleich großen Bereichen (25 x 25 x 57 cm), die durch eine 5 cm hohe Hürde voneinander getrennt waren. Über die Gitterstäbe, die in Abständen von 1,5 cm den Boden der Box bilden, ließ sich ein Fusschock verabreichen.

Als bedingter Reiz (*CS conditioned stimulus*) wurden die Stimulationsparameter, die zuvor während der kombinierten Elektrophysiologie-fMRT Messung verwendet wurden, genutzt. Das bedeutet, dass die Tiere dieselben Stimulationsmuster (5 Hz/1 Hz-20 Pulse) ebenfalls für 8 Sekunden pro Minute präsentiert bekamen. Die Reizintensität wurde ebenfalls so gewählt, wie bei der fMRT Messung einen Tag zuvor. Sprang das Versuchstier nicht auf die andere Seite der Box, so wurde ein Fusschock von 1 mA verabreicht, der maximal 8 Sekunden andauerte.

Die Steuereinheit LAS (Learning Analysis System) der Shuttle-Box war mit dem Stimulator („isolated pulse stimulator“, Model 2100, A-M Systems, Carlsborg, USA) verbunden.

Reiz- und Ableitelektrode wurden mit einem 10 Kanal Swivel verbunden, der am Stimulator (Reizelektrode) und einen Verstärker (Ableitelektrode (differential AC amplifier, Modell 1700, A-M System, Carlsborg, USA)) angeschlossen war. Beide waren mit einem Analog-/Digitalwandler (CED 1401+; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) verbunden. Zusätzlich bestand eine Verbindung vom Verstärker zum Oszilloskop, an dem die abgeleiteten elektrophysiologischen Signale in Echtzeit angezeigt wurden.

Vor Beginn der Verhaltensversuche wurde den Tieren 15 Minuten Zeit gegeben, um sich an die unbekannte Umgebung zu gewöhnen. Für die 60 Versuchsdurchgänge wurden folgende Parameter erfasst: korrekte Antworten (Sprung innerhalb der vorgesehenen Zeit), Zeitpunkt des Sprungs, Anzahl der gegebenen Stimuli und die Anzahl der Sprünge zwischen den Versuchsdurchgängen. Diese Parameter wurden mit dem zum Shuttle-Box System gehörigen Programm (Active & Passive Avoidance /Learned Helplessness) aufgezeichnet. Zusätzlich

wurde sowohl vermerkt, wenn sich der Steckkontakt zwischen Reizelektrode und Swivel löste als auch, wenn auffällige Verhaltensänderungen (z.B. starkes Kopfschütteln) auftraten.

Nach Beendigung des Versuchs wurde die Shuttle-Box desinfiziert und mindestens 30 Minuten gewartet, bevor die nächste Ratte in die Versuchsapparatur gesetzt wurde. Damit sollte verhindert werden, dass die Tiere durch den Geruch der vorhergehenden Tiere beeinflusst wurden. Außerdem wurde darauf geachtet, dass die Versuche zur gleichen Tageszeit durchgeführt wurden, um Tageszeit-bedingte Veränderungen des Populationsspikes und Verhaltensreaktionen auszuschließen.

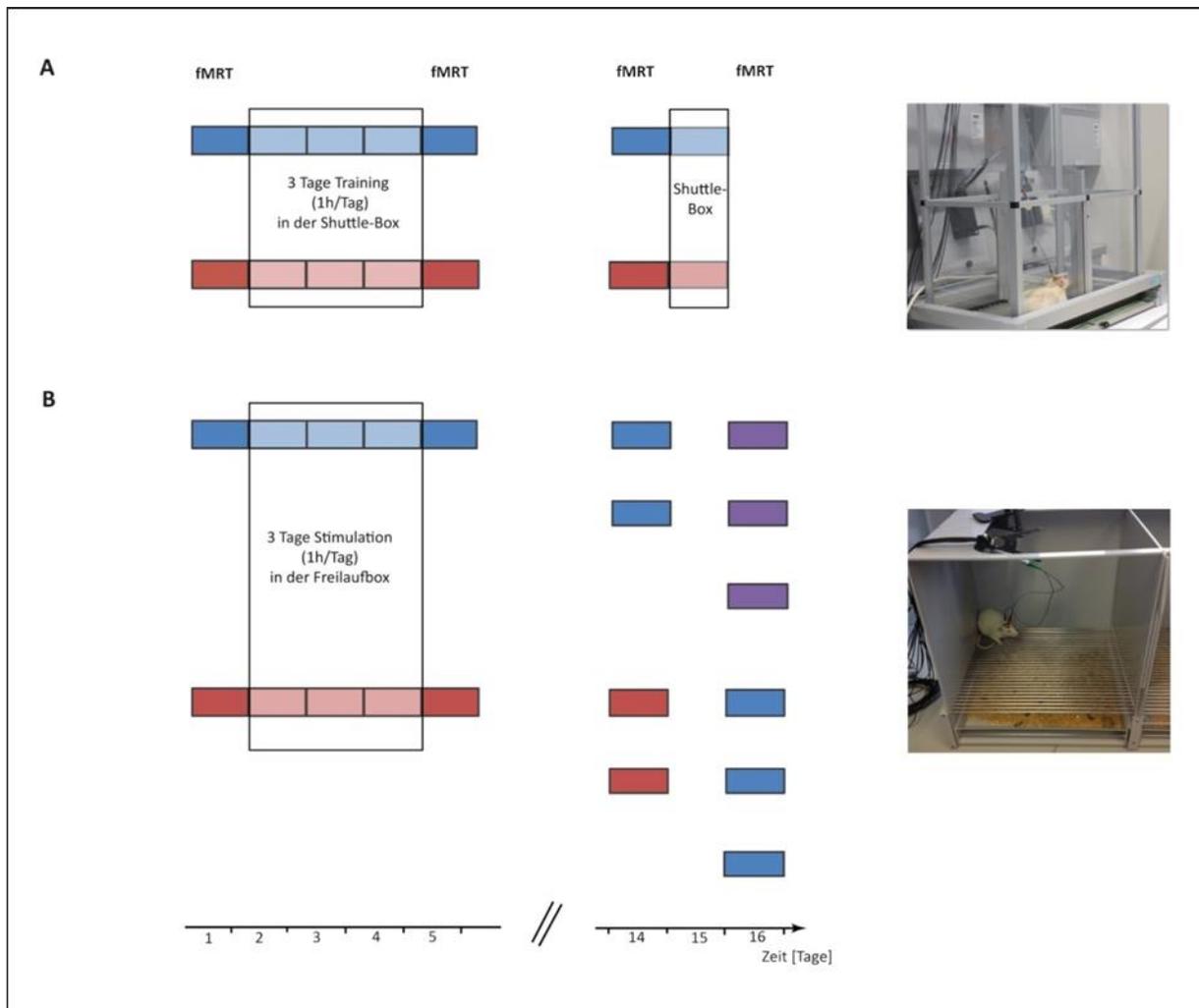
Nach zwei Wochen wurde der Lernversuch wiederholt (siehe Abbildung 3.4), um zu überprüfen, ob die Tiere sich an die Aufgabe erinnern konnten. Dabei wurde als CS wiederum das Stimulationsprotokoll verwendet, das sowohl bei der kombinierten elektrophysiologischen MRT Messung als auch während der Lernphase genutzt wurde.

### 3.7 Versuche in der Freilaufbox

Tiere der beiden Stimulationsgruppen (5 Hz/1 Hz-20 Pulse) wurden einen Tag nach der ersten kombinierten elektrophysiologischen MRT-Messung in eine Stimulations-/Ableitbox (gebaut von der hauseigenen Werkstatt des LIN, bestehend aus zwei von einander abgetrennten Bereichen mit den Abmessungen 40,5x41x12 cm) gesetzt. Somit konnten maximal zwei Tiere parallel gemessen werden. Ziel dieser Versuche war es, zu überprüfen welchen Einfluss eine Stimulation mit dem 5 Hz/1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne Verhaltensrelevanz auf die BOLD Antwort sowie auf die elektrophysiologisch messbaren Antworten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* hat.

Über den Swivel wurden die Ratten auf die gleiche Weise, wie für die Verhaltensversuche beschreiben, mit der elektrischen Versuchsapparatur verbunden. Die elektrophysiologischen Daten wurden mit dem Programm INTRACELL aufgenommen und auf einem PC gespeichert. Wie für die Shuttle-Box Versuche, wurden die Stimulationsprotokolle 5 Hz und 1 Hz-20 Pulse verwendet (siehe Stimulationsprotokolle). Nachdem sich die Tiere an die Umgebung gewöhnt hatten (hierfür wurden 15 Minuten eingeräumt), wurde für eine Stunde mit derselben Intensität (200-300  $\mu$ A) wie bei der kombinierten fMRT Messung stimuliert. Pro Minute wurde 6 Sekunden lang stimuliert, was dem Mittelwert der Pulsanzahl entsprach, die die Ratten in den Lerngruppen bekamen. Damit ergab sich eine Ruhephase von 54

Sekunden zwischen den Stimulationsphasen. An drei aufeinander folgenden Tagen wurde dieser Versuch durchgeführt, wobei darauf geachtet wurde, dass die Experimente täglich etwa zur selben Zeit stattfanden.



**Abbildung 3.4 | Schema des zeitlichen Ablaufs der Versuche mit mehr als zwei kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen**

A: Verhaltensversuche mit aktiver Vermeidungsaufgabe (Shuttle-Box). Rechts dargestellt ist ein Versuchstier während des Trainings. Zu sehen ist der Swivel, der Stimulations- und Ableitelektrode mit den zur Stimulation und zur Aufzeichnung verwendeten Geräten verbindet. B: Stimulationsgruppen und Kontrollversuche. Rechts abgebildet ist eine Ratte in der Freilaufbox, wobei hier nur einer von zwei Bereichen zu sehen ist. Rot: 5 Hz Protokoll, blau: 1 Hz-20 Pulse Protokoll, lila: 5 Hz-4 Pulse Protokoll. Stimulation im MRT sind dunkler dargestellt als in der Shuttle-Box bzw. in der Freilaufbox.

## 3.8 Auswertung und Datenanalyse

### 3.8.1 Lernexperimente in der Shuttle-Box

Die Daten: korrekte Versuchsdurchgänge (Sprung innerhalb der vorgesehenen Zeit), Zeitpunkt des Sprungs, Anzahl der gegebenen Stimuli und die Anzahl der Sprünge zwischen den Versuchsdurchgängen wurden vom zur Shuttle-Box gehörenden Programm als Textdateien gespeichert. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines von Dr. Horst Schicknick (LIN Magdeburg) für die Datenanalyse geschriebenen Makros, sodass die Parameter in Excel weiter analysiert und statistisch ausgewertet werden konnten. Für die Erstellung von Lernkurven wurden Blöcke von jeweils 10 Trainingsdurchgängen zusammengefasst und die Summe der korrekten Sprünge über alle Tiere einer Gruppe (5 Hz/1 Hz-20 Pulse) gebildet. Alle weiteren während der Verhaltensversuche gemessenen Parameter wurden zwischen den Gruppen verglichen.

### 3.8.2 Versuche in der Freilaufbox

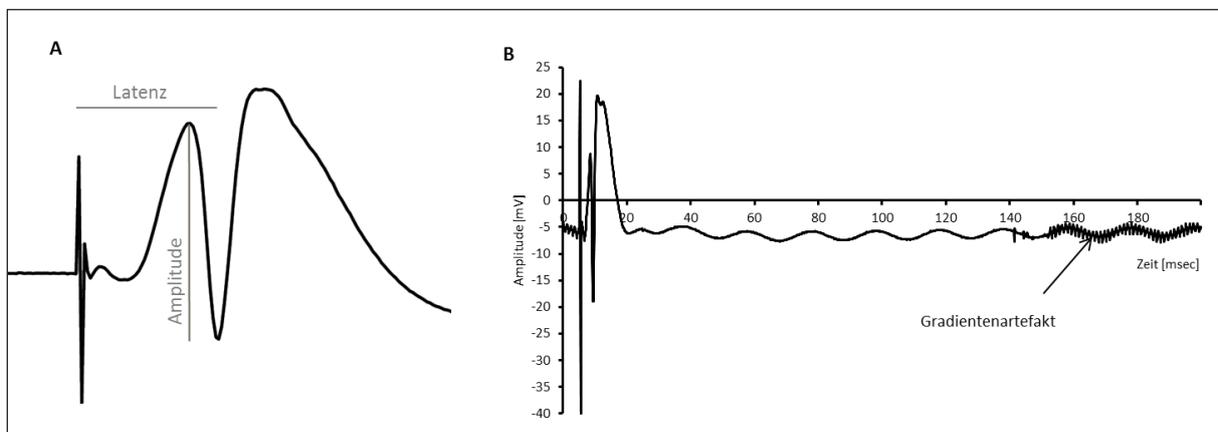
Bei den Kontrollgruppen zu den Lernversuchen wurden die Stimuli nicht mit einer Aufgabe verbunden. Die Ratten bekamen keinen Fußschock und konnten somit die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* nur damit assoziieren in der Freilaufbox zu sitzen. Die Habituation an die Umgebung erfolgte wie bei den Lerngruppen beschrieben. Verhaltensauffälligkeiten wie starkes Kopfschütteln wurden notiert.

### 3.8.3 Elektrophysiologische Daten

Die in INTRACELL aufgezeichneten lokalen Feldpotentiale aus der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* ergaben einen für das jeweilige Stimulationsmuster typischen Verlauf. Für die weitere Datenanalyse wurden die Amplitude des Populationsspikes (PSA, Differenz zwischen dem ersten Hochpunkt nach dem Reizartefakt und dem ersten darauffolgenden Tiefpunkt) und die Latenz (maximaler positiver Ausschlag des Reizartefakts bis zum negativsten Ausschlag des Populationsspikes) ermittelt (siehe Abbildung 3.5). Somit wurde die Ausgangsaktivität der Granularzellen erfasst.

Das fEPSP wurde nicht ausgewertet, da diese die tatsächliche synaptische Komponente nur unzureichend widerspiegelt (Frey & Frey, 2009). Eine zusätzliche Filterung war nicht notwendig, weil die durch die fMRT/Elektrophysiologie Messung entstehenden Artefakte im Vergleich zum Populationsspike gering waren (siehe Abbildung 3.5). Die Bestimmung von PSA und Latenz erfolgte soweit möglich mit INTRACELL.

War dies nicht möglich, wurden die Daten zunächst in Excel (2010) exportiert und entweder in Excel oder mit einer in MATLAB (Version R2007b) selbst entwickelten Auswertroutine weiterverarbeitet. Bei hochfrequente Pulsmuster enthaltenden Stimulationsprotokollen (100 Hz, Interpulszeit 10 ms) wurde ausschließlich der erste Populationsspike pro Pulsfolge ausgewertet, da weitere Populationsspiques - wenn überhaupt - nur unregelmäßig und nicht bei jedem Tier beobachtet werden konnten.



**Abbildung 3.5 | Elektrophysiologie**

A: Populationsspike, gemessen in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus*. Ausgewertet wurden die Amplitude und die Latenz. B: Darstellung des Verhältnisses zwischen Gradientenartefakt und Populationsspike.

Verschiedene Stimulationsprotokolle können eine unterschiedliche Anzahl von Populationsspiques/*Train* auslösen. Um verschiedene Protokolle miteinander vergleichen zu können, wurde aus allen Amplituden der Populationsspiques innerhalb eines *Trains* die Summe berechnet. Somit erhält man pro fMRT/Elektrophysiologie Messung 20 Werte, obwohl abhängig vom Stimulationsprotokoll eine unterschiedliche Anzahl an Populationsspiques pro *Train* gemessen wurde.

Da im Abschnitt 4.1 des Ergebnisteils vor allem die Auswirkungen vorhergehender *Trains* auf nachfolgende *Trains* untersucht werden sollten, wurde die PSA hier zuvor auf den ersten Populationsspike normalisiert. Die Amplitude des ersten Populationsspiques wurde dabei auf 1 festgesetzt. Somit wurde das Verhältnis aller nachfolgenden Populationsspiques zum ersten

Populationsspike berechnet. Anschließend wurde auch hier die Summe aus allen Populationsspikes innerhalb eines *Trains* berechnet. Die Latenzen wurden als Mittelwerte innerhalb der *Trains* angegeben, so dass hier ebenfalls unabhängig vom Stimulationsprotokoll 20 Werte pro Messung errechnet wurden (Abbildung 3.8).

### 3.8.4 Auswertung der MRT Messungen

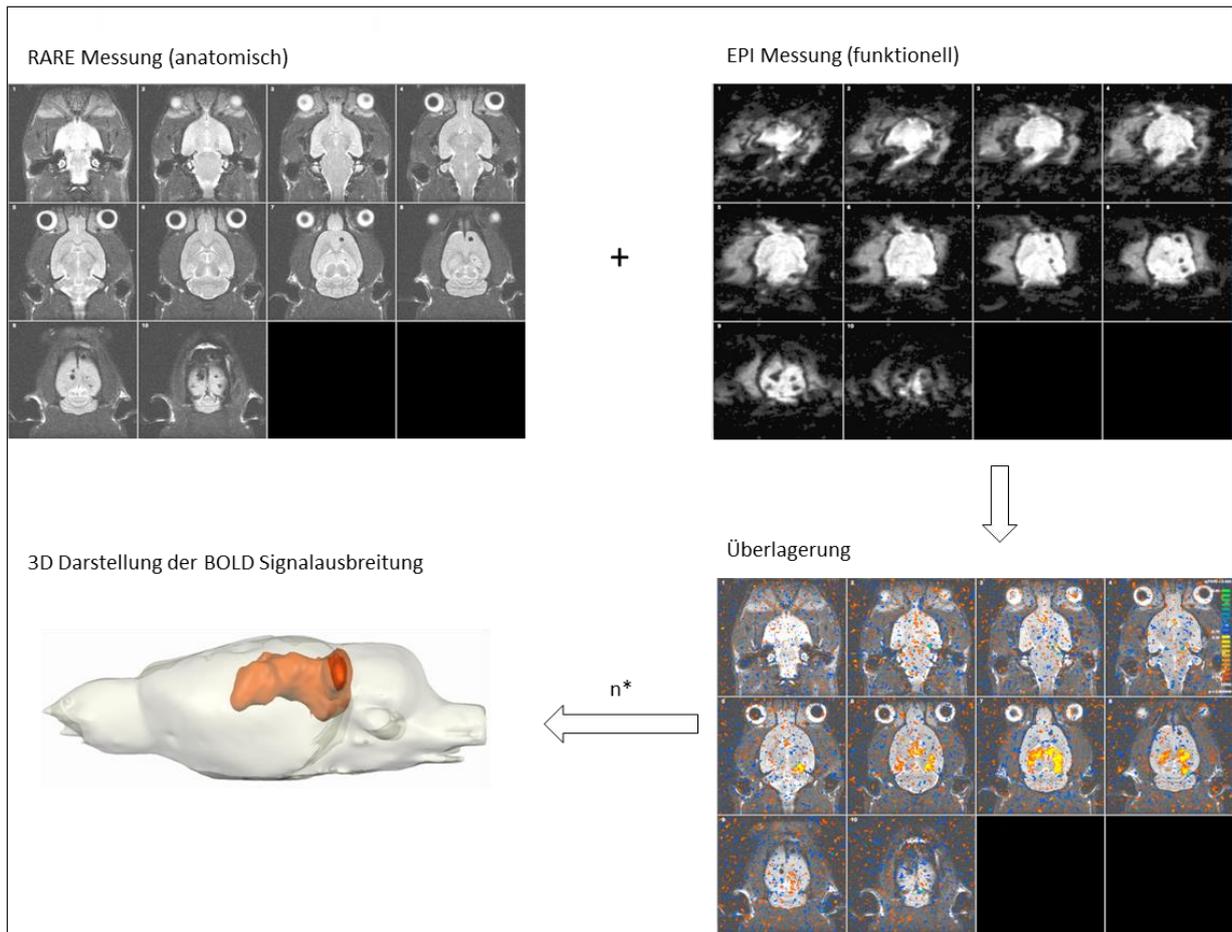
Die Messdaten wurden zunächst vom Bruker Format in ein BrainVoyager kompatibles Format umgewandelt. Anschließend wurden die Daten in BrainVoyager QX (Version 2.8 Maastricht, Niederlande) importiert. Zu den nächsten, in BrainVoyager implementierten Schritten, gehörten Zeitkorrektur („slice time correction“), dreidimensionale (3D) Bewegungskorrektur, räumliche Glättung und zeitliche Filterung. Für die 3D Bewegungskorrektur wurde eine trilineare Interpolation mit reduzierten Daten durchgeführt. Die zeitliche Filterung wurde mit der Hochpass GLM (generalized linear model)-Fourier Analyse (3 sinus/cosinus, Gauß-Filter mit einer Halbwertsbreite von 3 Datenpunkten) erstellt. Da die Rekonstruktion der fMRT Bilder durch ParaVision in eine 128x128 Matrix erfolgte, statt der für die Aufzeichnung verwendeten 92x92 Matrix, wurde eine räumliche Glättung (Gauß-Filter von 1,4 Voxel) durchgeführt. Um die funktionelle Aktivierung in den einzelnen Voxeln zu untersuchen, wurde die Korrelation zwischen der gemessenen BOLD Signalintensität und der hämodynamischen Antwortfunktion (HRF: *hemodynamic response function*) berechnet. Die hämodynamische Antwortfunktion ergab sich aus dem Stimulationsmuster (Stimulation und Ruhephase: 8 sec Stimulation/Minute, 52 s Ruhephase). Um die erwartete hämodynamische Antwort zu berechnen, wurden die durch Rechtecke repräsentierten Stimulationsphasen mit einer doppelten Gamma-HRF (Start bei Stimulus Beginn, 5 s bis zum Maximum, 15 Sekunden bis zur *Undershoot* Spitze) überlagert. Auf dieser Grundlage konnte ein Aktivierungsmuster generiert werden.

Für die VOI (Volume-of-Interest) Auswertung wurde für jede Region ein sogenanntes Cluster erstellt, d.h. die Regionen wurden in der 3D Abbildung des Rattenhirns markiert. Anschließend wurden alle in einer Region liegenden Voxel für die einzelnen Tiere weiter ausgewertet. Somit wurden sowohl signifikant aktivierte, als auch nicht aktivierte Voxel in die Auswertung mit einbezogen. Die 15 Cluster, in denen der BOLD Verlauf untersucht wurden sind in Abbildung 3.7 dargestellt. Alle so gewonnenen Daten wurden als Textdateien in Excel 2010 importiert und die BOLD Verläufe über alle Tiere in einer Region gemittelt

(arithmetisches Mittel, dargestellt mit Standardabweichung). Um die maximalen BOLD Antworten zu berechnen, wurde für jede Stimulationsphase (*Train*) der Zeitabschnitt von 12 Sekunden vor Stimulationsbeginn (entspricht 6 Messwerten) als Baseline gewählt und darauf bezogen der Maximalwert in den 18 folgenden Sekunden berechnet ( $\text{BOLD Signal}_{\text{stimulus}}/\text{BOLD Signal}_{\text{baseline}}100\%$ ). Der Zeitraum, aus dem die maximalen BOLD Signalintensitäten berechnet wurden, umfasste den Stimulationsbeginn bis 10 Sekunden nach Stimulationsende um die Verzögerung der BOLD Antwort auf die Stimulation mit einzubeziehen. Um den Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus zu untersuchen, wurde die Steigung der Trendlinie über die maximalen BOLD Signalintensitäten der *Trains* 4-20 berechnet (Abbildung 3.8).

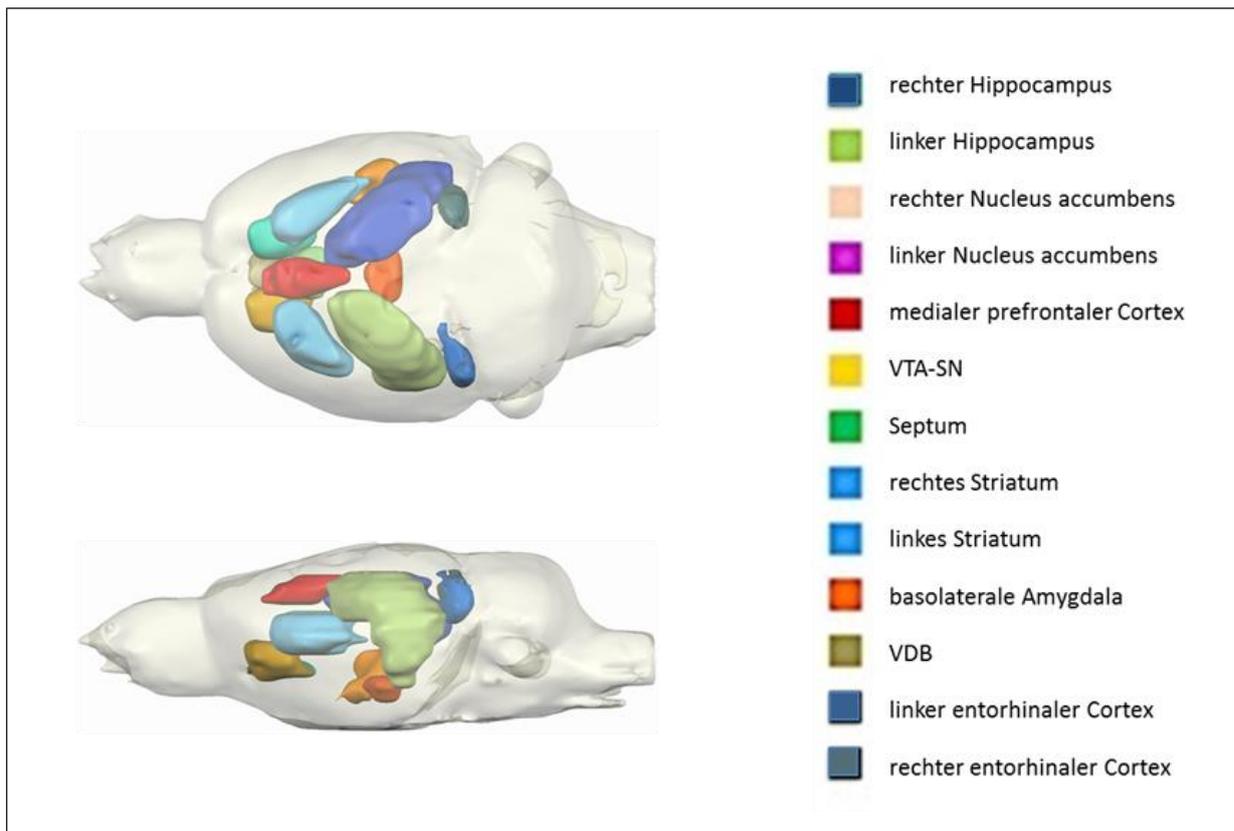
Zur Darstellung der räumlichen Verteilung signifikant aktivierter Voxel wurden die zweidimensionalen Schnittbilder in eine dreidimensionale Abbildung umgerechnet. Hierfür wurde ein standardisiertes Rattenhirn genutzt, auf das die anatomischen Aufnahmen der einzelnen Tiere angepasst wurden. Dabei konnten die MRT Bilder der Tiere in alle drei Raumrichtungen so eingedreht werden, dass eine maximale Übereinstimmung zwischen Standardgehirn und tatsächlichen MRT Messungen erzielt wurde. Als statistische Kriterium für die Darstellung wurden ein Signifikanzwert von  $q=0,001$  gewählt.

Um den Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel darzustellen wurden die 20 *Trains* in drei Abschnitte untergliedert (*Train* 3-8, *Train* 9-14, *Train* 15-20). Der erste *Train* wurde gesondert betrachtet, der zweite *Train* war noch stark durch die häufig vorkommenden Nachentladungen nach dem ersten *Train* beeinflusst. Die drei Messabschnitte wurden gewählt, um die kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen in gleich lange Abschnitte zu unterteilen, die damit unter einander vergleichbar waren.



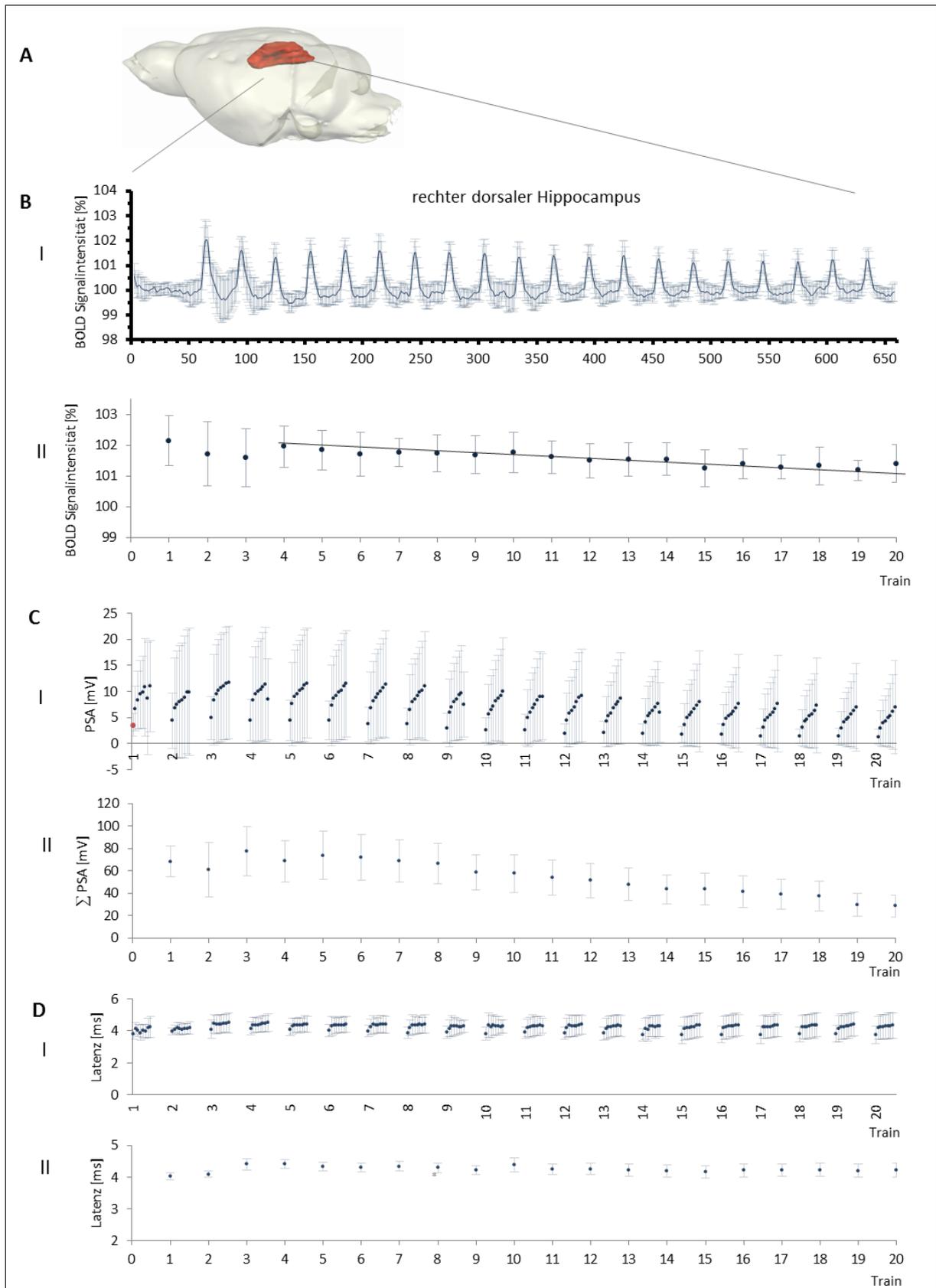
**Abbildung 3.6 | Schritte zur Auswertung der MRT Daten**

Es wurden sowohl anatomische als auch funktionelle Aufnahmen vom Rattenhirn in 10 Schichten gemessen. Die so entstandenen 2D Abbildungen wurden zu einer 3D Darstellung umgerechnet.  $n^*$ : unterschiedliche Anzahl an Versuchstieren.



**Abbildung 3.7 | Übersicht über die ausgewerteten Regionen**

Dargestellt sind die Regionen (VOI), in denen die BOLD Verläufe untersucht wurden. Der rechte und der linke dorsale Hippocampus wurden als zusätzlich ausgewertet. Für den ersten Teil der Experimente wurde ausschließlich der BOLD Verlauf im rechten dorsalen Hippocampus untersucht, da nur hier BOLD- und elektrophysiologische Messdaten miteinander korreliert werden konnten.



**Abbildung 3.8 | Auswertung der BOLD Signalverläufe und der Elektrophysiologie**

A: rechter dorsaler Hippocampus. In der Granularzellschicht des rechten *Gyrus dentatus* befand sich die Ableitelektrode. B: Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. I: Verlauf über den gesamten Messzeitraum mit Standardabweichungen. Auf

der x-Achse sind dabei die 660 Wiederholungen dargestellt, aus denen die 22 minütige Messung bestand II: Maximalwerte/*Train*, die aus dem in I dargestellten Signalverlauf berechnet wurden. Die Maximalwerte sind als Mittelwerte aus den einzelnen Tieren mit Standardabweichungen dargestellt. Über die *Trains* 4-20 wurde eine lineare Trendlinie gelegt um den Verlauf der Messung beurteilen zu können. C: Verlauf der Amplitude der Populationsspikes. In diesem Beispiel wurden 8 Populationsspikes/*Train* gemessen. Die Amplitude des ersten Populationsspikes ist dabei rot markiert. Dieser Wert wurde für Normalisierungen verwendet. D: Latenzen der Populationsspikes. I: Originalwerte. II: Mittelwerte aus allen 8 Latenzen innerhalb eines *Trains*.



---

### 3.8.5 Statistische Auswertungen

Für die statistische Auswertung wurden das Programm SPSS 21 und die online frei verfügbare Website VassarStats (<http://vassarstats.net/index.html>) verwendet. Zunächst wurden die Daten mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung getestet. Zum Zweck der Vergleichbarkeit von mehr als drei Gruppen (Experiment 1-3, unter 4.1 des Ergebnisteils) wurde der Kruskal-Wallis-Test als parameterfreier Test zum Vergleich mehrerer unabhängiger Gruppen verwendet. Als Post-hoc-Test wurde der Bonferroni-Holm korrigierte Mann-Whitney-U-Test verwendet. Um das neuronale Antwortverhalten zwischen den Protokollen zu vergleichen wurde ebenfalls der Kruskal-Wallis-Test verwendet und als Post-hoc-Test der Bonferroni-Holm korrigierte Mann-Whitney-U-Test. Hier wurden ebenfalls der erste und der vierte *Train* sowie der Abfall/Anstieg von Latenz und PSA über die *Trains* 4-20 untersucht. Die Korrelationen zwischen PSA und maximaler BOLD-Signalintensität für die *Trains* 4-20 wurden mit dem Spearman Test berechnet.

Für die Verhaltensdaten, sowie für die Vergleiche der BOLD Antworten des ersten *Trains* und der Mittelwerte für die *Trains* 3-20 innerhalb der Gruppen wurde der parameterfreie Wilcoxon-Rang-Test angewendet. Vergleiche zwischen den Gruppen wurden mit dem parameterfreien Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  festgelegt. Für die elektrophysiologischen Daten im Abschnitt 4.2 des Ergebnisteils wurde beim Vergleich von Messzeitpunkten zunächst eine Varianzanalyse mit Messwiederholung durchgeführt und anschließend die einzelnen *Trains* zwischen den Messzeitpunkten mit Hilfe gepaarter T-Tests verglichen. Beim Vergleich von verschiedenen Gruppen wurde zunächst eine multivariate Varianzanalyse durchgeführt und anschließend T-Tests zum Vergleich der einzelnen *Trains*.

## 4 Ergebnisse

Der Hippocampus interagiert mit verschiedenen corticalen und subcorticalen Strukturen (siehe Abschnitt 2.1.2 der Einleitung), was sich auch mit Hilfe von BOLD (blood oxygenation level - dependent) fMRT (funktionelle Magnetresonanztomografie) Messungen während elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* darstellen lässt (Canals et al. 2008; Angenstein et al. 2007; Helbing et al. 2017; Scherf & Angenstein 2015). Diese Interaktionen des Hippocampus mit anderen Gehirnregionen können sich im Verlauf von kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen auch dann verändern, wenn für die gesamte Messung das gleiche Stimulationsmuster verwendet wird (Riemann et al. 2016; Angenstein et al. 2013). Die Magnetresonanztomografie erlaubt Messwiederholungen am selben Tier. Elektrophysiologische Ableitungen in der Granularzellschicht des Hippocampus lassen sich über einen Zeitraum von mehr als einer Woche durchführen (Abraham et al. 2003; Douglas & Goddard 1975), sodass mehrere kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messungen am selben Tier möglich sind. Somit können sowohl kurzfristige, d.h. während und unmittelbar nach der Stimulation, als auch langfristige, d.h. über einen Zeitraum von 1-2 Wochen, anhaltende Veränderungen in der Signalverarbeitung im *Gyrus dentatus* und in anderen Hirnregionen untersucht werden. Für alle kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen wurde ein Versuchsaufbau gewählt, bei dem 20 Stimulationsphasen (*Trains*) verwendet wurden. Dabei wurde der *Tractus perforans* jeweils pro Minute für 8 Sekunden gereizt.

Der Ergebnisteil ist in zwei Abschnitte unterteilt. Im ersten Teil wurden kurzfristige Änderungen neuronaler und hämodynamischer Antworten durch elektrische Stimulation des *Tractus perforans* untersucht. Im zweiten Teil wurden langanhaltende Effekte von elektrischer *Tractus perforans* Stimulationen auf neuronale und hämodynamische Antworten untersucht.

#### 4.1 Kurzfristige Änderungen neuronaler und hämodynamischer Antworten im Verlauf einer Messung

Stimulation des *Tractus perforans* mit verschiedenen Pulsfrequenzen führt zu unterschiedlichen neuronalen Antworten, die wiederum mit verschiedenartigen BOLD Antworten einhergehen (Angenstein et al. 2007; Helbing et al. 2013; Krautwald & Angenstein 2012). Daher sollte zunächst untersucht werden, inwieweit Rückschlüsse aus den gemessenen BOLD Antworten auf das zugrundeliegende neuronale Aktivitätsmuster gezogen werden können und wie der Verlauf der Messung durch die vorhergehenden *Trains* beeinflusst wird. Der Zusammenhang zwischen PSA und BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus wurde auf eine lineare Korrelation untersucht, da für Stimuli, die im Abstand von mindestens vier Sekunden präsentiert werden ein linearer Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und BOLD Antwort berichtet wurde (Glover 1999).

Im ersten Teil der Experimente, in denen kurzfristigen Veränderungen untersucht wurden (Experiment 1-3), wurde der *Tractus perforans* in jedem der 20 *Trains* mit identischen Pulsfolgen stimuliert (Abbildung 3.3A), im zweiten Teil (Experiment 4) wurden ein hoch- (1 Hz-20 Pulse) und ein niederfrequentes Pulsmuster (5 Hz) in pseudorandomisierter Reihenfolge gemischt (Abbildung 3.3 B).

Wurde ein Stimulationsprotokoll mehreren Experimenten zugeordnet, so wurden die fMRT/Elektrophysiologie Messungen für mehr als ein Experiment verwendet. In Abbildung 3.3 sind die Stimulationsprotokolle graphisch dargestellt. Abbildung A4.1.1 im Anhang zeigt den Verlauf der BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus, Abbildung A4.1.2 den gleichzeitig aufgezeichneten Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens.

Die verschiedenen Stimulationsmuster, die in den Experimenten 1-3 verwendet wurden, lösten deutlich unterschiedliche BOLD-Signalverläufe im rechten dorsalen Hippocampus und im gesamten Gehirn aus. Im ersten *Train* wurde für die Protokolle 20 Hz, 5 Hz-4 Pulse und 10 Hz-2 Pulse kein klares Muster in der Entwicklung der Populationsspiques beobachtet (Abbildung A4.1.2). Das 5 Hz Protokoll, so wie alle Protokolle mit einer Grundfrequenz von 1 Hz (1 Hz, 1 Hz-5 Pulse, 1 Hz-10 Pulse, 1 Hz-20 Pulse) führten zu einem Anstieg der PSA innerhalb des ersten *Trains*. Nach dem ersten Stimulationstrain traten bei den meisten Protokollen (5 Hz, 10 Hz, 20 Hz, 5 Hz-4 Pulse, 10 Hz-2 Pulse, 1 Hz-20 Pulse) neuronale Nachentladungen auf, wobei dies nicht bei jedem Tier beobachtet werden konnte. Das 10 Hz-2 Pulse- und das 20 Hz Protokoll verursachten nicht nur nach dem ersten *Train*, sondern auch

im späteren Verlauf der Messung neuronale Nachentladungen. Bei Stimulation mit dem 10 Hz-2 Pulse Protokoll kam es erst ab dem siebten *Train* zu weiteren Nachentladungen. Die Auswirkungen der Nachentladungen waren auch im BOLD Signalverlauf sichtbar und zeigten sich darin, dass die BOLD Antwort nach der Stimulation des *Tractus perforans* erhöht blieb (Abbildung A4.1.1). Der zweite *Train* wies dadurch eine geringere BOLD Signaländerung auf. Insgesamt stellte sich bei den meisten Stimulationsprotokollen erst nach dem vierten *Train* ein stabiles Muster ein (Abbildung A4.1.1). Daher wurde die Steigung der Trendlinie erst ab dem vierten *Train* berechnet (Abbildung 3.8). Allen Protokollen, außer dem 1 Hz Protokoll, gemeinsam war der Abfall der maximalen BOLD Signalintensität im Verlauf der Messung, der jedoch abhängig vom Stimulationsprotokoll unterschiedlich stark war.

Für den Vergleich unterschiedlicher Stimulationsmuster wurden insbesondere das neuronale Antwortverhalten und die gleichzeitig erfasste BOLD Signalintensität im ersten und im vierten Stimulationstrain untersucht. Der erste *Train* entspricht dem Antwortverhalten des naiven, d.h. des vorher nicht stimulierten Hippocampus. Er stellt damit die Bedingung ohne Einflüsse vorhergehender Stimulation dar. Der vierte *Train* wurde für die Vergleiche der verschiedenen Protokolle ausgewählt, weil sich für viele der Stimulationsprotokolle ab dem vierten *Train* ein stabiles stimullenspezifisches Antwortmuster entwickelte. Außerdem wurde das Antwortverhalten im Verlauf der *Trains* 4-20 verglichen, um stimulationsmuster-spezifische Adaptationen der neuronalen und hämodynamischen Antworten zu untersuchen. Die Ergebnisse der statistischen Vergleiche befinden sich als Tabellen im Anhang unter Tabelle A4.1.4–A4.1.12. Die Verläufe der BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus für alle in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle und die gleichzeitig aufgezeichneten elektrophysiologischen Daten sind in den Tabellen A4.1.1-A4.1.3 aufgelistet.

#### 4.1.1 Einfluss der Pulsfrequenz auf neuronale und BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 1)

In diesem Experiment wurde die Variation der Pulsfrequenz mit der der *Tractus perforans* stimuliert wurde (1 Hz (n=7), 5 Hz (n=10), 10 Hz (n=8) und 20 Hz (n=10)) untersucht. Unter diesen Bedingungen führte eine Erhöhung der Pulsfrequenz zu einer höheren der Anzahl von Populationsspikes. Da die Anzahl der applizierten Pulse der Eingangsaktivität in den Hippocampus entspricht und die Anzahl/Amplitude der Populationsspikes der Ausgangsaktivität aus dem *Gyrus dentatus* (Summenaktionspotenziale der Granularzellen) entspricht, wurde in diesem Experiment ein Zusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und BOLD Antwort untersucht.

Bei den in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokollen zeigte sich für die über die Tiere gemittelten Summen der PSA, dass auf jeden applizierten elektrischen Puls ein Populationsspike folgte. Somit wurden pro *Train* für das 1 Hz Protokoll insgesamt 8 Populationsspikes gemessen (1 Populationsspike/s), für das 5 Hz Protokoll 40 (5 Populationsspikes/Sekunde), für das 10 Hz Protokoll 80 und für das 20 Hz Protokoll 160. Bei der Betrachtung der Resultate pro Tier zeigte sich jedoch, dass das 20 Hz Protokoll in unregelmäßigen Abständen schon ab dem ersten *Train* zum Ausbleiben der Populationsspikes führte. Bei den Messungen mit dem 5 Hz Protokoll fehlten in Abhängigkeit von den neuronalen Nachentladungen bei einigen Tieren die Populationsspikes im zweiten *Train*. Bei Stimulation mit dem 10 Hz Protokoll folgte nur im ersten *Train* nicht immer ein Populationsspike auf den Reiz.

Legt man die Summen der Amplitude des Populationsspikes als Kriterium für die Ausgangsaktivität zugrunde, so führt eine steigende Eingangsaktivität (höhere Pulsfrequenz) zu einer steigenden Ausgangsaktivität (mehr Populationsspikes).

Beim Vergleich der ersten Stimulationstrains zeigte sich, dass eine erhöhte generelle neuronale Aktivität (d.h. synaptische und Spikingaktivität) zu einer stärkeren BOLD Signalintensität im rechten *Gyrus dentatus* führte, was statistisch durch den Kruskal-Wallis-Test bestätigt wurde (Tabelle A4.1.4). Allerdings kann im ersten *Train* kein eindeutiger Rückschluss aus der BOLD Signalintensität auf die Stimulationsfrequenz gezogen werden, da weder der Vergleich 5 Hz-10 Hz, noch der Vergleich 10 Hz-20 Hz signifikante Unterschiede zwischen den BOLD Signalintensitäten zeigte. Im vierten *Train* konnten hingegen zwischen

allen Bedingungen signifikante Unterschiede in der maximalen BOLD Antwort berechnet werden. Das heißt, nachdem wiederholte Stimulationen zu einem stabilen neuronalen Antwortmuster führten, korrelierte die Stärke der gesamten neuronalen Aktivität mit der Amplitude der BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus (Tabelle A4.1.4).

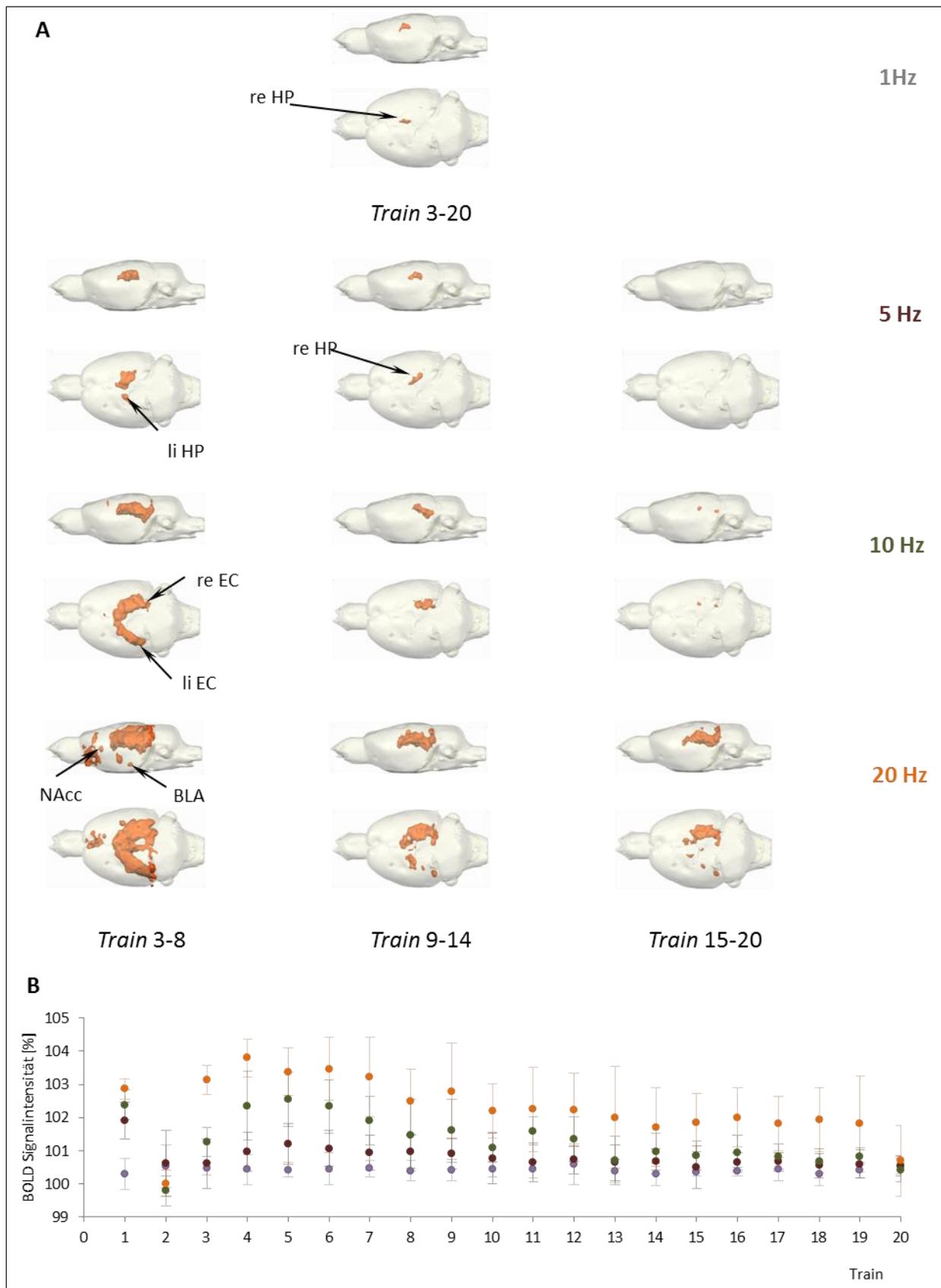
Während der nachfolgenden Stimulationstrains kam es bei allen Protokollen außer dem 1 Hz Protokoll zu einem Abfall der maximalen BOLD Antwort. Der Abfall der BOLD Signalintensität von *Train* 4 bis *Train* 20 war signifikant unterschiedlich zwischen den vier verschiedenen Protokollen. Je höher die Stimulationsfrequenz war, desto stärker fiel die BOLD Signalintensität im Verlauf der Messung (*Train* 4-20) ab (Tabelle A4.1.4). Während die BOLD Antworten im ersten *Train* für die Protokolle 5 Hz und 10 Hz am höchsten war, stiegen die BOLD Antworten während der 20 Hz Stimulation bis zum vierten *Train* an. Mit steigender Stimulationsfrequenz kam es auch zu einer vermehrten Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und zu zusätzlichen Aktivierungen von Zielregionen des Hippocampus. Dabei war die Ausbreitung signifikanter BOLD Signale jedoch nicht stabil, sondern verringerte sich über den Verlauf der Messung (siehe Abbildung 4.1.1).

Die Amplituden und Latenzen der durch Stimulation mit dem 1 Hz Protokoll ausgelösten Populationsspikes veränderte sich im Verlauf der Messung kaum. Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Latenz bei Stimulation mit dem 10 Hz Protokoll vom ersten ( $Mdn=5,06$  ms) zum vierten *Train* signifikant ( $Mdn=6,05$ ,  $Z=-2,52$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,63$ ). Das 5 Hz Protokoll führte ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg der Latenz vom ersten ( $Mdn=4,55$ ) zum vierten *Train* ( $Mdn=5,28$ ,  $Z=-2,47$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,55$ ). Nach dem vierten Stimulationstrain blieben die Latenzen für alle Stimulationsbedingungen stabil. Die gemittelten Werte zeigten im zweiten *Train* einen Zusammenbruch der PSA und ein unregelmäßiges Muster, da die Nachentladungen nach dem ersten *Train* bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll bei einem Teil der Tiere zum Ausbleiben von Populationsspikes im darauffolgenden zweiten *Train* führten. Innerhalb der *Trains* 3-20 stieg die PSA im *Train* an. Die Amplitude des ersten Populationsspikes wurde in jedem *Train* geringer, sodass die Summe der Populationsspikes/*Train* vom dritten bis 20 sten *Train* abnahmen (Abbildung 4.1.4). Bei Stimulation mit dem 10 Hz Protokoll und dem 20 Hz Protokoll löste nicht jeder Puls bei jedem Tier einen Populationsspike aus. Dies führte zu einem etwas unregelmäßigeren Muster (Abbildung A4.1.2). Der Vergleich der Summen der Populationsspikes zeigte nur zwischen dem 1 Hz Protokoll und Protokollen, bei denen mit höheren Frequenzen stimuliert wurde signifikante Unterschiede im ersten *Train*. Zwischen den anderen Stimulationsprotokollen

wurde im ersten *Train* trotz deutlich unterschiedlicher Anzahl von Populationsspikes kein signifikanter Unterschied in der Summe der Populationsspikes gemessen (Tabelle A4.1.5).

Für die Korrelation zwischen PSA und maximaler BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus ergaben sich signifikante lineare Korrelationen zwischen fMRT Signal und neuronalem Antwortverhalten (Abbildung 4.1.5). Die Korrelation zwischen maximaler BOLD Antwort und der PSA wurden für den Verlauf in den *Trains* 4-20 berechnet, wobei außer für die 1 Hz Messungen nur Tiere einbezogen wurden, bei denen der erste Populationsspike eine Amplitude von mindestens 2 mV hatten. Dies traf für kein Tier in der Gruppe der Ratten zu, die mit dem 1 Hz Protokoll stimuliert wurden, daher konnten die Korrelationen nur mit den vorhandenen 7 Ratten berechnet werden. Die stärkste positive lineare Korrelation ergab sich für das 10 Hz Protokoll ( $R^2=0,94$ ). Daher wurde dieses Stimulationsprotokoll ausgewählt um die Einzelwerte zu korrelieren. Hierbei ergab sich ein deutlich schwächerer Zusammenhang zwischen BOLD Signalintensität und PSA ( $R^2=0,34$ , Abbildungen 4.1.5 und 4.1.6).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bei Stimulationsprotokollen, bei denen bei der Betrachtung der Summen der PSA die Eingangsaktivität (Anzahl der Pulse) der Ausgangsaktivität (Anzahl der Populationsspikes) entspricht, höhere Stimulationsfrequenzen zu einer höheren BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus führen. Allerdings sind aus den BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* keine eindeutigen Rückschlüsse auf das Stimulationsprotokoll möglich. Höhere Stimulationsfrequenzen führen unter diesen Bedingungen zu einer größeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Die Ausbreitung signifikant Aktivierter Voxel und die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus fallen dabei bei Stimulationsfrequenzen ab 5 Hz innerhalb der Messung stark ab.



**Abbildung 4.1.1 | Experiment 1 - Entwicklung der BOLD Antwort im Verlauf der Messung**

A: 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel, unterteilt in die Blöcke *Train 3-8*, *Train 9-14* und *Train 15-20*. Eine Erhöhung der Stimulationsfrequenz führt zu stärkerer Ausbreitung der

BOLD Antworten. Für alle in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokolle kommt es zu einer deutlichen Verminderung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im Verlauf der Messung. Bei Stimulation mit dem 1 Hz Protokoll wurde nur der rechte dorsale Hippocampus im BOLD Signal sichtbar aktiviert, was nur bei Mittelung über die *Trains* 3-20 sichtbar wurde. 5 Hz Stimulation führte zu einer zusätzlichen Aktivierung des contralateralen Hippocampus. Bei Stimulation mit dem 10 Hz Protokoll kamen der rechte- und der linke entorhinale Cortex hinzu und das 20 Hz Protokoll führte zusätzlich zu signifikant aktivierten Voxeln in weiteren Regionen, wie dem Nucleus accumbens und der VTA. B: Entwicklung der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus bei Stimulation mit 1 Hz (grau), 5 Hz (dunkelrot), 10 Hz (dunkelgrün) und 20 Hz (orange). Dargestellt sind die Mittelwerte der maximalen BOLD Signal Intensität pro *Train* mit Standardabweichungen.

---

#### 4.1.2 Einfluss der Länge einer hochfrequenten Pulsfolge auf das neuronale Antwortverhalten und die BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 2)

Mit dem ersten Experiment konnten nicht eindeutig geklärt werden, ob die Anzahl der Populationsspikes im *Gyrus dentatus* oder die Anzahl der Stimulationspulse zu den beschriebenen Unterschieden zwischen den BOLD Signalen, die durch die verschiedenen Stimulationsprotokolle ausgelöst wurden, entstand. Im zweiten Experiment sollte daher untersucht werden, wie eine steigende Eingangs-Aktivität (mehr Pulse/*Train*), die zu einer ähnlichen Ausgangs-Aktivität der Granularzellen im *Gyrus dentatus* führt (gleiche Anzahl von Populationsspikes/*Train*), den Verlauf der neuronalen Antwort und die BOLD Antwort beeinflusst. Die verwendeten Stimulationsmuster enthielten dabei bei einer Grundfrequenz von 1 Hz eine unterschiedliche Anzahl von Pulsen pro Burst (1 Hz-1 Puls: kein überlagerter Burst (n=7), 1 Hz-5 Pulse: Bursts von 5 Pulsen (n=8), 1 Hz-10 Pulse (n=7), 1 Hz-20 Pulse (n=9)). Der Abstand zwischen zwei Pulsen innerhalb eines Bursts betrug dabei 10 ms ( $\approx 100$  Hz). Jeder Burst führte zu nur einem Populationsspike, sodass die Anzahl der ausgewerteten Populationsspikes für die verschiedenen Protokolle gleich groß war (8/*Train*). Beim Vergleich der maximalen BOLD Antwort des ersten *Trains* im rechten dorsalen Hippocampus zeigte sich, dass diese umso höher war, je mehr Pulse ein Burst enthielt. Nach der Stabilisierung des BOLD Signals im vierten *Train* ergab sich ein ähnliches Bild. Der Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus war für die verschiedenen Protokolle nicht signifikant unterschiedlich und geringer als bei den in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokollen (Abbildung 4.1.2 und Tabelle A4.1.3 und Tabelle A4.1.1). Der BOLD Signalverlauf ab dem vierten *Train* war relativ stabil und wurde nicht durch Nachentladungen beeinflusst, da diese nur nach dem ersten *Train* auftraten. Im Gegensatz zu

den in Experiment 1 verwendeten Protokollen war die maximale BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus im vierten *Train* für keines der Protokolle signifikant höher als im ersten *Train*. Die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel war über den Verlauf der drei Blöcke (*Train* 3-8, *Train* 9-14 und *Train* 15-20) stabiler als für die in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokolle. Mit steigender Anzahl der Pulse pro Burst vergrößerte sich der signifikant aktivierte Bereich des Gehirns (Abbildung 4.1.2).

In Experiment 2 wurden für jedes der verwendeten Protokolle gleich viele Populationsspikes pro *Train* gemessen. Obwohl die Anzahl der ausgelösten Populationsspikes bei den verschiedenen Protokollen, mit dem 1 Hz Grundrhythmus zwischen den Protokollen nicht unterschiedlich war, zeigten sich Unterschiede im Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens. Trotz gleicher Anzahl der Populationsspikes führten mehr Pulse pro Burst zu einer höheren Amplitude der normalisierten Populationsspikes (Abbildung 4.1.4 B), was jedoch nicht für alle Paarvergleiche signifikante Unterschiede im ersten *Train* ergab (Tabelle A4.1.8). Auffällig waren die hohen Standardabweichungen/Standardfehler bei der PSA des 1 Hz-20 Pulse Protokolls. Alle in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokolle außer das 1 Hz Protokoll führten zu einem Anstieg der PSA innerhalb der *Trains* und einem Abfall der gemittelten Amplitude über den Verlauf der Messung (Abbildung A 4.1.2). Bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll kam es erst ab dem dritten *Train* zu einem stabilen elektrophysiologischen Muster. Bei der Betrachtung der Latenzen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der *Trains* 4-20 zwischen den in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokollen.

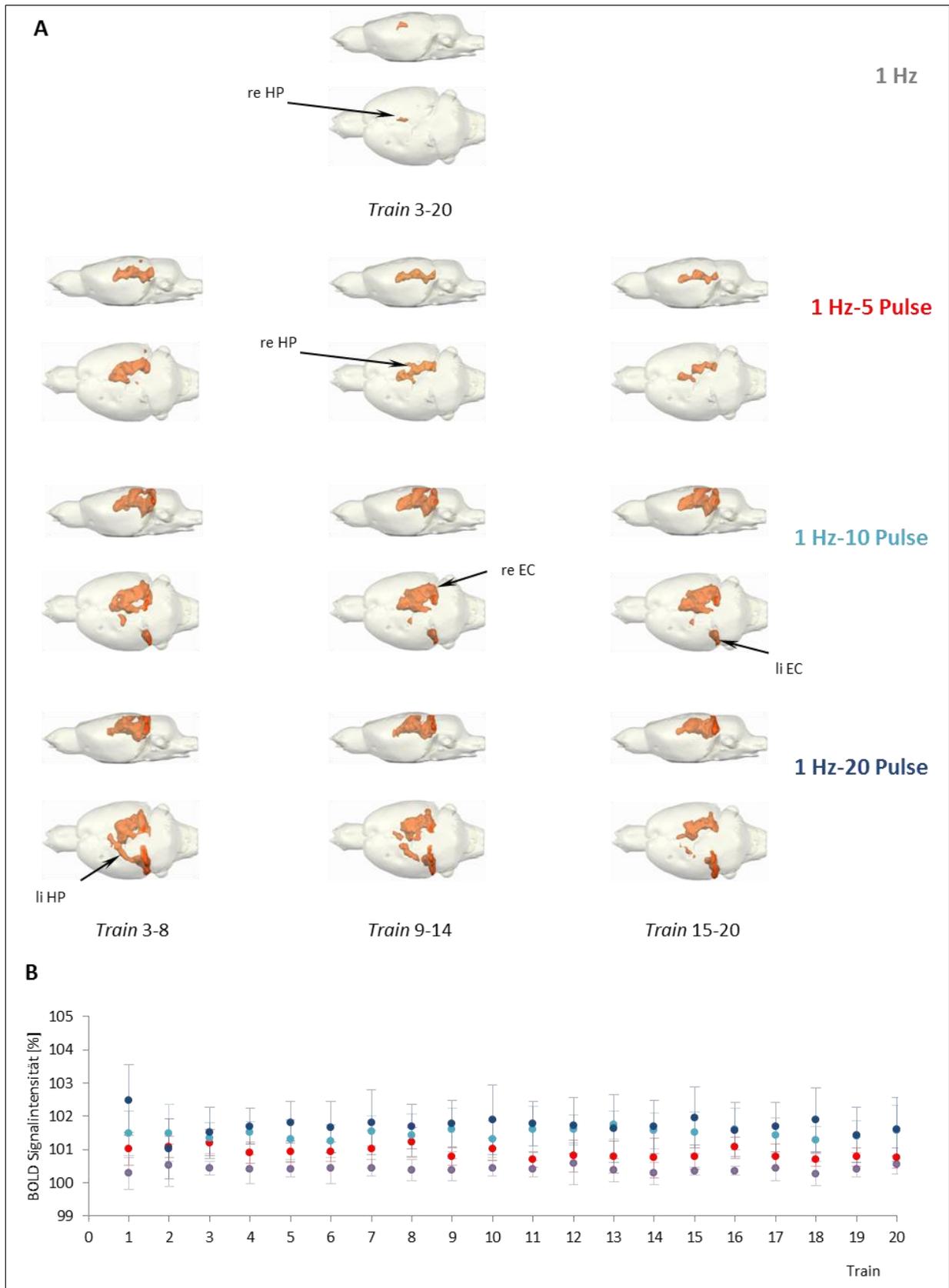
Das neuronale Antwortverhalten und die BOLD Signalintensität korrelierten weniger stark als für die in Experiment 1 verwendeten Protokolle, da die Amplitude der Populationsspikes im Verlauf der *Trains* 4-20 stärker abfiel als die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. Je mehr Pulse/Burst das Stimulationsprotokoll enthielt desto schwächer war die Korrelation zwischen PSA und maximaler BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus (Abbildung 4.1.5).

Obwohl bei allen in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokollen die gleiche Anzahl von Populationsspikes ausgelöst wird, beeinflusst die Anzahl der auf den 1 Hz Grundrhythmus überlagerten Pulse sowohl die Höhe der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus im ersten *Train*, als auch die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Je höher die Anzahl der Pulse/Burst war, desto höher waren die BOLD Antwort im erste *Train* und die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Dabei blieb die Ausbreitung signifikant

## Ergebnisse

---

aktivierter Voxel über den Verlauf der Messung stabil. Die Ergebnisse von Experiment 2 zeigen damit, dass nicht nur die Ausgangsaktivität der Granularzellen für die Höhe der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus und die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im gesamten Gehirn entscheidend ist, sondern auch die Eingangsaktivität die BOLD Antworten beeinflusst.



**Abbildung 4.1.2 | Experiment 2- Entwicklung der BOLD Antwort im Verlauf der Messung**

A: 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel, unterteilt in die Blöcke *Train 3-8*, *Train 9-14* und *Train 15-20*. Erhöhung der Stimulationsfrequenz führt zu stärkerer Ausbreitung der

BOLD Signale. Für alle in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokolle blieb die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel stabil im Verlauf der Messung. Eine höhere Anzahl von Pulsen pro Burst führte dabei zu einer stärkeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. B: Entwicklung der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus bei Stimulation mit 1 Hz (grau), 1 Hz-5 Pulse (rot), 1 Hz-10 Pulse (hellblau) und 1 Hz-20 Pulse (dunkelblau). Dargestellt sind die Mittelwerte der maximalen BOLD Signalintensität pro *Train* mit Standardabweichungen.



#### 4.1.3 Einfluss des Pulsmusters auf neuronale und BOLD Antworten während wiederholter Stimulation innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 3)

Um näher zu untersuchen inwieweit die „Spiking“-Aktivität der Granularzellen und damit die Ausgangsaktivität die BOLD Antwort beeinflusst, wurden vier Protokolle, die die gleiche Anzahl von Pulsen (20) pro *Train* enthielten gewählt, um die numerische Eingangsaktivität konstant zu halten. Diese Protokolle lösten eine unterschiedliche Anzahl von Populationsspikes aus (1 Hz-20 Pulse: 8 Populationsspikes (n=9), 5 Hz-4 Pulse: 40 Populationsspikes (n=8), 10 Hz-2 Pulse: 80 Populationsspikes (n=9), 20 Hz: bis zu 160 Populationsspikes (n=10)). Im ersten *Train* zeigten sich zwischen den verschiedenen Stimulationsprotokollen keine signifikanten Unterschiede in der maximalen BOLD Antwort. Den in Experiment 3 verwendeten Stimulationsprotokollen gemeinsam war eine fehlende Rückkehr der BOLD Antwort zum Grundniveau nach dem ersten *Train*, die durch die neuronalen Nachentladungen ausgelöst wurde. Der Vergleich der maximalen BOLD Antworten in *Train* 4, also zu Beginn der Phase, in der die Stimulationsprotokolle zu relativ stabile neuronale Antworten sowie zu stabilen BOLD Signalen führen, zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Stimulationsprotokollen (Abbildung 4.1.4 und Tabelle A4.1.9). Der weitere Verlauf der Entwicklung der BOLD Signalintensität, gemessen als Abfall der maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus, zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den in Experiment 3 verwendeten Protokollen (Tabelle A4.1.9). Das 10 Hz-2 Pulse Protokoll führte ab dem siebten *Train* zu Nachentladungen, die sich auch in der maximalen BOLD Signalintensität pro *Train* widerspiegelte. Bei der Betrachtung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel zeigten sich ebenfalls Unterschiede zwischen den Protokollen mit einer Pulsanzahl von 20 Pulsen pro *Train* (Abbildung 4.1.3). Die gleiche Anzahl von Pulsen führte bei den verwendeten Protokollen somit zu einer

deutlich unterschiedlichen Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und unterschiedlichen BOLD Signalverläufen.

Die Summe der Amplituden der Populationsspikes war im ersten *Train* signifikant unterschiedlich (Tabelle A4.1.10). Mehr Populationsspikes führten dabei nicht unbedingt zu einer größeren Summe der Populationsspikes je *Train* (Abbildung 4.1.4 C und Tabelle A4.1.10). Die Entwicklung der Latenzen über die *Trains* 4-20 war ebenfalls unterschiedlich zwischen den verschiedenen Stimulationsprotokollen, die pro *Train* 20 Pulse enthielten. Während es für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll keine signifikante Korrelation zwischen maximaler BOLD Antwort und PSA in den *Trains* 4-20 gab, korrelierten PSA und BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus für das 5 Hz-4 Pulse, 10 Hz-2 Pulse und das 20 Hz Protokoll (Abbildung 4.1.5).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass trotz initial nicht unterschiedlicher BOLD Antworten in *Train 1*, im vierten *Train* eine Aufspaltung der BOLD Antworten für die verschiedenen Protokolle stattfand. Dabei waren die BOLD Signalintensitäten bei den Protokollen, die eine höhere Basisfrequenz enthielten (10 Hz-2 Pulse und 20 Hz) höher als für die Protokolle, die eine niedrigere Basisfrequenz enthielten (1 Hz-20 Pulse und 5 Hz-4 Pulse). Die Entwicklung der BOLD Antworten in den *Trains* 4-20 zeigte ebenfalls Unterschiede zwischen den Stimulationsprotokollen. Eine höhere Pulsanzahl pro Burst führte dabei trotz gleicher Pulsanzahl pro *Train* zu einem schwächeren Abfall des BOLD Signals über die *Trains* 4-20.

Da die einzelnen Stimulationsprotokolle zu charakteristischen Entwicklungen in den Größen und Ausbreitungen von signifikanten BOLD-Antworten führen, ergeben sich, wie in Tabelle 5.1 der Diskussion zusammengefasst, erste Rückschlüsse auf neuronale Aktivierungsmuster, die aus den gemessenen BOLD Antworten gezogen werden können.

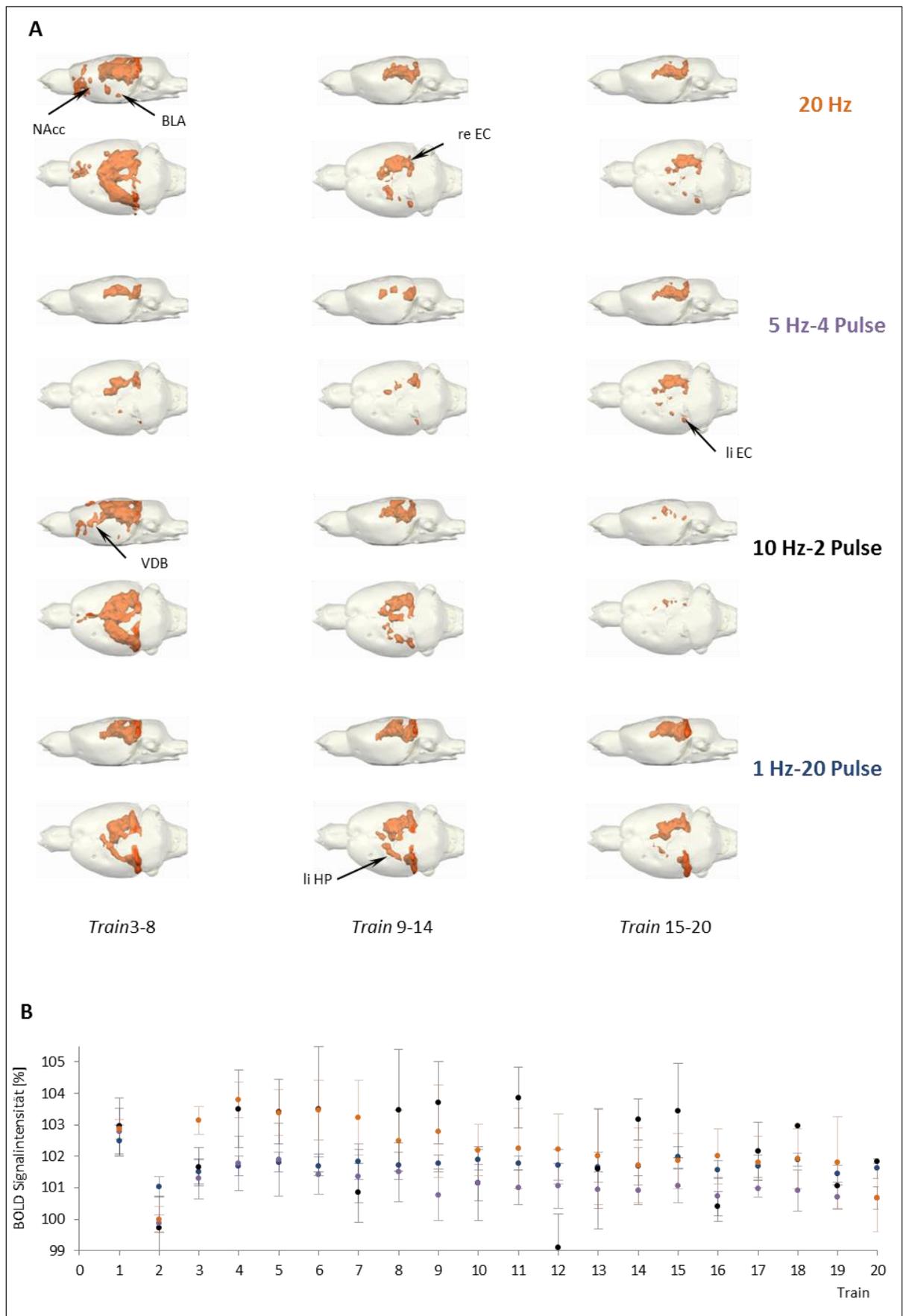
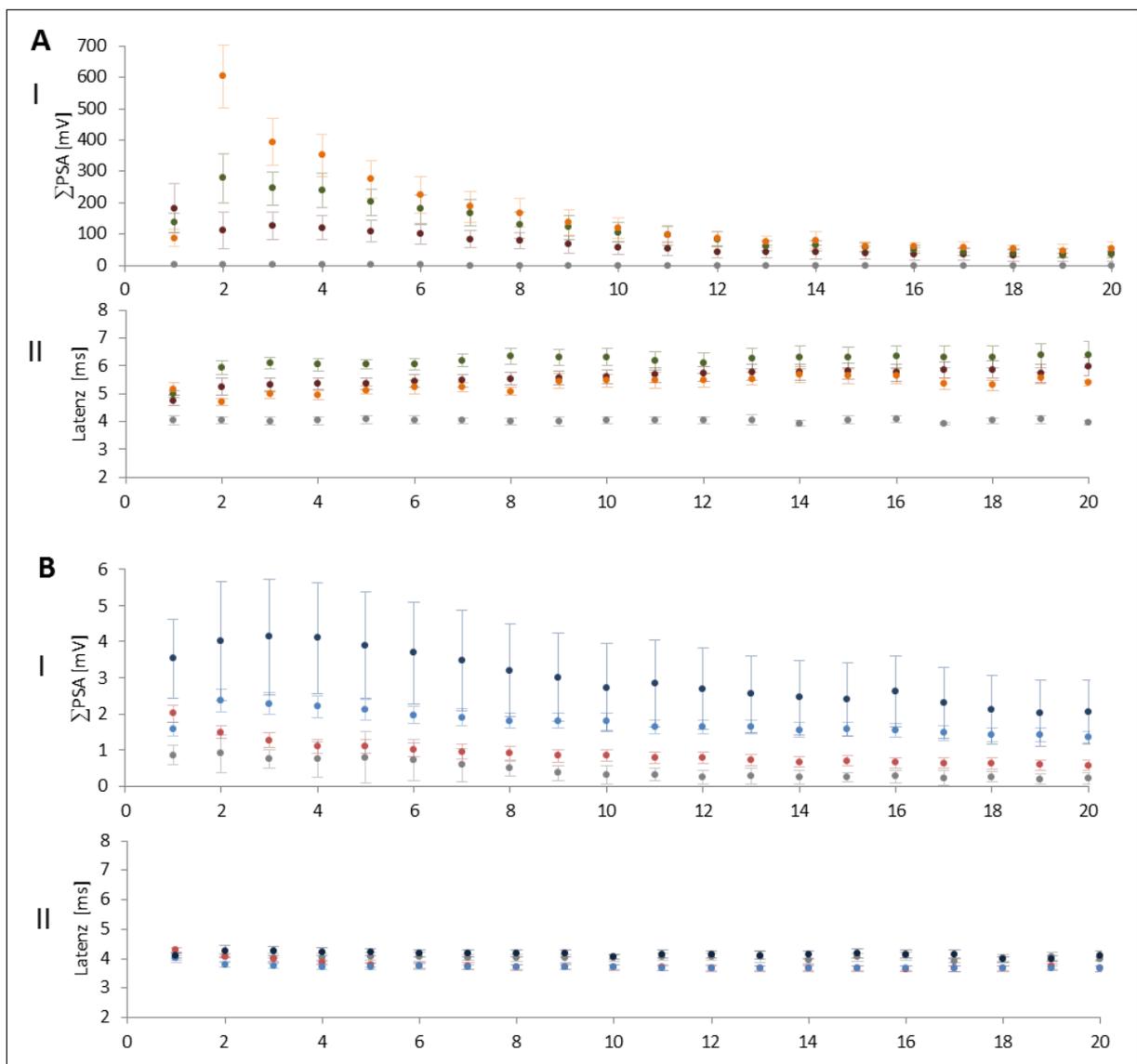
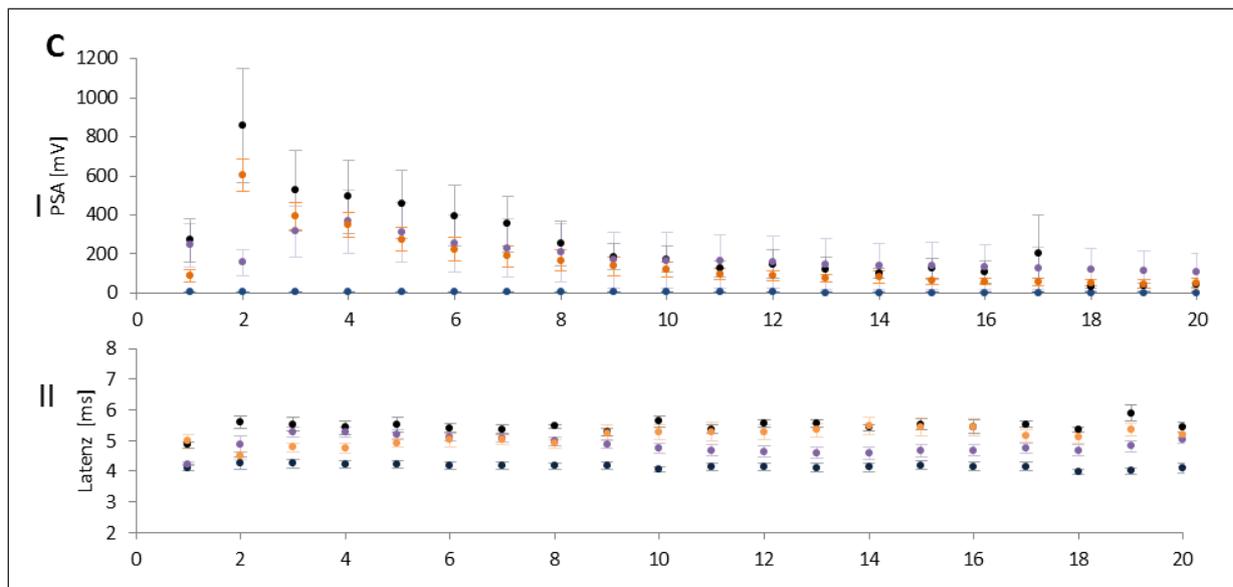


Abbildung 4.1.3 | Experiment 3- Entwicklung der BOLD Antwort im Verlauf der Messung

## Ergebnisse

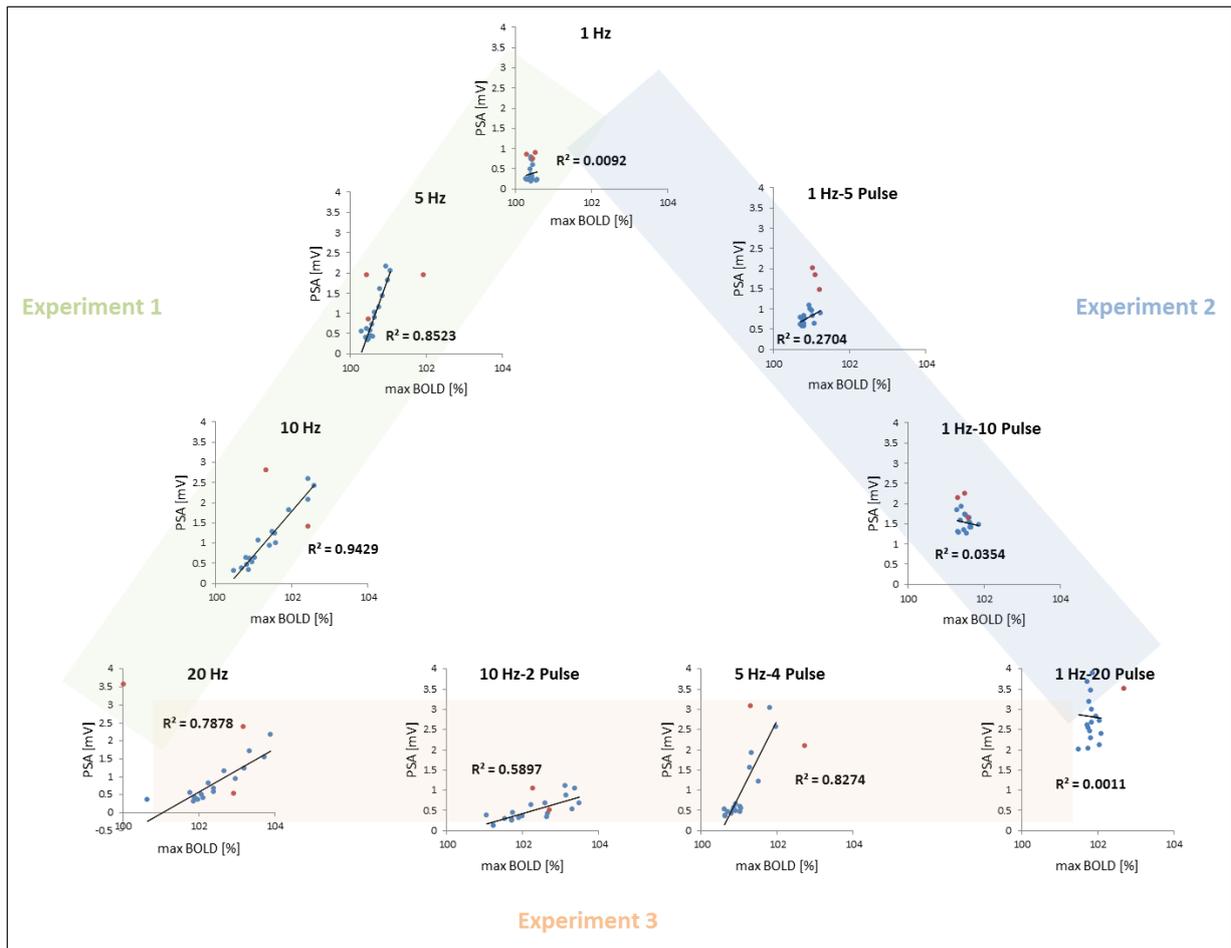
A: 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel, bei verschiedenen Protokollen, die alle 20 Pulse/*Train* enthalten, unterteilt in die Blöcke *Train* 3-8, *Train* 9-14 und *Train* 15-20. Erst ab einer Pulszahl von mindestens 5 Pulsen/*Burst* bleibt der Verlauf signifikant aktivierter Voxel stabiler. Das 1 Hz-20 Pulse Protokoll und das 20 Hz Protokoll wurden bereits in den Experimenten 1 und 2 verwendet und beschrieben. Das 5 Hz-4 Pulse Protokoll führte zu einer relativ stabilen Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Dabei wurden nur der rechte- und der linke Hippocampus, sowie der entorhinale Cortex aktiviert. Das 10 Hz-2 Pulse Protokoll aktivierte in den *Trains* 3-8 zusätzliche Regionen außerhalb der hippocampalen Formation, führte jedoch zu deutlich verringerter Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im Verlauf der Messung. B: Entwicklung der BOLD Signal Intensität im rechten dorsalen Hippocampus bei Stimulation mit 20 Hz (orange), 5 Hz-4 Pulse (lila), 10 Hz-2 Pulse (schwarz) und 1 Hz-20 Pulse (dunkelblau). Dargestellt sind die Mittelwerte der maximalen BOLD Signalintensität pro *Train* mit Standardabweichungen.





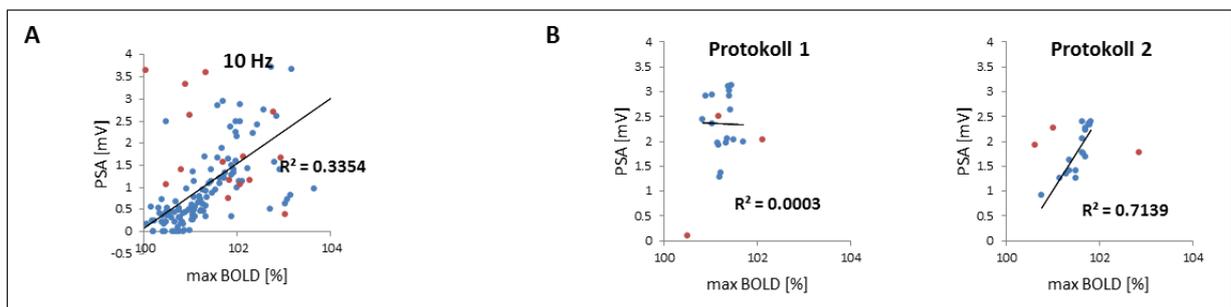
**Abbildung 4.1.4 | Elektrophysiologie für die Experimente 1-3**

Dargestellt sind jeweils PSA und Latenz für die verschiedenen Experimente. Dabei handelt es sich bei den Latenzen um die Mittelwerte aus den *Trains* mit Standardfehler. Die PSA wurde normalisiert, sodass die Amplitude des ersten Populationsspikes auf 1 festgelegt wurde. Um die neuronale Aktivität als Reaktion auf die verschiedenen Stimulationsprotokolle miteinander vergleichen zu können wurde innerhalb jedes *Trains* die Summe aller PSAs gebildet. Diese sind mit Standardfehler dargestellt: x-Achse: *Train* 1-20. A: Experiment 1: 1 Hz: grau, 5 Hz: dunkelrot, 10 Hz: dunkelgrün, 20 Hz: orange. B: Experiment 2: 1 Hz: grau, 1 Hz-5 Pulse: rot, 1 Hz-10 Pulse: blau, 1 Hz-20 Pulse: dunkelblau. C: Experiment 3: 10 Hz-2 Pulse: schwarz, 5 Hz-4 Pulse: lila, 1 Hz-20 Pulse: dunkelblau, 20 Hz: orange



**Abbildung 4.1.5 | Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität für die Experimente 1-3**

Die gemittelte maximale BOLD Signalintensität wurde mit der mittleren PSA für die *Trains* 4-20 (blaue Punkte) korreliert. Die roten Punkte stellen die Werte für die *Trains* 1-3 dar, die nicht mit in die Korrelationen einbezogen wurden. Signifikanzen der einzelnen Korrelationen: 20 Hz:  $p < 0,001$ , 5 Hz:  $p < 0,001$ , 1 Hz-20 Pulse: nicht signifikant, 5 Hz-4 Pulse:  $p < 0,001$ , 10 Hz-2 Pulse:  $p < 0,001$ , 1 Hz-10 Pulse: nicht signifikant, 1 Hz-5 Pulse:  $p < 0,05$ , 10 Hz:  $p < 0,001$ , 1 Hz: nicht signifikant.



**Abbildung 4.1.6 | Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität für die Einzelwerte des 10 Hz Protokolls und für Experiment 4**

A: Da für das 10 Hz Protokoll die höchste Korrelation zwischen BOLD Signalintensität und PSA berechnet wurde, wurden für dieses Protokoll die Einzelwerte der gemittelten Amplituden und der BOLD Signalintensitäten für die einzelnen Tiere ( $n=7$ ) berechnet. Für die Einzelwerte ergab sich ein deutlich niedrigerer  $R^2$  Wert ( $p < 0,001$ ). B: Für die Abbildungen der Protokolle 1 und 2 wurden die gemittelte maximale BOLD Signalintensitäten mit den

mittleren PSA Werten für die *Trains* 4-20 (blaue Punkte) korreliert. Die roten Punkte stellen auch hier die Werte für die *Trains* 1-3 dar, die nicht mit in die Korrelationen einbezogen wurden. Signifikanzen der einzelnen Korrelationen: Protokoll1:  $p < 0,01$ , Protokoll 1:  $p < 0,001$ .



#### 4.1.4 Veränderungen von neuronalem Antwortverhalten und BOLD Antworten während Stimulation mit wechselnden Stimulationsmustern innerhalb einer fMRT/Elektrophysiologie Messung (Experiment 4)

In diesem Experiment wurden das 5 Hz- und das 1 Hz-20 Pulse Protokoll in pseudorandomisierter Reihenfolge verwendet. Während 10 *Trains* wurde mit dem hochfrequenten- und während 10 *Trains* mit dem niederfrequenten Protokoll stimuliert. Um zu untersuchen welchen Einfluss der erste *Train* auf den Rest der Messung hat, wurde die Reihenfolge der verwendeten Frequenzen umgekehrt (Beginn mit 5 Hz: Protokoll 1 (n=10), Beginn mit 1 Hz-20 Pulse: Protokoll 2 (n=9) siehe Abbildung 3.3 B). Beide Protokolle wurden mit dem 1 Hz-20 Pulse (n=9) und dem 5 Hz (n=10) Protokoll verglichen. Die Resultate der Experimente 1-3 zeigen, dass neuronale und hämodynamische Antworten innerhalb einer Messung durch die vorhergehenden gleichartigen Stimulationstrains beeinflusst werden. Um herauszufinden, wie vorhergehende andersartige Stimulationstrains die nachfolgenden neuronalen und hämodynamischen Antworten beeinflussen, wurden das 5 Hz- und das 1 Hz-20 Pulse Protokoll in pseudorandomisierter Reihenfolge gemischt. Während 10 *Trains* wurde mit dem hochfrequenten- und während 10 *Trains* mit dem niederfrequenten Protokoll stimuliert. Um den Einfluss vorhergehender Stimulation mit einem anderen Pulsmuster zu beurteilen, wurden die 5 Hz- (n=10) und 1 Hz-20 Pulse (n=9) Protokolle hinzugezogen, bei denen über den gesamten Verlauf der Messung mit derselben Frequenz stimuliert wurde. In Protokoll 1 (n=10) wurden die ersten beiden *Trains* mit 5 Hz stimuliert und im Protokoll 2 (n=9) mit 1 Hz-20 Pulse (Abbildung 3.3).

Der erste *Train* zeigte beim Vergleich der Protokolle (Protokoll 1, Protokoll 2, 5 Hz, 1 Hz-20 Pulse) keine signifikanten Unterschiede in der maximalen BOLD Signalintensität. Wird der Kruskal-Wallis Test zum Vergleich des BOLD Signalabfalls verwendet, ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Protokollen. Allerdings waren die Standardabweichungen der Verläufe der maximalen BOLD Antworten über die *Trains* 4-20 relativ hoch, was vor allem bei Protokoll 1 und Protokoll 2 zu erwarten war, da hier sowohl

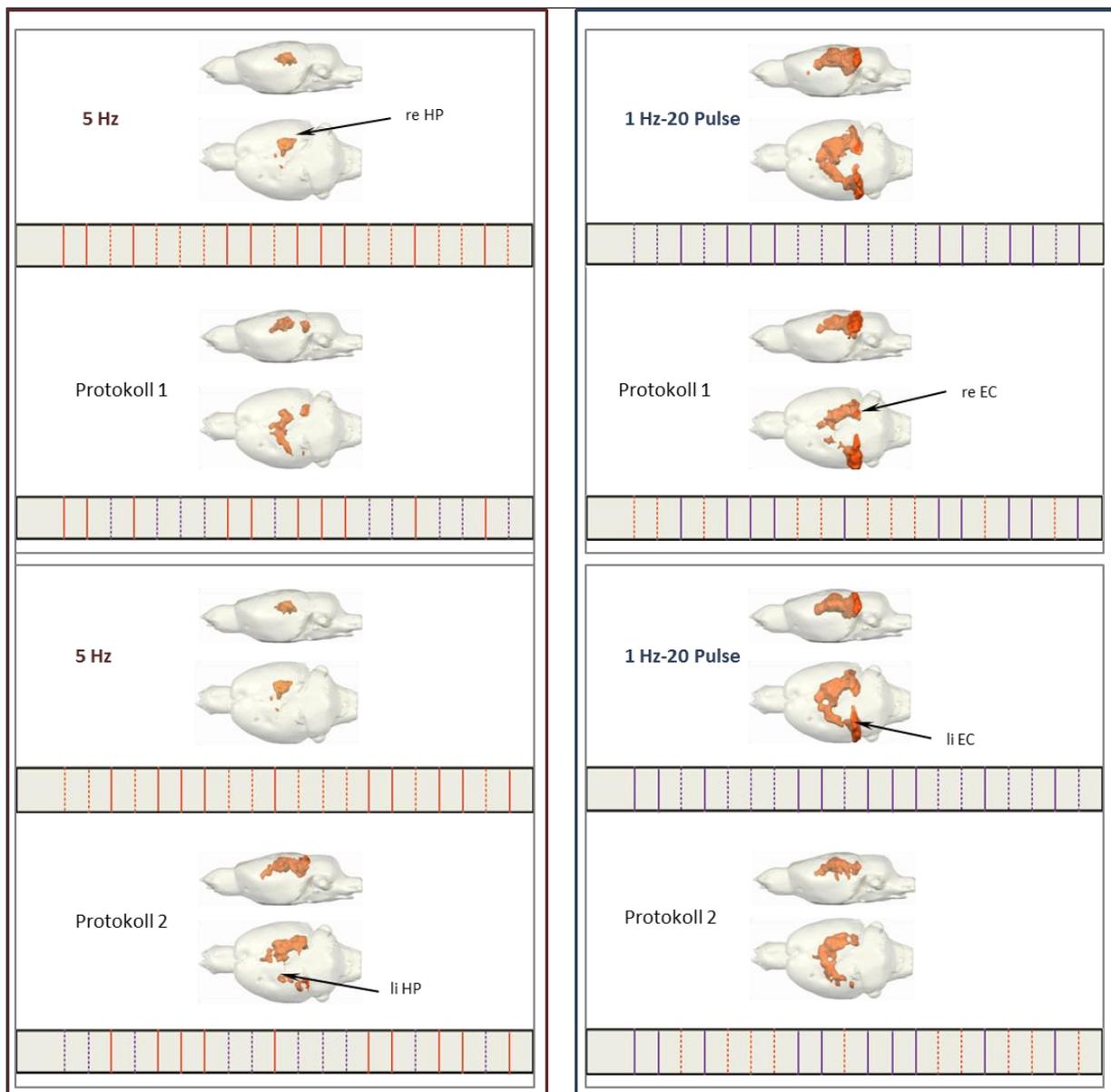
*Trains*, in denen mit 5 Hz stimuliert wurde, als auch *Trains* in denen mit 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde, mit in die Berechnung des BOLD Signalabfalls einbezogen wurden.

Die *Trains* der Protokolle 1 und 2, in denen mit 5 Hz bzw. 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde, wurden mit den jeweils entsprechenden *Trains* der reinen 5 Hz bzw. 1 Hz-20 Pulse Protokolle verglichen. Es wurde vermutet, dass das 1 Hz-20 Pulse Protokoll zu einer höheren BOLD Antwort für die Protokolle 1 und 2 in den mit 5 Hz stimulierten *Trains* führt. Daher wurde der einseitige Mann-Whitney-U-Test zur Überprüfung dieser Hypothese verwendet. Beim Vergleich der maximalen BOLD Signalintensitäten der *Trains* in Protokoll 1 (Start mit 5 Hz), die mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurden mit dem reinen 5 Hz Protokoll zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Der Vergleich der *Trains*, in denen mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde, zeigte hingegen für Protokoll 1 ( $Mdn=101,17\%$ ) signifikant geringere maximale BOLD Signalintensitäten als für das reine 1 Hz-20 Pulse Stimulationsprotokoll ( $Mdn=101,40\%$ ,  $U=77$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,42$ , Abbildung 4.1.7). Stimulation mit 5 Hz führt zu einer geringeren BOLD Signalintensität bei Vermischung von 5 Hz und 1 Hz-20 Pulse Stimulation in Protokoll 1. Für Protokoll 2 (Start mit 1 Hz-20 Pulse) ergaben sich beim Vergleich der maximalen BOLD Signalintensitäten für die *Trains*, in denen mit 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde im Vergleich zum reinen 1 Hz-20 Pulse Protokoll keine signifikanten Unterschiede. Für die *Trains*, in denen mit 5 Hz stimuliert wurde, ergaben sich signifikant höhere BOLD Signalintensitäten für Protokoll 2 ( $Mdn=101,44\%$ ) als für die entsprechenden *Trains* des 5 Hz Protokolls ( $Mdn=100,77\%$ ,  $U=23$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,40$ ). Dabei wurde ebenfalls der einseitige Mann-Whitney-U-Test verwendet. Es ist also von Bedeutung, mit welcher Stimulationsfrequenz begonnen wurde (Abbildung 4.1.8). Die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel bei Stimulation mit 5 Hz war bei Protokoll 1 und bei Protokoll 2 größer als wenn nur mit 5 Hz stimuliert wurde (Abbildung 4.1.6).

Die Summe der Amplituden der Populationsspikes in Protokoll 1 (Start mit 5 Hz) unterschied sich weder in den *Trains*, die mit 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurden, noch in den *Trains*, die mit 5 Hz stimuliert wurden von den entsprechenden *Trains* des 5 Hz und des 1 Hz-20 Pulse Protokolls. Für das Protokoll 2 (Start mit 1 Hz-20 Pulse Stimulation) wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Summe der PSA zu den entsprechenden *Trains* des 5 Hz Protokolls und des 1 Hz-20 Pulse Protokolls festgestellt. Die Entwicklung der PSA von *Train* 4-20, gemessen als Abfall der Ausgleichsgeraden unterschied sich ebenfalls nicht signifikant zwischen den Protokollen. Eine pseudorandomisierte Mischung der Stimulationstrains mit 5 Hz und 1 Hz-20 Pulse hatte somit keine signifikanten Auswirkungen auf die Summe der

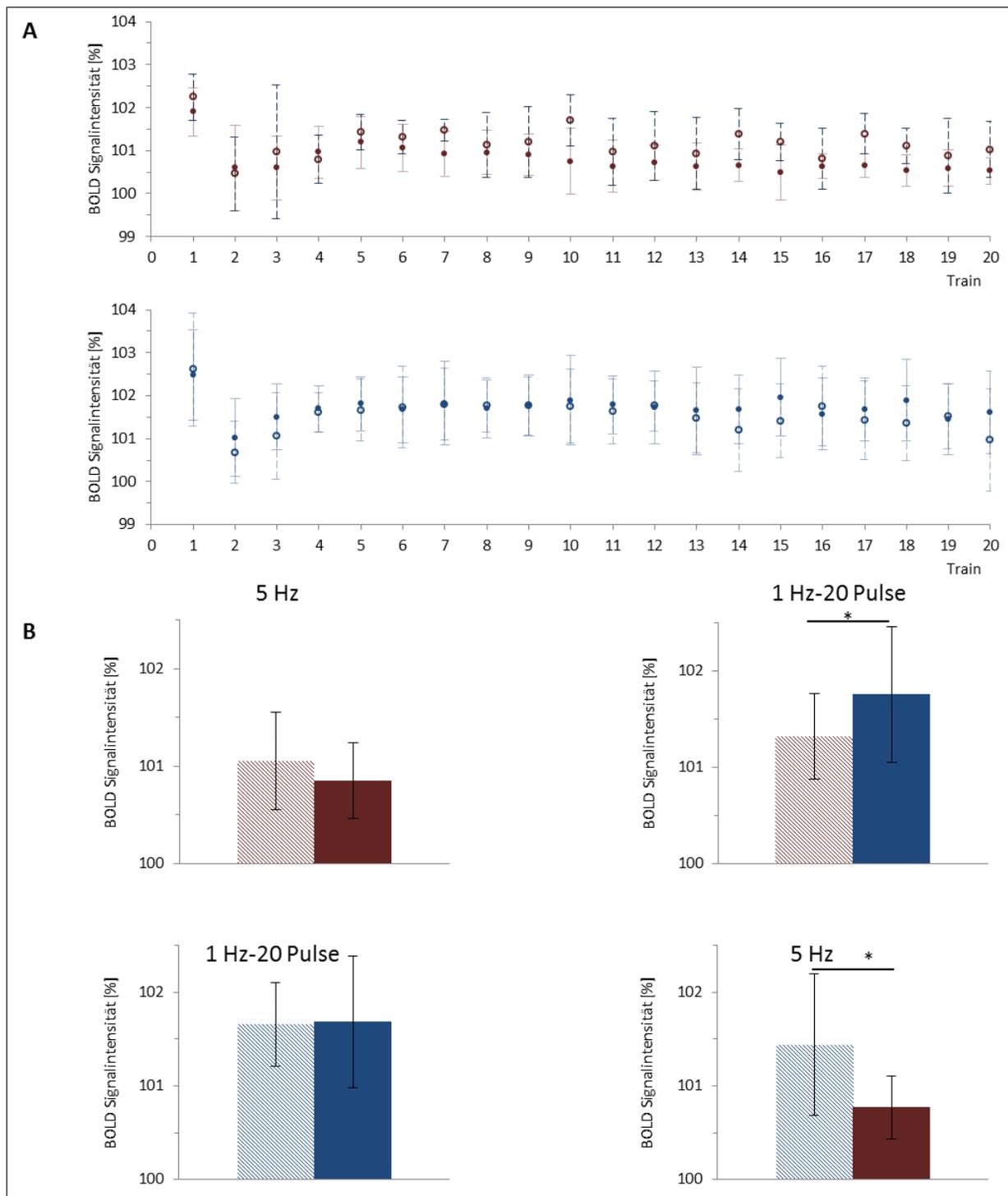
Amplituden. Allerdings unterschieden sich auch die PSA des 5 Hz und des 1 Hz-20 Pulse Protokoll nicht signifikant voneinander. Der Verlauf der Latenzen in den *Trains* 3-20 unterschied sich zwischen Protokoll 1 und Protokoll 2, sowie zwischen Protokoll1 und dem 5 Hz Protokoll. Das 5 Hz Protokoll führte zu einem Anstieg der Latenzen, während die Latenzen in Protokoll 1 im Verlauf der Messung abnahmen (Abbildung A4.1.2 und Tabelle A4.1.12). Der Anstieg der Latenz, der bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll beobachtet wurde, wurde somit durch Mischen der Stimulationsfrequenzen verhindert.

Die Ergebnisse zeigen, dass vorhergehende Stimulationstrains, in denen ein anderes Stimulationsmuster verwendet wurde, den Verlauf der BOLD Antworten beeinflussen. Dabei scheint es wichtig zu sein, mit welcher Stimulationsfrequenz in den ersten beiden *Trains* begonnen wurde.



**Abbildung 4.1.7 | Experiment 4 - Vergleich der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel**

Verglichen wurden hier die *Trains* von Protokoll 1 und Protokoll 2, in denen mit dem 5 Hz bzw. 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde mit den entsprechenden *Trains* der Protokolle, in denen durchgängig dasselbe Stimulationsprotokoll verwendet wurde. Die durchgezogenen Linien stellen die *Trains* dar, die für die Berechnung der in der 3D Abbildung dargestellten Aktivierungen verwendet wurden. Blau markiert sind die *Trains*, in denen mit dem 1 Hz-20 Pulsmuster stimuliert wurde, rot markiert sind die *Trains*, in denen mit 5 Hz stimuliert wurde.



**Abbildung 4.1.8 | Experiment4- Vergleich der BOLD Antworten**

A: Verlauf der maximalen BOLD Signalintensitäten, der in Experiment 4 verwendeten Protokolle (1 Hz-20 Pulse: dunkelblau, 5 Hz: dunkelrot, Protokoll 1: dunkelrot ohne Füllung, Protokoll 2: dunkelblau ohne Füllung). B: Vergleich der BOLD Signalintensitäten der *Trains*, die mit dem 5 Hz, bzw. dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll gemessen wurden. 1 Hz-20 Pulse: dunkelblau, 5 Hz: dunkelrot, Protokoll 1: dunkelrot schraffiert, Protokoll 2: dunkelblau schraffiert. \*  $p < 0,05$ .

## 4.2 Langfristige Änderungen von neuronalen und hämodynamischen Antworten zwischen mehreren aufeinanderfolgenden fMRT/Elektrophysiologie Messungen

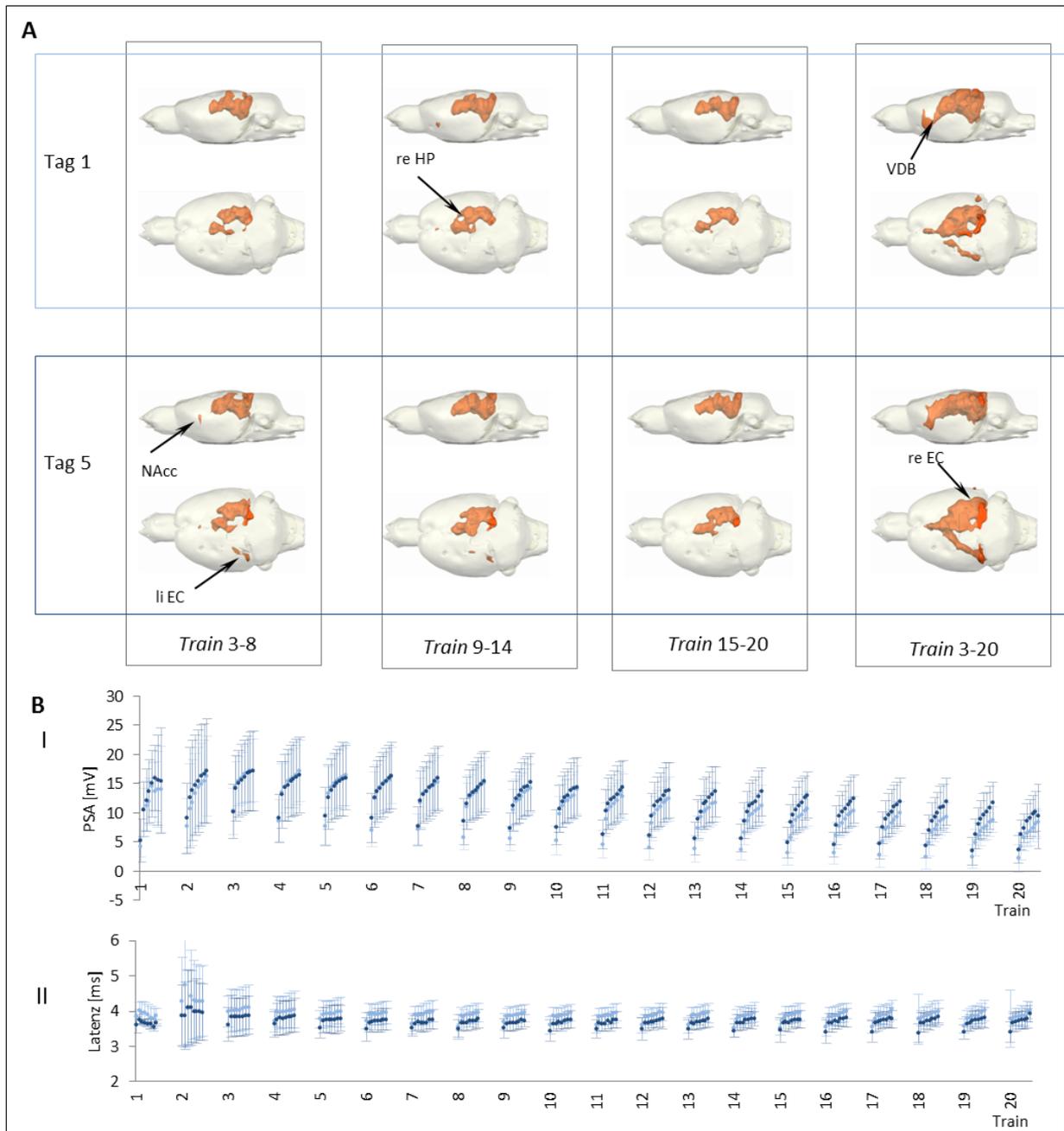
Zu den Vorteilen der elektrophysiologischen Messungen und fMRT zählten, dass sich die Messungen am selben Tier wiederholen lassen. Somit können innerhalb eines Tieres Entwicklungen über einen längeren Zeitraum untersucht werden. In den folgenden Versuchen wurde dieser Vorteil ausgenutzt, um längerfristige Effekte von vorhergehender elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* auf mindestens eine nachfolgende kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messung zu untersuchen. Da sowohl in der Elektrophysiologie als auch in den BOLD Signalen relativ hohe Streuungen in den einzelnen Gruppen beobachtet wurden, ergeben sich auch statistische Vorteile gegenüber dem Vergleich von verschiedenen Gruppen. Daher wurden ausschließlich statistische Vergleiche zwischen den Messzeitpunkten angestellt, jedoch nicht zwischen den verschiedenen Gruppen (5 Hz und 1 Hz-20 Pulse ohne Stimulation, 5 Hz und 1 Hz-20 Pulse Lerngruppe, 5 Hz und 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe, siehe auch Abbildung 3.4). Für die folgenden Abschnitte wurden für den Vergleich der maximalen BOLD Antworten die *Trains* 3-20 für alle 15 Regionen verglichen. Beim Vergleich der BOLD Signalintensitäten zwischen den Messzeitpunkten wurde auf eine Unterteilung der fMRT/Elektrophysiologie Messungen in die drei Abschnitte (*Train* 3-8, *Train* 9-14, *Train* 15-20) verzichtet. Der erste *Train* wurde als naive Bedingung getrennt betrachtet. Um den Verlauf der Messung zu untersuchen wurden wie im ersten Abschnitt die *Trains* 4-20 gewählt.

#### 4.2.1 Vergleich von neuronalen und BOLD Antworten zwischen zwei im Abstand von vier Tagen erfolgten fMRT/Elektrophysiologie Messungen

Um länger anhaltende Änderungen von neuronalen und hämodynamischen Antworten nach elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* zu untersuchen, wurden sowohl an Tag 1, als auch an Tag 5 kombinierte fMRT-Elektrophysiologie Messungen mit demselben Stimulationsprotokoll durchgeführt. Die Tiere wurden dafür zufällig der 1 Hz-20 Pulse oder der 5 Hz Gruppe zugeordnet.

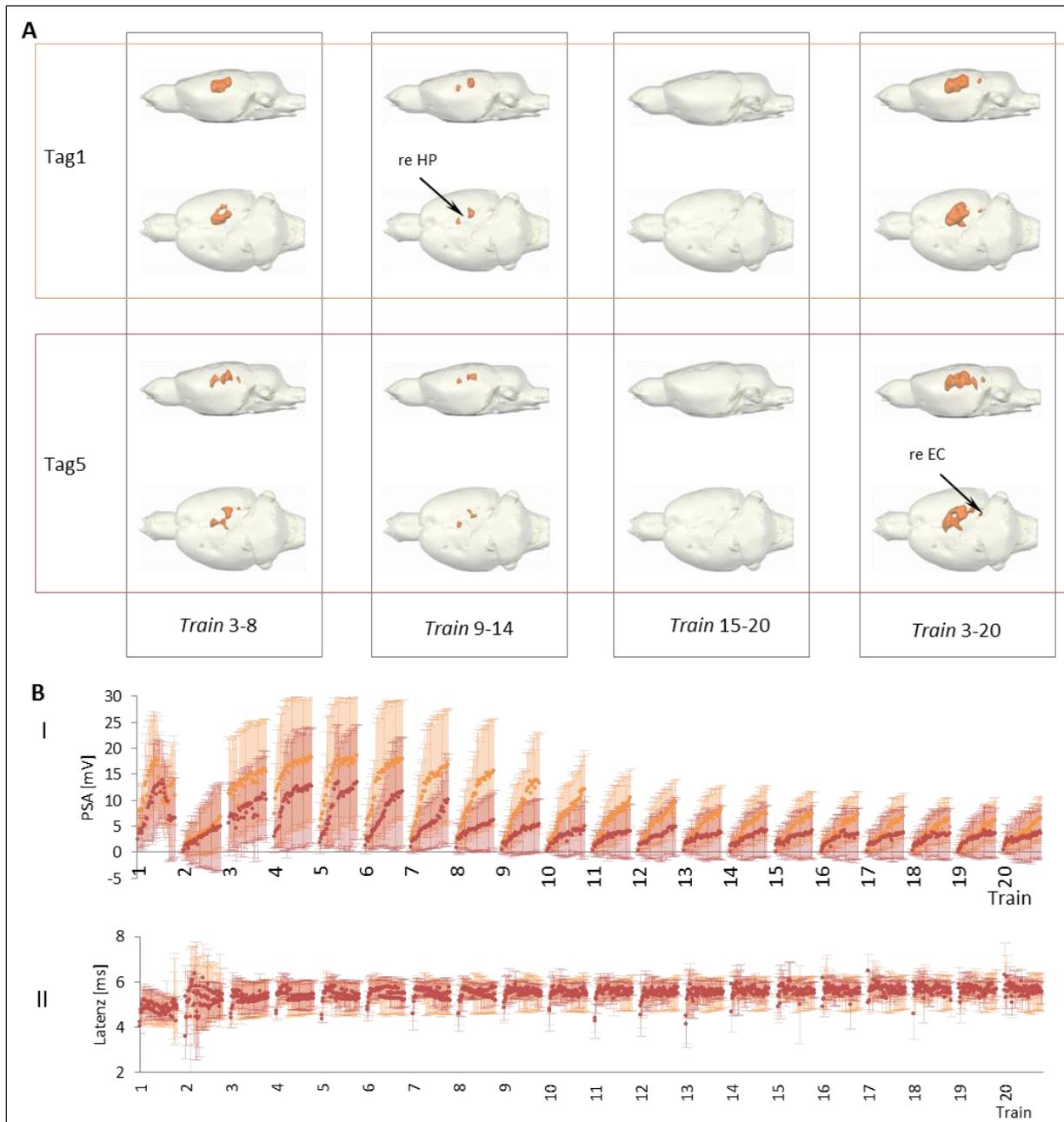
Es zeigten sich weder in der Elektrophysiologie für den ersten *Train* und die *Trains* 3-20, noch in der BOLD Messung des rechten dorsalen Hippocampus und der 14 weiteren untersuchten Regionen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Eine genauere Aufstellung der BOLD Signalintensitäten befindet sich im Anhang (A4.2.1.1-A4.2.1.3).

Eine vorhergehende Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll/dem 5 Hz Protokoll wirkt sich somit nicht auf das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen und die BOLD Antwort einer nachfolgenden Messung mit demselben Stimulationsmuster im Abstand von vier Tagen aus.



**Abbildung A4.2.1.1 | Vergleich der fMRT/Elektrophysiologie Messungen zwischen Tag 1 und Tag 5 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

A: 3D Darstellung aller signifikant aktivierter Voxel an Tag 1 und an Tag 5. B: Elektrophysiologische Messungen der neuronalen Aktivität im *Gyrus dentatus*. Jeder Burst löste nur einen Populationsspike aus, sodass pro *Train* 8 Populationsspikes ausgewertet wurden. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben. In hellblau dargestellt sind die Werte für Tag 1, dunkelblau die Ergebnisse von Tag 5. I: Verlauf der PSA über die gesamte Messung (20 *Trains* mit jeweils 8 Sekunden Stimulationsdauer). II: Verlauf der Latenzen über die gesamte Messung. Zwischen den beiden Messzeitpunkten bestanden weder in den BOLD Antworten noch in der Elektrophysiologie signifikante Unterschiede (n=6).



**Abbildung A4.2.1.2 | Vergleich der fMRT/Elektrophysiologie Messungen zwischen Tag 1 und Tag 5 bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

A: 3D Darstellungen aller signifikant aktivierter Voxel an Tag 1 und an Tag 5. B: Elektrophysiologische Messungen der neuronalen Aktivität im *Gyrus dentatus*. Pro Train wurden 40 Populationsspikes gemessen. In orange dargestellt sind die Werte für Tag 1, dunkelrot die Ergebnisse von Tag 5. I: Verlauf der PSA über die gesamte Messung (20 Trains mit jeweils 8 Sekunden Stimulationsdauer). II: Verlauf der Latenzen über die gesamte Messung. Alle Werte sind mit Standardabweichungen dargestellt. Zwischen den beiden Messzeitpunkten bestanden weder in den BOLD Antworten noch in der Elektrophysiologie Unterschiede (n=6).

#### 4.2.2 Vergleich von neuronalen und BOLD Antworten zwischen zwei im Abstand von vier Tagen erfolgten Messungen, bei der die Stimulation als CS in einer aktiven Vermeidungsaufgabe verwendet wurde

In den vorhergehenden Versuchen hatten die genutzten Stimulationsprotokolle keine unmittelbare physiologische/verhaltensrelevante Bedeutung für die Ratten. In diesem Teil der Experimente wurde untersucht, ob verhaltensrelevante Reize zu langfristigen Änderungen der neuronalen und hämodynamischen Antworten im Hippocampus führen können. Für diesen Teil der Experimente wurden das 1 Hz-20 Pulse und das 5 Hz Protokoll verwendet. Beide wurden, wie im Material und Methoden Teil in Abbildung 3.4 beschrieben, sowohl während der kombinierten Elektrophysiologie/MRT Messungen an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 verwendet, als auch als konditionierter Stimulus (CS) für die aktive Vermeidungsaufgabe. Es wurden mit diesem Versuchsansatz die mittel- und längerfristigen Auswirkungen einer Stimulation, die durch die Shuttle-Box Aufgabe verhaltensrelevant wurde, untersucht. Dabei lag der Schwerpunkt auf dem Vergleich der ganzen fMRT/Elektrophysiologie Messungen und weniger auf dem Verlauf der einzelnen Messungen. Im rechten dorsalen Hippocampus wurde dennoch der Verlauf der BOLD Signalintensität als Abfall der Ausgleichsgeraden von *Train* 4-20 ausgewertet. Wie im vorhergehenden Teil, wurde die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in den drei Abschnitten *Train* 3-8, *Train* 9-14, *Train* 15-20 dargestellt. Beim Vergleich der PSA wurden die Originaldaten verwendet und nicht wie im vorhergehenden Abschnitt auf den ersten Populationsspike normalisiert. Dies war notwendig um die Auswirkungen des Shuttle-Box Lernens bzw. der Stimulation des *Tractus perforans* auf die PSA zu untersuchen. Wie für die vorhergehenden Experimente 1-4 wurden auch hier die Summen der Amplituden berechnet. Anschließend wurden die Messzeitpunkte mit einander verglichen. Um möglichst vergleichbare Ausgangsbedingungen zu schaffen, wurden nur Tiere verwendet, die beim Test bei einer Reizintensität von 400  $\mu$ A eine PSA von mindestens 5 mV zeigten. Anschließend wurden die Ratten zufällig den beiden Gruppen (5 Hz und 1 Hz-20 Pulse) zugeordnet. Es wurde überprüft, wie gut die beiden Stimulationsprotokolle als CS geeignet sind beim Vermeidungslernen das gewünschte Verhalten auszulösen.

Dass das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS für das Shuttle-Box Training verwendet werden kann und zu signifikanten Unterschieden in der neuronalen Antwort sowie den BOLD Antworten zwischen einer Messung vor dem Training und der Elektrophysiologie/fMRT führt, konnte bereits nachgewiesen werden (Angenstein et al. 2013). Längerfristige Effekte oder die Effizienz eines anderen Stimulationsprotokolls als CS wurden dabei jedoch nicht betrachtet.

Wie bereits in Abschnitt 3.6 Material- und Methoden Teils beschrieben, wurde das Training in der Shuttle-Box Lernaufgabe an drei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Eine Trainingseinheit bestand dabei aus 60 Durchgängen von jeweils einer Minute. Wie während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen wurde dabei der *Tractus perforans* für 8 Sekunden stimuliert. Für die ersten beiden Elektrophysiologie/fMRT Messungen sowie für die Verhaltenstests wurden pro Gruppe 12 Tiere verwendet. In den Gruppen, die an Tag 14 eine weitere fMRT/Elektrophysiologie Messung erhielten, wurden 7 Tiere (5 Hz) und 8 Tiere (1 Hz-20 Pulse) gemessen. Für die Überprüfung, wie gut sich die Ratten an die Aufgabe erinnern konnten, wurden jeweils 7 Tiere pro Gruppe gemessen.

### 4.2.2.1 Verhaltensdaten

Dass elektrische Stimulation des *Tractus perforans* mit verschiedenen Frequenzen als CS für das Shuttle-Box Lernparadigma verwendet werden kann wurde bereits in früheren Studien gezeigt (Reymann et al. 1982; Matthies et al. 1986). Die Ratten hatten dabei die Aufgabe, bei Stimulation des *Tractus perforans* auf die andere Seite einer durch eine Hürde in zwei gleich große Bereiche getrennten Box zu springen. Beim korrekten Sprung über die Hürde wurde die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* dadurch beendet, sodass nicht in jedem Versuchsdurchgang für 8 Sekunden stimuliert wurde. Zunächst wurde die Anzahl der richtig ausgeführten Sprünge während der Verhaltensversuche an den drei aufeinander folgenden Tagen untersucht (Tag 2-Tag 4) um den Lernfortschritt zu erfassen. Anschließend wurden die beiden Gruppen mit einander verglichen, um herauszufinden ob die Aufgabe mit einem der Stimulationsprotokolle leichter zu erlernen war.

#### 4.2.2.1.1 Lernfortschritt an Tag2-4

Tiere, bei denen das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS verwendet wurde, bewältigten die Aufgabe am zweiten Tag mit mehr richtigen Sprüngen ( $Mdn=50,5$ ) signifikant besser als am ersten Tag ( $Mdn=33,17$ ),  $Z=-2,69$ ,  $p<0,001$ ,  $r=0,78$ ). Zwischen dem zweiten und dem dritten Trainingstag erfolgte jedoch keine weitere signifikante Verbesserung. Wurde das 5 Hz Protokoll als Stimulus für die Lernaufgabe verwendet, absolvierten die Ratten mehr richtige Durchgänge am zweiten Tag ( $Mdn=34$ ) als am ersten Trainingstag ( $Mdn=11$ ),  $Z=-2,78$ ,

$p < 0,001$ ,  $r = 0,81$ . Am dritten Tag ( $Mdn = 38,5$ ) verbesserten sich die Tiere in der Gruppe, wiederum im Vergleich zum zweiten Trainingstag ( $Mdn = 34$ ) weiter,  $Z = -2,11$ ,  $p < 0,01$ ,  $r = 0,61$ .

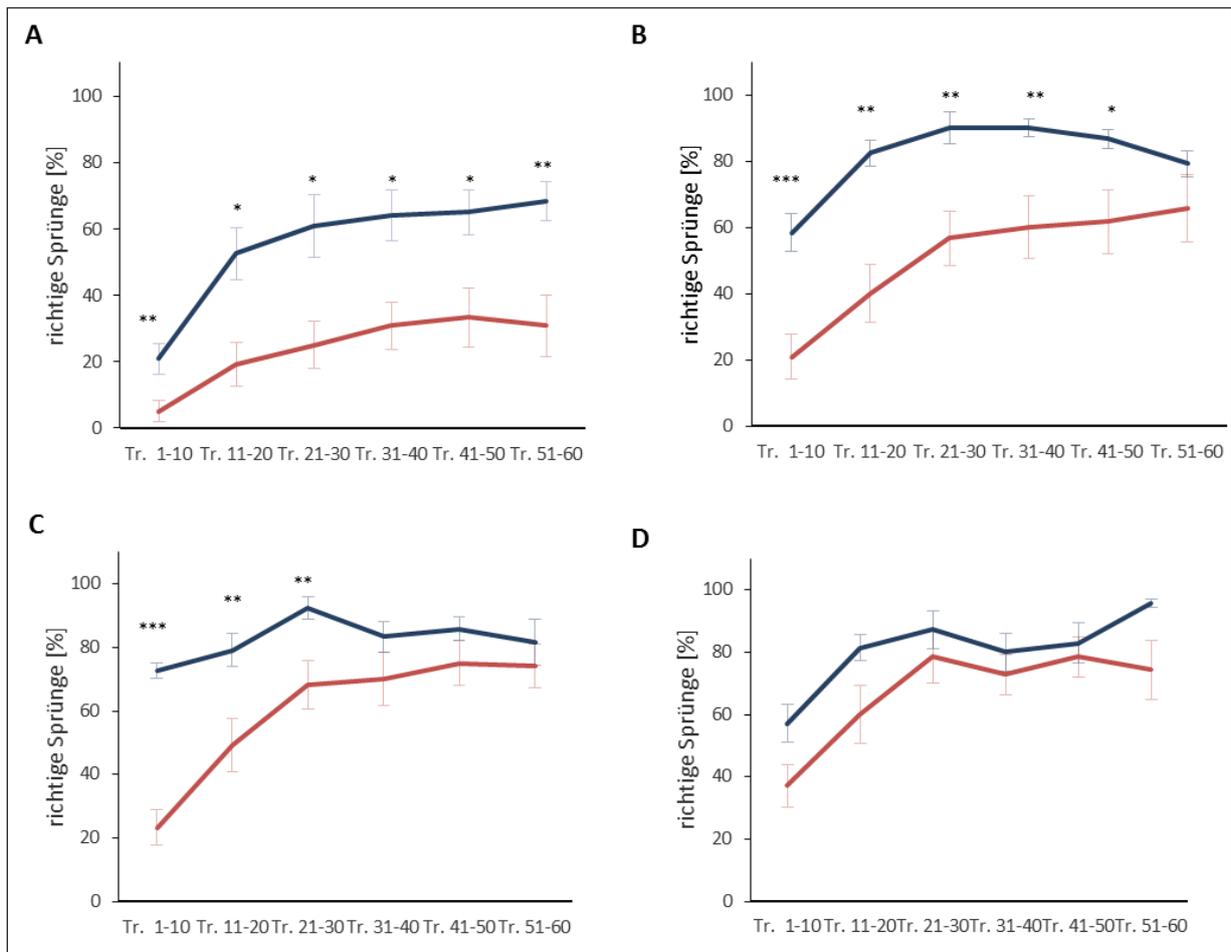
Beide Trainingsgruppen erlernten die aktive Vermeidungsaufgabe, wobei vom ersten zum zweiten Trainingstag in jeder der beiden Gruppen eine Verbesserung des Lernverhaltens zu beobachten war.

### 4.2.2.1.2 Vergleiche zwischen den Gruppen (5 Hz- und 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe)

Beim Vergleich der Gruppe, die das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS präsentiert bekam, mit der Gruppe von Tieren, die das 5 Hz Protokoll als Signal die Hürde zu überspringen bekam, zeigten sich signifikante Unterschiede. Insgesamt war die Anzahl der richtigen Testdurchläufe über alle drei Tage in der Gruppe, die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainiert wurde signifikant höher ( $Mdn = 131$ ) als in der 5 Hz Trainingsgruppe ( $Mdn = 87,5$ )  $U = 10,00$ ,  $Z = -3,58$ ,  $p < 0,001$ ,  $r = 0,73$ .

Am ersten Trainingstag war die Anzahl der richtigen Reaktionen auf den Stimulus in der mit 5 Hz trainierten Gruppe signifikant geringer ( $Mdn = 11,42$ ) als in der mit 1 Hz-20 Pulse trainierten Gruppe ( $Mdn = 33,17$ ),  $U = 11,00$ ,  $Z = -3,53$ ,  $p < 0,001$ ,  $r = 0,72$ . Am zweiten Trainingstag absolvierten die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainierten Ratten ebenfalls mehr korrekte Sprünge als Reaktion auf den Stimulus ( $Mdn = 50,5$ ), als dies in der Gruppe der Ratten, die mit dem 5 Hz Protokoll trainiert wurden ( $Mdn = 33,0$ ), der Fall war  $U = 19,50$ ,  $Z = -3,04$ ,  $p = 0,001$ ,  $r = 0,62$ . Auch am letzten Trainingstag war die Anzahl der richtig ausgeführten Trainingsdurchläufe in der Gruppe der mit dem 5 Hz Protokoll trainierten Tiere ( $Mdn = 38,5$ ) signifikant geringer als in der 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe ( $Mdn = 50$ ),  $U = 28,00$ ,  $Z = -2,55$ ,  $p = 0,01$ ,  $r = 0,50$ . Wie in Abbildung 4.2.2.1 zu sehen ist, führten die Ratten in der Gruppe, die mit dem 5 Hz Protokoll als CS trainiert wurden, in den ersten 10 Minuten an allen drei Tagen signifikant weniger korrekte Sprünge aus. Die Tiere in der 5 Hz Gruppe scheinen sich an allen drei Tagen schlechter an die Verhaltensaufgabe zu erinnern, als die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainierten Tiere. Am Ende des dritten Trainingstages hatten beide Gruppen die Aufgabe jedoch gleich gut gelernt.

Die aktive Vermeidungsaufgabe scheint für Ratten damit mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als konditioniertem Stimulus leichter zu bewältigen zu sein, als wenn das 5 Hz Protokoll als CS verwendet wurde.



**Abbildung 4.2.2.1 | Lernkurven für das Shuttle-Box Training, bei dem das 1 Hz-20 Pulse/ das 5 Hz Protokoll an Tag 2-Tag 4 als CS verwendet wurde**

Dargestellt sind die Lernkurven für die beiden Gruppen von Ratten, bei denen die Stimulation des *Tractus perforans* als CS für die aktive Vermeidungsaufgabe genutzt wurde. Rot: 5 Hz Protokoll, blau: 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Jede Trainingseinheit wurde in Blöcke von 10 Trainingsdurchgängen unterteilt (Tr. 1-10, Tr.11-20, Tr. 21-30, Tr. 31-40, Tr. 41-50, Tr. 51-60). Wie während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen wurde jede Minute für 8 Sekunden stimuliert. Die verschiedenen Abbildungen zeigen den Trainingsfortschritt. A: Tag 2 (erster Tag des Trainings), B: Tag 3, C: Tag 4, D: Tag 15. An den drei Trainingstagen wurden pro Gruppe 12 Tiere gemessen, an Tag 15 7 Ratten je Gruppe. Beide Stimulationsprotokolle sind für die Ratten geeignet um die Shuttle-Box Aufgabe zu erlernen.

Um die Stimulationsdauer für die Stimulationsgruppe an die Bedingungen während des Shuttle-Box Trainings anzupassen, wurde zusätzlich erfasst wie viele Stimulationspulse die Tiere in den beiden Gruppen bekamen. Für die 5 Hz Gruppe ergab sich ein Durchschnittswert von 6,50 s Stimulation/Testdurchgang ( $SD=0,61s$ ), für die 1 Hz-20 Pulse Gruppe ein Durchschnittswert von 5,63 s Stimulation/Testdurchgang ( $SD=0,67s$ ). Die Zeit, die die Tiere in korrekten Versuchsdurchgängen vom Stimulationsbeginn bis zum Sprung über die Hürde

brauchten war an den drei Trainingstagen nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen.

#### 4.2.2.1.3 *Mögliche zusätzliche Einflussfaktoren auf den Lernfortschritt – Vergleich zwischen den Gruppen*

Um sicher zu gehen, dass das Stimulationsprotokoll zu den unterschiedlichen Lernkurven führt, wurden zusätzliche Parameter erfasst und zwischen den beiden Gruppen verglichen. Die zusätzlich erfassten Parameter sind in Abbildung A4.2.2.1 dargestellt.

##### Sprünge zwischen den Versuchsdurchgängen

Um auszuschließen, dass häufiges Hin- und her springen der Ratten zu schnellerem Erlernen der Aufgabe bzw. zufällig mehr korrekten Trainingsdurchgängen geführt hat, wurden die Sprünge zwischen den Stimulationszeiträumen zwischen den beiden Gruppen verglichen. An keinem der Trainingstage war die Anzahl der Sprünge zwischen den Stimulationszeiträumen signifikant unterschiedlich.

##### Stimulationsintensität

Die Stimulationsintensität während der Trainingstage, die auch für die kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen verwendet wurde lag zwischen 200 und 300  $\mu$ A. Die anhand der Amplitude des Populationsspikes bestimmten Reizintensitäten waren zwischen den beiden Trainingsgruppen nicht signifikant unterschiedlich.

#### 4.2.2.1.4 *Retest an Tag 15 um das Erinnerungsvermögen zu überprüfen*

Pro Gruppe (5 Hz Trainingsgruppe/ 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe) wurde eine Untergruppe von jeweils 7 Tieren am 15. Tag darauf getestet, wie gut sich die Tiere 13 Tage nach dem letzten Training an die Aufgabe erinnern konnten. Beim Vergleich der korrekten Sprünge ergaben sich weder in der Gruppe, die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainiert wurde, noch in der mit dem 5 Hz Protokoll trainierten Gruppe signifikante Unterschiede zwischen dem dritten Trainingstag (Tag 4) und dem letzten Tag (Tag 15). Am Tag 15 konnten keine Unterschiede in der Anzahl der richtig ausgeführten Sprünge zwischen den beiden Trainingsgruppen festgestellt werden (Abbildung 4.2.2.1). Auch in den ersten 10 Minuten des

Verhaltensversuchs ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Das längerfristige Erinnerungsvermögen scheint somit unabhängig davon zu sein, ob mit dem 1 Hz-20 Pulse oder dem 5 Hz Protokoll als CS trainiert wurde.

#### ***4.2.2.2 Mittelfristige Auswirkungen von vorhergehender Stimulation des Tractus perforans mit verhaltensrelevanter Bedeutung***

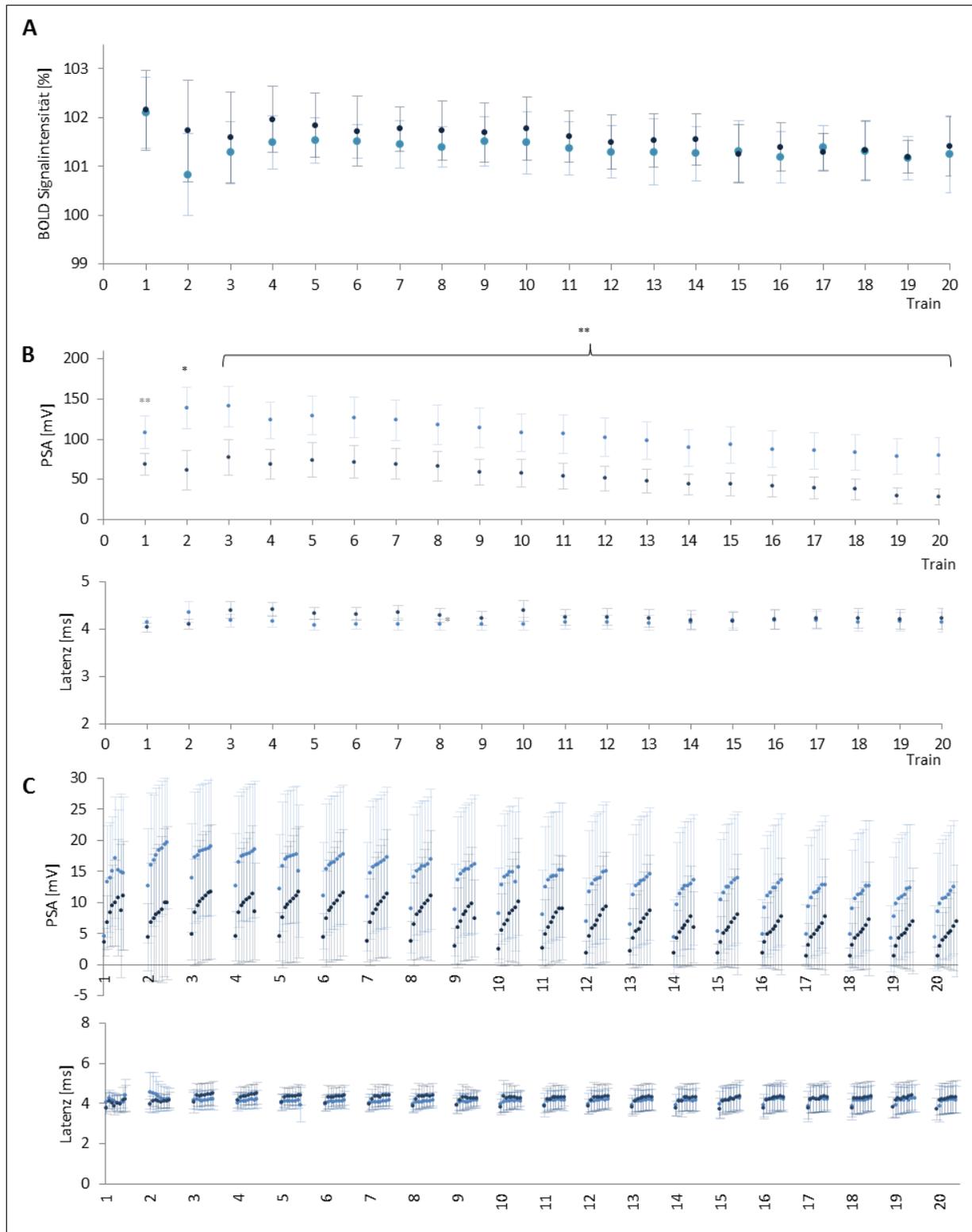
Vor- und nach dem Shuttle-Box Training (an Tag 1 und an Tag 4) wurden kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messungen durchgeführt um die Auswirkungen des Shuttle-Box Trainings zu untersuchen.

##### *4.2.2.2.1 Vergleich der Messzeitpunkte Tag 1 und Tag 5 der Lerngruppe, die an den Tagen 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS trainiert wurde*

###### *4.2.2.2.1.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus*

Durch elektrische Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 1 Hz-20 Pulse Stimulationsmuster wurde das im ersten Abschnitt beschriebenen neuronale Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* ausgelöst. Im ersten *Train* war das neuronale Antwortverhalten also eher unregelmäßig. Ab dem dritten *Train* stieg die PSA innerhalb der *Trains* an, fiel jedoch über den Verlauf der Messung ab, sodass die mittlere PSA im Verlauf der Messung abnahm (Abbildung 4.2.2.2.1). Auf den ersten *Train* folgten bei naiven Ratten neuronale Nachentladungen. An Tag 5, nachdem die Tiere an drei aufeinanderfolgenden Tagen die aktive Vermeidungsaufgabe gestellt bekommen hatten, waren die Nachentladungen nach dem ersten *Train* seltener. Die Amplitude des ersten Populationsspikes war zwischen Tag 1 und Tag 5 nicht signifikant unterschiedlich. Für den weiteren Verlauf wurden die Summen der Amplituden in den einzelnen *Trains* berechnet und anschließend die Werte für die *Trains* 3-20 zwischen den beiden Messzeitpunkten verglichen. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung ergab, dass die Amplitude der Populationsspikes mit dem Messzeitpunkt zusammenhängt ( $F(1,11)=11,865$ ,  $p=0,005$ , partielles  $\eta^2=0,630$ ). Die PSA war nach dem Shuttle-Box Training ( $M=53,53$  mV,  $SD=54,17$ ) signifikant niedriger als vor Beginn des Trainings ( $M=105,15$  mV,  $SD=80,50$ ). Die Latenz des ersten Populationsspikes an Tag 5 war signifikant geringer ( $Mdn=3,8$  ms) als bei naiven Tieren ( $Mdn=4,0$  ms,  $Z=2,32$ ,  $p<0,05$ ,

$r=0,47$ ). Die Latenz der *Trains* 3-20 war nach dem Verhaltenstraining nicht signifikant unterschiedlich im Vergleich zur ersten fMRT/Elektrophysiologie Messung.



**Abbildung 4.2.2.2.1 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus vor und nach Shuttle-Box Training während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Zeitlicher Verlauf der maximalen BOLD Antworten über die Messung, sowie die PSA und die Latenz vor und nach dem Shuttle-Box Training (n=12), bei dem das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS verwendet wurde (n=12). Tag 1: hellblau, Tag 5 dunkelblau. A: Verlauf der maximalen BOLD Antworten im rechten dorsalen Hippocampus mit Standardabweichungen. B: Verlauf der Summen der Populationsspikes, die in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* gemessen wurden. Pro *Train* wurden 8 Populationsspikes gemessen. Die Latenzen sind als Mittelwerte innerhalb der *Trains* dargestellt. Sowohl die PSA als auch die Latenzen sind mit Standardfehler abgebildet. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ . C: Originaldaten, aus denen die Summen/Mittelwerte der Abbildung C berechnet wurden. Sowohl die Amplitude, als auch die Latenz der Populationsspikes sind als Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt.



---

### 4.2.2.2.1.2 Vergleich der BOLD Antworten der 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe vor und nach Shuttle-Box Training

Die BOLD Antwort an Tag 1 entsprach wie erwartet dem im ersten Abschnitt beschriebenen Verlauf bei naiven Tieren. Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll führte zu einer signifikanten BOLD Antwort in der rechten- und der linken hippocampalen Formation und dem *entorhinalen Cortex*. Auch die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel blieb über die Zeit relativ stabil. Der Abfall der maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus in den *Trains* 4-20 war ebenfalls gering (Abbildung 4.2.2.2.1). Nach dem Shuttle-Box Training führte Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zu einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. An Tag 5 zeigte sich im Septum, dem Nucleus accumbens, der basolateralen Amygdala und dem medialen präfrontalen Cortex signifikant aktivierte Voxel (Abbildung 4.2.2.2). Die Ausbreitung signifikanter BOLD Antworten war vor allem während *Trains* 3-8 sichtbar. In einigen Zielregionen des rechten Hippocampus (mPFC, rechter und linker EC, BLA) und dem VDB wurde nach drei Tagen Shuttle-Box Training, eine signifikante Erhöhung der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train* gemessen (Tabelle A4.2.2.2.1.1). Zielregionen des linken Hippocampus waren hingegen nicht betroffen. Im rechten dorsalen Hippocampus und im Rest des Hippocampus führte das Shuttle-Box Training nicht zu einer signifikanten Veränderung der maximalen BOLD Antwort im ersten *Train*. Die *Trains* 3-20 zeigten jedoch eine signifikant höhere BOLD Signalintensität im rechten Hippocampus nach den Verhaltensversuchen. Dabei fiel auf, dass im rechten dorsalen Hippocampus hingegen keine signifikante Veränderung der BOLD Signalintensität für die *Trains* 3-20 nachgewiesen werden konnte. Das bedeutet, dass im ventralen Hippocampus eine erhöhte BOLD Antwort generiert wurde. Der Abfall der BOLD Signalintensität über die *Trains* 4-20 war nach dem Shuttle-Box Training signifikant stärker

( $Mdn=-0,042$ ) ausgeprägt als an Tag 1 ( $Mdn=-0,019$ ,  $Z=2,1$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,61$ ). In Zielregionen des rechten Hippocampus (mPFC, rechter und linker EC, BLA, rechter NAcc) wurden auch für die *Trains* 3-20 signifikant höhere maximale BOLD Signalintensitäten berechnet (Tabelle A4.2.2.2.1.2).

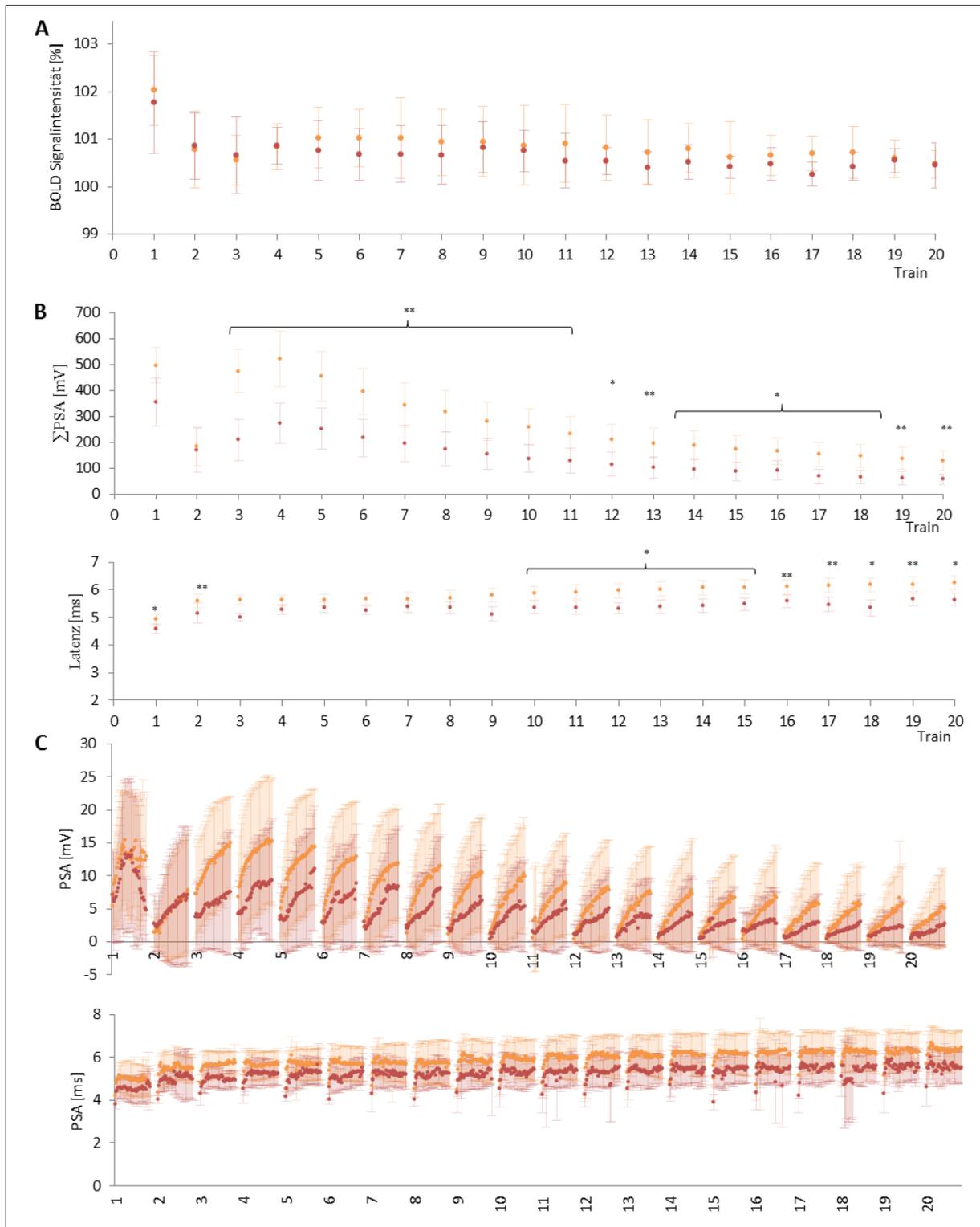
Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll führte somit direkt nach dem Verhaltenstraining zu einem zusätzlichen Auftreten von signifikanten BOLD Antworten in mehreren Zielregionen des rechten Hippocampus. Im rechten dorsalen Hippocampus konnten hingegen weder im ersten, noch in den folgenden *Trains* signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten nachgewiesen werden. Die Amplituden der Populationsspikes waren nach dem Verhaltenstraining reduziert. Ein vermindertes neuronales Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* ging hier also nicht mit einer verminderten maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus einher.

#### 4.2.2.2.2 Vergleich der Messzeitpunkte Tag 1 und Tag 5 der Lerngruppe, die an den Tagen 2-4 mit dem 5 Hz Protokoll als CS trainiert wurde

##### 4.2.2.2.2.1 Neurophysiologische Effekte im *Gyrus dentatus*

Stimulation des *Tractus perforans* der naiven Tiere, die anschließend mit dem 5 Hz Protokoll in der Shuttle-Box trainiert wurden, führte zu dem bereits im ersten Teil beschriebenen elektrophysiologischen Antwortmuster. Jeder Puls löste einen Populationsspike aus. Der erste *Train* wies ein unregelmäßiges Aktivierungsmuster auf, der zweite von Nachentladungen nach dem ersten *Train* beeinflusste *Train*, zeigte ebenfalls ein unregelmäßiges Muster. Die Nachentladungen nach dem zweiten *Train* dauerten etwa 20-30 Sekunden und führten bei einem Teil der Tiere zum Ausbleiben der Populationsspikes im zweiten *Train*. Ab dem dritten *Train* stieg die PSA innerhalb eines *Trains* an, fiel jedoch über die 20 *Trains* ab. Nach dem Shuttle-Box Training waren die neuronalen Nachentladungen nach dem ersten *Train* selten und traten nur bei wenigen Tieren auf. Die Amplitude des ersten Populationsspikes im ersten *Train* zeigte nach dem Shuttle-Box Training keine signifikante Veränderung. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung zeigte, dass die Amplitude der Populationsspikes mit dem Messzeitpunkt zusammenhängt ( $F(1,11)=9,434$ ,  $p=0,011$ , partielles  $\eta^2=0,462$ ). Die Summe der Amplituden der *Trains* 3-20 war nach dem Shuttle-Box Training ( $M=167,92$  mV,  $SD=170,99$ ) signifikant niedriger als vor Beginn des Trainings ( $M=288,44$  mV,  $SD=208,41$ ).

Die Latenz des ersten Populationsspikes zeigte ebenso wie die Amplitude keine signifikante Veränderung durch die Stimulation des *Tractus perforans* während der aktiven Vermeidungsaufgabe. Allerdings war die Latenz des ersten Populationsspikes an Tag 1 ( $M=4,2\text{ms}$   $SD=0,40$ ) länger als an Tag 5 ( $M=3,8\text{ ms}$   $SD=0,24$ ). Der Unterschied erreichte allerdings mit  $p=0,058$  nicht das Signifikanzniveau. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung ergab, dass auch für die Latenz der Populationsspikes in den *Trains* 3-20 ein Zusammenhang mit dem Messzeitpunkt besteht ( $F(1,6)=19,68$ ,  $p=0,016$ , partielles  $\eta^2=0,648$ ). Die Latenz der *Trains* 3-20 betrug nach dem Shuttle-Box Training ( $M=5,40\text{ ms}$ ,  $SD=0,82$ ) und war damit signifikant niedriger als vor Beginn des Trainings ( $M=5,99\text{ ms}$ ,  $SD=0,85$ ). Obwohl die Latenz im Verlauf der Messung (*Trains* 4-20) vor dem Shuttle-Box Training stärker anstieg ( $M=0,043$ ,  $SD=0,034$ ) als an Tag 5 ( $M=0,003$ ,  $SD=0,045$ ), war dieser Unterschied nicht signifikant. Der Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens während der kombinierten Elektrophysiologie/fMRT-Messungen vor und nach dem Shuttle-Box Training sind in Abbildung 4.2.2.3 dargestellt.



**Abbildung 4.2.2.2.2 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus vor und nach Shuttle-Box Training während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5 bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

Verlauf der maximalen BOLD Signalintensität über die Messung, so wie PSA und Latenz vor und nach Shuttle-Box Training (n=12), bei dem das 5 Hz Protokoll als CS verwendet wurde. Tag 1: orange, Tag 5 rot. A: Verlauf der maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus mit Standardabweichungen. B: Elektrophysiologische Messungen der

neuronalen Aktivität im *Gyrus dentatus*. Die Latenzen sind als Mittelwerte innerhalb der *Trains* dargestellt. Sowohl die PSA als auch die Latenzen sind mit Standardfehler abgebildet. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ . C: Originaldaten, aus denen die Summen/Mittelwerte der Abbildung B berechnet wurden. Sowohl die Amplitude, als auch die Latenz der Populationsspikes sind als Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt.



#### 4.2.2.2.2 Vergleich der BOLD Antworten der 5 Hz Trainingsgruppe vor und nach Shuttle-Box Training

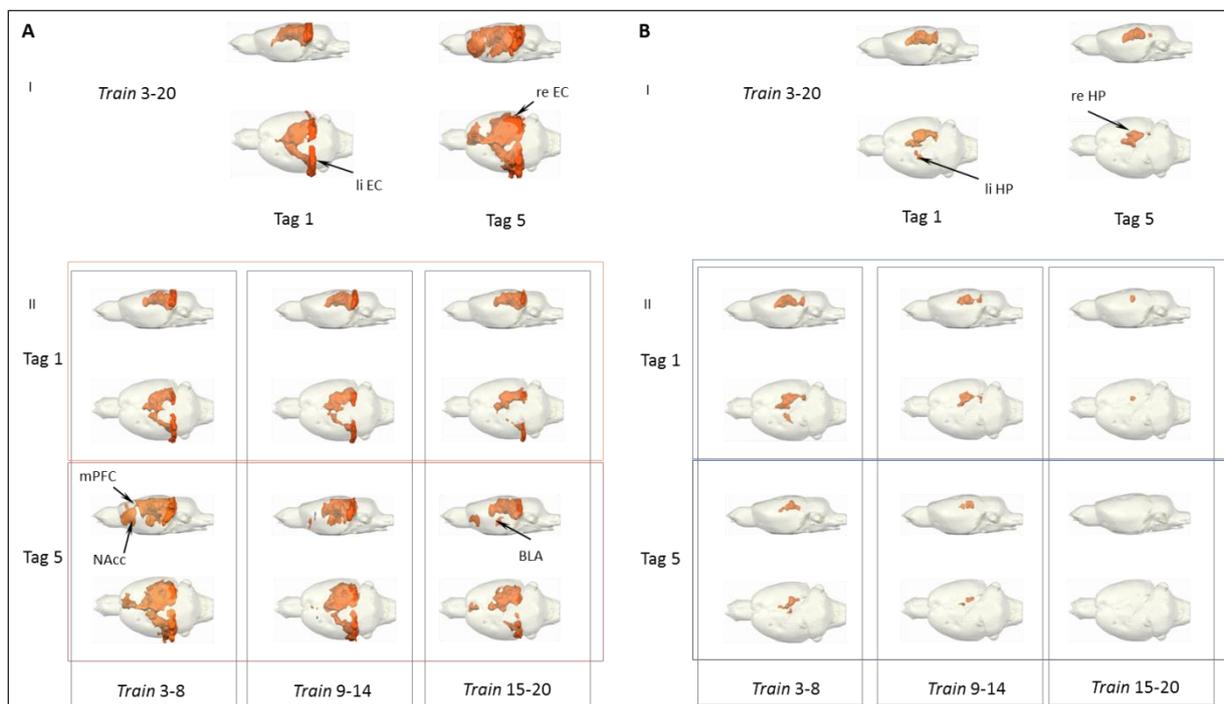
Durch Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll während der Elektrophysiologie/fMRT Messung an Tag 1 wurde die im ersten Teil bereits beschriebene BOLD Antwort ausgelöst. Im rechten dorsalen Hippocampus kam es dabei zu einem deutlichen Abfall der maximalen Signalintensität im Verlauf der Messung (Abbildung 4.2.2.2). Die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel verringerte sich ebenfalls im Verlauf der Messung (Abbildung 4.2.2.2). Signifikant aktivierte Voxel wurden während der ersten Messung an Tag 1 im rechten und im linken Hippocampus, sowie im rechten entorhinalen Cortex nachgewiesen (Abbildung 4.2.2.2). Im linken entorhinalen Cortex verringerte sich signifikant die BOLD Signalintensität in den *Trains* 3-20 nach dem Shuttle-Box Training ( $Mdn= 100,57\%$ ) im Vergleich zur ersten Messung ( $Mdn= 100,77\%$ )  $Z=-2,41$   $p<0,05$ ,  $r=0,70$ ). Der Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus war zwischen den beiden Messzeitpunkten über die *Trains* 4-20 nicht signifikant unterschiedlich. Der Vergleich der maximalen BOLD Signalintensität im dorsalen Hippocampus im ersten *Train* zeigte ebenso wenig eine signifikante Veränderung durch das Shuttle-Box Training, wie der Vergleich der BOLD Signalintensität der folgenden *Trains* 3-20. Somit spiegelt sich die verminderte neuronale Aktivität im *Gyrus dentatus* in den *Trains* 3-20 nicht in einer verminderten BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus wider. Die BOLD Signalintensitäten für die anderen Regionen sind in den Tabellen A4.2.2.2.1 und A4.2.2.2.2 im Anhang aufgeführt.

Nach dem Shuttle-Box Training (an Tag 5) zeigten sich im Gegensatz zu naiven Tieren keine signifikant aktivierten Voxel im linken Hippocampus. Der Wilcoxon-Test ergab für die *Trains* 3-20 allerdings weder für den gesamten linken Hippocampus, noch für den linken dorsalen Hippocampus signifikante Unterschiede in den BOLD Antworten. Der Vergleich der *Trains* 3-8 ergab ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der BOLD Signalintensität zwischen den beiden Messzeitpunkten.

Der Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, d.h. die Verminderung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel über die 20 *Trains* blieb nach dem Training bestehen (Abbildung 4.2.2.2).

Das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen war nach Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 5 Hz Protokoll als *CS* in der Shuttle-Box im Vergleich zur ersten fMRT/Elektrophysiologie Messung reduziert. Die Verringerung der neuronalen Aktivität der Granularzellen spiegelte sich jedoch nicht in einer reduzierten BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus wider. Nach dem Shuttle-Box Training waren im linken Hippocampus keine signifikant aktivierten Voxel mehr nachweisbar, was sich jedoch nicht in einer geringeren BOLD Signalintensität im linken Hippocampus zeigte.

Zwischen dem Verhalten im Shuttle-Box Training und der Veränderung der BOLD Signalintensität in verschiedenen Regionen (BLA, rechter und linker EC, mPFC, rechter und linker Hippocampus) konnte bei der Berechnung der Spearman Korrelationen kein Zusammenhang nachgewiesen werden.



**Abbildung 4.2.2.2 | 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel vor und nach Shuttle-Box Training während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5**

3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5. A: 1 Hz-20 Pulse (n=12) und B: 5 Hz (n=12). I: *Train 3-20* vor Shuttle-Box Training (links) und nach Shuttle-Box Training (rechts). II: signifikant aktivierte Voxel bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse bzw. dem 5 Hz Protokoll. Die Messung wurde dabei in drei Blöcke unterteilt dargestellt. Während das 1

Hz-20 Pulse Protokoll nach der aktiven Vermeidungsaufgabe zu einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel führte, war die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel bei der Messung an Tag 5 in der Gruppe, die mit dem 5 Hz Protokoll trainiert wurde geringer als an Tag 1.

#### **4.2.2.3 Längerfristige Auswirkungen von vorhergehender Stimulation, bei der die Stimulation des *Tractus perforans* eine verhaltensrelevante Bedeutung erlangte**

Ratten können sich die verwendete aktive Vermeidungsaufgabe über einen längeren Zeitraum merken (Reyermann et al. 1982), daher wurde eine weitere kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 14 durchgeführt. Damit sollte geklärt werden, wie sich die direkt nach dem Shuttle-Box Training gemessenen Veränderungen der neuronalen und hämodynamischen Antworten nach der Konsolidierung entwickeln. Zwischen den letzten beiden Messungen wurden die Ratten in Einzelkäfigen gehalten und bekamen keine weitere elektrische Stimulation des *Tractus perforans*. Die fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 14 wurde vor dem Verhaltensexperiment an Tag 15 durchgeführt um einen Einfluss zusätzlicher Stimulation des *Tractus perforans* auf die Messung an Tag 14 auszuschließen.

##### *4.2.2.3.1 Vergleich der Messzeitpunkte Tag 1, Tag 5 und Tag 14 der Lerngruppe, die an den Tagen 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS trainiert wurde*

###### *4.2.2.3.1.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus*

Der grundsätzliche Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* veränderte sich zwischen den drei Messzeitpunkten, an denen mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde ebenfalls nicht. Das heißt, dass sowohl an Tag 1 als auch an Tag 5 und Tag 14 auf die ersten beiden *Trains* eine Stabilisierung des Antwortverhaltens folgte. Dabei stieg die Amplitude des Populationsspikes, wie bisher für Messungen mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll beschrieben, innerhalb eines *Trains* an, die gemittelte Amplitude pro *Train* fiel im Verlauf der Messung ab. Beim Vergleich der Amplituden des ersten, nicht durch vorhergehende Stimulation während der Messung beeinflussten Populationsspikes, zeigte sich eine signifikante Verminderung der PSA an Tag 14 ( $Mdn=0,73mV$ ), also nach einer Pause von neun Tagen nach der letzten Stimulation im Vergleich zum ersten Populationsspike an Tag 1 ( $Mdn=4,82 mV$ ,  $Z=-2,31$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,47$ ). Zwischen der PSA an Tag 14 ( $Mdn=0,73 mV$ ) und der PSA an Tag 5 ( $Mdn=4,62 mV$ ) wurden ebenfalls signifikante Unterschiede

gemessen,  $Z=-2,07$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,42$ . Die Latenzen im ersten *Train* waren zu den drei Messzeitpunkten nicht signifikant unterschiedlich. Der Einfluss des Messzeitpunkts zeigte sich ebenfalls für die Summe der Amplituden in den *Trains* 3-20 ( $F(2,18)=7,489$ ,  $p=0,004$ , partielles  $\eta^2=0,454$ ). Die Paarvergleiche ergaben, dass die Summen der PSA nach dem Shuttle-Box Training ( $M=48,03$  mV,  $SD=44,96$ ) und an Tag 14 ( $M=14,30$  mV,  $SD=18,18$ ) signifikant geringer waren als am ersten Tag ( $M=90,55$  mV,  $SD=61,19$ ). Ebenfalls signifikant geringer waren die Summen der Amplituden an Tag 14, im Vergleich zu den Amplituden der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 5 ( $p<0,001$ ). Die Latenzen der *Trains* 3-20 unterschieden sich nicht signifikant zwischen den drei Messzeitpunkten. Den Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens stellt Abbildung 4.2.1 dar.

### *4.2.2.3.1.2 Vergleich der BOLD Antworten der 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe vor und nach Shuttle-Box Training und zwei Wochen nach Shuttle-Box Training*

Eine Untergruppe der Tiere, die an Tag 2-Tag 4 in der Shuttle-Box mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS trainiert wurden, bekam an Tag 14 eine weitere fMRT/Elektrophysiologie Messung. Die Unterschiede zwischen der ersten und der zweiten Messung waren auch bei dieser Untergruppe ähnlich, wie für die 12 Tiere, die das Training absolvierten (Tabelle 4.3.1). Der Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus war nicht unterschiedlich zwischen den Messzeitpunkten. Wie bereits für die 12 Tiere, bei denen nur die Messungen an Tag 1 und an Tag 5 durchgeführt wurden, zeigte sich nach dem Shuttle-Box Training eine Ausbreitung der signifikant aktivierten Voxel an Tag 5, die in dieser Untergruppe sogar noch deutlicher ausfiel (Abbildung 4.2.3). Die 3D Darstellung signifikant aktivierter Regionen zeigt, dass die BOLD Antworten in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus auch nach neun Tagen Ruhephase ohne Stimulation bestehen blieb. Dabei war der Verlauf der Aktivität in Regionen außerhalb des Hippocampus stabiler als direkt nach dem Verhaltenstraining an Tag 5.

Bei der Betrachtung der maximalen BOLD Signalintensitäten (siehe Tabelle 4.2.2.3.1.1 und Tabelle 4.2.2.3.1.2) ist erkennbar, dass die Erhöhung der BOLD Signalintensität in den Zielregionen des rechten Hippocampus nach dem Shuttle-Box Training auch nach neun Tagen ohne weitere Stimulation in den meisten Regionen stabil blieb. Dabei konnte nur in wenigen Regionen eine Veränderung zwischen der Messung direkt nach dem Shuttle-Box Training (Tag 5) und der Messung an Tag 14, also nach neun Tagen Stimulationspause festgestellt

werden. Von Tag 5 zu Tag 14 wurde jedoch eine Verminderung der maximalen BOLD Signalintensität für die BLA und das VDB beobachtet. Allerdings ergaben sich beim Vergleich der Signalintensitäten in den einzelnen Regionen für die *Trains* 3-20 auch keine signifikanten Veränderungen zwischen der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 1 im Vergleich zu Tag 14 (Tabelle 4.2.2.3.1.2).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass nach dem Erlernen einer aktiven Vermeidungsreaktion mit einem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS langfristige Effekte, sowohl in den BOLD Antworten, als auch im neuronalen Antwortverhalten der Granularzellen des *Gyrus dentatus* nachweisbar waren. Auch nach neun Tagen ohne Stimulation blieb die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel während der dritten fMRT/Elektrophysiologie Messung bestehen. Die PSA verringerte sich im Vergleich zur zweiten Messung weiter. Im rechten dorsalen Hippocampus konnte hingegen keine Verminderung in der BOLD Signalintensität nachgewiesen werden. Somit entwickeln sich die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus nicht wie die neuronale Aktivität im *Gyrus dentatus*.

<b>Train 1</b>	<b>Tag 1</b>	<b>Tag 5</b>	<b>Tag 14</b>	<b>Tag 1-Tag 5</b>	<b>Tag 1-Tag 14</b>	<b>Tag 5-Tag 14</b>
<b>Region</b>	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert
re HP	101,79	102,33	102,48	0,093	0,208	0,889
li HP	100,90	101,14	101,16	0,998	0,998	1,000
re NAcc	100,39	100,87	100,41	0,161	0,889	0,575
li NAcc	100,45	100,49	100,41	0,480	0,779	1,000
<b>mPFC</b>	100,31	101,09	100,81	0,093	<b>0,017</b>	0,889
VTA/Sn	100,39	100,69	100,38	0,208	0,208	0,263
<b>Septum</b>	100,48	100,93	100,77	<b>0,012</b>	<b>0,017</b>	0,263
re Striatum	100,27	100,74	100,51	<b>0,025</b>	0,674	0,208
li Striatum	100,30	100,19	100,34	0,678	0,889	0,401
re dorsaler HP	101,80	102,50	102,76	0,161	0,263	0,779
li dorsaler HP	101,13	101,39	101,62	0,889	0,889	0,575
<b>BLA</b>	100,48	101,61	101,09	<b>0,017</b>	<b>0,012</b>	0,779
VDB	100,45	100,76	100,52	0,263	0,889	0,069
<b>re EC</b>	103,73	104,44	102,79	0,069	0,208	<b>0,036</b>
<b>li EC</b>	101,08	102,19	102,50	<b>0,017</b>	0,930	0,674

**Tabelle 4.2.2.3.1.1 | BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen vor und nach Shuttle-Box Training und an Tag 14 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Werte für die 1 Hz-20 Pulse Trainingsgruppe (n=8). Fett markiert sind Regionen, in denen im ersten *Train* signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Grün dargestellt sind die signifikanten Unterschiede. Die vollständige Tabelle mit allen Z- und *r*-Werten ist im Anhang (A4.2.2.3.1.1) dargestellt.

<b>Train 3-20</b>	<b>Tag 1</b>	<b>Tag 5</b>	<b>Tag 14</b>	<b>Tag 1-Tag 5</b>	<b>Tag 1-Tag 14</b>	<b>Tag 5-Tag 14</b>
<b>Region</b>	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	p-Wert	p-Wert	p-Wert
<b>re HP</b>	100,90	101,38	101,29	<b>0,017</b>	0,161	0,401
li HP	100,32	100,44	100,32	0,903	1,000	0,401
re NAcc	100,31	100,42	100,43	0,161	0,093	0,161
li NAcc	100,28	100,27	100,28	0,889	1,000	0,889
<b>mPFC</b>	100,37	100,54	100,58	<b>0,012</b>	0,123	0,674
VTA/Sn	100,33	100,41	100,40	0,208	0,575	0,575
<b>Septum</b>	100,38	100,55	100,40	<b>0,017</b>	0,674	0,263
re Striatum	100,24	100,24	100,29	0,674	0,327	0,779
li Striatum	100,26	100,24	100,21	0,161	0,123	0,401
re dorsaler HP	101,16	101,52	101,44	0,069	0,263	0,674
li dorsaler HP	100,49	100,47	100,33	0,401	0,401	0,327
<b>BLA</b>	100,76	101,21	100,50	<b>0,036</b>	0,575	<b>0,036</b>
VDB	100,49	100,65	100,45	0,123	0,674	0,575
<b>re EC</b>	102,32	103,77	102,78	<b>0,017</b>	0,779	<b>0,025</b>
li EC	101,28	101,40	101,39	0,208	0,208	0,575

**Tabelle 4.2.2.3.1.2 | BOLD Signalintensitäten für die *Trains* 3-20 während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen vor und nach Shuttle-Box Training und an Tag 14 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Der Median (*Mdn*) für die BOLD Signalintensität in den verschiedenen Regionen zu den drei Messzeitpunkten wurde hier zu den entsprechenden *p*-Werten angegeben. Fett markiert sind Regionen, in denen in den *Trains* 3-20 signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Grün dargestellt sind die signifikanten Unterschiede. Die in den 3D Abbildungen sichtbaren zusätzlich signifikant aktivierten Regionen werden also auch in der BOLD-Signalintensität der *Trains* 3-20 sichtbar. Die vollständige Tabelle mit allen *Z*- und *r*-Werten ist im Anhang (A4.2.2.3.1.1) dargestellt.

#### 4.2.2.3.2 Vergleich der drei Messzeitpunkte, in der Shuttle-Box Gruppe, die an den Tagen 2-4 mit dem 5 Hz Protokoll als CS trainiert wurde

##### 4.2.2.3.2.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus

Der grundsätzliche Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* veränderte sich zwischen den drei Messzeitpunkten nicht. Sowohl an Tag 1 als auch an Tag 5 und Tag 14 folgte auf die ersten beiden *Trains* eine Stabilisierung des neuronalen Antwortverhaltens. Dabei stieg die Amplitude des Populationsspikes innerhalb eines *Trains* an, die gemittelte Amplitude pro *Train* fiel jedoch im Verlauf der Messung ab. Die PSA des ersten Populationsspikes war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den drei Messzeitpunkten. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung zeigte, dass die Amplitude der

Populationsspikes mit dem Messzeitpunkt zusammenhängt ( $F(2,10)=4,909$ ,  $p=0,033$ , partielles  $\eta^2=0,495$ ). Die Summe der Amplituden war dabei nach dem Shuttle-Box Training signifikant niedriger als an Tag 1. Ebenfalls signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen den Summen der Amplituden am ersten Tag, zur Messung an Tag 14. Die beiden letzten Messungen waren hinsichtlich der Summen der Amplituden jedoch nicht signifikant unterschiedlich. Somit sind Veränderungen in der Amplitude vor allem nach dem Verhaltenstraining sichtbar, während sich nach neun Tagen ohne weiteres Training und ohne Stimulation des *Tractus perforans* die Amplituden der Populationsspikes nicht weiter verringerten (Abbildung 4.2.4.2).

Die Latenzen des ersten Populationsspikes waren an den drei Messzeitpunkten nicht signifikant unterschiedlich, was der Wilcoxon-Test zeigte. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung belegte auch für den Verlauf der Messung keinen signifikanten Einfluss des Messzeitpunkts.

#### 4.2.2.3.2.2 Vergleich der BOLD Antworten der 5 Hz Trainingsgruppe vor und nach Shuttle-Box Training und nach zwei Wochen

Die Verminderung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im gesamten Gehirn, sowie der Abfall der BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus im Verlauf der Messung war auch bei der dritten Messung an Tag 14 zu beobachten (Abbildung 4.2.4.4). Zwischen den drei Messzeitpunkten unterschied sich der Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus (gemessen als Abfall der linearen Trendlinie für die *Trains* 4-20 und als BOLD Signalintensität im vierten *Train*) nicht signifikant. Im ersten *Train* ergeben sich keine signifikanten Veränderungen zwischen den drei Messzeitpunkten in Regionen, in denen signifikant aktivierte Voxel nachgewiesen wurden. Wie schon für die Gruppe von 12 Tieren, die das Shuttle-Box Training mit dem 5 Hz Protokoll als CS absolvierten, gezeigt, verminderte sich die maximale BOLD Signalintensität im linken entorhinalen Cortex in den *Trains* 3-20 nach dem Verhaltensversuch an Tag 5 ( $Mdn=100,50\%$ ) signifikant im Vergleich zur Elektrophysiologie/fMRT Messung an Tag 1 ( $Mdn=100,77\%$ ,  $Z=2,2$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,90$ ). Da die BOLD Signalintensität im linken entorhinalen Cortex an Tag 14 mit  $Mdn=100,62\%$  zwischen den Werten der beiden ersten Messungen lag, konnten für die maximalen BOLD Signalintensitäten im linken entorhinalen Cortex keine signifikanten Unterschiede zu den Messungen an Tag 1 und an Tag 5 nachgewiesen werden. Die Ausbreitung signifikant

aktivierter BOLD Signale zum linken Hippocampus, die direkt nach dem Shuttle-Box Training nicht mehr sichtbar war, erholte sich nach neun Tagen ohne weitere Stimulation. Allerdings waren weder in den *Trains* 3-20, noch in den *Trains* 3-20 signifikante Unterschiede in der maximalen BOLD Signalintensität im linken dorsalen Hippocampus nachweisbar. Die BOLD Signalintensitäten spiegelten somit die in den 3D Abbildung dargestellten Ergebnisse nicht wider. Die Tabellen A4.2.2.3.2.1 und A4.2.2.3.2.1 enthalten die BOLD Signalintensitäten für die 15 verschiedenen Regionen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel an Tag 15 der ursprünglichen Ausbreitung in den naiven Tieren an Tag 1 wieder annäherte (Abbildung 4.2.4). Die PSA hingegen war auch nach neun Tagen ohne Stimulation des *Tractus perforans* im Vergleich zur ersten fMRT/Elektrophysiologie Messung reduziert (Abbildung 4.2.2). Somit entwickelten sich neuronalen Antworten und die BOLD Signale im rechten dorsalen Hippocampus nicht in die gleiche Richtung.

### 4.2.3 Auswirkungen von mehrfacher elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* an drei aufeinander folgenden Tagen, bei der die Stimulation keine verhaltensrelevante Bedeutung hatte

Für das Erlernen der aktiven Vermeidungsreaktion in der Shuttle-Box wurden der *Tractus perforans* während jeder Trainingseinheit wiederholt gereizt, sodass für die beobachteten Änderungen neuronaler und hämodynamischer Antworten nach dem Training sowohl die neue Verhaltensrelevanz des Stimulus oder aber nur unspezifische aktivitätsabhängige Mechanismen verantwortlich sein können. Die Auswirkungen von wiederholter Stimulation (jeweils eine Stunde an drei aufeinanderfolgenden Tagen), d.h. reine aktivitätsabhängige Prozesse, auf neuronale und hämodynamische Antworten sollten in diesem Teil der Experimente untersucht werden. Im Gegensatz zu den im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Versuchen und Ergebnissen, hatte die Stimulation an den drei aufeinanderfolgenden Tagen keine verhaltensrelevante Bedeutung, Dazu wurden sowohl am ersten, als auch am fünften und am 14. Tag kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messungen durchgeführt. Am 16. Tag nach Versuchsbeginn wurde untersucht, ob sich Veränderungen der Netzwerkaktivität auch auf die Verarbeitung anderer Stimulationsmuster auswirken (Siehe auch Abbildung 3.4 B). Als Stimulationsprotokolle während der kombinierten Elektrophysiologie/fMRT Messungen am ersten, dritten und 14. Tag sowie in der Freilaufbox

an Tag 2-4 wurden, wie für die Verhaltensversuche, das 5 Hz Protokoll und das 1 Hz-20 Pulse Protokoll verwendet. Die Anzahl der verwendeten Stimuli entsprach den durchschnittlichen Werten, die für das Erlernen der Vermeidungsreaktion nötig waren. An Tag 16 wurde für die kombinierte Messung das 1 Hz-20 Pulse Protokoll für die 5 Hz Stimulationsgruppe und das 5 Hz-4 Pulse Protokoll für die 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe genutzt um zu untersuchen, wie spezifisch Veränderungen in der Signalverarbeitung durch vorhergehende Stimulation an drei aufeinander folgenden Tagen sind.

#### **4.2.3.1 Vergleich der drei Messzeitpunkte in der Stimulationsgruppe, die an den Tagen 2-4 mit 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde**

##### *4.2.3.1.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus*

Wie für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll bereits mehrfach beschrieben, wurde jede Sekunde ein Populationsspike ausgelöst. Das Muster des neuronalen Antwortverhaltens der Granularzellen entsprach dem bereits im Abschnitt 4.1 beschriebenen Verlauf. Nach dem ersten *Train* wurden bei naiven Tieren Nachentladungen festgestellt. Die Varianzanalyse mit Messwiederholung zeigte, dass die Summe der Amplituden der Populationsspikes mit dem Messzeitpunkt zusammenhängt ( $F(2,16)=5,938$ ,  $p=0,012$ , partielles  $\eta^2=0,426$ ). Zwischen der ersten Messung und der Messung an Tag 5 nach Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll an drei aufeinander folgenden Tagen, wurden signifikante Unterschiede in der Summe der PSA beobachtet (Abbildung 4.2.1). Ebenfalls signifikant unterschiedlich war die Amplitude für die Vergleiche zwischen dem ersten Messzeitpunkt und der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 14 (Abbildung 4.2.1). Für die Latenzen der *Trains* 3-20 zeigte die Varianzanalyse mit Messwiederholung jedoch keinen Zusammenhang zwischen Messzeitpunkt und Latenz der Populationsspikes. Die Latenzen der ersten Populationsspikes der drei Messungen waren ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich. Die PSA des ersten Populationsspikes unterschied sich nicht signifikant zwischen den drei Messzeitpunkten. Unterschiede im neuronalen Antwortverhalten waren also erst im Verlauf der Messung sichtbar.

#### 4.2.3.1.2 Vergleich der BOLD Antworten zu den drei Zeitpunkten, an denen mit 1 Hz-20 Pulse stimuliert wurde

In den Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus konnte an Tag 5 im Vergleich zur ersten Messung höhere BOLD Signalintensitäten beobachtet werden. Nach der Ruhephase von neun Tagen stieg die Signalintensität in verschiedenen Regionen weiter an, obwohl keine zusätzliche Stimulation des *Tractus perforans* erfolgte. Die einzelnen Werte für die BOLD Signalintensitäten sind in Tabelle 4.2.3.1.1 und Tabelle 4.2.3.1.2 dargestellt. Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne Bedeutung für das Verhalten, führte zu einer Ausbreitung des BOLD Signals an Tag 5 (Abbildung 4.2.3). An Tag 14, nach der Ruhepause ohne Stimulation, wurde eine weitere Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel beobachtet.

Im rechten Hippocampus ergaben sich weder im ersten *Train*, noch in den *Trains* 3-20 signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten. Das verminderte neuronale Antwortverhalten an Tag 5 und an Tag 14 spiegelte sich also nicht in einer veränderten Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus wider. Mehrfache hochfrequente Stimulation ohne verhaltensrelevante Bedeutung führte damit zu einer lang anhaltenden Veränderung, die sowohl in einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und einer erhöhten BOLD Signalsintensität in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus als auch im Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* sichtbar war.

<i>Train</i> 1	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Tag 1-Tag 5	Tag 1-Tag 14	Tag 5-Tag 14
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert
re HP	102,10	101,98	102,12	0,74	0,90	0,18
li HP	100,98	101,41	101,42	0,82	0,74	0,59
<b>re NAcc</b>	100,33	100,84	101,05	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>	0,15
li NAcc	100,48	100,38	100,43	0,82	0,74	0,82
<b>mPFC</b>	100,52	101,51	101,44	<b>0,05</b>	<b>0,01</b>	0,82
VTA/Sn	100,35	100,35	100,28	0,82	0,74	0,82
Septum	100,56	100,71	100,81	0,08	0,35	0,82
<b>re Striatum</b>	100,07	100,41	100,57	<b>0,04</b>	<b>0,03</b>	0,90
li Striatum	100,24	100,21	100,28	0,30	0,98	0,25
re dorsaler HP	102,50	102,06	102,29	0,08	0,30	0,18
<b>li dorsaler HP</b>	102,50	101,93	101,48	0,10	<b>0,05</b>	0,52
<b>BLA</b>	100,65	101,29	101,68	0,08	<b>0,01</b>	0,40
VDB	100,63	101,39	101,28	<b>0,05</b>	0,18	0,52
re EC	103,68	104,00	104,67	0,52	0,82	0,90
<b>li EC</b>	101,41	101,18	101,86	0,82	0,25	<b>0,01</b>

**Tabelle 4.2.3.1.1 | BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen vor und nach Stimulation in der Freilaufbox und an Tag 14 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Werte für die Tiere, die an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden. Der Median (Mdn) für die BOLD Signalintensität in den verschiedenen Regionen zu den drei Messzeitpunkten ist hier angegeben. Die mit dem Wilcoxon-Test berechneten  $p$ -Werte sind aufgeführt und bei  $p < 0,05$  grün markiert. Fett markiert sind Regionen, in denen im ersten *Train* signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Der erste *Train* wurde nicht durch vorhergehende Stimulation innerhalb der Messung beeinflusst und daher gesondert verglichen. HP: Hippocampus, EC: entorhinaler Cortex, BLA: basolaterale Amygdala. VTA/Sn: ventrales Tegmentum-Substantia nigra. Die vollständige Tabelle mit allen  $z$ - und  $r$ -Werten ist im Anhang (A4.2.4.1) dargestellt.



<i>Train</i> 3-20	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Tag 1-Tag 5	Tag 1-Tag 14	Tag 5-Tag 14
Region	Mdn [%]	Mdn [%]	Mdn [%]	$p$ -Wert	$p$ -Wert	$p$ -Wert
re HP	101,37	101,42	101,61	0,98	0,67	0,98
<b>li HP</b>	100,32	100,35	100,51	0,52	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>
<b>re NAcc</b>	100,44	100,50	100,94	0,21	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>
<b>li NAcc</b>	100,32	100,34	100,44	0,67	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>
<b>mPFC</b>	100,43	100,75	101,17	0,12	<b>0,02</b>	0,08
VTA/Sn	100,49	100,39	100,46	0,18	0,59	0,25
Septum	100,54	100,55	100,57	0,82	0,98	0,25
<b>re Striatum</b>	100,29	100,34	100,36	<b>0,05</b>	<b>0,02</b>	0,21
li Striatum	100,30	100,22	100,24	0,30	0,10	0,90
re dorsaler HP	101,62	101,57	101,69	0,67	0,59	0,74
<b>li dorsaler HP</b>	101,62	100,44	100,54	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	0,08
<b>BLA</b>	100,64	101,05	101,32	0,08	<b>0,01</b>	<b>0,05</b>
<b>VDB</b>	100,50	100,84	101,13	0,06	<b>0,01</b>	<b>0,05</b>
re EC	103,07	103,45	104,21	0,40	0,10	0,35
<b>li EC</b>	101,30	100,96	101,48	0,35	0,59	<b>0,03</b>

**Tabelle 4.2.3.1.1 | BOLD Signalintensitäten in den *Trains* 3-20 während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen vor und nach Stimulation in der Freilaufbox und an Tag 14 bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Werte der BOLD Signalintensitäten für die Tiere, die an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden. Hier wurden die BOLD Signalintensitäten in den verschiedenen Regionen zu den drei Messzeitpunkten verglichen und die entsprechenden  $p$ -Werte aus dem Vergleich der Messzeitpunkte mit dem Wilcoxon-Test angegeben. Fett markiert sind Regionen, in denen im ersten *Train* signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Grün dargestellt sind die signifikanten Unterschiede. HP: Hippocampus, EC: entorhinaler Cortex, BLA: basolaterale Amygdala. VTA/Sn: ventrales tegmentales Areal-Substantia nigra. Die vollständige Tabelle mit allen  $Z$ - und  $r$ -Werten ist im Anhang (Tabelle A4.2.3.1.1) dargestellt.

#### 4.2.3.2 Vergleich der Messzeitpunkte Tag 1, Tag 5 und Tag 14 der Stimulationsgruppe, die an den Tagen 2-4 mit 5 Hz stimuliert wurde

##### 4.2.3.2.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus

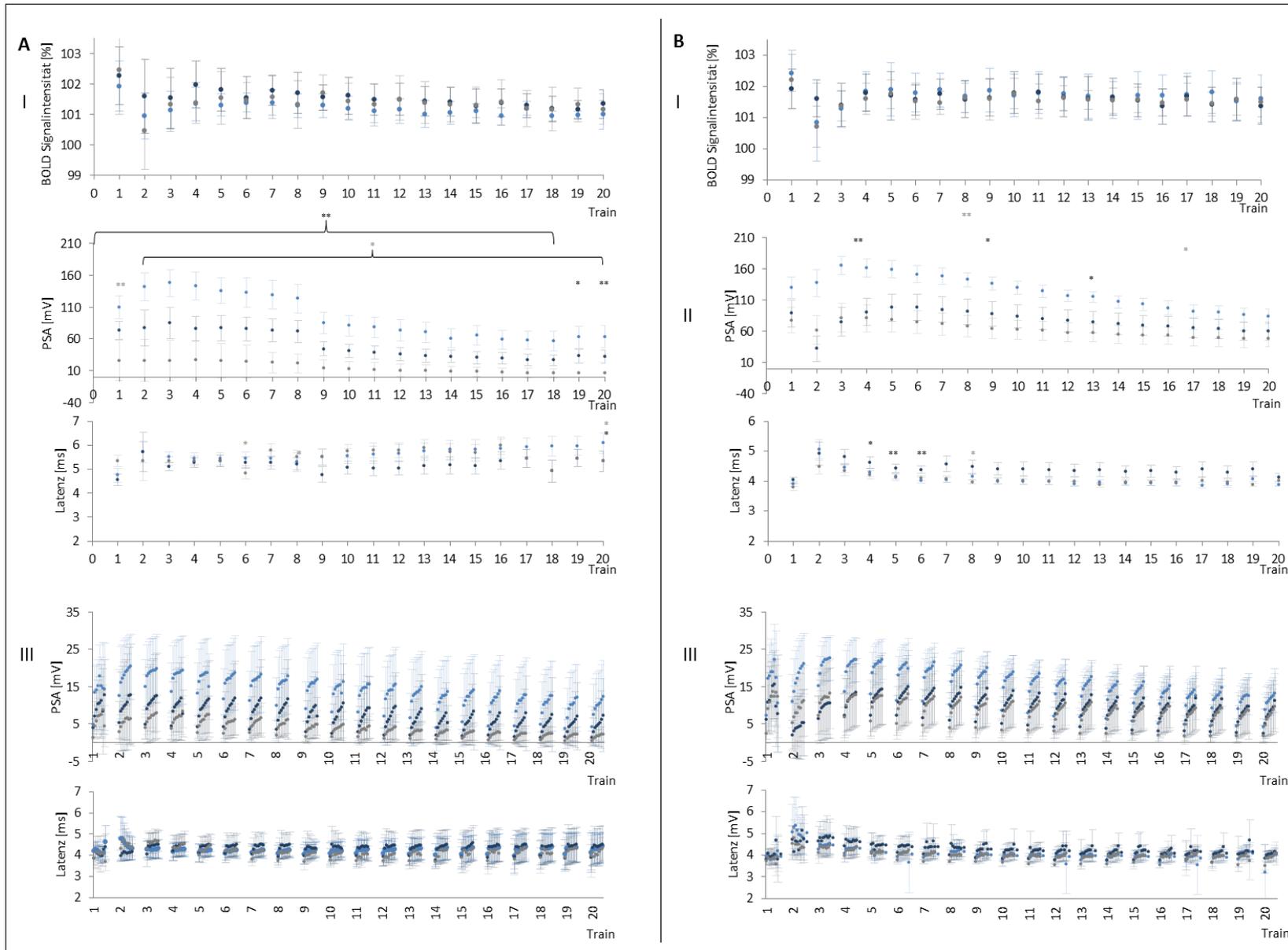
Stimulation des *Tractus perforans* an Tag 1 mit 20 aufeinanderfolgenden *Trains* von jeweils 8 Sekunden mit dem 5 Hz Protokoll führte, wie erwartet, zu dem bereits im ersten und zweiten Teil beschriebenen elektrophysiologischen Antwortmuster. Jeder Puls löste dabei einen Populationsspike aus, sodass pro *Train* 40 Populationsspikes ausgewertet werden konnten. Im ersten *Train* stieg die Amplitude des Populationsspikes erst an und fiel dann wieder ab. Ab dem dritten *Train* stieg die Amplitude des Populationsspikes innerhalb eines *Trains* an, während sie über den Verlauf der *Trains* geringer wurde (Abbildung 4.2.4.2). Die Summe der Amplituden (aus 40 Populationsspikes) pro *Train* wurde also im Verlauf der Messung immer geringer. Nach dem ersten *Train* wurden Nachentladungen, die etwa 20-30 Sekunden andauerten, beobachtet. An Tag 5 (nach Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 5 Hz Protokoll an drei aufeinander folgenden Tagen) wurde die kombinierte Elektrophysiologie/fMRT Messung wiederholt. Dabei war die Amplitude des ersten Populationsspikes an Tag 5 signifikant erhöht ( $Mdn=7,71$  mV) im Vergleich zur ersten Messung ( $Mdn=5,83$  mV,  $Z=-2,03$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,54$ ). Die Varianzanalyse mit Messwiederholung ergab für die Summe der Amplituden der *Trains* 3-20 keinen signifikanten Zusammenhang zwischen PSA und Messzeitpunkt. Die Latenz des ersten Populationsspikes war nach Stimulation an drei aufeinanderfolgenden Tagen signifikant geringer ( $Mdn=3,90$  ms) im Vergleich zur ersten Messung an naiven Tieren ( $Mdn=4,4$  ms,  $Z=-2,71$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,63$ ). Für die *Trains* 3-20 war die Latenz nicht vom Messzeitpunkt abhängig, was eine Varianzanalyse mit Messwiederholung bestätigte. Die Stimulation an Tag 2-4 wirkte sich hier nicht auf die Latenz aus. Beim Vergleich der Messung an Tag 1 mit der Messung an Tag 14, und dem Vergleich der Messungen an Tag 5 mit den Messungen an Tag 14 ergaben sich für die Amplitude des ersten Populationsspikes keine signifikanten Veränderungen. Die Latenz des ersten Populationsspikes war an Tag 14 ( $Mdn=3,60$  mV) immer noch signifikant geringer als bei der ersten Messung ( $Mdn=4,4$  ms,  $Z=-2,20$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,59$ ). Bei der zweiten, so wie bei der dritten fMRT/Elektrophysiologie Messung traten nach dem ersten *Train* keine Nachentladungen mehr auf.

#### 4.2.3.2.2 Vergleich der BOLD Antworten zu den drei Zeitpunkten, an denen mit 5 Hz stimuliert wurde

Die beschriebene Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll führte zu signifikanten BOLD Antworten im rechten und linken Hippocampus, im rechten und linken entorhinalen Cortex und im vertikalen Nucleus des diagonalen Bands (VDB). Am fünften Tag wurde die kombinierte Elektrophysiologie-fMRT Messung wiederholt. Dabei wurden signifikante BOLD Signale in den gleichen Regionen wie bei der ersten Messung festgestellt (Abbildung 4.2.4.2). Dies spiegelte sich auch in den Signalintensitäten wider. Hier wurden weder im ersten *Train*, noch für die *Trains* 3-20 signifikanten Unterschiede gemessen.

Beim Vergleich von Tag 1 ( $Mdn=100,50\%$ ) mit Tag 14 ( $Mdn=100,35\%$ ) ergab sich eine signifikante Verminderung der BOLD Signalintensität im VDB ( $Z=-2,37$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,89$ ). Diese war auch in der BOLD Signal Ausbreitung sichtbar. Die Unterschiede zwischen der zweiten fMRT/Elektrophysiologie Messung, die direkt nach den drei aufeinanderfolgenden Tagen, an denen stimuliert wurde ( $Mdn=100,48\%$ ) durchgeführt wurde, und der Messung an Tag 14 ( $Mdn=100,35\%$ ) war für das VDB ebenfalls signifikant ( $Z=-2,20$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,83$ ). Die BOLD Antworten in den *Trains* 3-20 im Septum war nach drei Tagen Stimulation ( $Mdn=100,58\%$ ) signifikant höher als an Tag 14 ( $Mdn=100,53\%$ ,  $Z=-2,37$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,89$ ). Im rechten dorsalen Hippocampus war die BOLD Antwort hingegen nach Stimulation des *Tractus perforans* an drei Tagen in der Freilaufbox weder für den ersten *Train*, noch für die *Trains* 3-20 signifikant unterschiedlich im Vergleich zur ersten Messung. Auch nach neun Tagen Ruhephase konnte kein signifikanter Unterschied in der BOLD Signalintensität nachgewiesen werden. Die entsprechenden Werte der BOLD Antworten im ersten *Train* und in den *Trains* 3-20 sind in den Tabellen A4.2.3.2.1 und A4.2.3.2.2 im Anhang dargestellt. Die in der Elektrophysiologie gemessenen Veränderungen der neuronalen Aktivität spiegeln sich hier demnach ebenfalls nicht im BOLD Signal des rechten dorsalen Hippocampus wider.

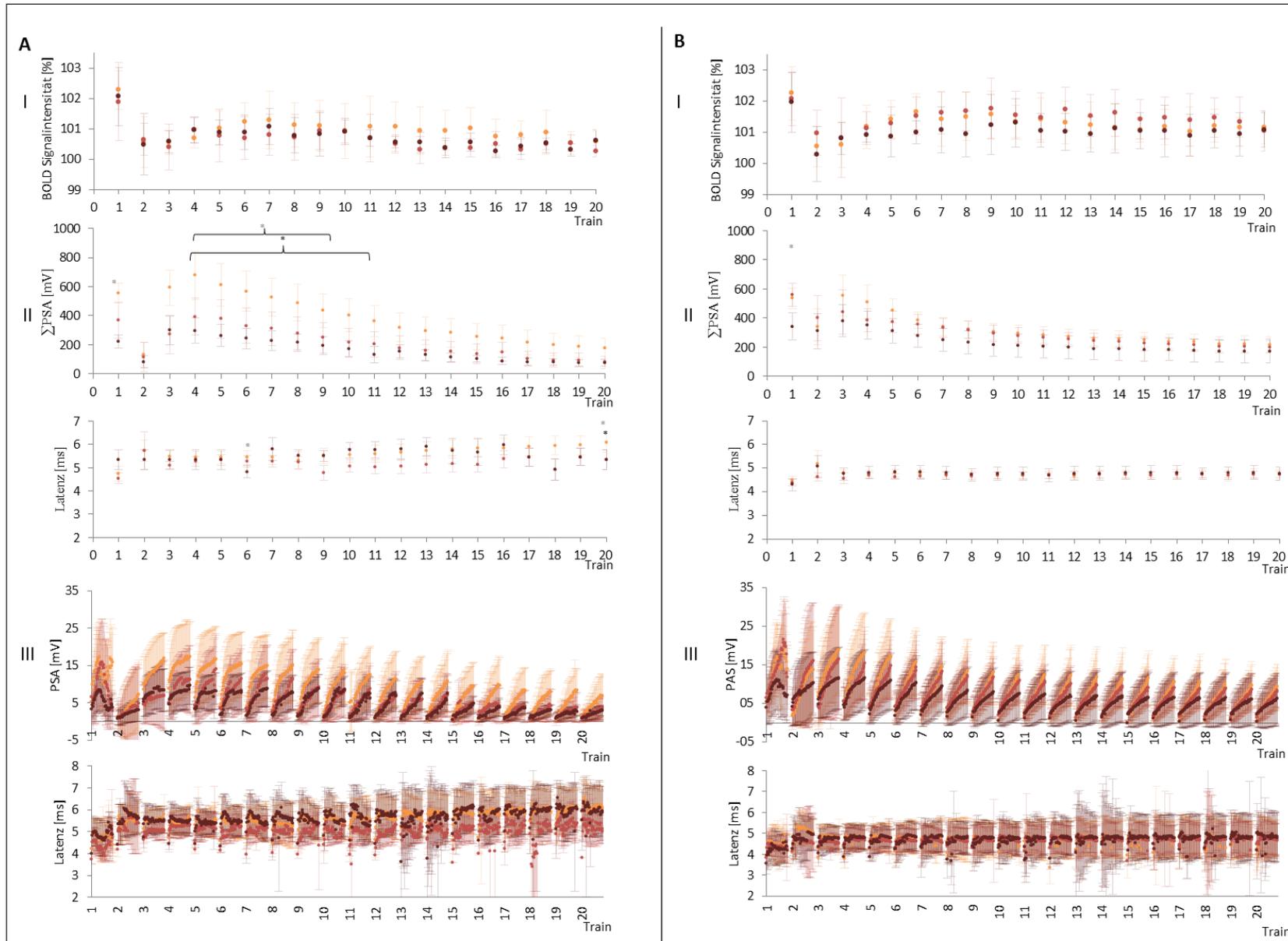
Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll an drei aufeinanderfolgenden Tagen ohne verhaltensrelevante Bedeutung zu geringen Veränderungen im neuronalen Antwortverhalten führen und es zwischen den Messzeitpunkten (Tag 1, Tag 5, Tag 14) nicht zu Veränderungen der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus kam. Nach zwei Wochen waren die Ausbreitung signifikant aktiverter Voxel und die BOLD Signalintensität im VDB jedoch im Vergleich zu den fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5 verringert.



**Abbildung 4.2.1 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus der Trainingsgruppe, bei der das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS verwendet wurde und der Stimulationsgruppe, bei der an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde**

A: Shuttle-Box Gruppe, B: Stimulationsgruppe. I: Verlauf der maximalen BOLD Signalintensität über die Messung, bei dem das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS/zur Stimulation verwendet wurde. Die gemittelten Maximalwerte der BOLD Signalintensität sind mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. II: Summen der PSA/*Train* und die dazugehörigen Mittelwerte der Latenzen. Pro *Train* wurde somit die Summe der Amplituden aus den 8 messbaren Populationsspikes berechnet. Sowohl die Latenzen als auch die Amplituden sind mit Standardfehlern abgebildet. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0.01$ . III: Originalwerte aller gemessenen Populationsspikes. Dabei sind sowohl die Amplituden, als auch die Latenzen der Populationsspikes mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. Tag 1: hellblau, Tag 5 dunkelblau, Tag 14: grau.

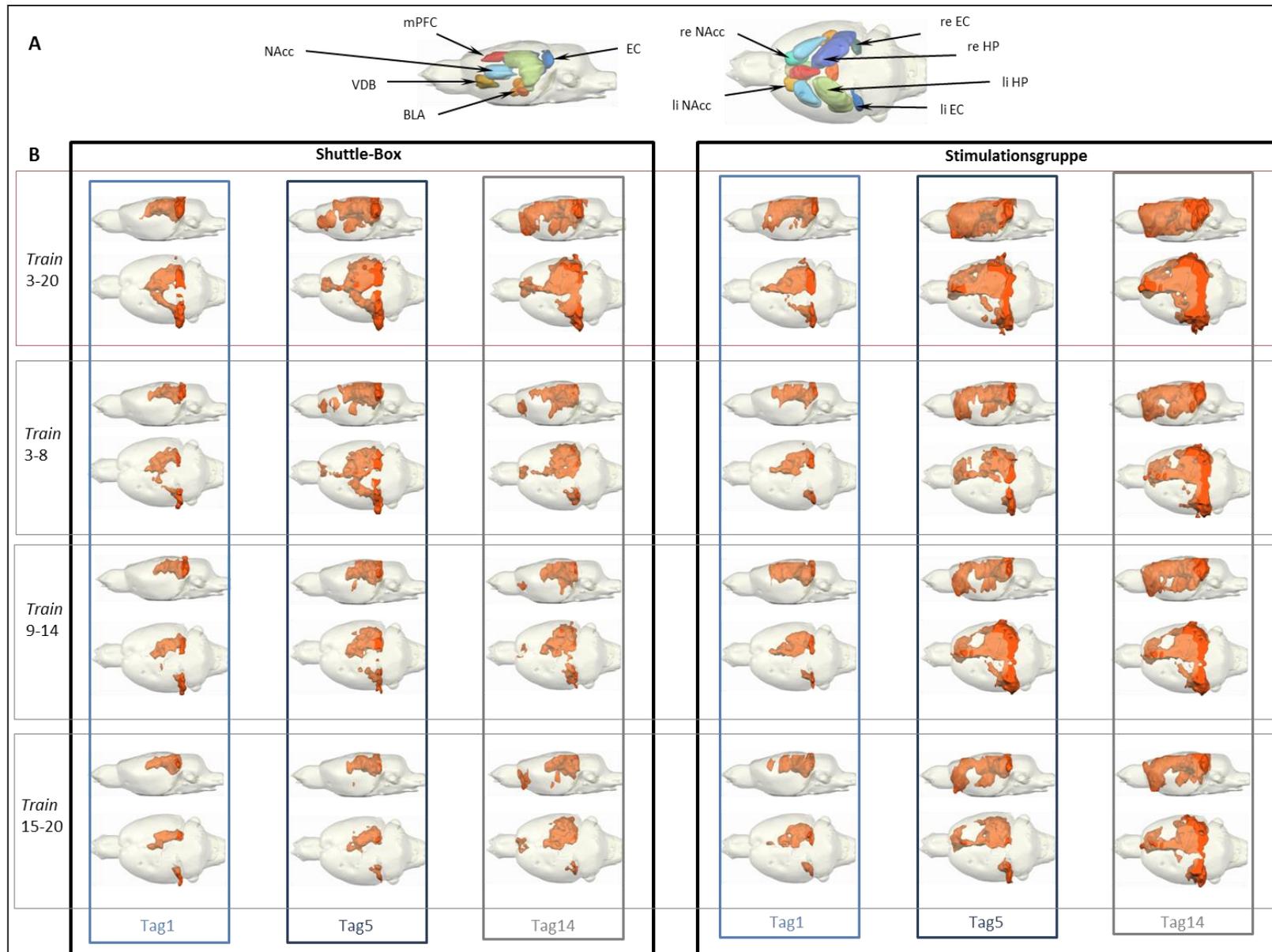




**Abbildung 4.2.2 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus der Trainingsgruppe, bei der das 5 Hz Protokoll als CS verwendet wurde und der Stimulationsgruppe, bei der an Tag 2-4 mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde**

A: Shuttle-Box Gruppe, B: Stimulationsgruppe. I: Verlauf der maximalen BOLD Signalintensität über die Messung, bei dem das 5 Hz Protokoll als CS zur Stimulation verwendet wurde. Die gemittelten Maximalwerte der BOLD Signalintensität sind mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. II: Summen der PSA/*Train* und die dazugehörigen Mittelwerte der Latenzen. Sowohl die Latenzen als auch die Amplituden sind mit Standardfehlern abgebildet. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0.01$ . III: Originalwerte aller gemessenen Populationsspikes. Dabei sind sowohl die Amplituden, als auch die Latenzen der Populationsspikes mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. Tag 1: orange, Tag 5 rot, Tag 14: dunkelrot.





**Abbildung 4.2.3 | Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in der Trainingsgruppe, bei der das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS verwendet wurde und der Stimulationsgruppe, bei der an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde**

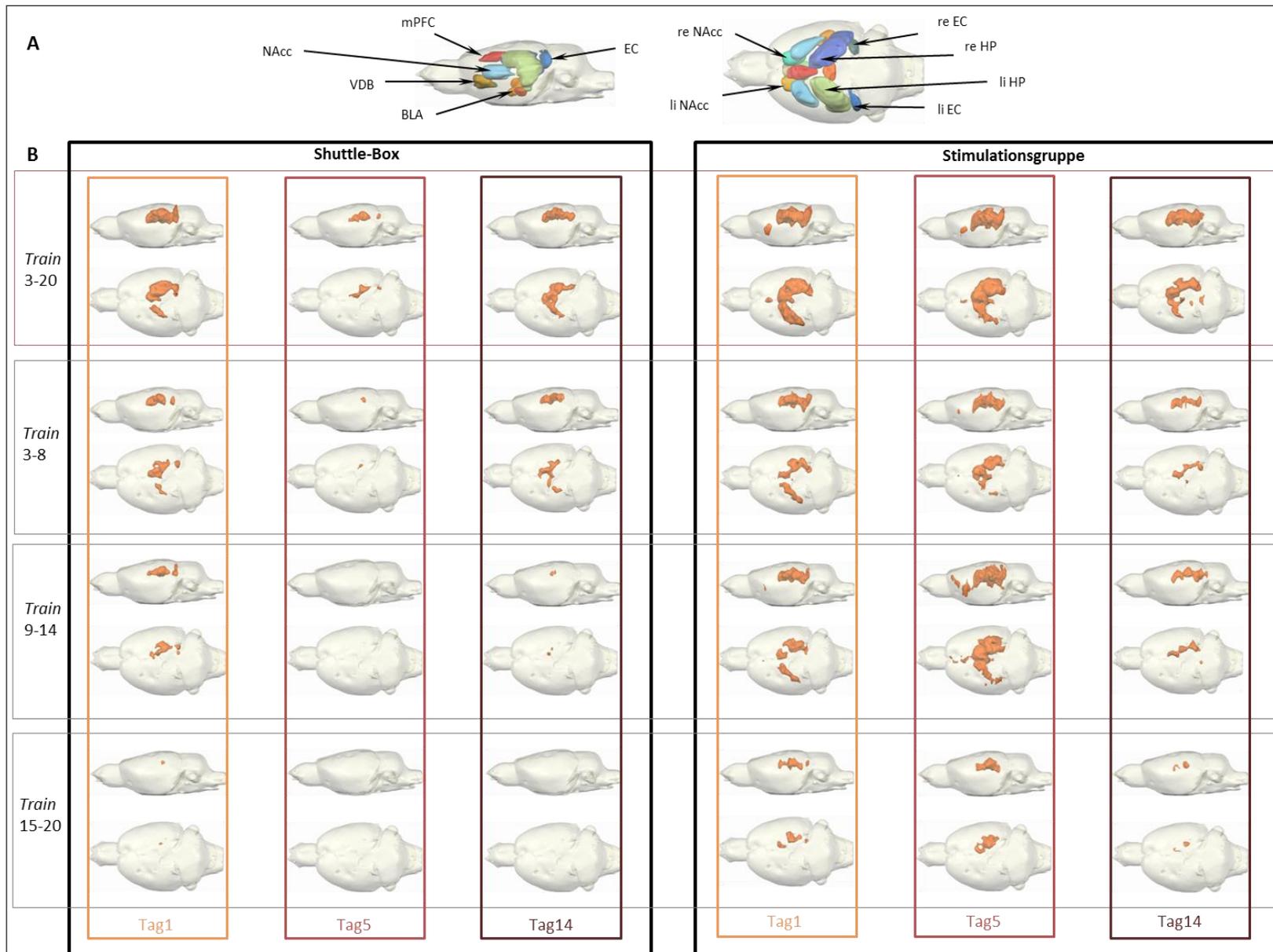
A: Darstellung der VOI Regionen. Es wurden 15 Regionen definiert, in denen die BOLD Signalintensität untersucht wurde. Dabei handelt es sich vor allem um den Hippocampus und Zielregionen des Hippocampus. B: Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Der rote Rahmen stellt dabei die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel über die *Trains* 3-20 dar. Die Messung wurde, um den Verlauf der Ausbreitung signifikanter BOLD Aktivität darzustellen, in Blöcke von je 6 *Trains* unterteilt.



		Tag 5		Tag14	
		Shuttle-Box Gruppe	Stimulationsgruppe	Shuttle-Box Gruppe	Stimulationsgruppe
<b>e-phys</b>	PSA	↓	↓	↓↓	↓
	Latenz	±0	±0	±0	±0
<b>BOLD</b>	Ausbreitung	↑	↑	↑	↑
	Signalintensitäten in Zielregionen des re HP	↑↑	↑	±0	↑↑
	Signalintensität im re dorsal HP	±0	±0	±0	±0

**Tabelle 4.2.1 | Vergleich der Gruppen, die an Tag 2-Tag 4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden**

Übersicht über die stimulationsabhängigen/lernabhängigen Veränderungen, die bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll in den fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 5 und an Tag 14 beobachtet wurden. Alle Veränderungen sind im Verhältnis zur Messung an Tag 1 angegeben. Die Vergleiche der elektrophysiologischen Daten beziehen sich dabei auf die *Trains* 3-20. e-phys: elektrophysiologische Daten.



**Abbildung 4.2.4 | Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in der Trainingsgruppe, bei der das 5 Hz Protokoll als CS verwendet wurde und der Stimulationsgruppe, bei der an Tag 2-4 mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde**

A: Darstellung der VOI Regionen. Es wurden 15 Regionen definiert, in denen die BOLD Signalintensität untersucht wurde. Dabei handelt es sich vor allem um den Hippocampus und Zielregionen des Hippocampus. B: Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Der rote Rahmen stellt dabei die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel über die *Trains* 3-20 dar. Die Messung wurde, um den Verlauf der Ausbreitung signifikanter BOLD Aktivität darzustellen, in Blöcke von je 6 *Trains* unterteilt.



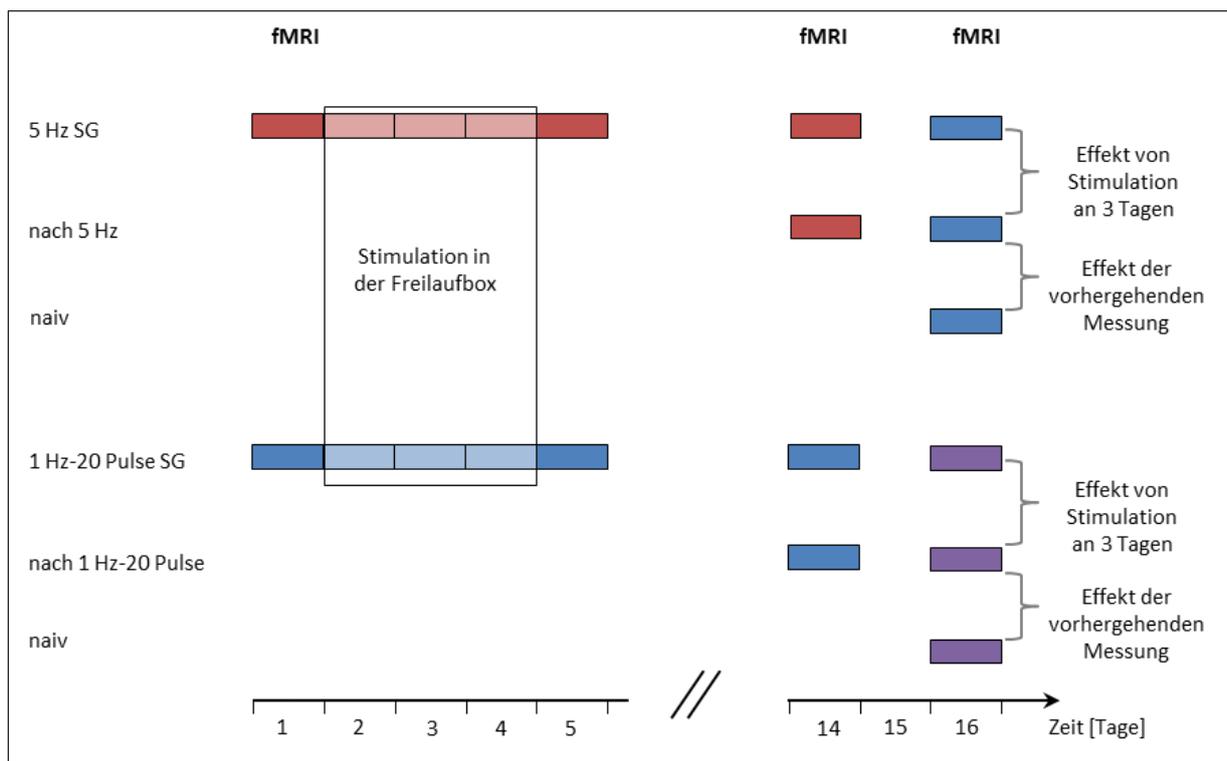
		Tag 5		Tag14	
		Shuttle-Box Gruppe	Stimulationsgruppe	Shuttle-Box Gruppe	Stimulationsgruppe
<b>e-phys</b>	PSA	↓	±0	↓	±0
	Latenz	±0	±0	±0	±0
<b>BOLD</b>	Ausbreitung	↓	↑	±0	↓
	Signalintensitäten in Zielregionen des re HP	↓	±0	±0	↓
	Signalintensität im re dorsal HP	±0	±0	±0	±0

**Tabelle 4.2.2 | Vergleich der Gruppen, die an Tag 2-Tag 4 mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurden**

Übersicht über die stimulationsabhängigen/ lernabhängigen Veränderungen, die in den fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 5 und an Tag 14 beobachtet wurden. Alle Veränderungen sind im Verhältnis zur Messung an Tag 1 angegeben. Die Vergleiche der elektrophysiologischen Daten beziehen sich dabei auf die *Trains* 3-20. Die Veränderungen in der Signalintensität in Zielregionen des rechten Hippocampus beziehen sich in der Shuttle-Box Gruppe auf den linken entorhinalen Cortex, in der Stimulationsgruppe auf das VDB.e-phys: elektrophysiologische Daten.

#### 4.2.4 Spezifität der Veränderungen in neuronalen Netzwerken durch elektrische Stimulation

Die unter 4.2.3 beschriebenen Ergebnisse zeigten, dass sich wiederholte Stimulation auf die Verarbeitung der Stimulationsprotokolle 1 Hz-20 Pulse und 5 Hz bei Stimulation mit dem gleichen Protokoll auswirkten. Dabei konnte die veränderte Signalverarbeitung sowohl im BOLD Signal als auch in der Elektrophysiologie nachgewiesen werden. In diesem Abschnitt sollte nun untersucht werden, wie spezifisch die durch die wiederholte Stimulation ohne verhaltensrelevante Bedeutung ausgelösten Veränderungen waren. Dazu wurde an Tag 16 eine weitere kombinierte Elektrophysiologie/fMRT Messung durchgeführt. Dabei wurde ein anderes Stimulationsprotokoll als für die vorhergehenden Messungen verwendet, um herauszufinden, wie sich vorhergehende Stimulation auf die Verarbeitung eines anderen Stimulationsmusters auswirkt. Die nicht direkt für die Vergleiche verwendeten Messungen 5 Hz vor 1 Hz-20 Pulse und 1 Hz-20 Pulse sind im Anhang (Abbildung A4.2.4) dargestellt.



**Abbildung 4.2.4 | Ablauf der Versuche um zu überprüfen, wie spezifisch Veränderungen durch vorhergehende Stimulation sind**

Der Versuchsablauf des Abschnitts 4.2.4 ist hier dargestellt. Die Stimulation mit den verschiedenen Protokollen ist farblich unterschiedlich markiert. Blau: 1 Hz-20 Pulse, rot: 5 Hz, lila: 5 Hz-4 Pulse. Transparent dargestellt sind die Versuche in der Freilaufbox, bei denen der *Tractus perforans* an drei aufeinander folgenden Tagen mit dem 5 Hz (5 Hz SG) / dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll (1 Hz-20 Pulse SG) für 1 h/Tag stimuliert wurde.

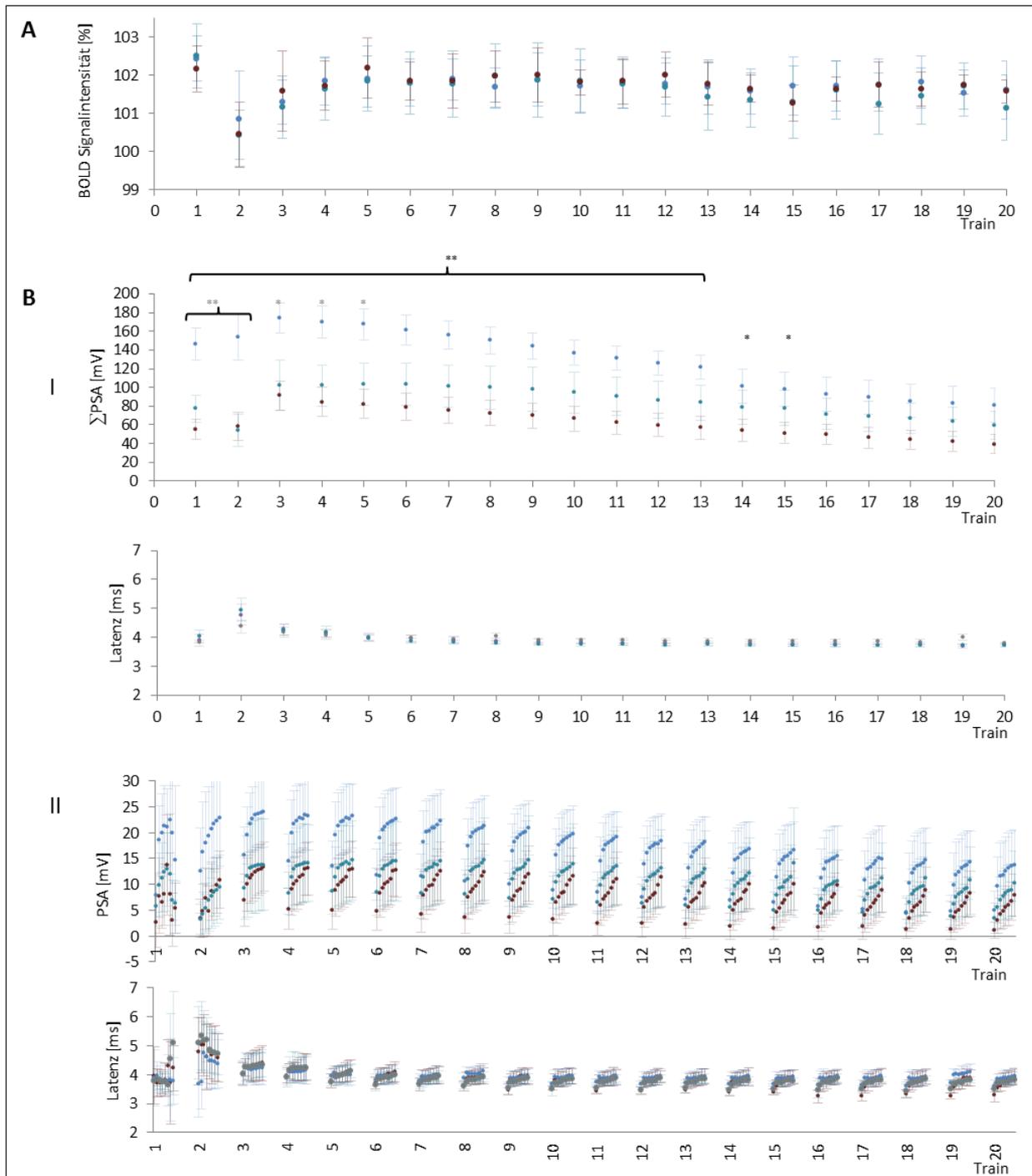
#### 4.2.4.1 Auswirkungen von Stimulation mit 5 Hz auf die Verarbeitung eines hochfrequenten Stimulationsprotokolls (1 Hz-20 Pulse) in einer nachfolgenden Messung

Die vorhergehenden Experimente zeigen, dass Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll zwar zu elektrophysiologisch messbaren Veränderungen führt, die Auswirkungen auf die Ausbreitung und die Intensität der in der BOLD Signale an Tag 14 waren jedoch nur im VDB signifikant unterschiedlich zu der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 1. Es wäre möglich, dass die häufige Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll an den Tagen 2-4 zu Veränderungen in den neuronalen Netzwerken geführt hat, die nur bei hochfrequenter Stimulation sichtbar sind. Um zu untersuchen, ob diese Veränderungen durch wiederholte Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll Auswirkungen auf die Verarbeitung anderer Stimulationsmuster haben, wurde an Tag 16 in der Stimulationsgruppe (5 Hz SG) eine weitere kombinierte Elektrophysiologie/fMRT Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll durchgeführt. Diese Messung wurde sowohl mit naiven Tieren, als auch mit einer Gruppe von Tieren, die zwei Tage zuvor mit dem 5 Hz Protokoll gemessen wurden (nach 5 Hz Gruppe), verglichen (Abbildung 4.2.5.1).

##### 4.2.4.1.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus

Der Verlauf der Populationsspiques innerhalb einer Messung entsprach bei allen Gruppen dem bereits beschriebenen neuronalen Antwortverhalten (Anstieg der PSA innerhalb eines *Trains*, Verringerung der Summen der Amplituden im Verlauf der Messung). Die durch Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll hervorgerufene Amplitude des ersten Populationsspiques war in der 5 Hz Stimulationsgruppe ( $Mdn=0,81$  mV) im Vergleich zu naiven Tieren ( $Mdn=17,38$  mV) reduziert ( $U=20$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,70$ ). Bei der Gruppe, die eine vorhergehende fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz Protokoll bekommen hatte, war die PSA des ersten Populationsspiques ( $Mdn=5,78$  mV) im Vergleich zur im naiven Zustand gemessenen Tiergruppe ( $Mdn=17,38$  mV,  $U=25$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,63$ ) ebenfalls geringer. Die Varianzanalyse zeigte, dass die Summe der Populationsspiques für die folgenden *Trains* mit der Gruppe zusammenhängt ( $F(2,22)=2,29$ ,  $p=0,05$ ). Die Latenz der ersten Populationsspiques war zwischen den Gruppen nicht unterschiedlich. Allerdings kann damit der Einfluss der vorhergehenden Messungen nicht direkt beurteilt werden, da die PSA der ersten Messung für die Vergleiche notwendig ist. Daher wurde zusätzlich in der *nach 5 Hz* Gruppe der erste

Populationsspike der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz Protokoll mit der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zwei Tage später verglichen. Der Wilcoxon-Test ergab, dass die Amplituden der ersten Populationsspikes nicht signifikant unterschiedlich waren. Damit hat eine vorhergehende fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz Protokoll im Abstand von zwei Tagen keine Auswirkungen auf die PSA des ersten Populationsspikes der Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Die Latenz des ersten Populationsspikes war hingegen bei der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit 5 Hz signifikant länger ( $Mdn=4,0$  ms) als wenn mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ( $Mdn=3,7$  ms) stimuliert wurde,  $Z=-2,12$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,61$ . Die Varianzanalyse ergab keine Unterschiede für die Latenzen der *Trains* 3-20 zwischen den Gruppen.



**Abbildung 4.2.4.1.1 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus während der fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

A: Verlauf der maximale BOLD Signalintensität/*Train* im rechten dorsalen Hippocampus. B: Elektrophysiologie der Populationsspikes. I: Summe der Amplituden und Mittelwerte der Latenzen. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ . Schwarz: Vergleich naive Tiere- 5 Hz Stimulationsgruppe, grau: naive Tiere- nach einer Messung mit dem 5 Hz Protokoll. II: Originalwerte der Amplituden und der Latenzen. Dabei sind sowohl die Amplituden, als auch die Latenzen der Populationsspikes mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. III: Originalwerte aller gemessenen Populationsspikes. Naiv: blau, *nach 5 Hz* (nach einer

fMRT/Elektrophysiologie Messung zwei Tage zuvor): Aquamarin, 5 Hz Stimulationsgruppe: dunkelrot.



---

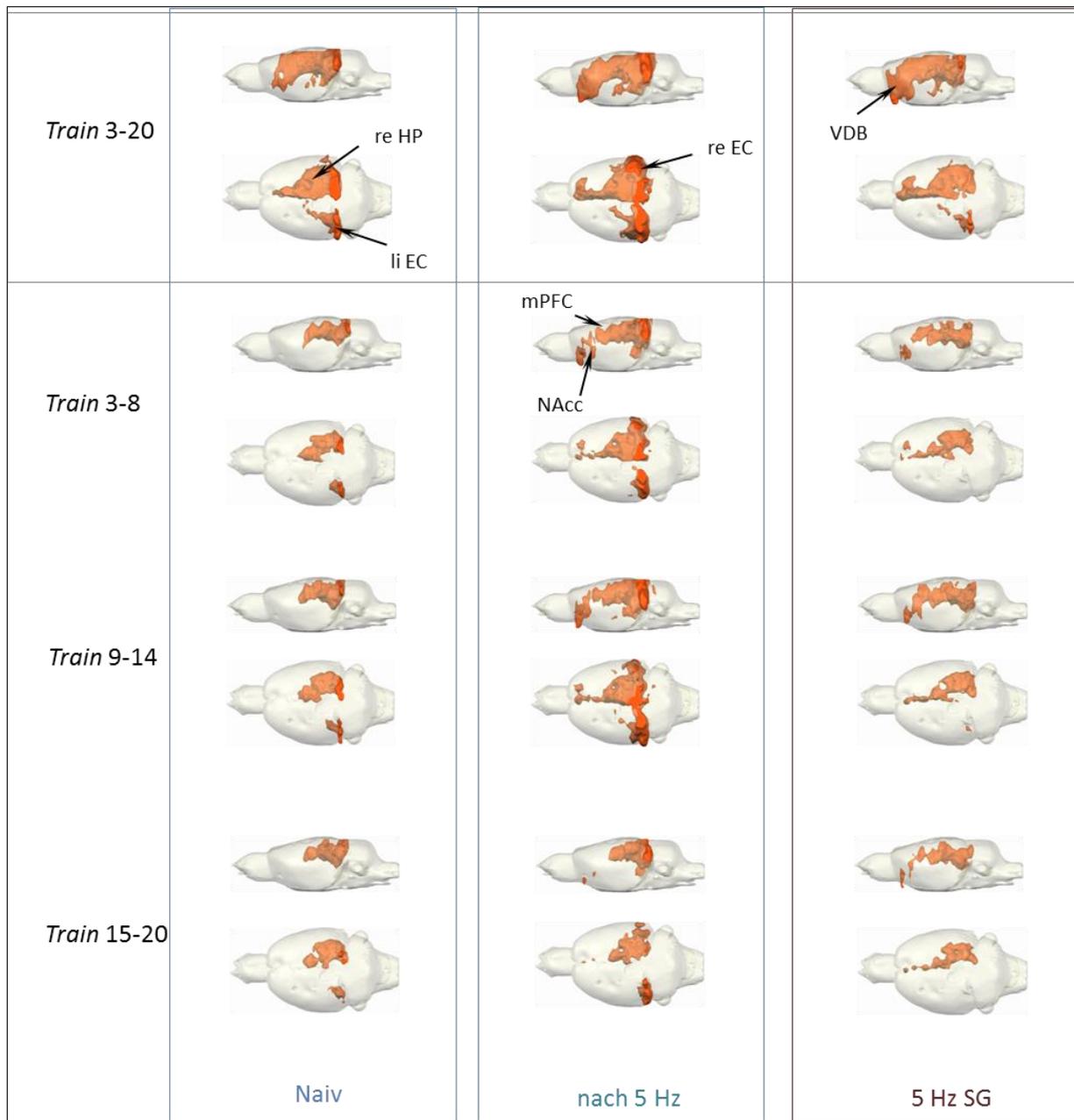
#### 4.2.4.1.2 Vergleich der BOLD Antworten

Während die neuronalen Antworten der Granularzellen des *Gyrus dentatus* durch vorhergehende Stimulation reduziert waren, konnten in der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus weder für den ersten *Train*, noch für den vierten *Train* und die folgenden *Trains* 3-20 signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Die Summe der Amplituden der Populationsspiques, die in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* gemessen wurden, spiegelt sich somit auch hier nicht in der BOLD Signalintensität des rechten dorsalen Hippocampus wider.

Im ersten *Train* ergaben sich Unterschiede zwischen den Gruppen im rechten Striatum und im präfrontalen Cortex (Tabelle A4.2.4.1.1). In den *Trains* 3-20 wurde hingegen in keiner der 15 Regionen signifikante Unterschiede in den maximalen BOLD Signalintensitäten gefunden (Tabelle A4.2.4.1.2). Betrachtet man die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in den *Trains* 3-20, so sind ebenfalls keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen (Abbildung 4.2.4.1). Allerdings zeigt die Unterteilung in die drei bereits beschriebenen Abschnitte der Messungen (*Train* 3-8, *Train* 9-14, *Train* 15-20), dass vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll Auswirkungen auf die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel während der Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll hat. Während bei naiven Tieren nur der rechte Hippocampus, sowie der rechte- und linke entorhinale Cortex aktiviert wurden, wurden bei vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll zusätzliche Regionen wie das VDB, der mPFC und der NAcc mit aktiviert (Abbildung 4.2.4.1).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll während einer fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll in der BOLD Signalintensität signifikant aktivierter Regionen nicht erkennbar ist. Die vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll hat somit keine Auswirkungen auf die BOLD Signalintensität in den verschiedenen Regionen, so dass aus der BOLD Signalintensität keine Rückschlüsse auf die zuvor erfolgte Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll gezogen werden können. Vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll führt

jedoch im Verlauf der Messung zu einer größeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel als im naiven Tier. Es ist somit notwendig, den gesamten Verlauf der Messung zu betrachten, um die Effekte unterschiedlicher vorhergehende Stimulation nachzuweisen.



**Abbildung 4.2.4.1 | 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel während der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

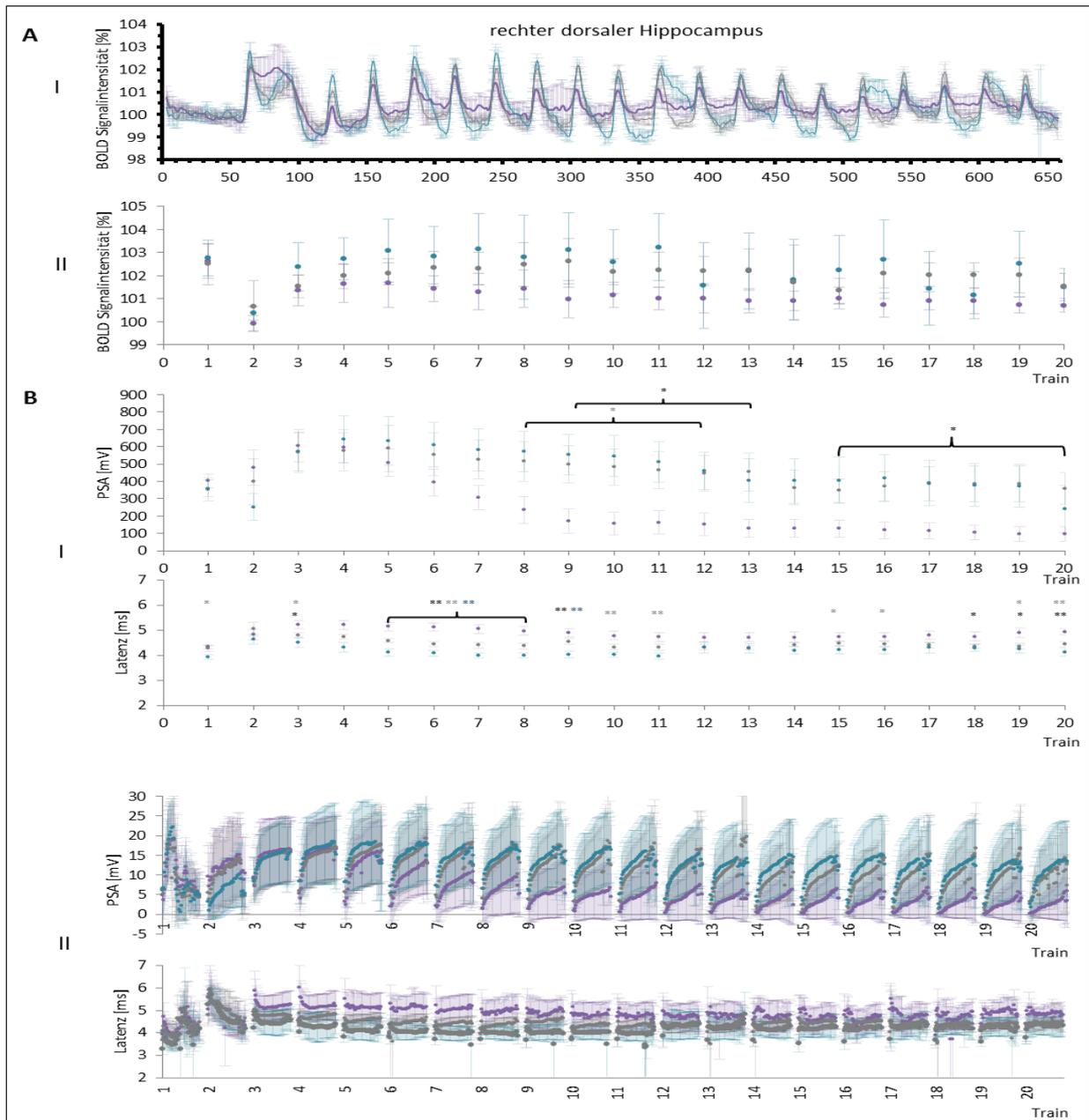
In der Darstellung der *Trains* 3-20 sind Unterschiede durch vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll nicht sichtbar. Der Verlauf der Messungen zeigt jedoch in den Gruppen, bei denen der *Tractus perforans* zuvor mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde, zusätzliche signifikant aktivierte Voxel in Regionen, die bei naiven Tieren nicht mit aktiviert wurden. 5 Hz SG: Stimulationsgruppe, die an Tag 2- Tag 4 in der Freilaufbox mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde, nach 5 Hz: nach einer fMRT/Elektrophysiologie Messung zwei Tage zuvor.

#### 4.2.4.2 Auswirkungen von Stimulation mit 1 Hz-20 Pulse auf die Verarbeitung eines anderen hochfrequenten Stimulationsprotokolls mit kürzerer Pulsfolge (5 Hz-4 Pulse) in einer nachfolgenden Messung

Um zu untersuchen, ob die beschriebenen durch hochfrequente Stimulation ausgelösten Veränderungen der neuronalen und hämodynamischen Antworten auch Auswirkungen auf die Verarbeitung anderer Stimulationsmuster haben, wurde der *Tractus perforans* während einer weiteren Elektrophysiologie/fMRT Messung an Tag 16 mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll stimuliert (Abbildung 4.2.4). Dieses Stimulationsprotokoll wurde ausgewählt, da das 5 Hz-4 Pulse Protokoll ebenfalls 20 Pulse/*Train* enthält, bei naiven Tieren jedoch zu deutlich unterschiedlichen BOLD Antworten führt (siehe Abschnitt 4.1). Das 5 Hz Protokoll führte im Vergleich zur Messung naiver Tiere bei normaler Intensität, auch bei höheren Stimulationsintensitäten nicht zu signifikanten Unterschieden (siehe Anhang). Deshalb schien dieses Stimulationsprotokoll weniger gut geeignet, um Unterschiede in der Verarbeitung der eingehenden Stimuli durch vorhergehende Stimulation zu untersuchen.

##### 4.2.4.2.1 Neurophysiologische Effekte im Gyrus dentatus

Der erste Populationsspike war wegen hoher Standardabweichungen nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen. Die Varianzanalyse zeigte, dass die Summe der Populationsspikes für die folgenden *Trains* mit der Gruppe zusammenhängt ( $F(2,21)=3,56$ ,  $p=0,005$ ). Der Abfall der Summen der Amplituden der Populationsspikes über den Verlauf der Messung (*Train* 4-20) war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen. Die Latenzen der ersten Populationsspikes waren in der Gruppe der naiven Tiere ( $Mdn=5,12$  ms) signifikant länger, als nach einer Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ( $Mdn=4,21$  ms),  $U=9$ ,  $p<0,01$ ,  $r=0,68$  und in der Stimulationsgruppe an Tag 16 ( $Mdn=4,21$  ms),  $U=12$ ,  $p<0,05$ ,  $r=0,50$ . Die Varianzanalyse zeigte, dass die Latenzen der *Trains* 3-20 mit der Gruppe zusammenhängen ( $F(2,21)=1,5$ ,  $p<0,05$ ). Nachentladungen traten in der Gruppe der naiven Tiere nur nach dem ersten *Train* auf, in der Stimulationsgruppe gab es dagegen keine Nachentladungen nach dem ersten *Train*. Im Gegensatz dazu, traten in der Gruppe, die zwei Tage zuvor mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll gemessen wurde, Nachentladungen sowohl nach dem ersten *Train*, als auch zu späteren Zeitpunkten innerhalb der Messung auf. Diese Nachentladungen konnten als erhöhte BOLD Antwort (keine Rückkehr zum Grundniveau) detektiert werden (Abbildung 4.2.4.2.1).



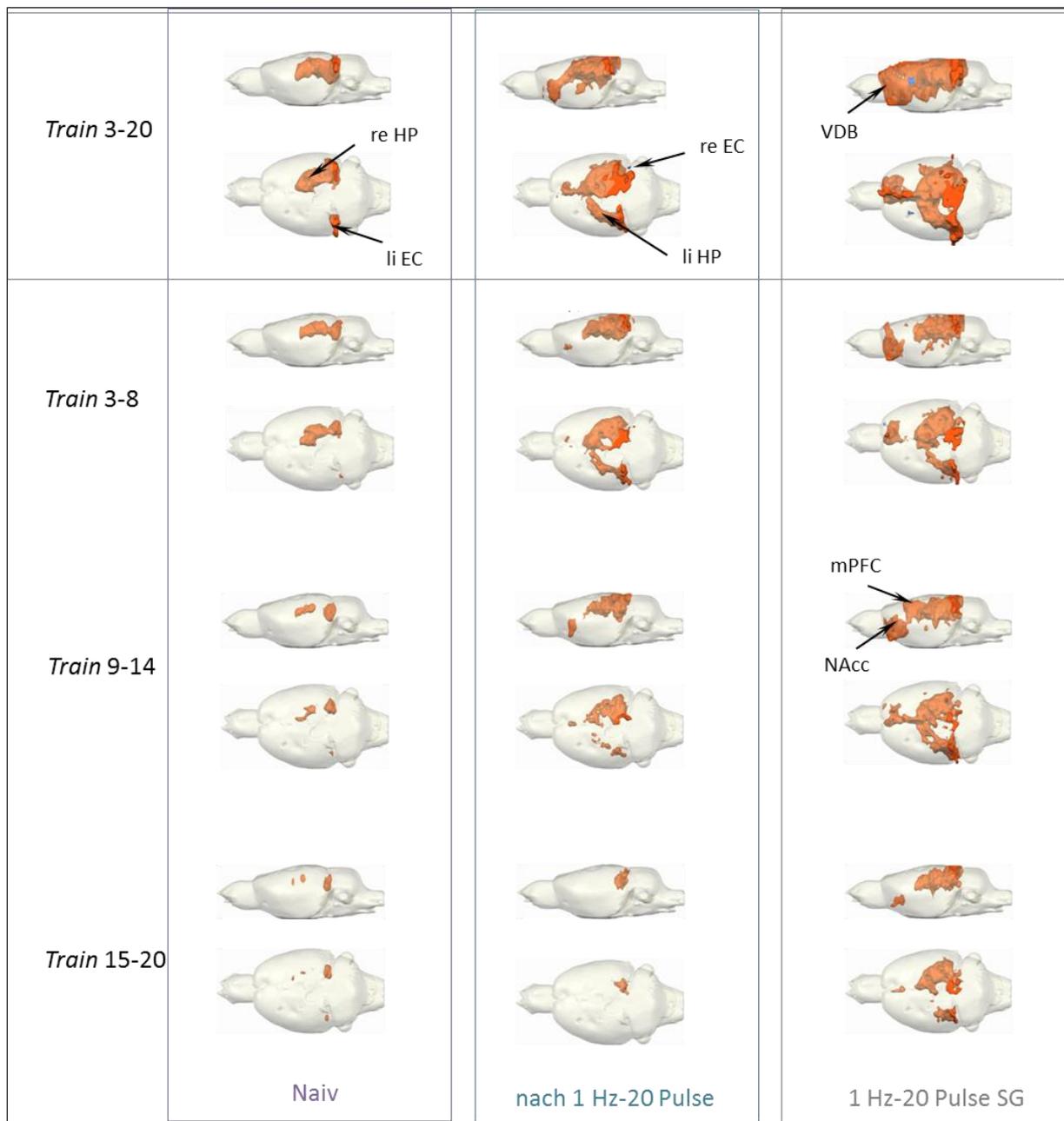
**Abbildung 4.2.4.2.1 | Neuronales Antwortverhalten und Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus während der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

A: Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. I: Verlauf mit Standardabweichungen, x-Achse: Wiederholungen II Verlauf der maximalen BOLD Signalintensitäten mit Standardabweichungen B: Elektrophysiologie der Populationsspikes. I: Summe der Amplituden und Mittelwerte der Latenzen mit Standardfehlern. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ . Schwarz: Vergleich naiver Tiere-1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe, grau: naive Tiere-nach einer Messung mit dem 1 Hz Protokoll, blau: nach 1 Hz-20 Pulse-nach SG. II: Originalwerte der Amplituden und der Latenzen. Dabei sind sowohl die Amplituden, als auch die Latenzen der Populationsspikes mit den zugehörigen Standardabweichungen dargestellt. III: Originalwerte aller gemessenen Populationsspikes. Naiv: lila, nach einer 1 Hz-20 Pulse Messung zwei Tage zuvor: Aquamarin, 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe: grau.

#### 4.2.4.2.2 *Vergleich der BOLD Antworten mit unterschiedlicher Menge an vorhergehender 1 Hz-20 Pulse Stimulation*

Im rechten dorsalen Hippocampus ergaben sich beim Vergleich des ersten *Trains* keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Auch im vierten *Train* zeigten die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Der Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus war ebenfalls nicht unterschiedlich zwischen den Gruppen. Vorhergehende Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll führte zu einer verstärkten Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel während der Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll. Dabei war die Ausbreitung signifikanter BOLD Antworten umso größer je mehr Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll die Tiere zuvor erhalten hatten (Abbildung 4.2.4.2.2). Signifikant aktivierte Voxel konnten in der Gruppe der naiven Tiere nur im rechten Hippocampus und beiden entorhinalen Cortices festgestellt werden, während sich signifikant aktivierte Voxel nach vorhergehender Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll auch in weiteren Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus nachweisen ließ. Hier zeigten sich auch Unterschiede in der BOLD Signalintensität. Die Ergebnisse der Vergleiche in den einzelnen Regionen sind in den Tabellen 4.2.2.2.1 und 4.2.4.2.2 dargestellt.

Wiederholte hochfrequente Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll führt somit zu einer veränderten Verarbeitung eines anderen hochfrequenten Stimulationsprotokolls mit kürzerer Pulsfolge. Die veränderte Signalverarbeitung des 5 Hz-4 Pulse Stimulationsmusters zeigte sich dabei sowohl in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, als auch in den Signalintensitäten, wobei häufigere Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zu einer stärkeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und höheren BOLD Signalintensitäten in Zielregionen des rechten Hippocampus führte.



**Abbildung 4.2.4.2.2 | 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel während der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll**

Sowohl in der Darstellung der *Trains* 3-20 als auch in den einzelnen Blöcken der Messungen sind Unterschiede durch vorhergehende Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll sichtbar. Je häufiger der *Tractus perforans* vor der Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde, desto mehr Regionen wurden durch die fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll aktiviert.

<i>Train 1</i>	naiv	nach 1 Hz- 20 Pulse	1 Hz-20 Pulse SG	naiv- nach 1 Hz-20 Pulse	naiv-1 Hz-20 Pulse SG	nach 1 Hz- 20 Pulse -1 Hz-20 Pulse SG
<b>Region</b>	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert
re HP	102,33	102,43	102,33	0,88	0,96	0,83
<b>li HP</b>	101,94	102,44	102,15	<b>0,04</b>	0,40	0,23
re NAcc	100,12	100,43	101,11	0,12	<b>0,01</b>	0,28
<b>li NAcc</b>	100,17	100,35	101,11	0,53	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>
mPFC	100,31	100,34	100,93	0,86	<b>0,00</b>	<b>0,04</b>
VTA/Sn	100,52	101,07	100,63	<b>0,02</b>	0,52	0,07
Septum	100,95	101,40	101,14	<b>0,01</b>	0,40	0,62
re Striatum	100,26	100,35	100,21	0,47	0,80	0,52
li Striatum	99,95	100,20	100,17	0,12	0,17	0,62
re dorsaler HP	102,51	102,63	102,27	0,65	0,96	0,62
li dorsaler HP	102,69	103,03	102,64	0,24	0,73	0,17
<b>BLA</b>	100,51	100,38	102,24	0,59	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>
VDB	100,93	101,32	101,38	0,17	<b>0,06</b>	0,62
<b>re EC</b>	102,10	106,34	105,39	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	0,94
<b>li EC</b>	104,12	100,90	102,29	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	0,10

**Tabelle 4.2.4.2.1 | BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen bei Stimulation mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Bezeichnung der Gruppen: Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 1 Hz-20 Pulse: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zwei Tage zuvor, 1 Hz-20 Pulse SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde. Die BOLD Signalintensitäten in den verschiedenen Regionen wurden hier verglichen und die entsprechenden *p*-Werte aus dem Vergleich der Messzeitpunkte mit dem Mann-Whitney-U-Test angegeben. Fett markiert sind Regionen, in denen im ersten *Train* signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Grün dargestellt sind die signifikanten Unterschiede. Der erste *Train* wurde nicht durch vorhergehende Stimulation innerhalb der Messung beeinflusst und daher gesondert verglichen. HP: Hippocampus, EC: entorhinaler Cortex, BLA: basolaterale Amygdala. VTA/Sn: ventrales Tegmentum-Substantia nigra. Eine genaue Auflistung der statistischen Werte befindet sich in Tabelle A4.2.4.2.1 im Anhang.

<i>Train 3-20</i>	naiv	nach 1 Hz- 20 Pulse	1 Hz-20 Pulse SG	naiv- nach 1 Hz-20 Pulse	naiv-1 Hz-20 Pulse SG	nach 1 Hz-20 Pulse -1 Hz-20 Pulse SG
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>p</i> -Wert
re HP	100,96	101,78	101,96	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	0,83
li HP	100,23	101,08	100,91	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>	0,83
re NAcc	100,33	100,41	101,02	0,06	<b>0,02</b>	0,17
li NAcc	100,28	100,33	101,02	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>
mPFC	100,32	100,38	100,68	0,09	<b>0,01</b>	0,23
VTA/Sn	100,33	100,56	100,48	0,06	0,12	0,23
Septum	100,33	100,89	100,98	<b>0,02</b>	<b>0,00</b>	0,52
re Striatum	100,22	100,33	100,23	0,09	0,45	0,43
li Striatum	100,26	100,33	100,23	0,06	0,34	0,07
re dorsaler HP	101,19	102,22	102,10	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>	0,62
li dorsaler HP	100,31	101,27	101,14	<b>0,01</b>	<b>0,00</b>	0,94
BLA	100,55	100,77	101,31	<b>0,05</b>	<b>0,00</b>	<b>0,03</b>
VDB	100,44	100,97	101,59	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	0,35
re EC	102,24	104,50	102,80	<b>0,01</b>	0,25	<b>0,05</b>
li EC	100,76	101,10	102,35	0,24	<b>0,00</b>	<b>0,05</b>

**Tabelle 4.2.4.2.2 BOLD Signalintensitäten in den *Trains* 3-20 während der kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen bei Stimulation mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher Vorstimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Bezeichnung der Gruppen: Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 1 Hz-20 Pulse: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zwei Tage zuvor, 1 Hz-20 Pulse SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde. Die BOLD Signalintensitäten in den verschiedenen Regionen wurden hier verglichen und die entsprechenden *p*-Werte aus dem Vergleich der Messzeitpunkte mit dem Mann-Whitney-U-Test angegeben. Fett markiert sind Regionen, in denen in den *Trains* 3-20 signifikante Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten berechnet wurden. Grün dargestellt sind die signifikanten Unterschiede. HP: Hippocampus, EC: entorhinaler Cortex, BLA: basolaterale Amygdala. VTA/Sn: ventrales Tegmentum-Substantia nigra. Eine genauere Auflistung der statistischen Werte befindet sich in Tabelle A4.2.4.2.2 im Anhang.

## 5 Diskussion

BOLD-fMRT Messungen gehören zu den am häufigsten eingesetzten Methoden der funktionellen Bildgebung beim Menschen (Heeger & Ress 2002). Der Hippocampus wird beim Menschen häufig im Zusammenhang mit Lern- und Gedächtnisaufgaben untersucht, welche die Probanden während BOLD-fMRT Messungen lösen. Hierbei konnten lernabhängige Veränderungen in den BOLD Antworten festgestellt werden (Shipman & Astur 2008; Zeineh 2003; Piekema et al. 2006; van Kesteren et al. 2010). Als nicht-invasive Methode wird die fMRT eingesetzt, um indirekt die neuronale Aktivität einer Gehirnregion zu erfassen (Arthurs et al. 2001; Lefebvre et al. 2009; Logothetis 2008; Figley & Stroman 2011). Die Bedeutung einer veränderten BOLD Signalintensität- und Ausbreitung kann nur anhand von Tierversuchen untersucht werden, da die invasive Erforschung der Grundlagen und Zusammenhänge zwischen BOLD Antwort und neuronaler Aktivität am Menschen nur schwer durchgeführt werden kann (Angenstein 2014; Riemann et al. 2016; Martin 2014; Uludağ & Roebroek 2014). Mit dem hier verwendeten Versuchsansatz lassen sich lokale Veränderungen der neuronalen Signalverarbeitung im *Gyrus dentatus* und Veränderungen in den BOD Antworten im rechten dorsalen Hippocampus und dem gesamten Gehirn erfassen. Dabei wurde die Eingangsaktivität durch die Stimulationseigenschaften (Intensität, Frequenz, Pulsdauer) genau definiert, während die Ausgangsaktivität als Populationsspiques in der Granularzellschicht erfasst wurde. Die gleichzeitig aufgezeichnete fMRT Messung erlaubt es, Zusammenhänge zwischen der Eingangs- bzw. der Ausgangsaktivität und der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus sowie den BOLD Signalintensitäten und der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im gesamten Gehirn herzustellen.

### 5.1 Variabilität von neuronalen- und BOLD Antworten innerhalb einer Messung

#### 5.1.1 Stimuli, physiologische Relevanz und neuronales Antwortverhalten

Der genutzte experimentelle Ansatz ermöglicht eine elektrische Stimulation des *Tractus perforans* mit definierten Pulsfolgen. Um generelle Aussagen über stimulusspezifische neuronale- und BOLD Antworten zu erhalten, wurden einfache Pulsfolgen mit identischen

Interpulsintervallen verwendet, dh. kurze Pulsfolgen im  $\delta$  (1 Hz),  $\theta$  (5 Hz, 10 Hz),  $\beta$  (20 Hz) und  $\gamma$  (100 Hz (Bursts)) Frequenzbereich. Synaptische Plastizität wird im Hippocampus mit Theta- (~4-10 Hz) und Gamma (~25-100 Hz) Aktivität in Verbindung gebracht (Bikbaev & Manahan-vaughan 2016; Lee et al. 2013; Colgin & Moser 2010; Hummos & Nair 2016). Das 5 Hz und das 10 Hz Protokoll liegen somit im Bereich des Theta-Rhythmus, der beim Lernen eine wichtige Rolle spielt (Lee et al. 2013; Sweatt 2016; Buzsáki & Moser 2013; Tsanov & Manahan-Vaughan 2009; Vertes 2005). Bei den Stimulationsprotokollen, die hochfrequente Aktivität in Bursts enthalten, wurden die einzelnen Pulse in einem Abstand von 10 msec verabreicht. Die hochfrequente Stimulation liegt damit im Gamma Bereich. Gamma Aktivität im Hippocampus wird ebenfalls mit Lernen und Gedächtnis in Verbindung gebracht (Colgin & Moser 2010; Colgin 2016; Sigurdsson & Duvarci 2015).

Die verschiedenen Stimulationsprotokolle führten zu einem unterschiedlichen neuronalen Antwortverhalten der Granularzellen des *Gyrus dentatus*. Bei den in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokollen (1 Hz, 5 Hz, 10 Hz, 20 Hz) führen nur das 1 Hz und das 5 Hz Protokoll und bei einem Teil der Tiere, das 10 Hz Protokoll zu einem Populationsspike pro Puls. Bursts von Pulsen, mit einer Frequenz von 100 Hz, wie in Experiment 2 und Experiment 3 verwendet, lösten nur einen Populationsspike pro Burst aus, wobei dieser auf den ersten Puls folgte. Durch die folgenden Pulse innerhalb eines Bursts wurden höchstens EPSPs ausgelöst, meistens wurde jedoch keine neuronale Aktivität gemessen. Die Granularzellen folgen in ihrer Feuerungsrate demzufolge nicht dem hochfrequenten Stimulationsprotokoll.

Es wurde bereits gezeigt, dass aus den Schichten I-III des entorhinalen Cortex, die zum Hippocampus projizieren, hochfrequente neuronale Aktivität in Richtung *Gyrus dentatus* weiter geleitet wird (Chrobak et al. 2000; Yamaguchi et al. 2007; Douglas 1977). Im entorhinalen Cortex von wachen, frei beweglichen Ratten wurden Theta/Gamma Frequenzen gemessen. Die Gamma-Aktivität wird dabei durch den Theta Rhythmus moduliert (Chrobak et al. 2000; Yamaguchi et al. 2007; Lisman 2005). Es wird vermutet, dass die durch hochfrequente elektrische Stimulation ausgelöste neuronale Aktivität die ursprünglich vorhandene Aktivität von corticalen Neuronen nicht überlagert, sondern sie ersetzt (Cheney et al. 2013). Daher kann angenommen werden, dass die Granularzellen dem vorgegebenen Pulsmuster, mit dem der *Tractus perforans* stimuliert wurde, aufgrund ihrer elektrischen Eigenschaften nicht folgen können. Im Vergleich zu den Pyramidenzellen der CA1 und der CA3 haben die Granularzellen im *Gyrus dentatus* einen hohen Schwellenwert für

Aktionspotenziale und ein niedriges Ruhemembranpotenzial (Ewell & Jones 2010; Kowalski et al. 2016). Granularzellen haben eine lange Zeitkonstante um synaptische Eingänge zu integrieren, was zusammen mit der fehlenden regenerativen Calcium Leitfähigkeit ein Feuern in Bursts verhindert (Kowalski et al., 2016). Die natürliche Spikingrate der Granularzellen im *Gyrus dentatus*, die an wachen Ratten gemessen wurde, liegt bei  $<0,5$  Hz (Dengler & Coulter, 2016). Neurone aus der II. Schicht des entorhinalen Cortex werden erst bei Frequenzen über 5 Hz aktiviert (Erchova, Kreck, Heinemann, & Herz, 2004). Die niedrige Spiking Rate der Granularzellen ist sowohl für die Mustervervollständigung als auch für die Mustertrennung notwendig (Scharfman & Meyers 2016; Dengler & Coulter 2016; Treves et al. 2008; Leutgeb et al. 2007). Granularzellen werden durch inhibitorische Interneurone, die höhere Spiking Frequenzen haben, beeinflusst (Bartos et al. 2001; Buzsáki & Eidelberg 1982; Ewell & Jones 2010; Förster et al. 2006; Yuan et al. 2017; Buckmaster & Schwartzkroin 1995). Abhängig davon welche Frequenzmuster die inhibitorischen Interneurone über den *Tractus perforans* erreichen, feuern die sogenannten „fast spiking“-Interneurone in Bursts oder einzelne Spikes. Während Bursts sowohl zur Vorwärts- als auch zur Rückwärts- Hemmung beitragen, führt ein Feuern der „fast spiking“-Interneurone in Spikes ausschließlich zur Vorwärts-Inhibierung (Ewell & Jones 2010). An hippocampalen Schnitten wurde *in vitro* gezeigt, dass eine Stimulation mit 10 Hz im *Gyrus dentatus* zur Aktivierung von inhibitorischen Interneuronen mit niedrigerer Feuerungsschwelle führt (Ewell & Jones 2010). Stimulation mit Frequenzen im Theta Bereich führt in hippocampalen Schnitten zu Burst Aktivität der Interneurone im *Gyrus dentatus*. Die späteren Spikes der Burst Aktivität hemmen dabei die Aktivität der Granularzellen (Ewell & Jones 2010). Dies könnte zusätzlich dazu beitragen, dass bei Burst-Stimulation nur der erste Puls zu einem Populationsspike führt, was schon vor über 30 Jahren als Reaktion auf Stimulation mit 100 Hz gezeigt wurde (Buzsáki & Eidelberg 1982). Über die Moosfasern erhalten die inhibitorischen Interneurone im *Gyrus dentatus* zusätzliche Eingangsaktivität (Sambandan et al. 2010; Scharfman & Bernstein 2015). Die bereits beschriebenen Filtereigenschaften des *Gyrus dentatus*, zeigen sich auch bei der Stimulation des *Tractus perforans* mit den hier verwendeten Protokollen. Im ersten *Train* wurden bei Burst-Stimulation auch nach dem ersten Puls weitere Populationsspikes generiert. Diese Beobachtung könnte zeigen, dass auf schnelle synaptische Aktivierung im *Gyrus dentatus* eine Inhibierung durch GABAerge Interneurone folgt (Liu et al. 2014). Dass die Anzahl der Pulse/Burst einen Einfluss auf die Amplitude der Populationsspikes hat, zeigt Experiment 2. Auffällig war für alle Protokolle (bis auf das 1 Hz Protokoll) die Zunahme der PSA innerhalb eines *Trains* und der Abfall der mittleren PSA über den Verlauf wiederholter Stimulationen.

Dabei stellte sich dieses Muster für einen Teil der Protokolle erst ab dem dritten *Train* ein. Bei den meisten Stimulationsprotokollen (5 Hz, 10 Hz, 20 Hz, 10 Hz-2 Pulse, 5 Hz-4 Pulse, Protokoll1, teilweise bei 1 Hz-20 Pulse) wurde ein unregelmäßiges neuronales Aktivitätsmuster im ersten *Train* beobachtet. Unmittelbar nach dem ersten *Train* wurden neuronale Nachentladungen beobachtet. Erst in den darauffolgenden *Trains* stellte sich ein stabiles neuronales Antwortverhalten ein. Daher wurde vermutet, dass es zu Beginn der Messung bei diesen Stimulationsprotokollen zu einer Art Reorganisation des neuronalen Netzwerks kommt, nach der sich ein stabiler Verlauf der neuronalen Aktivität als Reaktion auf das Stimulationsprotokoll einstellt (Helbing 2015; Riemann et al. 2016). Das neuronale Antwortmuster, das sich nach der Stabilisierung des neuronalen Antwortverhaltens entwickelte, wurde bereits in früheren Studien beobachtet, die unter einer gleichartigen Medetomidin Sedation durchgeführt wurden (Krautwald et al. 2013; Angenstein et al. 2009). Das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* ist durch eine Zunahme der PSA innerhalb eines *Trains* charakterisiert. Es wird angenommen, dass die Amplitude des Populationsspikes proportional zur Anzahl der Aktionspotenziale feuern den Granularzellen ist (Sloviter 1983). Somit würden innerhalb eines *Trains* bei allen Protokollen zu Beginn weniger Granularzellen feuern als am Ende der 8 Sekunden andauernden Stimulationsphase. Eine Erklärung für die elektrophysiologischen Daten ist, dass es durch die Stimulation zu einer Faszilitierung kommt. Faszilitierung ist eine Form der kurzfristigen neuronalen Plastizität, bei der die synaptische Transmission in Zeiträumen von unter einer Sekunde erhöht wird. Dies passiert, wenn die einzelnen Stimuli 10 bis einige hundert Millisekunden nacheinander auftreten (Jackman & Regehr 2017). Bei der Faszilitierung handelt es sich um einen präsynaptischen, Calcium-vermittelten Prozess. Dabei fusionieren bei späteren Pulsen mehr Vesikel, die Neurotransmitter enthalten, mit der präsynaptischen Membran (Emptage et al. 2001; Jackman & Regehr 2017; Kandel 2001). Eine andere Erklärung für den der Faszilitierung zugrunde liegenden Prozess stellt die NMDA Rezeptor vermittelte verstärkte Wirkung von Glutamat dar (McNaughton & Morris, 1987). Es wird angenommen, dass Faszilitierung wichtig für den Informationstransfer während hochfrequenter Burst-Aktivität im Hippocampus ist (Jackman & Regehr 2017). Normalerweise verringert sich die Latenz von Populationsspikes im *Gyrus dentatus* während einer Faszilitierung (Lacaille et al. 1985), was jedoch bei keinem der hier verwendeten Stimulationsprotokolle beobachtet werden konnte. Die Ursachen für die unterschiedlichen Latenzentwicklungen sind unklar, eine Erhöhung der PSA bei gleichzeitig verlängerter Latenz

wurde jedoch auch in vorhergehenden Versuchen mit vergleichbaren Stimulationsmustern beobachtet (Angenstein et al. 2007; Krautwald & Angenstein 2012).

Nicht nur während identischer Stimulationstrains wird das neuronale Antwortverhalten durch den vorhergehenden Stimulationstrain beeinflusst. Auch wenn verschiedene Stimulationsprotokolle innerhalb einer Messung gemischt werden, zeigt sich der Einfluss vorhergehender Stimulation mit einem anderen Frequenzmuster in der Amplitude der Populationsspikes. Wurde während der ersten beiden *Trains* mit 5 Hz stimuliert (Protokoll1), so war die Summe der PSA/*Train* für die mit 1 Hz-20 Pulse stimulierten *Trains* geringer als bei durchgehender Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Das bedeutet, dass kurzfristige 5 Hz Stimulation die nachfolgenden Antworten auf 1 Hz-20 Pulse Pulsfolgen anders beeinflusst als kurze 1 Hz-20 Pulse Pulsfolgen. Im Gegensatz dazu führten kurze 1 Hz-20 Pulse Pulsfolgen zu keiner veränderten Antwort auf nachfolgende 5 Hz Stimulationstrains (Protokoll 2). Dieses Beispiel zeigt, dass schon die Kombination von zwei verschiedenen Frequenzmustern zu einem veränderten Verlauf des neuronalen Antwortverhaltens führen kann.

Nach dem ersten Stimulationstrain traten bei den meisten Protokollen (5 Hz, 10 Hz, 20 Hz, 5 Hz-4 Pulse, 10 Hz-2 Pulse, 1 Hz-20 Pulse) neuronale Nachentladungen auf. Neuronale Nachentladungen während und nach hochfrequenter Stimulation wurden bereits in früheren kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Studien beobachtet (Angenstein et al. 2013; Krautwald et al. 2013; Helbing et al. 2013). Bei wachen Ratten wurden auch nach 5 Hz Stimulation Nachentladungen beschrieben (Burdette et al. 1996). Die Reizintensität, bei der Nachentladungen gemessen wurden lag mit ca. 300  $\mu$ A in einem ähnlichen Bereich wie in dieser Arbeit, wobei die Stimulationsdauer mit 12-18 Sekunden länger war als die hier verwendeten 8 Sekunden. Nachentladungen führten dabei zunächst zu einer reduzierten PSA, später jedoch zu einer höheren Amplitude des Populationsspikes (Burdette et al. 1996). Es wird angenommen, dass Nachentladungen im *Gyrus dentatus* bei elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* durch eine Hemmung von inhibitorischen Interneuronen entstehen (Bragin et al. 1997; Shao & Dudek 2011; Buckmaster & Schwartzkroin 1995), was dazu führt, dass die Filtereigenschaften des *Gyrus dentatus* beeinträchtigt werden (Behr et al. 1998; Hsu 2007). Bei den meisten Protokollen (5 Hz, 10 Hz, 5 Hz-4 Pulse, 1 Hz-20 Pulse) traten die Nachentladungen nur nach dem ersten *Train* auf. Das 10 Hz-2 Pulse- und das 20 Hz Protokoll führten nicht nur nach dem ersten *Train*, sondern auch im späteren Verlauf zu Nachentladungen, allerdings erst ab dem siebten *Train*. Die Nachentladungen dauerten

maximal bis zu 30 Sekunden, endeten also immer vor Beginn der nächsten Stimulation. An wachen Ratten wurde gezeigt, dass Nachentladungen, die durch elektrische Stimulation des *Tractus perforans* ausgelöst wurden, zunächst in der CA1 beendet werden. Es wird vermutet, dass Kalium, das durch die erhöhte Aktivität der Nervenzellen vermehrt ausströmt, zu fortschreitenden Depolarisierungswellen in Astrocyten führt. Dadurch wird anschließend eine weitere Depolarisation von Nervenzellen verhindert (Bragin et al. 1997). Dies würde auch das auf neuronale Nachentladungen folgende häufige Fehlen von Populationsspiques im zweiten *Train* erklären.

Vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans* innerhalb einer Messung mit demselben Frequenzmuster hat somit eine geringere mittlere Amplitude der Populationsspiques zur Folge und kann, abhängig vom Stimulationsprotokoll und dem Auftreten von Nachentladungen, zum Ausbleiben von Populationsspiques führen. Der Verlauf der Amplitude innerhalb eines *Trains* veränderte sich ab dem dritten *Train* nicht und die Latenz blieb stabil. Bei Mischung von verschiedenen Stimulationsprotokollen innerhalb der Messung kann eine vorhergehende Stimulation mit einer anderen Frequenz die Amplitude der Populationsspiques beeinflussen. Das grundsätzliche Antwortmuster als Reaktion auf ein Stimulationsprotokoll (Anstieg der PSA, Abfall der mittleren PSA im Verlauf der Messung) blieb jedoch erhalten.

### 5.1.2 Variabilität der BOLD Antworten innerhalb einer Messung

Im Gegensatz zur mittleren Amplitude der Populationsspiques nahm die maximale BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus nur bei einem Teil der Protokolle im Verlauf der Messung deutlich ab. Sowohl die Anzahl der Pulse pro *Train* als auch die Abstände zwischen den Pulsen beeinflusste die BOLD Signale inner- und außerhalb des Hippocampus. Allen verwendeten Stimulationsprotokollen gemeinsam war jedoch, dass bei der hier verwendeten Einteilung in frühe (*Train* 3-8), mittlere (*Train* 9-14) und späte (*Train* 15-20) *Trains*, in den mittleren und späten *Trains* keine zusätzlichen Gehirnregionen aktiviert wurden, die während der frühen *Trains* nicht signifikant aktiviert wurden.

Das 1 Hz Protokoll zeigte die geringste Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, die nur bei der Darstellung der *Trains* 3-20 sichtbar wurde. Die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus war ebenfalls deutlich geringer als für alle anderen verwendeten Protokolle, und bewegte sich ohne erkennbaren Abfall der maximalen BOLD Antwort pro

*Train* nahe an der Signifikanzschwelle. Es ist somit anzunehmen, dass Stimulation mit einem Puls pro Sekunde bei den hier verwendeten Methoden den Schwellenwert zur Darstellbarkeit signifikanter BOLD Aktivität darstellt. Dafür spricht ebenfalls, dass nicht bei jedem Tier, das mit dem 1 Hz Protokoll stimuliert wurde, eine signifikante BOLD Antwort induziert wurde. Eine falsch sitzende Stimulationselektrode konnte aufgrund messbarer Populationsspikes als Ursache ausgeschlossen werden. Die Schwelle, ab wann durch elektrische Stimulation des *Tractus perforans* signifikante BOLD Antworten ausgelöst werden können, hängt stark von der verwendeten Narkose oder Sedation ab. So wurde dieser Schwellenwert unter Isofluran-Narkose bei 5 Hz beschrieben, wobei nur sieben *Trains* mit jeweils 8 Sekunden Stimulationsdauer verwendet wurden (Angenstein et al. 2007). Unter Urethan-Narkose konnten bei Stimulation von 4 statt 8 Sekunden ab 4 Hz signifikant aktivierte Voxel gemessen werden (Canals et al. 2008). Wurde  $\alpha$ -Chloralose während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen verwendet, zeigte sich ab einer Stimulationsfrequenz von 1,25 Hz eine signifikante BOLD Antwort (Krautwald & Angenstein 2012).

Für die anderen, neben dem 1 Hz Protokoll, verwendeten Stimulationsprotokolle zeigten sich Veränderungen innerhalb der Messung und somit Einflüsse der vorhergehenden Stimulationstrains. Die auffälligste Veränderung durch vorhergehende Stimulation war auch im BOLD Signal nach Nachentladungen im *Gyrus dentatus* sichtbar. Diese führten dazu, dass die BOLD Signalintensität nach dem Ende der Stimulation nicht auf den ursprünglichen Wert abfiel, sondern auch im folgenden *Train* erhöht blieb. Dies wurde bei Menschen mit Epilepsie ebenfalls beschrieben, wobei die Rückkehr zur Baseline dort 30 Sekunden nach dem Ende der epileptischen Aktivität beobachtet wurde (Kobayashi et al. 2006). Bei Epilepsie/Nachentladungen ist die Filterfunktion des *Gyrus dentatus* beeinträchtigt. Dadurch kommt es zu erhöhter neuronaler Aktivität im Hippocampus (Dengler & Coulter 2016; Behr et al. 1998; Bragin et al. 1997). Diese neuronale Aktivität ist, wie die direkt auf die Stimulationspulse folgende neuronale Aktivität, in der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus sichtbar. Unterschiede in der Aktivierung zusätzlicher Regionen während Nachentladungen wie sie in einer Studie, in der der Hippocampus mit optogenetischen Methoden stimuliert wurde, beschrieben wurden (Duffy et al. 2015), konnten nicht beobachtet werden. Allerdings können zur Beurteilung des Effekts von Nachentladungen auf die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel während Nachentladungen nur das 10 Hz-2 Pulse und das 20 Hz Protokoll herangezogen werden. Beide Protokolle lösten ab dem siebten *Train* zusätzliche Nachentladungen aus, führten aber ebenfalls zu einer Verringerung der BOLD Signalausbreitung in den späteren *Trains*. Gegen einen solchen

Effekt der Nachentladungen spricht ebenfalls, dass es beim 1 Hz-20 Pulse Protokoll hin und wieder zu signifikant aktivierten Voxeln im präfrontalen Cortex kommt, was aber nicht in Zusammenhang mit den teilweise auftretenden Nachentladungen nach dem ersten *Train* gebracht werden konnte (persönliche Information von Prof. Dr. Frank Angenstein und Karla Krautwald). Dass höhere Frequenzen zu einer Ausbreitung des BOLD Signals führen und damit angenommen werden kann, dass höhere Frequenzen mehr Gehirnareale, die Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus sind, aktivieren, wurde bereits in früheren Studien festgestellt (Angenstein et al. 2007; Canals et al. 2008). Stimulationsprotokolle, die zu einem relativ gleichmäßigen Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus führten, waren neben dem 1 Hz Protokoll das 1 Hz-5 Pulse und das 1 Hz-10 Pulse Protokoll, also Stimulationsprotokolle mit dem 1 Hz Grundrhythmus und einer geringen Anzahl von Pulsen pro hochfrequentem Burst. Mit der stabilen BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus ging auch eine stabile Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im gesamten Gehirn einher. Zu einer ebenfalls stabilen Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und einem geringen Abfall der BOLD Signalintensität ab dem dritten *Train* führte das 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Ein relativ stabiler Verlauf der BOLD Signalintensität scheint also mit einer stabilen Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus einherzugehen. Ein ähnlicher Verlauf der BOLD Signalintensität innerhalb einer Messung, die zu einer gleichbleibenden Aktivität außerhalb des Hippocampus führt, könnte also bedeuten, dass die Weiterleitung neuronaler Aktivität aus dem Hippocampus über den Verlauf der Messung relativ stabil bleibt. Die Höhe der maximalen BOLD Signalintensität bei Burst Stimulation kann dabei mit der Anzahl aktivierter Voxel in Verbindung gebracht werden. Die Ergebnisse aus Experiment 2 zeigen, dass eine höhere Pulsanzahl pro Burst zu einer höheren BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus und gleichzeitig zu mehr aktivierten Regionen führt.

Für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll wurde die Entwicklung der BOLD Antwort über die Dauer der Messung bereits in einer früheren Studie untersucht, wobei hier nur 15 *Trains* verwendet wurden. Auch hier zeigte sich im rechten Hippocampus ein relativ stabiler Verlauf, wobei die auf den ersten *Train* folgenden Nachentladungen die BOLD Signalintensität des folgenden *Trains* beeinflussten (Angenstein et al. 2013). Zu einem stärkeren Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus kam es bei den Protokollen (bis auf das 1 Hz Protokoll), die nur eine Basisfrequenz ohne Bursts von Pulsen enthielten. Dabei war der Signalabfall bei höheren Basisfrequenzen, die zu mehr Populationsspikes führen, stärker. Nicht nur bei einer direkten elektrischen Stimulation eines Faserbündels wurde ein

frequenzabhängiger Abfall der BOLD Signalintensität beschrieben. Im somatosensorischen Cortex der Ratte wurde bei Stimulation der Pfote mit unterschiedlichen Frequenzen eine ähnliche Adaptation der BOLD Signalintensitäten und der gleichzeitig gemessenen Calcium-Signale im somatosensorischen Cortex beobachtet. Stimulation der Pfote mit elektrischen Pulsen mit einer Frequenz von 1 Hz führte zu stabilen BOLD Antworten, während elektrischen Pulsen mit einer Frequenz von 10 Hz zu einem deutlichen Abfall der induzierten BOLD Antworten führte (Schulz et al. 2012). Eine frequenzabhängige Adaptation, die in den lokalen Feldpotenzialen sichtbar war, wurde für den somatosensorischen Cortex der Ratte ebenfalls unter Isofluran Narkose beschrieben (Kim et al. 2010). Dabei bestand ein linearer Zusammenhang zwischen der neuronalen Adaptation und dem Abfall der BOLD Signalintensität (Kim et al. 2010). Der Abfall der BOLD Signalintensität im Verlauf einer Messung bei mehrfacher Präsentation desselben Stimulus wurde auch beim Menschen beobachtet. Dies wurde ebenfalls mit neuronaler Adaptation in Verbindung gebracht (Henson & Rugg 2003; Larsson & Smith 2012; Larsson et al. 2016; Janz et al. 2001). Allerdings scheinen für dieses Phänomen auch die Aufmerksamkeit des Probanden und die Erwartung eines Stimulus eine Rolle zu spielen (Larsson & Smith 2012). Stimulationsprotokolle, die nur eine Frequenz ohne Bursts enthielten, führten zu einer Verminderung der signifikant aktivierten Voxel im Verlauf der Messung. Auch hier spiegelt sich somit der Abfall des Verlaufs der Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel außerhalb des Hippocampus wider.

Nicht nur verschiedene Stimulationsprotokolle können zu unterschiedlicher Adaptation des BOLD Signals führen, wie stark die Adaptation des BOLD Signals auf einen Stimulus ausfällt ist außerdem von der Region abhängig. So adaptieren in der Ratte der auditorische- und der somatosensorische Cortex stärker als der Barrel-Cortex (Aksenov et al. 2016).

Die Ergebnisse der Experimente 1-4 entsprechen den bereits zuvor berichteten Ergebnissen (Riemann et al., 2016), bei denen die GLM (general linear model) Auswertungsmethode und zum Teil andere Tiere verwendet wurden. Bei der hier genutzten VOI (*volume of interest*) Auswertmethode wurden alle Voxel innerhalb des definierten Clusters des rechten dorsalen Hippocampus betrachtet. In der vorhergehenden Studie hingegen wurden nur signifikant aktivierte Voxel für den BOLD Signalverlauf und die maximale BOLD Signalintensität betrachtet. Daher waren die Unterschiede zwischen den beiden Auswertverfahren vor allem für das 1 Hz Protokoll sichtbar, weil durch dieses Stimulationsprotokoll nicht der gesamte rechte dorsale Hippocampus aktiviert wurde.

### 5.1.3 Zusammenhänge zwischen neuronalem Antwortverhalten und resultierender BOLD Antwort

Um mögliche Zusammenhänge zwischen der Aktivität der Granularzellen im *Gyrus dentatus* und der im Hippocampus gemessenen BOLD Antwort zu finden, wurden Korrelationen zwischen der PSA und der maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus berechnet. Hierfür wurden die Mittelwerte der Amplituden über den gesamten *Train* berechnet, um die Stärke der Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität zwischen den verschiedenen Protokollen vergleichen zu können. So konnte die durch verschiedene Stimulationsfrequenzen ausgelöste Spiking-Aktivität zwischen den Stimulationsprotokollen verglichen werden. Wenn BOLD Signalintensität und neuronale Aktivität mit einander in Zusammenhang gebracht werden, wird der Versuch unternommen, Signale mit unterschiedlicher zeitlicher Auflösung miteinander zu korrelieren. Den Mittelwert der Amplituden aller Populationsspikes innerhalb eines *Trains* zu verwenden stellt den Versuch dar, Signale, die über denselben Zeitraum gemessen wurden, als einen Parameter darzustellen. Weil sich ein stabiles Muster im BOLD Verlauf für einen Teil der Stimulationsprotokolle erst ab dem vierten *Train* einstellte, wurden nur die Werte der *Trains* 4-20 für die Korrelationen verwendet. Die Ausgangsaktivitäten der Granularzellen wurden also mit der Stärke des BOLD Signals im rechten dorsalen Hippocampus korreliert. Dabei zeigte sich, dass für die Protokolle, die keine Bursts enthielten eine positive Korrelation bestand, wobei die Ausnahme auch hier wieder das 1 Hz Protokoll darstellte. PSA und BOLD Signalintensität adaptierten über den Verlauf der Messung somit in ähnlicher Weise. Stärkere Korrelationen ergaben sich also bei Stimulationsprotokollen, bei denen jeder Puls einen Populationsspike auslöst. Da bei aufeinanderfolgenden Stimulationstrains das Spiken der Granularzellen in einem ähnlichen Maße abnimmt wie die resultierenden BOLD Antworten, scheint unter diesen Bedingungen der Einfluss von inhibitorischen Interneuronen auf die BOLD Antwort gering zu sein.

Von den Stimulationsprotokollen, die Bursts von hochfrequenten Pulsfolgen enthalten, war die Korrelation zwischen BOLD Antwort und PSA am stärksten für das 5 Hz-4 Pulse Protokoll. Insgesamt führten Bursts von hochfrequenten Pulsen jedoch zu schlechteren Korrelationen als die Protokolle, bei denen bei der Betrachtung der Mittelwerte über die Tiere jeder Puls zu einem Populationsspike führte. Stimulationen mit identischen hochfrequenten Pulsfolgen führte in aufeinander folgenden Stimulationstrains zwar zu einem deutlichen Abfall der PSA aber nicht zu einem gleichartigen Abfall der maximalen BOLD

Signalintensität. Damit folgte die Entwicklung der BOLD Antworten nicht der Spikingaktivität der Granularzellen, sondern eher den gleichbleibenden Pulsfolgen, d.h. der in den Hippocampus eingehenden Aktivität.

Bei Mischung von zwei Stimulationsfrequenzen zeigte sich, dass die Ergebnisse der Korrelationen sehr unterschiedlich ausfielen. Allerdings wurden für die Korrelationen die über alle Tiere gemittelten Werte verwendet. Auf das einzelne Tier bezogen ergab sich eine deutlich geringere gemeinsame Varianz. Dass für die meisten der verwendeten Stimulationsprotokolle kein deutlicher Zusammenhang zwischen PSA und maximaler BOLD Signalintensität besteht, legt nahe, dass nicht ausschließlich die Ausgangs-Aktivität, also das Spiken der Granularzellen, die BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus verursacht. Bereits 1998 konnte am cerebellaren Cortex der Ratte demonstriert werden, dass sich der cerebrale Blutfluss trotz fehlender Spikingaktivität erhöhen kann (Mathiesen et al. 1998). Zu berücksichtigen ist bei der Beurteilung der Korrelationen, dass die BOLD Signalintensität im gesamten dorsalen Hippocampus gemessen wurde, während das neuronale Antwortverhalten nur in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* aufgezeichnet wurde. Somit wird die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus zusätzlich von den anderen Substrukturen des Hippocampus beeinflusst. Es ist aus technischen Gründen jedoch noch nicht möglich, BOLD Signalintensität und neuronale Aktivität an der gleichen Stelle aufzuzeichnen, da die Elektroden eine Abschattung in den MRT Signalen verursachen (Duffy et al. 2015). Bei der Beurteilung der Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität muss ebenfalls beachtet werden, dass nicht nur die Hauptneurone (*principal neurons* im *Gyrus dentatus* die Granularzellen) zur BOLD Signalintensität beitragen. GABAerge Interneurone machen 15-20% der Neurone im Hippocampus aus (Buzsáki et al. 2007). Da Interneurone eine niedrigere Entladungsschwelle und eine höhere Spiking-Frequenz haben als die Hauptneurone, ist der Energie- und Sauerstoffverbrauch der Interneurone höher als der der Granularzellen (Buzsáki et al. 2007). Für eine Beteiligung der Interneurone am BOLD Signal des rechten dorsalen Hippocampus spricht auch, dass die BOLD Signalintensitäten bei den Protokollen mit einem Grundrhythmus von 1 Hz mit steigender Anzahl von Pulsen höher werden. Es werden also mehr Populationsspikes unter anderem durch die Aktivität der inhibitorischen Interneurone unterdrückt, da die Anzahl der Populationsspikes der Anzahl der Bursts, nicht jedoch der Zahl der Pulse pro Burst entspricht. Für eine Beteiligung der Interneurone an der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus spricht zusätzlich die höhere BOLD Signalintensität bei steigender Pulszahl, trotz gleicher Anzahl von Populationsspikes. Eine Studie, die im somatosensorischen Cortex der Ratte durchgeführt

wurde, legt nahe, dass nicht nur die primären Neurone, sondern auch Interneurone zur positiven BOLD Antwort beitragen. Dabei wurden Interneurone, die vasoaktive Substanzen freisetzen, sowohl bei hohen als auch bei niedrigen Stimulationsfrequenzen aktiviert (Enager et al. 2009). Interneurone scheinen damit einen Einfluss auf die BOLD Signalintensität zu haben. Es wird jedoch angenommen, dass der größte Teil der BOLD Antwort durch Glutamat vermittelt wird (Bonvento et al. 2002; Buzsáki et al. 2007). Auch bei Stimulationsprotokollen, die Bursts enthielten ergaben sich nie negative Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. Das könnte daran liegen, dass erregende neuronale Aktivität einen stärkeren Einfluss auf die BOLD Antwort hat als hemmende.

Einige Studien konnten zeigen, dass die Zusammenhänge zwischen neuronaler Aktivität und BOLD Signal nicht unbedingt linear sind (Sheth et al. 2004; Rasmussen et al. 2009; Huneau et al. 2015). Die vom Stimulationsprotokoll abhängigen unterschiedlich guten Korrelationen zwischen PSA und BOLD Signalintensität könnten also zusätzlich dadurch beeinflusst sein, dass bei der neurovaskulären Kopplung nicht nur lineare Prozesse eine Rolle spielen (Hewson-Stoate et al. 2005; Attwell et al. 2010; Logothetis 2008). Um die Prozesse der neurovaskulären Kopplung im *Gyrus dentatus* genauer untersuchen zu können, ist die hier verwandte Methode nicht geeignet. Die Prozesse der neurovaskulären Kopplung werden häufig nahe der Schädeloberfläche untersucht (Scott & Murphy 2012; Martin et al. 2006a). Bei Mäusen konnte die Aktivität der Granularzellen bereits mit Hilfe der zwei-Photonen Bildgebung und einem chronisch implantiertem transkranialen Fenster dargestellt werden (Pilz et al. 2016). Diese Methode bietet die Möglichkeit, die spezifische Rolle der Granularzellaktivität für die Veränderungen in der Hämodynamik zu untersuchen.

#### 5.1.4 Kann von einer gemessenen BOLD Antworten auf das zugrundeliegende neuronale Aktivitätsmuster geschlossen werden?

Wenn enge Korrelationen zwischen der Entwicklung einzelner Formen von neuronaler Aktivitäten, wie z.B. Eingangs- (oder synaptische) oder Ausgangsaktivität (oder Spikingaktivität der Hauptneurone) und resultierender BOLD Antwort existieren, können diese Informationen genutzt werden, um von eine gemessenen BOLD Antwort auf die zugrundeliegenden neuronalen Antworten zu schließen. Dieser Ansatz wird als „Deconvolution“ bezeichnet und ist besonders wichtig, da die BOLD-fMRT häufig benutzt wird um indirekt Aussagen über Änderungen der neuronalen Aktivität des Gehirns zu treffen

(Havlicek et al. 2015; Gitelman et al. 2003; Schulz et al. 2012). Dafür ist es notwendig die neuronale Aktivität und simultan die resultierenden BOLD Antworten zu messen. Mit den gewonnenen Daten können später Modelle erstellt werden, mit denen Vorhersagen über die einem bestimmten BOLD Aktivitätsmuster zugrundeliegende neuronale Aktivität getroffen werden können. Für das Cerebellum der Ratte konnte beispielsweise ein solches Modell erstellt werden, mit dem bei kurzer Stimulationsdauer mit niedrigen Frequenzen (bis 7 Hz) Vorhersagen über den Blutfluss getroffen werden konnten. Dazu wurde zunächst der Blutfluss bei unterschiedlichen Stimulationsfrequenzen gemessen (Havlicek et al. 2015). Für den somatosensorischen Cortex der Ratte wurde bei Stimulation der Pfote ebenfalls ein Modell erstellt, bei dem auch die Adaptation mitberücksichtigt wird. Es konnte dabei gezeigt werden, dass Vorhersagen über die erwarteten BOLD Antworten besser war, wenn die Adaptation mit in das Modell einbezogen wurde (Schulz et al. 2012).

Der in dieser Arbeit gewählte Versuchsansatz bietet die Möglichkeit die Eingangs-Aktivität vorzugeben und gleichzeitig sowohl die neuronale Ausgangs-Aktivität als auch die resultierende BOLD Antwort im dorsalen Hippocampus zu erfassen, was eine Voraussetzung für die Frage nach den Zusammenhängen zwischen BOLD Signal und neuronalem Antwortverhalten ist. Von einer veränderten Signalverarbeitung kann ausgegangen werden, wenn die Ausgangsaktivität (Populationsspikes) bei gleicher Eingangsaktivität verändert ist. Damit hat dieser Versuchsaufbau Vorteile gegenüber der indirekten Stimulation einer Gehirnregion, wie z.B. bei Stimulation der Pfote (Schulz et al. 2012; Sos-Hinojosa et al. 2000), oder der Schnurrhaare (Lu et al. 2016; Sloan et al. 2010) während einer fMRT Messung, da die eingehenden Signale bei Stimulation der Pfote oder der Schnurrhaare auf dem Weg zum somatosensorischen Cortex z.B. im Thalamus prozessiert werden.

Die Ergebnisse aus Experiment 1, in dem die Protokolle 1 Hz, 5 Hz, 10 Hz und 20 Hz verwendet wurden, zeigten, dass eine höhere Stimulationsfrequenz (mehr Pulse, die zu mehr Populationsspikes führen) nicht zu einer unterschiedlichen Höhe der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*, also im naiven Tier führten. Erst ab dem vierten *Train* stellten sich Unterschiede in der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus ein. Bei der hier verwendeten Kombination von BOLD-Messung und Elektrophysiologie wurde schon früher vermutet, dass es in den ersten *Trains* zu einer Art Reorganisation des Systems kommt, bevor sich ein stabiler Zustand einstellt. (Angenstein et al. 2013; Tiede et al. 2012; Helbing 2015). In Experiment 3, in dem die Protokolle, welche die gleiche Anzahl von Pulsen pro *Train* enthielten verglichen wurden (1 Hz-20 Pulse, 10 Hz-2 Pulse, 5 Hz-4 Pulse,

20 Hz), ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Diese Beobachtung spricht ebenfalls dafür, dass der erste *Train* eine Art „Standardantwort“ auslöst, also keine Stimulus-spezifische BOLD Reaktion darstellt (Riemann et al. 2016). Für die meisten der verwendeten Stimulationsprotokolle führte der erste *Train* zur höchsten BOLD Signalintensität innerhalb der Messung. So könnte vermutet werden, dass im ersten *Train* standardmäßig eine maximal mögliche BOLD Antwort ausgelöst wird, was auch als Deckeneffekt beschrieben wird (Haller & Bartsch 2009). Stimulation mit dem 10 Hz und dem 20 Hz Protokoll zeigen jedoch, dass durchaus höhere BOLD Antworten im Verlauf späteren *Trains* möglich sind. Die BOLD Antwort im ersten *Train* scheint jedoch nicht komplett unabhängig vom Stimulationsmuster zu sein. Das zeigen die Ergebnisse aus Experiment 1, bei dem höhere Frequenzen zu höheren BOLD Signalintensitäten führen.

Durch das 1 Hz-5 Pulse Protokoll wurde der rechte dorsale Hippocampus, so wie der rechte entorhinale Cortex aktiviert. Mit steigender Pulszahl erhöhte sich der Bereich signifikant aktivierter Voxel, obwohl alle Stimulationsprotokolle mit einem Grundrhythmus von 1 Hz dieselbe Anzahl von Populationsspikes auslösen. Somit scheint es trotz gleicher Anzahl von Populationsspikes zu einer protokollspezifisch unterschiedlichen Signalverarbeitung innerhalb des Hippocampus zu kommen, die zur Aktivierung weiterer Gehirnregionen führt. Daher kann nicht nur die durch Stimulation des *Tractus perforans* ausgelöste Ausgangs-Aktivität der Granularzellen im *Gyrus dentatus* für das gemessene BOLD Muster verantwortlich sein.

Der *Gyrus dentatus* stellt keine Ausgangsregion des Hippocampus dar, sondern leitet die prozessierten Informationen aus dem entorhinalen Cortex über die Moosfasern an die CA3 weiter (Treves et al. 2008), projiziert aber auch zum entorhinalen Cortex zurück und innerviert vom Hilus den contralateralen *Gyrus dentatus* (Krug et al. 2001; Amaral & Witter 1989; Seroogy et al. 1983; Blackstad 1956). Daher kann aus den durch Stimulation des *Tractus perforans* ausgelösten Populationsspikes im *Gyrus dentatus* nicht direkt darauf geschlossen werden, welche Informationen aus dem Hippocampus an Zielregionen weitergeleitet werden. Zudem projiziert der mediale *Tractus perforans* nicht nur monosynaptisch zum *Gyrus dentatus*, sondern aktiviert außerdem direkt die CA3 Region (Burwell et al. 1995; Chrobak et al. 2000). Obwohl bei der Präparation darauf geachtet wurde, die Reizelektrode im medialen *Tractus perforans* zu positionieren, kann eine Stimulation des lateralen *Tractus perforans* nicht ausgeschlossen werden. Aus der III. Schicht des entorhinalen Cortex projiziert der *Tractus perforans* zur CA1 und zum Subikulum (Amaral & Witter 1989; Doller & Weight 1982). Das BOLD Signal, das im gesamten Gehirn erfasst

werden kann, stellt die einzige Informationsquelle darüber dar, welche zusätzlichen Regionen außerhalb des Hippocampus durch die verschiedenen Stimulationsprotokolle mit aktiviert werden. Wenn in einer Region keine signifikant aktivierten Voxel gemessen wurden, bedeutet dies jedoch nicht unbedingt, dass in der Region keine Veränderungen der neuronalen Aktivität stattfindet (Buzsáki et al. 2007).

Dass eine erhöhte BOLD Signalintensität oder die verstärkte Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel nicht immer mit einer erhöhten PSA einhergeht, wurde bereits gezeigt. Es kann daher angenommen werden, dass nicht die Veränderungen der Spiking Aktivität der Granularzellen sondern eine veränderte Signalverarbeitung im Hippocampus oder in den Zielregionen zu veränderten BOLD Signalen führt (Angenstein et al. 2009; Angenstein 2014).

Da in den Experimenten 1-4 verschiedene Frequenzmuster verwendet wurden, ist es mit den Ergebnissen möglich, erste Rückschlüsse aus der BOLD Antwort auf das Stimulationsprotokoll und damit die neuronale Aktivität der Granularzellen im *Gyrus dentatus* zu ziehen, die in Tabelle 5.1 zusammengefasst sind. Um Rückschlüsse von der BOLD Antwort auf das Stimulationsprotokoll, das diese ausgelöst hat, ziehen zu können, ist es also notwendig, sowohl den Verlauf der maximalen BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus als auch die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel über den Verlauf der Messung zu betrachten. Daher sind Mittelungen über den gesamten Verlauf der Messung ungeeignet, um Aussagen über das Stimulationsprotokoll und den Zusammenhang von BOLD Signalen und neuronaler Aktivität zu treffen.

Allerdings sind die Aussagen zwar für eine Gruppe zutreffend, bezogen auf das einzelne Tier treffen diese Rückschlüsse jedoch nicht unbedingt zu, da innerhalb einer Gruppe eine relativ starke Variabilität der Messergebnisse beobachtet wurde (z.B. bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Siehe Abbildung 4.1.4 und 4.1.2).

Weil ein Teil der Stimulationsprotokolle zunächst eine unspezifische BOLD Antwort, so wie ein unregelmäßiges neuronales Antwortverhalten auslöst, ist es nicht ratsam eine Deconvolution Analyse mit den Daten der ersten *Trains* durchzuführen. Kombinierte Messungen der Calcium Signale im somatosensorischen Cortex der Ratte mit gleichzeitiger BOLD fMRT Messung zeigen, dass Glia Zellen erst nach 4-20 Sekunden verstärkt zum BOLD Signal beitragen (Schulz et al. 2012). Dieser Befund spricht ebenfalls dafür, eine Deconvolution Analyse nicht zu Beginn einer fMRT Messung durchzuführen.

Neben der Stimulationsfrequenz spielt die Reizintensität eine wesentliche Rolle für die BOLD Signalintensität und die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. Dies wurde bei elektrischer

Stimulation des *Tractus perforans* bereits sowohl für Stimulation mit 10 Hz (Canals et al. 2008), als auch für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll (Helbing 2015) gezeigt. Welche Auswirkungen eine Erhöhung der Stimulationsintensität hat, scheint dabei vom Stimulationsprotokoll ab zu hängen. Während die Erhöhung der Stimulationsintensität auf 500  $\mu$ A für das 5 Hz Protokoll nicht zu einem veränderten BOLD Verlauf im rechten dorsalen Hippocampus führt, wurden für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll deutlich höhere Signalintensitäten im Hippocampus gemessen (Helbing 2015). Außerdem wurden bei hohen Stimulationsintensitäten für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll zusätzlich signifikant aktivierte Regionen nachgewiesen (Helbing 2015). Das 5 Hz Protokoll führte bei hohen Reizintensität zu einer signifikanten Aktivierung des rechten und linken Hippocampus sowie der beiden entorhinalen Cortices, und während der mittleren *Trains* zusätzlich zu einer Aktivierung der BLA, was sich jedoch nicht beim Vergleich der maximalen Signalintensitäten der *Trains 3-20* widerspiegelte. Bei Stimulation des Hippocampus wurde mit einem etwas anderen Versuchsaufbau ebenfalls gezeigt, dass die Stimulationsintensität die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel beeinflusst (Van Den Berge et al. 2015). Dass bei direkter elektrischer Stimulation einer Gehirnregion sowohl die Stimulationsfrequenz, als auch die Stimulationsintensität eine Rolle für die BOLD Ausbreitung und die BOLD Signalintensität spielen, wurde auch für den Thalamus gezeigt (Chao et al. 2014). Somit muss, möchte man Rückschlüsse aus BOLD Signal Verlauf und –Ausbreitung auf das Stimulationsprotokoll ziehen, zusätzlich die Reizintensität berücksichtigt werden, mit der der *Tractus perforans* elektrisch stimuliert wurde.

Stimulationstrain	BOLD Antwort	Rückschluss auf das Stimulationsprotokoll
<b>Erster Train (naive Bedingung)</b>	- Begrenzt auf den <i>Gyrus dentatus</i>	→ Grundfrequenz 1 Hz, Anzahl der Pulse/ <i>Train</i> ≤5
	- Gesamte rechte hippocampale Formation mit aktiviert	→ Grundfrequenz > 1 Hz, Anzahl der Pulse/ <i>Train</i> ≥10
<b>Frühe Trains</b>	- Größere BOLD Signalintensität als im ersten Train	→ Grundfrequenz ≥ 10 Hz
	- Geringere BOLD Signalintensität als im ersten <i>Train</i>	→ Grundfrequenz < 10 Hz
<b>Späte Trains</b>	- Starker Abfall der BOLD Intensität im rechten dorsalen Hippocampus und Verminderung der BOLD Signal Ausbreitung	→ Kontinuierliche Stimulation ohne Bursts
	- Geringer Abfall der BOLD Intensität und ähnliche BOLD Signal Ausbreitung	→ Bursts von hochfrequenten Pulsen (Anzahl der Pulse pro Burst 5≥)
<b>Verlauf der gesamten Messung</b>	- Starker Abfall der BOLD Intensität	→ Stimulationsprotokoll, das Nachentladungen nach dem ersten <i>Train</i> hervorruft
	- Relativ stabiler Verlauf der BOLD Signal Intensität	→ Stimulationsprotokoll, das nicht zu Nachentladungen führt

**Tabelle 5.1 | Zusammenfassung der Ergebnisse der Experimente 1-3**

Rückschlüsse, die aus dem gesamten BOLD Signalverlauf im rechten dorsalen Hippocampus und der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel auf das verwendete Stimulationsprotokoll gezogen werden können. Ohne die Betrachtung des Signalverlaufs sind keine Rückschlüsse auf das Stimulationsprotokoll möglich.

## 5.2 Variabilität von neuronalen und fMRT Antworten zwischen aufeinanderfolgenden Messungen

Um mögliche langfristige Auswirkungen vorhergehender elektrischer Stimulationen auf nachfolgende fMRT/Elektrophysiologie Messung zu untersuchen, wurden das 5 Hz Protokoll und das 1 Hz-20 Pulse Protokoll gewählt. Für beide Stimulationsprotokolle konnten bereits in den vorhergehenden Experimenten kurzfristige Effekte innerhalb einer Messung nachgewiesen werden. Diese beiden Stimulationsprotokolle wurden ausgewählt, da sie sowohl zu deutlich unterschiedlichen BOLD Mustern, als auch zu unterschiedlichem neuronalen Antwortverhalten im *Gyrus dentatus* führen. Bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll adaptierten die neuronale Aktivität der Granularzellen und die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus in ähnlichem Maße, sodass sich eine enge Korrelation zwischen BOLD Antwort und neuronalem Antwortverhalten ergab. Die Korrelation zwischen neuronalem Antwortverhalten war für das 1 Hz-20 Pulse Protokoll schlechter, da der Abfall der BOLD Antwort bei Burst Stimulation geringer war. Die Ausbreitung der signifikant aktivierten Voxel war ebenfalls wie beschrieben unterschiedlich zwischen den Stimulationsprotokollen, wobei die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll geringer war und im Verlauf der Messung deutlich abnahm.

Wie die kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 und an Tag 5 ohne Stimulation zwischen den beiden Messzeitpunkten zeigten, hatte die erste Messung keinen Einfluss auf eine zweite Messung an Tag 5. Weder die Amplitude und die Latenz der Populationsspikes, noch die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und die BOLD Signalintensität in den 15 untersuchten Regionen unterschied sich bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse oder dem 5 Hz Protokoll zwischen den beiden Messzeitpunkten. Trotz Veränderungen in der Verarbeitung der verabreichten Stimuli während einer fMRT/Elektrophysiologie Messung, hat eine fMRT/Elektrophysiologie Messung keine längerfristigen Auswirkungen auf eine zweite fMRT/Elektrophysiologie Messung im Abstand von vier Tagen. Änderungen in der neuronalen Verarbeitung der Stimulationsmuster, wie sie innerhalb der Messung beobachtet wurden, bilden sich somit innerhalb von vier Tagen zurück. Das bedeutet, dass sobald ein identisches Stimulationsmuster ein identisches neuronales Antwortverhalten induziert, auch eine identische BOLD Antwort generiert wird.

Elektrische Stimulation des *Tractus perforans* kann zu länger anhaltenden Veränderungen in der neuronalen Verarbeitung eines Stimulus führen (Bliss et al. 1973; Albensi et al. 2007; Hansen & Manahan-Vaughan 2015). Wie bereits mehrfach gezeigt wurde, verändert sich die Verarbeitung eingehender Informationen durch Lernen längerfristig (Matthies et al. 1986; Ramirez & Carrer 1989; Hansen & Manahan-Vaughan 2015). Wenn Ratten eine aktive Vermeidungsaufgabe, bei der auf einen konditionierten Stimulus ein schmerzhafter unkonditionierter Stimulus folgt, erlernt haben, kann also davon ausgegangen werden, dass sich die neuronale Verarbeitung des konditionierten Stimulus verändert hat. Das Erreichen des Lernziels kann damit als Nachweis für eine veränderte Signalverarbeitung gelten. In vorhergehenden Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Ratten die Shuttle-Box Aufgabe, eine aktive Vermeidungsaufgabe, mit elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* als CS erlernen können (Matthies et al. 1986; Reymann et al. 1982). Dabei wurde nachgewiesen, dass verschiedene Frequenzen unterschiedlich gut als CS geeignet sind (Reymann et al. 1982).

In der früheren elektrophysiologischen Studie wurde vermutet, dass bei zwei Trainingstagen nur Stimulationsfrequenzen über 15 Hz als CS verwendet werden konnten (Reymann et al. 1982). Dabei wurden allerdings nur 40 Trainingsdurchgänge pro Tag angesetzt und als nächstniedrige Frequenz ein 1 Hz Stimulationsprotokoll untersucht (Reymann et al. 1982). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen jedoch, dass auch 8 s lange 5 Hz Pulsfolgen als CS geeignet sind. Am Ende des dritten Tages waren etwa 70% der Reaktionen auf die Stimulation des *Tractus perforans* richtig (Sprung über die Hürde), unabhängig davon ob kontinuierliche 5 Hz oder kurze 100 Hz Pulsfolgen als CS genutzt wurden. Zwischen dem zweiten und dem dritten Trainingstag verbesserten sich die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainierten Ratten nicht weiter. Wurde das 5 Hz Protokoll als CS verwendet, führten die Tiere am dritten Trainingstag jedoch mehr korrekte Sprünge aus als am zweiten Trainingstag. Erst am Ende des zweiten Tages war die Anzahl der korrekt ausgeführten Sprünge zwischen den beiden Gruppen nicht mehr signifikant unterschiedlich. Bei niedrigeren Frequenzen scheint es somit länger zu dauern, bis die Ratten die Aufgabe erlernen. Dabei erinnerten sich die Tiere in der 5 Hz Gruppe vom ersten bis zum zweiten Tag und vom zweiten bis zum dritten Tag schlechter an die Aufgabe, als die Ratten, bei denen das 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS verwendet wurde. Dies zeigte sich darin, dass die Tiere zu Beginn des nächsten Trainingstags mit weniger korrekt ausgeführten Versuchsdurchgängen begannen, als sie zum Ende des vorhergehenden Trainingstags absolviert hatten. Im Gegensatz dazu waren bei Frequenzen von 15 Hz und 40 Versuchsdurchgängen (Reymann et al. 1982) sowie bei 1 Hz-20 Pulse und

60 Versuchsdurchgängen (Angenstein et al 2013) pro Tag die Anzahl der richtig ausgeführten Versuchsdurchgänge zu Beginn des zweiten Tags nicht geringer als am Ende des ersten Tages. Somit können sich Ratten nur bei niedrigen Stimulationsfrequenzen am folgenden Tag schlechter an die Verhaltensaufgabe erinnern.

Die hippocampale Signalverarbeitung während der Shuttle-Box Versuche wurde nicht untersucht, da während des Trainings keine stabilen elektrophysiologischen Ableitungen aufgezeichnet werden konnten. Allerdings werden hochfrequente Stimulationen des *Tractus perforans* für LTP Versuche genutzt, um die neuronalen Grundlagen des Lernens zu untersuchen (Albensi et al. 2007; Altinbilek & Manahan-Vaughan 2009; Hansen & Manahan-Vaughan 2015; Bliss et al. 1973) während Stimulation mit niedrigen Frequenzen mit schlechterem Lernen und Unterdrückung von LTP in Verbindung gebracht wird (Straube & Frey 2003; Reymann et al. 1982; Christie & Abraham 1992; Anon 1976). Wie schon in der elektrophysiologischen Studie beschrieben, sprangen die Tiere häufig zwischen den Trainingsdurchgängen hin und her. Im Gegensatz zu der früheren Studie, in der die Tiere bei höheren Frequenzen häufiger hin- und her sprangen (Reymann et al. 1982) konnten allerdings keine von der Trainingsfrequenz abhängigen Unterschiede zwischen den Gruppen beobachtet werden. Daher ist es unwahrscheinlich, dass ein unterschiedlich häufiges Springen zwischen den Trainingsdurchgängen zu den Unterschieden im Lernverhalten führte. Dass die beiden Frequenzmuster unterschiedlich gut wahrgenommen werden können erscheint ebenfalls nicht wahrscheinlich, da es zwischen den beiden Trainingsgruppen keine Unterschiede in den Zeiten von Beginn der Stimulation bis zum Sprung gab. Dazu, ob elektrische Stimulation des Gehirns zu Verbesserung oder Verschlechterungen von Lernen führt, existieren unterschiedliche Ergebnisse (Jacobs et al. 2016; Akers & Hamilton 2014; Lee et al. 2013). Allerdings lassen sich die Ergebnisse aus Studien, bei denen die elektrische Stimulation zur Verbesserung der Gedächtnisleistung untersucht werden, nicht direkt auf den hier verwendeten Versuchsansatz übertragen, weil die Stimulation in dieser Arbeit nicht genutzt wurde um das Lernverhalten zu verbessern, sondern als konditionierter Stimulus eingesetzt wurde.

Nach zwei Wochen (an Tag 15) gab es zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede mehr in der Anzahl korrekt ausgeführter Sprünge. Es kann somit vermutet werden, dass die Shuttle-Box Aufgabe für Ratten nach dem Erlernen noch über einen längeren Zeitraum abrufbar ist. Damit wurden die Ergebnisse früherer Studien (Reymann et al. 1982; Matthies et al. 1986) bestätigt. Dass es zwischen den beiden Gruppen an Tag 15

keine Unterschiede mehr in der Reaktion auf die elektrische Stimulation gab zeigt, dass drei Trainingstage auch bei Verwendung des 5 Hz Protokolls als CS ausreichen, damit Ratten eine dauerhafte Assoziation zwischen den beiden Stimuli (elektrischer Reiz-Fussschock) bilden können.

Da beide Gruppen die aktive Vermeidungsaufgabe erlernt haben, kann davon ausgegangen werden, dass die für die Ratten ursprünglich bedeutungslose Stimulation des *Tractus perforans* nach dem Shuttle-Box Training anders verarbeitet wurde. Daraus ergab sich die Frage ob diese in den Verhaltensexperimenten nachgewiesene veränderte Signalverarbeitung auch in der BOLD-fMRT nachweisbar ist.

Die Verhaltensdaten, die zwei Wochen nach dem Shuttle-Box Training erfasst wurden, zeigen, dass sich beide Shuttle-Box Gruppen die Verhaltensaufgabe merken konnten. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die aktive Vermeidungsaufgabe im Langzeitgedächtnis gespeichert wurde. Den Prozess, bei dem Gedächtnisinhalte längerfristig gespeichert werden nennt man auch systemische Konsolidierung. Dabei wird angenommen, dass es zu einer Reorganisation des neuronalen Netzwerks kommt. Die Verbindung zu neocorticalen Regionen wird bei der systemischen Konsolidierung verstärkt (Nader et al. 2000; Takehara-Nishiuchi 2014). Daher könnte vermutet werden, dass eine Stimulation des *Tractus perforans* mit demselben Stimulationsprotokoll an Tag 14 zu einer veränderten BOLD Antwort im Vergleich zu Tag 1 und Tag 5 führt.

Da die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* während der Shuttle-Box Versuche als CS verwendet wurde, ist dieser Versuchsansatz nicht ausreichend, um aktivitätsabhängige Veränderungen in den BOLD Antworten und dem neuronalen Antwortverhalten der Granularzellen, die durch die häufige Stimulation ausgelöst wurden von verhaltensabhängigen Veränderungen zu unterscheiden. Um aktivitätsabhängige von lernabhängigen Veränderungen in der neuronalen Signalverarbeitung unterscheiden zu können, wurden die selben Stimulationsmuster, die bei den Tieren in der Shuttle-Box (Trainingsgruppen) verwendet wurde, ohne verhaltensrelevante Bedeutung verabreicht (Stimulationsgruppen). Dazu wurden die Tiere, die den Stimulationsgruppen zugeordnet wurden, in eine Freilaufbox gesetzt. Die Ratten konnten somit höchstens eine Assoziation zum Aufenthalt in dieser Umgebung bilden, da die elektrische Stimulation ohne verhaltensrelevanten Kontext präsentiert wurde.

### 5.2.1 Veränderungen im BOLD und in der Elektrophysiologie bei Stimulation des *Tractus perforans* mit kurzen hochfrequente Pulsfolgen

Einen Tag nach dem Erlernen der aktiven Vermeidungsreaktion (am Tag 5) war während der fMRT/Elektrophysiologie Messung ein verändertes neuronales Antwortverhalten im *Gyrus dentatus* im Vergleich zur initialen fMRT/Elektrophysiologie Messung zu beobachten. Im Gegensatz zu einigen früheren Studien (Angenstein et al. 2013; Matthies et al. 1986; Berger 1983) wurde in der aktuellen Studie eine verminderte PSA beobachtet. Aufgrund der vergleichbaren Verminderung der PSA bei Verwendung des 1 Hz-20 Pulse Protokolls in der Stimulationsgruppe deutet dies auf einen aktivitätsabhängigen Prozess hin. Dass sich die PSA bei Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll sowohl bei Verwendung als CS als auch ohne verhaltensrelevante Bedeutung in die gleiche Richtung entwickelt (Angenstein et al. 2013), spricht ebenfalls für einen aktivitätsabhängigen Prozess. Die Beobachtungen während des Verhaltenstrainings zeigten, dass auch Tiere, bei denen während des Trainings in der Shuttle-Box kein Populationsspike mehr messbar war, die Verhaltensaufgabe bewältigen konnten. Am Ende des Trainings war bei einigen Tieren, die die Verhaltensaufgabe gelernt hatten, in der früheren Studie ebenfalls kein Populationsspike mehr messbar (Matthies et al. 1986). Die Potenzierung der Populationsspikes ist somit keine Voraussetzung für die korrekte Verhaltensreaktion.

Selbst neun Tage nach dem letzten Training blieb die PSA im Vergleich zur initialen fMRT/Elektrophysiologie Messung und im Vergleich zur fMRT/Elektrophysiologie Messung nach dem Verhaltenstraining vermindert, obwohl die Ratten immer noch in der Lage waren die Verhaltensaufgabe korrekt zu lösen. Daraus ergibt sich, dass die Amplitude der Populationsspikes während der fMRT/Elektrophysiologie Messung keine Rückschlüsse auf das Erinnerungsvermögen der Tiere zulässt. Bei dieser Verminderung der PSA handelt es sich jedoch nicht um eine klassische LTD, da die Latenzen unverändert blieben. Im Gegensatz zur Trainingsgruppe veränderten sich die Amplituden in der 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe nicht signifikant zwischen den letzten beiden Messzeitpunkten (Tag 5-Tag 14). Längerfristig führt die Verwendung des 1 Hz-20 Pulse Protokolls als CS somit zu einer stärkeren Verminderung des neuronalen Antwortverhaltens als Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne verhaltensrelevante Bedeutung.

Die während der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 1 durch das 1 Hz-20 Pulse Protokoll ausgelösten BOLD Antworten entsprachen sowohl in der Shuttle-Box Gruppe, als

auch in der Stimulationsgruppe dem im ersten Abschnitt beschriebenen Muster (signifikant aktivierte Voxel im rechten Hippocampus und beiden entorhinalen Cortices, geringer Abfall der BOLD Signalintensität und –Ausbreitung im Verlauf der Messung). Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll an drei aufeinanderfolgenden Tagen führte unabhängig von der Bedeutung, die die Stimulation für die Ratten hatte, zu einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. In der Stimulationsgruppe wurden dabei an Tag 5 jedoch eine stärkere Ausbreitung der BOLD Aktivität beobachtet.

Bei der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 5 wurden Zielregionen des rechten Hippocampus wie das Septum, die BLA, der mPFC und der rechte NAcc zusätzlich zum rechten Hippocampus und den beiden entorhinalen Cortices aktiviert. Dasselbe Stimulationsmuster führte somit zu einer veränderten BOLD Antwort, sodass geschlussfolgert werden kann, dass die eingehende Information in den neuronalen Netzwerken anders verarbeitet wird als bei naiven Tieren. Dass das gleiche Stimulationsmuster, abhängig von der Verarbeitung der Stimuli, zu unterschiedlichen BOLD Antworten führen kann, wurde bereits mehrfach gezeigt (Angenstein et al. 2010; Angenstein et al. 2009; Canals et al. 2009). Für die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, ist nicht die Bedeutung der Stimulation entscheidend, da dies bei beiden Gruppen, die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden, beobachtet wurde. Eine Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel nach Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll an drei auf einanderfolgenden Tagen wurde für 15 *Trains* bereits in der vorhergehenden fMRT/Elektrophysiologie Studie in Kombination mit dem Shuttle-Box Test beobachtet (Angenstein et al. 2013). Die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel als Reaktion auf dasselbe Stimulationsprotokoll könnte unterschiedliche Ursachen haben. Mögliche Erklärungen wären erstens: die Verarbeitung des Stimulus im Hippocampus führt zu einer effektiveren Weiterleitung der Signale, zweitens: die Verarbeitung in den Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus ist verändert/verstärkt, drittens: Veränderungen in der neurovaskulären Kopplung oder der Vaskularisierung führen zu stärkeren BOLD Antworten auf den Stimulus, viertens: eine Kombination aus den vorher genannten Mechanismen führt zu den beobachteten BOLD Antworten.

In der vorangegangenen Studie wurden Unterschiede in der BOLD Signalintensität im Hippocampus gemessen, sodass vermutet wurde, dass eine veränderte Verarbeitung der eingehenden Signale zu einer verstärkten Weiterleitung und einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel führt. Es wurde jedoch auch vermutet, dass die erhöhte BOLD Signalintensität in den zusätzlich aktivierten Regionen auf eine veränderte Verarbeitung der wiederholten Stimulation in den Zielregionen des rechten Hippocampus hindeutet

(Angenstein et al. 2013). In der vorliegenden Studie, konnte im rechten Hippocampus eine höhere BOLD Signalintensität in der mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS stimulierten Untergruppe aus 8 Tieren festgestellt werden. Dieser Unterschied konnte allerdings nicht im rechten dorsalen Hippocampus nachgewiesen werden, sodass geschlussfolgert werden kann, dass eine höhere BOLD Signalintensität im ventralen Hippocampus zu diesem Ergebnis führt. Im Gegensatz dazu wurde bei der Stimulationsgruppe, die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurde, weder für den ersten *Train* noch für die Mittelwerte der *Trains 3-20*, Unterschiede in der BOLD Signalintensität im rechten Hippocampus beobachtet. Die Unterschiede zwischen den beiden Shuttle-Box Studien könnten an der unterschiedlichen Art der Auswertung liegen. Während für die vorliegende Studie eine VOI Auswertung verwendet wurden, bei der alle Voxel innerhalb einer Region berücksichtigt werden, handelte es sich bei der früheren Studie um eine GLM Auswertung, bei der nur die signifikant aktivierten Voxel mit in die Auswertung einbezogen wurden. Eine Untergliederung des Hippocampus in den dorsalen Teil wurde in der früheren Studie ebenfalls nicht vorgenommen. In der früheren Studie ergaben sich im rechten Hippocampus für die *Trains 4-9* signifikant höhere Werte. Die *Trains 10-15* waren jedoch nicht unterschiedlich beim Vergleich der Messung vor dem Shuttle-Box Training zur Messung nach dem Shuttle-Box Training (Angenstein et al. 2013). In der vorliegenden Arbeit handelt es sich um Mittelwerte der *Trains 3-20*, sodass höhere Standardabweichungen zu erwarten waren, die es erschweren kleinere Effekte darzustellen. Allerdings sollte dies dadurch ausgeglichen werden, dass im rechten dorsalen Hippocampus zusätzlich der Signalabfall berechnet wurde. Dieser zeigte für die beiden Gruppen, die an Tag 2-Tag 4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden, keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. In einer fMRT/Elektrophysiologie Studie, bei der die Auswirkungen einer LTP nach Stimulation des *Tractus perforans* untersucht wurden, konnten bei einem Teil der Tiere signifikant aktivierte Voxel außerhalb der hippocampalen Formation festgestellt werden, sodass vermutet wurde, dass eine veränderte Verarbeitung der Stimuli zu einer Ausbreitung der BOLD Aktivität führt (Canals et al. 2009). Somit deuten verschiedene Studien, sowie das veränderte neuronale Antwortverhalten der Granularzellen darauf hin, dass es die veränderte Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel nach wiederholter hochfrequenter Stimulation mit einer veränderten Signalverarbeitung im Hippocampus zusammenhängt.

Wenn ausschließlich eine veränderte Verarbeitung der eingehenden Signale in den Zielregionen zu der verstärkten Ausbreitung der signifikant aktivierten Voxel führen würde, so wäre bei gleicher BOLD Signalintensität im rechten Hippocampus die BOLD Signalintensität in den Zielregionen erhöht. Eine unveränderte BOLD Signalintensität in den

*Trains 3-20* in einer Region bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass der BOLD Signalintensität die gleiche neuronale Aktivität zugrunde liegt. Die veränderte neuronale Aktivität der Granularzellen nach dem Shuttle-Box Training/nach den Stimulationen an Tag 2-4 deutet darauf hin, dass eine veränderte Signalverarbeitung im rechten dorsalen Hippocampus zur Ausbreitung der BOLD Antwort beiträgt.

Eine mögliche Veränderung der neurovaskulären Kopplung in den zusätzlich aktivierten Regionen bei der zweiten fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ist mit der hier verwendeten Methode nicht messbar. Dass es nach hochfrequenter elektrischer Stimulation zu Veränderungen in der Vaskularisierung kommt, wurde jedoch bereits mit Hilfe von MRT Messungen an Mäusen bewiesen, wobei die Stimulation dabei für sechs Stunden an fünf auf einanderfolgenden Tagen durchgeführt wurde (Chakravarty et al. 2016). Mikroskopische Untersuchungen im Hippocampus der Ratte zeigten, dass es nach Bursts hochfrequenter elektrischer Stimulation zu strukturellen Veränderungen kommt (Lee et al. 1980). Schon eine Stunde hochfrequenter Stimulation des Fornix kann zu Veränderungen in der Proteinexpression im Hippocampus führen. Bei den vermehrt exprimierten Proteinen handelte es sich um trophische Faktoren, wie BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), der das Überleben von Nervenzellen unterstützt und VEGF (*vascular endothelial growth factor*), der für die Teilung von Endothelzellen wichtig ist (Gondard et al. 2015). Stimulation des entorhinalen Cortex führt ebenfalls zu Veränderungen in der Proteinexpression im Hippocampus (Hescham et al. 2015; Stone et al. 2011). Elektrische Stimulation einer Hirnregion beeinflusst nicht nur das neuronale Antwortverhalten, sondern führt auch zu Veränderungen in Gliazellen (McIntyre & Anderson 2016; Fenoy et al. 2014). Am wahrscheinlichsten erscheint es daher, dass die beobachteten Ergebnisse auf eine Kombination aus den beschriebenen möglichen Erklärungen zurückzuführen sind.

In der mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainierten Shuttle-Box Gruppe kam es nach dem Verhaltenstraining zu signifikant höheren BOLD Signalintensitäten in der BLA, dem mPFC und im rechten entorhinalen Cortex. Der entorhinale Cortex erhält Rückprojektionen vom Hippocampus (Marcu et al. 2015; Neves et al. 2012; Chrobak et al. 2000). Damit ergibt sich neben den bereits beschriebenen Ursachen für eine höhere BOLD Antwort eine zusätzliche mögliche Erklärung. Der entorhinale Cortex projiziert zum medialen präfrontalen Cortex (Takehara-Nishiuchi 2014; White & McDonald 2002; Chrobak et al. 2000), so dass mit den vorhandenen Daten nicht geklärt werden kann, ob die BOLD Aktivität im präfrontalen Cortex durch verstärkte Weiterleitung vom Hippocampus oder vom entorhinalen Cortex entstanden.

Auch die Amygdala (Finch et al. 1986) und das Striatum werden vom entorhinalen Cortex innerviert (White & McDonald 2002; Totterdell & Meredith 1997), sodass hier ebenfalls nicht eindeutig festgestellt werden kann, ob die höheren Signalintensitäten in den beiden Regionen durch eine verstärkte Aktivierung des entorhinalen Cortex oder des Hippocampus erfolgt.

Die BOLD Signalintensität im rechten entorhinalen Cortex in der 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe war nach der Stimulation des *Tractus perforans* an drei aufeinander folgenden Tagen, im Gegensatz zur 1 Hz-20 Pulse Shuttle-Box Gruppe, nicht signifikant unterschiedlich im Vergleich zur fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 1. Die BOLD Signalintensität war trotz der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in diesen Regionen weder in der BLA, noch im mPFC signifikant höher als vor der Stimulation an den drei aufeinander folgenden Tagen. Dass die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel nicht immer mit signifikanten Änderungen in der BOLD Signalintensität einhergeht, wurde bereits in der früheren Shuttle-Box Studie beschrieben (Angenstein et al. 2013). Der Verlauf der BOLD Signalintensität wurde in diesen Regionen im Gegensatz zur früheren Shuttle-Box Studie nicht weiter untersucht, da die 3D Abbildungen einen stabilen Verlauf nahelegten.

Es zeigte sich in beiden Gruppen, die an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert wurden, dass die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in den an Tag 5 gemessenen Zielregionen des rechten Hippocampus bestehen blieb. Auch nach neun Tagen Ruhephase ohne weitere Stimulation des *Tractus perforans* blieben die Aktivierungsmuster somit ähnlich wie direkt nach dem Verhaltenstraining/der Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll. Damit ist die Verminderung der neuronalen Aktivität, die in der Trainingsgruppe beobachtet wurde, nicht in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel sichtbar. In der Gruppe, die an Tag 2-4 mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS trainiert wurde, verminderte sich die BOLD Signalintensität von Tag 5 zu Tag 14 in der BLA und dem rechten EC. In allen anderen Regionen wurden keine Unterschiede in der BOLD Signalintensität zwischen den letzten beiden Messzeitpunkten festgestellt. In der Stimulationsgruppe wurde in der BLA, dem linken EC, dem linken Hippocampus und dem VDB höhere BOLD Signalintensitäten in den *Trains* 3-20 gemessen. Während sich die BOLD Signalintensitäten in den zusätzlich signifikant aktivierten Regionen in der Shuttle-Box Gruppe vor allem zwischen der ersten und der zweiten fMRT/Elektrophysiologie Messung erhöhten, wurde in der 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe, also in einigen Regionen eine zusätzliche Erhöhung der BOLD Signalintensität, von Tag 5 zu Tag 14 festgestellt. Damit scheint es während der neuntägigen

Ruhephase zu unterschiedlichen Veränderungen in den neuronalen Netzwerken zu kommen, die von der Bedeutung abhängig sind, die die Stimulationen für die Tiere hatten.

Obwohl sowohl die Verwendung des 1 Hz-20 Pulse Protokolls als CS als auch die Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne verhaltensrelevante Bedeutung zu einer Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in Zielregionen des Hippocampus führte, ergaben sich zwischen den beiden Gruppen Unterschiede in den Veränderungen der BOLD Signalintensitäten. Damit kann eine Ausbreitung der BOLD Antwort in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus als unabhängig von der verhaltensrelevanten Bedeutung der Stimulation betrachtet werden, während die Veränderungen in den BOLD Signalintensitäten von der Bedeutung, die die Stimulation für die Tiere hat, beeinflusst wird.

Um zu überprüfen, ob die beschriebenen Veränderungen in den BOLD Antworten in der Stimulationsgruppe auch bei Stimulation des *Tractus perforans* mit einem anderen Protokoll sichtbar sind, wurde das 5 Hz-4 Pulse Protokoll für eine weitere fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 16 gewählt. Zum einen enthält dieses Stimulationsprotokoll die gleiche Anzahl an Pulsen/*Train*, zum anderen wurden im naiven Zustand deutlich unterschiedliche BOLD Antworten im Vergleich zur Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll gemessen. Das 5 Hz Protokoll schien weniger geeignet um Unterschiede in der Verarbeitung der eingehenden Stimuli zu untersuchen, da auch nach Stimulation an drei aufeinander folgenden Tagen weniger deutliche Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten zu beobachten waren. Auch Stimulation mit höherer Intensität (500  $\mu$ A) führte zu keiner deutlich unterschiedlichen BOLD Signalintensität im Vergleich zur Stimulation mit normaler Intensität (200-300  $\mu$ A).

Es zeigte sich, dass die Veränderungen, die durch vorhergehende Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ausgelöst wurden, mit einem anderen Stimulationsprotokoll, das kurze hochfrequente Pulsmuster enthält ebenfalls sichtbar sind. Die Veränderungen in der Verarbeitung des 5 Hz-4 Pulse Protokolls zeigten sich dabei ebenfalls in einer stärkeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, die mit höheren BOLD Signalintensitäten in Zielregionen des rechten Hippocampus einherging. Im rechten dorsalen Hippocampus war die BOLD Signalintensität sowohl nach Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll an Tag 2-4, als auch nach einer fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll im Vergleich zu naiven Tieren erhöht. Vorhergehende Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll führt somit in der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll zu einer höheren BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. Je höher die BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus während der

fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll war, desto mehr Regionen wurden signifikant aktiviert. In diesem Versuch kam es somit im Gegensatz zu allen Versuchen, bei denen der *Tractus perforans* wiederholt mit dem selben Pulsmuster stimuliert wurde, zu einer Erhöhung der BOLD Signalintensität. Daher kann vermutet werden, dass durch wiederholte Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zu Veränderungen im Hippocampus kam, die zu der veränderten Verarbeitung des 5 Hz-4 Pulse Musters führten und es nicht ausschließlich zu Veränderungen in den Zielregionen des Hippocampus, in denen die BOLD Signalintensität erhöht war kam.

### 5.2.2 Veränderungen im BOLD und in der Elektrophysiologie bei Stimulation des *Tractus perforans* mit kurzen kontinuierliche 5 Hz Pulsfolgen

Die Ergebnisse der Verhaltens-/Stimulationsexperimente mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll zeigten, dass bei wiederholter Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll lernabhängige Veränderungen stark durch stimulusabhängige Veränderungen der BOLD Antwort überlagert werden. Daher wurde das 5 Hz Protokoll verwendet, bei dem es im Vergleich zum 1 Hz-20 Pulse Protokoll zu einer geringeren Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel und einem schnelleren Abfall der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus kam. Die Ergebnisse des Shuttle-Box Trainings belegten, dass auch das 5 Hz Protokoll geeignet ist, um bei Stimulation des *Tractus perforans* als CS verwendet zu werden. Obwohl eine Stimulation des *Tractus perforans* mit niedrigen Frequenzen, neben der Unterdrückung der LTP, mit Kurzzeitdepression (Klausnitzer et al. 2004; Manahan-vaughan 1998) und LTD (Fung et al. 2011; Blaise & Bronzino 2003; Bear & Abraham 1989) in Verbindung gebracht wird. Daher wurde vermutet, dass CS lernabhängige Veränderungen mit dem 5 Hz Protokoll in den fMRT/Elektrophysiologie Messungen besser sichtbar sind.

Die Amplituden der Populationsspikes verringerten sich in der 5 Hz Shuttle-Box Gruppe deutlich von der fMRT/Elektrophysiologie Messungen an Tag 1 zur fMRT/Elektrophysiologie Messung nach dem Verhaltenstraining an Tag 5. Gleichzeitig sanken die Latenzen von der ersten Messung zur Messung nach dem Verhaltenstraining mit dem 5 Hz Protokoll als CS. Damit handelt es sich nicht um eine klassische LTD, bei der sowohl die Amplitude verringert als auch die Latenz erhöht wäre. In der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für eine Stunde/Tag mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde, ergeben sich hingegen keine signifikanten Veränderungen in der Amplitude und der Latenz der

Populationsspikes. Die Verwendung der Stimulation des *Tractus perforans* als CS in der Shuttle-Box Aufgabe führte damit unabhängig vom Stimulationsprotokoll zu einer geringeren PSA nach dem Verhaltenstraining, da bei Verwendung des 1 Hz-20 Pulse Protokolls ebenfalls eine Verringerung der PSA nach dem Verhaltenstraining festgestellt wurde. .

Im naiven Tier führte die Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 5 Hz Protokoll während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen zu signifikanter Aktivierung des rechten und des linken Hippocampus, sowie des rechten entorhinalen Cortexes. Elektrophysiologisch konnte gezeigt werden, dass bei Stimulation des Hippocampus mit niedrigeren Frequenzen der linke Hippocampus mit aktiviert wurde, was bei hohen Frequenzen nicht der Fall war (Da Silva et al. 2013; Krug et al. 2001). Damit decken sich die fMRT Daten mit den elektrophysiologischen Befunden dieser Studie.

Der Vergleich der 5 Hz Stimulationsgruppe mit der Trainingsgruppe, bei der das Stimulationsprotokoll als CS in der Shuttle-Box eine verhaltensrelevante Bedeutung erlangte, zeigte am Tag nach dem Verhaltenstraining/der Stimulation Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. In der Trainingsgruppe wurde im linken Hippocampus nach dem Erlernen der aktiven Vermeidungsaufgabe eine Verminderung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel beobachtet. Während bei naiven Tieren der linke Hippocampus in den ersten *Trains* signifikant aktiver wurde, wurde nach dem Shuttle-Box Training keine signifikante BOLD Aktivität mehr gemessen. In der 5 Hz Stimulationsgruppe hingegen ergab sich an Tag 5 eine Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, die vor allem in den *Trains* 9-14 deutlich wurde. Damit führte die verhaltensrelevante Bedeutung bei Verwendung des 5 Hz Protokolls zu gegensätzlichen Effekten in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel im linken Hippocampus im Vergleich zur 5 Hz Stimulationsgruppe. Ob die Weiterleitung neuronaler Aktivität zum linken Hippocampus durch das Shuttle-Box Training vermindert wurde, lässt sich ohne eine zusätzliche Elektrode im linken Hippocampus nicht eindeutig klären. Die im Vergleich zur ersten fMRT/Elektrophysiologie Messung verringerte neuronale Aktivität der Granularzellen könnte jedoch als ein Hinweis darauf gedeutet werden.

Die Veränderungen in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel nach dem Verhaltenstraining spiegelten sich jedoch nicht signifikant in unterschiedlichen BOLD Signalintensitäten zwischen den Messzeitpunkten wider. Damit sind Unterschiede zwischen der verhaltensrelevanten Bedeutung und der für die Tiere bedeutungslosen Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 5 Hz Protokoll an drei auf einander folgenden Tagen zwar in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, nicht jedoch in den BOLD Signalintensitäten sichtbar. Auch für das 5 Hz Protokoll zeigte sich damit, dass eine veränderte Ausbreitung

signifikant aktivierter Voxel nicht unbedingt mit signifikanten Veränderungen der BOLD Signalintensitäten einhergeht.

An Tag 14 wurde in der Shuttle-Box Gruppe, die mit dem 5 Hz Protokoll als CS trainiert wurde, eine Erholung der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel beobachtet. Der linke Hippocampus, der direkt nach dem Verhaltenstraining nicht mit aktiviert wurde, wurde wie in der Messung an naiven Tieren an Tag 1 signifikant aktiviert. Im Gegensatz dazu, war die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel in der 5 Hz Stimulationsgruppe im Vergleich zur fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 5 leicht vermindert., Damit kann nach vorhergehender Stimulation des *Tractus perforans* mit dem 5 Hz Protokoll aus dem neuronalen Antwortverhalten der Granularzellen nicht auf die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel geschlossen werden, da es weder in der Stimulationsgruppe, noch in der mit dem 5 Hz Protokoll als CS trainierten Gruppe Unterschiede im neuronalen Antwortverhalten zwischen den letzten beiden Messzeitpunkten gab

Während die Auswirkungen von hochfrequenter elektrischer Stimulation einer Gehirnregion zu therapeutischen Zwecken eingesetzt und daher häufiger untersucht werden, gibt es weniger Studien, die die kurz- und langfristigen Auswirkungen von niederfrequenter Stimulation auf neuronale Netzwerke untersuchen (La Corte et al. 2014). Die Stimulation der hippocampalen Formation mit niedrigen Stimulationsfrequenzen wurde bisher vor allem im Zusammenhang mit Epilepsie untersucht. Dabei wurde gezeigt, dass die elektrische Stimulation mit niedrigen Frequenzen epileptische Netzwerkaktivitäten im Hippocampus verändert (Wyckhuys, Raedt, et al. 2010; Lim et al. 2016; D’Arcangelo et al. 2005).

Um die Auswirkungen vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll auf die Signalverarbeitung genauer zu untersuchen, wurde der *Tractus perforans* der Tiere der 5 Hz Stimulationsgruppe an Tag 16 in einer weiteren fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll stimuliert.

Betrachtet man die gesamte fMRT/Elektrophysiologie Messung, so scheint die vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll die Verarbeitung der Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll nicht zu verändern. Allerdings zeigt die 3D Darstellung der signifikant aktivierten Regionen bei Unterteilung der fMRT/Elektrophysiologie Messung in die drei Blöcke (*Train 3-8*, *Train 9-14*, *Train 15-20*) Unterschiede zwischen den Gruppen. Während bei naiven Tieren in der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll nur der rechte Hippocampus und der rechte- und linke entorhinale Cortex aktiviert wurden, konnten nach vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll zusätzliche Regionen wie das VDB,

der mPFC und der NAcc aktiviert werden. Die vorhergehende Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll scheint somit zu Veränderungen in der Verarbeitung der eingehenden hochfrequenten Stimulationsmuster zu führen. Diese Veränderungen sind jedoch nur in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel, nicht jedoch in den BOLD Signalintensitäten sichtbar, sodass nur aus der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel Rückschlüsse auf die zuvor erfolgte Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll möglich sind. Es zeigte sich damit auch in diesen Experimenten, dass es notwendig ist den Verlauf einer fMRT/Elektrophysiologie Messung zu berücksichtigen und bei Mittelungen über die gesamte Messung Informationen über die Verbreitung eines Stimulationsmusters verloren gehen können.

### 5.2.3 Bedeutung des Hippocampus und weiterer Gehirnregionen beim aktiven Vermeidungslernen

Dazu, ob der Hippocampus grundsätzlich beim aktiven Vermeidungslernen eine entscheidende Rolle spielt, existieren unterschiedliche Ergebnisse (Quillfeldt 2006; Wang et al. 2014; Wang et al. 2015; Cominski et al. 2014). Bilaterale Schädigung des *Tractus perforans* führt jedoch zu Problemen bei der Bewältigung von aktiven Vermeidungsaufgaben (Myhrer 1975). Der *Tractus perforans* scheint demnach unabhängig davon, ob elektrische Stimulation des *Tractus perforans* oder Töne als konditionierter Stimulus verwendet werden für die Bewältigung der Shuttle-Box Aufgabe von entscheidender Bedeutung zu sein. Es wurde nachgewiesen, dass die basolaterale Amygdala (Gore et al. 2015; Hermans et al. 2014; Choi et al. 2010), der Nucleus accumbens (Ramirez et al. 2015; Boschen et al. 2011) und der präfrontale Cortex (Moscarello & LeDoux 2013) beim Erlernen von aktiven Vermeidungsaufgaben eine wichtige Rolle spielen. In der Amygdala, dem Nucleus accumbens und dem präfrontalen Cortex (Gore et al. 2015; Kitamura et al. 2017; Fagale et al. 2017; Kolb & Gibb 2015; Kähne et al. 2012; Saunders & Janak 2014) kommt es zu lernabhängigen Veränderungen. Wenn mit der hier verwendeten Methode vor allem lernabhängige Veränderungen der Verarbeitung des Stimulus dargestellt würden, so müsste man unabhängig vom Stimulationsprotokoll eine Aktivierung der BLA, des NAcc und des mPFC in der fMRT/Elektrophysiologie Messung an Tag 5 (nach dem Verhaltenstraining) erwarten, da beide Gruppen dieselbe Aufgabe erlernten. Dennoch wurden in den Regionen nach dem Shuttle-Box Training an drei auf einander folgenden Tagen keine signifikant aktivierten Voxel nachgewiesen. Die BOLD Signalintensitäten in diesen Regionen zeigten

ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messungen vor- und nach dem Shuttle-Box Training. Dass weder das Erlernen der Shuttle-Box Aufgabe, noch die Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll an drei aufeinanderfolgenden Tagen ohne verhaltensrelevante Bedeutung zu signifikanten Veränderungen in den BOLD Antworten im NAcc, in der BLA und dem mPFC führen, bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass die Stimulation des *Tractus perforans* nicht zu Veränderungen in diesen Regionen führt. Die hier verwendete Methode ist relativ grob und ohne die elektrische Stimulation einer Gehirnregion wäre keine signifikante Aktivität nachweisbar. Da früheren Studien, bei denen andere Stimuli als CS als die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* verwendet wurden, die Beteiligung der Gehirnregionen NAcc, mPFC und BLA belegen, ist es wahrscheinlich, dass durch das aktive Vermeidungstraining zwar Veränderungen im Zusammenspiel dieser Regionen ausgelöst wurden, diese Veränderungen mit der hier verwendeten Methode jedoch nicht dargestellt werden können. Außerdem muss bei der Beurteilung der Ergebnisse beachtet werden, dass die Tiere während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen sediert waren und die Aktivität in den einzelnen Gehirnregionen nicht unbedingt der Aktivität während der Verhaltensaufgabe entsprach. An wachen Mäusen konnten, nachdem die Tiere eine schmerzhafte Konditionierungsaufgabe erlernt hatten, signifikante Veränderungen in der BOLD Antwort in der Amygdala und dem NAcc beobachtet werden (Harris et al. 2015).

Die Ergebnisse der mittel- und längerfristigen Auswirkungen der elektrischen Stimulation des *Tractus perforans* mit den beiden Protokollen zeigen, dass die wiederholte Stimulation des *Tractus perforans* an drei auf einander folgenden Tagen mit 200-300  $\mu$ A zu Veränderungen in der Verarbeitung der eingehenden Stimuli mit dem selben Frequenzmuster führt. Die Effekte der beiden Stimulationsprotokolle sind in der fMRT/Elektrophysiologie Messung deutlicher zu erkennen, als die Unterschiede zwischen den Lerngruppen und den Stimulationsgruppen. Dies erscheint jedoch nicht verwunderlich, da die Stimulationsintensitäten zwar nicht ungewöhnlich hoch (Tiede et al. 2012; Helbing et al. 2017; Alvarez-Salvado et al. 2014) und erforderlich sind, um Veränderungen in den BOLD Antworten darzustellen, jedoch die physiologischen, im EEG von wachen, frei beweglichen Ratten nachweisbaren Intensitäten (Csicsvari et al. 2003; Wood et al. 2000), bei weitem überschreiten. Somit können nur modulierende Effekte des Lernens nachgewiesen werden.

Der *Gyrus dentatus* gehört zu den wenigen Regionen im Gehirn von erwachsenen Tieren und Menschen, in dem neue Neurone gebildet werden. Sowohl für die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* (Jungenitz et al. 2014) als auch für Lernversuche (Gould et al. 1999; Ambrogini et al. 2000) wurde gezeigt, dass dadurch neue Neurone im *Gyrus dentatus*

entstehen können, die sich in das bestehende neuronale Netzwerke eingliedern. Es wird angenommen, dass sich die neuen Neurone erst nach 21 Tagen in das bestehende Netzwerk integrieren (Jungenitz et al. 2014). Allerdings werden nur Neurone, die sich in einem bestimmten Stadium befinden durch Stimulation/Lernen aktiviert. Ob dies zu den längerfristigen Veränderungen in den in den BOLD Signalen beiträgt, kann mit den hier verwendeten Methoden allerdings nicht nachgewiesen werden.

### 5.3 Wie und wann kann man eine BOLD Antwort im Hippocampus interpretieren

Wie beschrieben, lassen sich aus dem Verlauf der BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus im naiven Tier grobe Rückschlüsse auf die neuronale Aktivität der Granularzellen im *Gyrus dentatus* ziehen. Um genauere Aussagen über das der BOLD Antwort im rechten dorsalen Hippocampus zugrundeliegende neuronale Antwortverhalten und das Stimulationsprotokoll treffen zu können, muss allerdings zusätzlich der Verlauf der BOLD Antwort im gesamten Gehirn mit einbezogen werden. Mit Hilfe der in Tabelle 5.1 dargestellten Zusammenhänge zwischen BOLD Antwort und neuronalem Antwortverhalten können erstmals Vorhersagen über die BOLD Antwort bei anderen, nicht explizit untersuchten Stimulationsprotokollen getroffen werden. Ebenso ist es möglich, mit den aus den Experimenten 1-3 gewonnenen Daten Aussagen über das einer BOLD Antwort zugrundeliegende neuronale Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* zu treffen. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass schon bei pseudorandomisiertem Mischen von zwei Stimulationsprotokollen keine klaren Aussagen über die einer BOLD Antwort zugrundeliegende neuronale Aktivität mehr möglich sind.

Rückschlüsse aus der BOLD Antwort auf das neuronale Antwortverhalten zu ziehen, wird bei häufiger vorhergehender elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* schwierig, da die vorangegangene Stimulation Einfluss auf die Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel zu weiteren Gehirnregionen und das neuronale Antwortverhalten im *Gyrus dentatus* hat. Vorhergehende Aktivierung des *Tractus perforans* kann die Signalverarbeitung der eingehenden Stimuli, trotz unveränderter Adaptation und BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus verändern. Damit bestätigen sich die Ergebnisse der früheren Shuttle-Box Studie, in der beschrieben wurde, dass nach häufiger vorhergehender Stimulation des *Tractus perforans* aus der Entwicklung der Populationsspiques nicht auf die Ausbreitung

der BOLD Antwort geschlossen werden kann (Angenstein et al. 2013). Dabei hat die Bedeutung, die die in den *Gyrus dentatus* eingehende Information für die Tiere hat, einen zusätzlichen modulierenden Einfluss auf die neuronale Aktivität der Granularzellen und die BOLD Antwort außerhalb des rechten dorsalen Hippocampus. Das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen im *Gyrus dentatus* wird damit, abhängig vom vorhergehenden Stimulationsmuster und der Bedeutung dieser Stimulation (verhaltensrelevant/nicht verhaltensrelevant), verändert. Die BOLD Signalintensität kann nach häufiger hochfrequenter Stimulation des *Tractus perforans* in Zielregionen des rechten Hippocampus (mPFC, NAcc, BLA) trotz gleicher BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus erhöht sein. Bei niederfrequenter Stimulation des *Tractus perforans* zwischen Messzeitpunkten sind die Auswirkungen auf die BOLD Antwort geringer, trotz Veränderungen im neuronalen Antwortverhalten der Granularzellen. Nach vorhergehender Stimulation des *Tractus perforans* zwischen Messzeitpunkten können aus den BOLD Antworten somit keine eindeutigen Rückschlüsse mehr auf das Stimulationsprotokoll und das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen gezogen werden, auch wenn die vorhergehende Stimulation mehr als eine Woche zurückliegt. Eine durch vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans* veränderte Signalverarbeitung zeigte sich ebenfalls in einer veränderten Wirkung von Dopaminrezeptoragonisten nach vorhergehender elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* im Abstand von sieben Tagen (Helbing et al. 2017).

Damit ist es nicht nur notwendig, die Stimulation des *Tractus perforans* innerhalb einer Messung zu berücksichtigen, will man Rückschlüsse aus der BOLD Antwort auf das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen ziehen. Länger vorhergehende Stimulationen, die zu plastischen Veränderungen synaptischer Übertragung führen, müssen ebenfalls mitberücksichtigt werden.

## 6 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass nahezu identische BOLD Antworten im rechten dorsalen Hippocampus induziert werden können, obwohl ein deutlich unterschiedliches neuronales Antwortverhalten der Granularzellen erfasst wurde. Um Ursachen für die scheinbare Diskrepanz zwischen gleichartiger Aktivität im rechten dorsalen Hippocampus trotz veränderter neuronaler Aktivität der Granularzellen besser untersuchen zu können, wäre sowohl eine genauere zeitliche, als auch eine bessere räumliche Auflösung der BOLD Antworten wünschenswert. Zusätzlich wäre eine bessere Entzerrung der EPI Messungen sinnvoll, um BOLD Antworten den hippocampalen Subregionen eindeutig zuordnen zu können. Eine Unterteilung der Subregionen des Hippocampus ist für (f)MRT Messungen bei höheren Feldstärken bereits möglich (Kjonigsen et al. 2015; Gass et al. 2014). Die Kombination von fMRT und Elektrophysiologie an einem 9,4 T Kleintier-MRT wurde bei der Ratte bereits erfolgreich durchgeführt (Pan et al. 2010; Younce et al. 2014). Damit könnte genauer untersucht werden, ob sich zwischen der BOLD Signalintensität im *Gyrus dentatus* und den Populationsspikes eindeutigere Zusammenhänge ergeben. Eine Erhöhung der Auflösung bedeutet jedoch nicht, dass die BOLD Signalintensität bei höheren Feldstärken im Vergleich zur Baseline zunimmt (Seehafer et al. 2010).

Für eine bessere Beurteilung, welche neuronale Aktivität tatsächlich aus dem Hippocampus herausgeleitet wird und um die Bedeutung des entorhinalen Cortex für die Aktivierung von zusätzlichen Gehirnregionen zu untersuchen, wäre es sinnvoll weitere Elektroden einzusetzen. Hierfür kommen Ausgangsstrukturen wie das Subikulum oder das Fornix/Fimbria Faserbündel aber auch eine direkte Stimulation des entorhinalen Cortex in Frage. Die Auswirkungen einer Fimbria/Fornix Stimulation mit einigen der in dieser Arbeit verwendeten Stimulationsprotokolle während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messungen werden in der Arbeitsgruppe bereits untersucht. Erste fMRT/Elektrophysiologie Messungen bei Stimulation des Fornix/Fimbria Faserbündels zeigen, dass die elektrische Stimulation dieses Faserbündels zur Aktivierung von Zielregionen des Hippocampus führt (persönliche Mitteilung von Dr. Cornelia Helbing). Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus, in denen Veränderungen in der BOLD Antwort beobachtet wurden, wie der mPFC oder der linke Hippocampus, in dem für das 5 Hz Protokoll Unterschiede zwischen der Stimulationsgruppe und der Trainingsgruppe beobachtet wurden, wären ebenfalls mögliche Regionen, in denen eine weitere Elektrode genutzt werden könnte, um die durch die häufige

Stimulation des *Tractus perforans* induzierten Veränderungen näher zu charakterisieren. Bislang ist dies aus technischen Gründen schwierig, da bei den hier verwendeten Methoden selbst Wolfram Elektroden eine Abschattung verursachen, sodass es ungünstig ist, mehrere Elektroden in einer Gehirnregion zu platzieren. Allerdings wurde bereits gezeigt, dass kombinierte fMRT/Elektrophysiologie Messungen auch mit drei implantierten Elektroden möglich sind (Scherf & Angenstein 2017). Zudem sind andere Messprotokolle denkbar, bei denen die Elektroden geringere Störungen in den MRT Messungen verursachen (Airaksinen et al. 2010).

Ein weiterer Ansatz für zukünftige Untersuchungen könnte es sein, den cerebralen Blutfluss und das cerebrale Blutvolumen mit in die Untersuchungen einzubeziehen (Goense et al. 2016) um besser zu definieren, welche Parameter sich durch die wiederholte Stimulation des *Tractus perforans* verändern und so zu einer veränderter BOLD Aktivität bei gleichen Stimulationsmustern führen. Es wurde bereits berichtet, dass durch die elektrische Stimulation des Hippocampus bei gesunden Ratte eine Hypoperfusion ausgelöst wird (Wyckhuys, Staelens, et al. 2010). Um die Einflüsse des zerebralen Blutvolumens besser charakterisieren zu können, werden unter anderem Eisenpartikel als Kontrastmittel eingesetzt (Pohlmann et al. 2014; Bashir et al. 2015). Auch eine Kombination von MRT und PET (Positronen-Emissions-Tomographie) könnte helfen aufzuklären, was zu unterschiedlichen BOLD Muster bei gleicher elektrischer Stimulation des *Tractus perforans* führt. Die Kombination von PET und MRT an Kleintieren wird bereits zur Untersuchung verschiedener Fragestellungen verwendet (Shen et al. 2017; Yankam Njiwa et al. 2017). Mit Hilfe der PET können ebenfalls aktivitätsinduzierte Veränderungen des Blutflusses dargestellt werden (Attwell, David; Iadecola 2002; Fox et al. 1988). Wichtiger für die Kombination von fMRT und PET wäre jedoch, dass mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie metabolische Prozesse, aber auch Neurotransmitter Ausschüttung und die Verteilung von Rezeptoren im gesamten Gehirn untersucht werden können (Judenhofer et al. 2008; Bonvento et al. 2002; Buzsáki et al. 2007; Xi et al. 2011). Damit sind PET Messungen, ebenso wie fMRT Messungen geeignet um Netzwerkeffekte von elektrischer Stimulation einer Gehirnregion darzustellen (McIntyre & Hahn 2010).

## 7 Abkürzungsverzeichnis

3D:	dreidimensional
ATP:	Adenosintriphosphat
BLA:	basolaterale Amygdala
BOLD:	blood oxygenation level - dependent
CA1:	Cornu ammonis 1
CA2:	Cornu ammonis 2
CA3:	Cornu ammonis 3
CA4:	Cornu ammonis 4
CBF:	cerebral blood flow (cerebraler Blutfluss)
CBV:	cerebral blood volume (cerebrales Blutvolumen)
CMRO <sub>2</sub> :	cerebral metabolic rate of oxygen consumption (cerebraler metabolischer Verbrauch von Sauerstoff)
CO <sub>2</sub> :	Kohlenstoffdioxid
EC:	entorhinaler Cortex
EPI:	echo planar imaging
EPSP:	exzitatorisches postsynaptisches Potential
fMRT:	funktionelle Magnetresonanztomografie
FOV:	<i>field of view</i>
GABA:	Gamma - Aminobuttersäure
HP:	Hippocampus
dorsal HP:	dorsaler Hippocampus
li HP:	linker Hippocampus
li dorsal HP:	linker dorsaler Hippocampus
re HP:	rechter Hippocampus
re dorsal HP:	rechter dorsaler Hippocampus
HRF:	haemodynamic response function (hämodynamischen Antwortfunktion)
LFP:	lokales Feldpotential
LTD:	long-term depression (Langzeitdepression)
LTP:	long-term potentiation (Langzeitpotenzierung)
<i>M</i> :	Mittelwert
<i>Mdn</i> :	Median

## Abkürzungsverzeichnis

---

mPFC:	medialer präfrontaler Cortex
MRT:	Magnetresonanztomografie
NAcc:	Nucleus accumbens
NMDA:	N-Methyl-D-Aspartat
NO:	Stickstoffmonoxid
<i>p</i> :	Überschreitungswahrscheinlichkeit
PET:	Positronen-Emissions-Tomographie
<i>r</i> :	PEARSON Korrelationskoeffizient
RARE:	<i>rapid acquisition relaxation enhanced</i>
s.c.:	subcutan
<i>SD</i>	Standartabweichung
Sub:	Subikulum
T1:	longitudinale Relaxationszeit
T2*:	transversale Relaxationszeit aufgrund von Inhomogenitäten des statischen Magnetfelds
T2:	transversale Relaxationszeit
TE:	echo time (Echozeit)
TR:	repetition time (Repetitionszeit)
VDB:	vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands
VIP:	vasoactive intestinal peptide (vasoaktives intestinalis Peptid)
VTA/Sn:	ventrales Tegmentum – Substantia nigra pars compacta

## 8 Literaturverzeichnis

- Abraham, W.C. et al., 2003. How long will long-term potentiation last? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 358(1432), pp.735–744.
- Acsády, L. & Káli, S., 2007. Models, structure, function: the transformation of cortical signals in the dentate gyrus. *Progress in Brain Research*, pp.1–47.
- Airaksinen, A.M. et al., 2010. Simultaneous fMRI and local field potential measurements during epileptic seizures in medetomidine-sedated rats using RASER pulse sequence. *Magnetic Resonance in Medicine*, 64(4), pp.1191–1199.
- Akers, K.G. & Hamilton, D.A., 2014. Effect of high-frequency stimulation of the perforant path on previously acquired spatial memory in rats: Influence of memory strength and reactivation. *PLoS ONE*, 9(6).
- Aksenov, D.P. et al., 2016. Blood oxygenation level dependent signal and neuronal adaptation to optogenetic and sensory stimulation in somatosensory cortex in awake animals. *European Journal of Neuroscience*, 44(9), pp.2722–2729.
- Albensi, B.C. et al., 2007. Electrical stimulation protocols for hippocampal synaptic plasticity and neuronal hyper-excitability: Are they effective or relevant? *Experimental Neurology*, 204(1), pp.1–13.
- Altinbilek, B. & Manahan-Vaughan, D., 2009. A specific role for group II metabotropic glutamate receptors in hippocampal long-term depression and spatial memory. *Neuroscience*, 158(1), pp.149–158.
- Alvarez-Salvado, E. et al., 2014. Functional MRI of long-term potentiation: imaging network plasticity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369(1633), p.20130152.
- Amaral, D. & Witter, M., 1989. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), pp.571–591.

- Amaral, D.G., Scharfman, H.E. & Lavenex, P., 2007. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in Brain Research*, 163, pp.3–790.
- Amaral, G., 1993. Emerging principles of Intrinsic hippocampal organization. *Current Opinion in Neurobiology*, 3(2), pp.225–229.
- Ambrogini, P. et al., 2000. Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neuroscience Letters*, 286(1), pp.21–24.
- Andersen, P., Bliss, T. V & Skrede, K.K., 1971. Unit analysis of hippocampal population spikes. *Exp Brain Res*, 13, pp.208–221.
- Angenstein, F. et al., 2007. Frequency-dependent activation pattern in the rat hippocampus, a simultaneous electrophysiological and fMRI study. *NeuroImage*, 38(1), pp.150–163.
- Angenstein, F. et al., 2013. Perforant pathway stimulation as a conditioned stimulus for active avoidance learning triggers BOLD responses in various target regions of the hippocampus: A combined fMRI and electrophysiological study. *NeuroImage*, 75, pp.221–235.
- Angenstein, F., 2014. The Actual Intrinsic Excitability of Granular Cells Determines the Ruling Neurovascular Coupling Mechanism in the Rat Dentate Gyrus. *Journal of Neuroscience*, 34(25), pp.8529–8545.
- Angenstein, F., Kammerer, E. & Scheich, H., 2009. The BOLD response in the rat hippocampus depends rather on local processing of signals than on the input or output activity. A combined functional MRI and electrophysiological study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(8), pp.2428–2439.
- Anon, 1976. Long-term and Short-term Plasticity in the CA1, CA3 and dentate regions of the Rat Hippocampal Slice. *Brain Research*, 110, pp.463–480.
- Arthurs, O.J. et al., 2001. Linear Coupling between functional Magnetic Resonance Imaging and Evoked Potential Amplitude in human Somatosensory Cortex. *Science*, 106(4), pp.653–658.
- Arthurs, O.J. & Boniface, S., 2002. How well do we understand the neural original of the fMRI BOLD signal? *Trends in Neurosciences*, 25(1), pp.27–31.

- Attwell, David; Iadecola, C., 2002. The Neural Basis of functional brain imaging signals. *Trends in neurosciences*, 2236(12), pp.621–625.
- Attwell, D. et al., 2010. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468(7321), pp.232–43.
- Attwell, D. et al., 2015. What is a pericyte? *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(2), pp.6–10.
- Bannerman, D.M. et al., 2004. Regional dissociations within the hippocampus - Memory and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(3), pp.273–283.
- Bartos, M. et al., 2001. Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(8), pp.2687–2698.
- Bashir, M.R. et al., 2015. Emerging applications for ferumoxytol as a contrast agent in MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 41(4), pp.884–898.
- Bashir, Z.I. et al., 1991. Long-term potentiation of NMDA receptor-mediated synaptic transmission in the hippocampus. *Letters to Nature*, 353, pp.737–740.
- Baxter, M.G. et al., 1995. Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: effects on learning and memory in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109(4), pp.714–722.
- Bear, M.F. & Abraham, W.C., 1989. Long-term depression in Hippocampus. *Annual Review of Neuroscience*, 12, pp.85–102.
- Bear, M.F. & Kirkwood, A., 1993. Neocortical long-term potentiation. *Current Opinion in Neurobiology*, 3, pp.197–202.
- Behr, J., Lyson, K.J. & Mody, I., 1998. Enhanced propagation of epileptiform activity through the kindled dentate gyrus. *Journal of neurophysiology*, 79, pp.1726–1732.
- Van Den Berge, N. et al., 2015. Functional MRI during hippocampal deep brain stimulation in the healthy rat brain. *PLoS ONE*, 10(7), pp.1–20..
- Berger, T.W., 1983. Long-term potentiation of hippocampal synaptic transmission affects rate of behavioral learning. *Science*, 224, pp.627–630.

- Bikbaev, A. & Manahan-vaughan, D., 2016. Metabotropic glutamate receptor, mGlu5, regulates hippocampal synaptic plasticity and is required for tetanisation-triggered changes in theta and gamma oscillations. *Neuropharmacology*.
- Blackstad, T.W., 1956. Commissural connections of the hippocampal region in the rat, with special reference to their mode of termination. *the Journal of Comparative Neurology*, 105(3), pp.417–537.
- Blaise, J.H. & Bronzino, J.D., 2003. Effects of stimulus frequency and age on bidirectional synaptic plasticity in the dentate gyrus of freely moving rats. *Experimental Neurology*, 182(2), pp.497–506.
- Blaise, J.H. & Hartman, R.A., 2013. Stimulation of perforant path fibers induces LTP concurrently in amygdala and hippocampus in awake freely behaving rats. *Neural Plasticity*, 2013.
- Bliss, T.V.P. et al., 1973. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, pp.331–356.
- Bonvento, G., Sibson, N. & Pellerin, L., 2002. Does glutamate image your thoughts? *Trends in Neurosciences*, 25(7), pp.359–364.
- Boschen, S.L. et al., 2011. The role of nucleus accumbens and dorsolateral striatal D2 receptors in active avoidance conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(2), pp.254–262.
- Bragin, A. et al., 1997. Epileptic afterdischarge in the hippocampal-entorhinal system: Current source density and unit studies. *Neuroscience*, 76(4), pp.1187–1203.
- Buckmaster, P.S. & Schwartzkroin, P.A., 1995. Interneurons and inhibition in the dentate gyrus of the rat in vivo. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 2), pp.774–789.
- Bunsey, M. & Eichenbaum, H., 1996. Conservation of hippocampal memory function in rats and humans. *Nature*, 379(6562), pp.255–257.

- Burdette, L.J., Hart, G.J. & Masukawa, L.M., 1996. Changes in dentate granule cell field potentials during afterdischarge initiation triggered by 5 Hz perforant path stimulation. *Brain Research*, 722(1–2), pp.39–49.
- Burton, A.C., Nakamura, K. & Roesch, M.R., 2015. From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: Neural correlates of reward-guided decision-making. *Neurobiology of Learning and Memory*, 70(4), pp.646–656.
- Burwell, R.D. & Amaral, D.G., 1998. Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 398(2), pp.179–205.
- Burwell, R.D. & Amaral, D.G., 1998. Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: interconnectivity and connections with the entorhinal cortex. *J. Comp. Neurol.*, 391(3), pp.293–321.
- Burwell, R.D., Witter, M.P. & Amaral, D.G., 1995. Commentary: A perirhinal and postrhinal cortices of the rat: A review of neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. *Hippocampus*, 5, pp.390–408.
- Busija, D.W. et al., 2007. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of N-methyl-d-aspartate in cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 56(1), pp.89–100.
- Buxton, R.B. et al., 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *NeuroImage*, 23(SUPPL. 1), pp.220–233.
- Buzsáki, G. & Eidelberg, E., 1982. Direct Afferent Excitation and Long-Term Potentiation of Hippocampal Interneurons. *Journal of Neurophysiology*, 48(3), pp.597–607.
- Buzsáki, G., Kaila, K. & Raichle, M., 2007. Inhibition and Brain Work. *Neuron*, 56(5), pp.771–783.
- Buzsáki, G. & Moser, E.I., 2013. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat.Neurosci.*, 76(February 2013), pp.211–220.
- Canals, S. et al., 2008. Electric stimulation fMRI of the perforant pathway to the rat hippocampus. *Magnetic Resonance Imaging*, 26(7), pp.978–986.
- Canals, S. et al., 2009. Functional MRI Evidence for LTP-Induced Neural Network Reorganization. *Current Biology*, 19(5), pp.398–403.

- Cauli, B., 2004. Cortical GABA Interneurons in Neurovascular Coupling: Relays for Subcortical Vasoactive Pathways. *Journal of Neuroscience*, 24(41), pp.8940–8949.
- Cenquizca, L.A. & Swanson, L.W., 2007. Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 56(1), pp.1–26.
- Chao, T.H.H., Chen, J.H. & Yen, C.T., 2014. Repeated BOLD-fMRI imaging of deep brain stimulation responses in rats. *PLoS ONE*, 9(5).
- Chen, B.R. et al., 2014. A critical role for the vascular endothelium in functional neurovascular coupling in the brain. *Journal of the American Heart Association*, 3(3), pp.1–14.
- Cheney, P.D., Griffin, D.M. & Van Acker, G.M., 2013. Neural Hijacking: Action of High-Frequency Electrical Stimulation on Cortical Circuits. *The Neuroscientist*, 19(5), pp.434–441.
- Choi, J.-S., Cain, C.K. & LeDoux, J.E., 2010. The role of amygdala nuclei in the expression of auditory signaled two-way active avoidance in rats. *Learning & Memory*, 17(3), pp.139–147.
- Christie, B.R. & Abraham, W.C., 1992. Priming of associative long-term depression in the dentate gyrus by  $\theta$  frequency synaptic activity. *Neuron*, 9(1), pp.79–84.
- Chrobak, J.J., Lrincz, A. & Buzsáki, G., 2000. Physiological patterns in the hippocamp-entorhinal cortex system. *Hippocampus*, 10(4), pp.457–465.
- Ciocchi, S. et al., 2015. Brain computation. Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 348(6234), pp.560–563.
- Colgin, L.L., 2016. Rhythms of the hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(4), pp.239–249.
- Colgin, L.L. & Moser, E.I., 2010. Gamma oscillations in the hippocampus. *Physiology (Bethesda)*, 25(5), pp.319–329.
- Collingridge, G.L. & Bliss, T.V.P., 1987. NMDA receptors - their role in long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, 21(8), pp.323–331.

- Cominski, T.P. et al., 2014. The role of the hippocampus in avoidance learning and anxiety vulnerability. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8(273).
- La Corte, G. et al., 2014. Frequency dependence of behavioral modulation by hippocampal electrical stimulation. *Journal of neurophysiology*, 111(3), pp.470–80.
- Csicsvari, J. et al., 2003. Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron*, 37(2), pp.311–322.
- D’Arcangelo, G. et al., 2005. Repetitive low-frequency stimulation reduces epileptiform synchronization in limbic neuronal networks. *Neurobiology of Disease*, 19(1–2), pp.119–128.
- Deadwyler, S.A. et al., 1975. Physiological studies of the reciprocal connections between the hippocampus and entorhinal cortex. *Experimental Neurology*, 49(1), pp.35–57.
- DeFrance, J.F. & Yoshihara, H., 1975. Fimbria input to the nucleus accumbens septi. *Brain Research*, 90(1), pp.159–163.
- Deiana, S., Platt, B. & Riedel, G., 2011. The cholinergic system and spatial learning. *Behavioural Brain Research*, 221(2), pp.389–411.
- Deller, T. et al., 1996. A novel entorhinal projection to the rat dentate gyrus: direct innervation of proximal dendrites and cell bodies of granule cells and GABAergic neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(10), pp.3322–3333.
- Deng, W., Aimone, J.B. & Gage, F.H., 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature reviews. Neuroscience*, 11(5), pp.339–50.
- Dengler, C.G. & Coulter, D.A., 2016. Normal and epilepsy-associated pathologic function of the dentate gyrus. *Progress in Brain Research*, pp.155–178.
- Devonshire, I.M. et al., 2012. Neurovascular coupling is brain region-dependent. *NeuroImage*, 59(3), pp.1997–2006.
- Doller, H.J. & Weight, F.F., 1982. Perforant pathway activation of hippocampal CA1 stratum pyramidale neurons: Electrophysiological evidence for a direct pathway. *Brain Research*, 237(1), pp.1–13.

- Dormanns, K., Brown, R.G. & David, T., 2016. The role of nitric oxide in neurovascular coupling. *Journal of Theoretical Biology*, 394, pp.1–17.
- Douglas, R.M., 1977. Long lasting synaptic potentiation in the rat dentate gyrus following brief high frequency stimulation. *Brain Research*, 126(2), pp.361–365.
- Douglas, R.M. & Goddard, G. V., 1975. Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Research*, 86(2), pp.205–215.
- Draganski, B. et al., 2006. Temporal and Spatial Dynamics of Brain Structure Changes during Extensive Learning. *Journal of Neuroscience*, 26(23), pp.6314–6317.
- Draganski, B. & May, A., 2008. Training-induced structural changes in the adult human brain. *Behavioural Brain Research*, 192(1), pp.137–142.
- Drake, C.T. & Iadecola, C., 2007. The role of neuronal signaling in controlling cerebral blood flow. *Brain and Language*, 102(2), pp.141–152.
- Dudai, Y. & Morris, R.M., 2013. Memorable trends. *Neuron*, 80(3), pp.742–750.
- Dudek, S.M., Alexander, G.M. & Farris, S., 2016. Rediscovering area CA2: unique properties and functions. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(2), pp.89–102.
- Duffy, B.A. et al., 2015. MRI compatible optrodes for simultaneous LFP and optogenetic fMRI investigation of seizure-like afterdischarges. *NeuroImage*, 123, pp.173–184.
- Eichenbaum, H. et al., 1996. Functional organization of the hippocampal memory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(24), pp.13500–13507.
- Ekstrom, A. et al., 2009. Correlation Between BOLD fMRI and Theta-Band Local Field Potentials in the Human Hippocampal Area. *Journal of Neurophysiology*, pp.2668–2678.
- Ekstrom, A., 2010. How and when the fMRI BOLD signal relates to underlying neural activity: The danger in dissociation. *Brain Research Reviews*, 62(2), pp.233–244.
- Emptage, N.J., Reid, C. a & Fine, A., 2001. Calcium Stores in Hippocampal Synaptic Boutons Ca<sup>2+</sup> Entry , and Spontaneous Transmitter Release. *Neuron*, 29, pp.197–208.
- Enager, P. et al., 2009. Pathway-specific variations in neurovascular and neurometabolic coupling in rat primary somatosensory cortex. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and*

- Metabolism*, 29(5), pp.976–86.
- Euston, D.R., Gruber, A.J. & McNaughton, B.L., 2012. The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), pp.1057–1070.
- Ewell, L.A. & Jones, M. V, 2010. Frequency-tuned distribution of inhibition in the dentate gyrus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(38), pp.12597–12607.
- Fagale, J.E. et al., 2017. Dysfunction in Amygdala-Prefrontal Plasticity and Extinction-Resistant Avoidance: A Model for Anxiety Disorder Vulnerability. *Experimental Neurology*, 1(1), pp.1–15.
- Fatahi, M. et al., 2016. DNA double-strand breaks and micronuclei in human blood lymphocytes after repeated whole body exposures to 7T Magnetic Resonance Imaging. *NeuroImage*, 133, pp.288–293.
- Fenoy, A. et al., 2014. Deep brain stimulation: Are astrocytes a key driver behind the scene? *CNS neuroscience & therapeutics*, 100(2), pp.191–201.
- Figley, C.R. & Stroman, P.W., 2011. The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals. *European Journal of Neuroscience*, 33(4), pp.577–588.
- Filosa, J.A. et al., 2016. Beyond neurovascular coupling, role of astrocytes in the regulation of vascular tone. *Neuroscience*, 323, pp.96–109.
- Förster, E., Zhao, S. & Frotscher, M., 2006. Laminating the hippocampus. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(4), pp.259–267.
- Fox, P. & Raichle, M., 1986. Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Pnas*, 83(4), pp.1140–1144.
- Fox, P.T. et al., 1988. Enhanced Detection of Focal Brain Responses Using Intersubject Averaging and Change-Distribution Analysis of Subtracted PET Images. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 8(5), pp.642–653.
- Fung, T.K. et al., 2011. Differential long-term depression in CA3 but not in dentate gyrus following low-frequency stimulation of the medial perforant path. *Synapse*, 65(7),

pp.677–686.

- Gass, N. et al., 2014. Sub-Anesthetic Ketamine Modulates Intrinsic BOLD Connectivity Within the Hippocampal-Prefrontal Circuit in the Rat. *Neuropsychopharmacology*, 39(4), pp.895–906.
- Gaykema, R.P.A. et al., 1990. Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *Journal of Comparative Neurology*, 293(1), pp.103–124.
- Gitelman, D.R. et al., 2003. Modeling regional and psychophysiological interactions in fMRI: The importance of hemodynamic deconvolution. *NeuroImage*, 19(1), pp.200–207.
- Glover, G.H., 1999. Deconvolution of Impulse Response in Event-Related BOLD fMRI. *NeuroImage*, 9(4), pp.416–429.
- Goense, J., Bohraus, Y. & Logothetis, N.K., 2016. fMRI at High Spatial Resolution: Implications for BOLD-Models. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 10(June), pp.1–13.
- Goodrich-Hunsaker, N.J., Hunsaker, M.R. & Kesner, R.P., 2008. The interactions and dissociations of the dorsal hippocampus subregions: how the dentate gyrus, CA3, and CA1 process spatial information. *Behavioral neuroscience*, 122(1), pp.16–26.
- Gordon, G.R.J. et al., 2008. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature*, 456(7223)
- Gore, F. et al., 2015. Neural Representations of Unconditioned Stimuli in Basolateral Amygdala Mediate Innate and Learned Responses. *Cell*, 162(1), pp.134–145.
- Gould, E. et al., 1999. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci*, 2(3), pp.260–265..
- Haller, S. & Bartsch, A.J., 2009. Pitfalls in fMRI. *European Radiology*, 19(11), pp.2689–2706.
- Hamilton, N.B., Attwell, D. & Hall, C.N., 2010. Pericyte-mediated regulation of capillary diameter: a component of neurovascular coupling in health and disease. *Frontiers in neuroenergetics*, 2(May), pp.1–14.
- Hansen, N. & Manahan-Vaughan, D., 2015. Hippocampal long-term potentiation that is

- elicited by perforant path stimulation or that occurs in conjunction with spatial learning is tightly controlled by beta-adrenoreceptors and the locus coeruleus. *Hippocampus*, 25(11), pp.1285–1298.
- Harris, 2010. Does neural input or processing play a greater role in the magnitude of neuroimaging signals? *Frontiers in Neuroenergetics*, 2(August), pp.1–7.
- Harris, A.P. et al., 2015. Imaging learned fear circuitry in awake mice using fMRI. *European Journal of Neuroscience*, 42(5), pp.2125–2134.
- Harris, J.J., Jolivet, R. & Attwell, D., 2012. Synaptic Energy Use and Supply. *Neuron*, 75(5), pp.762–777.
- Havlicek, M. et al., 2015. Physiologically informed dynamic causal modeling of fMRI data. *NeuroImage*, 122, pp.355–372.
- Heeger, D.J. & Ress, D., 2002. What does fMRI tell us about Neuronal Activity? *Nature Reviews Neuroscience*, 3(2), pp.142–151.
- Helbing, C., 2015. *Visualisierung aktivitätsabhängiger Interaktionen des Hippocampus mit subcorticalen und corticalen Regionen mit fMRT*. Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg.
- Helbing, C., Tischmeyer, W. & Angenstein, F., 2017. Late effect of dopamine D 1/5 receptor activation on stimulus-induced BOLD responses in the hippocampus and its target regions depends on the history of previous stimulations. *NeuroImage*, 152(February), pp.119–129.
- Helbing, C., Werner, G. & Angenstein, F., 2013. Variations in the temporal pattern of perforant pathway stimulation control the activity in the mesolimbic pathway. *NeuroImage*, 64(1), pp.43–60.
- Henson, R.N.A. & Rugg, M.D., 2003. Neural response suppression , haemodynamic repetition effects , and behavioural priming. *Neuropsychologia*, 41, pp.263–270.
- Hermans, E.J. et al., 2014. How the amygdala affects emotional memory by altering brain network properties. *Neurobiology of Learning and Memory*, 112, pp.2–16.
- Hewson-Stoate, N. et al., 2005. Further nonlinearities in neurovascular coupling in rodent barrel cortex. *NeuroImage*, 24(2), pp.565–574.

- Hillman, E.M.C., 2014. Coupling Mechanisms and Significance of BOLD Signal: A Status Report. *Annual review of Neuroscience*, 37(Raichle 1998), pp.161–181.
- Hjorth-Simonsen, A. & Jeune, B., 1972. Origin and termination of the hippocampal perforant path in the rat studied by silver impregnation. *the Journal of Comparative Neurology*, 13, pp.469–481.
- Holtmaat, A. & Caroni, P., 2016. Functional and structural underpinnings of neuronal assembly formation in learning. *Nature Neuroscience*, 19(11), pp.1–10.
- Hsu, D., 2007. The dentate gyrus as a filter or gate: a look back and a look ahead. *Progress in Brain Research*, 163, pp.601–613.
- Hummos, A. & Nair, S., 2016. An integrative model of the intrinsic hippocampal theta rhythm. *PLOS ONE*, pp.1–38.
- Huneau, C., Benali, H. & Chabriat, H., 2015. Investigating human neurovascular coupling using functional neuroimaging: A critical review of dynamic models. *Frontiers in Neuroscience*, 9(DEC), pp.1–12.
- Insel, N. & Takehara-Nishiuchi, K., 2013. The cortical structure of consolidated memory: A hypothesis on the role of the cingulate-entorhinal cortical connection. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, pp.343–350.
- Ishizuka, N., Weber, J. & Amaral, D.G., 1990. Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 295(4), pp.580–623.
- Izquierdo, I. & Medina, J.H., 1997. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of learning and memory*, 68(3), pp.285–316.
- Jackman, S.L. & Regehr, W.G., 2017. The Mechanisms and Functions of Synaptic Facilitation. *Neuron*, 94(3), pp.447–464.
- Jacobs, J. et al., 2016. Direct Electrical Stimulation of the Human Entorhinal Region and Hippocampus Impairs Memory. *Neuron*, 92(5), pp.983–990.
- Janz, C. et al., 2001. Coupling of neural activity and BOLD fMRI response: New insights by combination of fMRI and VEP experiments in transition from single events to

- continuous stimulation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 46(3), pp.482–486.
- Jay, T.M. & Witter, M.P., 1991. Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Journal of Comparative Neurology*, 313(4), pp.574–586.
- Jones, R.S.G., 1993. Entorhinal-hippocampal connections: a speculative view of their function. *Trends in Neurosciences*, 16(2), pp.58–64.
- Judenhofer, M.S. et al., 2008. Simultaneous PET-MRI: a new approach for functional and morphological imaging. *Nature Medicine*, 14(4), pp.459–465.
- Jungenitz, T. et al., 2014. High-frequency stimulation induces gradual immediate early gene expression in maturing adult-generated hippocampal granule cells. *Cerebral Cortex*, 24(7), pp.1845–1857.
- Kahn, I. et al., 2013. Optogenetic drive of neocortical pyramidal neurons generates fMRI signals that are correlated with spiking activity. *Biophysical Chemistry*, 257(5), pp.2432–2437.
- Kähne, T. et al., 2012. Synaptic proteome changes in mouse brain regions upon auditory discrimination learning. *Proteomics*, 12(15–16), pp.2433–2444.
- Kandel, E.R., 2001. The molecular biology of memory storage: A dialogue between gene and synapses. *Science*, 294(5544), pp.1030–1038.
- Kandel, E.R., Dudai, Y. & Mayford, M.R., 2014. The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1), pp.163–186.
- Kelley, A. & Domesick, V., 1982. The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat: an anterograde-and retrograde-horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, 7(10), pp.2321–2335.
- Kempermann, G., Kuhn, H.G. & Gage, F.H., 1998. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J Neurosci*, 18(9), pp.3206–3212.
- Kesner, R.P., 2013. An analysis of the dentate gyrus function. *Behavioural Brain Research*, 254, pp.1–7.
- Kesner, R.P., 2007. Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learning*

- & memory (*Cold Spring Harbor, N.Y.*), 14(11), pp.771–781.
- Kesner, R.P. & Churchwell, J.C., 2011. An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(3), pp.417–431.
- Kesner, R.P., Lee, I. & Gilbert, P., 2004. A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Reviews in the neurosciences*, 15(5), pp.333–351.
- Kesner, R.P. & Rolls, E.T., 2015. A computational theory of hippocampal function, and tests of the theory: New developments. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 48, pp.92–147.
- van Kesteren, M.T.R. et al., 2010. Persistent schema-dependent hippocampal-neocortical connectivity during memory encoding and postencoding rest in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(16), pp.7550–7555.
- Khani, A. & Rainer, G., 2016. Neural and neurochemical basis of decision making. *Journal of Neurophysiology*, 116, pp.724–741.
- Kim, J.H. & Ress, D., 2016. Arterial impulse model for the BOLD response to brief neural activation. *NeuroImage*, 124, pp.394–408.
- Kim, T. et al., 2010. Frequency-dependent neural activity, CBF, and BOLD fMRI to somatosensory stimuli in isoflurane-anesthetized rats. *NeuroImage*, 52(1), pp.224–233.
- Kitamura, T. et al., 2017. Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science*, 356(6333), pp.73–78.
- Kjonigsen, L.J. et al., 2015. Waxholm Space atlas of the rat brain hippocampal region: Three-dimensional delineations based on magnetic resonance and diffusion tensor imaging. *NeuroImage*, 108, pp.441–449.
- Klausnitzer, J., Kulla, A. & Manahan-Vaughan, D., 2004. Role of the group III metabotropic glutamate receptor in LTP, depotentiation and LTD in the dentate gyrus of freely moving rats. *Neuropharmacology*, 46(2), pp.160–170.
- Knierim, J.J. & Neunuebel, J.P., 2016. Tracking the flow of hippocampal computation: Pattern separation, pattern completion, and attractor dynamics. *Neurobiology of Learning and Memory*, 129, pp.38–49.

- Kobayashi, E. et al., 2006. Widespread and intense BOLD changes during brief focal electrographic seizures. *Neurology*, 66(7), pp.1049–1055.
- Koehler, R.C., Roman, R.J. & Harder, D.R., 2009. Astrocytes and the regulation of cerebral blood flow. *Trends in Neurosciences*, 32(3), pp.160–169.
- Kolb, B. & Gibb, R., 2015. Plasticity in the prefrontal cortex of adult rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(February), pp.1–11.
- Kombian, S.B. & Malenka, R.C., 1994. Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Letters to Nature*, 368.
- Korte, M. & Schmitz, D., 2016. Cellular and System Biology of Memory: Timing, Molecules, and Beyond. *Physiological Reviews*, 96(2), pp.647–693.
- Kowalski, J. et al., 2016. Intrinsic membrane properties determine hippocampal differential firing pattern in vivo in anesthetized rats. *Hippocampus*, 26(5), pp.668–682.
- Krautwald, K. et al., 2013. Synchronized electrical stimulation of the rat medial forebrain bundle and perforant pathway generates an additive BOLD response in the nucleus accumbens and prefrontal cortex. *NeuroImage*, 77, pp.14–25.
- Krautwald, K. & Angenstein, F., 2012. Low frequency stimulation of the perforant pathway generates anesthesia-specific variations in neural activity and BOLD responses in the rat dentate gyrus. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(2), pp.291–305.
- Krug, M. et al., 2001. Activation of the dentate gyrus by stimulation of the contralateral perforant pathway: Evoked potentials and long-term potentiation after ipsi- and contralateral induction. *Hippocampus*, 11(2), pp.157–167.
- Kukushkin, N.V. & Carew, T.J., 2017. Memory Takes Time. *Neuron*, 95(2), pp.259–279.
- Lacaille, J.C. et al., 1985. The action of norepinephrine in the dentate gyrus: Beta-mediated facilitation of evoked potentials in vitro. *Brain Research*, 358(1–2), pp.210–220.
- Laroche, S., Jay, T.M. & Thierry, A., 1990. Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1 / subicular region. *Neuroscience Letters*, 114, pp.184–190.
- Larsson, J. & Smith, A.T., 2012. fMRI repetition suppression: Neuronal adaptation or

- stimulus expectation? *Cerebral Cortex*, 22(3), pp.567–576.
- Larsson, J., Solomon, S.G. & Kohn, A., 2016. fMRI adaptation revisited. *Cortex*, 80, pp.154–160.
- Lavenex, P. & Amaral, D.G., 2000. Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus*, 10(4), pp.420–430.
- Lechner, H.A., Squire, L.R. & Byrne, J.H., 1999. 100 Years of Consolidation-Remembering Müller and Pilzecker. *Neurobiology of Learning and Memory*, pp.77–87.
- Lecrux, C. & Hamel, E., 2011. The neurovascular unit in brain function and disease. *Acta Physiologica*, 203(1), pp.47–59.
- Lee, H., Fell, J. & Axmacher, N., 2013. Electrical engram: How deep brain stimulation affects memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(11), pp.574–584.
- Lefebvre, V., Devonshire, I.M. & Mayhew, J.E., 2009. A Dynamic Causal Model of the Coupling Between Pulse Stimulation and Neural Activity. *Neural Computation*, 2868(2000), pp.2846–2868.
- Leithner, C. & Royl, G., 2014. The oxygen paradox of neurovascular coupling. *J Cereb Blood Flow Metab*, 34(1), pp.19–29.
- Leutgeb, J.K. et al., 2007. Pattern Separation in the Dentate Gyrus and CA3 of the Hippocampus. *Science*, 315(5814), pp.961–966.
- Lim, S. et al., 2016. Low and High Frequency Hippocampal Stimulation for Drug-Resistant Mesial Temporal Lobe Epilepsy. *Neuromodulation*, 2016, pp.365–372.
- Lisman, J., 2005. The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus*, 15(7), pp.913–922.
- Lisman, J.E., 1999. Relating Hippocampal Circuitry Viewpoint to Function: Recall of Memory Sequences by Reciprocal Dentate–CA3 Interactions. *Neuron*, 22, pp.233–242.
- Litwack, G., 2014. *Nitric Oxide* 96th ed. G. Litwack, ed., Oxford: Elsevier.
- Liu, L. et al., 2004. Role of NMDA Receptor Subtypes in Governing the Direction of Hippocampal Synaptic Plasticity. *Science*, 304(5673), pp.1021–1024.

- Liu, Y.-C., Cheng, J.-K. & Lien, C.-C., 2014. Rapid Dynamic Changes of Dendritic Inhibition in the Dentate Gyrus by Presynaptic Activity Patterns. *Journal of Neuroscience*, 34(4), pp.1344–1357.
- Logothetis, N., 2008. What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, 453(7197), pp.869–78.
- Logothetis, N.K., 2003. The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *the Journal of Comparative Neurology*, 23(10), pp.3963–3971.
- Logothetis, N.K. & Pfeuffer, J., 2004. On the nature of the BOLD fMRI contrast mechanism. *Magnetic Resonance Imaging*, 22(10 SPEC. ISS.), pp.1517–1531.
- Lømø, T., 1971. Patterns of activation in a monosynaptic cortical pathway: The perforant path input to the dentate area of the hippocampal formation. *Experimental Brain Research*, 12(1), pp.18–45.
- Longden, T.A., Hill-Eubanks, D.C. & Nelson, M.T., 2016. Ion channel networks in the control of cerebral blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 36, pp.492–512.
- Longden, T.A. & Nelson, M.T., 2016. Vascular Inward Rectifier K<sup>+</sup> Channels as External K<sup>+</sup> Sensors in the Control of Cerebral Blood Flow. *Microcirculation*, 22(3), pp.183–196.
- Lorente De Nó, R., 1934. Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *Journal für Psychologie und Neurologie*, 46, pp.113–117.
- Lovinger, D.M., 2010. Roles of Neurotransmitters in the Dorsal Striatum. *Neuropharmacology*, 58(7), pp.951–961.
- Lu, H. et al., 2016. Low- but Not High-Frequency LFP Correlates with Spontaneous BOLD Fluctuations in Rat Whisker Barrel Cortex. *Cerebral Cortex*, 26(2), pp.683–694.
- Luo, A.H. et al., 2011. Linking context with reward: A functional circuit from hippocampal CA3 to Ventral Tegmental Area. *Science*, 333(6040), pp.353–357.
- Magri, C. et al., 2012. The Amplitude and Timing of the BOLD Signal Reflects the Relationship between Local Field Potential Power at Different Frequencies. *Journal of Neuroscience*, 32(4), pp.1395–1407.

- Manahan-Vaughan, D., 1998. Priming of group 2 metabotropic glutamate receptors facilitates induction of long-term depression in the dentate gyrus of freely moving rats. *Neuropharmacology*, 37, pp.1459–1464.
- Maren, S., 2005. Synaptic mechanisms of associative memory in the amygdala. *Neuron*, 47(6), pp.783–786.
- Maren, S. & Fanselow, M.S., 1995. Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(11), pp.7548–7564.
- Martin, C., 2014. Contributions and complexities from the use of in-vivo animal models to improve understanding of human neuroimaging signals. *Frontiers in Neuroscience*, 8(8 JUL), pp.1–22.
- Martin, C. et al., 2006a. Investigating neural-hemodynamic coupling and the hemodynamic response function in the awake rat. *NeuroImage*, 32(1), pp.33–48.
- Martin, C. et al., 2006b. Investigating neural – hemodynamic coupling and the hemodynamic response function in the awake rat. *NeuroImage*, 32, pp.33–48.
- Mathiesen, C. et al., 1998. Modification of activity dependent increases of cerebral blood flow by excitatory activity and spikes in rat cerebellar cortex. *J. Physiol.*, 512, pp.555–566.
- Matthies, H. et al., 1986. Low frequency perforant path stimulation as a conditioned stimulus demonstrates correlations between long-term synaptic potentiation and learning. *Physiology and Behavior*, 36(5), pp.811–821.
- McCarron, J.G. & Halpern, W., 1990. Potassium dilates rat cerebral arteries by two independent mechanisms. *The American journal of physiology*, 259(3 Pt 2), pp.H902–H908.
- McIntyre, C.C. & Anderson, R.W., 2016. Deep Brain Stimulation Mechanisms: the control of Network Activity via Neurochemistry Modulation. *Journal of Neurochemistry*, 139, pp.338–345.
- McIntyre, C.C. & Hahn, P.J., 2010. Network perspectives on the mechanisms of deep brain stimulation. *Neurobiology of Disease*, 38(3), pp.329–337.
- McNaughton, B.L. & Morris, R.G.M., 1987. Hippocampal synaptic enhancement and

- information storage within a distributed memory system. *Trends in Neurosciences*, 10(10), pp.408–415.
- Meibach, R. c. & Siegel, A., 1976. Efferent Connections of the Hippocampal Formation in the Rat. *Brain Research*, 8(1), pp.197–224.
- Metaea, M.R., 2006. Glial Cells Dilate and Constrict Blood Vessels: A Mechanism of Neurovascular Coupling. *Journal of Neuroscience*, 26(11), pp.2862–2870.
- Moreno, A. et al., 2013. Neurophysiological, metabolic and cellular compartments that drive neurovascular coupling and neuroimaging signals. *Frontiers in neuroenergetics*, 5(March), p.3.
- Morgane, P.J., Galler, J.R. & Mokler, D.J., 2005. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Progress in Neurobiology*, 75(2), pp.143–160.
- Moscarello, J.M. & LeDoux, J.E., 2013. Active Avoidance Learning Requires Prefrontal Suppression of Amygdala-Mediated Defensive Reactions. *Journal of Neuroscience*, 33(9), pp.3815–3823.
- Moscovitch, M. et al., 2006. The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(2), pp.179–190.
- Moscovitch, M. & Nadel, L., 1998. Consolidation and the hippocampal complex revisited: In defense of the multiple-trace model. *Current Opinion in Neurobiology*, 8(2), pp.297–300.
- Moser, E.I., Kropff, E. & Moser, M.-B., 2008. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual review of neuroscience*, 31, pp.69–89.
- Mukamel, R. et al., 2005. Coupling between neuronal firing, field potentials, and fMRI in human auditory cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5736), pp.951–954.
- Mulder, A.B., Arts, M.P.M. & Lopes Da Silva, F.H., 1997. Short- and long-term plasticity of the hippocampus to nucleus accumbens and prefrontal cortex pathways in the rat, in vivo. *European Journal of Neuroscience*, 9(8), pp.1603–1611.
- Myhrer, T., 1975. Locomotor and Avoidance Behavior in Rats with Partial or Total Hippocampal Perforant Paths Sections. *Physiology and Behavior*, 15, pp.217–224.

- Nader, K., Schafe, G.E. & LeDoux, J.E., 2000. The labile nature of consolidation theory. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(3), pp.216–219.
- Neves, G., Cooke, S.F., Bliss, T.V.P., et al., 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(january), pp.1030–1034.
- Neves, G., Cooke, S.F. & Bliss, T.V.P., 2008. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. , 9(january), pp.1030–1034.
- Niessing, J., 2005. Hemodynamic Signals Correlate Tightly with Synchronized Gamma Oscillations. *Science*, 309(5736), pp.948–951.
- Nilsson, M. et al., 1999. Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *Journal of neurobiology*, 39(4), pp.569–578.
- Nir, Y. et al., 2007. Coupling between Neuronal Firing Rate, Gamma LFP, and BOLD fMRI Is Related to Interneuronal Correlations. *Current Biology*, 17(15), pp.1275–1285.
- Nyakas, C., Luiten, P.G.M. & Spencer, D.G., 1987. Detailed Projection Patterns of Septal and Diagonal Band Efferents to the Hippocampus in the Rat With Emphasis on Innervation of CA1 and Dentate Gyrus. *Brain Research Bulletin*, 18, pp.533–545.
- O' Mara, S., 2006. Controlling hippocampal output: The central role of subiculum in hippocampal information processing. *Behavioural Brain Research*, 174(2), pp.304–312.
- O'Keefe, John; Nadel, L., John & Fallis, A., 1978. *The Hippocampus as a Cognitive Map* 1st ed., Ox: Oxford: Clarendon Press.
- O'Keefe, J., 1979. A review of the hippocampal place cells. *Progress in Neurobiology*, 13(4), pp.419–39.
- O'Mara, S.M. et al., 2009. Roles for the subiculum in spatial information processing, memory, motivation and the temporal control of behaviour. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(5), pp.782–790.
- O'Reilly, R.C. et al., 2014. Complementary learning systems. *Cognitive Science*, 38(6), pp.1229–1248.
- Ogawa, S. et al., 1990. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood

- oxygenation. *Pnas*, 87, p.9868.
- Ogawa, S. et al., 1993. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophysical Journal*, 64(3), pp.803–812.
- Otani, S. et al., 2003. Dopaminergic Modulation of Long-term Synaptic Plasticity in Rat Prefrontal Neurons. *Cerebral Cortex*, 13(11), pp.1251–1256.
- Overton, P.G. & Clark, D., 1997. Burst firing in midbrain dopaminergic neurons. *Brain research. Brain research reviews*, 25, pp.312–34.
- Pan, W. et al., 2010. Simultaneous fMRI and electrophysiology in the rodent brain. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (August), pp.2–5.
- Peppiatt, C.M. et al., 2006. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, 443(7112), pp.700–704.
- Piekema, C. et al., 2006. The right hippocampus participates in short-term memory maintenance of object-location associations. *NeuroImage*, 33(1), pp.374–382.
- Pilz, G.-A. et al., 2016. Functional Imaging of Dentate Granule Cells in the Adult Mouse Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 36(28), pp.7407–7414.
- Pohlmann, A. et al., 2014. Cerebral blood volume estimation by ferumoxytol-enhanced steady-state MRI at 9.4 T reveals microvascular impact of  $\alpha_1$ -adrenergic receptor antibodies. *NMR in Biomedicine*, 27(9), pp.1085–1093.
- Quillfeldt, J.A., 2006. *Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats*,
- Raichle, M.E. & Mintun, M.A., 2006. Brain Work and Brain Imaging. *Annual Review of Neuroscience*, 29(1), pp.449–476.
- Rajasethupathy, P. et al., 2015. Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature*, 526(7575), pp.653–659.
- Ramirez, F. et al., 2015. Active Avoidance Requires a Serial Basal Amygdala to Nucleus Accumbens Shell Circuit. *Journal of Neuroscience*, 35(8), pp.3470–3477..
- Ramirez, O.A. & Carrer, H.F., 1989. Correlation between threshold to induce long-term potentiation in the hippocampus and performance in a shuttle box avoidance response in

- rats. *Neuroscience Letters*, 104(1–2), pp.152–156.
- Rasmussen, T., Holstein-Rathlou, N.H. & Lauritzen, M., 2009. Modeling neuro-vascular coupling in rat cerebellum: Characterization of deviations from linearity. *NeuroImage*, 45(1), pp.96–108.
- Redding, A. et al., 2017. Impact of in Vivo High-Field- Strength and Ultra-High-Field- Strength MR Imaging on DNA. *Radiology*, 0(0), pp.1–8.
- Reymann, K.G. et al., 1982. Monosynaptic activation of the hippocampus as a conditioned stimulus: Behavioral effects. *Physiology and Behavior*, 29(6), pp.1007–1012.
- Reymann, K.G. & Frey, J.U., 2007. The late maintenance of hippocampal LTP: Requirements, phases, “synaptic tagging”, “late-associativity” and implications. *Neuropharmacology*, 52(1), pp.24–40.
- Ribak, C.E. & Seress, L., 1983. Five types of basket cells in the hippocampal dentate gyrus: a combined Golgi and electron microscopic study. *J Neurocytol*, 12, pp.577–597.
- Ribak, C.E., Seress, L. & Amaral, D.G., 1985. The development, ultrastructure and synaptic connections of the mossy cells of the dentate gyrus. *Journal of Neurocytology*, 14(5), pp.835–857.
- Riemann, S., Helbing, C. & Angenstein, F., 2016. From unspecific to adjusted, how the BOLD response in the rat hippocampus develops during consecutive stimulations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 37(2), pp.590–604.
- Robinson, M.B. & Jackson, J.G., 2016. Astroglial Glutamate Transporters Coordinate Excitatory Signaling and Brain Energetics. *Neurochemistry international*.
- Rosenegger, D.G. et al., 2015. Tonic Local Brain Blood Flow Control by Astrocytes Independent of Phasic Neurovascular Coupling. *Journal of Neuroscience*, 35(39), pp.13463–13474.
- Ruan, H., Saur, T. & Yao, W.-D., 2014. Dopamine-enabled anti-Hebbian timing-dependent plasticity in prefrontal circuitry. *Frontiers in neural circuits*, 8(April), p.38.
- Safina, C. et al., 1992. Responses of Cells of the Rat Fascia Dentata to prolonged Stimulation of the perforant path: sensitivity of Hillar Cells and Changes in Granule Cell Excitability. *Journal of Neuroscience*, 18(6), pp.861–875.

- Salamone, J.D., Cousins, M.S. & Snyder, B.J., 1997. Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: Empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*.
- Sambandan, S. et al., 2010. Associative Plasticity at Excitatory Synapses Facilitates Recruitment of Fast-Spiking Interneurons in the Dentate Gyrus. *Journal of Neuroscience*, 30(35), pp.11826–11837.
- Saunders, B.T. & Janak, P.H., 2014. Nucleus accumbens plasticity underlies multifaceted behavioral changes associated with addiction. *Biological Psychiatry*, 75(2), pp.92–93.
- Schacter, D.L. & Tulving, E., 1994. What are the memory systems of 1994? *Memory systems 1994.*, pp.1–38.
- Scharfman, H.E., 2012. The CA3 “Backprojection” to the Dentate Gyrus. *Progress in Brain Research*, 100(2), pp.130–134.
- Scharfman, H.E. & Bernstein, H.L., 2015. Potential implications of a monosynaptic pathway from mossy cells to adult-born granule cells of the dentate gyrus. *Frontiers in systems neuroscience*, 9(August), pp.1–15.
- Scharfman, H.E. & Meyers, C.E., 2016. Corruption of the Dentate Gyrus by “Dominant” Granule cells: Implications for Dentate Gyrus Function in Health and Disease. *Neurobiology of Learning and Memory*, 28(10), pp.1304–1314.
- Scherf, T. & Angenstein, F., 2017. Hippocampal CA3 activation alleviates fMRI-BOLD responses in the rat prefrontal cortex induced by electrical VTA stimulation. *Plos One*, 12(2), p.e0172926.
- Scherf, T. & Angenstein, F., 2015. Postsynaptic and spiking activity of pyramidal cells, the principal neurons in the rat hippocampal CA1 region, does not control the resultant BOLD response: a combined electrophysiologic and fMRI approach. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(4), pp.565–575.
- Schulz, K. et al., 2012. Simultaneous BOLD fMRI and fiber-optic calcium recording in rat neocortex. *Nature Methods*, 9(6), pp.597–602.
- Schwarz, E., Tost, H. & Meyer-Lindenberg, A., 2016. Working memory genetics in schizophrenia and related disorders: An RDoC perspective. *American Journal of Medical*

- Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 171(1), pp.121–131.
- Scott, N.A. & Murphy, T.H., 2012. Hemodynamic responses evoked by neuronal stimulation via channelrhodopsin-2 can be independent of intracortical glutamatergic synaptic transmission. *PLoS ONE*, 7(1), pp.1–10.
- Scoville, W.B. & Milner, B., 1957. Loss of Recent Memory After Bilateral Hippocampal Lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 20(1), pp.11–21.
- Seehafer, J.U. et al., 2010. No increase of the blood oxygenation level-dependent functional magnetic resonance imaging signal with higher field strength: implications for brain activation studies. *J Neurosci*, 30(15), pp.5234–5241.
- Seroogy, K.B., Seress, L. & Ribak, C.E., 1983. Ultrastructure of commissural neurons of the hilar region in the hippocampal dentate gyrus. *Experimental Neurology*, 82(3), pp.594–608.
- Shao, L.-R. & Dudek, F.E., 2011. Repetitive perforant-path stimulation induces epileptiform bursts in minislices of dentate gyrus from rats with kainate-induced epilepsy. *Journal of neurophysiology*, 105(2), pp.522–7.
- Shen, B. et al., 2017. Visualizing Nerve Injury in a Neuropathic Pain Model with [<sup>18</sup>F]FTC-146 PET/MRI. *Theranostics*, 7(11), pp.2794–2805.
- Sheth, S.A. et al., 2004. Linear and nonlinear relationships between neuronal activity, oxygen metabolism, and hemodynamic responses. *Neuron*, 42(2), pp.347–355.
- Shipman, S.L. & Astur, R.S., 2008. Factors affecting the hippocampal BOLD response during spatial memory. *Behavioural Brain Research*, 187(2), pp.433–441.
- Sigurdsson, T. et al., 2007. Long-term potentiation in the amygdala: A cellular mechanism of fear learning and memory. *Neuropharmacology*, 52(1), pp.215–227.
- Sigurdsson, T. & Duvarci, S., 2015. Hippocampal-Prefrontal Interactions in Cognition, Behavior and Psychiatric Disease. *Frontiers in systems neuroscience*, 9(January), p.190.
- Da Silva, J.C. et al., 2013. Brain electrical activity after acute hippocampal stimulation in awake rats. *Neuromodulation*, 16(2), pp.100–103.
- Sloan, H.L. et al., 2010. Regional differences in neurovascular coupling in rat brain as

- determined by fMRI and electrophysiology. *NeuroImage*, 53(2), pp.399–411.
- Sloviter, R.S., 1983. "Epileptic" brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I. Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Brain research bulletin*, 10(5), pp.675–97.
- Sos-Hinojosa, H. et al., 2000. Differential effects of parafascicular electrical stimulation on active avoidance depending on the retention time, in rats. *Brain Research Bulletin*, 52(5), pp.419–426.
- Squire, L.R., 2004. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. In *Neurobiology of Learning and Memory*. pp. 171–177.
- Stelly, C.E. et al., 2016. Repeated social defeat stress enhances glutamatergic synaptic plasticity in the VTA and cocaine place conditioning. *eLife*, 5(2016JULY), pp.1–18.
- Steward, O., 1976. Topographic organization of the projections from the entorhinal areas of the hippocampal formation of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 167, pp.285–314.
- Strange, B. a et al., 2014. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Publishing Group*, 15(10), pp.655–669.
- Straube, T. & Frey, J.U., 2003. Time-dependent depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats by repeated brief 7 Hz stimulation. *Neuroscience Letters*, 339(1), pp.82–84.
- Suzuki, W.A. & Eichenbaum, H., 2000. The neurophysiology of memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911(212), pp.175–191.
- Swanson, L.W. & Cowan, W.M., 1977. An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol*, 172(1), pp.49–84.
- Sweatt, J.D., 2016. Neural plasticity and behavior - sixty years of conceptual advances. *Journal of Neurochemistry*, 139, pp.179–199.
- Takano, T. et al., 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nature neuroscience*, 9(2), pp.260–267.
- Takehara-Nishiuchi, K., 2014. Entorhinal cortex and consolidated memory. *Neuroscience Research*, 84, pp.27–33.

- Tannenholz, L. et al., 2014. Local and regional heterogeneity underlying hippocampal modulation of cognition and mood. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8(May), p.147.
- Teyler, T.J., 1989. Comparative aspects of hippocampal and neocortical long-term potentiation. *Journal of Neuroscience Methods*, 28, pp.101–108.
- Tiede, R. et al., 2012. NMDA-dependent mechanisms only affect the BOLD response in the rat dentate gyrus by modifying local signal processing. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(3), pp.570–584.
- Treves, A. et al., 2008. What is the mammalian dentate gyrus good for? *Neuroscience*, 154(4), pp.1155–1172.
- Treves, A. & Rolls, E.T., 1994. Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. *Hippocampus*, 4(3), pp.374–391.
- Tsanov, M. & Manahan-Vaughan, D., 2009. Long-term plasticity is proportional to theta-activity. *PLoS ONE*, 4(6).
- Tsutsui, K.-I. et al., 2016. Comparative Overview of Visuospatial Working Memory in Monkeys and Rats. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 10(December), pp.1–12.
- Uludağ, K. & Roebroeck, A., 2014. General overview on the merits of multimodal neuroimaging data fusion. *NeuroImage*, 102(P1), pp.3–10.
- Vertes, R.P., 2005. Hippocampal theta rhythm: A tag for short-term memory. *Hippocampus*, 15(7), pp.923–935.
- Viswanathan, A. & Freeman, R.D., 2007. Neurometabolic coupling in cerebral cortex reflects synaptic more than spiking activity. *Nature neuroscience*, 10(10), pp.1308–1312.
- Vivar, C. & van Praag, H., 2013. Functional circuits of new neurons in the dentate gyrus. *Frontiers in Neural Circuits*, 7.
- Wang, J. et al., 2015. Hippocampus and two-way active avoidance conditioning: Contrasting effects of cytotoxic lesion and temporary inactivation. *Hippocampus*, 25(12), pp.1517–1531.
- Wang, S. et al., 2014. Nitric oxide facilitates active avoidance learning via enhancement of glutamate levels in the hippocampal dentate gyrus. *Behavioural brain research*, 271,

pp.177–83.

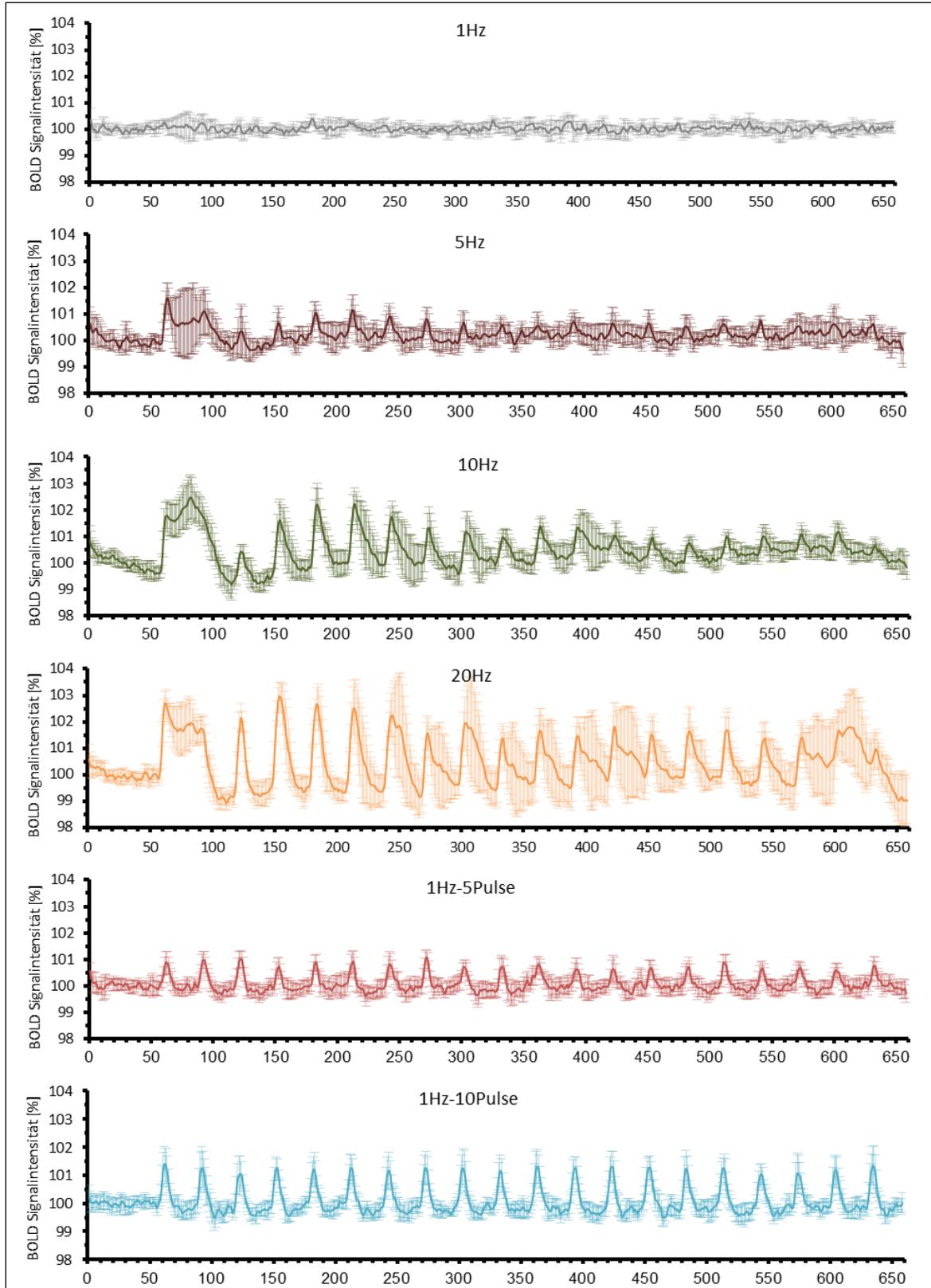
- Wassum, K.M. & Izquierdo, A., 2015. The basolateral amygdala in reward learning and addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 57, pp.271–283.
- White, N.M. & McDonald, R.J., 2002. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of learning and memory*, 77, pp.125–184.
- Witter, M.P. et al., 1988. Entorhinal projections to the hippocampal CA1 region in the rat: An underestimated pathway. *Neuroscience Letters*, 85(2), pp.193–198.
- Witter, M.P. et al., 1989. Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Progress in Neurobiology*, 33.
- Wood, E.R. et al., 2000. Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron*, 27(3), pp.623–633.
- Wyckhuys, T., Raedt, R., et al., 2010. Comparison of hippocampal Deep Brain Stimulation with high (130 Hz) and low frequency (5 Hz) on afterdischarges in kindled rats. *Epilepsy Research*, 88(2–3), pp.239–246.
- Wyckhuys, T., Staelens, S., et al., 2010. Hippocampal deep brain stimulation induces decreased rCBF in the hippocampal formation of the rat. *NeuroImage*, 52(1), pp.55–61.
- Xi, W., Tian, M. & Zhang, H., 2011. Molecular imaging in neuroscience research with small-animal PET in rodents. *Neuroscience Research*, 70(2), pp.133–143.
- Yamaguchi, Y. et al., 2007. A unified view of theta-phase coding in the entorhinal-hippocampal system. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(2), pp.197–204.
- Yankam Njiwa, J. et al., 2017. Quantitative longitudinal imaging of activated microglia as a marker of inflammation in the pilocarpine rat model of epilepsy using [<sup>11</sup>C]-(R)-PK11195 PET and MRI. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 37(4), pp.1251–1263.
- Younce, J.R., Albaugh, D.L. & Shih, Y.-Y.I., 2014. Deep brain stimulation with simultaneous fMRI in rodents. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (84), p.e51271.
- Yuan, M. et al., 2017. Somatostatin-positive interneurons in the dentate gyrus of mice provide local-and long-range septal synaptic inhibition. *eLife*, 6, pp.1–25.

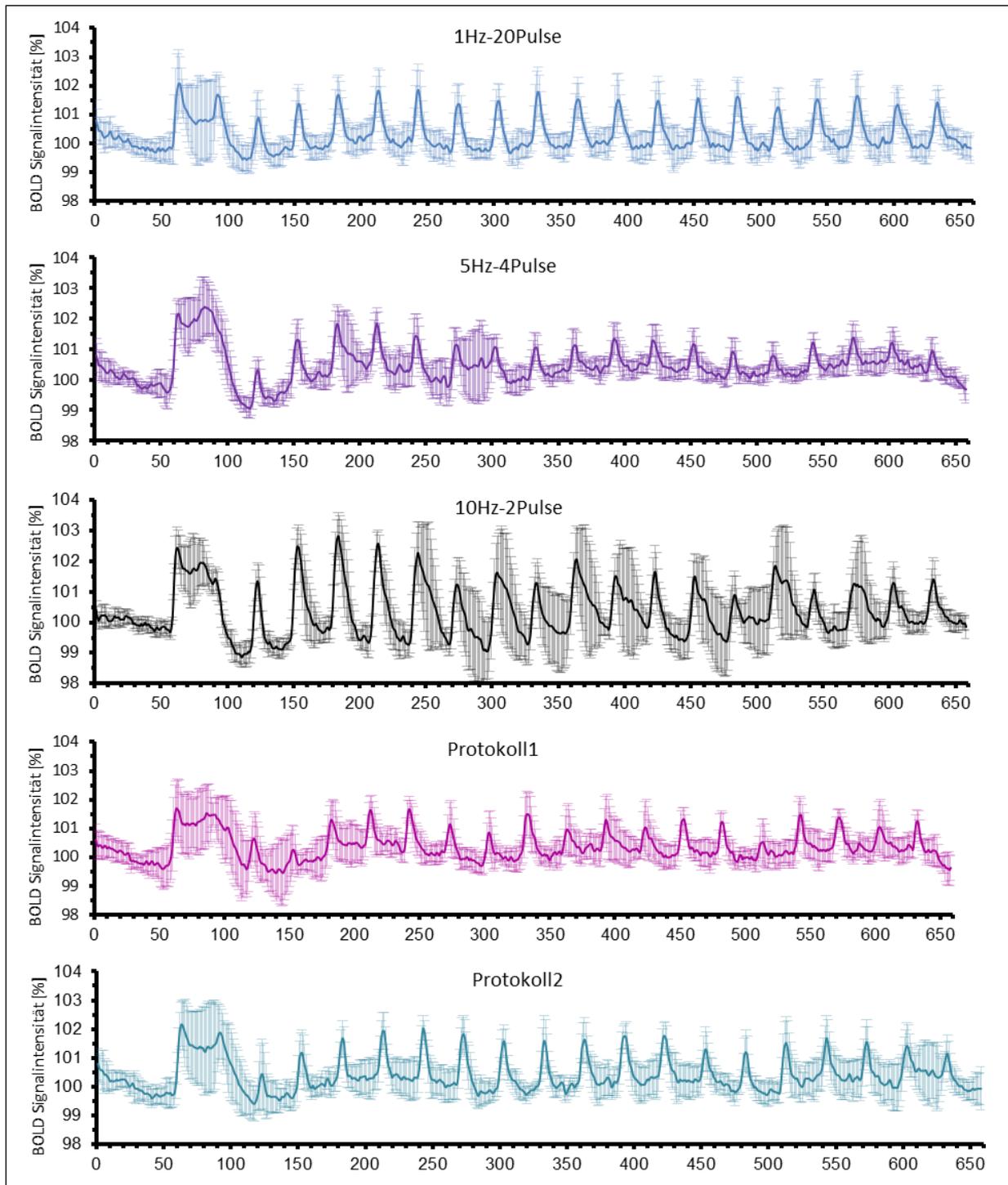
Zeineh, M.M., 2003. Dynamics of the Hippocampus During Encoding and Retrieval of Face-Name Pairs. *Science*, 299(5606), pp.577–580.

Zheng, Y. et al., 2010. A dynamic model of neurovascular coupling: Implications for blood vessel dilation and constriction. *NeuroImage*, 52(3), pp.1135–1147.

## 9 Anhang

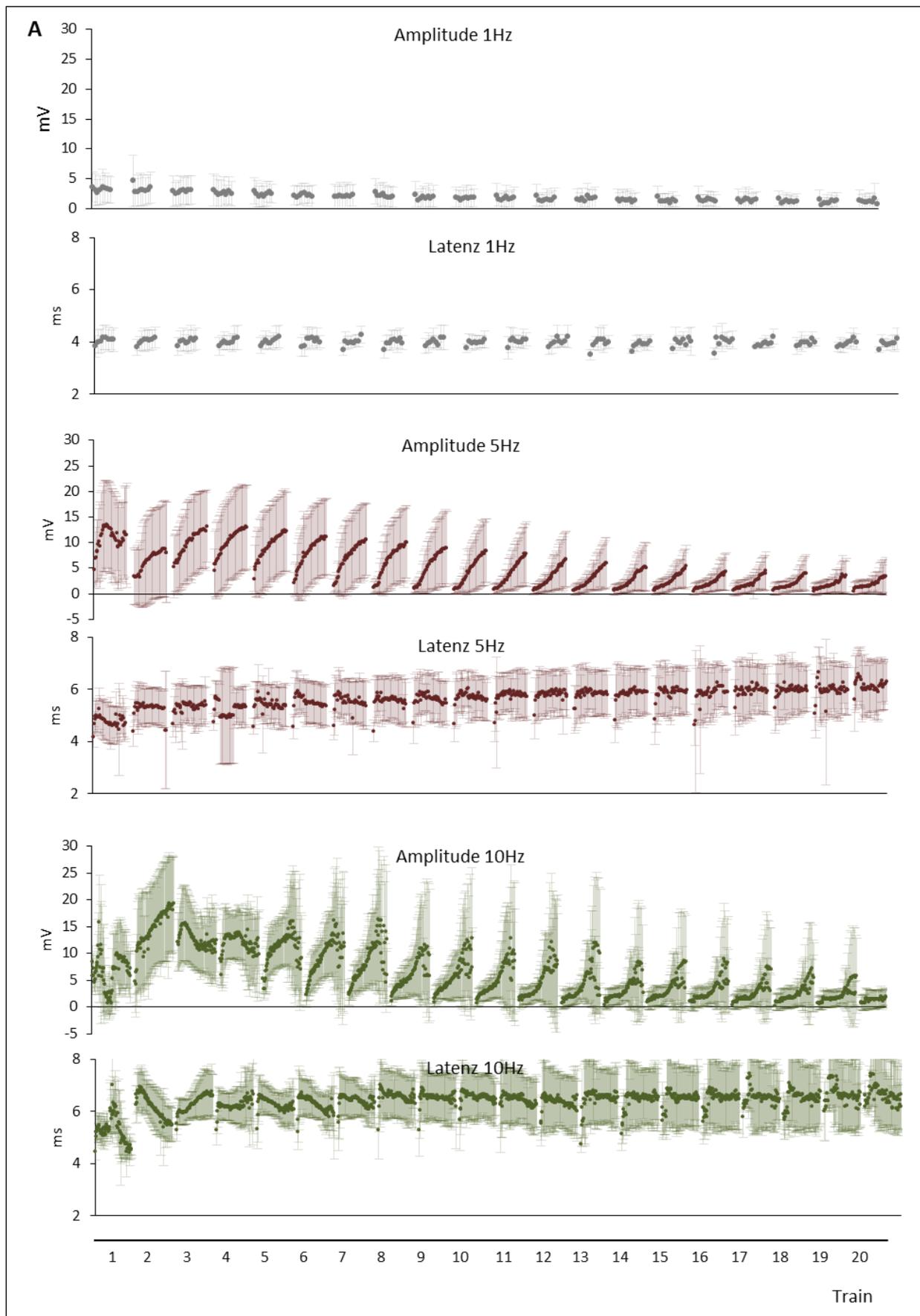
### Anhang zum Ergebnisteil

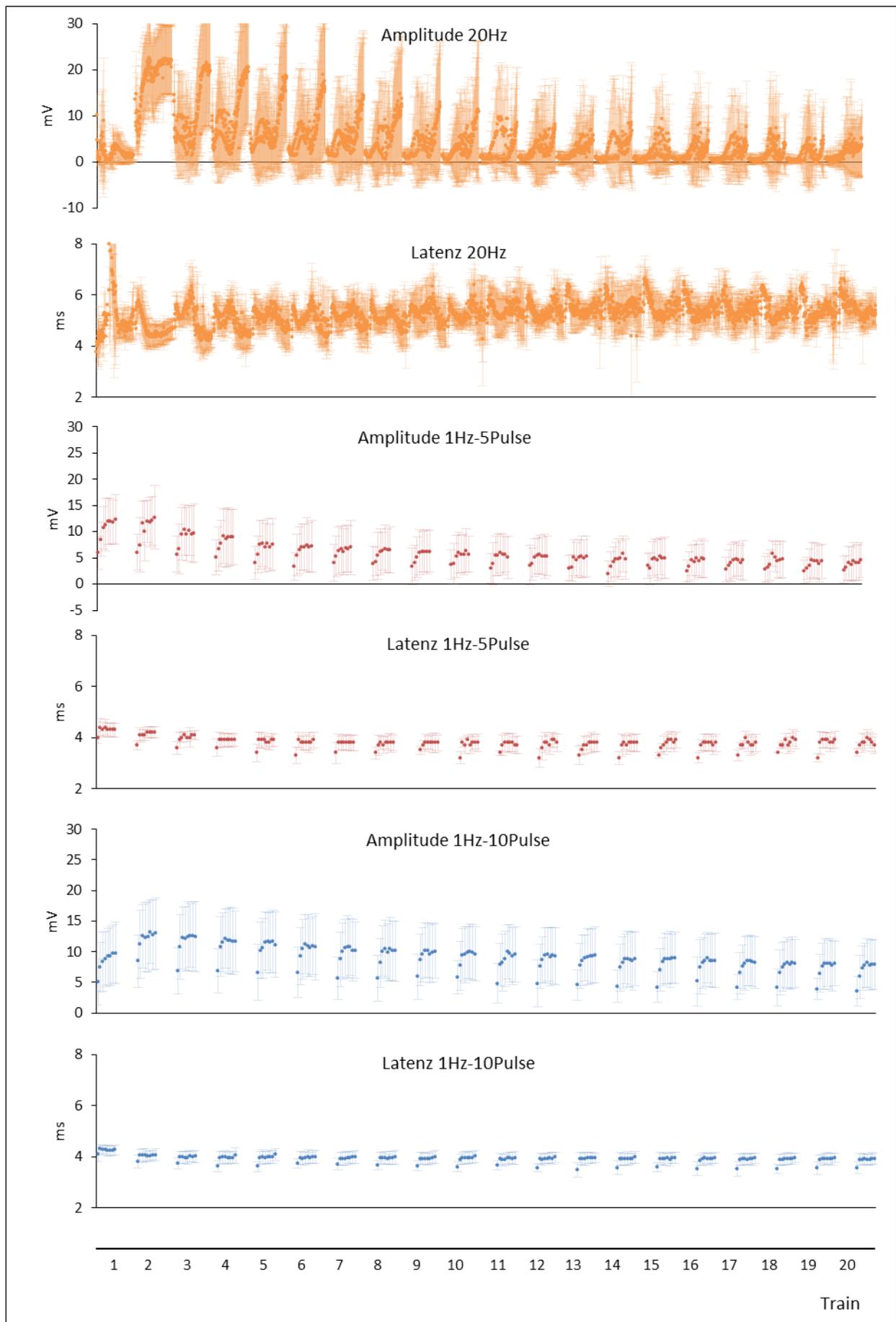


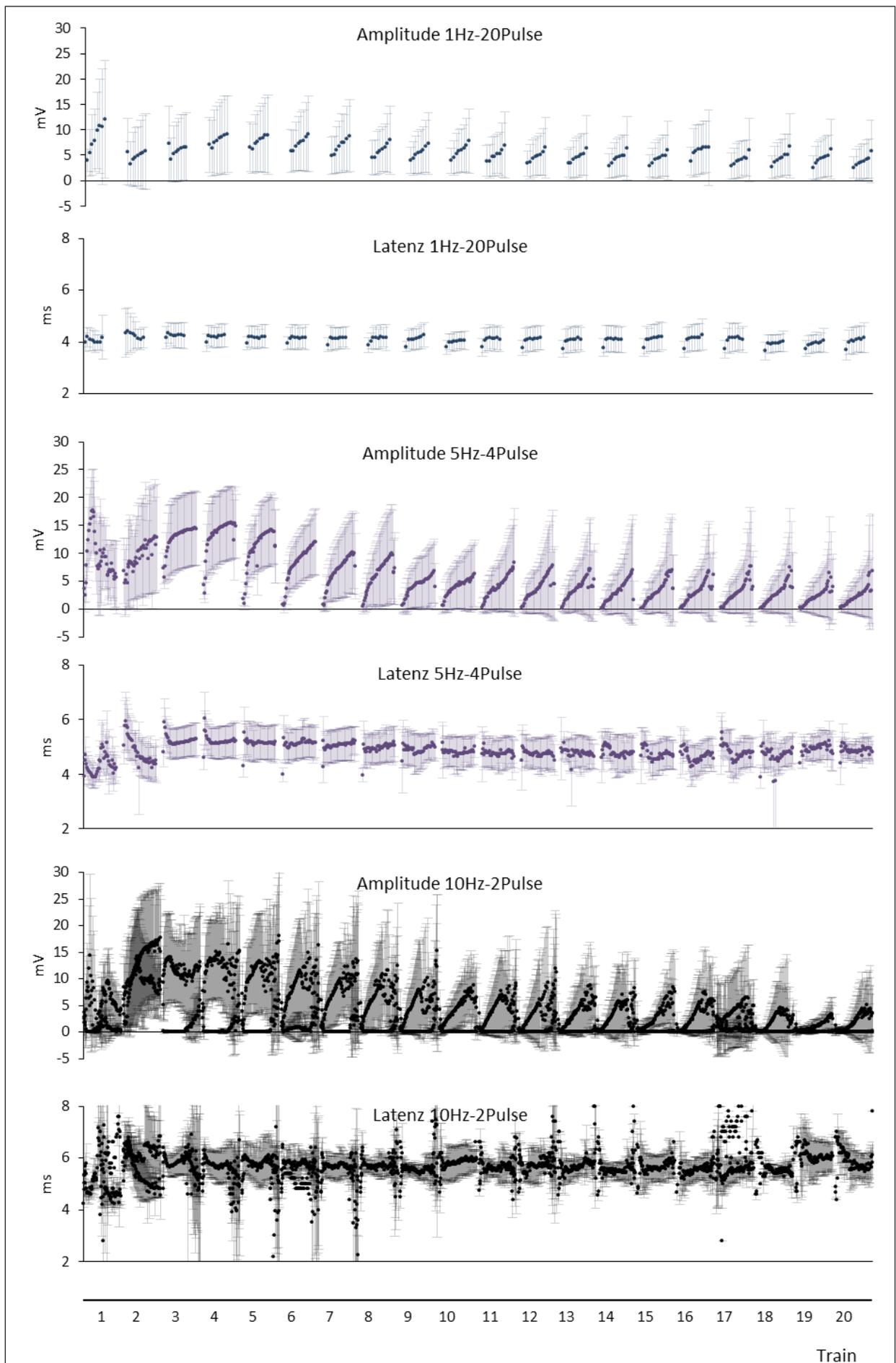


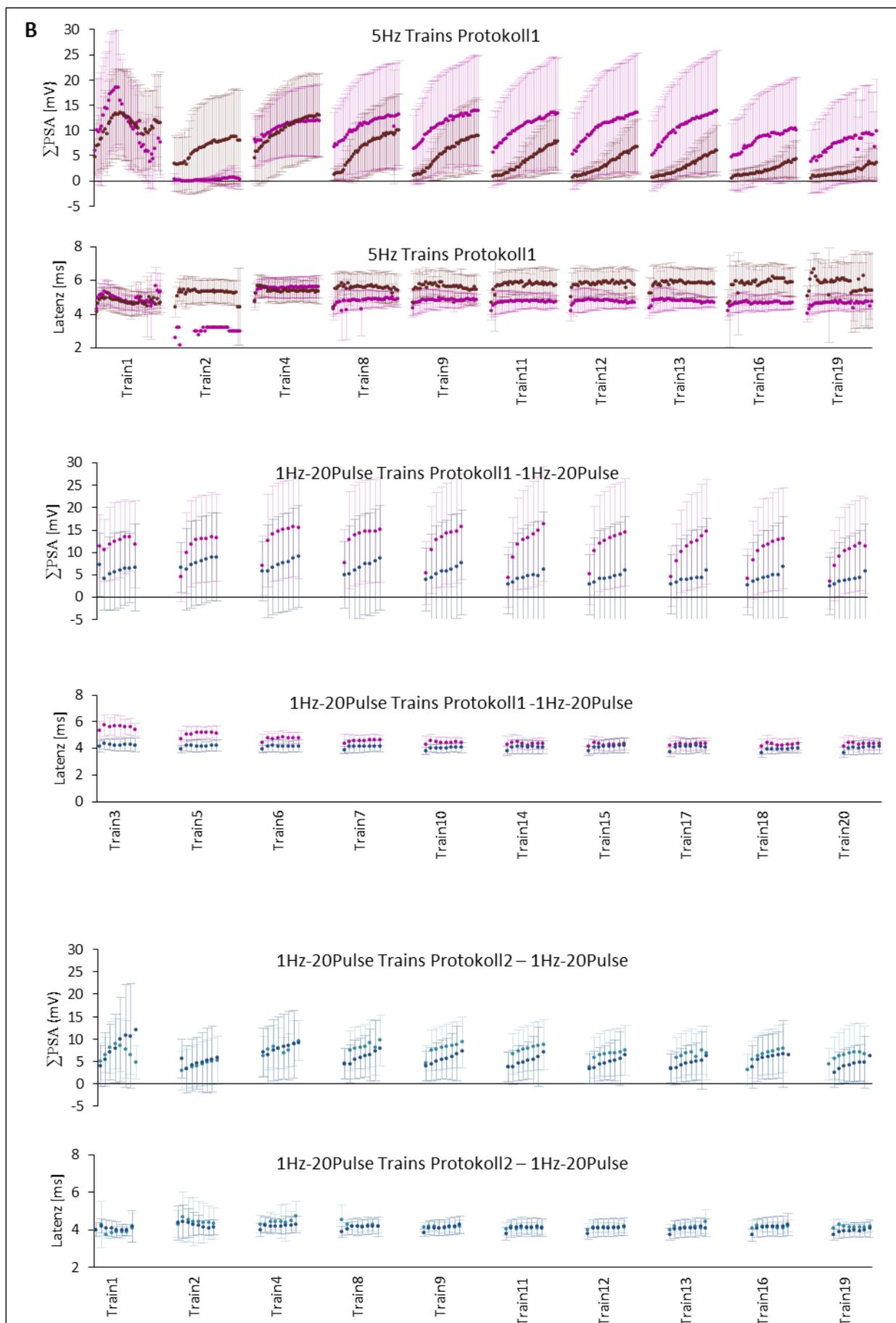
**Abbildung A4.1.1 | BOLD Verlauf im rechten dorsalen Hippocampus für die in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle**

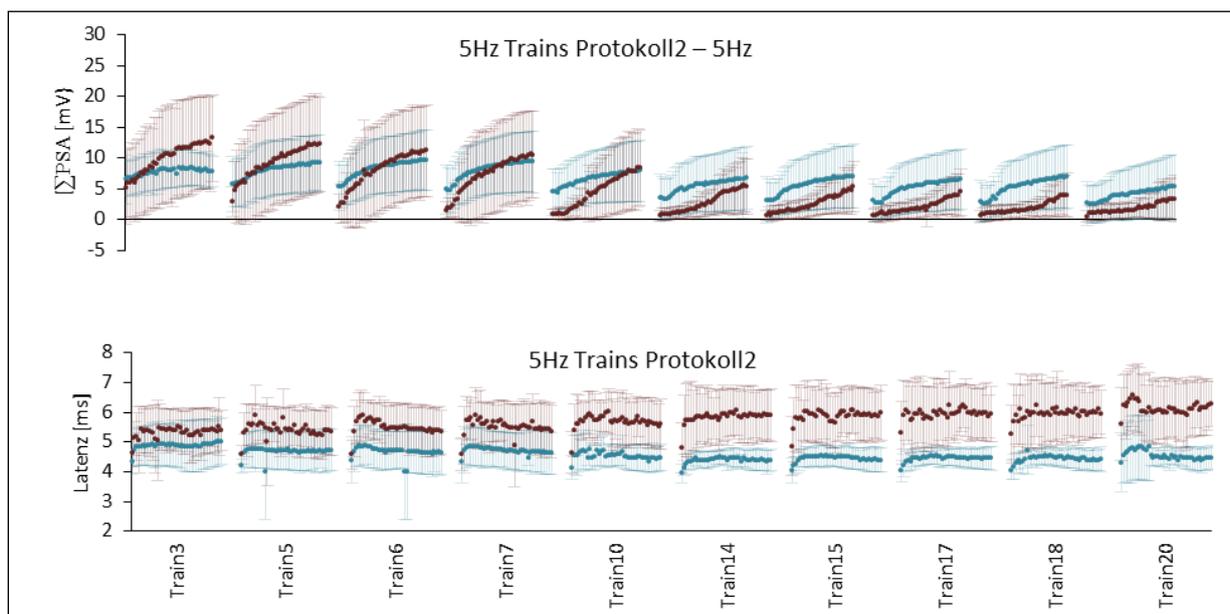
Verlauf der BOLD Signalintensitäten über die gesamte Messung (660 Wiederholungen  $\cong$  22 Minuten). Neuronale Nachentladungen sind im BOLD Signal daran zu erkennen, dass die Signalintensität nach Stimulation nicht auf Baselinenniveau abfällt. Der BOLD Signalverlauf ist mit Standardabweichungen dargestellt.











**Abbildung A4.1.2 | Elektrophysiologie für die in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle**

A: Stimulationsprotokolle, bei denen durchgehend mit demselben Frequenzmuster stimuliert wurde. Verlauf der PSA und der Latenz für alle gemessenen Populationsspikes innerhalb einer kombinierten fMRT/Elektrophysiologie Messung, bei der der *Tractus perforans* pro *Train* für 8 Sekunden stimuliert wurde. Für die verschiedenen Protokolle wurde eine unterschiedliche Anzahl von Populationsspikes gemessen. B: Elektrophysiologie für Protokoll 1 (pink) und Protokoll 2 (türkis) im Vergleich zum 1 Hz-20 Pulse Protokoll (dunkelblau) und zum 5 Hz Protokoll (dunkelrot). Verglichen wurden jeweils die *Trains*, in denen dasselbe Stimulationsmuster verwendet wurde. Zu sehen sind die gemessenen, nicht normalisierten Werte für die Amplitude der Populationsspikes und die zugehörigen Latenzen. Alle Werte sind mit Standardabweichungen angegeben.

Stimulationsprotokoll	Train 1			Train 4			Abfall Train 4-20			N (Anzahl)
	<i>M</i>	SD	<i>Mdn</i> [%]	<i>M</i>	SD	<i>Mdn</i> [%]	<i>M</i>	SD	<i>Mdn</i> [%]	
1 Hz	100,28	0,48	100,13	100,42	0,44	100,32	-0,002	0,008	-0,001	7
5 Hz	101,90	0,56	101,74	100,96	0,60	100,89	-0,037	0,034	-0,034	10
10 Hz	102,38	0,46	102,20	102,35	1,03	101,90	-0,119	0,060	-0,106	8
20 Hz	102,86	0,31	102,84	103,79	0,57	103,61	-0,143	0,036	-0,133	10
1 Hz-5 Pulse	101,02	0,48	101,11	100,90	0,32	100,82	-0,014	0,012	-0,010	8
1 Hz-10 Pulse	101,49	0,67	101,34	101,51	0,33	101,61	0,020	0,004	-0,006	7
1 Hz-20 Pulse	102,49	1,05	102,53	101,70	0,54	101,65	-0,013	0,032	-0,013	9
5 Hz-4 Pulse	102,77	0,75	102,64	101,76	0,86	101,64	-0,061	0,040	-0,066	8
10 Hz-2 Pulse	102,74	0,53	102,61	103,37	0,89	103,37	-0,119	0,036	-0,108	9
Protokoll 1	102,25	0,54	102,25	100,80	0,57	100,67	-0,014	0,026	-0,003	10
Protokoll 2	102,61	1,32	102,57	101,61	0,46	101,72	-0,031	0,032	-0,036	9

**Tabelle A4.1.1 | BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus für alle in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle**

Mittelwerte (*M*), Standardabweichungen (SD standard deviation) und Median (*Mdn*) für die BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus. Dabei sind die *Trains* 1 und vier, sowie der Signalabfall der maximalen BOLD Signal Intensität von *Train* 4-20 aufgeführt. Der Signalabfall ist als Steigung der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 angegeben und dient zur Beurteilung der Adaptation der BOLD Signale im rechten dorsalen Hippocampus, also der Region, in der sich die Ableitelektrode befindet.

Stimulationsprotokoll	Train 1			Train4			Abfall Train 4-20			N (Anzahl)
	M	SD	Mdn [mV]	M	SD	Mdn [mV]	M	SD	Mdn	
1 Hz	0,85	0,27	0,89	0,74	0,50	0,67	-0,04	0,04	-0,02	7
5 Hz	182,70	247,21	74,31	119,96	119,79	89,57	-5,16	4,02	-4,76	10
10 Hz	136,66	86,08	113,42	239,75	152,73	213,53	-12,04	8,79	-9,67	8
20 Hz	87,26	84,17	62,74	351,15	210,69	330,31	-15,78	11,38	-13,20	10
1 Hz-5 Pulse	2,01	0,68	1,88	1,09	0,54	1,10	-0,03	0,02	-0,04	8
1 Hz-10 Pulse	1,57	0,49	1,44	2,19	0,76	1,85	-0,05	0,02	-0,05	7
1 Hz-20 Pulse	3,53	3,30	1,68	4,09	4,59	1,96	-0,12	0,13	-0,09	9
5 Hz-4 Pulse	245,38	313,23	92,04	365,89	459,91	129,79	-12,75	14,26	-6,41	8
10 Hz-2 Pulse	271,99	298,12	114,77	494,32	498,12	249,74	-25,49	26,15	-14,35	9
Protokoll 1	100,55	65,48	97,74	83,91	4,05	84,80	-1,66	1,15	-1,87	10
Protokoll 2	1,83	0,90	1,68	2,15	1,62	1,38	-1,72	1,20	-1,99	9

**Tabelle A4.1.2 | Amplituden der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für alle in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle**

Mittelwerte (*M*), Standardabweichungen (*SD*) und Median (*Mdn*) für die Summe der Amplituden aller Populationsspikes innerhalb eines *Trains*. Damit soll die neuronale Ausgangsaktivität untersucht werden. Für die verschiedenen Stimulationsprotokolle wurde eine unterschiedliche Anzahl von Populationsspikes/*Train* gemessen. Es sind die *Trains* 1 und 4 sowie der Signalabfall der Summen der Populationsspikes aufgeführt. Der Signalabfall ist als Steigung der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 angegeben und dient zur Beurteilung der Adaptation des neuronalen Antwortverhaltens.

Stimulationsprotokoll	Train 1			Train 4			Abfall Train 4-20			N (Anzahl)
	M [ms]	SD	Mdn [ms]	M [ms]	SD	Mdn [ms]	M [ms]	SD	Mdn	
1 Hz	4,76	0,57	4,55	4,04	0,36	3,93	0,000	0,008	0,001	7
5 Hz	4,76	0,57	4,55	5,37	0,64	5,28	0,036	0,033	0,030	10
10 Hz	4,99	0,38	5,26	6,04	0,66	6,55	0,072	0,003	0,001	8
20 Hz	4,97	0,50	5,16	4,76	0,30	4,80	0,039	0,038	0,041	10
1 Hz-5 Pulse	4,28	0,27	4,30	3,87	0,26	3,93	-0,011	0,007	-0,009	8
1 Hz-10 Pulse	4,04	0,19	4,01	3,73	0,03	3,78	-0,005	0,003	-0,005	7
1 Hz-20 Pulse	4,12	0,26	4,17	4,23	0,39	4,25	-0,009	0,026	-0,003	9
5 Hz-4 Pulse	4,24	0,19	4,25	5,27	0,51	5,28	-0,037	0,043	-0,044	8
10 Hz-2 Pulse	4,85	0,12	4,84	5,42	0,43	5,53	0,000	0,052	0,004	9
Protokoll 1	4,93	0,49	4,98	5,55	0,63	5,15	-0,048	0,022	-0,046	10
Protokoll 2	3,97	0,28	3,91	4,50	0,59	4,48	0,005	0,011	-0,002	9

**Tabelle A4.1.3 | Latenzen der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für alle in Experiment 1-4 verwendeten Stimulationsprotokolle**

Mittelwerte (*M*), Standardabweichungen (*SD*) und Median (*Mdn*) für die Mittelwerte aller Latenzen der Populationsspikes innerhalb eines *Trains*. Damit soll die neuronale Ausgangsaktivität untersucht werden. Dabei sind die *Trains* 1 und 4 sowie die Veränderung der Latenz von *Train* 4-20 aufgeführt. Der Signalabfall ist als Steigung der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 angegeben und dient zur Beurteilung der Veränderung des neuronalen Antwortverhaltens. Kürzere Latenzen bedeuten ein schnelleres Antworten der Granularzellen auf die elektrische Stimulation des *Tractus perforans*.

Experiment 1

<b>Train 1</b>			<b>Train 4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008	<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,044</b>	0,050	<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,017</b>	0,025
<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,002</b>	0,017	<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,002</b>	0,013	<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,002</b>	0,010
<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,010	<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,010	<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,010
5 Hz-10 Hz	0,084	0,050	5 Hz-10 Hz	<b>0,002</b>	0,017	5 Hz-10 Hz	<b>0,002</b>	0,017
<b>5 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,013	<b>5 Hz-20 Hz</b>	<b>0,000</b>	0,008	<b>5 Hz-20 Hz</b>	<b>0,000</b>	0,008
<b>10 Hz-20 Hz</b>	<b>0,046</b>	0,025	<b>10 Hz-20 Hz</b>	<b>0,015</b>	0,025	10 Hz-20 Hz	0,142	0,050

**Tabelle A4.1.4 | Statistik zu den Vergleichen der BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus für Experiment 1**

Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist für die BOLD Signalintensitäten die Gruppe, die die höheren Werte enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokolle (verwendete Protokolle: 1 Hz, 5 Hz, 10 Hz, 20 Hz) in der BOLD Signalintensität im ersten und im vierten *Train*, so wie in der Adaptation der BOLD Signalintensitäten unterscheiden. Dabei führen höhere Stimulationsfrequenzen im vierten *Train* zu einer höheren BOLD Signalintensität. im rechten dorsalen Hippocampus. Der Abfall des BOLD Signals wird mit steigender Frequenz größer. Die Erhöhung der Stimulationsfrequenz führte in Experiment 1 zu einer höheren Anzahl von Populationsspikes/*Train*.

<b>Train 1</b>			<b>Train 4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008	<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,010	<b>1 Hz-5 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008
<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,002</b>	0,013	<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008	<b>1 Hz-10 Hz</b>	<b>0,002</b>	0,013
<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008	<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,010	<b>1 Hz-20 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008
5 Hz-10 Hz	0,503	0,050	5 Hz-10 Hz	<b>0,037</b>	0,017	5 Hz-10 Hz	0,069	0,025
<b>5 Hz-20 Hz</b>	0,308	0,025	<b>5 Hz-20 Hz</b>	<b>0,009</b>	0,013	<b>5 Hz-20 Hz</b>	<b>0,007</b>	<b>0,017</b>
<b>10 Hz-20 Hz</b>	0,168	0,017	10 Hz-20 Hz	0,230	0,050	10 Hz-20 Hz	0,447	0,050

### Tabelle A4.1.5 | Statistik zu den Vergleichen der Amplituden der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 1

Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist die Gruppe, die die höheren Werte für die Summe der Populationsspikes enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte).



<i>Train 1</i>			<i>Train 4</i>			<i>Abfall Train 4-20</i>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
<b>1 Hz-5 Hz</b>	0,013	0,013	<b>1 Hz-5 Hz</b>	0,002	0,008			
<b>1 Hz-10 Hz</b>	0,002	0,008	<b>1 Hz-10 Hz</b>	0,003	0,025			
<b>1 Hz-20 Hz</b>	0,003	0,010	<b>1 Hz-20 Hz</b>	0,003	0,017			
<b>5 Hz-10 Hz</b>	0,046	0,017	<b>5 Hz-10 Hz</b>	0,019	0,013			nicht signifikant unterschiedlich
<b>5 Hz-20 Hz</b>	0,162	0,025	<b>5 Hz-20 Hz</b>	0,142	0,050			
<b>10 Hz-20 Hz</b>	0,503	0,050	<b>10 Hz-20 Hz</b>	0,003	0,017			

### Tabelle A4.1.6 | Statistik zu den Vergleichen der Latenzen der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 1

Dargestellt sind die angepassten  $\alpha$ -Niveau Werte, so wie die mit dem Mann-Whitney-U-Test berechneten Signifikanzwerte. Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist die Gruppe, die die höheren Werte für die Latenz der Populationsspikes enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Die Gruppe der Tiere, die mit dem 1 Hz Protokoll gemessen wurde hatte signifikant geringere Werte für die Latenzen der Populationsspikes als die Tiere, die mit den anderen in Experiment 1 verwendeten Stimulationsprotokollen gemessen wurden.

Experiment 2

<b>Train 1</b>			<b>Train 4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
1 Hz-1 Hz-5 Pulse	0,024	0,017	1 Hz-1 Hz-5 Pulse	0,032	0,050			
1 Hz-1 Hz-10 Pulse	0,007	0,013	1 Hz-1 Hz-10 Pulse	0,005	0,017			
1 Hz-1 Hz-20 Pulse	0,001	0,008	1 Hz-1 Hz-20 Pulse	0,001	0,008			
1 Hz-10 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,038	0,025	1 Hz-10 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,003	0,010	nicht signifikant unterschiedlich		
1 Hz-5 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,003	0,010	1 Hz-5 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,004	0,013			
1 Hz-5 Pulse-1 Hz-10 Pulse	0,119	0,050	1 Hz-5 Pulse-1 Hz-10 Pulse	0,009	0,025			

**Tabelle A4.1.7 | Statistik zu den Vergleichen der BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus für Experiment 2**

Angegeben sind die angepassten  $\alpha$ -Niveau Werte, so wie die mit dem Mann-Whitney-U-Test errechneten Signifikanzwerte. Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist für die BOLD Signalintensitäten die Gruppe, die die höheren Werte enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich die in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokolle, bei denen die Anzahl der Pulse pro Burst erhöht wurde in der Signalintensität im ersten und im vierten *Train* unterscheiden, wobei die Adaptation des BOLD Signals nicht signifikant unterschiedlich war. Dabei führen höhere Stimulationsfrequenzen im ersten und im vierten *Train* zu einer höheren BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus. Die Erhöhung der Anzahl der Pulse führte in Experiment 2 zur gleichen Anzahl von Populationsspikes (8)/*Train*.

<b>Train 1</b>			<b>Train 4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
1 Hz-1 Hz-5 Pulse	0,002	0,008	1 Hz-1 Hz-5 Pulse	0,271	0,025			
1 Hz-1 Hz-10 Pulse	0,018	0,013	1 Hz-1 Hz-10 Pulse	0,005	0,008			
1 Hz-1 Hz-20 Pulse	0,002	0,010	1 Hz-1 Hz-20 Pulse	0,002	0,010			
1 Hz-10 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,246	0,017	1 Hz-10 Pulse-1 Hz-20Pulse	0,834	0,050	nicht signifikant unterschiedlich		
1 Hz-5 Pulse-1 Hz-5 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,667	0,050	1 Hz-5 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,049	0,017			
1 Hz-5 Pulse-1 Hz-10 Pulse	0,184	0,025	1 Hz-5 Pulse-1 Hz-10 Pulse	0,007	0,013			

### Tabelle A4.1.8 | Statistik zu den Vergleichen der Amplituden der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 2

Es sind in dieser Tabelle die angepassten  $\alpha$ -Niveau Werte, sowie die mit dem Mann-Whitney-U-Test berechneten Signifikanzwerte angegeben. Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist die Gruppe, die die höheren Werte für die Summe der Populationsspikes enthält, fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Die Latenzen der Populationsspikes waren weder im ersten noch im vierten *Train* signifikant unterschiedlich zwischen den in Experiment 2 verwendeten Stimulationsprotokollen.



### Experiment 3

<i>Train 1</i>	<i>Train4</i>			<i>Abfall Train 4-20</i>		
Vergleich	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
	<b>20 Hz-5 Hz-4 Pulse</b>	0,001	0,013	<b>20 Hz-5 Hz-4 Pulse</b>	0,002	0,013
	20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,204	0,025	20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,095	0,050
<b>nicht signifikant unterschiedlich</b>	<b>20 Hz-1 Hz-20 Pulse</b>	0,000	0,008	<b>20 Hz-1 Hz-20 Pulse</b>	0,000	0,008
	<b>5 Hz-4 Pulse- 1 Hz-20 Pulse</b>	0,772	0,050	<b>5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	0,007	0,025
	5 Hz-4 Pulse- <b>10 Hz-2 Pulse</b>	0,005	0,017	5 Hz-4 Pulse- <b>10 Hz-2 Pulse</b>	0,005	0,017
	<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	0,000	0,010	<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	0,000	0,010

### Tabelle A4.1.9 | Statistik zu den Vergleichen der BOLD Signalintensitäten im rechten dorsalen Hippocampus für Experiment 3

Dargestellt sind die angepassten  $\alpha$ -Niveau Werte, so wie die mit dem Mann-Whitney-U-Test berechneten Signifikanzwerte. Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist für die BOLD-Signalintensitäten die Gruppe, die die höheren Werte enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Verteilung der Pulse innerhalb des Stimulationsmusters für die Entwicklung des BOLD Signals im rechten dorsalen Hippocampus entscheidend ist, während im ersten *Train* die gleiche Anzahl an Pulsen zu einer ähnlichen BOLD Signalintensität führt.

<b>Train 1</b>			<b>Train4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
20 Hz-5 Hz-4 Pulse	0,168	0,025	20 Hz-5 Hz-4 Pulse	0,308	0,025			
20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,066	0,017	20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,968	0,050			
<b>20 Hz-1 Hz-20Pulse</b>	<b>0,000</b>	0,008	<b>20 Hz-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,000</b>	0,008			
<b>5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,001</b>	0,013	<b>5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,001</b>	0,013	nicht signifikant unterschiedlich		
5 Hz-4 Pulse-10 Hz-2 Pulse	0,810	0,050	5 Hz-4 Pulse-10 Hz-2 Pulse	0,230	0,017			
<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,000</b>	0,010	<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,000</b>	0,010			

**Tabelle A4.1.10 | Statistik zu den Vergleichen der Amplituden der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 3**

Dargestellt sind die angepassten  $\alpha$ -Niveau Werte, so wie die mit dem Mann-Whitney-U-Test berechneten Signifikanzwerte. Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist die Gruppe, die die höheren Werte für die Summe der Populationsspikes enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains* 4-20 enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Da durch das 1 Hz-20 Pulse nur 8 Populationsspikes ausgelöst wurden, waren die Werte für die Summe der Amplituden für dieses Stimulationsprotokoll am geringsten.

<b>Train 1</b>			<b>Train 4</b>			<b>Abfall Train 4-20</b>		
Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert	Vergleich	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
<b>20 Hz-5 Hz-4 Pulse</b>	<b>0,005</b>	0,017	20 Hz-5 Hz-4 Pulse	0,267	0,025	20 Hz-5 Hz-4 Pulse	0,0128	0,008
<b>20 Hz-10 Hz-2Pulse</b>	0,542	0,050	20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,131	0,017	20 Hz-10 Hz-2 Pulse	0,1285	0,013
<b>20 Hz-1 Hz-20Pulse</b>	<b>0,002</b>	0,013	20 Hz-1 Hz-20Pulse	0,055	0,013	20 Hz-1 Hz-20Pulse	0,0404	0,010
5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,313	0,025	<b>5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,002</b>	0,010	5 Hz-4 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,3271	0,025
5 Hz-4 Pulse- <b>10 Hz-2 Pulse</b>	<b>0,002</b>	0,010	5 Hz-4 Pulse-10 Hz-2 Pulse	0,667	0,050	5 Hz-4 Pulse-10 Hz-2 Pulse	0,2225	0,017
<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,001</b>	0,008	<b>10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse</b>	<b>0,002</b>	0,008	10 Hz-2 Pulse-1 Hz-20 Pulse	0,7114	0,050

**Tabelle A4.1.11 | Statistik zu den Vergleichen der Latenzen der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 3**

Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden anschließend mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert und das entsprechende  $\alpha$ -Niveau angegeben. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dabei ist die Gruppe, die die höheren Werte für die Latenz der Populationsspikes enthält fett gedruckt. Für den Abfall der Ausgleichsgeraden der *Trains 4-20* enthält die fett gedruckte Gruppe den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Das 1 Hz-20Pulse Protokoll führte zu relativ hohen Standartabweichungen.

←

---

<b>Abfall <i>Train</i> 4-20</b>		
<b>Vergleich</b>	<i>p</i> -Wert	$\alpha$ korrigiert
<b>Protokoll 1-5 Hz</b>	<b>0,001</b>	0,008
Protokoll 2-5 Hz	0,131	0,017
<b>Protokoll 1-Protokoll 2</b>	<b>0,001</b>	0,008
Protokoll 1-1 Hz-20 Pulse	0,056	0,010
Protokoll 2-1 Hz-20 Pulse	1,000	0,050
1 Hz-20 Pulse-5 Hz	0,197	0,025

**Tabelle A4.1.12 | Verlauf der Latenzen der Populationsspikes in der Granularzellschicht des *Gyrus dentatus* für Experiment 4**

Die mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführten Paarvergleiche wurden mit der Bonferroni-Holm-Prozedur korrigiert. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die fett gedruckte Gruppe markiert den stärkeren Signalabfall (kleinere Werte). Der Anstieg der Latenz, der bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll beobachtet wurde, wurde durch Mischen der Stimulationsfrequenzen vermindert.

<i>Train</i> 1	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
<b>re HP</b>	101,70	101,94	-0,11	0,917	0,04
li HP	100,42	100,15	-1,15	0,249	0,47
<b>re NAcc</b>	100,43	100,36	-0,11	0,917	0,64
li NAcc	100,48	100,07	-1,57	0,116	0,64
mPFC	100,57	100,74	-0,11	0,917	0,04
VTA/Sn	100,31	100,46	-0,31	0,753	0,13
Septum	100,51	100,34	-1,57	0,116	0,64
<b>re Striatum</b>	100,38	100,29	-0,73	0,463	0,30
li Striatum	100,19	100,19	-0,31	0,753	0,13
<b>re dorsal HP</b>	102,08	102,35	-0,31	0,753	0,13
li dorsal HP	100,66	100,48	-0,31	0,753	0,13
<b>BLA</b>	100,65	100,37	-0,31	0,753	0,64
<b>VDB</b>	100,64	100,18	-2,20	<b>0,028</b>	0,90
<b>re EC</b>	103,03	104,25	-1,57	0,116	0,64
li EC	100,57	101,15	-2,20	<b>0,028</b>	0,90

**Tabelle A4.2.1.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne Stimulation zwischen den Messzeitpunkten**

Verglichen wurde hier der erste *Train*, da dieser am ersten Tag als naive Bedingung betrachtet werden kann. Die BOLD Signalintensitäten wurden dabei mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden (keine signifikante Aktivität im VDB). Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsal HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsal HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala,

VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands , re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. Im VDB traten keine signifikant aktivierten Voxel auf, so dass in keiner der aktivierten Regionen Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten nachgewiesen wurden.



<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,40	101,83	-0,94	0,345	0,38
li HP	100,29	100,31	-0,94	0,345	0,38
re NAcc	100,28	100,33	-1,57	0,116	0,64
li NAcc	100,32	100,34	-0,11	0,917	0,04
mPFC	100,54	100,53	-1,36	0,173	0,56
VTA/Sn	100,34	100,43	-0,52	0,600	0,21
Septum	100,51	100,64	-2,20	0,028	0,90
re Striatum	100,22	100,28	-1,78	0,075	0,73
li Striatum	100,25	100,27	-0,73	0,463	0,30
re dorsal HP	101,74	102,09	-1,15	0,249	0,47
li dorsal HP	100,49	100,42	-0,11	0,917	0,04
BLA	100,61	100,60	-0,31	0,753	0,13
VDB	100,62	100,63	-0,31	0,735	0,13
re EC	102,73	103,83	-0,31	0,735	0,13
li EC	100,67	100,92	-1,36	0,173	0,56

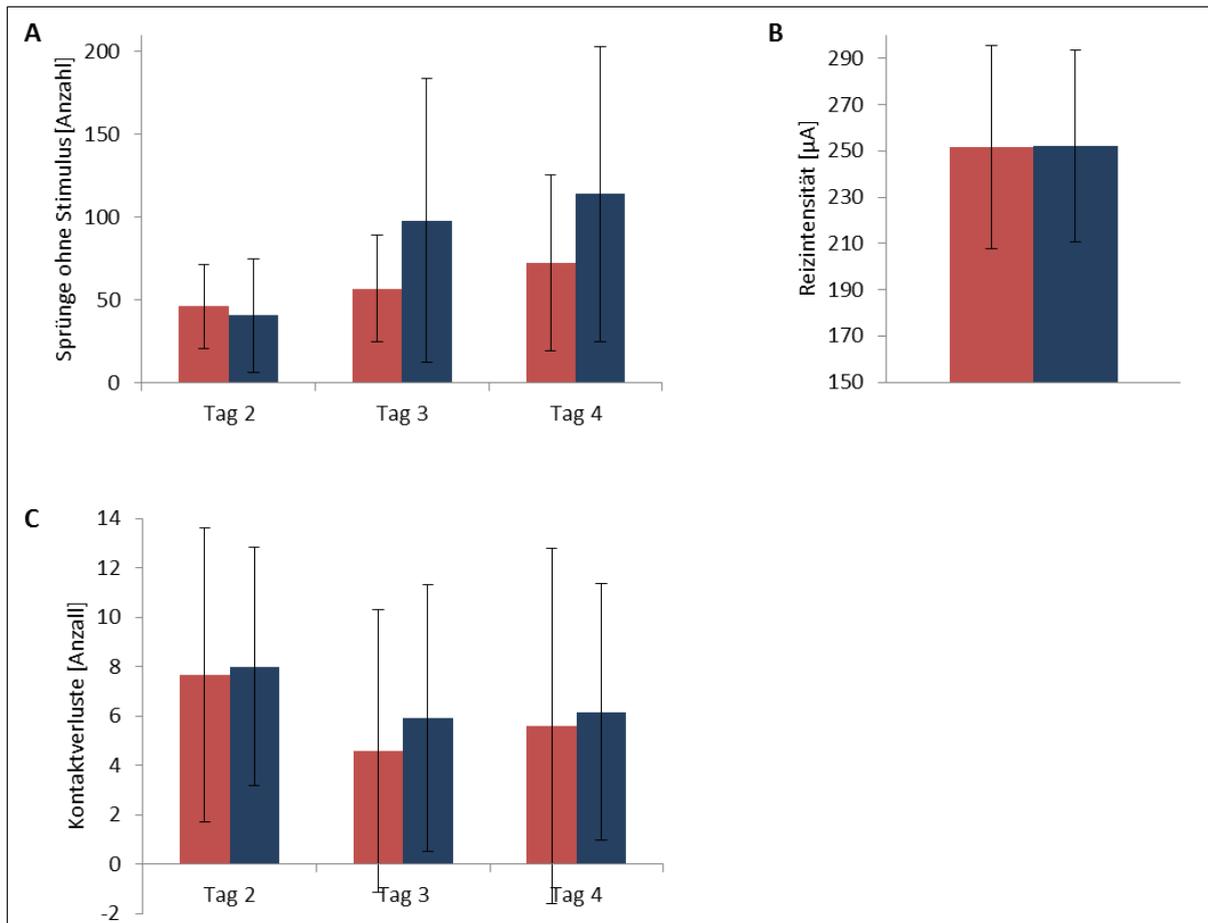
**Tabelle A4.2.1.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll ohne Stimulation zwischen den Messzeitpunkten**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Train s3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsal HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsal HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands , re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,89	101,78	-0,41	0,686	0,17
li HP	101,55	101,15	-0,14	0,893	0,06
re NAcc	100,38	100,38	-0,14	0,893	0,06
li NAcc	100,42	100,46	-0,14	0,893	0,06
mPFC	100,14	100,35	-1,75	0,080	0,72
VTA/Sn	100,56	100,57	-0,94	0,345	0,39
Septum	101,53	101,23	-1,21	0,225	0,50
re Striatum	100,20	100,15	-0,41	0,686	0,17
li Striatum	100,28	100,34	-1,48	0,138	0,61
re dorsaler HP	102,07	102,35	-0,67	0,500	0,28
li dorsaler HP	102,42	101,86	-0,67	0,500	0,28
BLA	100,66	100,69	-0,14	0,893	0,06
VDB	100,82	100,76	-0,41	0,686	0,17
re EC	100,62	100,70	-0,67	0,500	0,28
li EC	101,88	102,23	-0,94	0,345	0,39

**Tabelle A4.2.1.3 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten im ersten *Train* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll ohne Stimulation zwischen den Messzeitpunkten**

Verglichen wurde hier der erste *Train*, da dieser am ersten Tag als naive Bedingung betrachtet werden kann. Die BOLD Signalintensitäten wurden dabei mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden (keine signifikante Aktivität im VDB). Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.



**Abbildung A4.2.2.1 | Vergleich möglicher Einflussfaktoren auf das Lernverhalten während des Shuttle-Box Trainings an Tag 2- Tag 4**

A: Sprünge zwischen den *Trains* an allen vier Trainingstagen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Tieren, die mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll und Tieren, die mit dem 5 Hz Protokoll trainiert wurden gefunden. Dargestellt sind die Sprünge pro Tag mit Standardabweichungen. B: Vergleich der Reizintensitäten. Die Reizintensität war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen. C: Verlust des Steckkontakts zwischen Stecker des Reizkabels und Reizelektrode. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren ebenfalls nicht signifikant. Blau: mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll trainierte Tiere, rot: mit dem 5 Hz Protokoll trainierte Tiere.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,87	102,10	-1,24	0,22	0,36
li HP	100,90	101,37	-0,53	0,60	0,15
re NAcc	100,43	100,85	-1,78	0,08	0,51
li NAcc	100,37	100,49	-1,78	0,08	0,51
mPFC	100,45	101,23	-2,26	0,02	0,65
VTA/Sn	100,34	100,64	-1,00	0,32	0,29
Septum	100,57	100,88	-1,78	0,08	0,51
re Striatum	100,31	100,59	-1,63	0,10	0,47
li Striatum	100,30	100,19	0,22	0,83	0,06
re dorsaler HP	100,44	100,86	-0,14	0,89	0,04
li dorsaler HP	101,13	101,59	-0,14	0,89	0,04
BLA	100,50	101,64	-2,96	0,00	0,85
VDB	100,34	100,76	-2,18	0,03	0,63
re EC	103,36	104,38	-2,18	0,03	0,66
li EC	101,30	102,32	-2,65	0,01	0,76

**Tabelle A4.2.2.2.1.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für den ersten *Train* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS in der Shuttle-Box**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,14	101,44	-2,80	0,01	-0,81
li HP	100,33	100,55	-1,71	0,09	-0,49
re NAcc	100,38	100,48	-2,10	0,04	-0,61
li NAcc	100,29	100,29	-0,22	0,83	-0,06
mPFC	100,40	100,54	-2,33	0,02	-0,67
VTA/Sn	100,36	100,41	-1,08	0,28	-0,31
Septum	100,42	100,55	-1,78	0,08	-0,51
re Striatum	100,25	100,27	-0,76	0,45	-0,22
li Striatum	100,26	100,24	1,31	0,19	0,38
re dorsaler HP	101,30	101,50	-1,78	0,08	-0,51
li dorsaler HP	100,47	100,47	-0,53	0,60	-0,15
BLA	100,37	100,51	-2,80	0,01	-0,81
VDB	100,51	100,69	-1,78	0,08	-0,51
re EC	102,38	103,65	-2,96	0,00	-0,89
li EC	101,36	101,84	-2,18	0,03	-0,63

**Tabelle A4.2.2.2.1.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für die *Trains 3-20* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll als CS in der Shuttle-Box**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,84	101,87	0,45	0,65	0,13
li HP	101,29	101,30	0,45	0,65	0,13
re NAcc	100,42	100,65	-1,94	0,05	0,56
li NAcc	100,30	100,34	-0,76	0,45	0,22
mPFC	100,34	100,53	-1,16	0,25	0,33
VTA/Sn	100,47	100,43	0,61	0,54	0,18
Septum	100,82	101,34	-1,47	0,14	0,42
re Striatum	100,26	100,26	1,00	0,32	0,29
li Striatum	100,30	100,15	0,61	0,54	0,18
re dorsaler HP	102,15	102,01	0,69	0,49	0,20
li dorsaler HP	101,70	101,52	0,61	0,54	0,18
BLA	100,33	101,10	-1,00	0,32	0,29
VDB	100,43	100,99	-2,57	0,01	0,74
re EC	101,85	102,95	-1,15	0,25	0,33
li EC	100,78	101,00	-0,53	0,60	0,15

**Tabelle A4.2.2.2.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für den ersten *Train* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll als CS in der Shuttle-Box**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Vergleich Tag 1-Tag 5		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	100,74	100,62	-0,67	0,500	0,28
li HP	100,22	100,28	-2,02	0,043	0,83
re NAcc	100,29	100,30	-0,67	0,500	0,28
li NAcc	100,30	100,30	-0,41	0,686	0,17
mPFC	100,38	100,37	-0,67	0,500	0,28
VTA/Sn	100,38	100,35	-0,14	0,893	0,06
Septum	100,37	100,39	-1,21	0,225	0,50
re Striatum	100,21	100,25	-1,75	0,080	0,08
li Striatum	100,23	100,25	-0,67	0,500	0,28
re dorsaler HP	100,89	100,70	-0,67	0,500	0,28
li dorsaler HP	100,31	100,36	-0,67	0,500	0,28
BLA	100,43	100,42	-0,41	0,686	0,17
VDB	100,46	100,38	-2,02	0,043	0,83
re EC	100,58	100,60	-0,14	0,893	0,06
li EC	101,47	101,46	-0,67	0,500	0,28

**Tabelle A4.2.2.2.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1 und an Tag 5 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll als CS in der Shuttle-Box**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Die entsprechenden Werte sind in dieser Tabelle aufgeführt. Es wurde in keiner signifikant aktivierten Region ein Unterschied zwischen den beiden Messzeitpunkten gefunden. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,79	102,33	102,48	-1,68	0,09	0,49	-1,26	0,21	0,05	-0,14	0,89	0,20
li HP	100,90	101,14	101,16	-0,14	1,00	0,05	-0,14	1,00	0,05	0,00	1,00	0,00
re NAcc	100,39	100,87	100,41	-1,40	0,16	0,49	-0,14	0,89	0,05	-0,56	0,58	0,20
li NAcc	100,45	100,49	100,41	-0,70	0,48	0,25	-0,28	0,78	0,00	0,00	1,00	0,00
mPFC	100,31	101,09	100,81	-1,68	0,09	0,49	-2,38	0,02	0,05	-1,68	0,89	0,20
VTA/Sn	100,39	100,69	100,38	-1,26	0,21	0,45	-0,42	0,21	0,15	-1,12	0,26	0,40
Septum	100,48	100,93	100,77	-2,54	0,01	0,90	-2,38	0,02	0,84	-1,18	0,26	0,42
re Striatum	100,27	100,74	100,51	-2,22	0,03	0,79	-0,42	0,67	0,15	-1,26	0,21	0,45
li Striatum	100,30	100,19	100,34	-0,42	0,68	0,15	-0,14	0,89	0,05	-0,84	0,40	0,30
re dorsaler HP	101,80	102,50	102,76	-1,40	0,16	0,49	-1,12	0,26	0,05	-0,28	0,78	0,20
li dorsaler HP	101,13	101,39	101,62	-0,14	0,89	0,05	-0,14	0,89	0,05	-0,56	0,58	0,20
BLA	100,48	101,61	101,09	-2,38	0,02	0,84	-2,53	0,01	0,89	-0,28	0,78	0,10
VDB	100,45	100,76	100,52	-1,12	0,26	0,40	-0,14	0,89	0,05	-1,82	0,07	0,64
re EC	103,73	104,44	102,79	-1,82	0,07	0,64	-1,26	0,21	0,45	-2,10	0,04	0,74
li EC	101,08	102,19	102,50	-2,38	0,02	0,84	-1,68	0,93	0,59	-0,42	0,67	0,15

**Tabelle A4.2.2.3.1.1| Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 1* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll - Shuttle-Box Gruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. In mehreren Regionen wurden signifikant höhere BOLD Signalintensitäten nach dem Verhaltenstraining gemessen.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	100,90	101,38	101,29	-2,38	0,02	0,24	-1,40	0,16	0,14	-0,84	0,40	0,08
li HP	100,32	100,44	100,32	-1,68	0,90	0,59	0,00	1,00	0,00	-0,84	0,40	0,84
re NAcc	100,31	100,42	100,43	-1,40	0,16	0,14	-1,68	0,09	0,17	-1,40	0,16	0,14
li NAcc	100,28	100,27	100,28	-0,14	0,89	0,01	0,00	1,00	0,00	-0,14	0,89	0,01
mPFC	100,37	100,54	100,58	-2,52	0,01	0,25	-1,54	0,12	0,15	-0,42	0,67	0,04
VTA/Sn	100,33	100,41	100,40	-1,26	0,21	0,13	-0,56	0,58	0,06	-0,56	0,58	0,06
Septum	100,38	100,55	100,40	-2,83	0,02	1,00	-0,42	0,67	0,15	-1,12	0,26	0,40
re Striatum	100,24	100,24	100,29	-0,42	0,67	0,04	-0,98	0,33	0,10	-0,28	0,78	0,03
li Striatum	100,26	100,24	100,21	-1,40	0,16	0,49	-1,54	0,12	0,54	-0,84	0,40	0,30
re dorsaler HP	101,16	101,52	101,44	-1,82	0,07	0,40	-1,12	0,26	0,26	-0,42	0,67	0,15
li dorsaler HP	100,49	100,47	100,33	-0,84	0,40	0,30	-0,84	0,40	0,30	-0,98	0,33	0,35
BLA	100,76	101,21	100,50	-2,10	0,04	0,21	-0,56	0,58	0,06	-2,10	0,04	0,21
VDB	100,49	100,65	100,45	-1,54	0,12	0,15	-0,42	0,67	0,04	-0,56	0,58	0,06
re EC	102,32	103,77	102,78	-2,38	0,02	0,84	-0,28	0,78	0,10	-2,24	0,03	0,79
li EC	101,28	101,40	101,39	-1,26	0,21	0,13	-1,26	0,21	0,13	-0,56	0,58	0,06

**Tabelle A4.2.2.3.1.1| Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll - Shuttle-Box Gruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. Wie auch in der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel wurden in verschiedenen Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus nach dem Shuttle-Box Training signifikante Unterschiede in der BOLD Signalintensität nachgewiesen.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,86	101,84	102,19	-0,73	0,46	0,30	-0,52	0,60	0,21	-0,94	0,35	0,38
li HP	101,30	100,77	100,97	-1,15	0,25	0,47	-1,15	0,25	0,47	-0,11	0,92	0,04
re NAcc	100,35	100,50	100,27	-0,73	0,46	0,30	-0,52	0,60	0,21	-0,94	0,35	0,38
li NAcc	100,30	100,27	100,14	-1,15	0,25	0,47	-1,15	0,05	0,47	-0,11	0,08	0,04
mPFC	100,20	100,51	100,54	-2,01	0,03	0,82	-1,57	0,12	0,64	-0,52	0,60	0,21
VTA/Sn	100,58	100,45	100,55	-0,11	0,92	0,04	-0,31	0,75	0,13	-1,36	0,17	0,56
Septum	101,01	101,03	100,44	-0,73	0,46	0,30	-1,36	0,17	0,56	-1,15	0,25	0,47
re Striatum	100,14	100,30	100,16	-0,52	0,60	0,21	-0,11	0,92	0,04	-0,73	0,46	0,30
li Striatum	100,20	100,13	100,17	-0,94	0,35	0,38	-0,11	0,92	0,04	-0,11	0,92	0,04
re dorsaler HP	102,15	102,13	102,32	-0,52	0,60	0,21	-0,52	0,60	0,21	-0,94	0,35	0,38
li dorsaler HP	101,85	101,35	101,60	-1,53	0,12	0,62	-1,15	0,25	0,47	-0,94	0,35	0,38
BLA	100,33	101,10	100,41	-0,52	0,60	0,21	-0,73	0,46	0,30	-1,52	0,12	0,62
VDB	100,43	100,94	100,29	-1,57	0,12	0,64	-0,15	0,92	0,06	-1,15	0,25	0,47
re EC	102,92	102,61	102,83	-0,34	0,74	0,14	-1,18	0,24	0,48	-1,35	0,18	0,55
li EC	101,19	101,18	100,70	-0,73	0,46	0,30	-0,73	0,35	0,38	-1,36	0,17	0,56

**Tabelle A4.2.2.3.2.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 1* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll - Shuttle-Box Gruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. In keiner der signifikant aktivierten Regionen wurden im ersten *Train* Unterschiede berechnet.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	Mdn [%]	Mdn [%]	Mdn [%]	Z-Wert	p-Wert	r-Wert	Z-Wert	p-Wert	r-Wert	Z-Wert	p-Wert	r-Wert
re HP	100,48	100,42	100,62	-0,94	0,35	0,38	-0,31	0,75	0,13	-1,15	0,25	0,47
li HP	100,32	100,18	100,20	-1,57	0,12	0,16	-0,73	0,46	0,07	-1,36	0,17	0,14
re NAcc	100,34	100,32	100,34	-0,73	0,46	0,30	-0,11	0,92	0,04	-0,52	0,60	0,21
li NAcc	100,29	100,26	100,26	-0,53	0,60	0,22	-0,94	0,35	0,38	-0,73	0,46	0,30
mPFC	100,30	100,36	100,30	-0,11	0,92	0,04	-0,11	0,92	0,04	-0,11	0,92	0,04
VTA/Sn	100,44	100,34	100,33	-0,31	0,75	0,04	-1,36	0,17	0,56	-0,11	0,92	0,04
Septum	100,37	100,32	100,35	-1,15	0,25	0,47	-0,31	0,46	0,13	-0,73	0,75	0,30
re Striatum	100,25	100,26	100,24	-0,52	0,60	0,21	-0,73	0,46	0,30	-0,52	0,60	0,21
li Striatum	100,22	100,21	100,25	-0,11	0,92	0,04	-1,15	0,25	0,47	-0,52	0,60	0,21
re dorsaler HP	100,65	100,55	100,72	-1,57	0,12	0,16	-0,73	0,46	0,30	-0,73	0,46	0,30
li dorsaler HP	100,44	100,26	100,32	-1,57	0,12	0,64	-0,93	0,35	0,38	-1,36	0,17	0,56
BLA	100,54	100,69	100,68	-0,31	0,75	0,13	-0,31	0,75	0,13	-0,31	0,75	0,13
VDB	100,40	100,35	100,39	-0,52	0,60	0,05	-0,73	0,46	0,07	-0,73	0,46	0,07
re EC	101,16	101,15	101,09	-0,41	0,69	0,17	-0,31	0,75	0,13	-0,73	0,46	0,07
li EC	100,77	100,50	100,62	-2,20	0,03	0,90	-1,36	0,17	0,56	-0,53	0,60	0,21

**Tabelle A4.2.2.3.2.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter**

**fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll - Shuttle-Box Gruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	102,10	101,98	102,12	-0,33	0,74	0,10	-0,13	0,90	0,04	-1,35	0,18	0,43
li HP	100,98	101,41	101,42	0,23	0,82	0,07	-0,33	0,74	0,10	-0,29	0,59	0,09
re NAcc	100,33	100,84	101,05	-2,06	0,04	0,65	-2,27	0,02	0,72	-1,45	0,15	0,46
li NAcc	100,48	100,38	100,43	0,23	0,82	0,07	-0,33	0,74	0,10	0,23	0,82	0,07
mPFC	100,52	101,51	101,44	-1,96	0,05	0,62	-2,47	0,01	0,78	-0,23	0,82	0,07
VTA/Sn	100,35	100,35	100,28	0,23	0,82	0,07	-0,33	0,74	0,10	0,23	0,82	0,07
Septum	100,56	100,71	100,81	-1,76	0,08	0,56	-0,94	0,35	0,30	0,23	0,82	0,07
re Striatum	100,07	100,41	100,57	-2,06	0,04	0,65	-2,17	0,03	0,69	0,13	0,90	0,04
li Striatum	100,24	100,21	100,28	1,04	0,30	0,33	0,03	0,98	0,01	-1,15	0,25	0,36
re dorsaler HP	102,50	102,06	102,29	1,76	0,08	0,56	1,04	0,30	0,33	-1,35	0,18	0,43
li dorsaler HP	102,50	101,93	101,48	1,66	0,10	0,52	1,96	0,05	0,62	0,64	0,52	0,20
BLA	100,65	101,29	101,68	-1,76	0,08	0,56	-2,68	0,01	0,85	-0,84	0,40	0,27
VDB	100,63	101,39	101,28	-1,96	0,05	0,62	-1,35	0,18	0,43	-0,64	0,52	0,20
re EC	103,68	104,00	104,67	-0,64	0,52	0,20	-0,23	0,82	0,07	0,13	0,90	0,04
li EC	101,41	101,18	101,86	-0,23	0,82	0,07	-1,15	0,25	0,36	-2,78	0,01	0,88

**Tabelle A4.2.3.1.1| Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 1* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll - Stimulationsgruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. Die Signalintensitäten stiegen nach der Stimulation an drei Tagen in der Freilaufbox in verschiedenen Regionen signifikant an. Nach neun weiteren Tagen ohne Stimulation waren die Veränderungen durch die elektrische Stimulation des *Tractus perforans* im ersten *Train* immer noch sichtbar. Veränderungen zwischen den letzten beiden Messzeitpunkten wurden nur im rechten entorhinalen Cortex beobachtet.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,37	101,42	101,61	-0,03	0,98	0,01	-0,43	0,67	0,14	-0,03	0,98	0,01
li HP	100,32	100,35	100,51	0,64	0,52	0,20	-2,06	0,04	0,65	-2,47	0,01	0,78
re NAcc	100,44	100,50	100,94	-1,25	0,21	0,40	-2,57	0,01	0,81	-2,37	0,02	0,75
li NAcc	100,32	100,34	100,44	-0,43	0,67	0,14	-1,96	0,05	0,62	-2,06	0,04	0,65
mPFC	100,43	100,75	101,17	-1,55	0,12	0,49	-2,37	0,02	0,75	-1,76	0,08	0,56
VTA/Sn	100,49	100,39	100,46	1,35	0,18	0,43	0,54	0,59	0,17	-1,15	0,25	0,36
Septum	100,54	100,55	100,57	0,23	0,82	0,07	-0,03	0,98	0,01	-1,15	0,25	0,36
re Striatum	100,29	100,34	100,36	-1,96	0,05	0,62	-2,27	0,02	0,72	-1,25	0,21	0,40
li Striatum	100,30	100,22	100,24	1,04	0,30	0,33	1,66	0,10	0,52	-0,13	0,90	0,04
re dorsaler HP	101,62	101,57	101,69	0,43	0,67	0,14	0,54	0,59	0,17	0,33	0,74	0,10
li dorsaler HP	101,62	100,44	100,54	2,78	0,01	0,88	2,57	0,01	0,81	-1,76	0,08	0,56
BLA	100,64	101,05	101,32	-1,76	0,08	0,56	-2,78	0,01	0,88	-1,96	0,05	0,62
VDB	100,50	100,84	101,13	-1,86	0,06	0,59	-2,68	0,01	0,85	-1,96	0,05	0,62
re EC	103,07	103,45	104,21	-0,84	0,40	0,27	-1,66	0,10	0,52	-0,94	0,35	0,30
li EC	101,30	100,96	101,48	0,94	0,35	0,30	-0,54	0,59	0,17	-2,17	0,03	0,69

**Tabelle A4.2.3.1.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll - Stimulationsgruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. Die Signalintensitäten stiegen nach der Stimulation an drei Tagen in der Freilaufbox in verschiedenen Regionen signifikant an. Nach neun weiteren Tagen ohne Stimulation stiegen die BOLD Signalintensitäten in den *Trains 3-20* in verschiedenen Regionen weiter an.

<i>Train 1</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,88	101,81	101,69	-1,01	0,31	0,38	-0,51	0,61	0,19	-0,34	0,74	0,13
li HP	101,58	101,32	101,47	-0,34	0,74	0,13	-1,35	0,18	0,51	-0,34	0,74	0,13
re NAcc	100,73	100,60	100,36	-0,85	0,34	0,32	-0,34	0,74	0,13	-0,68	0,68	0,26
li NAcc	100,22	100,25	100,26	-2,03	0,04	0,77	-0,85	0,38	0,32	-1,01	0,31	0,38
mPFC	100,34	100,51	100,14	-1,18	0,24	0,45	0,00	1,00	0,00	-1,01	0,31	0,38
VTA/Sn	100,57	100,63	100,60	-0,34	0,74	0,13	-1,69	0,09	0,45	-1,86	0,06	0,18
Septum	100,89	100,73	101,16	-0,34	0,74	0,13	-1,01	0,31	0,10	-0,85	0,40	0,32
re Striatum	100,29	100,34	100,41	-0,51	0,61	0,19	-0,34	0,74	0,13	-0,85	0,40	0,32
li Striatum	100,15	100,29	100,19	-0,68	0,50	0,26	-0,68	0,50	0,26	-0,85	0,40	0,32
re dorsaler HP	102,30	102,13	101,98	-0,85	0,40	0,32	-0,51	0,61	0,19	-0,17	0,87	0,06
li dorsaler HP	101,86	101,40	102,02	-1,86	0,06	0,18	-1,18	0,24	0,12	-0,17	0,87	0,02
BLA	100,66	100,76	100,53	-1,18	0,24	0,12	-1,01	0,31	0,10	-2,92	0,03	0,29
VDB	101,12	101,41	100,68	-1,18	0,24	0,12	-1,18	0,24	0,12	-0,17	0,87	0,06
re EC	102,04	103,43	102,05	-0,34	0,74	0,13	-1,18	0,24	0,12	-1,35	0,18	0,51
li EC	101,20	100,75	101,01	-0,34	0,74	0,13	-0,34	0,74	0,13	-0,85	0,40	0,08

**Tabelle A4.2.3.2.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 1* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll - Stimulationsgruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. Die beiden Regionen, in denen im ersten *Train* Unterschiede in der BOLD Signalintensität gefunden wurden, wurden durch Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll nicht signifikant aktiviert. Damit wurden in keiner Region, in der signifikant aktivierte Voxel beobachtet wurden, Unterschiede gefunden.

<i>Train 3-20</i>	Tag 1	Tag 5	Tag 14	Vergleich Tag 1-Tag 5			Vergleich Tag 1-Tag 14			Vergleich Tag 5-Tag 14		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	Z-Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,33	101,29	100,69	-0,85	0,40	0,08	-1,01	0,31	0,10	-1,35	0,17	0,13
li HP	100,81	100,41	100,36	-1,35	0,18	0,51	-0,85	0,40	0,32	-0,34	0,74	0,13
re NAcc	100,40	100,38	100,28	-0,85	0,38	0,32	0,00	1,00	0,00	-0,85	0,38	0,32
li NAcc	100,38	100,35	100,32	-1,18	0,24	0,45	0,00	1,00	0,00	-0,68	0,50	0,26
mPFC	100,34	100,40	100,32	-1,35	0,18	0,51	-0,17	0,87	0,06	-1,01	0,31	0,38
VTA/Sn	100,43	100,46	100,37	-0,17	0,87	0,51	-0,34	0,75	0,13	-1,35	0,18	0,51
Septum	100,47	100,58	100,53	-0,51	0,61	0,89	-1,35	0,18	0,51	-2,37	0,02	0,89
re Striatum	100,29	100,28	100,26	-0,17	0,87	0,32	-0,68	0,50	0,26	-0,85	0,40	0,32
li Striatum	100,28	100,25	100,27	-0,34	0,74	0,13	-0,34	0,74	0,13	-0,17	0,87	0,06
re dorsaler HP	101,42	101,49	100,88	-0,68	0,50	0,26	-1,18	0,24	0,45	-1,69	0,24	0,64
li dorsaler HP	101,09	100,59	100,47	-1,52	0,13	0,57	-1,18	0,24	0,45	-0,34	0,74	0,13
BLA	100,54	100,61	100,51	-2,03	0,04	0,77	-0,68	0,50	0,26	-1,86	0,06	0,70
VDB	100,50	100,48	100,35	-0,34	0,74	0,83	-2,37	0,02	0,89	-2,20	0,03	0,83
re EC	101,74	101,72	101,16	-0,17	0,87	0,06	-0,68	0,50	0,26	-0,85	0,40	0,32
li EC	100,88	100,58	100,76	-0,17	0,87	0,06	-0,17	0,87	0,06	-1,01	0,31	0,38

**Tabelle A4.2.3.2.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für *Train 3-20* an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 während kombinierter fMRT/Elektrophysiologie Messung bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll - Stimulationsgruppe**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich abhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

Region	Train 1					Train 3-20				
	5 Hz Tag 1 <i>Mdn</i> [%]	5 Hz 500 $\mu$ A <i>Mdn</i> [%]	5 Hz Tag 1-5 Hz 500 $\mu$ A			5 Hz Tag 1 <i>Mdn</i> [%]	5 Hz 500 $\mu$ A <i>Mdn</i> [%]	5 Hz Tag 1-5 Hz 500 $\mu$ A		
			<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert			<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,88	102,27	24	1,00	0,00	101,33	101,07	22	0,79	0,07
li HP	101,58	102,01	14	0,20	0,34	100,81	100,92	29	0,61	0,14
re NAcc	100,73	100,34	8	0,04	0,55	100,40	100,39	18	0,44	0,21
li NAcc	100,22	100,34	16	0,31	0,27	100,38	100,42	15	0,25	0,31
mPFC	100,34	100,27	24	1,00	0,00	100,34	100,44	22	0,79	0,07
VTA/Sn	100,57	100,37	15	0,25	0,31	100,43	100,36	22	0,79	0,10
Septum	100,89	100,69	27	0,37	0,24	100,47	100,69	27	0,79	0,07
re Striatum	100,29	100,23	20	0,61	0,14	100,29	100,36	17	0,37	0,24
li Striatum	100,15	100,17	21	0,70	0,10	100,28	100,25	17	0,79	0,10
re dorsaler HP	102,30	102,46	25	1,00	0,00	101,42	101,13	21	0,70	0,10
li dorsaler HP	101,86	102,73	12	0,13	0,41	101,09	101,24	21	0,70	0,10
BLA	100,66	100,35	18	0,44	0,21	100,54	100,74	21	0,70	0,10
VDB	101,12	100,91	18	0,44	0,21	100,50	100,62	18	0,44	0,21
re EC	102,04	104,18	13	0,16	0,38	101,74	102,42	14	0,20	0,34
li EC	101,20	101,98	13	0,16	0,38	100,88	101,57	12	0,13	0,41

**Tabelle A4.2.3.5 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für Train 1 und Train 3-20 zwischen der 5 Hz Stimulationsgruppe an Tag 1 und der fMRT/Elektrophysiologie Messung der Gruppe, bei der der *Tractus perforans* mit einer Intensität von 500  $\mu$ A mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20* und im ersten *Train*. Dabei wurde der Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich unabhängiger Stichproben verwendet. Grün markiert sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter entorhinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 1</i>	naiv	nach 5 Hz	5 Hz SG	Vergleich naiv-nach 5 Hz			Vergleich naiv-5 Hz SG			Vergleich nach 5 Hz-5 Hz SG		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	102,10	102,15	102,15	55	0,31	0,25	28	0,87	0,04	13	0,28	0,30
li HP	100,98	102,19	101,68	16	0,07	0,44	28	0,87	0,04	14	0,35	0,26
re NAcc	100,44	100,49	100,49	36	0,96	0,01	43	0,17	0,34	8	0,39	0,24
li NAcc	100,48	100,22	100,31	17	0,09	0,41	21	0,36	0,23	12,5	0,23	0,34
mPFC	100,52	100,25	100,46	10	0,02	0,58	30	0,87	0,04	11	0,17	0,38
VTA/Sn	100,35	100,36	100,36	60,5	1,00	0,00	34	0,70	0,10	16	0,52	0,18
Septum	100,56	101,20	100,88	45	0,11	0,39	44	0,14	0,37	14	0,35	0,26
re Striatum	100,07	100,42	100,19	46	0,01	0,60	30	0,96	0,01	11	0,13	0,42
li Striatum	100,24	100,20	100,29	33	0,88	0,04	45	0,62	0,12	23	0,83	0,06
re dorsaler HP	102,50	102,67	102,39	38	0,81	0,06	22	0,42	0,20	15	0,43	0,22
li dorsaler HP	102,50	103,14	102,46	49	0,19	0,32	25	0,62	0,12	11	0,17	0,38
BLA	100,65	101,04	100,63	41	0,59	0,13	13	0,96	0,01	20	0,94	0,02
VDB	100,63	100,61	100,66	44	0,41	0,20	34	0,70	0,10	20	0,89	0,04
re EC	103,68	103,73	104,10	36	0,96	0,01	29	0,96	0,01	20	0,94	0,02
li EC	101,41	101,45	100,58	36	0,96	0,01	27	0,21	0,31	13	0,28	0,30

**Tabelle A4.2.4.1.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für den ersten *Train* während der Messungen mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll bei unterschiedlich häufiger vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich unabhängiger Stichproben verwendet. Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 5 Hz: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 5 Hz Protokoll zwei Tage zuvor, 5 Hz SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

<i>Train 3-20</i>	naiv	nach 5 Hz	5 Hz SG	Vergleich naiv-nach 5 Hz			Vergleich naiv-5 Hz SG			Vergleich nach 5 Hz-5 Hz SG		
Region	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	101,37	101,05	101,63	46	0,81	0,06	33	0,79	0,07	23	0,83	0,06
li HP	100,32	100,40	100,28	46	0,31	0,25	23	0,48	0,18	10	0,17	0,38
re NAcc	100,44	100,38	100,45	35	0,96	0,01	29	0,96	0,01	21	0,94	0,02
li NAcc	100,32	100,28	100,27	41	0,66	0,11	17	0,17	0,34	35	0,43	0,22
mPFC	100,43	100,42	100,57	32	0,81	0,06	41	0,25	0,29	12	0,23	0,34
VTA/Sn	100,48	100,41	100,39	28	0,53	0,15	19	0,25	0,29	17	0,62	0,14
Septum	100,54	100,60	100,52	35	0,96	0,01	29	0,96	0,01	12	0,23	0,34
re Striatum	100,29	100,28	100,26	43	0,59	0,13	33	0,48	0,18	13	0,28	0,81
li Striatum	100,30	100,27	100,26	49	0,66	0,11	19	0,21	0,31	13	0,28	0,30
re dorsaler HP	101,62	101,20	101,81	28	0,53	0,15	33	0,79	0,07	17	0,62	0,14
li dorsaler HP	100,47	100,49	100,39	38	0,81	0,06	24	0,55	0,15	17	0,62	0,14
BLA	100,64	100,69	100,71	41	0,73	0,08	20	0,94	0,02	20	0,94	0,02
VDB	100,50	100,49	100,60	48	0,73	0,08	36	0,55	0,15	19	0,83	0,06
re EC	103,07	102,98	103,50	32	0,81	0,06	32	0,87	0,04	13	0,28	0,30
li EC	101,30	101,45	100,57	36	0,96	0,01	17	0,17	0,34	13	0,28	0,30

**Tabelle A4.2.4.1.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für die *Trains 3-20* während der Messungen mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll bei unterschiedlich häufiger vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains 3-20*. Dabei wurde der Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich unabhängiger Stichproben verwendet. Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 5 Hz: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 5 Hz Protokoll zwei Tage zuvor, 5 Hz SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 5 Hz Protokoll stimuliert wurde. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex. In keiner Region konnten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

<i>Train 1</i>	naiv	nach 1 Hz- 20Pulse	1 Hz-20 Pulse SG	Vergleich naiv-nach 1 Hz-20 Pulse			Vergleich naiv-1 Hz-20Pulse SG			Vergleich nach 1 Hz-20 Pulse-1 Hz-20 Pulse SG		
				<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
<b>Region</b>	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>Mdn</i> [%]	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert	<i>U</i> -Wert	<i>p</i> -Wert	<i>r</i> -Wert
re HP	102,33	102,43	102,33	42	0,88	0,04	34	0,96	0,01	19	0,83	0,06
li HP	101,94	102,44	102,15	15	0,04	0,49	42	0,40	0,21	12	0,23	0,21
re NAcc	100,12	100,43	101,11	56	0,12	0,36	8	0,01	0,60	13	0,28	0,30
li NAcc	100,17	100,35	101,11	54	0,53	0,15	2	0,00	0,74	5	0,03	0,61
mPFC	100,31	100,34	100,93	3	0,86	0,04	4	0,00	0,69	6	0,04	0,57
VTA/Sn	100,52	101,07	100,63	12	0,02	0,55	42	0,52	0,16	8	0,07	0,50
Septum	100,95	101,40	101,14	10	0,01	0,60	42	0,40	0,21	10	0,62	0,14
re Striatum	100,26	100,35	100,21	47	0,47	0,17	30	0,80	0,06	16	0,52	0,18
li Striatum	99,95	100,20	100,17	21	0,12	0,36	47	0,17	0,33	17	0,62	0,14
re dorsaler HP	102,51	102,63	102,27	44	0,65	0,11	34	0,96	0,01	17	0,62	0,14
li dorsaler HP	102,69	103,03	102,64	52	0,24	0,28	29	0,73	0,08	11	0,17	0,38
BLA	100,51	100,38	102,24	45	0,59	0,13	50	0,01	0,67	23	0,04	0,57
VDB	100,93	101,32	101,38	54	0,17	0,32	52	0,06	0,45	17	0,62	0,14
re EC	104,12	106,34	105,39	18	0,07	0,43	12	0,04	0,50	22	0,94	0,02
li EC	102,10	100,90	102,29	21	0,12	0,36	36	0,80	0,06	9	0,10	0,45

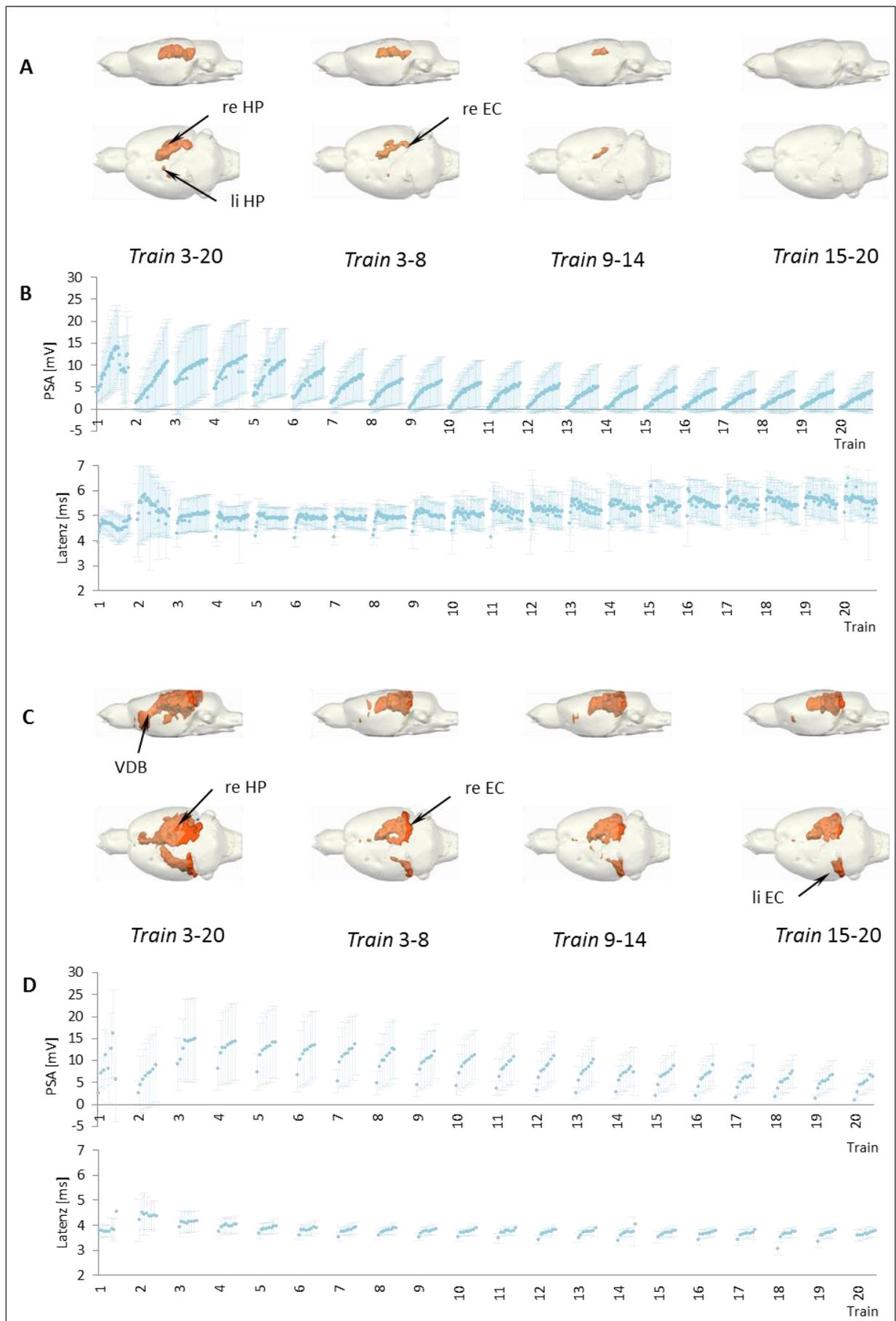
**Tabelle A4.2.4.2.1 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für den ersten *Train* während der Messungen mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlich häufiger vorhergehender Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität im ersten *Train*. Dabei wurde der Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich unabhängiger Stichproben verwendet. Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 1 Hz-20Pulse: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll zwei Tage zuvor, 1 Hz-20 Pulse SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll stimuliert wurde. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

Train 3-20	naiv	nach 1 Hz- 20 Pulse	1 Hz-20 Pulse SG	Vergleich naiv-nach 1 Hz-20 Pulse			Vergleich naiv-1 Hz-20 Pulse SG			Vergleich nach 1 Hz-20 Pulse-1 Hz-20 Pulse SG		
	Mdn [%]	Mdn [%]	Mdn [%]	U-Wert	p-Wert	r-Wert	U-Wert	p-Wert	r-Wert	U-Wert	p-Wert	r-Wert
re HP	100,96	101,78	101,96	6	0,00	0,68	3	0,00	0,72	19	0,83	0,06
li HP	100,23	101,08	100,91	12	0,02	0,55	1	0,00	0,77	19	0,83	0,06
re NAcc	100,33	100,41	101,02	17	0,06	0,45	10	0,02	0,55	11	0,17	0,38
li NAcc	100,28	100,33	101,02	7	0,00	0,68	6	0,01	0,65	6	0,04	0,57
mPFC	100,32	100,38	100,68	19	0,09	0,41	6	0,01	0,65	12	0,23	0,34
VTA/Sn	100,33	100,56	100,48	18	0,06	0,45	49	0,12	0,38	12	0,23	0,34
Septum	100,33	100,89	100,98	12	0,02	0,55	7	0,00	0,79	16	0,52	0,18
re Striatum	100,22	100,33	100,23	9	0,09	0,41	52	0,45	0,18	15	0,43	0,22
li Striatum	100,26	100,33	100,23	60	0,06	0,45	23	0,34	0,23	8	0,07	0,50
re dorsaler HP	101,19	102,22	102,10	-9	0,01	0,62	3	0,00	0,72	17	0,62	0,14
li dorsaler HP	100,31	101,27	101,14	11	0,01	0,58	4	0,00	0,69	20	0,94	0,02
BLA	100,55	100,77	101,31	16	0,05	0,47	0	0,00	0,79	-4	0,03	0,61
VDB	100,44	100,97	101,59	10	0,01	0,60	7	0,01	0,62	0	0,35	0,26
re EC	102,24	104,50	102,80	9	0,01	0,62	45	0,25	0,28	7	0,05	0,54
li EC	100,76	101,10	102,35	25	0,24	0,28	0	0,00	0,79	0	0,05	0,54

**Tabelle A4.2.4.2.2 | Vergleich der BOLD Signalintensitäten für die *Trains* 3-20 während der Messungen mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlich häufiger vorhergehender Stimulation mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll**

Verglichen wurde hier der Mittelwert der maximalen BOLD Signalintensität in den *Trains* 3-20. Dabei wurde der Mann-Whitney-U-Test zum Vergleich unabhängiger Stichproben verwendet. Naiv: keine vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, nach 1 Hz-20Pulse: nach einer vorhergehenden Messung mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll zwei Tage zuvor, 1 Hz-20 Pulse SG: Messung an Tag 16 der Stimulationsgruppe, die an Tag 2-4 für 1h/Tag in der Freilaufbox mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll stimuliert wurde. Re HP: rechter Hippocampus, li HP: linker Hippocampus, re NAcc: rechter Nucleus accumbens, li NAcc: linker Nucleus accumbens, mPFC: medialer präfrontaler Cortex, VTA/Sn: ventrales Tegmentum, Substantia nigra, re Striatum: rechtes Striatum, re dorsaler HP: rechter dorsaler Hippocampus, li dorsaler HP: linker dorsaler Hippocampus, BLA: basolaterale Amygdala, VDB: vertikaler Abschnitt des diagonalen Bands, re EC: rechter enthoinaler Cortex, li EC: linker entorhinaler Cortex.

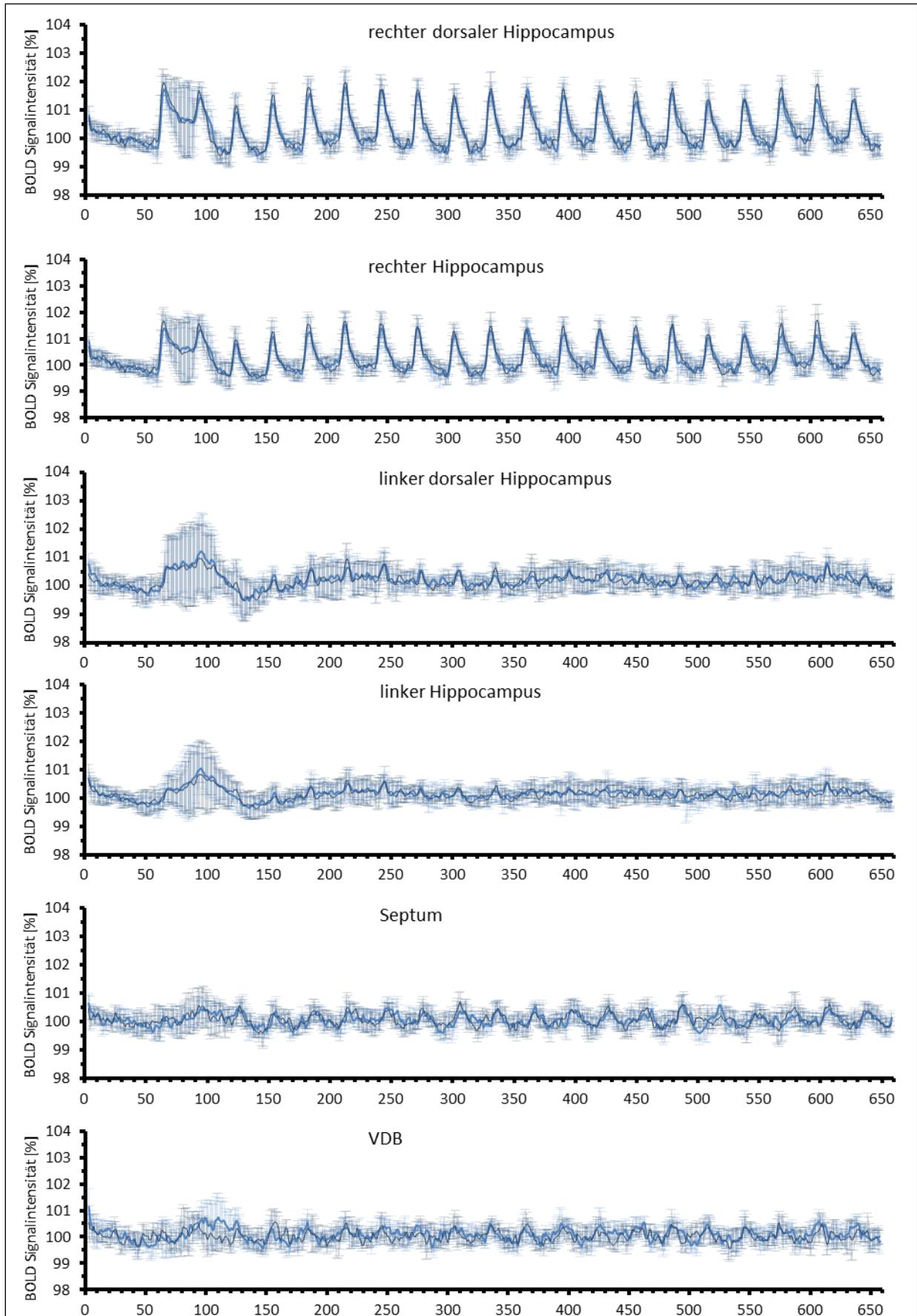


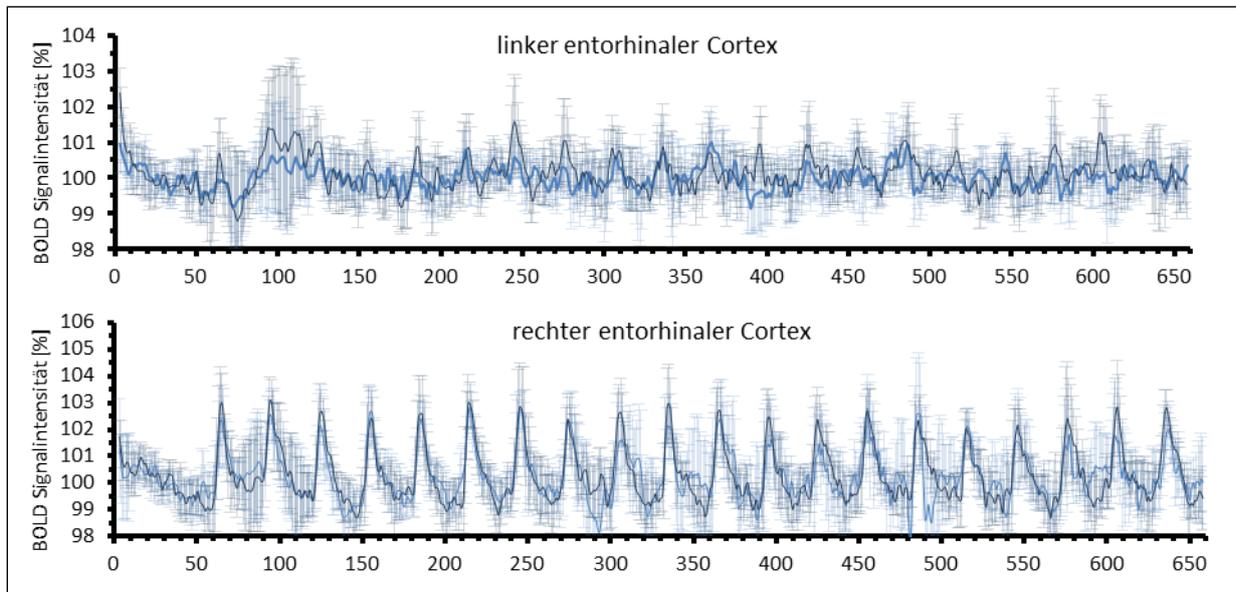
**Abbildung A4.2.4 | 3D Darstellung signifikant aktivierter Voxel während der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 5 Hz Protokoll vor der Messung mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll und der fMRT/Elektrophysiologie Messung mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll vor der Messung mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll**

A: Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll. B: Elektrophysiologie der Granularzellen im *Gyrus dentatus* bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll. C: Verlauf der Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel bei Stimulation mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll. D: Elektrophysiologie der bei Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll. PSA und Latenz sind mit Standardabweichungen dargestellt.



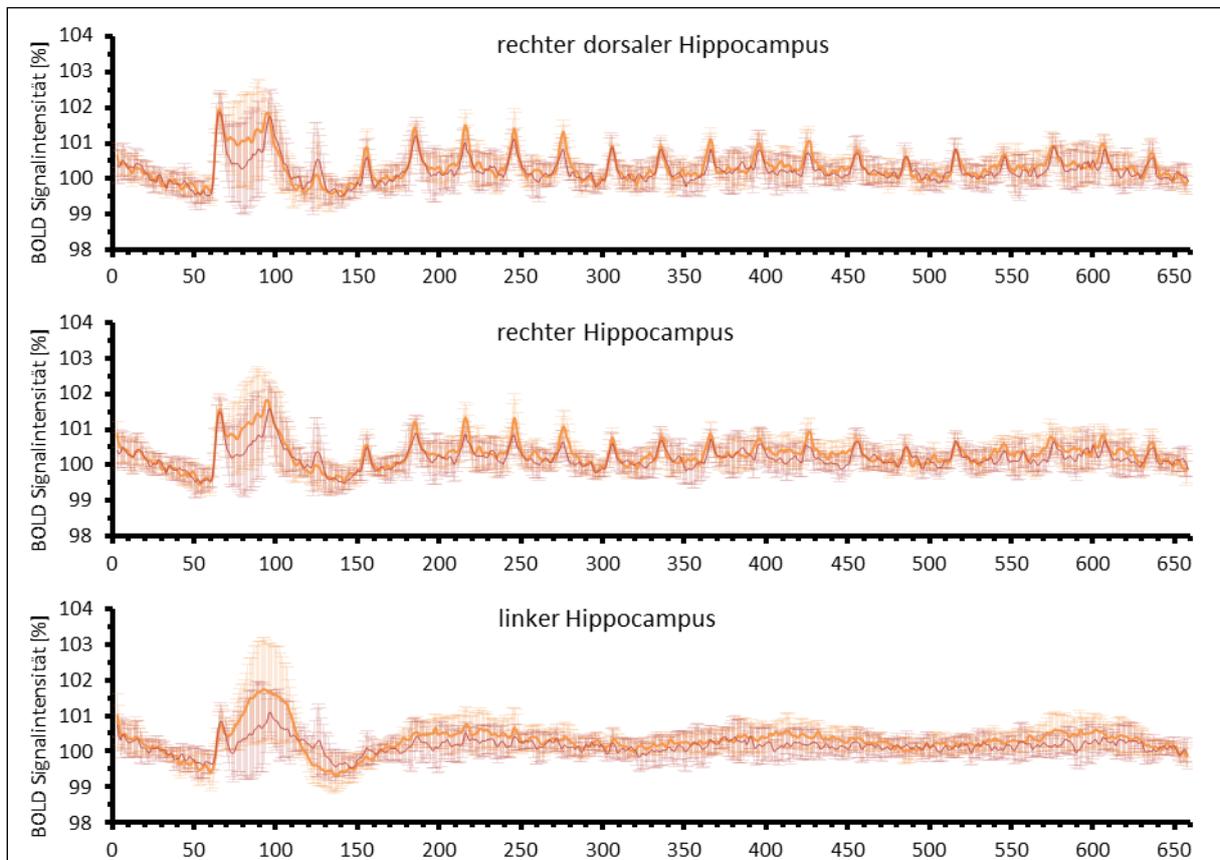
BOLD Signalverläufe in den aktivierten Regionen in den Gruppen, die mehrfach gemessen wurden

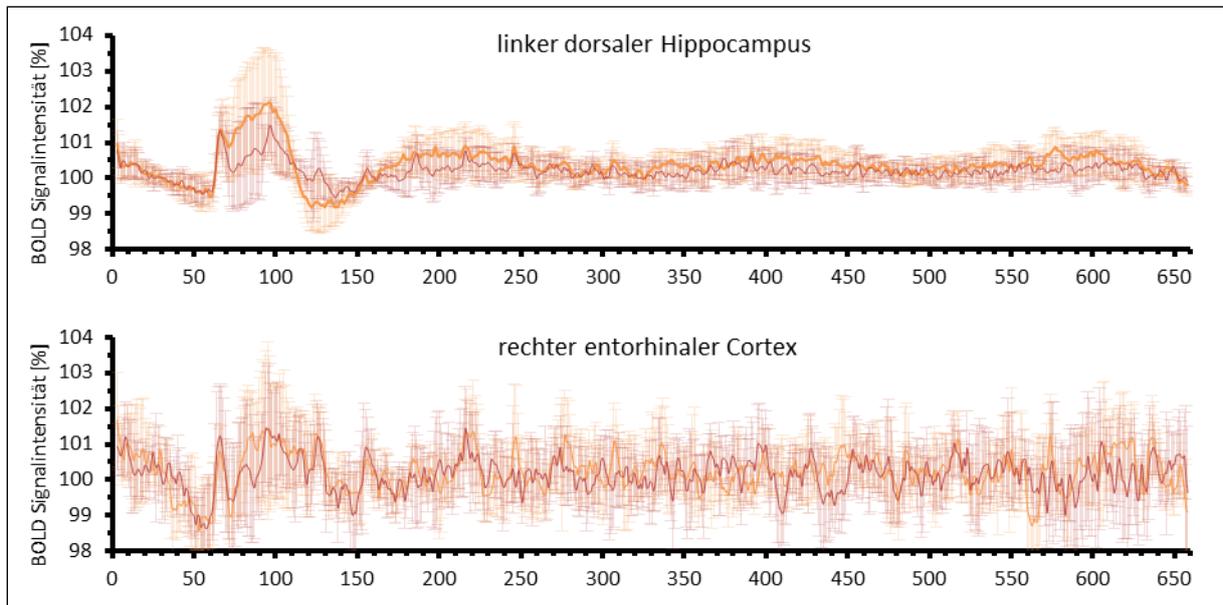




**Abbildung A5.1 | BOLD Signalverläufe der 1 Hz-20 Pulse Messungen an Tag 1 und Tag 5 ohne Stimulation zwischen den Messungen**

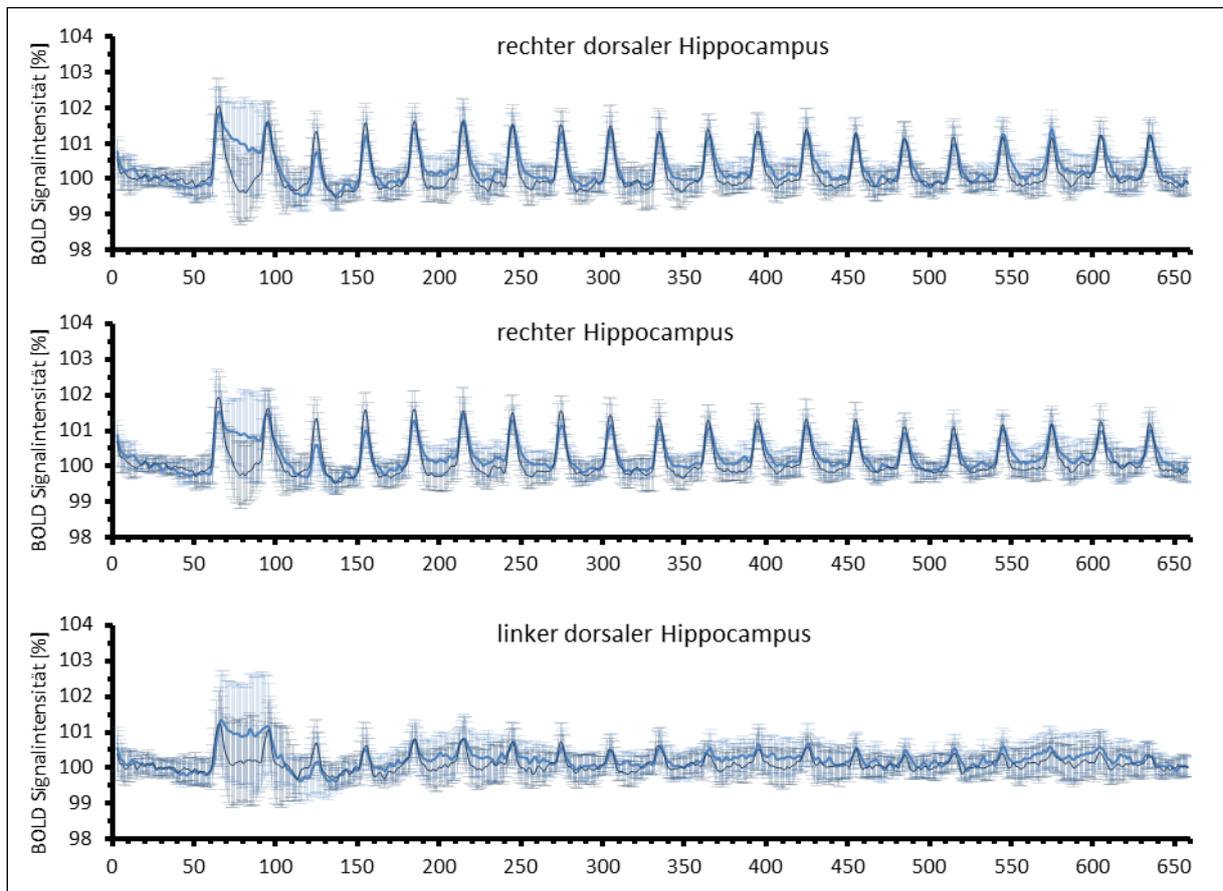
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Hellblau: Tag 1, dunkelblau: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

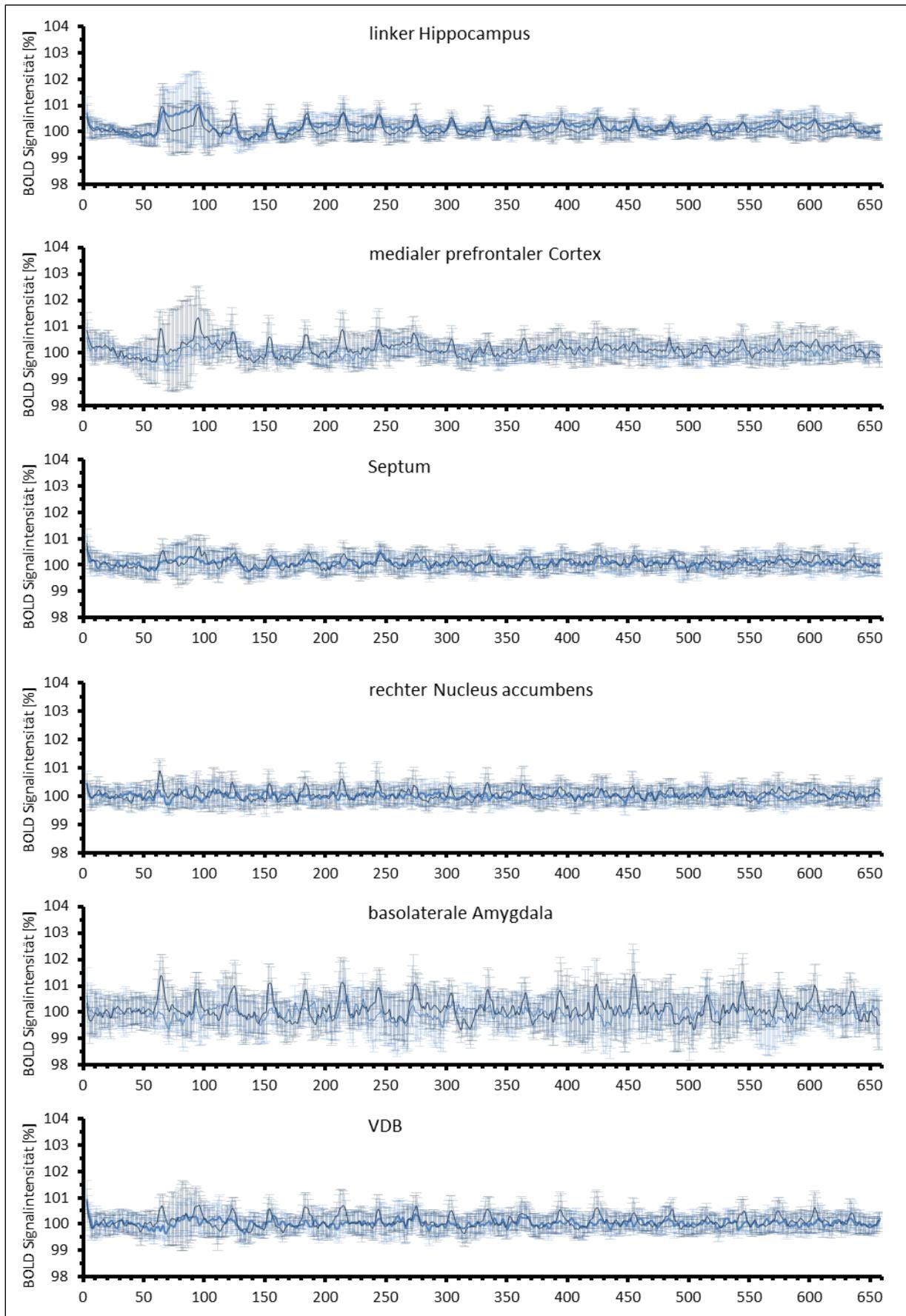


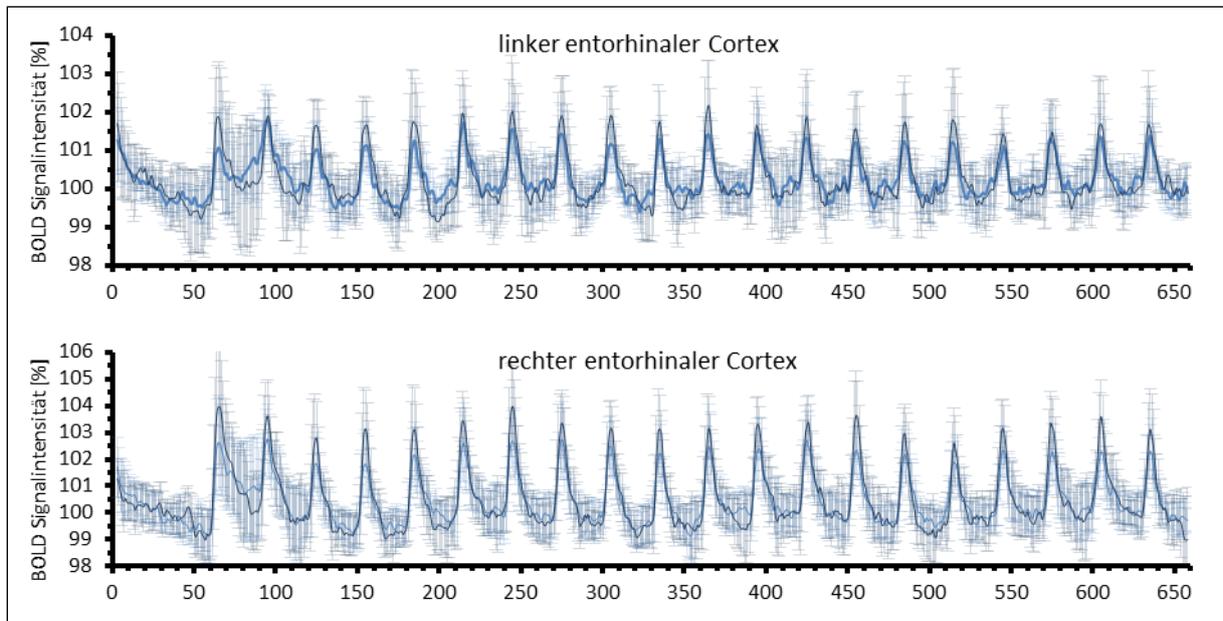


**Abbildung A5.2 | BOLD Signalverläufe der 1 Hz-20 Pulse Messungen an Tag 1 und Tag 5 ohne Stimulation zwischen den Messungen**

Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Orange: Tag 1, rot: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

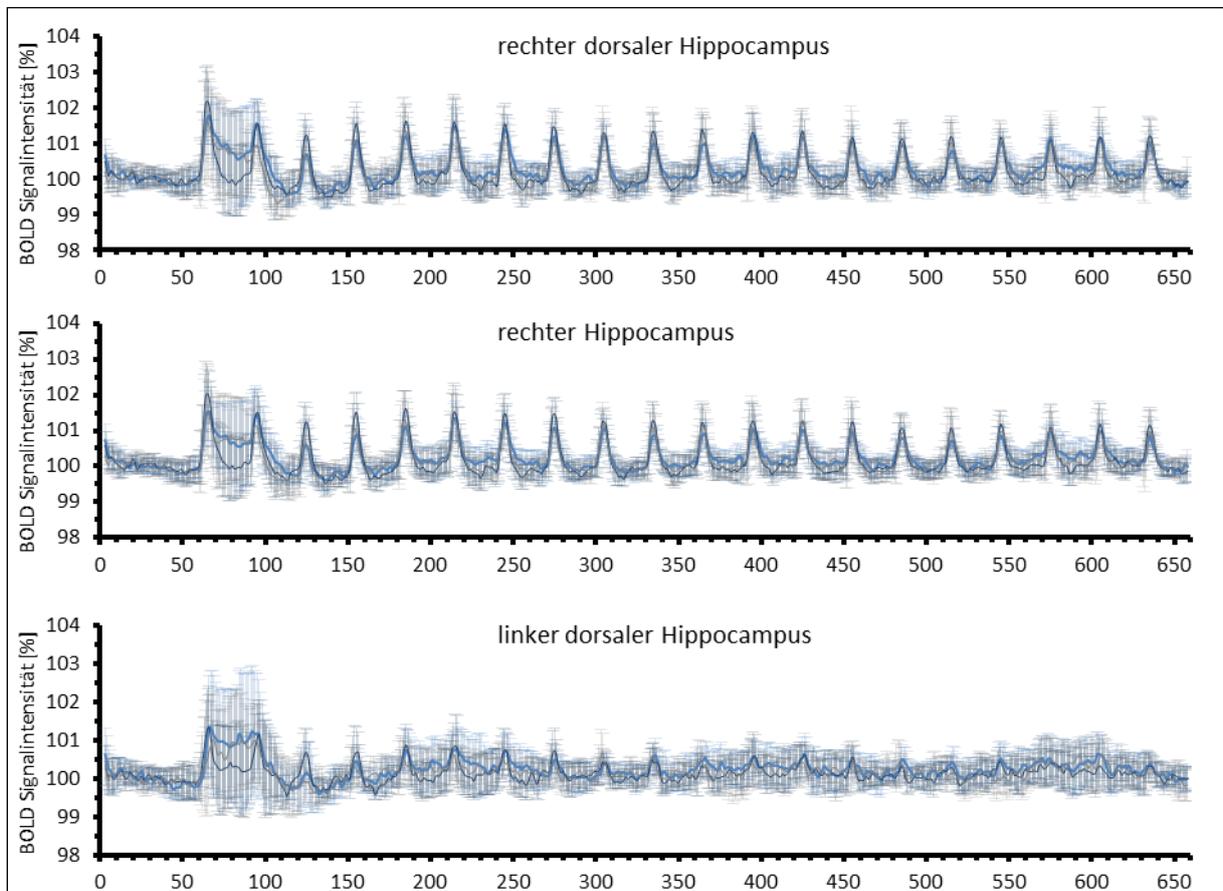


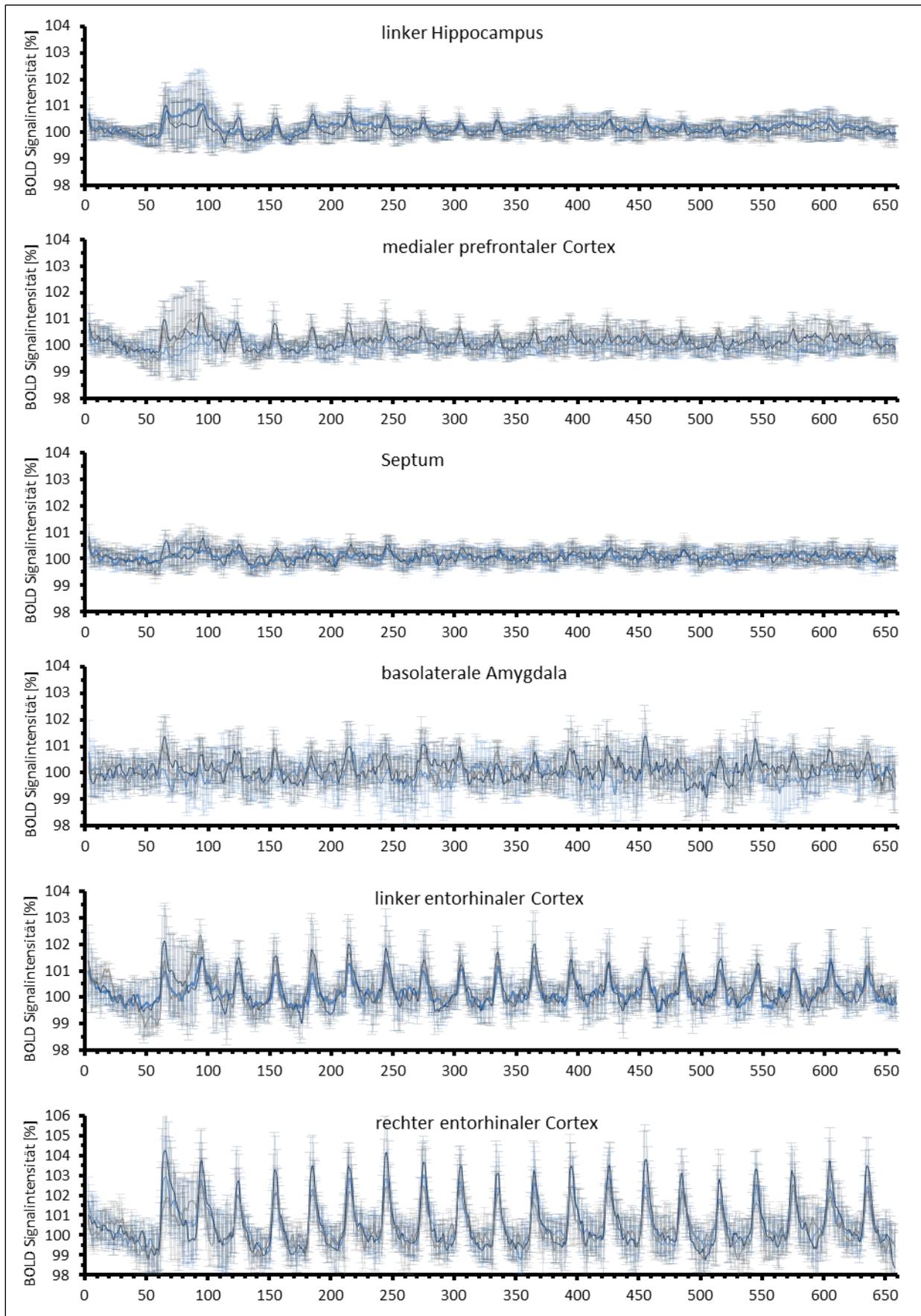




**Abbildung A5.3 | BOLD Signalverläufe der 1 Hz-20Pulse Messungen an Tag 1 und Tag 5 bei den Tieren, die an Tag2-4 in der Shuttle-Box trainiert wurden (n=12)**

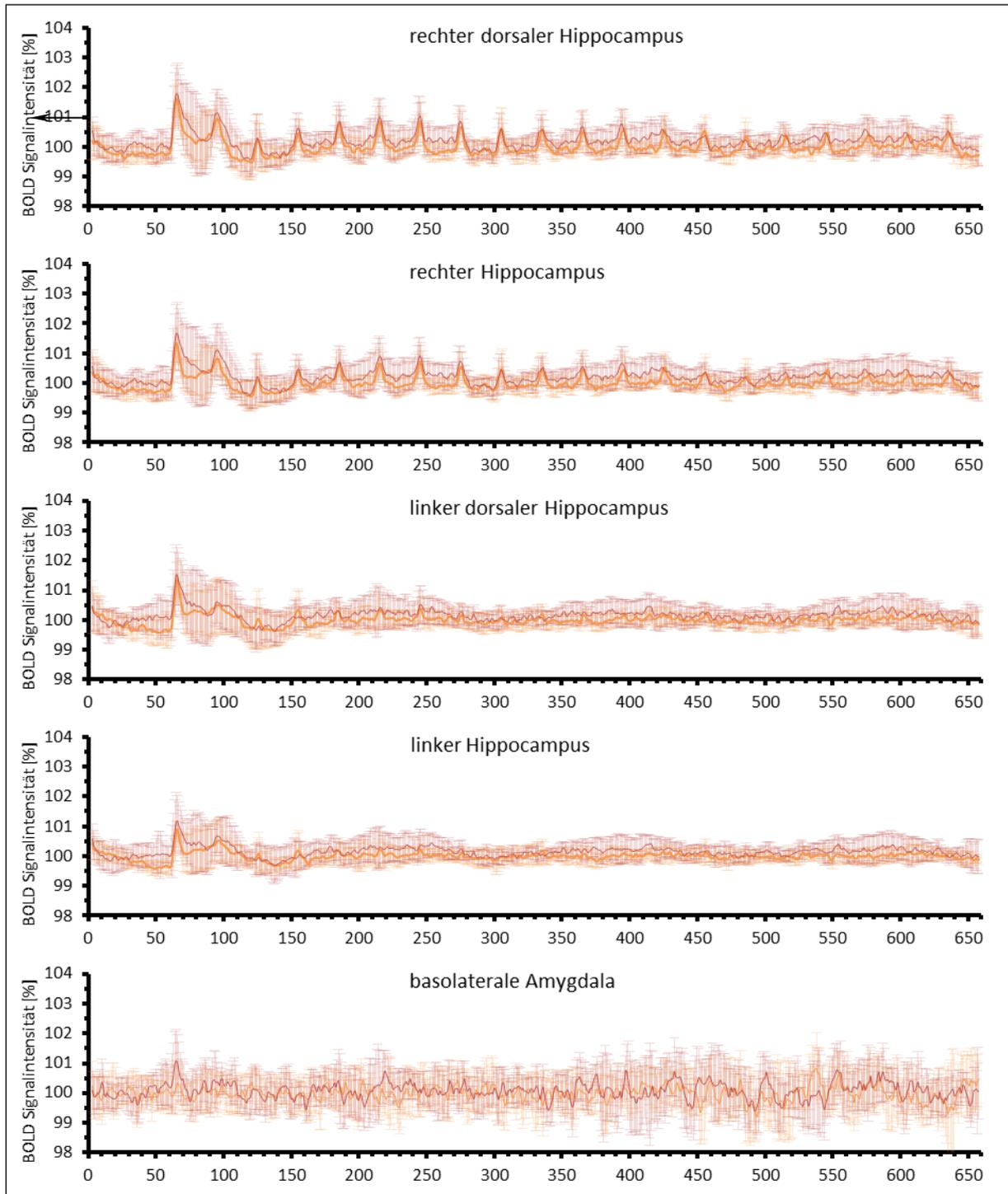
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Hellblau: Tag 1, dunkelblau: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

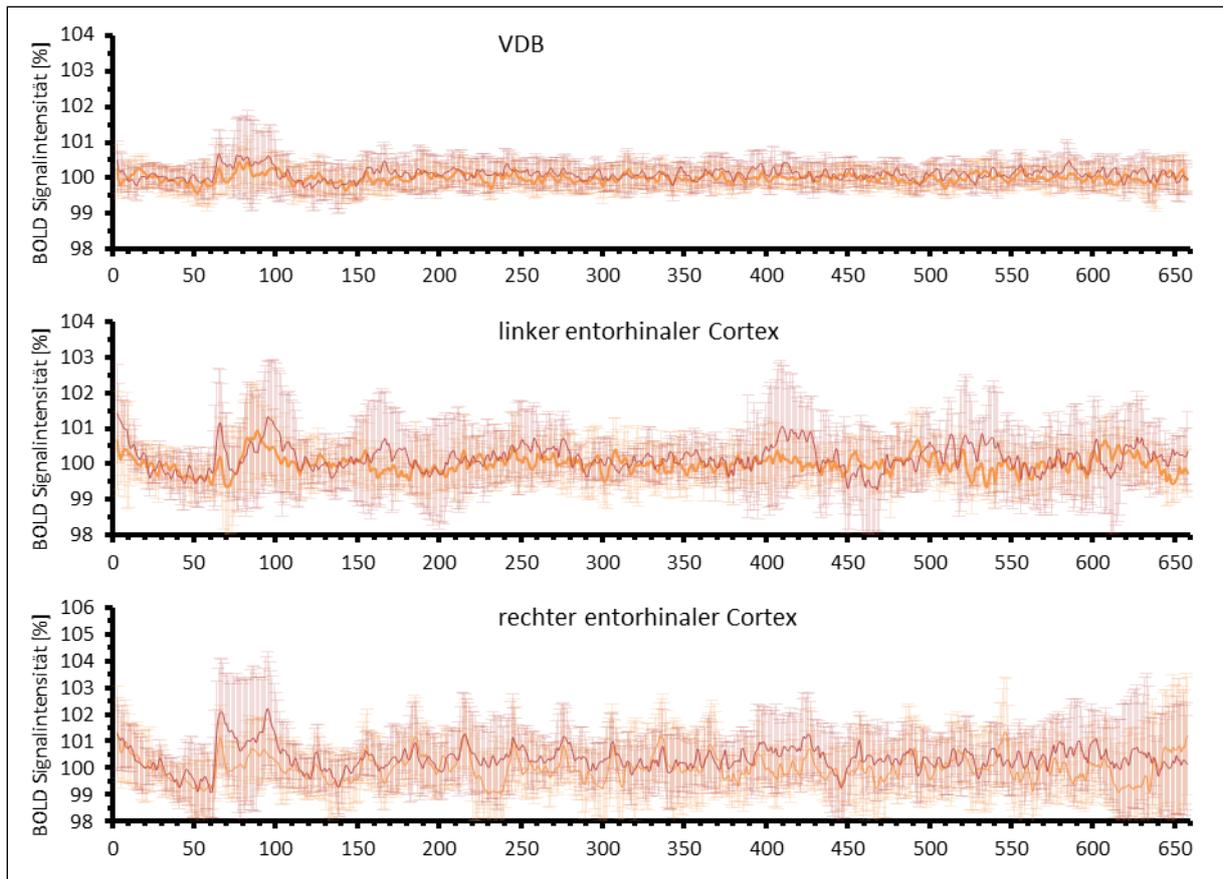




**Abbildung A5.4 | BOLD Signalverläufe der 1 Hz-20Pulse Messungen an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 bei den Tieren, die an Tag 2-4 in der Shuttle-Box trainiert wurden (n=8)**

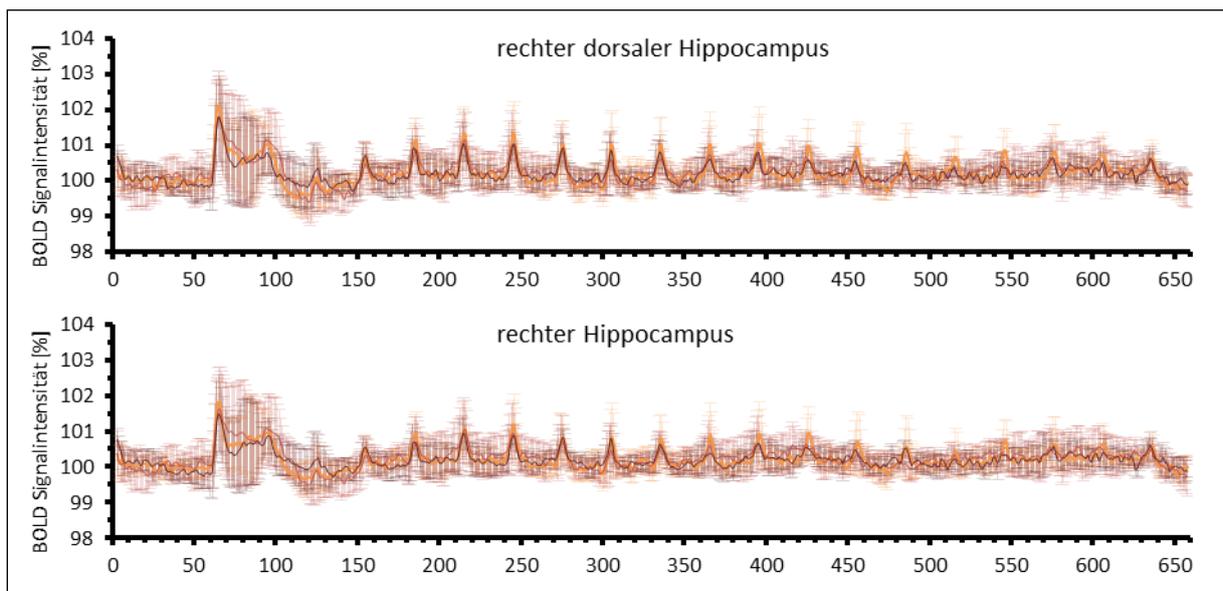
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Hellblau: Tag 1, dunkelblau: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

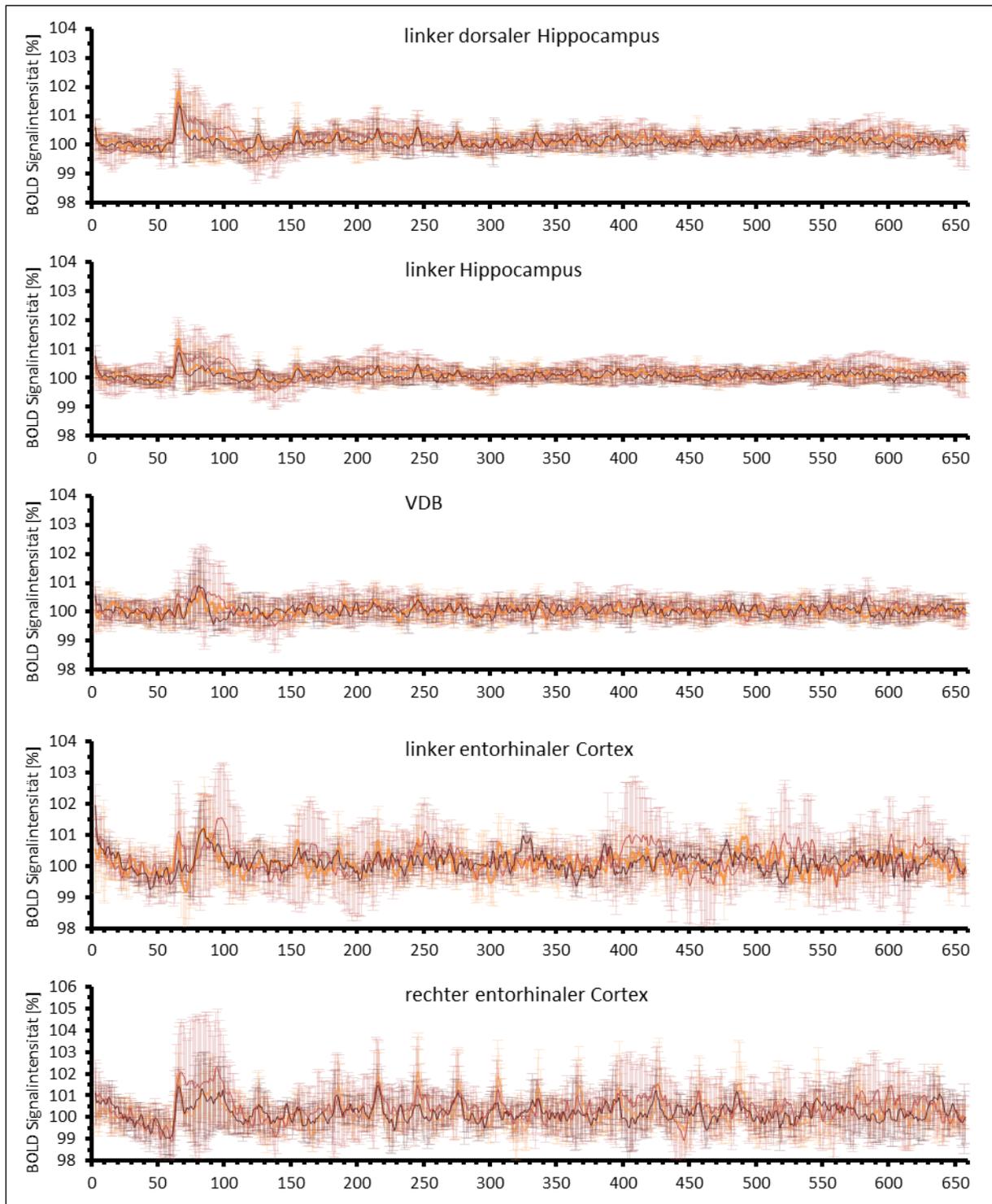




**Abbildung A5.5 | BOLD Signalverläufe der 5 Hz Messungen an Tag 1 und Tag 5 bei den Tieren, die an Tag 2-4 in der Shuttle-Box trainiert wurden (n=12)**

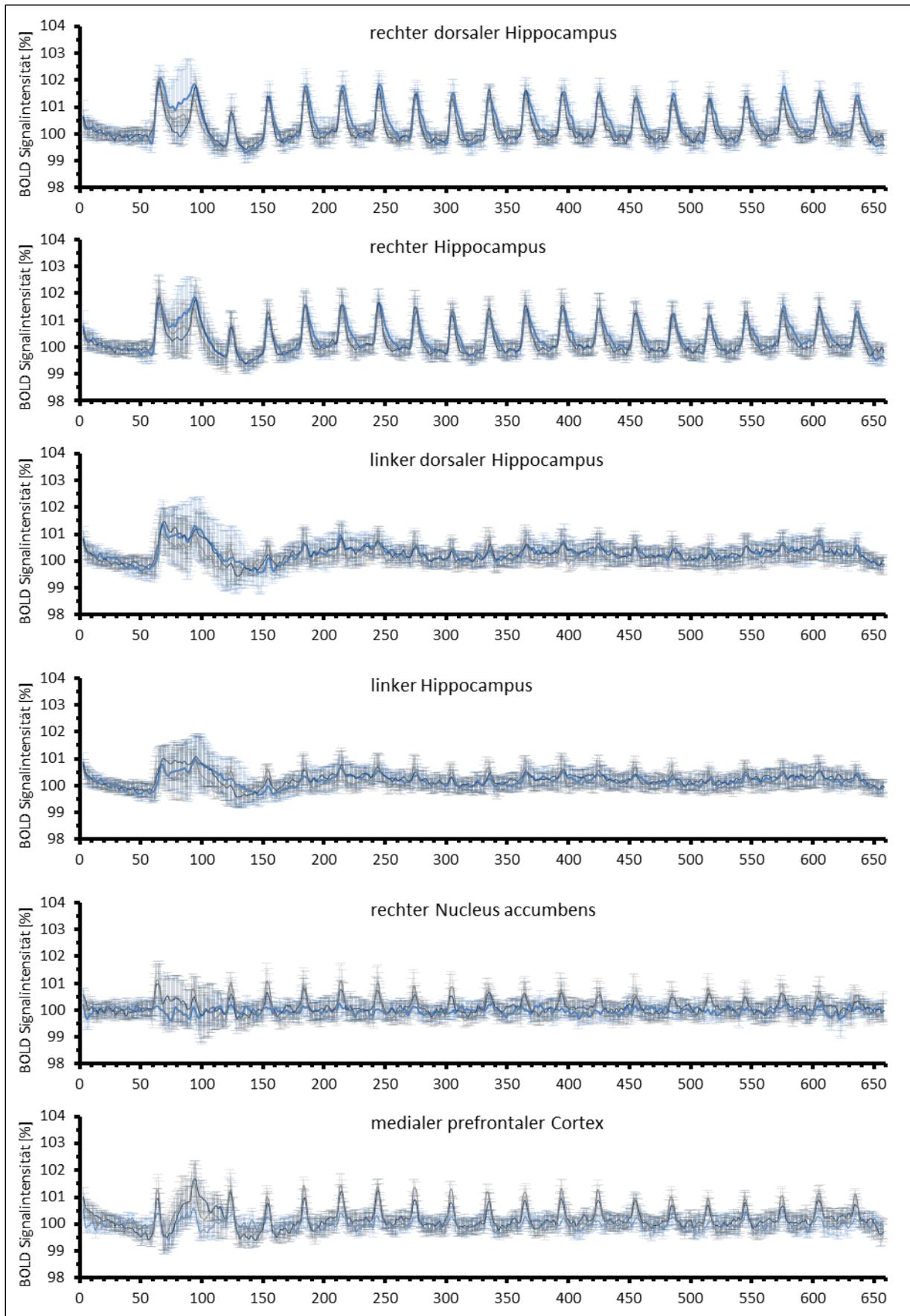
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Orange: Tag 1, rot: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

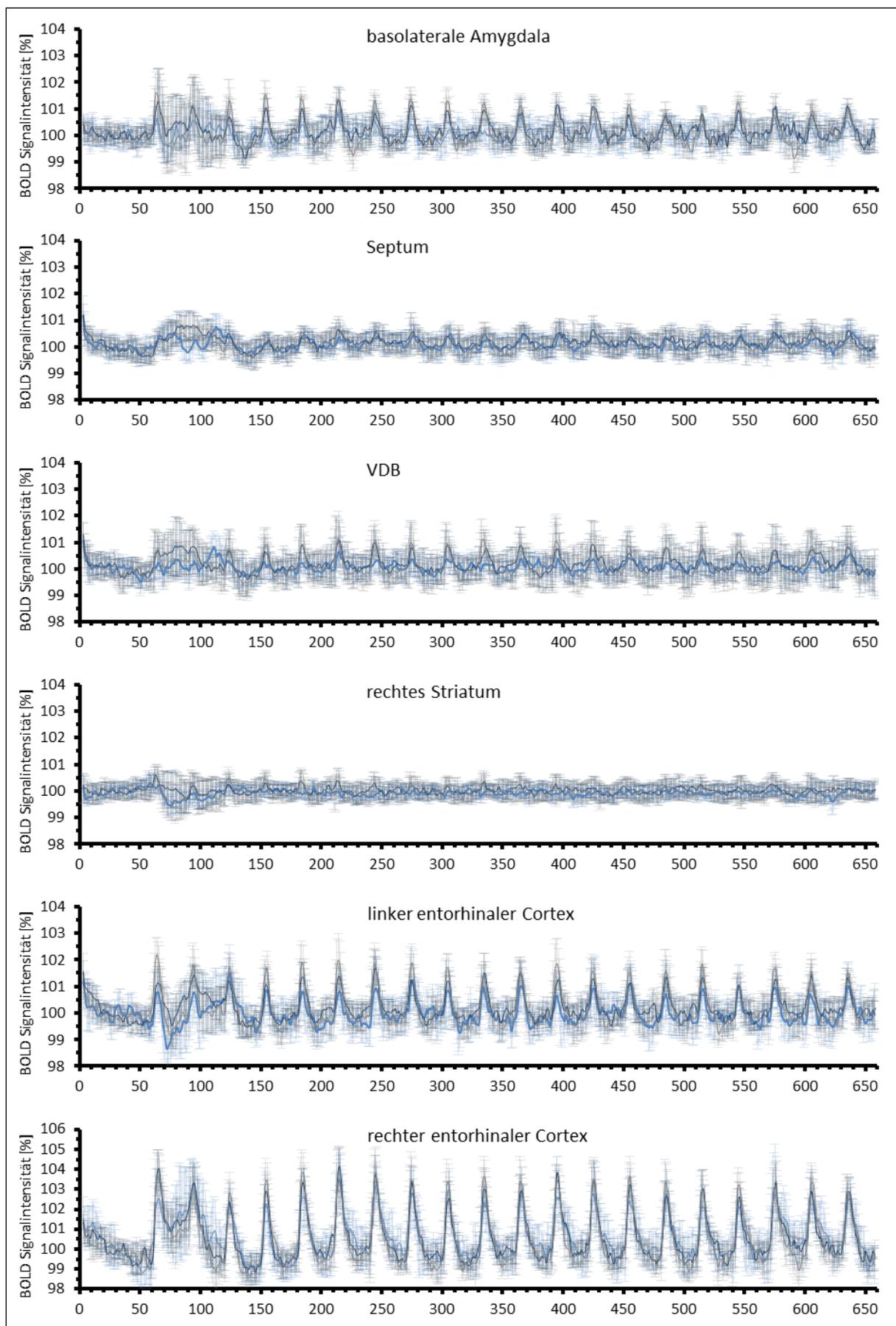




**Abbildung A5.6 | BOLD Signalverläufe der 5 Hz Messungen an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 bei den Tieren, die an Tag 2-4 in der Shuttle-Box trainiert wurden (n=12)**

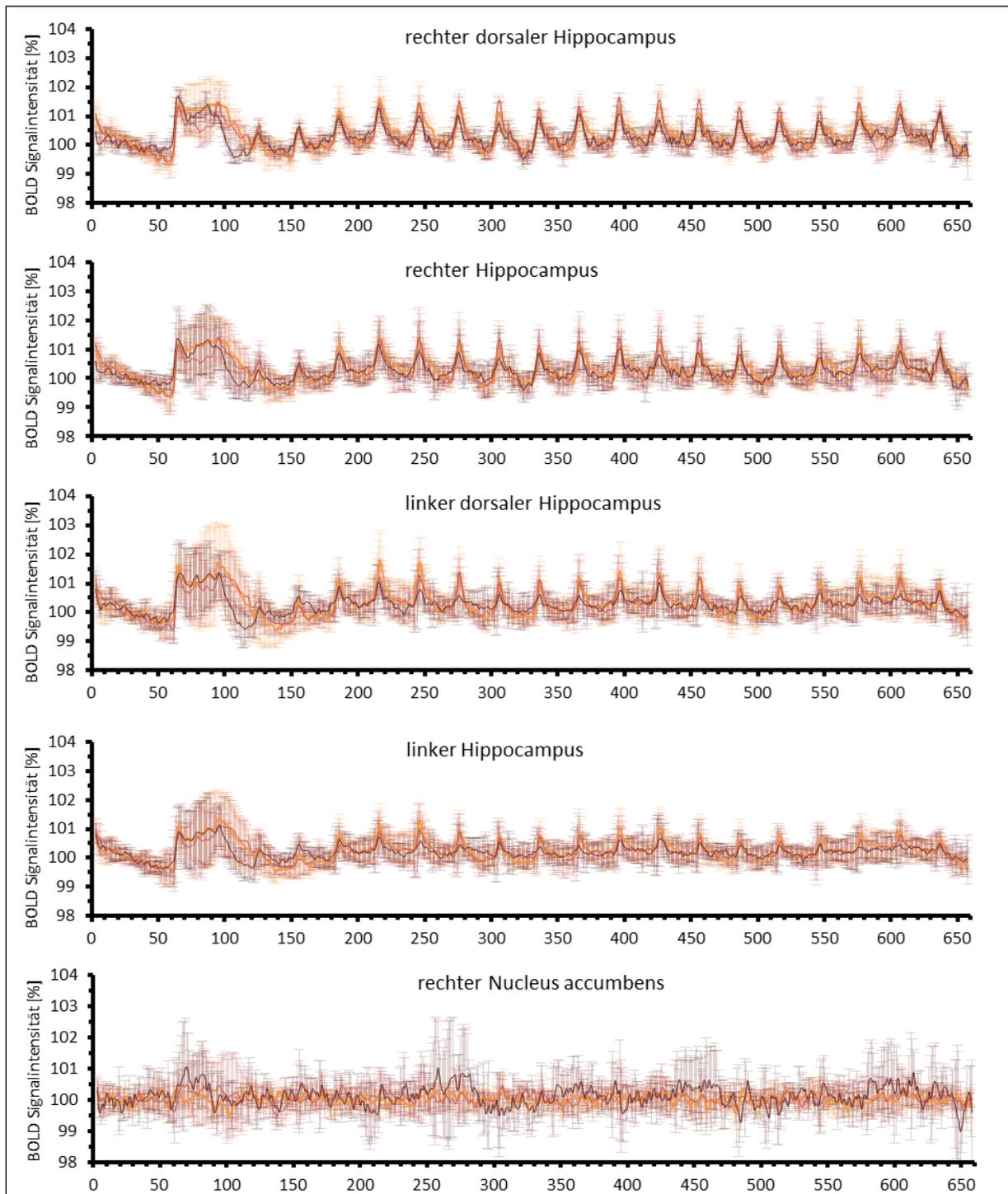
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Orange: Tag 1, rot: Tag 5. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

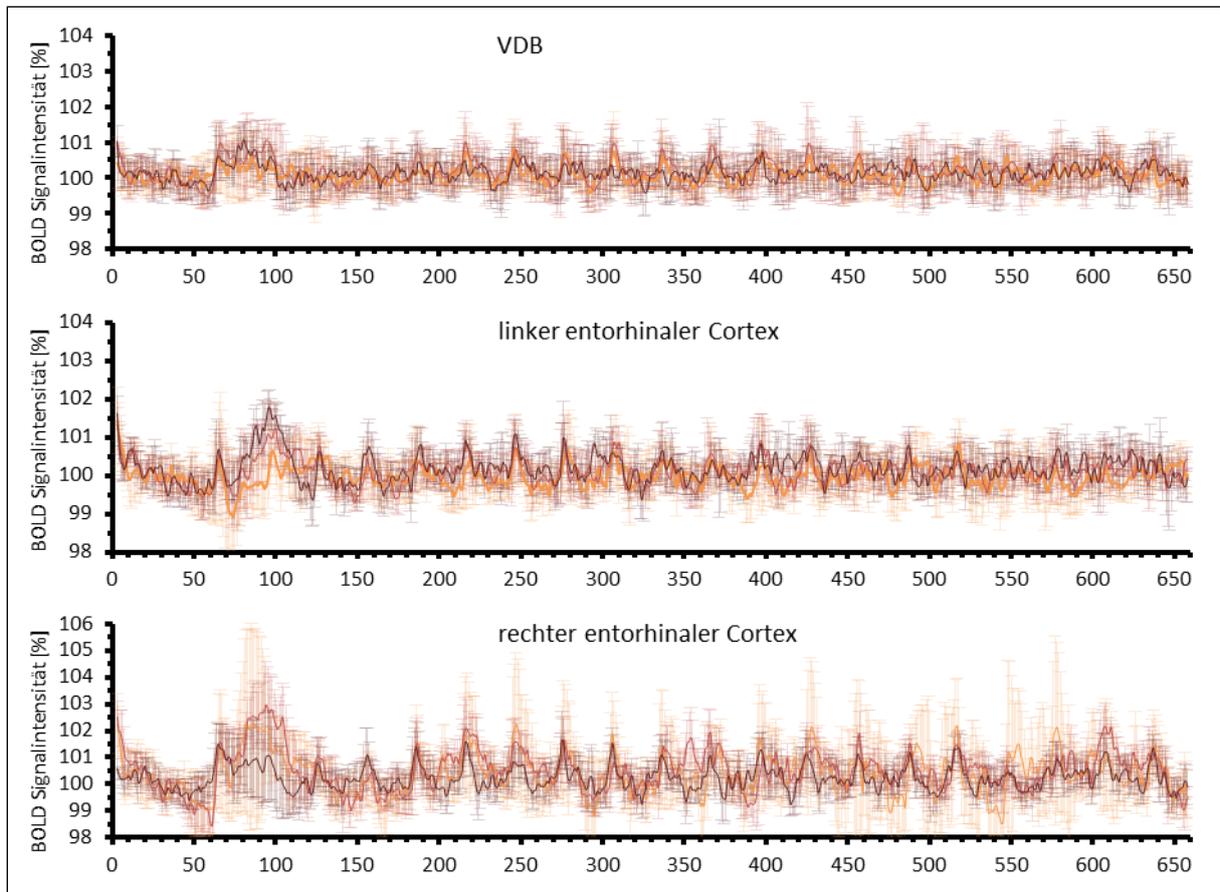




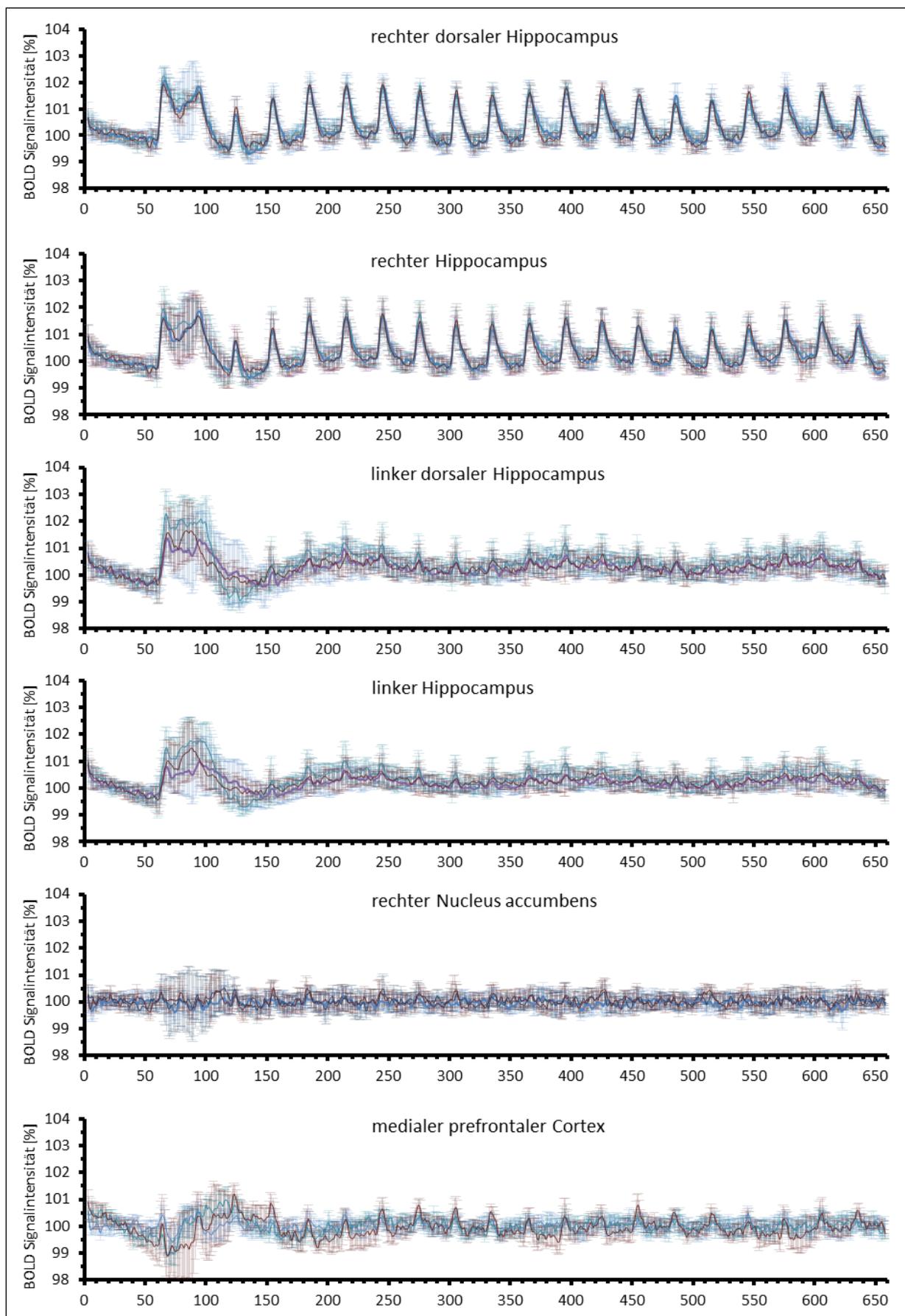
**Abbildung A5.6 | BOLD Signalverläufe der 1 Hz-20 Pulse Messungen an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 bei den Tieren, die an Tag2-4 Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll bekamen (n=10)**

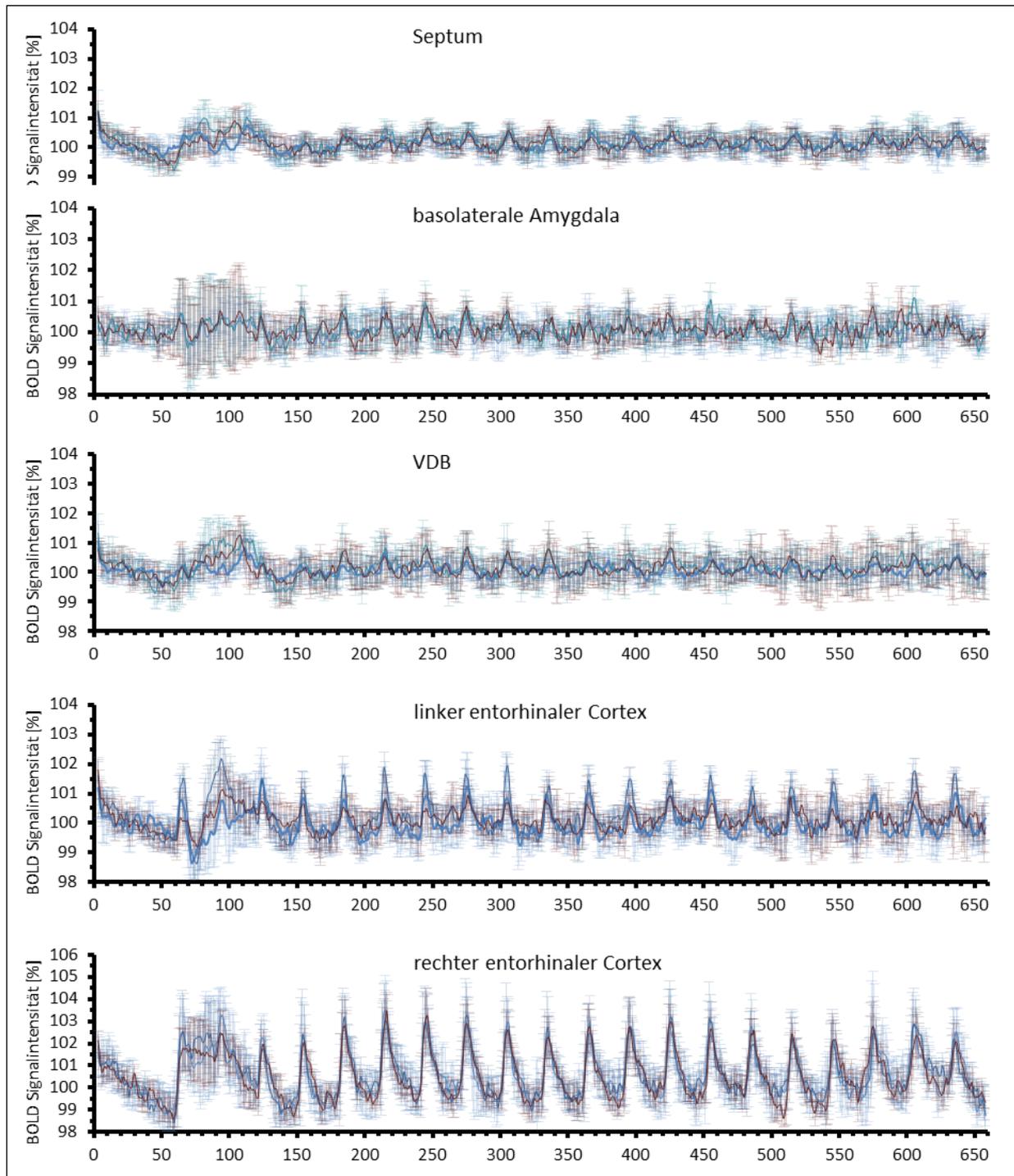
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Blau: Tag 1, dunkelblau: Tag 5, grau: Tag 14. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.





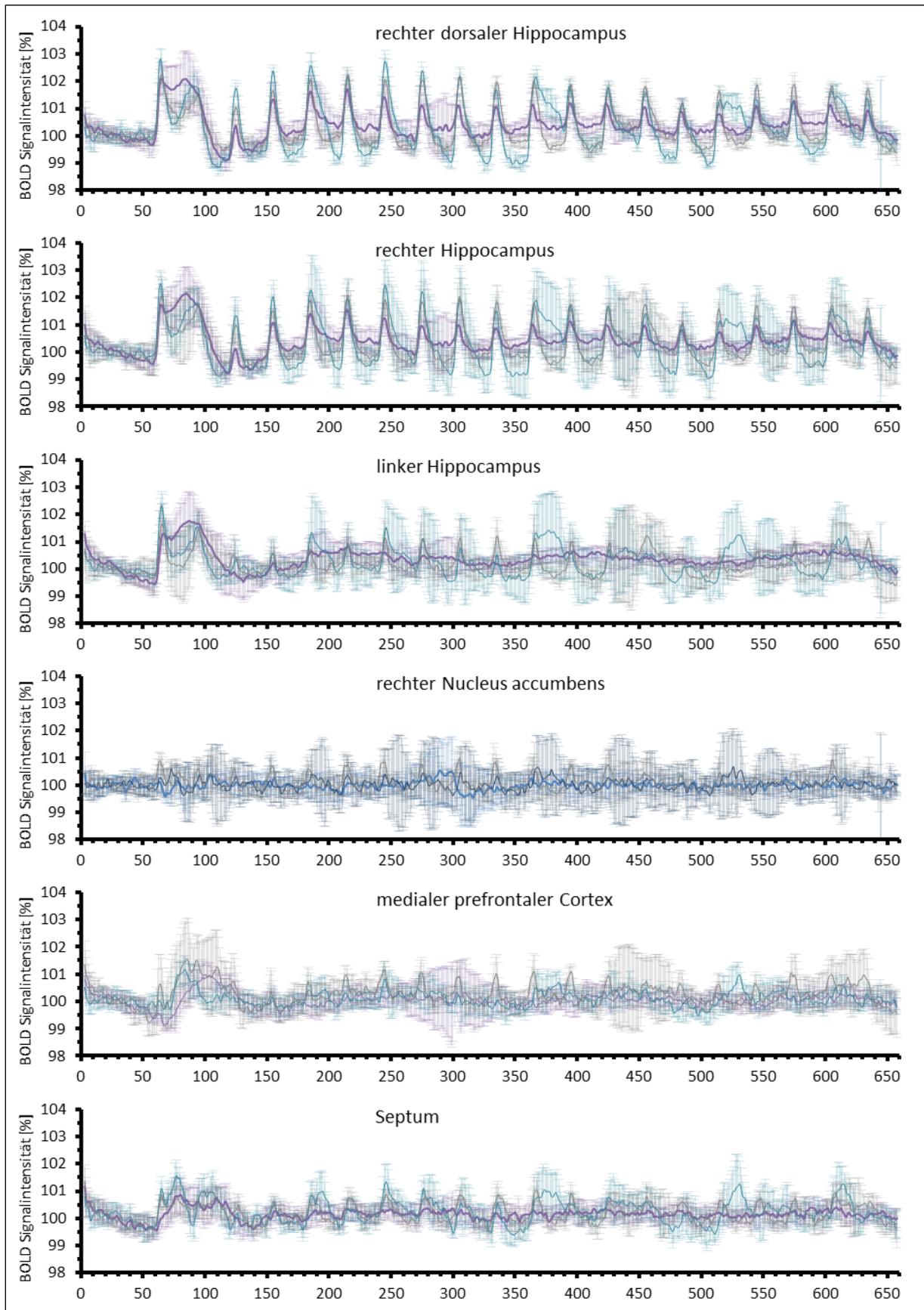
**Abbildung A5.7 | BOLD Signalverläufe der 5 Hz Messungen an Tag 1, Tag 5 und Tag 14 bei den Tieren, die an Tag2-4 Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll bekamen (n=7)**  
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Orange: Tag 1, rot: Tag 5, dunkelrot: Tag 14. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

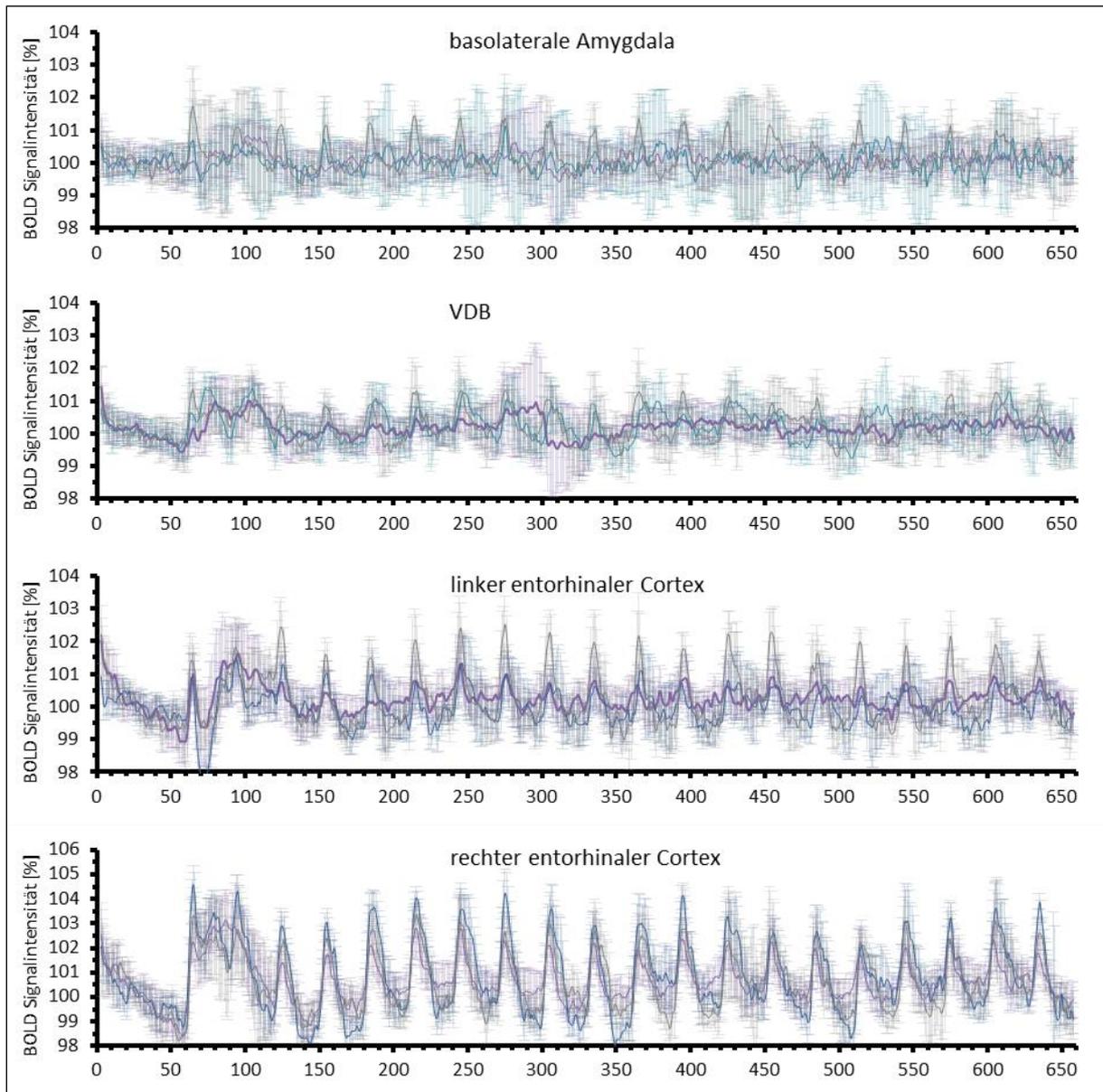




**Abbildung A5.9 | BOLD Signalverläufe der fMRT/Elektrophysiologie Messungen mit dem 1 Hz-20Pulse Protokoll bei unterschiedlicher vorhergehender Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll**

Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Blau: ohne vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, aquamarin: nach einer 5 Hz Messung zwei Tage zuvor, dunkelrot: Messung der 5 Hz Stimationsgruppe an Tag 16. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.





**Abbildung A5.9 | BOLD Signalverläufe der fMRT/Elektrophysiologie Messungen mit dem 5 Hz-4 Pulse Protokoll bei unterschiedlicher vorhergehender Stimulation mit dem 1 Hz-20 Pulse Protokoll**

Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Lila: ohne vorhergehende Stimulation des *Tractus perforans*, aquamarin: nach einer 1 Hz-20 Pulse Messung zwei Tage zuvor, grau: Messung der 1 Hz-20 Pulse Stimulationsgruppe an Tag 16. Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

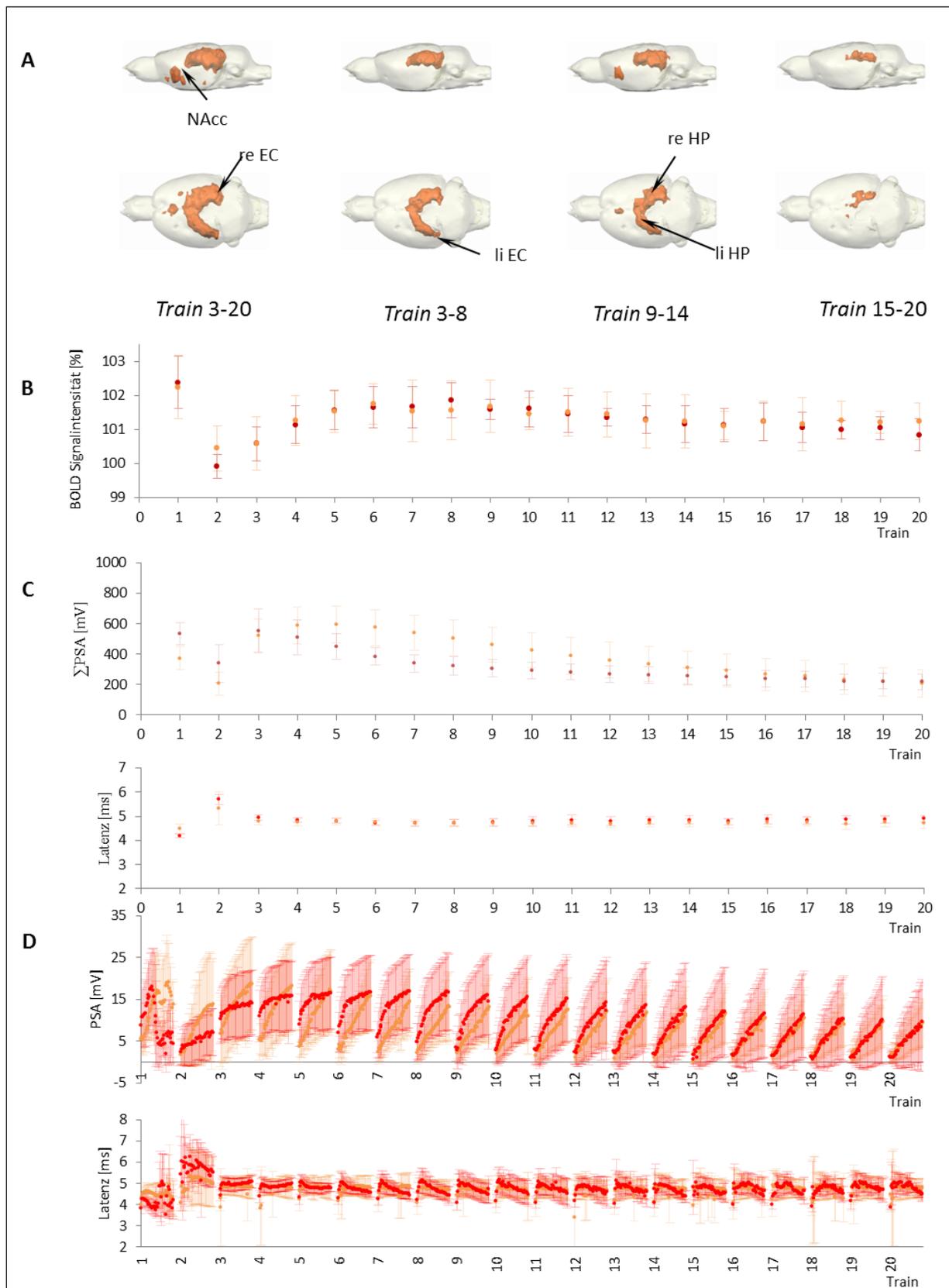
## Auswirkungen von Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll mit höherer Intensität

Für das 1 Hz-20Pulse Protokoll wurde bereits gezeigt, dass Stimulation mit höherer Intensität (500  $\mu$ A) die BOLD Signale in Zielregionen des rechten dorsalen Hippocampus verstärkt. Für das 5 Hz Protokoll wurde nun ebenfalls eine höhere Stimulationsintensität verwendet. Damit sollte geklärt werden, ob es möglich ist, mit dem 5 Hz Protokoll zusätzliche Regionen zu aktivieren, oder ob dieses Frequenzmuster grundsätzlich zu weniger signifikant aktivierten Voxeln außerhalb der hippocampalen Formation führt. Zusätzlich wurde das neuronale Antwortverhalten der Granularzellen untersucht. Zum Vergleich wurde die fMRT/Elektrophysiologie Messung der 5 Hz Stimulationsgruppe an Tag 1 herangezogen.

### Neurophysiologische Effekte im *Gyrus dentatus* und BOLD Signale im rechten dorsalen Hippocampus und im gesamten Gehirn

Weder die Latenz, noch die Amplitude der Populationsspikes war zwischen den beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Die BOLD Signalintensitäten waren für die *Trains* 3-20 in keiner der 15 Regionen signifikant unterschiedlich. Im rechten NAcc war die BOLD Signalintensität im ersten *Train* in der 5 Hz Gruppe, die mit der normalen Intensität von 200-300  $\mu$ A gemessen wurde sogar höher als in der 5 Hz 500  $\mu$ A Gruppe. Der Vergleich der 3D Abbildungen (siehe Abbildung 4.4.4) zeigt auch im Verlauf der BOLD Signalausbreitung keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

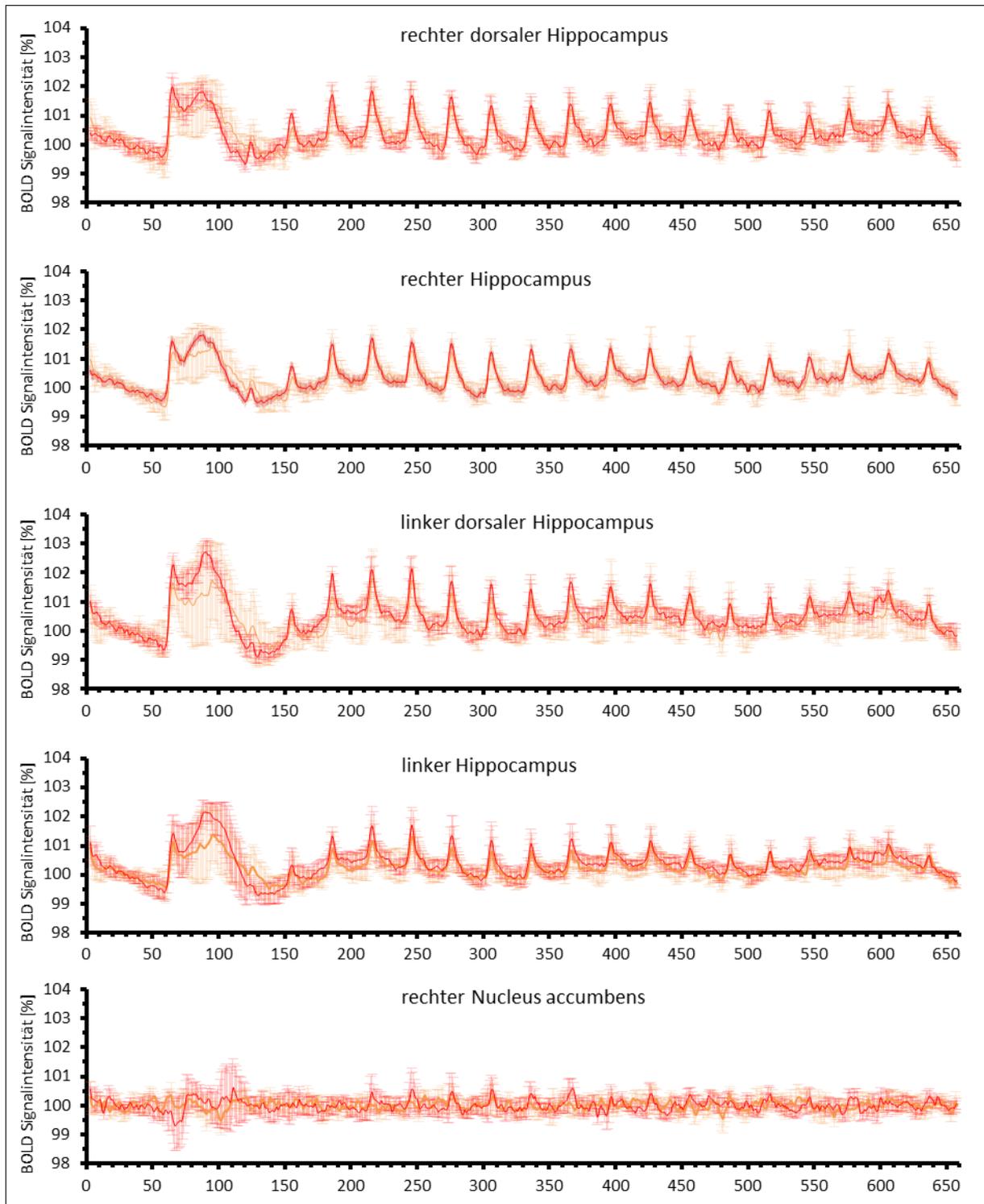
Stimulation mit höherer Intensität führt bei Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll somit weder zu höheren BOLD Antworten, noch zu einer verstärkten Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel.

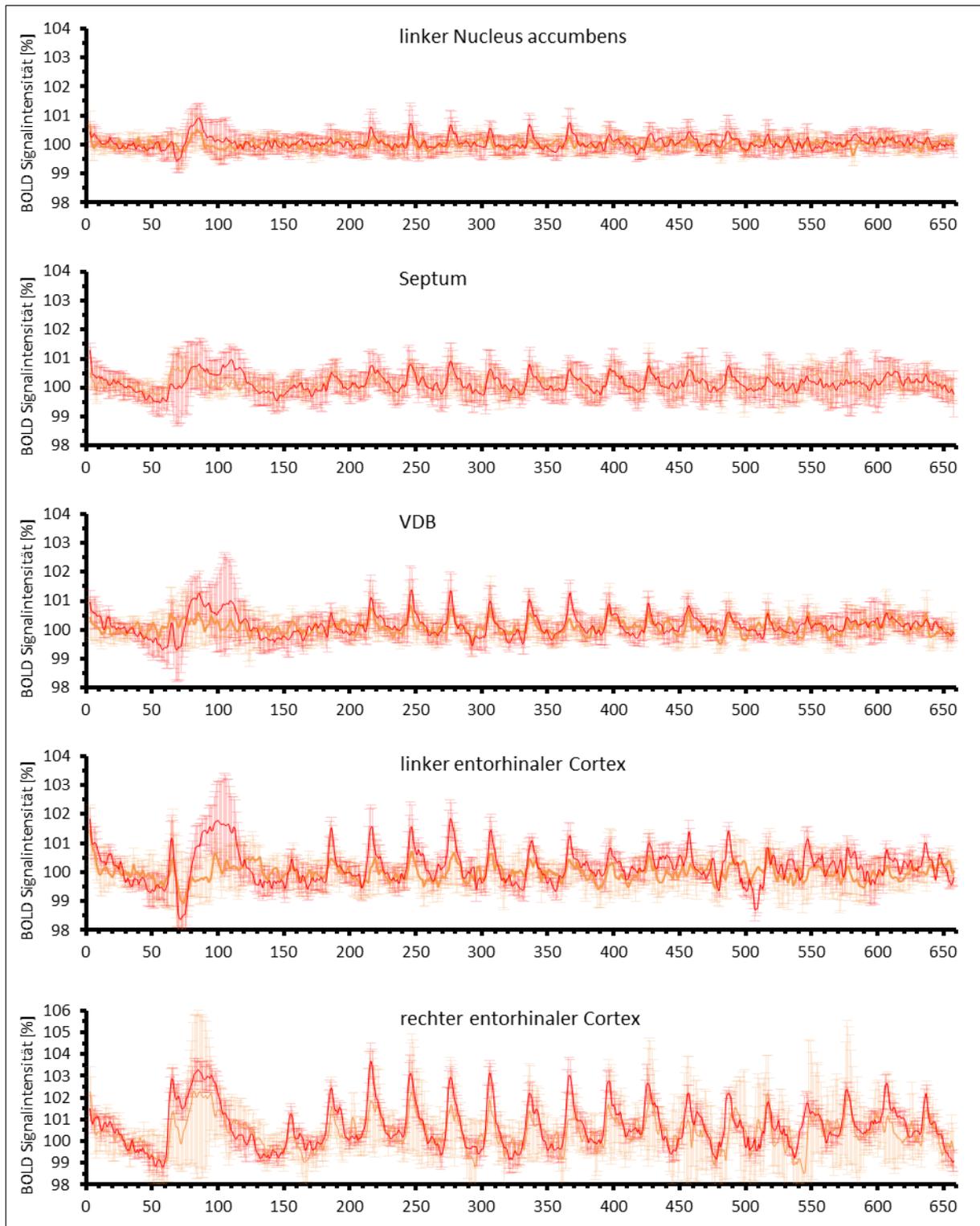


**Abbildung A6.1 | Ergebnisse der Stimulation mit dem 5 Hz Protokoll bei höherer Intensität (500  $\mu$ A) und bei normaler Intensität (200-300  $\mu$ A)**

A: Ausbreitung signifikant aktivierter Voxel. B: Verlauf der BOLD Signalintensität im rechten dorsalen Hippocampus, dargestellt als Mittelwerte der maximalen BOLD Signalintensität mit Standardabweichungen. C: Summe der Amplituden und Latenzen der

Populationsspikes mit Standardfehlern. D: Originalwerte der Elektrophysiologie. Orange: normale Stimulationsintensität (200-300  $\mu\text{A}$ ), rot: höhere Stimulationsintensität (500  $\mu\text{A}$ ).





**Abbildung A6.2| BOLD Signalverläufe der 5 Hz Messungen mit normaler Stimulationsintensität (200-300  $\mu\text{A}$ ) und mit höherer Stimulationsintensität (500  $\mu\text{A}$ )**  
Dargestellt sind nur die Signalverläufe in Regionen, die durch die Stimulation während der fMRT/Elektrophysiologie Messungen aktiviert wurden. Orange: normale Intensität, rot: Stimulation mit 500  $\mu\text{A}$ . Alle BOLD Signalverläufe sind mit Standardabweichungen dargestellt.

## Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

Name: Stephanie Riemann  
Anschrift: Leibnizstr 25  
39104 Magdeburg  
geb.: 27.10.1984 in Stuttgart  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Berufserfahrung**

05/2013-heute Wissenschaftliche Mitarbeiterin/Doktorandin am DZNE  
(Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen)  
AG Funktionales Neuroimaging  
02/2012-04/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am ZMNH (Zentrum für Molekulare  
Neurobiologie Hamburg) AG Entwicklungsneurophysiologie

### **Studium und Schule**

10/2004- **Studium der Biologie an der Universität Hohenheim, Stuttgart**  
07/2011 Abschluss Biologie Diplom (1,76)  
Hauptfach: Tierphysiologie  
Nebenfächer: Parasitologie, Membranphysiologie  
Diplomarbeit am Institut für medizinische Psychologie und  
Verhaltensneurobiologie der Universität Tübingen mit dem Thema  
*„Pilotstudie zum Theta/Beta-Training bei Erwachsenen mit ADHS“*  
09/2001-07/2004 **Mathilde-Planck-Schule Ludwigsburg (EG)**, Abschluss Abitur (1,5)

Magdeburg, den 24.10.2017

## Publikationen

Hartung, H., Cichon, N., De Feo, V., Riemann, S., Schildt, S., Lindemann, C., Hanganu-Opatz, I. L. (2016). From Shortage to Surge: A Developmental Switch in Hippocampal-Prefrontal Coupling in a Gene-Environment Model of Neuropsychiatric Disorders. *Cerebral Cortex*, 26(11), 4265–4281

Keune, P. M., Schönenberg, M., Wyckoff, S., Mayer, K., Riemann, S., Hautzinger, M., & Strehl, U. (2011). Frontal alpha-asymmetry in adults with attention deficit hyperactivity disorder: Replication and specification. *Biological Psychology*, 87(2), 306–310.

Riemann, S., Helbing, C., & Angenstein, F. (2016). From unspecific to adjusted, how the BOLD response in the rat hippocampus develops during consecutive stimulations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 37 (2), 590-604.

Stephanie Riemann

Leibnizstraße 25

39104 Magdeburg

## Erklärung

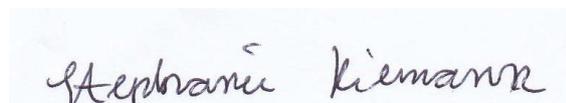
Hiermit erkläre ich, dass ich die von mir eingereichte Dissertation zu dem Thema

„Entwicklung des neuronalen Antwortverhaltens im Hippocampus der Ratte und den daraus resultierenden BOLD-fMRT Antworten während wiederholter elektrischer Stimulation *des Tractus perforans*“

Selbständig verfasst, nicht schon als Dissertation verwendet habe und die benutzten Hilfsmittel und Quellen vollständig angegeben habe.

Weiterhin erkläre ich, dass ich weder diese noch eine andere Arbeit zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat) an anderen Einrichtungen eingereicht habe.

Magdeburg, den 24.10.2017

A handwritten signature in black ink on a light blue rectangular background. The signature reads "Stephanie Riemann" in a cursive script.

Stephanie Riemann