

Aus dem C. & O. Vogt-Institut für Hirnforschung

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. K. Zilles

**Computergestützte Analyse der Struktur-Funktionsbeziehungen
dopaminerges Neurone**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Margareta Krickl

2000

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dieter Häussinger

Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Zilles

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Haas

Inhalt

Vorwort.....	4
--------------	---

Teil 1

Einfluß speziesabhängiger Größenunterschiede auf die elektrophysiologischen Eigenschaften dopaminerges Neurone

Einleitung.....	6
-----------------	---

Methoden

Die morphologischen Daten.....	8
--------------------------------	---

Analyse der passiven Membraneigenschaften.....	8
--	---

Konstruktion von Segment-Neuronmodellen.....	9
--	---

Evaluation passiver Membranparameter.....	10
---	----

Ergebnisse

Vergleich der Morphologie bei unterschiedlichen Spezies.....	12
--	----

Beziehung zwischen Parametern von Länge und Dicke	17
---	----

Vergleich von passiven elektrophysiologischen Eigenschaften Spezies-spezifischer Neuron-Modelle.....	19
--	----

Dendritenausdehnung und Eingangswiderstand von dopaminergen Neuronen der Ratte	24
--	----

Diskussion

Identifizierung der dopaminergen Neurone	27
--	----

Präzision der morphologischen Daten	28
---	----

Vergleich mit anderen neuronalen Zelltypen.....	29
---	----

Schlußfolgerung: Dopaminerge Neurone zeigen erhebliche morphologische und elektrophysiologische Speziesunterschiede.....	32
--	----

Teil 2

Computersimulation aktiver Modelle dopaminerger Neurone

Einleitung.....	33
Methoden	
Experimentelle Charakterisierung der Leitfähigkeiten in der Spannungsklemme.....	36
Extraktion der charakteristischen Werte.....	38
Implementation der Leitfähigkeiten im Modell	49
Implementation des aktiven Neuronmodells	49
Simulation von Stromklemmenexperimenten.....	53
Ergebnisse	
Charakteristische Merkmale der Leitfähigkeiten.....	54
Simulation des elektrophysiologischen Verhaltens eines dopaminergen Neurons der Ratte im Stromklemme-Experiment	71
Effekte der Zellgröße auf Aktivitätsmuster von simulierten Compacta-Neuronen	82
Mechanismen der Burstaktivität in dopaminergen Neuronen	85
Diskussion	
Genauigkeit der Spannungsklemmenexperimente zur Bestimmung der Kanalparameter.....	90
Mechanismen zur Generierung des Pacemaker-Rhythmus	91
Konstanz elektrophysiologischer Eigenschaften.....	93
Bedeutung der Bursts für die Dopaminfreisetzung im Striatum.....	95
Bedeutung verschiedener Aktivitätsmuster bei neuropsychiatrischen Phänomenen und Möglichkeit der pharmakologischen Beeinflussung	96
Signifikanz	100
Zusammenfassende Diskussion.....	102

Anhang: Implementierung der Segment-Neuronmodelle	103
Literatur	131

Vorwort

Die dopaminergen Neurone der Substantia nigra sind von großer Bedeutung bei einer Reihe von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen. Zum Beispiel ist der pathologische Hauptbefund bei Morbus Parkinson ein Dopaminmangel, der durch Degeneration dopaminergere Neurone in der Substantia nigra pars compacta verursacht wird. Die Wirksamkeit von Dopaminantagonisten in der Behandlung der Schizophrenie läßt auf eine Beteiligung dopaminergere Neurone oder eine Veränderung der Dopaminrezeptoren in Art, Quantität oder Verteilung bei dieser Erkrankung schließen.

Ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen dieser Erkrankungen erfordert deshalb genaue Kenntnis des Verhaltens dopaminergere Neurone.

Das Ziel der Arbeit ist die Charakterisierung des Verhaltens der dopaminergere Neurone unter besonderer Berücksichtigung ihrer Struktur-Funktions-Relationen. Dies geschieht durch Analyse der morphologischen und physiologischen Eigenschaften und durch Computersimulation ihres Zusammenspiels bei der Generierung verschiedener Aktivitätsmuster in diesen Neuronen.

In einer Reihe von Computermodellen mit zunehmender Komplexität wurden folgende Fragen untersucht:

1. Wie unterscheiden sich die morphologischen Eigenschaften dopaminergere Neurone bei verschiedenen Spezies und wie wirkt sich dies auf ihr elektrophysiologisches Verhalten aus?
2. Wie interagieren die verschiedenen Membranströme während der Spontanaktivität dopaminergere Neurone und bei Anwendung von Stimulationsparadigmen?

Diese Studie zeigt, daß

1. die Morphologie dopaminergere Neurone zwischen den Spezies systematisch variiert, und zwar so, daß die veränderten Membraneigenschaften kein einheitliches elektrophysiologisches Verhalten erwarten lassen.
2. das komplexe Verhalten dopaminergere Neurone durch die Interaktionen von bis zu zehn verschiedenen Ionenströmen bestimmt wird.

Insgesamt stellt sich heraus, daß die in der Literatur häufig zitierte Annahme der Speziesunabhängigkeit nicht haltbar ist. Dies hat erhebliche Auswirkung auf die Interpretation von Tiermodellen für Störungen des dopaminergen Systems beim Menschen. Gleichzeitig bieten sich Ansatzpunkte für die Systematisierung der Unterschiede und die Erklärung des spezifischen Verhaltens dopaminergener Neurone bei der Ratte.

Teil 1

Einfluß speziesabhängiger Größenunterschiede auf die elektrophysiologischen Eigenschaften dopaminerges Neurone

Einleitung

In diesem Teil der Arbeit werden folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. In welcher Weise variiert die Morphologie der dopaminergen Neurone zwischen verschiedenen Spezies?
2. Inwiefern lassen sich die elektrophysiologischen Eigenschaften durch die Morphologie erklären?

Methodisch sind wir folgendermaßen vorgegangen:

1. Zuerst wurde eine umfassende Literaturübersicht zur Speziesabhängigkeit der morphologischen und elektrophysiologischen Eigenschaften dieser Neurone erarbeitet.
2. Danach konstruierten wir basierend auf den morphologischen Daten von dopaminergen Neuronen eine Reihe von Spezies- und Präparations-spezifischen Segment-Modell-Neuronen und berechneten (unter Annahme konstanter und homogener Membranparameter) jeweils den theoretischen Eingangswiderstand.

Unsere Analyse ergibt folgende Ergebnisse:

1. Längen und Durchmesser von Soma und Dendriten dieser Neurone zeigen signifikante Unterschiede zwischen Ratten, Katzen, Makaken und Menschen (im Gegensatz zu anderen

Neurontypen wie zum Beispiel den Hauptneuronen im Striatum), während das dendritische Verzweigungsmuster bei den verschiedenen Spezies gleichartig ist.

2. Die morphologischen Analysen legen eine isometrische Skalierung nahe, d.h. Dendritenlängen und -dicken unterscheiden sich um denselben Faktor. Diese Skalierung ist nicht geeignet, die passiven Membraneigenschaften bei verschiedenen Spezies konstant zu halten.

3. Weitere Berechnungen für die Ratte zeigen, daß die unterschiedlichen Eingangswiderstände in vivo und in vitro nicht allein auf die Verkürzung der Dendriten zurückgeführt werden können. Um diese Befunde zu erklären, sind zusätzliche Faktoren notwendig, zum Beispiel der Verlust von Afferenzen in vitro.

Methoden

Die morphologischen Daten

Die Morphologie der in der Substantia nigra pars compacta vorkommenden Zelltypen wurde für mehrere Spezies beschrieben (Maus: Chiodo & Kapatos, 1991; Ratte: Andén et al., 1966; Hanaway et al., 1970; Gulley & Wood, 1971; Hajdu et al., 1973; Juraska et al., 1977; Danner & Pfister, 1982; Domesick et al., 1983; Poirier et al., 1983; Kita et al., 1986; Grace & Onn, 1989; Silva et al., 1990; Lee et al., 1992; Tepper et al., 1994; Meerschweinchen: Hainsworth et al., 1991; Yung et al., 1991; Katze: Rinvik & Grofova, 1970; Preston et al., 1981; Poirier et al., 1983; Affe: Hirosawa, 1968; Hubbard & DiCarlo, 1974; Schwyn & Fox, 1974; Schofield & Everitt, 1981; Poirier et al., 1983; Yelnik et al., 1987; Mensch: Poirier et al., 1983; Braak & Braak, 1986; Yelnik et al., 1987). Es wurden zwei umfassende Spezies-vergleichende Datensammlungen veröffentlicht: Poirier et al. (1983) maßen Soma-Durchmesser in Klüver-Barrera-gefärbten Schnitten von Ratten (Anzahl der Neurone $n=300$), Katzen ($n=253$), Makaken ($n=300$) und Menschen ($n=101$). Yelnik et al. (1987) untersuchten Golgi-gefärbte Neurone von Makaken ($n=5$) und Menschen ($n=13$). Sie beschrieben die neuronale Population mit Hilfe von 18 morphologischen Parametern und fertigten Camera-lucida-Zeichnungen individueller Neurone an. Neben Soma- und Dendritencharakteristika wurden von einigen Autoren auch axonale Merkmale genauer untersucht (Preston et al., 1981; Grace & Bunney, 1983b; Tepper et al., 1987; Bunney et al., 1991).

Analyse der passiven Membraneigenschaften

Um morphologische Charakteristika von Compacta-Neuronen zu vergleichen, benutzten wir eine einfaktorische univariate Varianzanalyse, um vergleichbare Daten von Ratten, Katzen, Makaken und Menschen zu analysieren (Tabelle 1). Post-hoc paarweise Vergleiche wurden nach der Student-Newman-Keul-Methode ausgeführt. Für andere Vergleiche wurden t-Tests für gleiche und ungleiche Varianzen benutzt, abhängig vom Ergebnis des F-Tests, welcher die Varianzen der zwei Datensätze analysiert. In allen Fällen wurde $p < 0,05$ als signifikant betrachtet.

Theoretische Überlegungen zu passiven Membraneigenschaften zeigen, daß Längen und Dicken von Membransegmenten die Ausbreitung elektrotonischer Signale in Neuronen beeinflussen (zum Beispiel

Rall et al., 1992). Eine proportionale ("isometrische") Skalierung von Längen und Dicken in zylindrischen Segmenten führt zu einer verstärkten Abschwächung elektrotonischer Signale und hat einen Einfluß auf die Ausbreitung post-synaptischer Potentiale über einen Dendriten (Hill et al., 1994). Elektrotonische Eigenschaften unterschiedlich großer Dendriten bleiben jedoch konstant, wenn das Wachstum in der Länge gleich der Quadratwurzel des Wachstums in der Dicke ist ("isoelektrotonische Skalierung" oder "konservative Skalierung"). Dieses Gesetz folgt der Beziehung, die von Hill et al. (1994) formuliert wurde:

$$L_{large} = L_{small} \left(l_g / \sqrt{d_g} \right) \quad (1)$$

Die elektrotonische Länge (L) ist die physikalische Länge eines Kabels, skaliert mit der Längenkonstante λ . Die Längenkonstante gibt die Entfernung an von dem Punkt, an dem ein einzelnes Potential erzeugt wurde, zu dem Punkt, an dem die maximale Amplitude des Potentials auf $1/e$ ihres ursprünglichen Wertes abgefallen ist, vorausgesetzt, daß Membranwiderstand (r_m) und Axialwiderstand (r_a) konstant sind (Rall et al., 1992). Der Faktor l_g , welcher die Längen umrechnet, und der Faktor d_g , welcher die Dicken der Compacta-Neurone unterschiedlicher Spezies in Beziehung bringt, wurden aus morphologischen Daten berechnet (siehe Kapitel "Beziehung zwischen Parametern von Länge und Dicke"). Wenn beide Faktoren gleich sind ($l_g = d_g$), dann ist das Größenverhältnis isometrisch. Konstanz elektrotonischer Eigenschaften von Compacta-Neuronen würde erfordern, daß l_g gleich λ ist.

Konstruktion von Segment-Neuronmodellen

Wir erstellten Segment-Neuronmodelle einerseits aus Daten von Durchschnittspopulationen und andererseits aus Camera-lucida-Zeichnungen individueller Neurone von Menschen, Makaken und Ratten. Alle Daten wurden auf Schrumpfung hin korrigiert (x 1,15, Rall et al., 1992). Messungen aus Camera-lucida-Zeichnungen wurden zusätzlich hinsichtlich des mittleren Fehlers durch die Projektion (x 1,41) korrigiert. Wir stellten neuronale Segmente von Soma und Segmenten zwischen Dendritenverzweigungspunkten gemäß der Standardtechniken in der Computermodellierung verzweigter Neurone (Rall et al., 1992) durch Zylinder der Länge l und der Dicke d dar. Wegen der

begrenzten Genauigkeit distaler Dendritendicken, die in Golgi-gefärbten Schnitten gemessen wurden, verwendeten wir die Beziehung für die Definition unverzweigter äquivalenter Kabel:

$$d_{i-1}^{3/2} = \sum_{j=1}^2 d_{ij}^{3/2} \quad (2)$$

Beginnend bei den genau gemessenen Dicken der Dendritenstämme (d_{i-1}) berechneten wir die theoretischen Dicken der zwei Tochterdendritensegmente (d_{i1} , d_{i2}). Dieses Verfahren wurde iterativ für die distaleren Verzweigungen wiederholt. Die durch diese Methode erhaltenen Dicken stimmten mit veröffentlichten Messungen distaler Dendritendicken überein. Da die Dicken einzelner Verzweigungen in Camera-lucida-Zeichnungen variabel sind, zogen wir eine zusätzliche Beobachtung in Betracht: Schierwagen & Grantyn (1986) bestimmten die Dicken aller Dendritenverzweigungen in Neuronen des Colliculus inferior superior und stellten fest, daß die 3/2-Potenz-Beziehung durchschnittlich mit einer Gauß-ähnlichen Verteilung des Exponenten mit einer Standardabweichung von 0,3 erfüllt ist.

(Die Implementierung der Segment-Neuronmodelle befindet sich im Anhang.)

Evaluation passiver Membranparameter

Als Grundlage für die Berechnung passiver Membraneigenschaften wurden folgende Standardmembranparameter benutzt (Rall et al., 1992): $r_m = 10 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, $r_a = 0,2 \text{ k}\Omega\text{cm}$ und $c_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ (r_m ist der spezifische Membranwiderstand, r_a ist der spezifische Axialwiderstand und c_m ist die spezifische Membrankapazität). Der Eingangswiderstand (R_{in}) der Segmentneuronmodelle wurde durch iterative Anwendung der von Rall et al. (1992) beschriebenen Formeln berechnet:

$$\frac{1}{R_{in}} = G_{in} = G_{\infty} \frac{(G_{out} / G_{\infty}) + \tanh(l / \lambda)}{1 + (G_{out} / G_{\infty}) \tanh(l / \lambda)} \quad (3)$$

mit

$$G_{\infty} = \left(\frac{\rho}{2}\right) d^{3/2} (r_m r_a)^{-1/2} \quad (4)$$

und

$$\mathbf{I} = \left(\frac{d}{4}\right)^{1/2} \left(\frac{r_m}{r_a}\right)^{1/2}. \quad (5)$$

G_{out} ist Null für die distalen Endverzweigungen. Für alle anderen Segmente ist G_{out} gleich G_{in} des nächsten Segmentpaares an einem dendritischen Verzweigungspunkt. Die resultierenden Eingangsleitfähigkeitswerte eines jedes Dendriten und die Zellkörperleitfähigkeit wurden aufaddiert und ergeben die Eingangsleitfähigkeit des gesamten Neurons. Zum Schluß wurde eine Shunt-Leitfähigkeit (verursacht durch die Mikroelektrodenpenetration) addiert, wo es erforderlich war. Es ist üblich, das Axon in Schätzungen physiologischer Eigenschaften wegen der geringen Dicke dieses Neuriten (initial etwa 2 μm , dann konstant 0,5 bis 1,0 μm ; Preston et al., 1981) zu ignorieren.

Der Fehler des berechneten Eingangswiderstandes, zusammen mit der Ungenauigkeit der gemessenen Dicken distaler Dendriten, wurde durch Anpassung von Gleichung (2) gemäß der Beobachtung von Schierwagen & Grantyn (1986) evaluiert: In 1000 wiederholten Berechnungen des neuronalen Eingangswiderstandes zogen wir Verzweigungsexponenten für jeden einzelnen Verzweigungspunkt aus einer Gauß-ähnlichen Verteilung mit einem Mittelwert von 1,5 und einer Standardabweichung von 0,3.

Ergebnisse

Vergleich der Morphologie bei unterschiedlichen Spezies

Die von Poirier et al. (1983) gemessenen Compacta-Neurone haben mittlere maximale Zellkörper-Durchmesser, welche von Ratten über Katzen und Makaken bis zum Menschen ansteigen (Tab. 1 und Fig. 1). Obwohl der Unterschied der Zellkörper-Durchmesser zwischen Ratten und Katzen viel größer ist als zwischen Katzen und Makaken oder zwischen Makaken und Menschen, sind alle Mittelwerte signifikant verschieden.

Yelnik et al. (1987) bestimmten die Querschnittsflächen der Zellkörper bei Makaken und Menschen als ein anderes Maß der Zellkörper-Größe (Tab. 2). Obwohl die Anzahl der gemessenen Neurone vergleichsweise klein war, waren diese Größen auch hier signifikant verschieden. Bei der Ratte bewegten sich die Zellkörper-Durchmesser zwischen $18 \times 10 \mu\text{m}$ und $18 \times 29 \mu\text{m}$ (Kita et al., 1986). Tepper et al. (1987) geben eine Zellkörper-Größe bei acht Meerrettich-Peroxidase (HRP)-markierten dopaminergen Projektionsneuronen von $24,8 \pm 1,7$ mal $12,7 \pm 3,4 \mu\text{m}$ an. In einer anderen Studie (Tepper et al., 1990) ist die längste Dimension des Zellkörpers $23,7 \pm 4,3 \mu\text{m}$ und die dazu senkrechte Dimension $13,2 \pm 2,5 \mu\text{m}$ ($n=95$). Diese Werte ähneln den von Poirier et al. (1983) bei Ratten (Bereich der längsten Zellkörper-Dicke $10-29 \mu\text{m}$) gefundenen Werten. Auch die mittlere Querschnittsfläche ($246 \mu\text{m}^2$) ist eindeutig kleiner als die von Yelnik et al. (1987) bei Makaken ($669 \mu\text{m}^2$) und Menschen beschriebene ($856 \mu\text{m}^2$).

	Mensch	Affe	Katze	Ratte
Anzahl der Neurone	101	300	253	300
Mittelwert±SD (µm)	38,0±8,6	33,4±9,1	31,1±9,1	17,2±3,4
Einfaktorielle univariate ANOVA	F = 315,3; p < 0,0001;			
Student-Newman-Keuls-Test (q-Test-Statistik*)	alle p < 0,05			
Mensch		7,33	10,75	33,16
Affe			4,94	36,39
Katze				4,94

Tabelle 1. Die Varianz-Analyse der mittleren längsten Somadurchmesser von Compacta-Neuronen beim Menschen, beim Affen, bei der Katze, und der Ratte zeigt signifikante Größenunterschiede. Daten von Poirier et al. (1983). *"Große" Werte von q zeigen an, daß die Unterschiede zwischen den beiden verglichenen Gruppen statistisch signifikant sind.

Spezies-Abhängigkeit der Somagröße

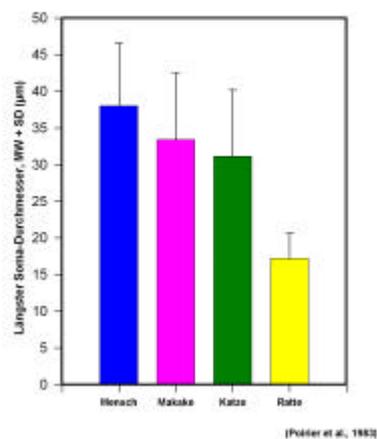


Fig. 1. Graphische Darstellung zu Tabelle 1.

Ähnliche Unterschiede erhält man für metrische Abmessungen der Dendriten von Compacta-Neuronen (Tab. 2). Die mittlere Dicke von Dendritenstämmen ist bei Makaken ($5,7 \mu m$) signifikant geringer ($p < 0,001$) als bei Menschen ($7,5 \mu m$). Eine semi-quantitative Studie bei Ratten gibt Dicken größerer Dendriten im Bereich von $2-6 \mu m$ ($n=8$, Tepper et al., 1987) an. In einer anderen quantitativen Studie, betragen die Dicken von Dendritenstämmen, $25 \mu m$ vom Zentrum des Zellkörpers entfernt, $2,4 \pm 0,6 \mu m$ ($n=97$, Tepper et al., 1990). Ungewöhnlich dicke Dendritenstämme bei Ratten mit Dicken zwischen 4 und $8 \mu m$ ($n=12$) nach Lucifer-Yellow-Injektion werden von Grace & Bunney (1983b) beschrieben, aber entsprechen eher denen, die bei Katzen gefunden werden ($2-9 \mu m$, $n=10$, Preston et al. 1981). Über distale Dendriten-Dicken sind wenige Studien erhältlich. Tepper et al. (1990) maßen eine mittlere distale Dendriten-Dicke von $0,94 \pm 0,34 \mu m$ in zufällig ausgewählten Dendriten in mindestens $400 \mu m$ Entfernung vom Zellkörper.

Nach Yelnik et al. (1987) mißt der längste Dendrit beim Menschen $1600 \mu m$, beim Makaken $1100 \mu m$. Die Mittelwerte der längsten Dendriten in der Pars compacta, von Yelnik et al. (1987) beschrieben, und die Gesamtlänge aller Dendritenverzweigungen unterscheiden sich signifikant ($p < 0,001$) zwischen Makaken und Menschen (Tab. 2). Unterschiede zwischen einzelnen Teilen des Dendritenbaumes (Längen der Stämme, Dendritenzwischenstücke oder Endverzweigungen) sind nicht signifikant (Yelnik et al., 1987). Daten, die die Ausdehnung des Dendritenbaumes bei Ratten beschreiben, liefern nur sehr allgemein gehaltene Aussagen: In kompletten Rekonstruktionen erstrecken sich die Dendritenbäume über Areale von bis zu $500 \times 1500 \mu m$ (Tepper et al., 1987). Die nach ventral gerichteten Dendriten sind für gewöhnlich die dicksten und längsten ($500-600 \mu m$) verglichen mit dorsalen und lateralen Dendriten (Tepper et al., 1987).

	Mensch	Makake	F-Test	t-Test	Mensch/ Makake
Anzahl der Neurone	13	5	p	p	ratio
Metrische Eigenschaften					
Soma-Querschnittsfläche (μm^2)	856±155	669±172	0,70	0,040	1,28
Stammdicke (μm)	7,5±1,1	5,7±1,3	0,59	0,009	1,32
totale Dend.-Länge (μm)	10514±3600	7029±1008	0,02	0,006	1,50
max. Dend.-Länge (μm)	1373±203	1067±227	0,68	0,013	1,29
Segment-Länge (μm)	333±103	241±65	0,41	0,079	1,38
Topologische Maße					
Anzahl der Stämme	5,0±0,7	5,0±0,6	0,82	1,000	1,00
Anz. Endverzweigungen	18,5±4,2	18,4±6,8	0,18	0,970	1,00
Anz. Segmente	32,1±8,4	31,8±13,2	0,20	0,954	1,01
max. Statur *	5,1±0,6	5,4±0,8	0,40	0,397	0,94

Tabelle 2. Metrische Meßzahlen von Compacta-Neuronen unterscheiden sich signifikant zwischen Menschen und Makaken. Topologische Eigenschaften sind nahezu identisch. Daten von Yelnik et al. (1987). Zur Erklärung der Tests siehe Methoden. * maximale Anzahl aufeinanderfolgender Segmente in einem Dendritenbaum.

Im Gegensatz zu den metrischen Parametern sind die topologischen Parameter (Verzweigungsmuster) von Compacta-Neuronen beim Menschen und Makaken nahezu identisch (Tab. 2 und Fig. 2). Beim Vergleich beider Spezies ergibt der Student t-Test ein $p > 0,95$ für die Anzahl der Stämme, Endverzweigungen und Segmente. Auch die maximale Anzahl von Segmenten vom Zellkörper bis hin zur Dendritenendverzweigung zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Spezies. Es gibt keine vergleichbaren quantitativen Daten von der Ratte, aber einige Zahlen sind bekannt: die Anzahl von Stämmen, die vom Zellkörper ausgehen, liegt zwischen 3 und 6 (Preston et al., 1981; Grace & Bunney, 1983b; Tepper et al., 1987; Lee et al., 1992). Tepper et al. (1987, S. 2796) berichten, daß die Zahl von 3 nicht überschritten wird.

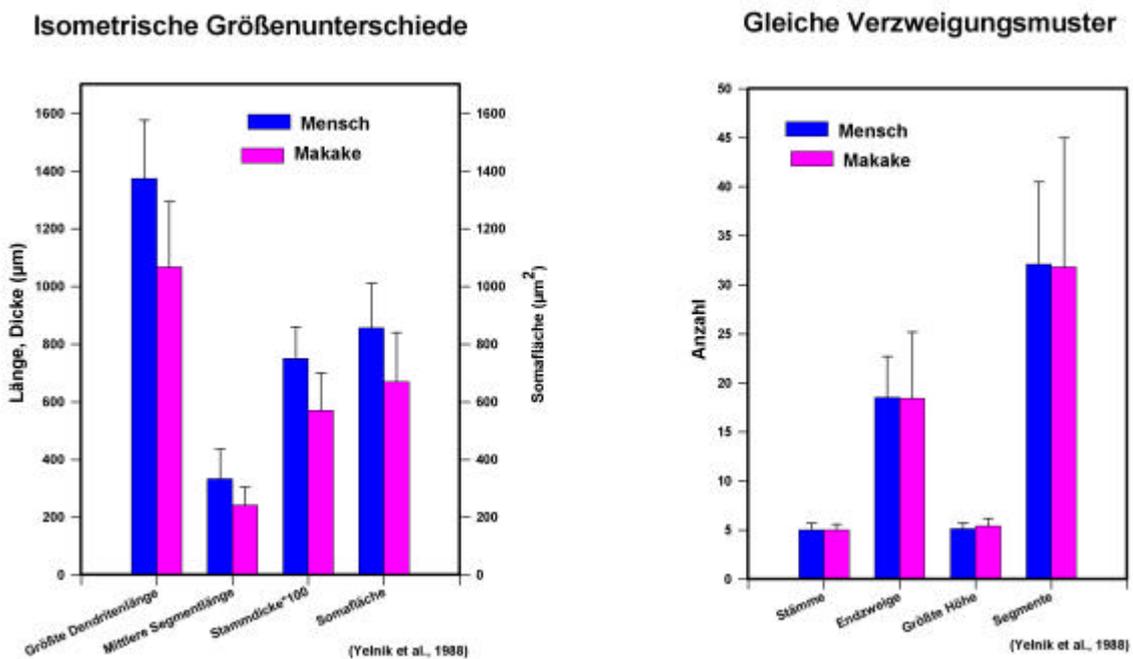


Fig. 2. Vergleich zwischen Neuronen beim Menschen (n=13) und beim Makaken (n=5). Die metrischen Eigenschaften unterscheiden sich zwischen den Spezies, während die topologischen Eigenschaften annähernd konstant sind.

Zusammenfassend sind Compacta-Neurone der Substantia nigra in Hinsicht auf Zellkörper- und Dendriten-Ausmaße beim Makaken signifikant kleiner als beim Menschen, die Topologien jedoch sind bei beiden Spezies dieselben (vgl. Yelnik et al., 1987, S. 466). Der Vergleich von Compacta-

Neuronen bei Ratten und jenen von Makaken oder Menschen ergibt, daß die Zellkörper- und Dendriten-Ausmaße von Compacta-Neuronen bei Ratten signifikant kleiner sind (siehe auch Fig. 6). Wiederum scheinen die Topologien gleich zu sein.

Beziehung zwischen Parametern von Länge und Dicke

Für den Vergleich der Beziehung zwischen Längen und Dicken in unterschiedlichen Spezies konnten wir auf die folgenden in der Literatur beschriebenen Parameter zurückgreifen: Längen sind vom totalen Dendritenbaum, dem längsten Dendriten und dem durchschnittlichen Dendritensegment bekannt. Die Dicken stammen von Dendritenstämmen und distalen Dendriten. Zusätzlich kennen wir die Dicken und Querschnittsflächen des Zellkörpers bei unterschiedlichen Spezies.

Beim Vergleich von Compacta-Neuronen vom Menschen und vom Makaken überschreitet der Längenparameter des ersteren den des letzteren um einen Faktor $l_g = 1,39$ (Tab. 3). Dieser Wert ähnelt dem Skalierungsfaktor der Stammdicke $d_g = 1,32$, unterscheidet sich aber deutlich von der Quadratwurzel des Skalierungsfaktors $\sqrt{\dot{a}_g} = 1,15$. Daher sind die metrischen Unterschiede zwischen Compacta-Neuronen beim Menschen und Makaken isometrisch, und damit nicht dazu geeignet, die elektrotonischen Eigenschaften der Dendriten zu erhalten. Auch der Vergleich von Compacta-Neuronen beim Menschen und bei der Ratte liefert keinen Hinweis auf isoelektrotonische Skalierung: l_g ist etwa 2,5, während d_g gleich 3,13 ist, und $\sqrt{\dot{a}_g}$ ergibt 1,77.

Die Ausmaße des Zellkörpers zeigen eine interessante Beziehung zu den Dendritenausmaßen (Tab. 3). Zwischen Mensch und Makake sind die längsten Zellkörperdurchmesser und die Quadratwurzel der Querschnittsflächen mit den Faktoren 1,14 beziehungsweise 1,13 skaliert. Diese Werte sind nahezu identisch zu $\sqrt{\dot{a}_g} = 1,15$. Beim Vergleich von Compacta-Neuronen vom Mensch und von der Ratte ist die Beziehung weniger auffallend, zeigt aber eine ähnliche Tendenz: Die mittleren längsten Zellkörperdurchmesser sind mit einem Faktor von 2,21 skaliert und die Wurzel der Querschnitts-Zellkörperflächen mit 1,87 verglichen mit einem $\sqrt{\dot{a}_g}$ von 1,77.

	Mensch/ Mak.	Mensch/ Ratte	Referenzen
Dendriten Längen			
totale Dend.-Länge (μm)	1,50		Yelnik et al., 1987
max. Dend.-Länge (μm)	1,29	2,50	Yelnik et al., 1987; Tepper et al., 1987
Segment-Länge (μm)	1,38		Yelnik et al., 1987
Durchschnittlicher Quotient (l_g)	1,39	2,5	
Dendriten Dicken			
Stamm-Dicke (μm)	1,32	3,13	Yelnik et al., 1987; Tepper et al., 1994
Wurzel des Quotienten ($\sqrt{d_g}$)	1,15	1,77	
Soma Dimensionen			
längster Soma-Durchmesser (μm)	1,14	2,21	Poirier et al., 1983; Tepper et al., 1994
Soma-Querschnittsfläche (μm^2)	(1,13) ²	(1,87) ²	Yelnik et al., 1987; Tepper et al., 1994

Tabelle 3. Verhältnisse der somatischen und dendritischen Maße von Länge und Dicke zwischen Menschen, Makaken und Ratten.

Die Morphologie von Compacta-Neuronen bei unterschiedlichen Spezies ist also in einer Art skaliert, daß es unwahrscheinlich ist, daß sie konstante elektrotonische Eigenschaften besitzen. In erster Näherung sind morphologische Unterschiede kompatibel mit isometrischer Skalierung, d.h.

Dendritenlängen und -dicken unterscheiden sich um denselben Faktor, während Zellkörperausmaße sich durch die Quadratwurzel dieses Faktors unterscheiden. Die Skalierungsfaktoren, die wir herleiteten, waren $s_{Mensch/Makake} = 1,35$ und $s_{Mensch/Ratte} = 2,5$.

Vergleich von passiven Membraneigenschaften Spezies-spezifischer Neuron-Modelle

Um die morphologischen Ergebnisse von verschiedenen Gesichtspunkten aus zu überprüfen, berechnen wir den Eingangswiderstand von Segmentneuron-Modellen, deren Dimensionen der obigen Literaturübersicht entnommen wurden und auf Schrumpfung hin korrigiert wurden (wie in Methoden beschrieben). In Modellen von Durchschnittsneuronen benutzen wir die gleiche Topologie, wie sie typisch für Compacta-Neurone ist (5 Stämme, 18 Endverzweigungen, 31 Segmente; Yelnik et al., 1987), da sich die Topologien zwischen den Spezies nicht unterscheiden (Fig. 3 links).

Berechnungen für scharfe Mikroelektroden (wie in Gleichungen 3-5 beschrieben) liefern einen somatodendritischen Eingangswiderstand (R_{in}) von 9 MW für das durchschnittliche menschliche Neuron, 15 MW für das durchschnittliche Makakenneuron und 31 MW für das durchschnittliche Rattenneuron (markiert mit \blacktriangle in Fig. 4). Isometrische Skalierung des menschlichen Modellneurons auf die Größe von Makaken- und Rattenneuronen mit dem morphologischen Skalierungsfaktor $s_{Mensch/Makake}$ bzw. $s_{Mensch/Ratte}$ (und \sqrt{s} für die Skalierung der Zellkörper) erhöht R_{in} auf 15 MW (Makake) bzw. 45 MW (Ratte) (siehe Fig. 3 links). Der Eingangswiderstand von Rattenmodellneuronen und die Membranzeitkonstante ($\tau=10\text{ ms}$) sind kompatibel mit experimentellen Werten in vivo ($\tau=10-12\text{ ms}$, $R_{in}=18-50\text{ MW}$, Grace et al., 1983a; Chiodo & Kapatos, 1992). Im Gegensatz dazu ergibt die isoelektrotonische Skalierung ($l_g=s$, $d_g=s^2$, siehe Gleichung 1) einen viel höheren Eingangswiderstand im Rattenmodellneuron (119 MW), welcher von den experimentell gewonnenen Daten deutlich abweicht. Obwohl die Morphologie individueller Neurone variabel ist, liefern die auf Camera-lucida-Zeichnungen basierenden Modelle zu Durchschnittsneuronen sehr ähnliche Werte für R_{in} (Fig.3 rechts): Mensch 11 MW und 16 MW für zwei verschiedene Neurone (Yelnik et al., 1987, Fig. 6B); Makake 17 MW (Yelnik et al., 1987, Fig. 2A); Ratte 49 MW (Tepper & Sawyer, 1987, Fig. 3). Diese Ergebnisse werden nur gering durch

Änderungen der Somagröße im Rahmen der experimentell gefundenen Abweichungen beeinflusst (nicht gezeigt).

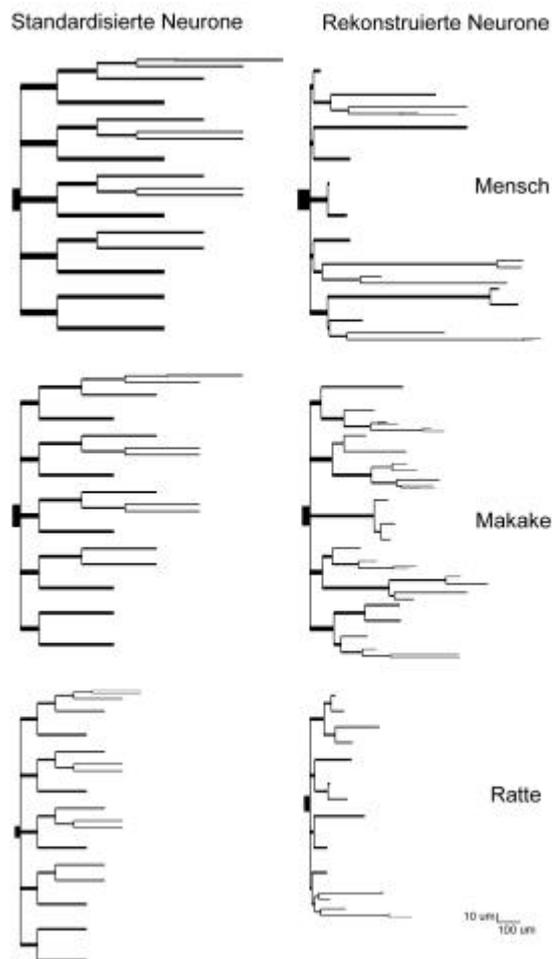


Fig. 3. Vergleich von Zellkörper- und Dendritengrößen von Compacta-Neuronen bei Menschen (oben), Makaken (Mitte), und Ratten (unten). Standardisierte Populationsdaten (links) wurden von den im Abschnitt „Vergleich der Compacta-Neuron-Morphologie bei unterschiedlichen Spezies“ angegebenen Referenzen genommen, individuelle Neuron-Daten (rechts) von Camera-lucida-Zeichnungen von Yelnik et al. (1987; Mensch: Fig. 6 unten links, Makake: Fig. 2A) und Tepper et al. (1987; Ratte: Fig. 3). Beachte, daß die standardisierte Neurontopologie bei verschiedenen Spezies gleich bleibt, während metrische Eigenschaften sich deutlich unterscheiden.

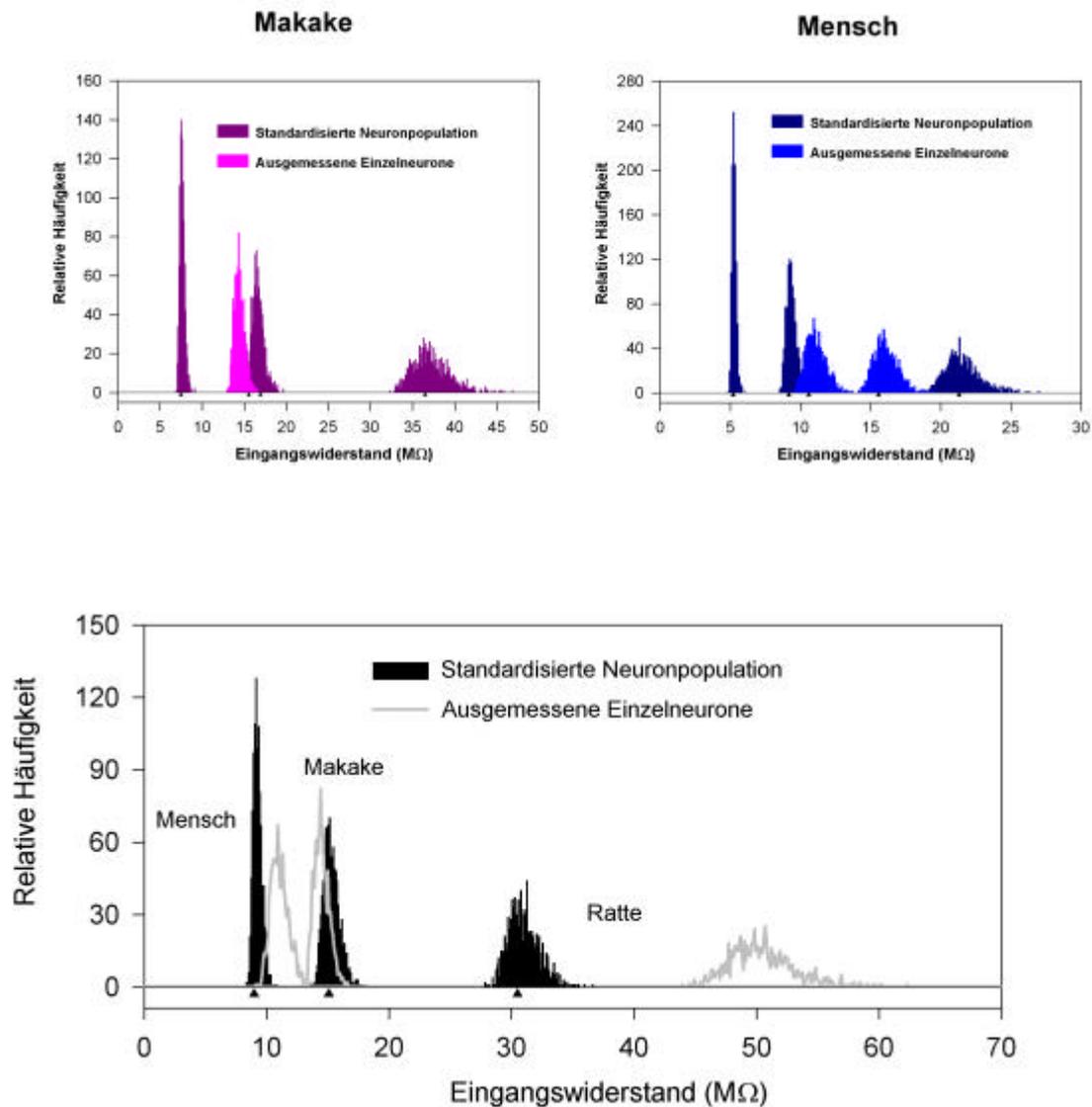


Fig. 4. Aus den in Fig. 3 gezeigten morphologischen Daten berechnete Eingangswiderstände bei Compacta-Neuronen vom Menschen, vom Makaken und von der Ratte (das rekonstruierte menschliche Compacta-Neuron entspricht Fig. 6 oben in Yelnik et al. (1987)). Die Histogramme wurden jeweils aus 1000 Berechnungen mit variierenden dendritischen Durchmessern konstruiert, wie in diesem Abschnitt beschrieben. Die schwarzen Pfeilspitzen (unten) zeigen den Eingangswiderstand an, den man ohne Variation erhält. Beachte, daß die Variation des Eingangswiderstandes, die durch die dendritischen Durchmesser verursacht wird, in kleinen Neuronen größer ist, aber generell gering ist im Vergleich zur gesamten Variation zwischen individuellen Neuronen und den standardisierten Populationsneuronen. Alle Verteilungen sind schief als Ergebnis des nichtlinearen Verhältnisses dendritischer Durchmesser und berechnetem Eingangswiderstand. Die Extrempopulationen (oben) erhielten wir, indem wir die metrischen und topologischen Parameter eine Standardabweichung vom Mittelwert abweichen ließen, in der Art, daß alle Abweichungen vom Mittelwert synergistisch einen Anstieg bzw. Abfall des Eingangswiderstandes bewirken.

Da R_{in} entscheidend von den distalen Dendritendicken abhängen kann, untersuchen wir die Auswirkung von Dickenveränderungen auf den Eingangswiderstand von Compacta-Modellneuronen. Biologisch plausible Veränderungen werden repräsentiert durch Zufallsziehungen der Verzweigungsexponenten (Gleichung 2) wie unter Evaluation passiver Membranparameter beschrieben. Auf diese Weise erstellen wir 1000 Varianten von jedem Neuronmodell, die sich in den Dicken ihrer distalen Dendriten unterscheiden. Histogramme der resultierenden Eingangswiderstände zeigen eine unimodale Verteilung (Fig. 4). Die Verteilung ist schief mit einer relativ abrupten unteren Grenze von R_{in} . Bei einigen wenigen Modellvarianten überschreitet der Eingangswiderstand deutlich den durch Verwendung der Standard-Dendritendicken erhaltenen R_{in} Wert (gekennzeichnet durch \blacktriangle). Wenn wir die Exemplare mit dem höchsten beziehungsweise dem niedrigsten Eingangswiderstand vergleichen, zeigen diese spezifische Verteilungen der Verzweigungsexponenten über den Dendritenbaum: Große Exponenten (=schwache Verjüngung) an proximalen Verzweigungspunkten und kleine Exponenten (=starke Verjüngung) an distalen Verzweigungspunkten erzeugen niedrigere Eingangswiderstände (Fig. 5 links) als die inversen Verteilungen (Fig. 5 rechts). Die Exemplare mit dem höchsten Eingangswiderstand sind also jene, deren Stämme in relativ dünne sekundäre Dendriten verzweigen (Fig. 5).

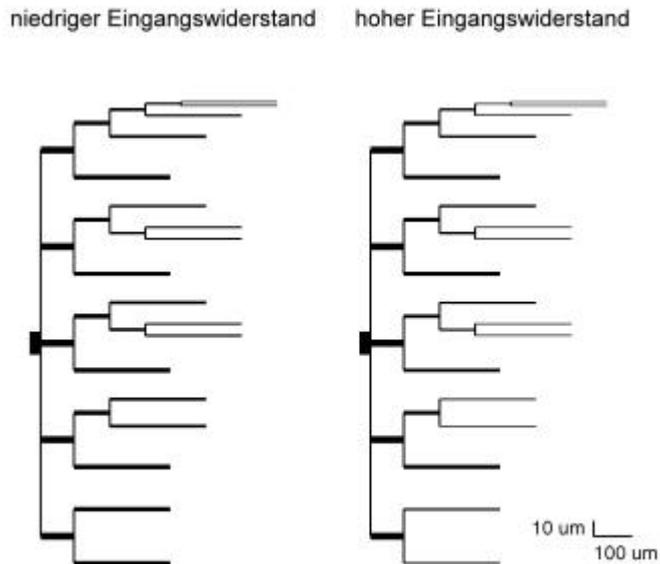


Fig. 5. Vergleich von Ratten-Modell-Neuronen mit niedrigstem (links) und höchstem (rechts) Eingangswiderstand in 1000 Berechnungen mit Zufallsvariationen von dendritischen Durchmessern distal der Dendritenstämme. Der Eingangswiderstand ist niedrig, wenn große Verzweigungsexponenten sofort an proximalen Verzweigungspunkten vorliegen, was zu einem geringeren Abfall der dendritischen Durchmesser von proximal nach distal führt als kleine Verzweigungsexponenten. Wir erhielten diese Modellneurone, indem wir von jeweils einer der 1000 Berechnungen die zufällig ausgewählten Verzweigungsexponenten von proximal nach distal aufsteigend (rechts) bzw. absteigend (links) sortierten.

Die Bedeutung von Dendritendicken muß beurteilt werden in Bezug auf den möglichen Einfluß von anderen Variationen in Compacta-Neuronen. Zu diesem Zweck führen wir die Zufallsziehungen von Verzweigungsexponenten nicht nur für Durchschnittsneuronmodelle sondern auch für die Modellneurone der drei Spezies aus, die von Camera-lucida-Zeichnungen rekonstruiert wurden.

Die Variation von Dendritendicken dieser rekonstruierten Neurone hilft auch, mögliche unbeabsichtigte Auswirkungen zu erkennen, die aus den methodischen Beschränkungen der Golgi-Imprägnationen und der Camera-lucida-Projektionen resultieren. Figur 4 zeigt die Variationshistogramme des Eingangswiderstandes, die wir für die drei rekonstruierten Neurone

erhielten (Yelnik, 1987, Fig. 6 oben und 2A; Tepper & Sawyer, 1987, Fig. 3). Der Vergleich mit den Durchschnittsneuronmodellen (Fig. 4) zeigt, daß Neurone mit hohen Eingangswiderständen sensibler auf Veränderungen von Dendritendicken reagieren als Neurone mit niedrigen Eingangswiderständen. Morphologische Veränderungen können R_{in} derart stark beeinflussen, daß Populationen von unterschiedlichen Spezies sich überschneiden. Insbesondere die niedrigsten Eingangswiderstände in neuronalen Modellpopulationen unterscheiden sich weniger zwischen den Spezies als die höchsten Eingangswiderstände, die wir erhielten. Große metrische Unterschiede jedoch, so wie sie zwischen Compacta-Neuronen beim Menschen und bei der Ratte auftreten, ergeben deutlich verschiedene Bereiche der Eingangswiderstände. Weiterhin liegen die Eingangswiderstände der rekonstruierten Neurone gut in dem Bereich, den wir mit extremen Modellen erhielten, deren metrische und topologische Parameter so gewählt werden, daß sie eine Standardabweichung von ihrem Mittelwert abweichen, und zwar derart, daß alle von ihnen synergistisch entweder einen Anstieg oder einen Abfall von R_{in} bewirken (Kötter & Feizelmeier, 1996b). Insgesamt ist der Einfluß distaler Dendritendicken in Compacta-Neuronen klein verglichen mit den natürlich auftretenden Variationen topologischer und metrischer Eigenschaften unter den Neuronen einer Spezies. Daher sind wir überzeugt, daß unsere Modelle die Auswirkungen charakteristischer morphologischer Merkmale von Compacta-Neuronen auf den berechneten Eingangswiderstand erfassen.

Dendritenausdehnung und Eingangswiderstand von dopaminergen Neuronen der Ratte

Der Eingangswiderstand von Compacta-Neuronen in der Ratte wurde experimentell unter drei fundamental unterschiedlichen Bedingungen bestimmt:

- a) in vivo durch scharfe Mikroelektroden (Grace & Bunney, 1983),
- b) in vitro in Schnitten durch Mikroelektroden (Mueller & Brodie, 1989; Lee et al., 1992),
- c) in vitro in dissoziierten Zellen durch Patch-Clamp Elektroden im Ganzzellmodus (Silva et al., 1990).

Abhängig von der Bedingung nimmt R_{in} konsistent sehr unterschiedliche Werte an (Tabelle 4), dessen Größenordnung in Einklang steht mit den für andere Neuronentypen angegebenen präparationsabhängigen Veränderungen (Spruston et al., 1994). Wir fragten uns, ob das Ausmaß des Dendritenbeschnittes, zusammen mit diesen unterschiedlichen Bedingungen, ausreicht, um die beobachteten Unterschiede im Eingangswiderstand zu erklären. Zu diesem Zweck schnitten wir den Dendritenbaum des Ratten-Modellneurons in unterschiedlichem Ausmaß ab und verglichen die resultierenden berechneten Eingangswiderstände mit den experimentell beobachteten.

Der Unterschied zwischen Dendritenlängen in vivo und rekonstruierten Dendritenbäumen ist minimal, da Yelnik et al. (1987) unvollständig imprägnierte Neurone von ihren Analysen verwarfen. So kann man annehmen, daß das vollständig rekonstruierte Modellneuron die Morphologie eines realistischen Compacta-Neurons repräsentiert. Wie oben gezeigt, sind die Eigenschaften unseres Modells auch kompatibel mit den gemessenen Eingangswiderständen.

Einige Veränderungen können stattfinden, wenn Schnitt-Präparationen der Compacta-Neurone hergestellt werden. Morphologisch wurde die Länge der Dendriten in $400 \mu m$ dicken Schnittpräparationen der Substantia nigra von Ratten aus Färbungen von Compacta-Neuronen geschätzt und beträgt etwa $200 \mu m$ vom Soma bis zu dem Punkt, an dem die Dendriten nicht mehr weiterverfolgt werden konnten (A. A. Grace, J. M. Tepper, persönliche Mitteilung). Tabelle 4 zeigt, daß diese alleinige Veränderung der Morphologie R_{in} auf $73 MW$ erhöhen würde. Dieser berechnete Anstieg ist kleiner als experimentell gefundene Unterschiede von R_{in} zwischen in vivo Bedingungen und Schnittpräparationen. Das Abschneiden von Dendriten während der Präparation von Schnitten erklärt also nicht vollständig die erhöhten Eingangswiderstände.

Schließlich verlieren Trypsin-behandelte dissoziierte Zellen (z.B. Silva et al., 1990) fast den gesamten Dendritenbaum, und es kann angenommen werden, daß nur initiale Dendritensegmente erhalten bleiben. Unser Modellneuron reproduziert die korrespondierenden Eingangswiderstände von $300-600 MW$, wenn die Dendriten nahezu vollständig entfernt sind und nur die initialen $15 \mu m$ der Dendritenstämme übrigbleiben.

Präparation	R_{in}	Referenz	R_{in} im morph. Modell
Ratte, in vivo, Mikroelektroden	18-50 MW	Grace & Bunney, 1983; Grace & Onn, 1989	48 MW (vollständig rekonstruiertes Neuron)
Ratte, 400 μm Koronarschnitt, Mikroelektroden	80-400 MW	Mueller & Brodie, 1989; Lee et al., 1992	73 MW (Dendriten beschnitten auf 200 μm)
Ratte, dissoziierte Zellen, Ganzzell- Patch-Clamp	300-600 MW	Silva et al., 1990	452 MW (Dendriten beschnitten auf 15 μm).

Tabelle 4. Unterschiede im Eingangswiderstand bei verschiedenen Präparationen von dopaminergen Neuronen bei der Ratte. In-vivo-Werte für den Eingangswiderstand erhält man, wenn man das vollständige Neuronmodell für die Berechnung zugrunde legt. In-vitro-Schnittpräparat-Werte werden durch Kürzen der Dendriten auf 200 μm allein noch nicht erreicht. Patch-clamp-Werte würden erfordern, daß der gesamte Dendritenbaum abgeschnitten wird. Die Patch-Clamp-Technik an sich ergibt bekanntlich einen höheren Eingangswiderstand als scharfe Mikroelektroden, was auf eine geringere Shunt-Leitfähigkeit bei der Patch-Clamp-Technik zurückgeführt werden kann (Spruston et al., 1994).

An diesem Punkt können wir die Ergebnisse von unseren morphologischen Analysen zusammenfassen: Compacta-Neurone von Menschen, Makaken und Ratten unterscheiden sich signifikant in ihren metrischen Parametern, während ihre topologischen Merkmale (Verzweigungsmuster) konstant zu bleiben scheinen. Die metrischen Unterschiede betreffen sowohl Längen als auch Dicken, wobei Längen und Dicken näherungsweise proportional skaliert sind, so daß passive Membraneigenschaften (elektrotonische Länge, Eingangswiderstand) nicht konstant bleiben, und die korrespondierenden Eingangswiderstände sind kompatibel mit experimentellen Daten. Die Unterschiede im Eingangswiderstand zwischen in vivo- und in vitro-Messungen von Compacta-Neuronen werden nicht ausreichend durch die Verkürzung der Dendritenbäume erklärt.

Diskussion

Identifizierung der dopaminergen Neurone

Sowohl morphologische als auch elektrophysiologische Studien unterscheiden im allgemeinen zwei oder drei unterschiedliche Zelltypen in der Substantia nigra. Von diesen sind die Typ I Neurone (auch genannt Hauptneurone, Typ A, non-bursting, oder rhythmisch), die häufigsten in der Pars compacta. Typ II Neurone sind durch alle Teile der Substantia nigra hindurch verstreut, werden aber am häufigsten in der Pars reticulata angetroffen, während Typ III Neurone in allen Teilen der Substantia nigra gefunden werden (Braak & Braak, 1986). Obwohl diese Studie auf Neurone der Pars compacta begrenzt ist, wurden weitere Kriterien nötig, um Unklarheiten über den neuronalen Zelltyp zu beseitigen. Compacta-Neurone in dieser Studie sind als Typ I angesehene Nervenzellen, welche in Ratten, Katzen, Makaken, und Menschen identifiziert wurden (Poirier et al., 1983; Braak & Braak, 1986). Diese Neurone sind charakterisiert durch die Anwesenheit von Neuromelanin, hohe Somagröße, dornenfreie, „glatte“ Dendriten, breite Dendritenausdehnung und typische Topologie. Neuromelanin, ein oxidatives Nebenprodukt der Biosynthese von Dopamin wird ausschließlich in Typ I Neuronen gefunden, was die Klassifikation von dopaminergen Neuronen als Typ I Neurone erlaubt.

Dopaminerge Neurone können immunzytochemisch identifiziert werden durch die Anwesenheit von Tyrosinhydroxylase (TH), das Geschwindigkeits-begrenzende Enzym für die Dopaminsynthese. Grace & Onn (1989) fanden konsistente Doppelmarkierung von Neuronen unter Verwendung sowohl von TH Immunzytochemie als auch von intrazellulärem Färben (mit Lucifer Yellow) von Mittelhirnneuronen in vitro mit einem einheitlichen Satz elektrophysiologischer Eigenschaften. Yung et al. (1991) erwähnen eine "perfekte Korrespondenz zwischen den elektrophysiologischen Charakteristika von den Nicht-bursting Neuronen und ihrer TH Immunoreaktivität". So sind sowohl die morphologischen als auch die elektrophysiologischen Charakteristika von dopaminergen Neuronen, welche die Mehrheit der Typ I Neurone bilden, eindeutig bestimmt worden. Die Annahme, daß es sich um dopaminerge Neurone handelt, scheint daher valide zu sein.

Präzision der morphologischen Daten

Da Compacta-Neurone wiederholt in einer großen Anzahl von Studien charakterisiert wurden, sind einige Probleme solcher Messungen wohlbekannt. Braak & Braak (1986) diskutieren die Schwierigkeit, präzise Messungen von Somadicken zu erhalten. Dies scheint kein großes Problem in der vorliegenden Arbeit zu sein, da 1) das Vorhandensein von mehreren Studien die Identifikation von außergewöhnlichen Werten erlaubt, 2) die umfassenden Studien von Poirier et al. (1983) und Yelnik et al. (1987) vergleichbare Datensätze von unterschiedlichen Spezies liefern, die jeweils von denselben Beobachtern gemessen wurden, 3) die Somaoberfläche klein ist im Vergleich zum gesamten Dendritenbaum, so daß sie nur kleine Effekte auf die berechneten passiven Membraneigenschaften hat. Im Gegensatz dazu ist der entscheidende Einfluß distaler Dendritendicken auf passive Membraneigenschaften aus anderen Analysen bekannt und wurde Gegenstand von systematischen Untersuchungen (Fig. 4). Wir entdeckten, daß der Einfluß von Dendritendicken 1) gering ist im Vergleich zu den Speziesunterschieden, 2) gut innerhalb des Bereiches liegt, der durch zusätzliche Veränderung von Dendritenlängen und Topologien verursacht wird, und 3) weniger entscheidend in Compacta-Neuronen als in anderen Gebieten ist (zum Beispiel Hippocampus, O'Boyle et al., 1996), wahrscheinlich wegen der relativ großen Dendritendicken von Compacta-Neuronen.

Neuere Untersuchungen mit der Patch-clamp-Technik zeigen, daß die somatodendritischen Eingangswiderstände bedeutend höher sein können als die, auf welche wir uns in unseren Auswertungen der Rattenneuronmodelle beziehen, und welche bei Benutzung von scharfen Mikroelektroden erhalten wurden (Spruston et al., 1994). Wie oben gezeigt, sind die Messungen mit scharfen Mikroelektroden kompatibel mit unseren Berechnungen, welche von einem Standardmembranwiderstand von $r_m = 10 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$ ausgehen. In dem Ausmaß, in welchem die Patchclamp-Techniken höhere Eingangswiderstände liefern, führen sie zu entsprechenden Anpassungen von r_m (Spruston et al., 1994). Diese Diskrepanz kann auf das Eindringen mit den scharfen Mikroelektroden zurückgeführt werden, was zu einer Shunt-Leitfähigkeit um die Elektrode herum führt, die man explizit beachten muß (Rall et al., 1992, S. S166-S169). Da dieser Parameter äußerst variabel ist, bevorzugen wir, den niedrigeren Standardwert von r_m zu benutzen, welcher die Shunt-Leitfähigkeit implizit enthält, und welcher schon erfolgreich in anderen Neuronmodellen benutzt wurde (De Schutter & Bower, 1994).

Der Anstieg des Eingangswiderstandes bei in-vitro-Präparationen im Vergleich zu in-vivo-Präparationen läßt sich nicht allein durch die verkürzten Dendritenbäume bei den in-vitro-Präparationen erklären (Tabelle 4). Um diese Befunde zu erklären, sind zusätzliche Faktoren notwendig, wie zum Beispiel der Verlust von Afferenzen in vitro. Diese Schlußfolgerung ist kompatibel mit der Tatsache, daß bei dopaminergen Neuronen unterschiedliche Aktivitätsmuster in vivo (irreguläres Feuern) und in vitro (Schrittmacher-Rhythmus) gefunden wurden (Grace & Onn, 1989; Yung et al., 1991), was auf einen Verlust von Afferenzen in vitro zurückgeführt wird.

Abgesehen von deutlich unterschiedenen Zelltypen in der Substantia nigra berichten neuerscheinende Studien über morphologische und elektrophysiologische Heterogenitäten unter Compacta-Neuronen innerhalb derselben Spezies. Die morphologische Heterogenität basiert primär auf unterschiedlichen Verbindungsmustern dopaminergener Neurone (Fallon et al., 1978; Gerfen et al., 1987) oder Entdeckungen unter pathologischen Konditionen (Schneider et al., 1987; Gibbs et al., 1991).

So stehen diese Daten nicht in Widerspruch zu unseren Modellannahmen, die auf relativer morphologischer Homogenität und der Annahme konstanter Membraneigenschaften basieren.

Vergleich mit anderen neuronalen Zelltypen

Die isometrische Skalierung morphometrischer Maße wie bei den dopaminergen Neuronen ist kein allgegenwärtiges Prinzip im Zentralnervensystem. Yelnik et al. (1987) untersuchen die morphologischen Charakteristiken von Pars reticulata- und Pars lateralis-Neuronen der Substantia nigra. Wie bei den dopaminergen Neuronen sind die topologischen Eigenschaften gleich, und die dendritischen Längenparameter sind beim Menschen größer als beim Makaken. Im Gegensatz zu den Compacta-Neuronen unterscheiden sich die Durchmesser der Dendritenstämme und die Querschnittsflächen der Zellkörper nicht signifikant. Diese Daten sprechen gegen eine isoelektrotonische Skalierung, und es kann erwartet werden, daß die Abschwächung distaler dendritischer Impulse bei menschlichen Reticulata- und Lateralis-Neuronen sehr stark ist und sogar die Auswirkung isometrischer Abschwächung übersteigt. Ein gutes Beispiel für Neurone mit äußerst konstanten morphologischen Eigenschaften durch alle Spezies hinweg sind die Hauptneurone des Striatums, welche dopaminerge Afferenzen von Nigra-Neuronen erhalten (siehe Übersicht in Kötter & Wickens (1995)).

Graveland & Williams (1985) vergleichen durchschnittliche Querschnittsflächen des Somas, dendritischen Feldradius, durchschnittliche Distanz des ersten Spines vom Soma, und die totale Spinedichte des Hauptneurons (Spine-Typ 1) im Neostriatum des Menschen und des Makaken. Obwohl die Autoren von einer größeren Somagröße und größerem dendritischen Feldradius beim Menschen im Vergleich zum Affen berichten, zeigt unsere statistische Analyse der benutzten quantitativen Daten (Pasik & Pasik & DiFiglia, 1976; DiFiglia & Pasik & Pasik, 1976; Graveland & Williams, 1985), daß die Unterschiede in der durchschnittlichen Soma-Querschnittsfläche ($236 \pm 62 \mu\text{m}^2$ versus $221 \pm 52 \mu\text{m}^2$, $p=0,17$) oder die kleinste Distanz des ersten Spines vom Soma ($25 \pm 12,5 \mu\text{m}$ versus $22 \pm 3 \mu\text{m}$, $p=0,16$) nicht signifikant sind (siehe Fig. 6). Gleiche Werte wurden bei der Ratte erhalten, wo der längste Somadurchmesser $13-20 \mu\text{m}$ beträgt und die Spines bei einer Entfernung von $15-35 \mu\text{m}$ vom Soma beginnen (Preston & Bishop, 1980). Der Radius des dendritischen Feldes beim Menschen ($260 \pm 37 \mu\text{m}$) (Graveland & Williams, 1985) liegt im selben Bereich wie der beim Makaken ($200-300 \mu\text{m}$) (DiFiglia & Pasik & Pasik, 1976) und bei der Ratte (etwa $250 \mu\text{m}$) (Preston & Bishop, 1980; Bishop & Preston, 1982). Jedoch unterscheidet sich die totale Spinedichte pro $10 \mu\text{m}$ des Dendriten ($p < 0,001$) (Graveland & Williams, 1985): Die Spinedichte ist jedoch keine metrische Eigenschaft und ihr Anstieg könnte sogar auf einen Kompensationsmechanismus hinweisen, mit welchem beim Menschen eine größere Anzahl von Afferenzen auf der selben Länge eines Dendriten wie beim Makaken untergebracht wird. So sind die Ausmaße der striatalen Hauptneurone im Gegensatz zu nigralen Compacta-Neuronen nicht zwischen Menschen, Makaken und Ratten skaliert (siehe Fig. 6).

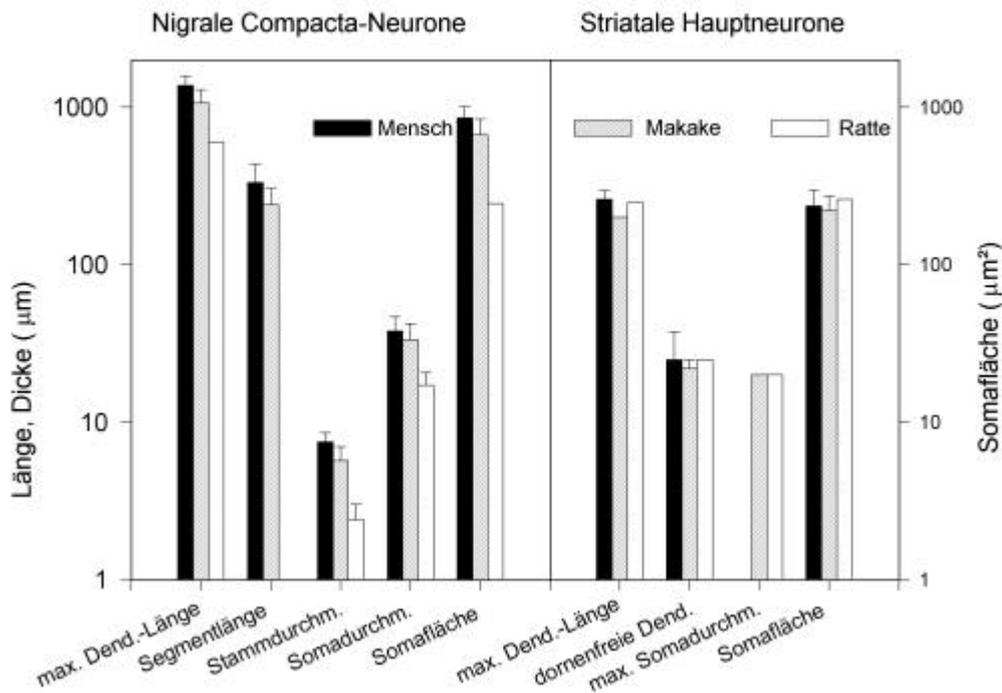


Fig. 6. Vergleich zwischen nigralen Compacta-Neuronen (links) und striatalen Hauptneuronen (rechts) bezüglich der Speziesabhängigkeit von metrischen morphologischen Eigenschaften. Nigrale Compacta-Neurone zeigen signifikante Größenunterschiede zwischen Mensch, Makake und Ratte, während sich die metrischen Parameter in striatalen Hauptneuronen nicht zwischen diesen Spezies unterscheiden. Beachte, daß die Logarithmizität der Ordinate die Unterschiede nicht so deutlich erscheinen läßt. Standardabweichungen sind angegeben, wo sie erhältlich waren.

Die vergleichenden Studien sind in der Mehrzahl beschränkt auf die Quantifikation der somatischen Ausmaße und gehen weniger auf die Quantifizierung der Dendriteneigenschaften ein, obwohl diese für die Analyse neuronaler Prozesse von weit größerem Interesse wären. Alle Vergleiche können überlagert sein durch Variationen, die abhängig sind von ontogenetischem Status, Verhaltenssituation, oder Fixierungsmodus (Blinkov & Glezer, 1968, S.157). Es gibt eine Vielzahl von Hypothesen über die Beziehung zwischen neuronaler Größe und beeinflussenden Faktoren und funktioneller Bedeutung. Die Größe von dorsalen Wurzel-Ganglia-Neuronen steht dementsprechend in Beziehung zur Größe der Spezies (Blinkov & Glezer, 1968, S.188), während Purkinjezellen und Kortikalneurone offensichtlich eine nicht-lineare Beziehung zur Körpergröße zeigen (Blinkov & Glezer, 1968, S.157). Schon Brodmann verglich Betz'sche Pyramidenzellen bei 10 verschiedenen Spezies und spekulierte über die Beziehung zwischen Somagröße und Körpergröße, axonaler Länge, und der Größe des innervierten Muskels (Brodmann, 1909, S. 82-86). Desweiteren wurde behauptet, daß die totale dendritische Länge (Sholl, 1956) oder die Anzahl der dendritischen

Verzweigungen (Bok, 1959) bei Kortikalneuronen mit der Somagröße in Bezug steht. Stichhaltige Vergleiche von Kortikalneuronen werden jedoch erschwert durch Unterschiede von metrischen Ausmaßen bei Untersuchungen verschiedener Areale, Schichten und Zelltypen (Blinkov & Glezer, 1968, S. 188-189) und durch den Mangel statistisch verwertbarer Daten. Sogar wenn die interessierenden Populationsdaten vorhanden sind, ist es nicht ungewöhnlich, daß wichtige Information (normalerweise n) fehlt, so daß weitere statistische Analysen kompliziert werden.

Zusammenfassend gibt es viele verschiedene Arten von neuronaler Skalierung in verschiedenen Gehirnregionen. Die Größenunterschiede zwischen den Spezies variieren von keiner Änderung bis zu isometrischer und noch extremeren Formen von Skalierungen, und die Signifikanz dieser Unterschiede ist noch überhaupt nicht verstanden. Es bleibt sogar unklar, ob es eine begrenzte Anzahl von Skalierungsarten gibt, die zu einer hilfreichen Klassifikation führen könnte. Die isometrische Skalierung bei Compacta-Neuronen ist sicherlich nicht allgegenwärtig und muß berücksichtigt werden, wenn man Schlußfolgerungen über ihre Eigenschaften bei verschiedenen Spezies zieht.

Schlußfolgerung: Dopaminerge Neurone zeigen erhebliche morphologische und elektrophysiologische Speziesunterschiede.

Unsere Studie zeigt, daß die Morphologie der dopaminergen Neurone zwischen den Spezies systematisch variiert. Während die Verzweigungsmuster der Neurone unterschiedlicher Spezies gleich sind, zeigen Längen und Dicken signifikante Unterschiede und zwar derart, daß die Neurone isometrisch skaliert sind, das heißt, Dendritenlängen und -dicken unterscheiden sich um denselben Faktor. Diese Skalierung ist nicht dazu geeignet, die passiven Membraneigenschaften bei verschiedenen Spezies konstant zu halten. Ohne kompensierende Mechanismen würden diese unterschiedlichen Membran-Eigenschaften zu unterschiedlichem elektrophysiologischem Verhalten führen. Wir erwarten also Unterschiede in Strom-Spannungskurven und Aktivitätsmustern von Compacta-Neuronen.

Teil 2

Computersimulation aktiver Neuronmodelle

Einleitung

Während sich morphologisch die Größe von dopaminergen Neuronen signifikant zwischen Ratten, Katzen, Affen und Menschen unterscheidet (siehe Teil 1), wurde das charakteristische elektrophysiologische Verhalten von nigralen dopaminergen Neuronen in der Literatur als bemerkenswert einheitlich bei Mäusen, Ratten, Meerschweinchen, Katzen und Makaken beschrieben (Sanghera et al., 1984; Tepper et al., 1987; Lacey et al., 1989; Yung et al., 1991; Cardozo, 1993). Es besteht also eine Diskrepanz zwischen elektrophysiologischer Uniformität und morphologischen Unterschieden.

Um diese Diskrepanz genauer zu untersuchen und um Hypothesen über die Beziehung zwischen Morphologie und elektrophysiologischem Verhalten zu erstellen, benutzten wir die Computersimulation, die Gegenstand dieses zweiten Teils der Arbeit ist.

In diesem Teil der Arbeit wird untersucht, wie die Membranströme während der Spontanaktivität dopaminergere Neurone und bei Anwendung von Stimulationsparadigmen interagieren. In erster Näherung wurde eine Computersimulation an einem sehr vereinfachten Neuronmodell durchgeführt. Dieses Modellneuron repräsentiert ein Neuron aus der Substantia nigra pars compacta bei der Ratte und wurde basierend auf den morphologischen Daten aus dem ersten Teil konstruiert. Es wurden neun verschiedene Typen von Spannungs- bzw. zum Teil Kalzium-abhängigen Ionenkanälen berücksichtigt, welche durch Hodgkin-Huxley-Gleichungen beschrieben werden. Die dafür notwendigen Daten wurden aus Voltage-Clamp-Versuchen hergeleitet.

Die Simulation wurde mit Hilfe des neuronalen Simulationsprogrammes GENESIS durchgeführt (Bower & Beeman, 1998).

Mit diesem Modellneuron konnten wir

1. einen Zusammenhang zwischen Morphologie, Einzelkanaldaten und Zellverhalten herstellen und das Zusammenwirken der einzelnen Membranströme untersuchen.
2. den Einfluß der unterschiedlichen Morphologien bei Neuronen unterschiedlicher Spezies auf das Verhalten des Modellneurons untersuchen. Dazu skalierten wir das Modellneuron mit Hilfe der Ergebnisse der Morphologieanalyse, um jeweils ein repräsentatives Modellneuron einer Spezies zu erhalten.
3. Theorien zur Entstehung von Burstaktivität untersuchen.

Die Simulation ergibt folgende Ergebnisse:

1. Der Vergleich von experimentellen Daten (Kang & Kitai, 1993) und unseren Simulationsergebnissen zeigt, daß unser vereinfachtes Neuronmodell eine spontane Schrittmacheroszillation erzeugt, welche für Compacta-Neurone in vitro charakteristische Eigenschaften aufweist. Die Erzeugung der rhythmischen Aktivität kann durch einen langsam inaktivierenden Ca^{++} -Strom (I_{pCa}) erklärt werden, und wird durch fünf K^+ -Ströme modifiziert. Für die Simulation waren zwei Parametersets notwendig, um darzustellen, daß in einer Untergruppe von Neuronen ein langsamer Ca^{++} -Strom vorhanden ist.
2. Bei der Computersimulation zeigen repräsentative Modellneurone unterschiedlicher Spezies unterschiedliches aktives elektrophysiologisches Verhalten.
3. Die intrinsischen Eigenschaften des Modellneurons sind ausreichend, um verschiedene Formen der Burstaktivität zu erzeugen.

Die weitere Evaluation physiologischer Daten liefert Hinweise darauf, daß physiologische Eigenschaften der dopaminergen Neurone bei den verschiedenen Spezies weniger uniform sind als allgemein angenommen.

Tatsächlich zeigen die dopaminergen Neurone bei verschiedenen Spezies neben den Unterschieden in Eingangswiderstand (Erregbarkeit) und elektrotonischer Länge (Erregungsausbreitung) auch Unterschiede in ihren Aktivitätsmustern und in der Dauer der Aktionspotentiale, obwohl sie sich durch andere Charakteristika (Feuerrate <10 Hz, starke Nachhyperpolarisation) gut von anderen

Neurontypen abgrenzen lassen. Compacta-Neurone zeigen komplexe Interaktionen zwischen zahlreichen Membranströmen, die in Abhängigkeit von Membranpotential, Morphologie und Kanaldichten ein reichhaltiges Verhaltensrepertoire ermöglichen.

Methoden

Experimentelle Charakterisierung der Leitfähigkeiten in der Spannungsklemme

Um unser aktives Neuronmodell erstellen zu können, benötigten wir Informationen über die charakteristischen Eigenschaften der einzelnen Ionenkanäle. So benötigten wir Information über die Leitfähigkeiten der einzelnen Kanäle bei verschiedenen Membranpotentialen.

Darüber hinaus muß man auch wissen, wie schnell ein Kanal von einem leitenden in einen nicht leitenden Zustand und umgekehrt wechselt, wenn das Membranpotential verändert wird. Diese Geschwindigkeit muß sowohl für die Aktivierung als auch für die Inaktivierung des jeweiligen Ionenkanals bekannt sein. Sie wird mit Hilfe von Zeitkonstanten beschrieben (s.u. für nähere Erklärung).

Experimentell gewinnt man diese Parameter aus Patch Clamp Versuchen, bei welchen die Spannungsklemme benutzt wird (Fig. 7).

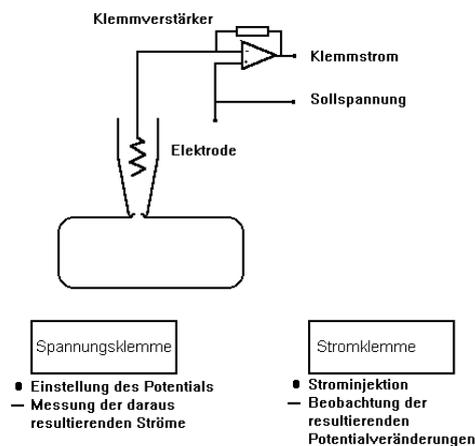


Fig.7. Patch-Clamp

Bei der Spannungsklemme wird die Membran auf bestimmte Potentiale gebracht oder gehalten und die daraus resultierenden Ströme werden untersucht. Dazu wird an das Innere der Pipette ein Klemmverstärker angeschlossen, der mit einer Regelschaltung die elektrische Spannung in der Pipette gegenüber der extrazellulären Lösung auf der gewählten Sollspannung hält. Der zur Regelung benötigte Strom - der Klemmstrom - entspricht den durch die Zellmembran fließenden Strömen. Die

Sollspannung des Verstärkers kann willkürlich verstellt werden, und damit können die Ströme durch die Membran bei verschiedenen Membranpotentialen oder nach Spannungssprüngen gemessen werden.

Biophysikalische Messungen

Um einen Kanal in der Praxis zu untersuchen, müssen die Ströme durch andere Kanäle so weit wie möglich ausgeschaltet werden, um den zu untersuchenden Strom zu isolieren. Die Isolation kann über zwei Wege stattfinden:

1. Man kann verschiedene chemische Substanzen (Gifte) verwenden, die einzelne Kanäle weitgehend selektiv blockieren. Da diese Substanzen nicht völlig spezifisch auf die einzelnen Kanäle wirken, ist es nicht immer möglich, ein Verhalten der Membran auf das Wirken bestimmter Kanäle zurückzuführen. Unsere Simulation dagegen kann u.a. dazu benutzt werden, einzelne Kanäle isoliert zu untersuchen oder die Interaktion zwischen ganz bestimmten Kanälen zu beobachten, da die nicht zu untersuchenden Kanäle in dem Modell selektiv ausgeschaltet werden können.

Bei manchen Kanälen ist der selektivste Blocker ein Blocker, der den zu untersuchenden Kanal selbst blockiert. In solch einem Fall werden Messungen vor und nach Zugabe des Blockers durchgeführt. Daraus kann dann der zu untersuchende Strom mathematisch isoliert werden.

Es ist wichtig zu wissen, daß einige Blocker spannungsabhängig sind (wie zum Beispiel 4-Aminopyridin und Tetraethylammonium auf der zytoplasmatischen Seite), so daß deren kritikloser Gebrauch in den Subtraktionsverfahren zu fehlerhaften Schlüssen über die Stromkinetiken führen kann.

2. Eine zu Kanalblockern alternative Methode ist, die Unterschiede in Stromkinetiken und/oder die spannungsabhängige Inaktivierung auszunutzen, um eine Isolation bestimmter Kanäle zu bewirken. Zum Beispiel aktiviert Depolarisation von einem sehr negativen Potential den I_{pCa} und den I_{tCa} (siehe Tab. 5). Depolarisation von einem weniger negativen Potential aktiviert nur den I_{pCa} , der I_{tCa} ist bereits inaktiviert. Wenn man die Ströme, die durch Depolarisation von dem mehr positiven Haltepotential hervorgerufen werden, von denen, die durch Depolarisation von dem sehr negativen Haltepotential hervorgerufen werden, subtrahiert, kann der I_{tCa} isoliert werden.

Eine Übersicht über die Isolationsbedingungen der einzelnen Ströme befindet sich in Tab. 6 im Abschnitt „Charakteristische Merkmale der Leitfähigkeiten“.

Extraktion der charakteristischen Werte

Um die charakteristischen Werte der Membrankanäle für unser Modellneuron aus den Spannungsklemmenexperimenten zu extrahieren, mußten wir uns mit der Kanalkinetik vertraut machen.

Der Stromfluß durch einen Kanal ist abhängig von der Leitfähigkeit des Kanals für ein bestimmtes Ion, oder anders ausgedrückt, von dessen Öffnungszustand. Ein Kanal kann entweder offen oder geschlossen sein. Welchen Zustand der Kanal annimmt, wird von einem oder mehreren Membranpartikeln gesteuert. Nur wenn alle Membranpartikel in einer Position sind, in der der Kanal durchlässig ist, kann ein Ionenfluß stattfinden, d.h. der Kanal ist offen. Wenn auch nur eines der Partikel in einer Position ist, in der der Kanal nicht durchlässig ist, kann kein Ionenfluß stattfinden, d.h. der Kanal ist geschlossen.

Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Partikel die permissive Position annimmt, ist abhängig vom Membranpotential und von den Zeitkonstanten des Partikels. Man kann einen Wert x definieren, der zwischen 0 und 1 liegt und die Wahrscheinlichkeit angibt, daß ein Partikel einen permissiven Zustand angenommen hat. Da die Membran viele Kanäle für ein bestimmtes Ion besitzt, kann man x auch als den Anteil der Kanäle, die aktiviert sind, interpretieren. Depolarisation bringt die Mehrzahl der Partikel in die permissive Position (Aktivations-Gates), andere jedoch in die nicht permissive Position (Inaktivations-Gates). Durch den Wert y wird die Wahrscheinlichkeit ausgedrückt, daß so ein Partikel einen permissiven Zustand angenommen hat, d.h. der Kanal nicht (!) inaktiviert ist. Wenn ein Kanal mehrere Partikel besitzt, dann ist die Wahrscheinlichkeit, daß er aktiviert ist, gleich dem Produkt der permissiven Wahrscheinlichkeiten der einzelnen Partikel.

Die Leitfähigkeit kann also folgendermaßen ausgedrückt werden:

$$g = x^n y G_{\max} \quad (6)$$

G_{\max} ist die konstante maximale Leitfähigkeit, x , y sind potential- und zeitabhängig.

An der Regulation der Aktivierung des Kanals sind oft mehrere äquivalente Moleküle in der Membran beteiligt, so daß x mit dieser Anzahl potenziert wird. (n -te Potenz: Zusammenwirken von jeweils n Partikeln der Membran am Kanalzustand)

Z-Gates:

Wir haben auch Kanäle in unserem Modell berücksichtigt, die zusätzlich Ca^{++} -konzentrationsabhängig sind. Die Konzentrationsabhängigkeit wird durch den Wert z zwischen 0 und 1 ausgedrückt. z wird mit m potenziert, wenn der Kanal m Z-Gates besitzt.

Die vollständige Gleichung für die Leitfähigkeit eines Kanals lautet dann:

$$g = x^n y z^m G_{\max} \quad (7)$$

x (bzw. y) folgt einer Reaktionsgleichung erster Ordnung:



Die Spannungs- und Zeitabhängigkeit von x (bzw. y) kann durch folgende Differentialgleichung ausgedrückt werden:

$$\frac{dx}{dt} = \mathbf{a}(1-x) - \mathbf{b}x \quad (9)$$

D.h. der Anteil an Strom, der durch den Kanal fließt, wird bestimmt durch den Anteil der Kanäle, die vom nicht-leitenden in den leitenden Zustand wechseln ($\alpha*(1-x)$) minus dem Anteil der Kanäle, die vom leitenden in den nicht-leitenden Zustand wechseln ($\beta*x$).

Wenn a der Zustand ist, in dem die Membran das Ion passieren läßt (permissiver Zustand), und b der Zustand ist, in dem die Membran das Ion nicht passieren läßt (nicht permissiver Zustand), dann gibt x den Anteil der Moleküle, die sich in Zustand a befinden an, und $1-x$ den Anteil der Moleküle, die sich in Zustand b befinden. β ist die Reaktionsgeschwindigkeit des Übergangs von a nach b und α ist die Reaktionsgeschwindigkeit des Übergangs von b nach a . α und β sind membranpotentialabhängig, ändern sich aber nicht mit der Zeit. Ihre Dimension ist $1/t$.

Wenn der initiale Wert der Wahrscheinlichkeit x bekannt ist, dann können alle nachfolgenden Werte daraus errechnet werden. Wenn das Potential nicht verändert wird, bis x einen Gleichgewichtszustand angenommen hat ($x = x_{\text{inf}}$), d.h. $\alpha*(1-x_{\text{inf}}) - \beta*x_{\text{inf}} = 0$, hat x_{inf} den Wert

$$x_{\text{inf}} = \frac{\mathbf{a}}{\mathbf{a} + \mathbf{b}} \quad (10)$$

Wenn das Potential geändert wird, nehmen α und β sofort Werte gemäß des neuen Potentials an. Die Lösung der Differentialgleichung, die die Bedingung $x=x_0$ zum Zeitpunkt $t=0$ erfüllt, ist

$$x = x_{\text{inf}} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_x}} \right) \quad (11)$$

wobei

$$\tau_x = \frac{1}{\mathbf{a} + \mathbf{b}} \quad (12)$$

Wenn man Gleichungen (10) und (12) nach α und β auflöst, erhält man

$$\begin{aligned} \mathbf{a} &= \frac{x_{\text{inf}}}{\tau_x} \\ \mathbf{b} &= \frac{1 - x_{\text{inf}}}{\tau_x} \end{aligned} \quad (13)$$

Wenn man (13) in die Differentialgleichung einsetzt, erhält man

$$\frac{dx}{dt} = \frac{x_{\text{inf}} - x}{\tau_x} \quad (14)$$

In Spannungsklemme-Versuchen kann die Potentialabhängigkeit des Steady-state-Wertes x_{inf} mit der Boltzman-Gleichung beschrieben werden:

$$x_{\text{inf}} = \frac{1}{1 + e^{-\frac{V_m - V_{0.5}}{s}}} \quad (15)$$

V_m ist das Membranpotential, $V_{0.5}$ ist das Potential, bei dem der Kanal halbaktiviert ist und s ist die Steigung der Kurve bei $V_{0.5}$.

Der Zeitverlauf der Aktivation bei einem bestimmten Potential kann beschrieben werden durch

$$I = I_{\text{inf}} \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_x}} \right)^n \quad (16)$$

I ist der Strom, I_{inf} der maximale Strom bei Deaktivierung, d.h. $I_{\text{inf}} = x_{\text{inf}}^* (V_m - V_{\text{rev}})$. Der Parameter t ist die Zeit, n die Potenz von x bei n Gates, und V_{rev} das Umkehrpotential.

Mit diesen Gleichungen kann der Zeitverlauf der Aktivierung eines Stromes bei Änderung des Potentials berechnet werden durch

$$x_{i+1} = x_{\text{inf}} - (x_{\text{inf}} - x_i) e^{\frac{-dt}{\tau_{ax}}} \quad (17)$$

Steady state Kurven

Um die Leitfähigkeit eines Kanals, welche potentialabhängig ist, zu beschreiben, erstellten wir Kurven, die die Permissivität der Partikel als Wert zwischen 0 und 1 in Abhängigkeit des Potentials darstellen. Diese sogenannten Steady-state-Kurven leiteten wir aus den Voltage-Clamp-Versuchen her.

Aktivation

Die Steady-state-Kurven für die Aktivierung konstruierten wir aus den Spitzenströmen bei folgendem Versuchsablauf:

- 1) Hyperpolarisation, lange genug um die Inaktivierung komplett zu entfernen,
- 2) Depolarisation (test step) auf verschiedene Potentiale.

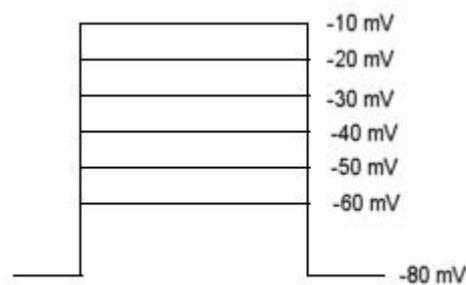


Fig. 8. Aktivationsparadigma

Unter der Annahme, daß der Kanal nur ein Aktivationsgate besitzt, errechneten wir die Steady-state-Kurve folgendermaßen:

- 1) Die Leitfähigkeiten des Kanals bei den verschiedenen Potentialen schätzten wir, indem wir den jeweiligen Spitzen-Strom durch die treibende Kraft teilten:

$$g = \frac{I}{V_m - V_{rev}} \quad (18)$$

2) Um die Aktivationskurven zu erhalten, normalisierten wir die Leitfähigkeiten

$$x = \frac{g}{g_{\max}} \quad (19)$$

Wenn der Kanal durch mehrere Aktivationsgates (Anzahl=n) reguliert wurde, dann zogen wir die n-te Wurzel

$$x = \left(\frac{g}{g_{\max}} \right)^{\frac{1}{n}} \quad (20)$$

3) Die Leitfähigkeit kann als Funktion des Membranpotentials grafisch dargestellt werden, und wird mit der Boltzmann-Gleichung angepaßt:

$$g = \frac{g_{\max}}{1 + e^{\frac{-(V_m - V_h)}{V_c}}} \quad \text{bzw.} \quad x = \left(\frac{g_{\max}}{1 + e^{\frac{-(V_m - V_h)}{V_c}}} \right)^{\frac{1}{n}} \quad (21)$$

V_h ist die Halbaktivierungsspannung, V_c der Steigungsfaktor (dieser entspricht der Anzahl äquivalenter Gate-Ladungen (gating charges), die für das Öffnen des Kanals notwendig sind).

V_h und V_c stellen die Kenndaten des jeweiligen Kanals dar.

Der Hodgkin-Huxley-Formalismus führt nicht notwendigerweise zu Boltzmann-Aktivationskurven, aber die Daten können durch diese Gleichung gut approximiert werden.

„Tail“-Strom-Messungen können ebenfalls benutzt werden, um die Potentialabhängigkeit der Aktivierung zu untersuchen. Anstatt die Amplitude des Stroms bei einem Depolarisationssprung zu messen, wird die Amplitude des „Tail“-Stroms gemessen, nachdem zu einem festen Potential repolarisiert wurde, welches außerhalb des Aktivationsbereiches des Stromes liegt. Das übliche Begriffsmodell dieser Ströme ist, daß diese die Deaktivierung der Kanäle, die durch die vorangegangene Depolarisation geöffnet wurden, widerspiegeln.

Diese Methode ist genau genug für nichtinaktivierende Ströme, aber es ist kein akkurates Modell für inaktivierende Ströme. Depolarisation dieser Kanäle produziert eine Folge von Zustandsänderungen von geschlossen nach offen nach inaktiviert oder von geschlossen nach inaktiviert (den offenen

Zustand übergehend). Hyperpolarisation nach einem Depolarisationssprung ändert die Permissivitätswahrscheinlichkeiten so, daß offene Kanäle in den geschlossenen Zustand übergehen (Deaktivierung), und inaktivierte Kanäle in den geschlossenen Zustand übergehen (Deinaktivierung). Wenn ein bedeutendes Maß von Kanälen während der Depolarisation den inaktivierten Zustand angenommen haben, können die „Tail“-Ströme mehrere exponentielle Komponenten haben: eine spiegelt die Deaktivierung wieder, die andere die Deinaktivierung.

Eine Vorgehensweise, um diese verschiedenen „Tail“-Strom-Komponenten zu unterscheiden, besteht darin, die Dauer der konditionierenden Depolarisation zu variieren. Wenn die Depolarisation verlängert wird, und die Inaktivierung fortschreitet, dann wächst die „Tail“-Strom-Komponente, die der Deinaktivierung zuzuschreiben ist (wenn der durch die Depolarisation hervorgerufene Strom abnimmt).

Wenn die Inaktivierungskinetiken ausreichend langsamer sind als die Aktivierungskinetiken, dann sollten kurze Spannungssprünge, die den Strom aktivieren ohne ein bedeutendes Ausmaß an Inaktivierung zu erzeugen, benutzt werden, um die „Tail“-Ströme zu erzeugen. In diesem Fall können die „Tail“-Ströme durch eine einfache Exponentialfunktion oder eine Summe von Exponenten gefittet werden, und dann kann die Amplitude des Stromes zu der Zeit des Spannungssprungs durch Extrapolation bestimmt werden. Da diese extrapolierte Amplitude proportional zur Leitfähigkeit ist, können die „Tail“-Ströme mit einer Boltzmann-Gleichung gefittet werden. Der Vorteil dieser Methode ist, daß keine Annahmen über das Umkehrpotential oder relative Permeabilitäten nötig sind. Der Spannungssprung sollte so ausgewählt werden, daß er die Stromamplitude und die Auflösbarkeit der „Tail“-Ströme maximiert.

Inaktivtion

Steady-state-Inaktivationskurven erhielten wir aus Spitzenströmen folgenden Versuchsablaufes:

- 1) Die Membran wird auf verschiedene Halte-Potentiale gebracht, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat, d.h. der Step muß lang genug sein, um zu erlauben, daß der Inaktivationsprozeß sein Steady-state-Level erreicht hat,
- 2) Depolarisation zu einem festen Potential.

Die Amplitude des Stroms wird aus dem Anteil der Kanäle, die durch den vorangegangenen Step nicht inaktiviert wurden, bestimmt.

Die Steady-state-Kurve errechneten wir wie im Schritt 1 bis 3 unter Aktivation beschrieben.

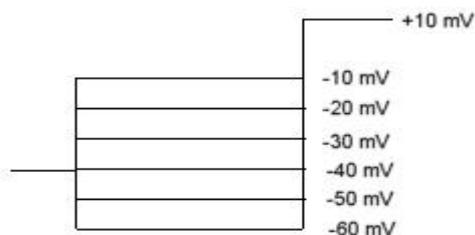


Fig. 9. Inaktivationsparadigma

Zeitkonstanten

Die Zeitkonstanten gewannen wir wie auch die Steady-state-Kurven aus Spannungsklemme-Versuchen.

Zeitkonstante, Aktivtion

Die Zeitkonstante tau ist die Zeit, nach der die Aktivtion zu 63% ($=1-1/e$) stattgefunden hat. Um tau zu bestimmen, wird folgender Versuch durchgeführt:

- 1) Hyperpolarisation, um die Inaktivierung komplett zu entfernen,
- 2) Sprung zum Testpotential.

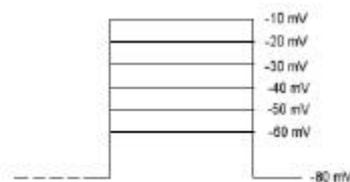


Fig. 10. Paradigma für Aktivationszeitkonstante

Die Kurven normalisierten wir und fitteten sie mit der Funktion

$$f(t) = 1 - e^{\frac{-t}{\tau}} \quad (22)$$

Zeitkonstante, Inaktivierung

Die gebräuchlichste Methode, um die Entwicklung der Inaktivierung zu messen, besteht darin, den Stromabfall nach einem Depolarisationssprung mit einer Summe von Exponentialfunktionen zu fitten:

$$I = a_0 + a_1 e^{\frac{-t}{\tau_1}} + a_2 e^{\frac{-t}{\tau_2}} \dots \quad (23)$$

Weitere Methoden bestimmen die Exponenten durch:

- 1) semilogarithmische Darstellung des Abfalls
- 2) Fitten der langsamen Komponente durch eine gerade Linie, deren Steigung die Zeitkonstante ist
- 3) Subtraktion der Komponente von der originalen Kurve
- 4) Fitten der Differenz mit einer geraden Linie

Bei Kanälen, die bei Potentialen, bei denen kein starker Strom hervorgerufen wird, eine Inaktivierung aufweisen, liefert dieses Verfahren nur einen kleinen Teil der Information über die Kinetik. Um hier die Entwicklung der Inaktivierung zu messen, wird ein Drei-Puls-Paradigma benutzt:

- 1) Hyperpolarisation, um die Inaktivierung komplett zu entfernen,
- 2) Depolarisation zu Konditionspotentialen unterschiedlicher Dauer,
- 3) Depolarisation zum Testpotential.

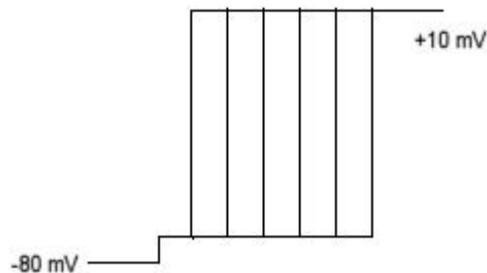


Fig. 11. Paradigma für Inaktivierungszeitkonstante

Je länger die Konditionierung dauert, desto besser kann sich die Inaktivierung entwickeln, und der durch den test step hervorgerufene Strom wird kleiner.

Die relativen Amplituden des Stroms können als Funktion der Konditionierungssprung-Dauer gezeichnet werden. Diese Funktion kann mit einer Summe von Exponential-Funktionen gefittet werden, um die Zeitkonstante bei dem Konditionspotential zu bestimmen.

Erholung von Inaktivierung

Die Erholung von der Inaktivierung wird durch folgende Versuchsanordnung gemessen:

- 1) Depolarisation, um den Kanal komplett zu inaktivieren,
- 2) Sprung zum Konditionspotential unterschiedlicher Dauer zur Einleitung der Entfernung der Inaktivierung, um zu sehen, wie weit die Erholung nach unterschiedlicher Dauer fortgeschritten ist,
- 3) Sprung zum Testpotential.

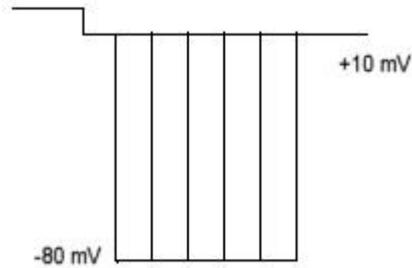


Fig. 12. Paradigma für Inaktivationszeitkonstante für Erholung von Inaktivierung

Es wird generell angenommen, daß das τ für die Inaktivierung gleich dem τ für die Erholung der Inaktivierung ist.

Wir sammelten aus der Literatur Ergebnisse von Spannungsklemmenexperimenten, in denen die in Tabelle 5 aufgelisteten, für dopaminerge Neurone typischen Leitfähigkeiten untersucht wurden.

Zur Implementation der Kanäle würden die dafür notwendigen Daten idealerweise allesamt von ein und derselben zu simulierenden Zelle stammen. Nicht immer sind die Daten für einen bestimmten Kanal auch nur bei einem bestimmten Zelltyp vollständig erhältlich. Obwohl all diese Ströme an dopaminergen Neuronen untersucht wurden, war es dennoch notwendig, Details aus einer Vielzahl von Quellen zusammenzutragen (eine Übersicht über die Quellen unserer Kanalinformationen folgt in Tab. 6 im Abschnitt „Charakteristische Merkmale der Leitfähigkeiten“).

Membranstrom	Kurzbeschreibung
Na ⁺ -Strom	
I _{Na}	ist verantwortlich für die Depolarisationsphase des Aktionspotentials, aktiviert und inaktiviert schnell
K ⁺ -Ströme:	
I _A	ist in Wechselwirkung mit dem I _{pCa} für die Oszillation des Membranpotentials zuständig, inaktiviert schnell
I _{DR}	langsam aktivierend, nicht inaktivierend ist verantwortlich für die Repolarisation des Aktionspotentials
I _{IR}	aktiviert bei starker Hyperpolarisation
Ca ⁺⁺ -abhängige K ⁺ -Ströme:	
I _{SK}	langsame Nachhyperpolarisation nach Ca ⁺⁺ -Spikes
I _{BK}	schnelle Nachhyperpolarisation nach Ca ⁺⁺ -Spikes
Ca ⁺⁺ -Ströme:	
I _{tCa}	niedrige Schwelle
I _{pCa}	hohe Schwelle, Ca ⁺⁺ -abhängig, zuständig für langsame Depolarisation
I _{HVA}	sehr hohe Schwelle, Ca ⁺⁺ -abhängig, zuständig für Ca ⁺⁺ -Spikes

Tabelle 5. Membranströme im aktiven Modell eines dopaminergen Neurons.

Implementation der Leitfähigkeiten im Modell

Zur Implementation der Kanäle benutzen wir das Neuronsimulationsprogramm GENESIS (Bower & Beeman, 1998). Die Ionenkanäle werden mit Hilfe des „tabchannel“-Objekts repräsentiert. Dieses verwendet Tabellenwerte für maximal drei „Gates“, X, Y und Z. Jedes Gate enthält zwei Tabellen A und B, die für diskrete Schritte des Membranpotentials bzw. der Kalziumkonzentration folgende Werte enthalten: $A = \text{Steady-state-Wert}/\tau (= \alpha)$, $B = 1/\tau (= \alpha + \beta)$ (siehe Gleichung 8).

Implementation des aktiven Neuronmodells

Wir erstellten ein sehr vereinfachtes Modell eines Rattenneurons aus der Substantia nigra pars compacta, mit dem die Versuchsergebnisse von Kang & Kitai (1993) simuliert wurden. Diese Versuche wurden an Neuronen von erwachsenen männlichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Die Autoren benutzten Slice-Präparationen mit einer Dicke von 400-500 μm . Von 83 identifizierten dopaminergen Neuronen werteten sie 56 aus, die in intrazellulären Ableitungen Aktionspotentiale mit einer Amplitude von über 80 mV aufwiesen.

Unser Modellneuron besteht aus 3 Kompartimenten (siehe Fig. 13):

1. dem Zellkörper, dessen Ausmaße (25 μm *14 μm) den Angaben der Literatur entsprechen,
2. einem Dendritenstamm, dessen Dicke (4 μm) den Literaturwerten eines Stammes entspricht. Die Länge des Stammes (80 μm) zur Berechnung der Längskonstante wurde ebenfalls der Literatur entnommen. Zur Oberflächenberechnung wurde die Oberfläche des Stammes mit fünf multipliziert (400 μm), unter der Annahme, daß das Neuron fünf Stämme besitzt. Der axiale Widerstand wird dabei nicht beeinflusst,
3. einem Enddendriten, dessen Dicke entsprechend den Angaben in der Literatur auf 1 μm gesetzt wurde. Die Länge des Enddendriten zur Berechnung der Längskonstante wurde auf 200 μm gesetzt, was Schnitte mit der Dicke von 400-500 μm widerspiegelt. Ebenso wurde die Oberfläche für die verkürzte Dendritenlänge korrigiert.

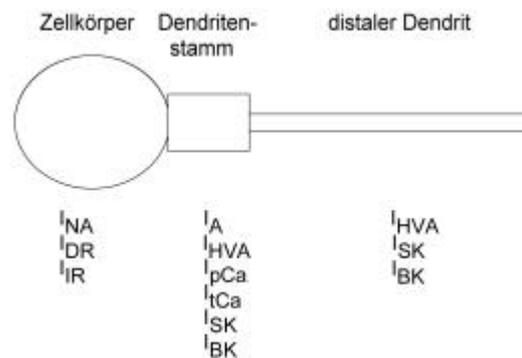


Fig. 13. Unser 3-Kompartimentmodell.

Das Modellneuron besitzt die elektrotonischen Eigenschaften von dopaminergen Neuronen hinsichtlich Membranwiderstand, Axialwiderstand und Membrankapazität.

Die passiven Membranparameter erhielten die gleichen Werte wie bei der Untersuchung passiver Neuronmodelle:

$$r_m : 1 \Omega/\text{m}^2, r_a : 2 \Omega \cdot \text{m}, c_m : 0,01 \text{ F}/\text{m}^2$$

Die Umkehrpotentiale für die Ionenströme wurden auf folgende Werte gesetzt:

$$E_{\text{Na}} = 45 \text{ mV}$$

$$E_{\text{K}} = -85 \text{ mV}$$

$$E_{\text{Ca}} = 135 \text{ mV}$$

$$E_{\text{IR}} = -30 \text{ mV}$$

Das „Ruhemembranpotential“ für das Modellneuron beträgt -60 mV .

Jedes Kompartiment besitzt ein submembranöses Kalziumkompartiment mit einer Dicke von $0,2 \mu\text{m}$. Seine Länge ist genauso groß wie das jeweilige Membrankompartiment. Die Kalzium-Ruhekonzentration beträgt 50 nM . Die Ca^{++} -Extrusion wird durch die Zeitkonstante $\tau = 0,001 \text{ s}$ wiedergegeben, welche Ionenpumpen, die Ca^{++} nach extrazellulär oder in Mitochondrien transportieren, und Puffer, welche Ca^{++} binden, berücksichtigt.

Die Kanäle wurden nach den Angaben aus der Literatur so auf die drei Kompartimente des Modellneurons verteilt, wie in Fig. 13 dargestellt (siehe auch Tab. 7 im Kapitel „Bestimmung der Kanaldichten“).

Bei diesem Modell wurde berücksichtigt, daß die Daten aus den verschiedenen Literaturangaben nicht bei gleicher Temperatur gemessen wurden. Die einzelnen Daten wurden übernommen und dann eine Angleichung der Zeitkonstanten mit Hilfe des Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Gesetzes vorgenommen, weil Ionenströme temperaturabhängig sind (Johnston et al., 1995):

$$\tau_{neu} = \tau_{alt} Q_{10}^{\frac{\tau_{alt} - \tau_{neu}}{10}} \quad (24)$$

(die Reaktionsgeschwindigkeit steigt mit Erhöhung der Temperatur um 10°C auf das Doppelte bis Dreifache an; wir setzten Q_{10} auf den Wert 2,5). Unsere Simulationen beziehen sich auf eine Temperatur von 33°C.

Die einzelnen Kompartimente werden als isopotential betrachtet und sind untereinander durch einen longitudinalen Widerstand verbunden. Innerhalb eines Kompartiments existieren ebenfalls keine Unterschiede bezüglich der physikalischen Eigenschaften (Durchmesser, Membraneigenschaften etc.), sondern nur zwischen den einzelnen Kompartimenten (Bower & Beeman, 1998).

Die elektrischen Eigenschaften jedes Kompartiments werden dargestellt als ein äquivalenter elektrischer Schaltkreis (siehe Fig. 14) (Segev et al., 1998).

In diesem Schaltkreis hat der Stromfluß über die Membran zwei wichtige Komponenten, eine assoziiert mit der Aufladung der Membrankapazität, und die andere assoziiert mit der Bewegung von verschiedenen Ionentypen über die Membran (Der Ionenstrom fließt durch Widerstände, die der Kapazität parallel geschaltet sind).

Der Ionenstrom ist weiterhin unterteilt in verschiedene Komponenten, den Na^+ -Strom, die verschiedenen K^+ -Ströme und Ca^{++} -Ströme, (und den Leak-Strom, der aus Cl^- und anderen Ionen zusammengesetzt ist).

Das Verhalten eines solchen Schaltkreises kann durch folgende Differentialgleichung beschrieben werden:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} = I_{ext} \quad (25)$$

C_m ist die Membrankapazität. Die spezifische Membrankapazität ist in fast allen Neuronen konstant und liegt bei etwa $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. V_m ist das Membranpotential, I_{ion} der Netto-Ionenstrom und I_{ext} der von außen applizierte Strom.

Der totale Ionenstrom I_{ion} ist die Summe der einzelnen Beiträge von allen beteiligten Strömen:

$$I_{ion} = \sum_k I_k = \sum_k G_k (V_m - V_{rev}) \quad (26)$$

Jede einzelne Ionenkomponente I_k hat eine assoziierte Leitfähigkeit G_k und ein Gleichgewichtspotential V_{rev} (das Potential bei dem der Netto-Ionenstrom =0 ist). Der Ionenstrom ist proportional zur Leitfähigkeit geteilt durch die treibende Kraft :

$$I_k = G_k (V_m - V_{rev}) \quad (27)$$

Die Leitfähigkeiten ändern sich als eine Funktion des Membranpotentials und der Zeit. Diese Spannungsabhängigkeit wird verursacht durch die biophysikalischen Eigenschaften der Membrankanäle, die den Ionenfluß über die Membran regulieren.

Die Kompartimente sind über den Axialwiderstand R_a miteinander verbunden. V_m wird so ausgerechnet:

$$\frac{dV_m}{dt} = \frac{1}{C_m} \left(\frac{E_m - V_m}{R_m} + \sum (E_k - V_m) G_k + \sum \frac{V_m' - V_m}{R_a} + \frac{V_m'' - V_m}{R_a} + inject \right) \quad (28)$$

V_m' und V_m'' bezeichnen das Membranpotential der zwei benachbarten Kompartimente.

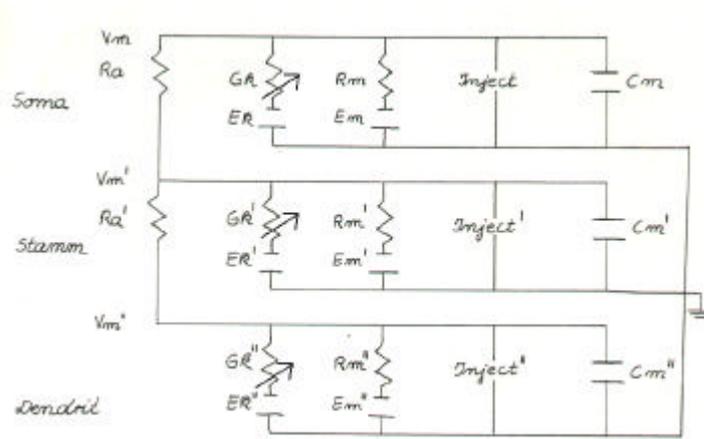


Fig. 14. Die elektrischen Eigenschaften jedes Kompartiments werden dargestellt als ein äquivalenter elektrischer Schaltkreis

Wir verwendeten in unserem Neuronmodell als Zeitschritt $dt = 0,5 \text{ ms}$. Dieser relativ große Zeitschritt lieferte dennoch akkurate Ergebnisse, wie wir durch Vergleich mit kleineren Zeitschritten feststellten. Weitere Details der Computerprozeduren sind wie in De Schutter & Bower (1994) beschrieben.

Simulation von Stromklemmenexperimenten

Nachdem wir das spannungsabhängige Verhalten der Leitfähigkeiten implementiert hatten, mußten wir die Kanaldichten in den verschiedenen Kompartimenten des Neuronmodells bestimmen. Trotz vorhandener Angaben über die Einzelkanal-Leitfähigkeiten fehlten Untersuchungen über die Dichte und Verteilung der Kanäle in der neuronalen Membran. Daher sind die maximalen Leitfähigkeiten weitgehend freie Parameter. Wir begannen unsere Simulationen, indem wir die Kanaldichten im Zellkörper, im Dendritenstamm und im Enddendriten anhand von Ganzzell-Patch-Clamp-Daten schätzten. Als Anhaltspunkt für unsere Schätzungen berechneten wir die maximale Kanaldichte, indem wir nach Gleichung 18 aus dem experimentell gemessenen maximalen Strom die maximale Leitfähigkeit berechneten und diese durch die durchschnittliche Oberfläche eines Rattenneurons ($45000 \mu\text{m}^2$) teilten. Dabei wurde eine gleichmäßige Verteilung der Kanäle über das gesamte Neuron angenommen. Dann veränderten wir die Kanaldichten, bis das Neuronmodell das charakteristische Verhalten zeigte.

So justierten wir zuerst die Eigenschaften einzelner Kanäle und ließen die anderen Kanäle möglichst unberücksichtigt, um dann nach und nach weitere Kanäle in unserem Modell mit den schon justierten Kanälen abzustimmen. Durch den Vergleich unserer Simulationen mit den Ergebnissen von Kang & Kitai (1993) konnten wir schließlich auch die Güte der erstellten Neuronmodelle evaluieren.

Ergebnisse

Charakteristische Merkmale der Leitfähigkeiten

Im diesem Abschnitt werden unsere Befunde über die Kinetiken der einzelnen Kanäle beschrieben, ihre Steady-state-Aktivierungen bzw. -Inaktivierungen und ihre Zeitkonstanten jeweils in Abhängigkeit vom Membranpotential dargestellt.

Tabelle 6 zeigt unsere Zusammenstellung der Leitfähigkeiten und deren Isolationsbedingungen.

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
Na⁺-Ströme:						
Schneller Na ⁺ -Strom	Cs ⁺⁺ in der Elektrode; Sprünge auf -30 mV oder weiter depolarisiert	2-10 µM TTX; extrazelluläres NaCl ersetzt durch Cholinchlorid		Größe: 1-5 nA; "schnell" inaktivierend	Fig. 7B	Chiodo & Kapatos, 1992
Schneller Na ⁺ -Strom	extra- + intrazelluläres Cs ⁺⁺ ; intrazell. F ⁻ + EGTA; Depolarisation auf -60 bis -50 mV	0,2 µM TTX (vollständige Blockade aller I _{Na} in 45% der Zellen)		Umkehrpotential bei 50 bis 60 mV		Ogata & Tatebayashi, 1992
TTX-insensitiver Na ⁺ -Strom	extra- + intrazellulär Cs ⁺⁺ ; intrazell. F ⁻ + EGTA; Depolarisation auf -60 bis -50 mV	Ersatz des extrazellulären Na ⁺ durch Tetramethylammonium	2 µM TTX; 2 mM Co; 50 µM Cd	Spitzenstrom <8% des schnellen I _{Na} ; (In-) Aktivationszeitverlauf ähnlich zum schnellen I _{Na} ; Umkehrpotential bei 50 bis 60 mV; V ₅₀ bei -35 mV; Spitzenstrom bei -18 mV	vorhanden in 55% der Zellen; Kinetiken unterscheiden sich von TTX-insens. Strömen in anderen Zellen	Ogata & Tatebayashi, 1992

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
Langsamer Na ⁺ -Strom		TTX				
K⁺-Ströme:						
Verzögerter K ⁺ -Strom	TTX; -40 mV Haltepotential; dann Depolarisation	Vollständig bei 10 mM TEA		Spitzen-Aktivierung <8-12 ms; keine nennenswerte Inaktivierung während 200 ms	Vorhanden in allen Zellen; etwa 50% des anhaltenden Auswärtsstroms	Silva et al., 1990
Verzögerter K ⁺ -Strom (I _K)	TTX (2 µM) und Cholin-Cl; 4-AP; extrazell. Ca ²⁺ ersetzt durch Cd ²⁺	70-95% Reduktion durch CsCl für K-Azetat in der Elektrode; 5-20 µM TEA		"verzögerter" Beginn; nicht-inaktivierend während 500 ms	1-200 µM DA bewirkt dosisabhängige Hyperpolarisation (Umkehrpotential bei -87 mV); 20-40% Steigerung des I _K (15,7 pA bei -40 mV, 160,8 pA bei 20 mV) durch 10-100 µM DA	Chiodo & Kapatos, 1992
A-Strom	TTX und TEA; -40 mV Haltepotential, dann 200 ms auf -90 mV vor Sprüngen zu Testpotentialen zwischen -40 und +30 mV	fast vollständig bei 2-4 mM 4-AP; Cs		Inaktivationszeitkonstante = 58 ms; spannungsunabhängig zwischen -40 und +20 mV; V ₅₀ = 5 mV; V ₅₀ für die Inaktivierung = -65 mV; maximale Aktivierung in <8 ms	Vorhanden in allen Neuronen; 100 µM Quinpirol (aber nicht SKF38393) erhöht den Spitzenstrom um 30-60% bei 30 mV in allen Zellen; 22% Anstieg des Spitzenstroms mit 50 µM DA (Fig. 4A)	Liu et al., 1994

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
A-Strom	TTX und TEA; -40 mV Haltepotential, dann 200 ms auf -100 mV vor den Sprüngen zu Testpotentialen (> -55 mV); inaktiviert bei -40 mV	Vollständig bei 4 mM 4-AP	TEA 10mM	maximale Aktivierung in <5 ms; Inaktivationszeitkonstante = 53 ms (Spannungsunabhängig); V50 für die Inaktivierung = -65 mV	Cd (200 µM) und Co (5 mM) verschieben (In-) Aktivationskurven 30-40 mV in depolarisierte Richtung	Silva et al., 1990
A-Strom	2 µM TTX; extrazell. NaCl ersetzt durch Cholinchlorid; -65 oder -90 mV Haltepotential dann Depolarisation	5-10 mM 4-AP; vollständig mit Cs-gefüllte Elektroden	TEA	Umkehrpotential bei -88 mV		Chiodo & Kapatos, 1992
Anomaler Einwärts-Rektifizierer	-60 mV Haltepotential, dann -70 oder weiter hyperpolarisiert	Unterdrückt durch 1 mM extrazell. Cs		maximale Aktivierung bei 600-700 ms	Fig. 7 Antwort auf Hyperpolarisation <-70 mV	Silva et al., 1990
Anomaler Einwärts-Rektifizierer	1 mM TTX, 3 mM 4-AP; -50 bis -60 mV Haltepotential, dann Hyperpolarisation auf -70 bis -120 mV für 2-7 s			Umkehrpotential bei -31 mV; nicht-inaktivierend; Aktivationszeitkonstante = 1146 ms bei -80 mV, 654 ms bei -100 mV; Leitfähigkeit = 0,1 nS bei -70 mV, 5,7 nS bei -120 mV, V50 bei -93mV	DA (D2) reduziert den Spitzenstrom (21% bei -120 mV, mit 30 µM DA); Konzentration mit halbmaximalem Effekt=22 µM DA; 30 µM DA reduziert die maximale Leitfähigkeit von 7,2 auf 6,0 nS,	Jiang et al., 1993

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
					1 μ M Baclofen um 21%, ohne Änderung der V50 oder der Zeitkonstante; Inhibition ist cAMP-unabhängig	
ATP-sensitiver K^+ -Strom		0,5 mM Tolbutamid, 0,5 μ M Glibenclamid; niedriges (0,3 mM) ATP		2,6 nS = 175 Kanäle pro SN Neuron mit 0,3 mM ATP		Röper & Ashcroft, 1998
Kalzium-abhängige K^+-Ströme:						
beide I_{KCa} zusammen	-40 mV Haltepotential, dann -25 mV oder weiter depolarisiert	5 mM Co und/oder 200 μ M Cd		maximale Aktivation in <30-40 ms	55% des anhaltenden Auswärtsstroms bei 10 mV	Silva et al., 1990
Schneller I_{KCa} (BK, maxi, schnelle Nachhyperpolarisation)	aktiviert durch Depolarisation >-25 mV	TEA?	200 nM Apamin		Etwa 20% des anhaltenden Auswärtsstroms, schnelle Nachhyperpolarisation	Silva et al., 1990
Langsamer I_{KCa} (SK, langsame Nachhyperpolarisation)	-40 mV Haltepotential, dann -10 mV oder weiter depolarisiert	200nM Apamin	TEA?	maximale Aktivation in <35-45 ms	33% des anhaltenden Auswärtsstroms bei 10 mV; Inhibition führt zu Bursts ?, langsame Nachhyperpolarisation	Silva et al., 1990

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
Langsamer I_{KCa}		1 μ M Apamin			Blockade führt zur Änderung vom Schrittmacher- zum Burst-Modus	Shepard & Bunney, 1988
Nachhyperpolarisierender Strom I_{AHP}	2 μ M TTX; extrazell. NaCl ersetzt durch Cholinchlorid; 15-50 μ M TEA; -65 oder -90 mV Haltepotential dann Depolarisation	extrazell. Ca^{2+} ersetzt durch Cs^{2+}		15-45% des spät einsetzenden Stroms; scheint zu inaktivieren (Fig. 8C)	Nicht beeinflusst durch 10-100 μ M DA	Chiodo & Kapatos, 1992
Ca^{++}-Ströme:						
I_T , transienter LVA Kalzium Strom	extrazell. 1 μ M TTX + 4 mM 4-AP, intrazell. 140 mM CsCl + 10 mM EGTA; negativer als -80 mV Haltepotential, dann Depolarisation auf >-70 mV (>-50 mV)	Ni^{++}		Inaktivationszeitkonstante = 26 ms bei -55 mV, 28 ms bei -60 mV; I steigend bis zu -58 mV dann fallend mit weiterer Depolarisation (Fig. 4D), Spitzenstrom= 489 \pm 170 pA bei -60 mV; (In-) Aktivationskurven Fig. 6; Umkehrpotential berechnet bei 139 mV mit 50 nM intrazell. Ca^{++} ; Aktivationschwelle -70 bis -65 mV, max bei -58 mV	Vorhanden in 11/15 Zellen; wahrscheinlich auf dem Zellkörper und den proximalen Dendriten lokalisiert	Kang & Kitai, 1993
I_p , persistierender LVA	extrazell. 1 μ M TTX + 4 mM 4-AP, intrazell.	Cd^{++} , 1 μ M Omega-		Inaktivationszeitkonstante= 4,1 s bei -55	Vorhanden in allen Zellen	Kang & Kitai, 1993

Membranstrom	Aufdeckungsbedingungen	Inhibitor	Ineffektiv	Charakteristische Werte	Bemerkungen	Referenz
Kalzium-Strom	140 mM CsCl + 10 mM EGTA; negativer als -80 mV Haltepotential, dann Depolarisation auf >-58 mV	conotoxin, sehr gering bei >-35 mV durch Nifedipin		mV, 2,35 s bei -50 mV; I steigend mit weiterer Depolarisation, Spitzenstrom = -100 pA bei -45 mV; mehr Ca ⁺⁺ (1mM EGTA) reduziert die Inaktivationszeitkonstante: 498 ms bei -50 mV für 7 Neurone; 1 Neuron (Fig. 7): 134 ms bei -50 mV, biexponential bei -40 und -30 mV, Aktivationschwelle -60 bis -55 mV	(N=15); wahrscheinlich auf dem Zellkörper und den proximalen Dendriten lokalisiert	
Niedrigschwelliger Ca ⁺⁺ -Strom					auf proximalem Dendritenbaum lokalisiert	Grace 1987
HVA Ca ⁺⁺ -Strom	Depolarisation >-40 mV			Inaktivations Spannungsabhängig	Möglicherweise auf distalem Dendritenbaum lokalisiert	Kang & Kitai, 1993
Hochschwelliger Ca ⁺⁺ -Strom		Cd ⁺⁺			auf distalem Dendritenbaum lokalisiert	Llinas et al., 1984
Transmitter-aktivierte Ströme:						
GABA-Ströme						
NMDA-Strom						Mereu et al., 1991

Tabelle 6. Isolationsbedingungen der Ströme, die in dopaminergen Neuronen gefunden wurden. (V50: Spannung für halbmaximale Aktivierung, DA = Dopamin, TTX = Tetrodotoxin, TEA = Tetraethylammonium, HVA = high voltage activated, LVA = low voltage activated)

I_{Na} (Ogata & Tatebayashi, 1992)

Die Werte stammen von Neuronen der VTA (Area tegmentalis ventralis) der Ratte (Glaselektrode, 21-23°C). Der I_{Na}-Strom befindet sich nach Llinas (1984) auf dem Zellkörper. Die Kanaldichte beträgt 0,41 S/m², die Leitfähigkeit g=4,1 nS. Das Umkehrpotential liegt bei V_{rev}=45 mV. Der I_{Na} wird bei -30 mV aktiviert. Die Aktivations-Schwelle liegt bei -60 bis -50 mV. Die Spannung für halbmaximale Aktivierung liegt bei -37 mV±1,8 (n=7). Der Spitzenstrom (1-5 nA) liegt bei -22±2,7 mV. Die Aktivationskurve wurde aus Fig. 2B1 bei Ogata & Tatebayashi (1992) berechnet. Die Zeitkonstante wurde von Fig. 2A1 bei Ogata & Tatebayashi (1992) abgeleitet. Da für die Inaktivationskurve kein Versuchsprotokoll vorliegt, wurde die Kurve von DeSchutter & Bower (1994) in Übereinstimmung mit Fig. 2a bei Ogata & Tatebayashi (1992) übernommen. Die Inaktivationszeitkonstante wurde von Fig. 2A1 bei Ogata & Tatebayashi (1992) abgeleitet. X=3 und Y=1 nach McCormick (1990). Es besteht keine Ca⁺⁺-Abhängigkeit (Z=0). Um die Aktivations- und Inaktivationskurven den Kurven in der Arbeit von Ogata & Tatebayashi (1992) anzugleichen, wurden diese um 25 mV in den depolarisierten Bereich verschoben. Damit der Strom trotzdem noch gut aktiviert werden kann, wurde die Inaktivationszeitkonstante um den Faktor 10 verlängert.

I_{DR} (Silva et al., 1990) [Chiodo & Kapatos, 1992]

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra, Ganzzell-patch-clamp, 23-25°C. Er macht 50% des anhaltenden Auswärtsstroms aus. Der I_{DR} befindet sich auf dem Zellkörper (Llinas et al. (1984), Meerschweinchen Substantia nigra). Die Kanaldichte beträgt 0,21 [0,12] S/m², die Leitfähigkeit g=2,1 [1,2] nS. Das Umkehrpotential beträgt V_{rev}=-85 mV. Der I_{DR} aktiviert bei Depolarisation von einem Haltepotential von -40 mV. Die Aktivationskurve wurde aus Fig. 6D bei Silva et al. (1990) [Fig. 11] berechnet. Er aktiviert in <8-12 ms (S. 269 bei Silva et al. (1990)), er inaktiviert praktisch nicht in 200 ms. Die Aktivationszeitkonstante wurde nach S. 269 bei Silva et al. (1990) auf 0,01 s gesetzt (aktiviert in 8 bis 12 ms) [Fig. 8b]. X wurde auf 4 gesetzt (McCormick, 1990). Es besteht keine Ca⁺⁺-Abhängigkeit (Z=0). Der Strom inaktiviert nicht (Y=0).

Mit diesen Einstellungen konnten keine Spikes erzeugt werden, da die Depolarisation des Na^+ -Stroms sofort durch den I_{DR} unterdrückt wurde. Deshalb wurde die Aktivationskurve um 10 mV in den depolarisierten Bereich verschoben.

I_{A} (transienter Auswärtsstrom) (Silva et al., 1990) [Liu et al., 1994]

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra, Ganzzell-patch-clamp, 23-25°C. [Mesenzephalon, Ganzzell-patch-clamp, 35°C]. Die Kanaldichte beträgt 0,43 [0,67] S/m^2 , die Leitfähigkeit: $g=4,3$ [13,5] nS. Das Umkehrpotential liegt bei $V_{\text{rev}}=-85$ mV. Die halbmaximale Aktivierung tritt auf nach 20 ms Hyperpolarisation auf -100 mV, maximale Aktivierung nach 100 ms. Der A-Strom wird bei >-55 nach 200 ms Hyperpolarisation auf -100 mV aktiviert. [Er wird aktiviert, wenn das Haltepotential <-50 mV ist. Die Aktivierung beginnt bei -40 mV, halbmaximale Aktivierung bei 5 mV, Spitzenstrom bei 30 mV, $1-8$ nA]. Die Aktivationskurve wurde aus Fig. 3D, 4A,C bei Silva et al. (1990) [Fig. 1b, 2c] berechnet. Der A-Strom aktiviert in <5 ms [<8 ms]. Die Aktivationszeitkonstante wurde nach S. 266 bei Silva et al. (1990) [S. 232] konstant auf 1 ms gesetzt. Die Inaktivationskurve wurde aus Fig. 4B, 4C bei Silva et al. (1990) [Fig. 2c] berechnet. Die halbmaximale Aktivierung liegt bei -65 mV.[dito]. Er ist vollständig inaktiviert bei -40 mV.[dito]. Cd^{++} und Co^{++} schieben Aktivierung und Inaktivierung $30-40$ mV in depolarisierte Richtung. Die Inaktivationskonstante beträgt $53 \text{ ms} \pm 4$ ($n=8$) [$58 \text{ ms} \pm 5$, $n=12$] und ist spannungsunabhängig [ändert sich nicht bei -40 bis 20 mV]. Die Zeitkonstante für die Inaktivierung wurde aus Fig. 5B und S. 266 bei Silva et al. (1990) hergeleitet (für -90 mV). Für -55 bis 35 mV wurden die Werte von Silva et al. (1990) übernommen [S. 234, Fig. 3b]. $X=4$, $Y=1$ (McCormick (1990)), für X fitten 3 und 4 gleich gut. Es besteht keine Ca^{++} -Abhängigkeit ($Z=0$).

Wenn der A-Strom durch Apamin blockiert wird, wird die Spikefrequenz erhöht.

I_{R} (Anomaler Einwärts-Rektifizierer) (Silva et al., 1990) [Jiang et al., 1993]

Anomaler Rektifizierer (Jiang et al., 1993) und Einwärts-Rektifizierer (Silva et al., 1995) scheinen vergleichbare Ströme zu sein. Der Strom wird von Na^+ - und K^+ -Ionen getragen. Das Umkehrpotential wird deshalb in depolarisierter Richtung vom Ruhemembranpotential aus erwartet (-32 ± 4 mV nach Harris (1995) beim Meerschweinchen). Der I_{R} befindet sich auf dem Zellkörper (auf den proximalen Dendriten (nach Llinas et al., 1984, Meerschweinchen,

Substantia nigra)). Die Kanaldichte beträgt $0,12 \text{ S/m}^2$ [$0,13 \text{ S/m}^2$], die Leitfähigkeit $g=1,2 \text{ nS}$ [$g=2 \text{ nS}$]. Das Umkehrpotential liegt bei $V_{\text{rev}}=-30 \text{ mV}$ [dito].

Die Aktivationskurve wurde aus Fig. 7C bei Silva et al. (1990) [Fig. 3b] errechnet. Die Aktivationszeitkonstante beträgt 130 ms [S. 759] (nach S. 269 bei Silva et al. (1990) Maximum nach 600-700 ms), siehe auch Fig.7 bei Silva et al. (1990), (Harris (1995): Die Zeitkonstante beträgt $>1 \text{ s}$ nahe der Aktivierungsschwelle, $123\pm 16 \text{ ms}$ bei -125 mV , die Zeitkonstante der In(De⁻-)aktivierung beträgt $301\pm 5 \text{ ms}$ bei -69 mV , $448\pm 40 \text{ ms}$ bei -78 mV , $569\pm 91 \text{ ms}$ bei -87 mV . Die Spannung für die halbmaximale Aktivierung beträgt $-86,2\pm 1,6 \text{ mV}$, Steigungsfaktor $k=8,3\pm 0,6$). X wurde auf 1 gesetzt (fit) (McCormick, 1990). Der Strom inaktiviert nicht (Y=0). Es besteht keine Ca^{++} -Abhängigkeit (Z=0).

I_{Bk} (fast AHP) (Silva et al., 1990)

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra, Ganzzell-patch-clamp, 23-25°C. Er macht 20% des anhaltenden Auswärtsstroms aus. Der I_{Bk} befindet sich auf den proximalen Dendriten (Llinas (1984), Meerschweinchen Substantia nigra). Die Kanaldichte beträgt $0,14 \text{ S/m}^2$, die Leitfähigkeit $g=42 \text{ nS}$. Das Umkehrpotential liegt bei $V_{\text{rev}}=-85 \text{ mV}$. Der I_{Bk} wird bei $>-25 \text{ mV}$ bei einem Haltepotential von -40 mV aktiviert. Die Aktivationszeitkonstante wurde nach S. 269 bei Silva et al. (1990) auf 90 ms gesetzt (kleiner als beim I_{Sk}). Die Aktivations-Kurve wurde aus Fig. 6D bei Silva et al. (1990) berechnet. X=1. Der Strom inaktiviert nicht (Y=0). Z wurde nach DeSchutter & Bower (1994) auf 2 gesetzt. Die Steady-state-Kurve wurde nach der Formel von Lang & Ritchie (1987) berechnet: $z_{\text{inf}}=1/(1+A/\text{Ca})$. $A=4\text{e-}3 \text{ mM}$ nach Schutter & Bower (1994). Die Zeitkonstante beträgt 10 ms (nach Schutter & Bower (1994)). Da der I_{Bk} nach Fig. 6 bei Silva et al. (1990) erst bei -40 mV aktiv wird, wurde die Aktivations-Kurve auf folgende Weise nach rechts verschoben: Sie wurde um 30 mV verschoben, mit 1.5 multipliziert, und dann um 10 mV weiterverschoben. Die Aktivationszeitkonstante wurde gemäß de Schutter & Bower (1994) um den Faktor 1000 schneller gemacht ($\rightarrow 0,09 \text{ ms}$).

I_{Sk} (slow AHP) (Silva et al. (1990))

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra, Ganzzell-patch-clamp, 23-25°C. Er macht 33% des anhaltenden Auswärtsstroms aus. Wenn er blockiert wird, geht der Schrittmacher-Rhythmus in den Burstmodus über. Der I_{Sk} befindet sich auf den proximalen Dendriten (Llinas (1984), Meerschweinchen Subst. nigra). Die Kanaldichte beträgt $0,06 \text{ S/m}^2$, die Leitfähigkeit $g=288 \text{ nS}$. Das Umkehrpotential liegt bei $V_{\text{rev}}=-85 \text{ mV}$.

Der I_{Sk} wird aktiviert bei >-10 mV bei einem Haltepotential von -40 mV. Er aktiviert in $<35-45$ ms (S. 269 bei Silva et al. (1990)). Die Aktivationskurve stammt von Fig. 6D bei Silva et al. (1990) und Lang & Ritchie (1987). Die Zeitkonstante für die Aktivierung wurde nach S. 269 bei Silva et al. (1990) auf 40 ms gesetzt (aktiviert in 35 bis 45 ms). X wurde gefittet (Silva et al., 1990) und auf 1 gesetzt (nach Lang & Ritchie (1987) ist die Aktivierung spannungsunabhängig). Der Strom inaktiviert nicht ($Y=0$). Z wurde nach DeSchutter & Bower (1994) auf 2 gesetzt. Die Zeitkonstante beträgt 10 ms (nach DeSchutter & Bower (1994)). Der Steady-state-Wert für Z wurde wie bei DeSchutter & Bower (1994) berechnet: $Z_{inf}=1/(1+A/Ca)$. Die Dissoziationszeitkonstante A ist gleich $1\mu M$. Da der I_{Sk} nach Fig. 6 bei Silva et al. (1990) erst bei -10 mV aktiviert wird, wurde die Aktivationskurve folgendermaßen nach rechts verschoben: Sie wurde mit 1,05 multipliziert und dann um 0,05 nach unten geschoben. Da der I_{Sk} in 35-45 s aktiviert wird, wurde die Aktivationszeitkonstante mit 0.4 multipliziert ($\rightarrow 16$ ms). Da das Neuron unter diesen Bedingungen keine Spikes generieren konnte, wurde die Ca^{2+} -Zeitkonstante mit 50 multipliziert, damit der Strom nicht so schnell unterdrückt wird. Die Aktivationszeitkonstante wurde um den Faktor 1,5 verlangsamt ($\rightarrow 24$ ms), damit der I_{Sk} eine langsame Nachhyperpolarisation bewirkt.

I_{Ca} (transient LVA) (Kang & Kitai, 1993)

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra ($n=68$, Ganzzell-patch-clamp, in vitro, $25-30^{\circ}C$) (Llinas, 1984: Meerschweinchen, Subst. nigra). Der I_{Ca} befindet sich auf dem Zellkörper und den proximalen Dendriten (vom Zellkörper entfernt, auf proximalen Dendriten, nach Llinas (1984)). Die Kanaldichte beträgt $0,07$ S/ m^2 , die Leitfähigkeit $g=7$ nS. Das Umkehrpotential liegt bei $V_{rev}=135$ (berechnet aus $Ca_{innen}=50$ nM, $Ca_{au\beta en}=3$ mM, 1 mM EGTA). Der I_{Ca} aktiviert bei >-70 mV bei einem Haltepotential von >-80 mV (wie Kang & Kitai, 1993). Der Spitzenstrom (ca. 489 ± 170 pA bei -60 mV) liegt bei -58 mV. Die Aktivationskurve wurde von Fig. 5A,6 bei Kang & Kitai (1993) hergeleitet. Die Aktivationszeitkonstante wurde von DeSchutter & Bower (1994) übernommen (mit Übereinstimmung mit Fig. 2b bei Kang & Kitai (1993)). Die Inaktivitätszeitkonstante beträgt 26 ms bei -55 mV, 28 ms bei -60 mV. Die Inaktivationskurve wurde von Fig. 5,6 bei Kang & Kitai (1993) hergeleitet. Die Inaktivitätszeitkonstante wurde kombiniert aus Fig. 3A bei Kang & Kitai (1993) (-55 mV), S. 216 bei Kang & Kitai (1993) (-60 mV) und DeSchutter & Bower (1994), Fig. 2B (-100 mV). X und Y wurden nach DeSchutter & Bower (1994) auf 1 gesetzt. Es besteht keine Ca^{++} -Abhängigkeit ($Z=0$).

TEA erhöht die deinaktivierende Wirkung von Hyperpolarisation des Zellkörpers durch ein erhöhte Längskonstante. Dadurch hat der Strom eine niedrigere Aktivierungsschwelle (nach Llinas (1984)).

I_{pCa} (persistierender LVA) (Kang & Kitai (1993))

Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra (n=68, Ganzzell-patch-clamp, in vitro, 25-30°C). Der I_{pCa} befindet sich auf dem Zellkörper und den proximalen Dendriten. Die Kanaldichte beträgt 0,08 S/m², die Leitfähigkeit g=5,5 nS. Das Umkehrpotential liegt bei E_{Ca}=135 mV (berechnet aus Ca_{innen}=50 nM, Ca_{außen}=3 mM, 1 mM EGTA). Der I_{pCa} aktiviert bei -58 mV bei einem Haltepotential von >-80 mV. Der Spitzenstrom beträgt 100 pA. Die Aktivationskurve wurde von Fig. 7 bei Kang & Kitai (1993) hergeleitet. Die Werte für die Aktivationszeitkonstante stammen von Fig. 7 Ac,d bei Kang & Kitai (1993). Die Inaktivationszeitkonstante beträgt 4,1 s bei -55 mV und 2,35 s bei -50 mV. Ca²⁺ erniedrigt die Inaktivationszeitkonstante: bei 1 mM EGTA 498 ms bei -50 mV (Kang & Kitai (1993), Fig.4Ac, S. 216). Die Inaktivationszeitkonstante wurde nach Fig7 Ac,d bei Kang & Kitai (1993) und nach Angaben auf S. 216 bei Kang & Kitai (1993) gefittet und auf 22 bis 36 ms gesetzt. Die Inaktivitätskurve wurde von DeSchutter & Bower (1994), Fig. 2C übernommen (in Übereinstimmung mit Fig. 4Ac bei Kang & Kitai (1993)). X wurde nach Schutter auf 1 gesetzt (McCormick (1990): X=2). Y wurde nach DeSchutter & Bower (1994) und McCormick (1990) auf 1 gesetzt. Z wurde auf 0 gesetzt. Nach Kang & Kitai (1993) wird durch EGTA der Abfall des PLSD, die durch den I_{pCa} getragen wird, verlängert. Dies würde für eine Beteiligung einer Ca⁺⁺-abhängigen K⁺-Leitfähigkeit und/oder einer Ca⁺⁺-abhängigen Inaktivierung einer Ca⁺⁺-Leitfähigkeit (I_{pCa}) während der Repolarisation sprechen. Da die fragliche Ca⁺⁺-Abhängigkeit des I_{pCa} nicht näher charakterisiert wurde, setzten wir Z auf 0. Die Aktivationszeitkonstante wurde verdoppelt, was der gefitteten Kurve entspricht. Die Inaktivationszeitkonstante wurde mit 6,6 multipliziert (siehe Tab.6).

Verkürzung der Inaktivationszeitkonstante erhöht die Oszillationsfrequenz und verkleinert die Spikefrequenz. Nach Fig. 11 von Kang & Kitai (1993) inaktiviert der I_{pCa} innerhalb von weniger als 500 ms. Die Inaktivationskonstante wurde zuerst mit 5,6 multipliziert. Dies ergab bei der Simulation eine der Fig. 11 bei Kang & Kitai (1993) entsprechende Kurve. Doch mit dieser Zeitkonstante reagierte die Oszillation nicht richtig auf Hyperpolarisation. Die Amplitude verkleinerte sich, aber nach Kang sollte sie sich vergrößern. Deshalb wurde die Zeitkonstante etwas vergrößert. Sie wurde statt mit 5,6 mit 6,6 multipliziert. Dies ergibt bei

der Simulation von Fig.11 auch noch eine akzeptable Kurve. Die Oszillation reagiert nun richtig auf Hyperpolarisation.

Bei weiterer Parameteranpassung wurde die Aktivationszeitkonstante mit 1,2 multipliziert und die Aktivationskurve um 5 mV nach links verschoben. Die Inaktivationszeitkonstante wurde mit 0,9 multipliziert.

TEA erhöht die deinaktivierende Wirkung von Hyperpolarisation des Zellkörpers durch erhöhte Längskonstante. Dadurch hat der Strom eine niedrigere Reizschwelle (Llinas, 1984).

I_{HVA} (Kang & Kitai, 1993)

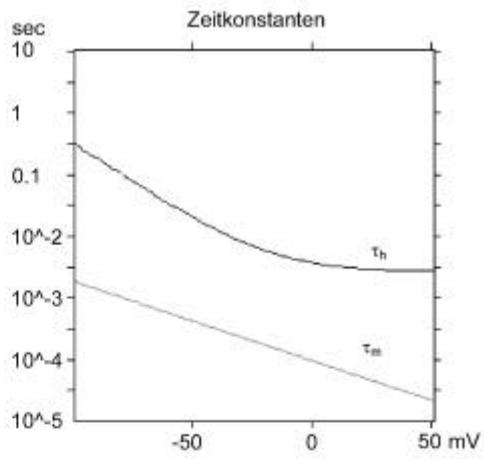
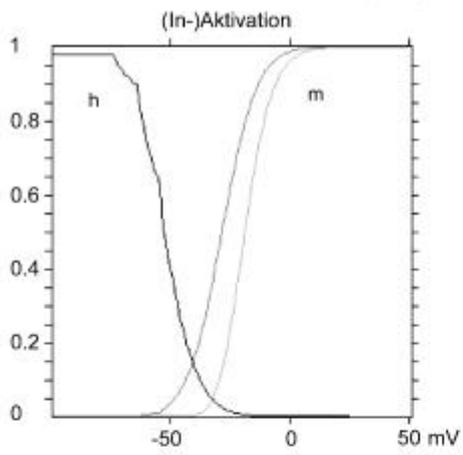
Die Daten stammen von Untersuchungen von Neuronen der Substantia nigra (n=68, Ganzzell-patch-clamp, in vitro, 25-30°C). Der I_{HVA} befindet sich auf entfernten Dendriten (vergleiche auch Llinas, 1984; Grace & Onn, 1988). Die Kanaldichte beträgt 0,13 S/m², die Leitfähigkeit g=7,8 nS. Das Umkehrpotential liegt bei V_{rev}=135 mV (berechnet aus Ca_{innen}=50 nM, Ca_{außen}=3 mM, 1 mM EGTA). Der I_{HVA} aktiviert bei -40 mV. Der Spitzenstrom (ca. 900 pA) liegt bei -10 bis 0 mV. Da für die Aktivierung keine Versuchsprotokolle vorliegen, wurde die Aktivations-Kurve des I_{pCa} von DeSchutter & Bower (1994) übernommen. Seine Inaktivierung ist stark spannungsabhängig (Kang & Kitai (1993), Fig. 7c, 8b). Die Inaktivations-Kurve wurde von Fig.8b bei Kang & Kitai (1993) hergeleitet. Die Zeitkonstanten wurden mit Hilfe des I_{pCa} geschätzt (20 bzw. 500 ms). Die Werte für die Gates wurden geschätzt, X wurde auf 2, Y und Z wurden auf 1 gesetzt.

Bei der Justierung der Parameter wurden folgende Änderungen vorgenommen: Da mit den geschätzten Zeitkonstanten keine I_{HVA}-Spikes produzierbar waren, wurden unter der Annahme, daß der I_{HVA}-Kanal einen zum Na⁺-Kanal analogen Kanal mit höherer Reizschwelle darstellt, die Zeitkonstanten des Na⁺-Kanals übernommen, wobei die Aktivationszeitkonstante mit dem Faktor 0,25 und die Inaktivationszeitkonstante mit dem Faktor 10 multipliziert wurde. Zusätzlich wurde die Ca²⁺-Zeitkonstante um 80 verlängert, damit der Spike nicht so schnell unterdrückt wird. Mit diesen Einstellungen war der I_{HVA} ständig aktiv und störte durch seine depolarisierende Wirkung die Membranoszillation. Da er gemäß der Literatur erst bei stärkerer Depolarisation aktiv wird, wurde die Aktivations-Kurve um 37 mV und die Inaktivations-Kurve um 22 mV in den depolarisierten Bereich verschoben.

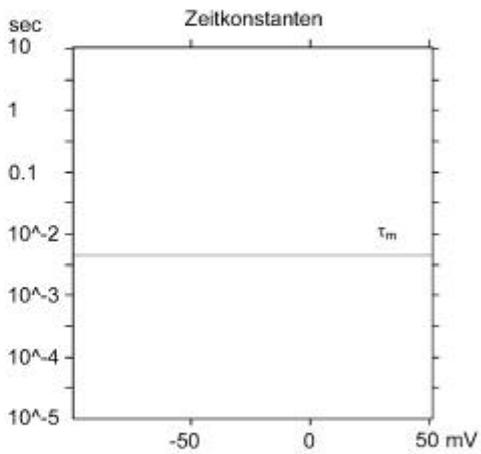
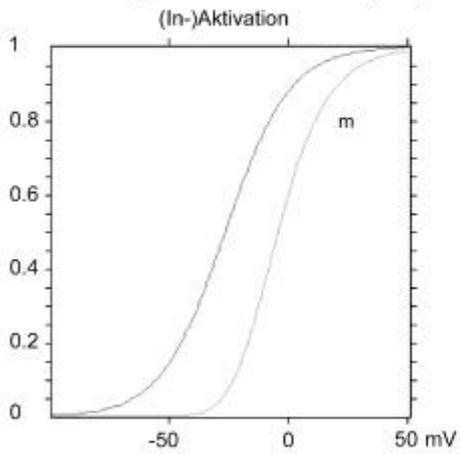
Der HVA befindet sich nach der Literatur (Llinas et al., 1984) auf den distalen Dendriten und erzeugt dort die Ca²⁺-Spikes. Doch in unserem Modell werden die

Membranpotentialveränderungen im Zellkörper, die bei der Oszillation auftreten, nicht in dem Ausmaß in die Enddendriten weitergeleitet, daß ein I_{HVA} -Spike ausgelöst werden kann. Oszillationen im Zellkörper, die gelegentlich I_{HVA} -Spikes auslösen sollten, bewirken auch bei unrealistisch großen Amplituden praktisch keine Oszillation in den distalen Anteilen, so daß das distale Membranpotential weit unter der I_{HVA} -Aktivierungsschwelle liegt. Deshalb wurde der I_{HVA} auch auf den Dendritenstamm gesetzt.

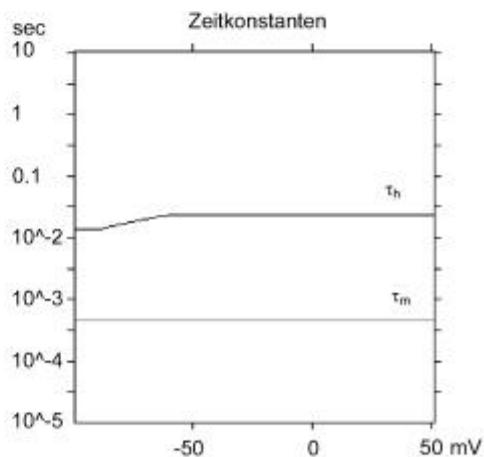
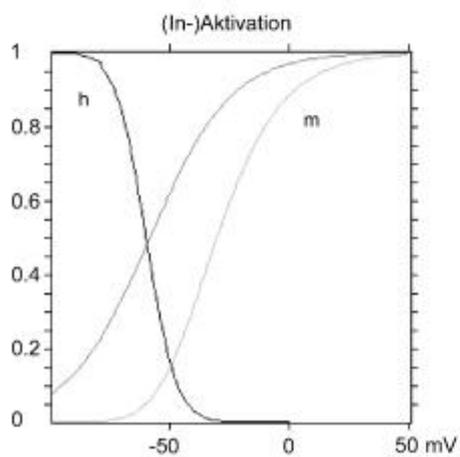
Schneller Na⁺-Strom (I_{Na})



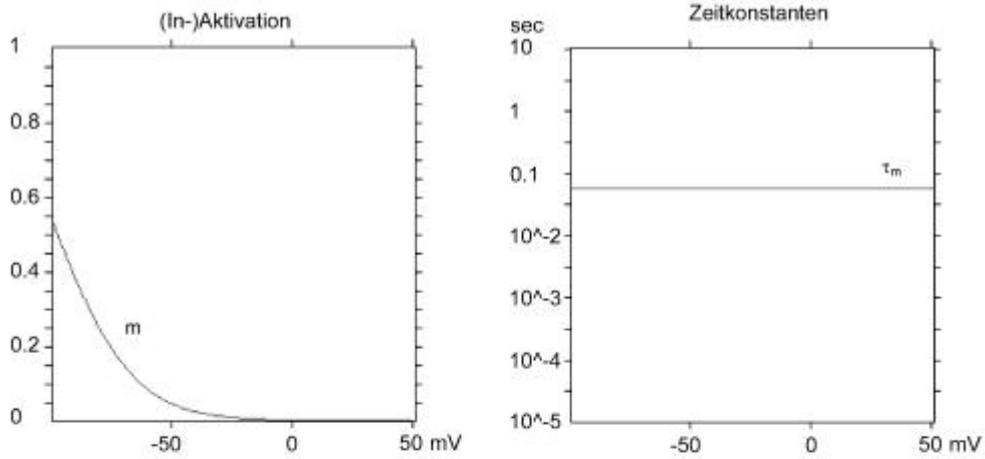
Verzögerter K⁺-Strom (I_{DR})



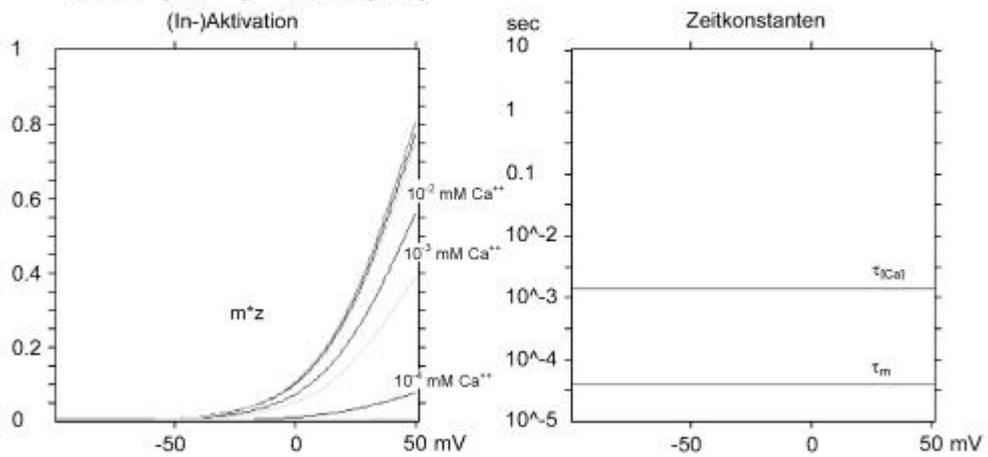
A-Strom (I_A)



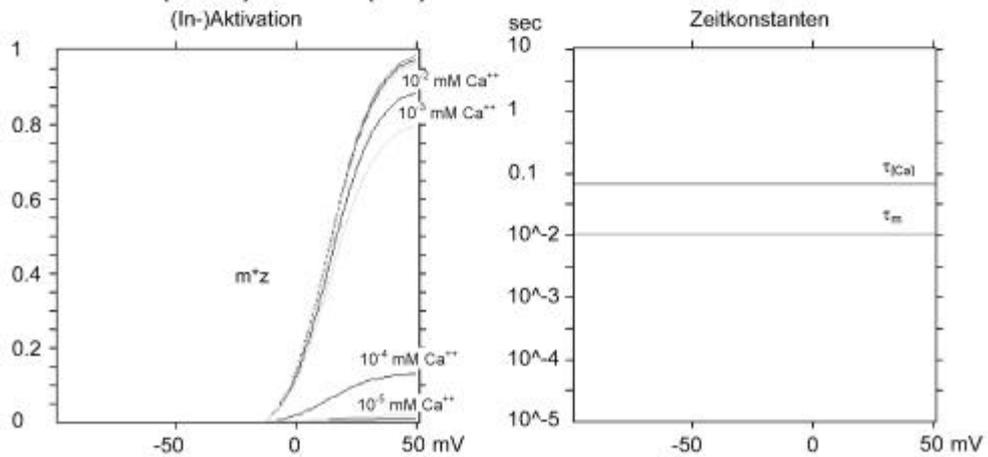
Anomaler Einwärts-Rektifizierer (I_{IR})



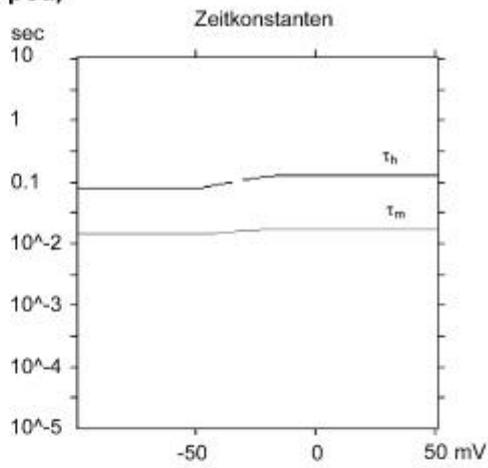
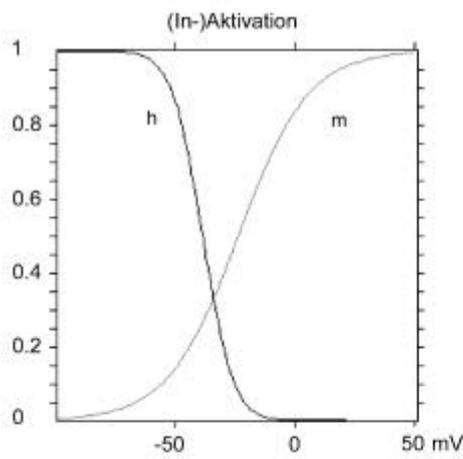
BK K⁺(Ca²⁺) -Strom (I_{BK})



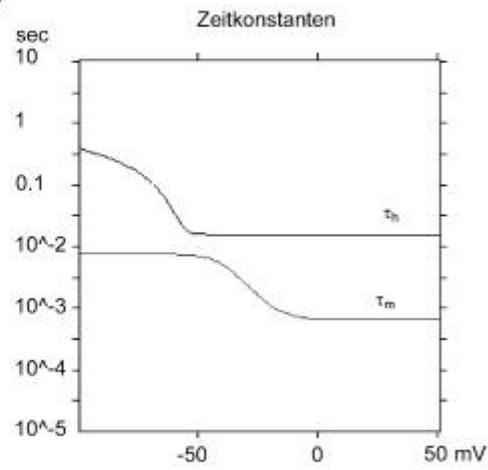
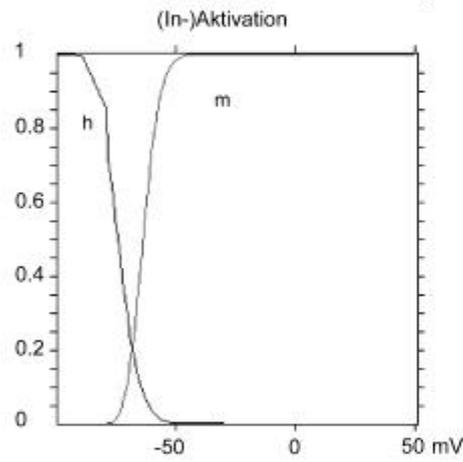
SK K⁺(Ca²⁺) -Strom (I_{SK})



Persistierender Ca⁺⁺ -Strom (I_{pCa})



Transienter Ca⁺⁺ -Strom (I_{tCa})



HVA Ca⁺⁺ -Strom (I_{HVA})

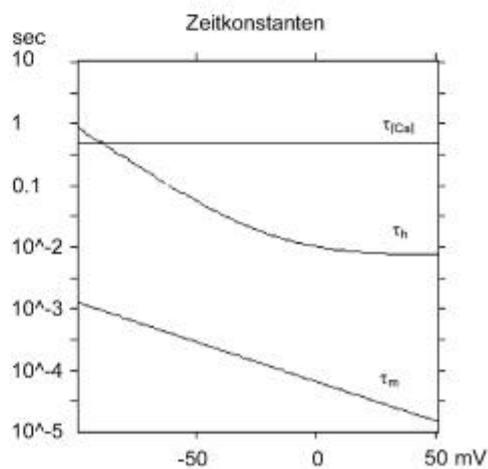
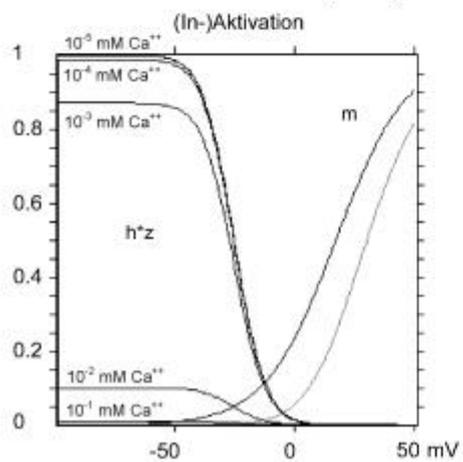


Fig. 15. Aktivations- und Inaktivierungseigenschaften der Ionenleitfähigkeiten in unserem Neuronmodell. Für jede Leitfähigkeit sind links die Steady-state-Werte für Aktivierung und Inaktivierung in Abhängigkeit zum Membranpotential dargestellt, und rechts die Zeitkonstanten für Aktivierung und Inaktivierung. Dort wo bei der Aktivierung zwei Kurven gezeigt sind, entspricht die flachere Kurve dem x und die steilere Kurve dem x^n (siehe Gleichung 7), wobei n die Anzahl der Gates repräsentiert. Die mit m^*z und h^*z bezeichneten Kurven zeigen die Ca^{++} -Abhängigkeit der Aktivations- bzw. Inaktivierungsgates.

Kompartiment	Strom	Abkürz.	G_K (S/m ²)	E_K (mV)	Referenz
Zellkörper	Schneller Na ⁺	I_{Na}	180	+45	Ogata und Tatebayashi, 1992
	Verzögerter K ⁺ -Strom	I_{DR}	2	-85	Silva et al., 1990
	A-Strom	I_A	13	-85	Silva et al., 1990
	Anomaler Einwärts-Rektifizierer	I_{IR}	5	-30	Silva et al., 1990
Dendritenstämme	A-Strom	I_A	13	-85	Silva et al., 1990
	Persistierender Ca ⁺⁺	I_{pCa}	1,4	+135	Kang und Kitai, 1993
	Transienter Ca ⁺⁺	I_{tCa}	0/20	+135	Kang und Kitai, 1993
	HVA Ca ⁺⁺	I_{HVA}	57	+135	Kang und Kitai, 1993
	SK K ⁺ (Ca ⁺⁺)	I_{SK}	500	-85	Silva et al., 1990
	BK K ⁺ (Ca ⁺⁺)	I_{BK}	2	-85	Silva et al., 1990
Distale Dendriten	HVA Ca ⁺⁺	I_{HVA}	60	+135	Kang und Kitai, 1993
	SK K ⁺ (Ca ⁺⁺)	I_{SK}	500	-85	Silva et al., 1990
	BK K ⁺ (Ca ⁺⁺)	I_{BK}	2	-85	Silva et al., 1990

Tabelle 7. Leitfähigkeiten in unserem Neuronmodell.

Simulation des elektrophysiologischen Verhaltens eines dopaminergen Neurons der Ratte im Stromklemme-Experiment

Unter Verwendung der experimentell abgeleiteten Daten zu den Membranströmen und der Morphologie dopaminergener Neurone wurde das vereinfachte Neuronmodell mit der Simulationssoftware GENESIS implementiert. Die Festlegung der freien Parameter (maximale Leitfähigkeiten, Spannungsabhängigkeit der Zeitkonstanten, Kalziumabhängigkeit einiger Membranströme) erfolgte im Vergleich mit Stromklemmenexperimenten, in denen verschiedene Ströme isoliert dargestellt werden konnten. Besonders hilfreich waren dabei die detaillierten Beschreibungen von Kang & Kitai (1993). Im weiteren stellen wir für eine Reihe von Versuchen das Verhalten des Modellneurons den experimentellen Befunden gegenüber.

Zunächst zeigte das vereinfachte Neuronmodell eine spontane Oszillation des Membranpotentials, die die für Compacta-Neurone *in vitro* charakteristischen Eigenschaften aufweist: die Oszillationsfrequenz ist abhängig vom Haltepotential der Zelle, aber unabhängig von der Aktivität TTX-sensitiver Na^+ -Kanäle. Dies wurde experimentell durch Variation des Haltepotentials und durch pharmakologische Beeinflussung der Na^+ -Kanäle gezeigt (Kang & Kitai, 1993) und ließ sich im Modell durch entsprechende Variation der injizierten Ströme und der Leitfähigkeit des I_{Na} bestätigen. Der I_{Na} scheidet damit als Ursache des langsam depolarisierenden Schrittmacherpotentials (pacemaker-like slow depolarization = PLSD) aus.

Ähnliches gilt für die Beteiligung TEA-sensitiver Kaliumströme. Im Experiment (Kang & Kitai, 1993) wie im Modell blieb das PLSD auch nach Ausschaltung der entsprechenden Ströme (I_{DR} , I_{BK}) vorhanden. Hier war eine deutliche Abhängigkeit sowohl der Oszillationsfrequenz als auch der Oszillationsamplitude vom Haltepotential zu erkennen. (siehe unten).

Weitere Kandidaten für die Erzeugung des PLSD sind Kalziumströme mit relativ niedriger Aktivierungsschwelle. Von den drei beschriebenen Kalziumströmen (I_{pCa} , I_{tCa} , I_{HVA}) besitzen die ersten beiden diese Eigenschaft. Die Zeit- und Spannungsabhängigkeiten des I_{pCa} und des I_{tCa} sind wiederum sehr unterschiedlich, was auch deren Differenzierung erlaubt (siehe unten). Darüber hinaus scheint der I_{tCa} nur in einer Untergruppe von Compacta-Neuronen vorhanden zu sein, während das PLSD in allen Neuronen zu finden ist (Kang & Kitai, 1993). Daher kann der I_{tCa} nicht die alleinige Ursache des PLSD darstellen. Tatsächlich eliminiert die Blockade des I_{pCa} (zusätzlich zu den TTX- und TEA-sensitiven Strömen) das PLSD, unterbindet aber

nicht die Einwärtsrektifizierung und die Aktionspotentiale mit niedriger Aktivierungsschwelle (Kang & Kitai, 1993).

Veränderung der Parameter des I_{pCa} beeinflusste die depolarisierende und hyperpolarisierende Phase der Oszillation wie im Kapitel „Charakteristische Merkmale der Leitfähigkeiten“ beschrieben.

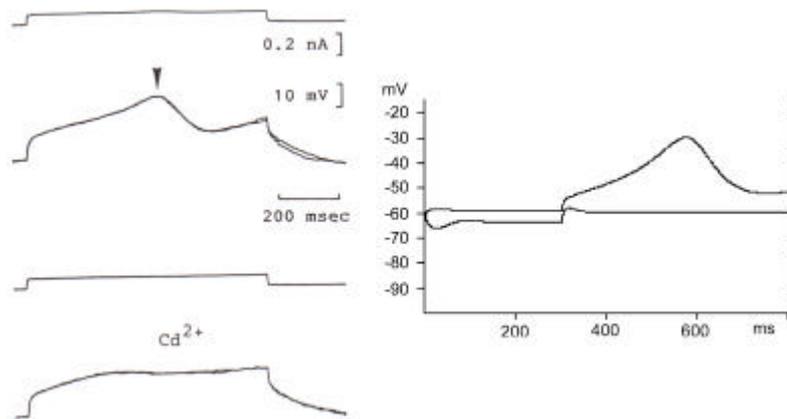
Insgesamt kann die rhythmische Aktivität von Compacta-Neuronen durch die Charakteristiken des I_{pCa} -Stromes erklärt werden (Kang & Kitai, 1993).

Um den spezifischen Beitrag der verschiedenen Ströme besser zu verstehen, gingen wir - wie im Kapitel „Simulation von Stromklemmenexperimenten“ beschrieben – in der Simulation so vor, daß wir zuerst solche Versuche simulierten, bei welchen das Zusammenspiel von einzelnen Strömen untersucht werden konnte, während möglichst viele der anderen Kanäle blockiert wurden. Dies ist bei dem in Fig. 16 A dargestellten Versuch der Fall, bei welchem TTX und TEA als Blocker zugefügt wurden. Durch TTX werden die typischen Na^+ -Ströme ausgeschaltet, TEA blockiert einen Teil der K^+ -Ströme, nämlich den I_{DR} und den I_{BK} . Darüber hinaus sind I_{IR} und I_{tCa} in diesem Versuch funktionell inaktiviert, da sie stärker hyperpolarisiertere Membranpotentiale voraussetzen. Umgekehrt setzt die Aktivierung von I_{HVA} und I_{SK} weit stärkere Depolarisierung voraus. Daher dürfte nach derzeitigen Erkenntnissen nur noch die durch I_{pCa} verursachte Schrittmacher-ähnliche langsame Depolarisation (Kang & Kitai 1993) übrig bleiben. Experimentell wurde diese in einem zweiten Schritt durch Cd^{++} blockiert und ihr Verlauf aus der Differenz des Versuchs mit Cd^{++} bzw. ohne Cd^{++} abgeleitet. Wenn das PLSD weit überwiegend vom I_{pCa} getragen wird, läßt sich dieser Strom aus diesem Versuch weitgehend charakterisieren und für das Simulationsmodell justieren. Beispielsweise wird in Fig. 17 B die Steigungsrate der PLSD nach Blockade der TTX-sensitiven Na^+ -Ströme sichtbar gemacht. Wir konnten zeigen, daß in unserem Modell der Anstieg des PLSD die gleiche Charakteristik aufweist wie bei Kang & Kitai (1993): Die Anstiegszeit ist abhängig von der vorherigen Hyperpolarisation, während die Amplitude weitgehend unbeeinflusst bleibt.

Auch die in Fig. 20 und 16B gezeigten Versuche konnten wir zur Justierung des I_{pCa} verwenden, da bei diesen Versuchen durch Cadmium (Fig. 16) bzw. durch unterschiedliche

Hyperpolarisation (Fig.20) das PLSD selektiv blockiert wurde, so daß der Kurvenverlauf isoliert studiert werden kann.

A



B

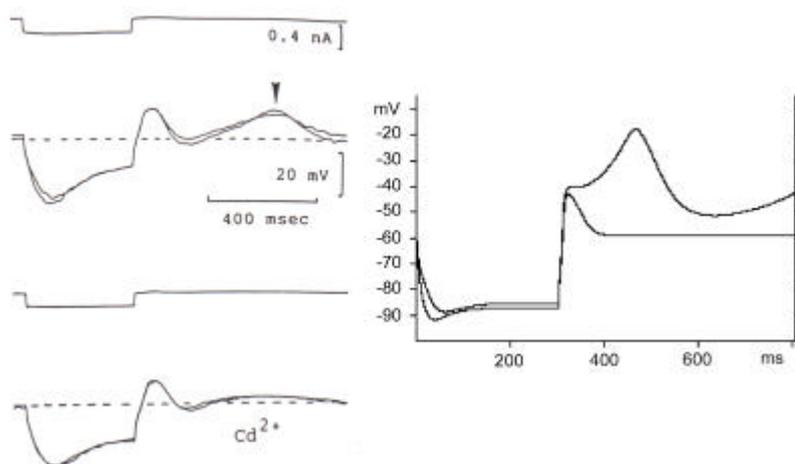


Fig. 16. Cadmium-Effekt auf I_{pCa} und I_{tCa} . Außer Reizschwelle und Zeitverlauf unterscheiden sich I_{pCa} und I_{tCa} weiterhin durch Cd^{++} -Sensibilität.

Links: Kang & Kitai (1993): TTX und TEA im Medium.

A: PLSD wird durch Cadmium selektiv blockiert. B: Entfernen von Hyperpolarisation erzeugt I_{tCa} gefolgt von PLSD. PLSD wird selektiv blockiert durch Cadmium ohne bedeutenden Effekt auf I_{tCa} (Haltepotential -58 mV).

Rechts:

Kanaldichte (nS/ μm^2):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	0	A	13	HVA	60
DR	0	tCa	3	Sk	500
A	13	pCa	1,4/0	Bk	0
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	0		

A: Simulation des Cadmium-Effekts unter TTX und TEA, dh. der I_{pCa} wurde auf Null gesetzt. (Strominjektion $-0,1$ nA zu $-0,02$ nA). B: PLSD wird selektiv unterdrückt, während der I_{Ca} noch vorhanden ist. (Strominjektion $-0,3$ nA, zu $-0,01$ nA).

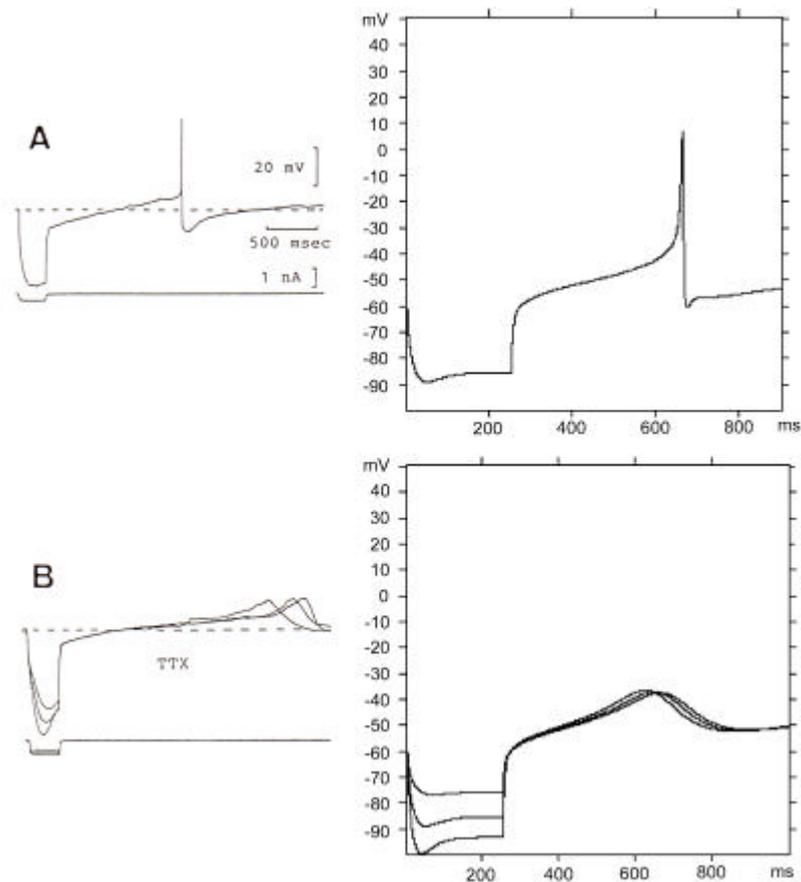


Fig. 17. Steigungsrate des PLSD.

Links: Kang & Kitai (1993):

A: Aktionspotential getriggert durch Entfernen eines hyperpolarisierenden Stromes (Haltepotential bei -55 mV). B: Zugabe von TTX blockiert den Na⁺-Kanal, aber das PLSD bleibt erhalten (Haltepotential bei -55 mV).

Rechts:

Kanaldichte (nS/μm ²):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	180/0	A	13	HVA	60
DR	2	tCa	0	Sk	500
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	2		

A: Bei Ende der Hyperpolarisation wird das PLSD ausgelöst, von dem ein Spike ausgelöst wird (Strominjektion -0,3 nA, Haltepotential -0,028 nA). B: Wenn I_{Na} blockiert ist, bleibt PLSD übrig. (Strominjektion -0,2, -0,3, -0,4 nA, Haltepotential -0,028 nA). Seine Anstiegszeit ist von der Hyperpolarisation abhängig.

Die Form der vom I_{pCa} ausgelösten Spontanzillation wird durch den anomalen einwärtsrektifizierenden Strom I_A beeinflusst. Um I_{pCa} und I_A aufeinander abzustimmen, simulierten wir die in Fig. 18 dargestellten Versuche, in denen durch TTX der schnelle Na⁺-Kanal, aber nicht die TEA-sensitiven K⁺-Ströme blockiert wurden, und die Membranzillation in Abhängigkeit vom Haltepotential untersucht wurde. Wie bei Kang & Kitai (1993) sind auch in unserem Modell die Oszillationsfrequenz und die Oszillationsamplitude vom Membranpotential abhängig. Mit zunehmender Depolarisation wird die Frequenz größer (von 2,3 über 2,7 zu 2,8 Hz) und die Amplitude kleiner (von 13 mV über 11 mV zu 10 mV). Bei -40 mV sistiert die Oszillation (Kang & Kitai 1993: -37 mV). Mit zunehmender Hyperpolarisation nehmen die Frequenz ab und die Amplitude zu, bis die Oszillation bei -50 mV (bei Kang & Kitai (1993) -58 mV) ganz verschwindet. Kurz vor Verschwinden der Oszillationen nimmt die Amplitude wieder ab, während sie nach Kang & Kitai (1993) abrupt verschwindet. Dies stellt keinen Widerspruch dar, da nicht ausgeschlossen werden kann, daß die von Kang & Kitai (1993) gemessene Amplitude bei starker Hyperpolarisation ebenfalls kleiner wird). Bei starker Hyperpolarisation erkennt man das bei Kang & Kitai (1993) dargestellte „Sägezahnmuster“, das heißt einen langen Anstieg gefolgt von einem kurzen Abfall der Depolarisation.

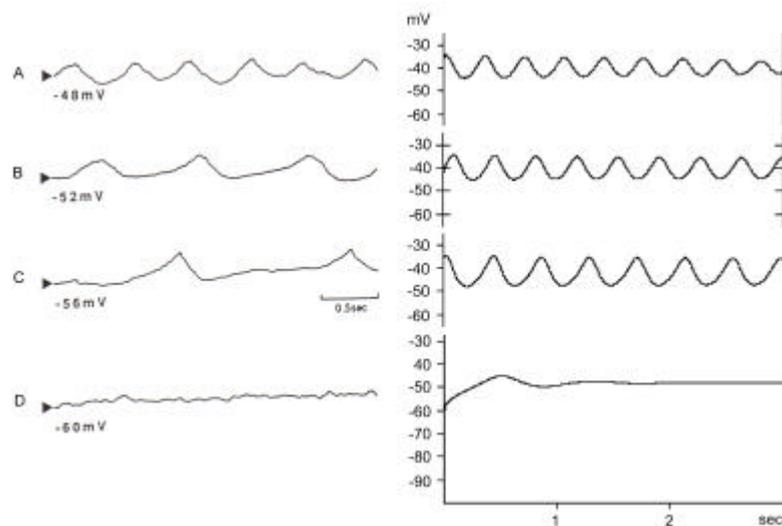


Fig. 18. Membranpotential-Oszillation in Gegenwart von TTX

Links: Kang & Kitai (1993):

A - D: Die Oszillationsfrequenzen steigen mit zunehmend depolarisierteren Haltepotentialen und die Oszillationsamplitude steigt mit Membranhyperpolarisation.

Rechts:

Kanaldichte (nS/ μm^2):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	0	A	13	HVA	60
DR	2	tCa	0	Sk	500
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	2		

A-D: Die Oszillationen wurden unter Ausschaltung des Na^+ -Kanals untersucht. Ohne Strominjektion oszilliert das Membranpotential zwischen -35 und -45 mV mit einer Frequenz von 2,8 Hz, welche im Bereich der gemessenen Werte von 1,6 bis 3,5 Hz liegt. Die Amplitude liegt mit 10 mV ebenfalls in realistischem Bereich (8-12 mV)(B). Sowohl die Frequenz als auch die Amplitude der Oszillation sind membranpotentialabhängig. Mit steigender Depolarisation wird die Frequenz größer und die Amplitude kleiner. Bei -40 mV sistiert die Oszillation (bei Kang & Kitai (1993) bei -37 mV). Bei steigender Hyperpolarisation wird die Frequenz kleiner und die Amplitude größer, bis die Oszillation bei -50 mV (bei Kang & Kitai (1993) -58 mV) ganz verschwindet. (Strominjektionen von 0.003 nA, 0 nA, -0,01 nA, -0,03 nA). Bevor die Größe der Hyperpolarisation erreicht ist, bei der die Oszillation verschwindet, nimmt die Amplitude wieder ab.

Die durch den I_{pCa} hervorgerufene Schrittmacher-ähnliche Depolarisation kann sowohl somatische durch Na^+ getragene Aktionspotentiale, als auch hochschwellige dendritische Kalziumspikes auslösen. Für die Depolarisation der Na^+ -Aktionspotentiale ist der Na^+ -Kanal verantwortlich, während für den Abfall und die Nachhyperpolarisation der I_{DR} zuständig ist.

Der Kalziumeinstrom durch I_{pCa} und I_{HVA} dagegen aktiviert einen schnellen Apamin-insensitiven (I_{BK}) und einen langsamen Apamin-sensitiven (I_{SK}) Kalzium-abhängigen K^+ -Strom, welche die den Aktionspotentialen folgende Nachhyperpolarisation bilden.

Nachdem wir die bei der Membranoszillation zusammenwirkenden Ströme justiert hatten, modellierten wir den Na^+ -Strom in unserem Modell. Dabei benutzen wir den in Fig. 19 dargestellten Versuch, bei dem das spontane rhythmische Aktivitätsmuster in Abhängigkeit vom Haltepotential ohne Zusatz von Kanalblockern untersucht wurde. Ohne Strominjektion zeigt das Modellneuron ein rhythmisches Aktivitätsmuster mit einer Frequenz von 4 Hz, die in dem Bereich der von Kang & Kitai (1993) gemessenen Frequenzen liegt (2-5 Hz). Bei Hyperpolarisation nimmt die Frequenz ab. Diese Abnahme der Frequenz wird dadurch verursacht, daß die Frequenz der den Aktionspotentialen zugrundeliegenden Oszillation bei Hyperpolarisation durch eine verlangsamte Anstiegsrate des PLSD abnimmt.

Auch in dem in Fig. 17A dargestellten Versuch kann man den langsamen Anstieg des PLSD und das dadurch getriggerte Na^+ -Aktionspotential erkennen.

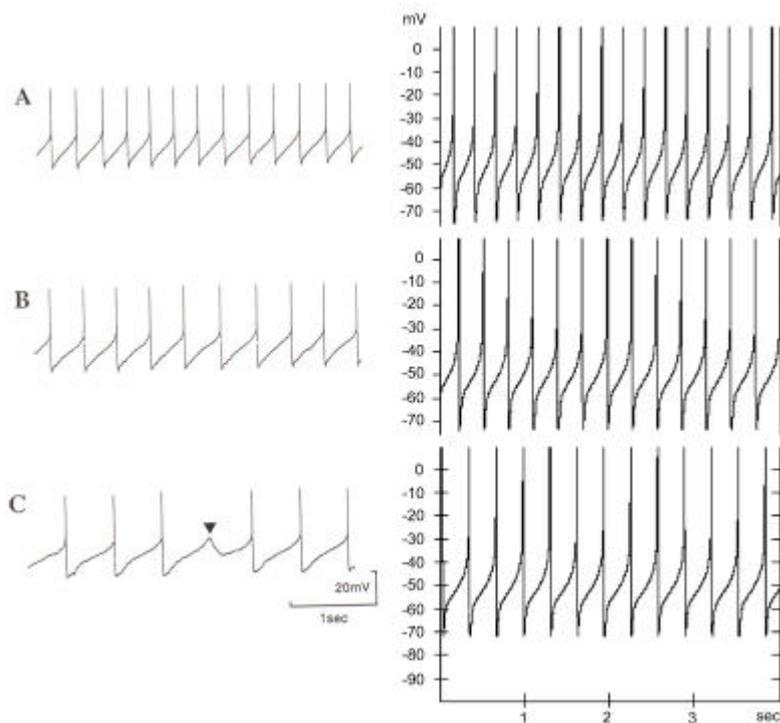


Fig. 19. Rhythmisches Aktivitätsmuster

Links: Kang & Kitai (1993):

A: Ohne Strominjektion. B: Bei Injektion eines hyperpolarisierenden Stromes von $-0,05$ nA nehmen Frequenz und die Anstiegsrate des PLSD (pacemaker-like slow depolarization) ab. C: Bei Injektion eines hyperpolarisierenden Stroms von $-0,12$ nA nehmen die Frequenz und die Anstiegsrate des PLSD weiter ab.

Rechts:

Kanaldichte ($\text{nS}/\mu\text{m}^2$):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	180	A	13	HVA	60
DR	2	tCa	0	Sk	500
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	2		

A: Ohne Strominjektion zeigt das Modellneuron ein rhythmisches Aktivitätsmuster mit einer Frequenz von 4 Hz, die in dem Bereich der von Kang & Kitai (1993) gemessenen Frequenzen liegt (2-5 Hz). B: Bei Hyperpolarisation (Strominjektion $-0,008$ nA) nehmen die Frequenz und die Anstiegsrate des PLSD ab. C: Bei weiterer Hyperpolarisation (Strominjektion $-0,012$ nA) werden die Frequenz und die Anstiegsrate des PLSD weiter erniedrigt.

Den bis dahin nicht berücksichtigten I_{Ca} justierten wir danach mit Hilfe der in Fig. 20 und 16B dargestellten Versuche, in denen Kang & Kitai die Unterschiede zwischen I_{pCa} und I_{Ca} charakterisierten. I_{pCa} und I_{Ca} unterscheiden sich in Aktivierungsschwelle und Zeitverlauf. Bei dem in Fig. 20 dargestellten Versuch wurden die unterschiedlichen Aktivierungsschwellen des I_{Ca} und des I_{pCa} untersucht. Bei depolarisierterem Membranpotential wird nur der I_{pCa} aktiviert, weil er eine höhere Schwelle für die Inaktivierung hat. Bei weniger depolarisiertem Potential werden beide, I_{pCa} und I_{Ca} , aktiviert, wobei der I_{Ca} schneller aktiviert und sehr viel schneller inaktiviert wird. Bei weiterer Reduktion des Haltepotentials wird schließlich nur noch der I_{Ca} ausgelöst.

Außer Reizschwelle und Zeitverlauf unterscheiden sich I_{pCa} und I_{Ca} weiterhin in ihrer Cadmium-Sensibilität. Durch Cadmium wird die PLSD selektiv unterdrückt, während der I_{Ca} noch vorhanden ist (Fig. 16).

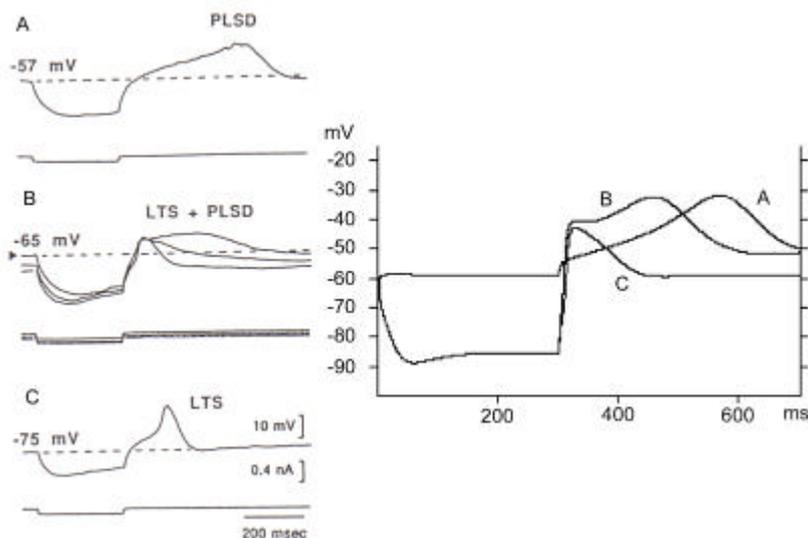


Fig. 20. Unterschiede in den Schwellen und Zeitverläufen zwischen I_{pCa} und I_{Ca} .

Links: Kang & Kitai (1993): Ableitungen mit TTX im Medium. Auswirkung von hyperpolarisierenden Stromimpulsen auf die Erzeugung von I_{pCa} and I_{Ca} .

A: bei einem Haltepotential von -57 mV wurde nur der I_{pCa} gesehen. B: bei -65 mV wurden sowohl I_{pCa} als auch I_{Ca} gesehen. C: bei -75 mV wurden nur der I_{Ca} gesehen.

Rechts:

Kanaldichte (nS/ μm^2):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	0	A	13	HVA	60
DR	2	tCa	3	Sk	500
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	2		

A: I_{pCa} und I_{Ca} unterscheiden sich in Reizschwelle und Zeitverlauf. Bei depolarisierterem Membranpotential wird nur der I_{pCa} aktiviert, weil er eine höhere Schwelle für die Inaktivierung hat (Strominjektion $-0,3$ nA, Haltepotential $-0,022$ nA). B: Bei weniger depolarisiertem Potential werden beide, I_{pCa} und I_{Ca} , aktiviert, wobei der I_{Ca} zuerst aktiviert und viel schneller inaktiviert wird. Es wurde mit $-0,3$ nA hyperpolarisiert. Haltepotential $-0,022$ nA. C: Bei Reduktion des Haltepotentials auf $-0,1$ nA wird nur noch der I_{Ca} ausgelöst. (Strominjektion $-0,3$ nA)

Da Kang & Kitai (1993) nur in etwa der Hälfte der untersuchten Neurone den I_{Ca} nachweisen konnten, erstellten wir eine Variante des Neuronmodells mit erhöhter Leitfähigkeit des I_{Ca} , mit welcher wir den in Fig. 21 gezeigten Versuch simulieren konnten, wo durch Hyperpolarisation der I_{Ca} im rhythmischen Aktivitätsmuster sichtbar gemacht werden konnte.

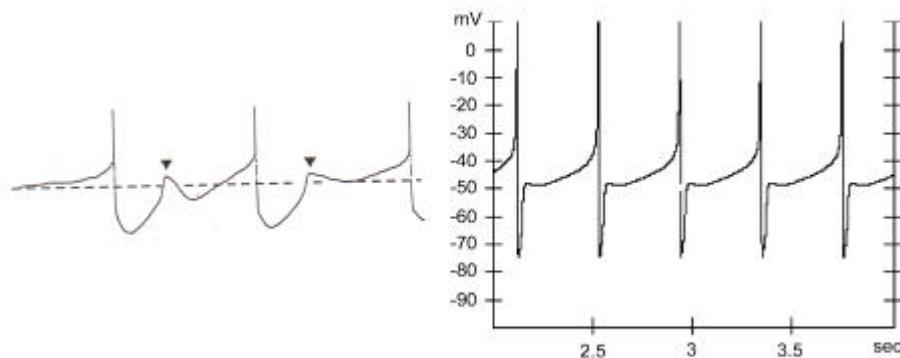


Fig. 21. Neurone mit I_{Ca} .

Links: Kang & Kitai (1993): Bei Kang und Kitai (1993) weisen nur 24 von 56 Neuronen einen I_{Ca} auf. Hyperpolarisation verdeutlicht den I_{Ca} (siehe Pfeile).

Rechts:

Kanaldichte (nS/ μm^2):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	250	A	13	HVA	60
DR	2	tCa	20	Sk	500
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	57		
		Sk	500		
		Bk	2		

Um den I_{Ca} bei der Hyperpolarisation deutlicher hervortreten zu lassen, wurde eine Variante des Modellneurons mit vergrößerten Leitfähigkeiten von I_{Na} und I_{Ca} erstellt (Strominjektion – 0,03 nA). Man erkennt die schnelle Depolarisation, die durch die Inaktivierung des I_{Ca} unterbrochen wird.

Zusammenfassung

Das vorliegende Modell basiert auf typischer Morphologie, typischen passiven Membraneigenschaften und Ionenströmen von dopaminergen Neuronen und zeigte im Detail eine Vielfalt von experimentellen Antworten auf Strominjektionen. Die spezifischen Eigenschaften eines langsam inaktivierenden Ca^{++} -Stromes (I_{pCa}) können die Erzeugung von rhythmischer Aktivität in dopaminergen Neuronen erklären, welche durch fünf K^+ -Ströme modifiziert wird und möglicherweise Na^+ - und K^+ -Spikes auslöst. Die Simulation von Strominjektionsdaten erfordert mindestens zwei Parameter-Sets, um darzustellen, daß in einer Untergruppe von Neuronen ein langsamer Ca^{++} -Strom (I_{Ca}) vorhanden ist.

Effekte der Zellgröße auf Aktivitätsmuster von simulierten Compacta-Neuronen

Wie im vorherigen Kapitel gezeigt, zeigt das Modellneuron in Abwesenheit von depolarisierender Strominjektion Spontanaktivität auf und erzeugt Aktionspotentiale in einem regulären Schrittmacherrhythmus, wie er für dopaminerge Neurone der Ratte *in vitro* typisch ist (z.B. Grace, 1991; Cardozo, 1993) (Fig. 22, oben). Um unsere Morphologie-Analyse (siehe Teil 1) weiterzuführen, untersuchten wir die Effekte von neuronaler Skalierung auf die Aktivitätsmuster dieses Neuronmodells.

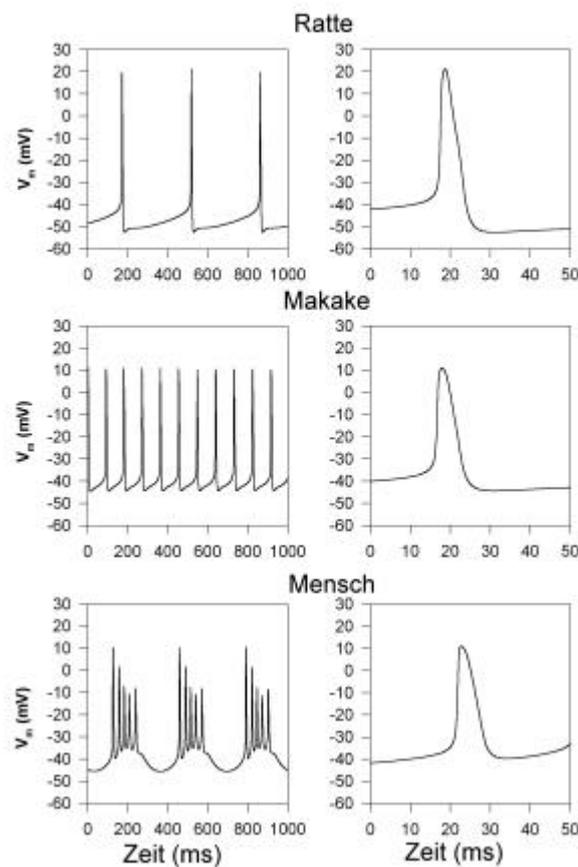


Fig. 22. Ein Modell von dopaminergen Neuronen der Ratte mit aktiven Membraneigenschaften zeigt das typische schrittmacherähnliche Aktivitätsmuster (oben). Isometrische Skalierung dieses Modellneurons gemäß der experimentell beobachteten Ausmaße von dopaminergen Neuronen von Makaken und Menschen beschleunigt die Aktivitätsrate (Mitte links) bzw. führt zu einem Auftreten von Bursts (unten links). Im Modell erscheint die Dauer der Aktionspotentiale unverändert, aber die Nachhyperpolarisation ist mit steigender Größe des Modellneurons schwächer und der

Steigungsfaktor des langsamen schrittmacherähnlichen Depolarisationspotential erscheint früher (rechte Spalte).

Dazu skalierten wir die Dendritenmaße des Modellneurons gemäß der oben hergeleiteten isometrischen Skalierungsfaktoren $s_{\text{Mensch/Makake}}$ und $s_{\text{Mensch/Ratte}}$, und die Zellkörper gemäß $\tilde{\sigma}$ (auf gleiche Weise wie für die Berechnungen des Eingangswiderstandes) und ließen alle anderen Parameter unverändert. Die durchschnittlichen Frequenzen des regulären Aktivitätsmusters steigen mit der Größe des Modellneurons von 3,1 Hz (Ratte) auf 4,5 Hz (Makake) und 4,9 Hz (Mensch) (siehe Fig. 22, links). Wenn die neuronale Größe die Makakenwerte überschreitet, wird der Frequenzanstieg begleitet von Burst-ähnlichen Aktivitätsmustern. Die Dauer der Aktionspotentiale zeigt keine offensichtliche Veränderung (Fig. 22, rechts). Dagegen ist die Nachhyperpolarisation schwächer und der Anstieg des langsamen Schrittmacher-ähnlichen depolarisierenden Potentials tritt früher auf, wenn die Größe des Modellneurons ansteigt.

Wenn das Dendritenmodell der Ratte isoelektrotonisch skaliert wird (wobei der Zellkörper bei uns immer mit $\tilde{\sigma}$ skaliert wurde), gibt es zwei Arten, auf welche dies getan werden soll, um die Effekte zu jenen der isometrischen Skalierung zu vergleichen: Wenn die Durchmesser realistisch skaliert werden, dann enden die Längen der Dendritensegmente bei dem Faktor von $\tilde{\sigma}$ zu kurz. Im zweiten Fall werden die Längen zu korrekten Werten skaliert, aber die Durchmesser steigen mit dem Faktor s viel zu stark an. Wenn isoelektrotonische Skalierung die Aktivitätsmuster nicht beeinflusst, dann sollten beide Arten von Skalierung die gleichen Aktivitätsmuster hervorbringen, und dem in Fig. 23 (oben links) gezeigten Aktivitätsmuster vor der Skalierung ähneln. Aber im Gegenteil haben die zwei Arten der Skalierung deutlich unterschiedliche Effekte: Die erstere erhöht die Frequenz (Fig. 23, oben links und Mitte links), während letztere die Spontanaktivität zerstört (Fig. 23, oben rechts und Mitte rechts). Der Grund für diesen Unterschied zwischen isoelektronischer Skalierung zu korrekten Durchmessern im Gegensatz zur Skalierung zu korrekten Längen ist einfach: Da alle vier Modelle nach demselben Prinzip skaliert wurden, unterscheiden sie sich nur im Grad des Größenanstieges ausgehend vom originalen Neuronmodell der Ratte, d.h. in der Ordnung: Rattenmodell < Makaken (korrekte Durchmesser) < Mensch (korrekte Durchmesser) < Makaken (korrekte Längen) < Mensch (korrekte Längen). Eine ansteigende isoelektrotonische Abweichung vom originalen Modell – wenn schwach – erhöht die Aktivitätsrate aber - wenn stärker – unterbricht die Spontanaktivität als Ergebnis von verringerter Wirksamkeit des persistenten Kalziumstromes, der in den proximalen Dendriten vorhanden ist, so daß keine Aktionspotentiale mehr erzeugt werden.

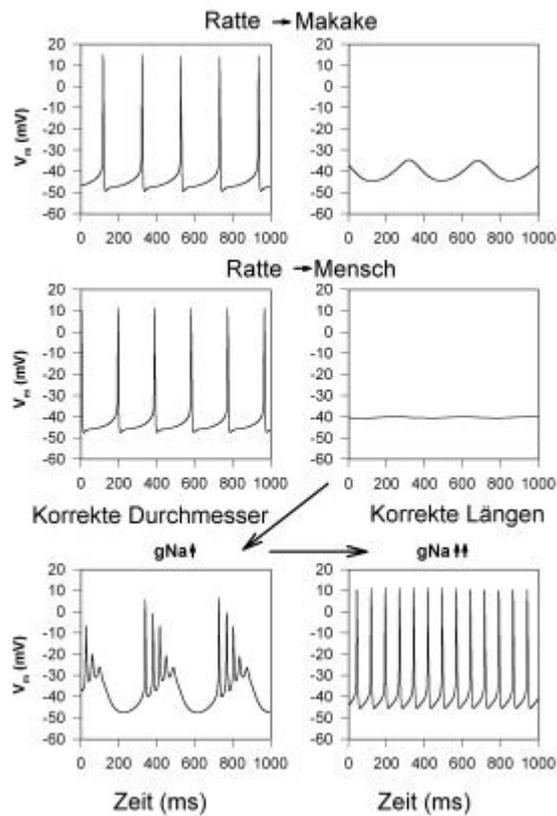


Fig. 23. Isoelektrotonische Skalierung des aktiven Membranmodells eines dopaminergen Neurons der Ratte garantiert kein identisches intrinsisches elektrophysiologisches Verhalten: Geringes isoelektrotonisches Wachstum, bei welchem die Durchmesser von dopaminergen Neuronen von Makaken und Menschen richtig berechnet werden, aber die Dendriten zu kurz berechnet werden, beschleunigt die schrittmacherähnliche Aktivität auf 4,9 (oben links) bzw. 5,1 Hz (Mitte links). Größere Ausmaße von Wachstum, mit denen korrekte dendritische Längen erreicht werden, dafür aber die Durchmesser viel zu große Durchmesser bekommen, zerstören die Spikeaktivität (oben rechts) und vermindern unter-schwellige Oszillationen (Mitte rechts). Wie im letzten Fall gezeigt, können die Spikeaktivität wiederhergestellt und verschiedene Muster erhalten werden, indem sukzessiv der schnelle somatische Na^+ -Strom erhöht wird (unten).

Eine Erhöhung der Dichte von somatischer Na^+ -Leitfähigkeit mit einem Faktor von 2,5 ergibt ein Burst-Muster mit abnehmender Spikeamplitude (Fig. 22, unten links). Eine weitere Erhöhung somatischer Na^+ -Leitfähigkeit auf das dreifache des Standardwertes stellt das reguläre Aktivitätsmuster wieder her, allerdings mit einer stark erhöhten Frequenz von 13 Hz. Desweiteren entdecken wir, daß eine einfache Depolarisation des Modellneurons nicht ausreicht, um diesen Effekt

als Ergebnis von komplexen Zeit- und Spannungs-abhängigen Interaktionen zwischen Ca^{++} - und K^+ -Strömen (nicht gezeigt) zu erzeugen.

Zusammenfassend beeinflussen kleine Änderungen der Größe realistischer dopaminergere Neuronmodelle Frequenz, aber nicht das Aktivitätsmuster, während große Änderungen – gleichgültig, ob die Skalierung isometrisch oder isoelektrotonisch ist – die Aktionspotentiale verändern oder zerstören, und zwar auf Arten, die schwer vorhersehbar sind. Wegen der komplexen Interaktionen zwischen Na^+ -, Ca^{++} -, und einigen K^+ -Strömen ist es noch längst nicht offensichtlich, wie die Konstanz von Aktivitätsmustern gewährleistet wird, wenn metrische Ausmaße der Neurone in dem Ausmaß variieren, wie es zwischen Ratten, Makaken und Menschen beobachtet wird.

Mechanismen der Burstaktivität in dopaminergen Neuronen

Neben rhythmischer Aktivität zeigen dopaminerge Neurone Burst-Aktivität in vivo (Grace & Bunney, 1984) und während NMDA(N-Methyl-D-Aspartat)-Stimulation auch in vitro (Johnson et al., 1992). NMDA-induzierte Burst-Aktivität wurde mit Hilfe eines Zwei-Kompartiment-Modells simuliert, dessen dendritisches Kompartiment eine langsame (0,5 Hz) Oszillation generierte, während das Soma Aktionspotentiale produzierte (Li et al., 1996). Da der I_{Ca} auf den proximalen Dendriten lokalisiert ist und langsame Oszillationen erzeugt, untersuchten wir seine mögliche Beteiligung an der Burst-Aktivität. Das vorliegende Modell produzierte zwei verschiedene Arten von Bursts.

A: Schnelle Oszillationen mit Schrittmacher-Frequenz mit Burst-Aktivität, welche durch sukzessive Erhöhung der Membranoberfläche hervorgerufen wird, während alle anderen Parameter konstant gehalten werden (siehe Kapitel „Effekte der Größe auf Aktivitätsmuster von simulierten Compacta-Neuronen“). Die größere Membranoberfläche repräsentiert die Größe der dopaminergen Neurone bei Makaken, und Primaten (Kötter & Feizelmeier, 1996) (siehe Figg. 22, 23 im Abschnitt Effekte der Zellgröße auf Aktivitätsmuster von simulierten Compacta-Neuronen). Bei uns entstanden die Bursts durch solche Skalierung, bei der der Dendritenbaum mit einem Skalierungsfaktor s vergrößert wurde, während der Zellkörper mit \sqrt{s} skaliert wurde.

B: Langsame Oszillationen mit Burst-Aktivität:

In der Literatur werden verschiedene Arten von Bursts beschrieben: In vivo auftretende Bursts und NMDA-induzierte Bursts in vitro. Die in vivo auftretenden Bursts wurden z. B. von Grace et al. (1984) beschrieben. Sie zeigten durch intrazelluläre in vivo Ableitungen, daß die Bursts auf einer

Depolarisationswelle sitzen, wobei bei aufeinanderfolgenden Spikes (2 bis 10) innerhalb eines Bursts die Amplitude abnimmt (die Reduktion der Spikeshöhe innerhalb eines Bursts kommt möglicherweise durch die Ca^{++} -induzierte Inaktivierung einer Ca^{++} -Leitfähigkeit zustande) und die Spikedauer und das Intervall zwischen den Spikes zunehmen. Durch intrazelluläre Ca^{++} -Injektion kann die Burstaktivität erhöht werden, während sie durch den Kalziumpuffer EGTA (ethylene glycol-bis (β -aminoethylether)- $\text{N,N}'$ -tetraacetic acid) abnimmt. Ca^{++} scheint also eine wichtige Rolle im Burstmechanismus zu spielen. Die Depolarisationswelle, auf der ein Burst sitzt, wird durch einen Ca^{++} -abhängigen K^+ -Strom beendet, wenn die Depolarisationswelle die Aktivierungsschwelle dieser Ca^{++} -abhängigen K^+ -Leitfähigkeit erreicht. Bursts können auch durch Depolarisation erzeugt werden. Durch Depolarisation wird die Spikefrequenz erhöht, wodurch der Ca^{++} -Einstrom zunimmt. Durch diesen wird evtl. die Ca^{++} -abhängige K^+ -Leitfähigkeit inaktiviert. Intrazelluläre Injektion von Barium und TEA, also Blockade von Spannungs-abhängigen K^+ -Kanälen, kann auch die Burstfrequenz erhöhen.

Nach Overton et al. (1997) entstehen natürliche Bursts in vivo durch das Zusammenwirken verschiedener Faktoren:

- Burstaktivität in EAAergischen (excitatory amino acid) Afferenzen zu den dopaminergen Neuronen, die einen nicht kortikalen Ursprung haben, aber vom medialen präfrontalen Kortex gesteuert werden.
- NMDA-Rezeptor-Aktivierung, welche eine langsame Depolarisationswelle im nachgeschalteten Neuron erzeugt.
- Aktivierung einer hochschwelligen, dendritischen Ca^{++} -Leitfähigkeit, welche ein Plateau-Potential erzeugt.
- Aktivierung einer Ca^{++} -aktivierten K^+ -Leitfähigkeit, welche den Burst beendet.

Eine alternative Erklärung für die Entstehung von Bursts ist die Interaktion zwischen dem NMDA-induzierten Strom (I_{NMDA}) und der Na^+ -Pumpe (Johnson et al. (1992)): Durch NMDA-Kanäle fließen Na^+ -Ionen in das Neuron. Der schnelle Anstieg der intrazellulären Na^+ -Konzentration aktiviert eine Na^+ -Pumpe. Der Auswärtsstrom durch die Na^+ -Pumpe beendet den Burst durch

Hyperpolarisation. Wenn die intrazelluläre Na^+ -Konzentration abfällt, wird wieder der NMDA-Strom aktiv.

Die bei Johnson et al. (1992) untersuchten Bursts waren aber in vitro erzeugte Bursts. In ihrem Experiment war es nötig, zu hyperpolarisieren und Apamin zuzugeben. Diese experimentell hervorgerufenen Bursts entsprechen nicht den in vivo gefunden Bursts (Overton et al. 1997): Im Gegensatz zu natürlichen Bursts sind die Apamin-induzierten Bursts nicht Ca^{++} -abhängig. Außerdem ist die Hyperpolarisation bei Bursts in vivo nicht nötig. Die Amplitude der Spikes wurde innerhalb eines Bursts nicht kleiner, und bei den Apamin-induzierten Bursts fällt das Intervall zwischen den Spikes in einem Burst ab (Shepard et al., 1991; Ping et al., 1996), während es bei natürlichen Bursts ansteigt. Die Ruheperiode zwischen den Bursts war sehr lange im Vergleich zu der bei natürlichen Bursts.

Die Hypothese von Johnson et al. (1992) wurde durch Li et al. (1996) modellhaft untersucht. Die spannungsabhängige Aktivierung von I_{NMDA} soll für die Depolarisation während des Bursts verantwortlich sein, und die Akkumulation von Na^+ , die über den Einwärtsstrom durch den I_{NMDA} verursacht wird, soll die Na^+ -Pumpe aktivieren, welche ihrerseits einen Na^+ -Auswärtsstrom bewirkt. Der Na^+ -Auswärtsstrom hyperpolarisiert das Neuron, wodurch sich die NMDA-Rezeptor-aktivierten Kanäle schließen und die intrazelluläre Na^+ -Konzentration stark absinkt. Das Aussetzen der Pumpe erlaubt die erneute Depolarisation und der Zyklus beginnt von vorne. Damit der Burstmodus aktiviert wird, muß man Apamin zugeben, um den I_{SK} zu blockieren. Ebenso muß man kompensatorisch hyperpolarisieren, da das Neuron ohne die Wirkung des I_{SK} zu sehr depolarisiert.

Zusammenfassend kommen Bursts unter diesen in vitro Bedingungen durch folgende Bedingungen zustande:

- NMDA
- Apamin
- Hyperpolarisation

Wir erreichten die NMDA-induzierte Burst-Aktivität, indem wir diese Bedingungen im Neuronmodell nachbildeten (siehe Fig. 24):

- erhöhten dendritischen einwärtsgerichteten Kationen-Strömen (Kanaldichte von I_{HVA} von $60 S/m^2$ erhöht auf $500 S/m^2$),
- Apaminblock von Sk-Strömen (Kanaldichte von $I_{SK} = 0 S/m^2$),
- somatische hyperpolarisierende Strominjektion.

In vivo treten möglicherweise deshalb keine spontanen Bursts auf, weil Ca^{++} in vitro gepuffert wird. So kann die Ca^{++} -abhängige K^+ -Leitfähigkeit am Ende eines Bursts nicht blockiert werden. Apamin könnte die Spikefrequenz erhöhen, so daß diese hoch genug ist, um den Puffer zu sättigen und damit diese Leitfähigkeit zu blockieren. Die Ca^{++} -abhängige Leitfähigkeit könnte am Ende eines Bursts durch Apamin aktiviert werden. Die Ca^{++} -abhängige Leitfähigkeit, die den Burst beendet, ist möglicherweise eine andere als die apaminsensitive Ca^{++} -abhängige Leitfähigkeit, die die Nachhyperpolarisation beeinflusst.

Eine andere Erklärung für die Entstehung von Bursts liefern Canavier et al. (1999). Dem regulären Schrittmacher-Rhythmus sollen langsame Oszillationspotentiale (SOP) zugrundeliegen, während die Ursache des Apamin-induzierten Burstmodus Rechteck-Oszillationen sein sollen. Die SOPs kommen durch die Interaktion zwischen dem L-Typ- Ca^{++} -Strom und dem I_{SK} zustande, während die Apamin-induzierten Rechteck-Oszillationen durch abwechselnde Aktivierung und Kalzium-Inaktivierung des L-Typ- Ca^{++} -Stroms entstehen.

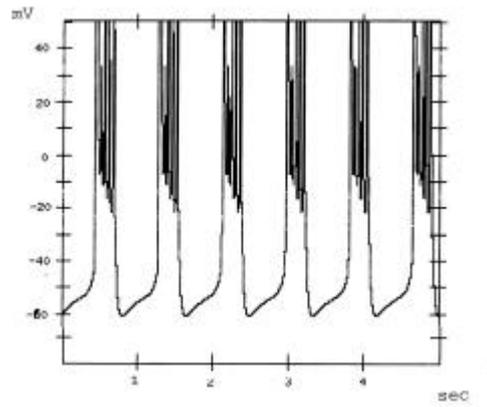


Fig. 24. Bursts

Kanaldichte (nS/ μm^2):					
Soma		Dendritenstamm		Restlicher Dendrit	
Na	180	A	13	HVA	500
DR	2	tCa	0	Sk	0
A	13	pCa	1,4	Bk	2
Ir	5	HVA	500		
		Sk	0		
inj.:	-5nA	Bk	2		

Diskussion

Genauigkeit der Spannungsklemmenexperimente zur Bestimmung der Kanalparameter

Bei der Bestimmung der Kanalparameter aus Spannungsklemmenexperimenten muß man berücksichtigen, daß die einzelnen Experimente unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt wurden, so daß man deren Ergebnisse nicht unbedingt ohne weitere Korrektur in das Neuronmodell übernehmen kann. Unterschiede in den Versuchsbedingungen können z. B. vorliegen in Bezug auf:

- Temperatur: Bei Erhöhung der Temperatur um 10°C steigt die Reaktionsgeschwindigkeit auf das Doppelte bis Dreifache an. Die etwas unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit von α und β (siehe Gleichung 8) bedingt z.B. gewisse Formveränderungen der Aktionspotentiale. Wir haben in unserem Neuronmodell alle Ergebnisse nach der Q_{10} -Regel einer Temperatur von 33°C angepaßt.
- Ca^{++} -Konzentration und pH-Wert: Änderungen in der Ca^{++} -Konzentration und im pH-Wert verschieben die Spannungsabhängigkeit der Aktivierungs- und Inaktivierungsprozesse parallel auf der Spannungsachse.
- Arten und Konzentrationen der Ionen in den extra- und intrazellulären Lösungen

Man muß bei der Auswertung der Experimente, bei deren Durchführung Kanalblocker benutzt wurden, berücksichtigen, daß einige Kanalblocker nicht selektiv auf die zu blockierenden Kanäle wirken, sondern zu einem gewissen Ausmaß auch andere Kanäle blockieren, oder die zu blockierenden Kanäle nicht vollständig blockieren. So geht z.B. TTX eine hochsensible Bindung mit den Eingängen der Na^+ -Kanäle ein, während die Affinität von TEA an die K^+ -Kanäle geringer ist. Die Wirkung von TEA auf K^+ -Kanäle verschiedener Zelltypen ist recht variabel. Ein weiterer Blocker der K^+ -Kanäle mit hoher Affinität ist 4-AP. Der 4-AP-Block jedoch ist potentialabhängig und möglicherweise wirkt er nur auf offene K^+ -Kanäle. Noch weniger selektiv sind Cs^{++} und anderer Austausch von Ionen, z.B. durch intrazelluläres Puffern von Ca^{++} durch EGTA/BAPTA. Die intrazelluläre Konzentration von Ca^{++} ist bislang unbekannt, wird aber gegenwärtig durch Ca^{++} -Imaging bestimmt (Callaway et al., 1997).

Schließlich können die Experimente auch alleine dadurch unterschiedliche Ergebnisse liefern, daß sie an unterschiedlichen Zellen durchgeführt wurden, die unterschiedliche Charakteristika der Ströme aufweisen.

Wenn man die elektrischen Eigenschaften jedes Kompartiments des Neuronmodells als einen äquivalenten elektrischen Schaltkreis darstellt und das Verhalten eines solchen Schaltkreises durch eine Differentialgleichung beschreibt (siehe Gleichung 25), muß man wissen, daß sie den dielektrischen Verlust in der Membran nicht berücksichtigt. Man kann den durch diese Approximation eingeführten Fehler nicht leicht einschätzen, aber er wird als nicht sehr groß angenommen, weil der Zeitverlauf des Kapazitätsspannungsstoßes sehr nahe bei dem für einen perfekten Kondensator berechneten liegt.

Mechanismen zur Generierung des Pacemaker-Rhythmus

Kang & Kitai (1993) folgerten aus ihren Untersuchungen, daß für die rhythmische Membranoszillation und das rhythmische Aktivitätsmuster ein heterogener Ca^{++} -Spike (PLSD) zuständig ist. Der I_{Ca} soll daran nicht beteiligt sein. Wir gingen in unserer Simulation davon aus, daß der Anstieg des PLSD durch den I_{pCa} getragen wird, während für den Abfall des PLSD vor allem der A-Strom zuständig ist. Es sprechen folgende Tatsachen dafür, daß der I_{Ca} nicht an dem PLSD beteiligt ist:

- Das PLSD tritt auch bei so weit depolarisierten Membranpotentialen auf, bei denen der I_{Ca} gewöhnlicherweise vollständig inaktiviert ist. Das PLSD wird bei Membranpotentialen zwischen -60 und -40 mV ausgelöst. I_{Ca} wird bei -60 mV und I_{pCa} bei -35 mV ausgelöst. Bei einem Haltepotential von -45 mV ist der I_{Ca} vollständig inaktiviert, während das PLSD noch ausgelöst wird. Unsere Simulation zeigt ebenfalls diese unterschiedlichen Aktivierungsschwellen für I_{Ca} , I_{pCa} und I_{HVA} .
- Das PLSD hat eine sehr lange Anstiegskurve im Vergleich zum I_{Ca} . Verantwortlich für ihren sehr langsamen Anstieg ist nach Kang & Kitai (1993) möglicherweise eine sehr langsam inaktivierende Eigenschaft einer Ca^{++} -Leitfähigkeit, bei unserer Simulation wird der Anstieg durch den I_{pCa} hervorgerufen.

- Die Repolarisation kann durch EGTA verlängert werden, im Gegensatz zu der des I_{Ca} .
- Cd^{++} stört das PLSD, aber nicht den I_{Ca} . Die Membranpotentialoszillation wird gestört, wenn das PLSD durch Cd^{++} gestört wird.
- Außerdem wurde der I_{Ca} nur in etwa der Hälfte der untersuchten Neurone beobachtet. In manchen Neuronen schien der I_{Ca} die Aktivierung des PLSD zu erleichtern.

(EGTA verlängert die Repolarisation des PLSD. In die Repolarisation des PLSD sind also zwei verschiedene Prozesse involviert: EGTA-sensitive und -insensitive Komponenten. Für die EGTA-sensitive Repolarisation ist eine Ca^{++} -aktivierte K^+ -Leitfähigkeit und/oder eine Ca^{++} -abhängige Inaktivierung einer Ca^{++} -Leitfähigkeit zuständig. Unter EGTA-Einfluß wird der Zeitverlauf des Abfalls des PLSD verlängert, wenn das PLSD nach Hyperpolarisation ausgelöst wird. Dies könnte die Folge sein von einer Deaktivierung von einer Leitfähigkeit des PLSD durch diese Hyperpolarisation. Der verlängerte Abfall des PLSD unter EGTA weist auf eine langsam inaktivierende Eigenschaft einer Ca^{++} -Leitfähigkeit hin. Dabei scheint es sich nicht um den I_{Ca} zu handeln. Bei EGTA-behandelten Neuronen wird die Oszillationsfrequenz erniedrigt, möglicherweise durch den verlängerten Abfall des PLSD. Die Frequenz ist also möglicherweise nicht nur von der Anstiegsrate des PLSD sondern auch von dessen Abfall abhängig.)

Kang & Kitais (1993) Untersuchungen ergeben, daß die Anstiegsrate des PLSD vom Membranpotential abhängig ist. Da die Membranoszillation und das rhythmische Aktivitätsmuster vom PLSD verursacht werden, ist deren Frequenz auch vom Membranpotential abhängig.

Während wir die rhythmische Aktivität von Compacta-Neuronen durch die Charakteristiken des I_{pCa} -Stroms erklären (Kang & Kitai, 1993), findet man in der Literatur auch andere Hypothesen über die Entstehung der PLSD. McCormick & Pape (1990) beschreiben, daß dem Oszillationsmechanismus bei thalamischen Relay-Neuronen das Zusammenspiel von I_h und I_{tCa} zugrunde liegt. Nach Driesang & Pape (1998) sollen durch einen Leck-Strom und den K_m (muskarinerges K^+ -Strom) „low threshold oscillations“ generiert werden. Nach Amini et al. (1999) sollen die SOPs (slow oscillatory potentials) durch den L-type Ca^{++} -Strom und den I_{SK} generiert werden.

Konstanz elektrophysiologischer Eigenschaften

Einige Autoren berichten von der Uniformität elektrophysiologischer Eigenschaften von angenommenen oder nachgewiesenen dopaminergen Neuronen der Substantia nigra pars compacta in unterschiedlichen Spezies (z.B. Sanghera et al., 1984; Tepper et al., 1987; Lacey et al., 1989; Yung et al., 1991; Cardozo, 1993). Detaillierte Untersuchungen spezifizieren die folgenden Merkmale als typische elektrophysiologische Eigenschaften (Grace and Bunney, 1983a; Grace and Onn, 1989; Lacey et al., 1989; Yung et al., 1991; Cardozo, 1993; Hajós und Greenfield, 1993):

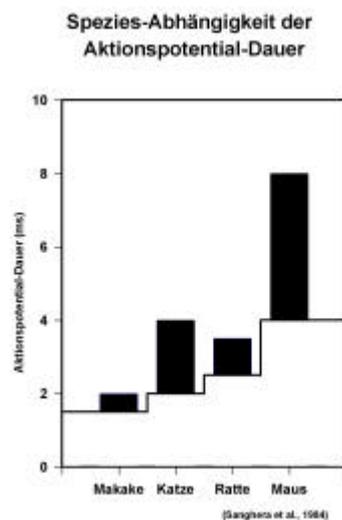
- langsam depolarisierendes Schrittmacher-Potential
- hohe Spike-Schwelle
- deutlicher Einschnitt zwischen Initialsegment und somatodendritischen Spikekomponenten (IS-SD Verzögerung)
- lang dauerndes Aktionspotential
- stark biphasische Nachhyperpolarisation
- stark zeitabhängige Einwärts-Rektifikation
- lange Zeitkonstanten
- Hyperpolarisation durch Dopamin

Nur wenige dieser Merkmale wurden in vergleichenden Studien quantifiziert. Die Berichte, die die elektrophysiologischen Eigenschaften in individuellen Spezies angeben, sind schwer zu vergleichen, weil die Aufnahmebedingungen (in vivo vs. in vitro) und die Orte in der Substantia nigra variieren (rostral vs. caudal).

Zum Beispiel zeigt die Aktivitätsrate von nigralen dopaminergen Neuronen Parallelen zu den neuronalen Größen der dopaminergen Neurone in der Substantia nigra. Mittlere Frequenzen sind $3,8 \pm 0,24$ Hz (Mittelwert \pm SEM, $n=21$) in vivo und $4,0 \pm 0,61$ Hz, $n=11$ in vitro bei der Maus (Sanghera et al., 1984); $3,6 \pm 0,25$ Hz, $n=15$ (Shepard und German, 1984), $4,1 \pm 0,7$ Hz, $n=25$ (Scarnati und Pacitti, 1982), und $4,68 \pm 0,34$, $n=26$ (Tepper et al., 1990) bei der Ratte; $5,0 \pm 0,3$ Hz, $n=54$ (Yung et al., 1991) und $5,56 \pm 0,41$ Hz, $n=53$ (Hainsworth et al., 1991) beim Meerschweinchen; 3 bis 6 Hz bei der Katze in vivo (Trulson et al., 1981; Steinfels et al., 1983); bis zu 8 Hz beim wachen Affen (Schultz et al., 1983). Zellen im rostralen Teil der Substantia nigra beim

Meerschweinchen zeigen eine signifikant höhere Aktivitätsrate ($2,54 \pm 0,09$ Hz, $n=22$) als die Zellen in posterioren Schnittpräparaten ($1,59 \pm 0,28$ Hz, $n=22$; $p < 0,05$) (Hajós und Greenfield, 1993).

Die Aktionspotentialdauer (siehe Fig. 25) ist am längsten bei der Maus mit 4-8 ms in vivo und 3-6 ms in vitro (Sanghera et al., 1984), verglichen zu 2-4 ms bei der Katze in vivo (Trulson et al., 1981; Steinfels et al., 1983), 1,8-3,5 ms unter beiden Bedingungen bei der Ratte (Shepard und German, 1984; Grace und Onn, 1989; Tepper et al., 1990; Lee et al., 1992), und 1,0-2,0 ms beim wachen Affen (Schultz et al., 1983). Beim Meerschweinchen dauern die Aktionspotentiale dopaminergener Neurone in vitro $4,09 \pm 0,36$ ms, $n=53$ (Hainsworth et al., 1991); Hajós und Greenfield (1993) messen $2,54 \pm 0,09$ ms, $n=22$ in anterior gelegenen dopaminergen Neuronen und $2,93 \pm 0,13$, $n=22$



in posterior gelegenen Zellen.

Fig. 25. Überblick über die Dauer des Aktionspotentials beim Makaken (Schultz et al., 1983), der Katze (Steinfels et al., 1983), der Ratte (Grace und Onn, 1989), und der Maus (Sanghera et al., 1984) in vivo. Die Balken zeigen die beobachteten Werte an.

Obwohl die Validität dieser Daten wegen der Unterschiedlichkeit der Aufnahmebedingungen und der Schwierigkeit, die Aktionspotentialdauer unzweideutig zu bestimmen, schwer zu beurteilen ist, scheint es, daß niedrigere Frequenzen mit längeren Aktionspotentialdauern in vivo versus in vitro und über die Spezies hinweg korrespondieren. Im Gegensatz dazu wurde keine Korrelation zwischen Frequenz und Aktionspotentialdauer zwischen zwei verschiedenen Populationen dopaminergener

Neurone beim Meerschweinchen gefunden (Hajós und Greenfield, 1993). Sanghera et al. (1984) berichten, daß es Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen den elektrophysiologischen Eigenschaften nigraler dopaminerger Neurone der Maus und der Ratte gibt. Der Beweis für die Ähnlichkeit von niedrigen Aktivitätsraten in vivo ist allerdings von niedriger Signifikanz (Maus: $3,8 \pm 0,24 \text{ Hz}$, $n=21$ vs. Ratte: $3,6 \pm 0,25 \text{ Hz}$, $n=15$; $p=0,58$). Es wurde auch beobachtet, daß in vitro aufgenommene Einheiten eine schnellere Aktivitätsrate aufweisen als in vivo Zellen. Die statistische Evaluation der von Sanghera et al. (1984) präsentierten Mausdaten ($3,8 \pm 0,24 \text{ Hz}$, $n=21$ vs. $4,0 \pm 0,61 \text{ Hz}$, $n=11$) zeigt, daß die Varianzen in der Tat signifikant verschieden sind, wenn sie mit Hilfe des F-Tests beurteilt werden; der t-Test für ungleiche Varianzen allerdings bestätigt nicht den Unterschied zwischen den beiden Beispielen ($p=0,76$). Das Aktivitätsmuster in vitro ist anders als das, welches typischerweise in vivo beobachtet wird, so daß die Variation des Intervalls zwischen den Spikes, wie im Koeffizient der Variation ausgedrückt, unter in vitro aufgenommenen Zellen, signifikant geringer ist (Sanghera et al., 1984).

Zusammenfassend zeigen diese Studien Unterschiede zwischen den elektrophysiologischen Eigenschaften nigraler dopaminerger Neurone innerhalb der Spezies (zwischen verschiedenen Teilen der Substantia nigra und zwischen in vivo und in vitro), genauso wie auch über die Spezies hinweg. Die gegenwärtigen Daten sind nicht ausreichend, um eine klare Beziehung dieser Unterschiede zu morphologischen Variationen dopaminerger Neurone nachzuweisen. Außerdem gibt es sich widersprechende Berichte über Unterschiede zwischen dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra, die ins Neostriatum projizieren und anderen dopaminergen Neuronen mit Projektionen zum Nucleus accumbens oder zerebralen kortikalen Gebieten (z.B. Shepard & German, 1984).

Bedeutung der Bursts für die Dopaminfreisetzung im Striatum

Die dopaminergen Neurone zeigen zwei verschiedene Aktivitätsmuster: einzelne Spikes und den Burst-Modus (bei freilaufenden Ratten tritt die Hälfte der Aktionspotentiale in Bursts auf).

Die Aktivitätsmuster haben einen wichtigen Einfluß auf die Dopaminfreisetzung. Die Größe der Dopaminfreisetzung steigt exponentiell mit der Aktivitätsrate. Im Burst-Modus jedoch wird mehr Dopamin je Aktionspotential freigesetzt als im einfachen Schrittmacherrhythmus. Gonon (1988) beschreibt, daß bei gleicher Durchschnittsfrequenz (5 Hz) die Bursts doppelt so potent für die

Freisetzung sind wie Spikes mit regelmäßigen Abstand. Wenn die Neurone im Rahmen der Spontanaktivität vom einfachen Schrittmacherrhythmus (4 Hz) in den Burstmodus (durchschnittlich 6 Hz) wechseln, ist der Burst-Modus sogar sechs mal so potent (Gonon, 1988). Suaud-Chagny et al. (1992) kamen bei dem Vergleich von NMDA und Quisqualat zu dem Ergebnis, daß NMDA, welches Bursts induziert, in der Dopaminfreisetzung zweimal so potent ist wie Quisqualat, welches zu einem regelmäßigen Aktivitätsmuster führt.

Die Burstaktivität ist abhängig von afferenten Neuronen, da sie in vitro nicht beobachtet wird (es ist unklar, ob diese Bursts den NMDA⁺-Apamin-Bursts in vitro entsprechen). Sie wird wahrscheinlich durch exzitatorische Aminosäuren über einen NMDA-Rezeptor vermittelt. Dafür spricht, daß die Bursts durch NMDA-Antagonisten selektiv zerstört werden. Außerdem untersuchten Suaud-Chagny et al. (1992) die Wirkung von NMDA im Gegensatz zu Quisqualat auf die Aktivität der dopaminergen Neuronen und kamen zu dem Ergebnis, daß NMDA Burstaktivität hervorruft, während Quisqualat ein regelmäßiges Aktivitätsmuster induziert.

Bedeutung verschiedener Aktivitätsmuster bei neuropsychiatrischen Phänomenen und Möglichkeit der pharmakologischen Beeinflussung

Die Kenntnis der Funktion dopaminergener Neurone ist wichtig für das Verständnis neurologischer und psychiatrischer Störungen beim Menschen, so wie die Parkinson Krankheit, Schizophrenie und Drogenabhängigkeit.

Zum Beispiel wurde eine neue Hypothese über den Mechanismus für die Steuerung von Dopaminaktivität in subkortikalen Arealen diskutiert, welcher relevant für die Entstehung von Schizophrenie sein könnte (Grace, 1991). Nach dieser Hypothese geschieht die Steuerung der Dopaminfreisetzung in subkortikale Areale durch zwei voneinander unabhängige Mechanismen: 1) transiente oder phasische Dopaminfreisetzung, verursacht durch die Aktivität dopaminergener Neurone, und 2) anhaltende tonische „Hintergrunds-“Dopaminfreisetzung, die durch präfrontale kortikale Afferenzen gesteuert wird. Verhaltenstheoretisch relevante Stimuli sollen eine kurzfristige Aktivierung der dopaminergen Neurone verursachen, um die phasische Komponente der Dopaminfreisetzung auszulösen. Im Gegensatz dazu könnte die tonische Dopaminfreisetzung die Intensität der phasischen Dopaminantwort durch seine Auswirkung auf die extrazelluläre Dopaminkonzentration steuern. Auf diese Weise würde die tonische Dopaminfreisetzung eine hintergründige andauernd vorhandene Dopaminrezeptor-Stimulation schaffen (sowohl von

Autorezeptoren als auch von postsynaptischen Rezeptoren) und somit, durch homeostatische Mechanismen, die Ansprechbarkeit des Systems auf Dopamin bestimmen. Bei der Schizophrenie soll eine anhaltende Verringerung der präfrontalen kortikalen Aktivität die tonische Dopaminfreisetzung reduzieren. Dies würde eine homeostatische Kompensation hervorrufen, welche die gesamte Dopaminansprechbarkeit erhöhen würde, und dadurch bewirken würde, daß die daraus folgende phasische Dopaminfreisetzung abnormal starke Antworten hervorruft.

Dieses Verständnis der Entstehungsmechanismen der Schizophrenie wäre wichtig für die Entwicklung wirksamer Medikamente. Herkömmliche Medikamente normalisieren nicht die Defizite der Aktivität und des Metabolismus in den präfrontalen kortikalen Arealen. So bewirkt der durch diese Medikamente ausgelöste Depolarisationsblock in den dopaminergen Neuronen, der nicht den ursprünglichen Defekt im präfrontalen Kortex aufhebt, möglicherweise indirekt eine Linderung der Symptome der Schizophrenie, indem er die dopaminergen Neurone inaktiviert. So wird durch die Medikamente die phasische Dopaminfreisetzung inaktiviert und dadurch die abnormal große Antwort auf dieses Dopamin. Dieser Mechanismus könnte aber das zugrundeliegende Ungleichgewicht im Dopaminstoffwechsel, welches durch die ursprüngliche Verringerung des tonischen Dopamins zustande kommt, weiter vergrößern. Dies würde eine dauerhafte Behandlung mit Dopaminantagonisten nötig machen, um diesen empfindlichen Status des Depolarisationsblocks aufrecht zu erhalten. Dieser sehr instabile Zustand könnte verantwortlich dafür sein, daß die klassischen Neuroleptika wenig Auswirkung auf die negativen Symptome haben. Eine neue therapeutische Behandlungsstrategie wäre es, die tonische Dopaminrezeptorstimulation zu erhöhen, um das System dem gesunden Zustand anzunähern. Gabe von Dopaminagonisten würde aber anfangs eine massive Rezeptorstimulation und damit eine Aggravation der Schizophreniesymptome verursachen. Deshalb müßte man gleichzeitig die zu starke Ansprechbarkeit auf die phasische Dopaminfreisetzung hemmen. Das hoch effektive atypische Neuroleptikum Clozapin schwächt die negativen Symptome möglicherweise durch einen ähnlichen Mechanismus ab: die abnormale phasische Dopaminfreisetzung wird durch einen Depolarisationsblock gehemmt, während ein Anstieg des tonischen extrazellulären Dopamins bewirkt wird.

Die Kenntnis der Funktion dopaminergener Neurone ist ebenfalls wichtig für das Verständnis der Entstehung der Parkinson Krankheit, da dieser Krankheit die Degeneration dopaminergener Neurone der Substantia nigra pars compacta zugrunde liegt. Dopamin ist ein modulatorischer Transmitter, von welchem sowohl aktivierende als auch hemmende Effekte bekannt sind. Im Striatum hat Dopamin unterschiedliche Auswirkungen auf die verschiedenen Ionenkanäle: N/P-typische Ca^{++} -Ströme werden aktiviert und L-typische Ca^{++} -Ströme werden gehemmt. TTX-sensitive Na^+ -Ströme werden wahrscheinlich durch eine erhöhte Reizschwelle gehemmt. K^+ -Ströme, die bei der schnellen und langsamen Nachhyperpolarisation beteiligt sind, werden gehemmt, während andere K^+ -Ströme aktiviert werden. Neben diesen sofort auftretenden Effekten kann Dopamin längerfristig Effekte auf den kortikostriatalen Weg haben. Chronischer Dopaminmangel verändert die Morphologie der Neurone im Striatum. Er führt zur Reduktion der dendritischen Länge und zum Verlust von Dendriten-Spines. Solch ein Spine-Verlust wird bei Parkinson-Patienten beobachtet und ist durch Medikamente bisher nicht beeinflussbar. Durch den Spine-Verlust kommt es zur Reduktion glutaminerger Afferenzen, da diese an den Dendriten-Spines enden.

Im Striatum interagieren dopaminerge und glutaminerge Afferenzen. Sie beeinflussen die Ca^{++} - und cAMP-Konzentration und haben dadurch Auswirkungen auf eine Kaskade von Signal-Transduktionen. In dieser Kaskade werden auch Ionenkanäle beeinflusst. Zum Beispiel werden nachhyperpolarisierende K^+ -Ströme durch die Ca^{++} -Konzentration beeinflusst, und so wird durch eine Dopamin-vermittelte Reduktion der Ca^{++} -Ströme die langsame Nachhyperpolarisation vermindert.

In einem Modell des Striatums (Kötter & Wickens, 1998) wird angenommen, daß bei Morbus Parkinson durch den Dopaminmangel die langsame Nachhyperpolarisation in den striatalen Hauptneuronen vergrößert ist und deren Dendriten-Spines und damit auch deren glutaminerge Afferenzen verringert sind. Durch die Gabe von Dopamin wird nur die langsame Nachhyperpolarisation normalisiert, aber der Verlust von Dendriten-Spines kann nicht rückgängig gemacht werden. Durch Normalisierung der langsamen Nachhyperpolarisation kann die Burstdauer und die Anzahl der Spikes in einzelnen Neuronen erhöht werden. Dafür wird aber eine größere Anzahl von Neuronen inaktiviert. Die dynamische Abfolge der Aktivierung von Neuronen wird zerstört und stattdessen tritt ein statisches Bild auf. Von den Zielneuronen in der Substantia nigra und

im Pallidum werden dadurch zwar einzelne Neurone gehemmt, aber die Ausbreitung der Hemmung weiterer Neurone wird verlangsamt und die Mehrzahl der Neurone wird stark aktiviert.

Durch diese Pathophysiologie im Striatum können einige Symptome der Parkinson Krankheit erklärt werden. Das Striatum erhält somatotopisch angeordnete Afferenzen aus dem Kortex. Zwischen den Zielneuronen finden inhibierende Interaktionen statt. Dadurch soll die Aktivität in einer Muskelgruppe erhöht und die Aktivität in antagonistischen Muskeln unterdrückt werden, und so Bewegungen erleichtert werden. Das Zahnradphänomen bei Morbus Parkinson wird durch gestörte inhibitorische Interaktionen erklärt: Im Normalzustand werden durch kortikostriatale Afferenzen einzelne Neurone stark aktiviert, während antagonistische Neurone gehemmt werden. Bei M. Parkinson dagegen werden die Agonisten schwach aktiviert, und bald darauf auch die Antagonisten aktiviert.

Eine Folgerung dieser Interpretation ist, daß das Striatum zwei Funktionen hat: Zum einen die Erleichterung von Bewegung, zum anderen die Unterdrückung ungewollter Bewegungen. Die kortikostriatalen Afferenzen aktivieren nur einzelne striatale Neurone, welche im medialen Globus Pallidus und in der Substantia nigra nur einzelne der tonisch aktiven Neurone hemmen. Diese kleine Anzahl von Neuronen soll durch Disinhibition thalamostriataler Projektionsneurone Bewegungen erleichtern.

Eine andere Folgerung ist, daß durch Gabe von Dopamin bei der Parkinson Krankheit die existierenden Bursts verlängert werden, aber keine neuen Bursts erzeugt werden können. Wenn die Krankheit weiter fortgeschritten ist, verliert also die Therapie mit dopaminergen Agonisten ihre Wirksamkeit.

Schließlich sind im dopaminergen System auch Grundlagen für einen Reward-Mechanismus zu sehen: Bestimmte Reize werden vom ZNS als angenehm und als Belohnung („reward“) empfunden. Dieser Reward-Mechanismus ist von der Freisetzung des Dopamins abhängig und führt zu einem Verhalten, bei dem diese Reize immer häufiger gesucht werden. Da auch bestimmte Substanzen, wie Opiate, Kokain und Alkohol natürliche Reize bei der Auslösung dieses Mechanismus ersetzen können, wird der Reward-Mechanismus heute als neurobiologische Grundlage der Drogenabhängigkeit angesehen (Zilles & Rehkämper, 1993).

Signifikanz

Für das Verständnis neurologischer und psychiatrischer Störungen beim Menschen, so wie die Parkinson Krankheit und Schizophrenie, werden Funktionsstörungen dopaminergener Neurone für relevant gehalten. Man hofft, durch die Entwicklung und Untersuchung von Tiermodellen dieser Störungen, detailliertere Einsichten in die zugrundeliegenden pathophysiologischen Prozesse zu gewinnen. Natürlich liefern solche Untersuchungen nur in dem Ausmaß relevante Einsichten, wie Tiermodelle wichtige Merkmale dieser Prozesse, die in Menschen stattfinden, aufzeigen. Vergleichende morphologische und physiologische Studien sind daher eine Voraussetzung für die Interpretation von Tiermodellen von menschlichen Krankheiten und es wäre sehr hilfreich, wenn die Ähnlichkeit oder wenigstens die Prinzipien der Variation zwischen Spezies genau festgestellt werden könnten. In diesem Zusammenhang erweisen sich biophysikalische Modelle von Neuronen als wertvolle Hilfsmittel, um Hypothesen über die Beziehung zwischen morphologischen und elektrophysiologischen Eigenschaften über die Spezies hinweg zu testen. Die Theorie von passiven Membranzylindern, welche viele Einsichten über grundlegende Eigenschaften von Neuronen liefert, erreicht jedoch ihre Grenzen, wenn Neurone mit einem reichen Repertoire dendritischer Membranleitfähigkeiten in Betracht gezogen werden. Ein wichtiger Schritt wird sein, ein systematisches Rahmenmodell bereitzustellen, das erklärt, wie diese aktiven Eigenschaften die funktionellen Eigenschaften der Neurone beeinflussen, und zu sehen, ob es möglich sein wird, Neurone in eine kleine Anzahl von Typen in Bezug auf die Prozessaufgaben zu klassifizieren (z.B. zeitliche oder räumliche Integration afferenter Signale, rate decoding, switching), die sie durchführen.

Angesichts der großen Menge von Literatur über Manipulationen von dopaminergen Mechanismen bei Nagetieren und des Wertes, der auf ihre Interpretation in Hinblick auf Störungen beim Menschen gelegt wird, ist es zumindest eine Überraschung und wahrscheinlich ein wichtiges Versäumnis, daß keine adäquaten vergleichenden Studien über morphologische und elektrophysiologische Eigenschaften durchgeführt und veröffentlicht wurden. Unter den Gründen für dieses Fehlen von Studien und den unbewiesenen Glauben in die Gleichförmigkeit dopaminergener Neurone mögen ihre charakteristischen Aktivitätsmuster sein, welche ihre klare Unterscheidung von benachbarten Neuronen in der pars reticulata der Substantia nigra (Yung et al., 1991) oder im subthalamischen Kern (Overton et al., 1995) erlauben. Diese Unterscheidung jedoch hat nicht notwendigerweise eine Entsprechung in der Beziehung zwischen den Spezies. Daher sind detaillierte und systematische vergleichende Studien über die zelluläre Elektrophysiologie dopaminergener Neurone von Nöten. Es

gibt natürlich viele andere Charakteristika dopaminergere Neurone einschließlich der Antwort auf pharmakologische Manipulationen, Verletzungen, Stimulationen, und Gewebstransplantation, die zwischen Spezies verglichen werden müssen und die offensichtlich für die Einsichten, die durch Tiermodelle menschlicher Krankheiten gewonnen wurden, relevant sind. Dies sollte der nächste Schritt sein, wenn die vergleichende Morphologie und Elektrophysiologie, welche die Grundlage für viele komplexere Untersuchungen darstellt, adäquat dargestellt worden ist.

Zusammenfassende Diskussion

Unsere Untersuchungen zeigen, daß das Verhalten dopaminergener Neurone viel komplexer ist als bisher angenommen. Die Simulation erweist sich als sehr hilfreich, um das Interagieren der verschiedenen Membranströme genauer zu untersuchen. Während mit Hilfe von Experimenten an echten Neuronen wenig selektiv und unvollständig Kanäle durch Chemikalien oder Membranpotentialveränderungen blockiert werden können und so nur einige bestimmte Kombinationen von Membranströmen untersucht werden können, erlaubt es unsere Simulation, das Interagieren von beliebigen Strömen zu betrachten, da man in das Modell jede beliebige Kombination von Kanälen einbauen kann. Auch die Auswirkungen von Membranoberflächenveränderungen können anhand des Modells gut dargestellt werden. Weiterhin können die verschiedenen Theorien über die Entstehung von Bursts überprüft werden.

Das detaillierte Wissen über das elektrophysiologische Verhalten dopaminergener Neurone ist im klinischen Bereich von Bedeutung, um die Funktion der dopaminergen Neurone zu verstehen und Erklärungsmodelle über Entstehungsmechanismen von pathologischen Verhältnissen zu erarbeiten. Ein besseres Verständnis über den Entstehungsmechanismen von Krankheiten, wie zum Beispiel dem M. Parkinson oder der Schizophrenie, können dazu beitragen, neue und bessere Behandlungsstrategien zu entwerfen.

Anhang

Implementierung der Segment-Neuronmodelle

Um die passiven Membraneigenschaften analysieren zu können, schrieben wir ein Turbo-Pascal Programm, mit welchem wir nach Gleichung 2 diverse Segment-Neuronmodelle konstruierten und für diese nach Gleichungen 3-5 die Eingangswiderstände berechneten. Die Segment-Neuronmodelle wurden als Liste von binären Bäumen dargestellt, wobei jeder binäre Baum einen Dendriten darstellt und jeder Knoten eines Baumes einem zylindrischen Dendritenabschnitt zwischen zwei Verzweigungspunkten bzw. zwischen Verzweigungspunkt und Endpunkt entspricht. Die einzelnen Dendritensegmente sind als Record von folgenden Daten verwirklicht:

Länge, Dicke, Membraneigenschaften (r_m, c_m, r_a), Längskonstante Lambda.

Der Zellkörper (entspricht der Variablen „neuron“) enthält als Informationen die metrischen Parameter des Neurons, die Liste der Dendritenbäume, zylindrische Länge und Dicke und die Oberfläche, Membraneigenschaften des Zellkörpers (r_m, c_m, r_a) (siehe Fig. 26).

Um mit dem Neuronmodell auch aktive elektrophysiologische Eigenschaften simulieren zu können, können Ionenkanäle auf die einzelnen Segmente gesetzt werden. In Variablen vom Typ „t_kanal“ steht eine Liste von Kanälen für ein bestimmtes Segment. In unserem Programm wird für Zellkörper, Stammdendritensegmente, nicht-Stammdendritensegmente jeweils so eine Liste von Kanälen zur Verfügung gestellt. Diese drei Kanallisten stehen in der Variablen „neuronkanäle“.

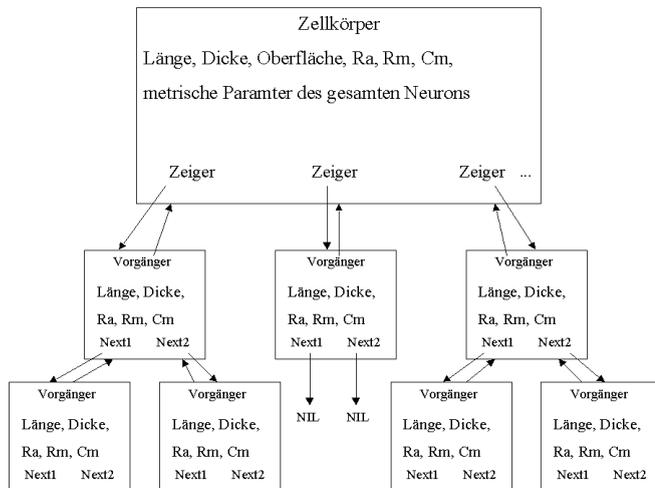


Fig. 26. Der logische Aufbau eines Neurons in unserem Programm.

Die Daten für ein Neuronmodell liegen jeweils in einer Datei, in der die Informationen mit folgender Struktur abgespeichert werden:

Kommentar (* als Endekennung des Kommentars)

Zellkörper-Länge

Zellkörper-Dicke

Anzahl der Dendritenstämme

Länge des ersten Stammes

Dicke des ersten Stammes

Länge des linken dem ersten Stamm folgenden Dendritensegmentes

Dicke des linken dem ersten Stamm folgenden Dendritensegmentes

Länge des linken darauf folgenden Segmentes

Dicke des linken darauf folgenden Segmentes

Länge des rechten darauf folgenden Segmentes

Dicke des rechten darauf folgenden Segmentes

Länge des rechten dem ersten Stamm folgenden Dendritensegmentes

Dicke des rechten dem ersten Stamm folgenden Dendritensegmentes

Länge des zweiten Stammes

Dicke des zweiten Stammes

Usw...

Unser Programm stellt folgende Menüpunkte zur Verfügung:

- Neuronmodell aus einer Datei laden:
Es werden die Daten aus der Datei geladen und daraus das Neuronmodell als Liste binärer Bäume erstellt. Dabei werden die segmentspezifischen Eigenschaften berechnet. Zusätzlich werden die metrischen und elektrophysiologischen Parameter und der Eingangswiderstand des Neurons und die Membraneigenschaften (R_m , R_a , C_m) des Zellkörpers berechnet.
- Dicken verändern:
Man kann entweder direkt die Dicken für Stämme, Mittelstücke und Endverzweigungen angeben oder die Dicke der Stämme, einen Verzweigungsexponenten und eine Standardabweichung angeben. Im letzteren Fall wird für jede Verzweigung ein Zufallswert aus der Gauss-Normalverteilung des Verzweigungsexponenten mit der eingegebenen Standardabweichung gezogen, und mit diesem Wert die Dicke der jeweils folgenden Dendritensegmente nach Gleichung 2 berechnet. Das Neuronmodell mit den so berechneten Dicken kann in einer Datei abgespeichert werden.
- Isometrisches Wachstum:
Man kann Skalierungsfaktoren für Längen- und Dickenskalierung angeben (nur wenn diese beiden Faktoren gleich sind, handelt es sich um isometrisches Wachstum). Die Datei des Neuronmodells wird entsprechend aktualisiert.

- Konstanten und Zellkörperparameter
Es werden Standardparameter und Zellkörperparameter ausgegeben.
- Baum ausgeben:
Man kann auswählen, welche Werte ausgegeben werden sollen. Zu Beginn werden in jedem Fall die metrischen Parameter des gesamten Neurons ausgegeben. Man muß noch angeben, welchen Dendritenbaum man ausgegeben haben möchte, und dann wird dieser in binärer Baumstruktur ausgegeben.
- Feld ausgeben:
Man kann auswählen, welche Werte ausgegeben werden sollen. Zu Beginn werden in jedem Fall die metrischen Parameter des gesamten Neurons ausgegeben. Man muß noch angeben, welchen Dendritenbaum man ausgegeben haben möchte, und dann wird dieser als Feld ausgegeben.
- Neuron zeichnen:
Das gesamte Neuron wird als Grafik mit einem Kreis als Zellkörper und radiär davon abgehenden Dendritenbäumen idealisiert dargestellt.
- Dendrogramm:
Das Neuronmodell wird als Dendrogramm ausgegeben.
- Dendrogramm mit Dicken:
Das Neuron wird als Dendrogramm dargestellt. Die Dicken werden in der Darstellung berücksichtigt.
- Dendrogramm mit Dicken als postscript-Datei:
Es wird eine ps-Datei erzeugt, die die Darstellung des Dendrogramms beschreibt.
- P-Datei erstellen:
Erstellt eine Parameter-Datei in dem für eine Simulation aktiven elektrophysiologischen Verhaltens in GENESIS nötigen Format. Die Dendritensegmente werden dabei in Kompartimente zerteilt, die jeweils nicht länger als 0.1 Lambda sind. Das Neuronmodell wird so dargestellt, daß die Dendritenbäume radiär vom Zellkörper ausgehen. Dazu werden die Koordinaten für jedes Untersegment berechnet. Auf jedes Untersegment

werden die entsprechenden Ionenkanäle gesetzt, die aus einer Datei eingelesen werden. Außerdem erhält jedes Untersegment ein Kalzium-Kompartiment.

- G-Datei erstellen:

Erstellt eine Skript-Datei in dem für eine Simulation aktiven elektrophysiologischen Verhaltens in GENESIS nötigen Format. Die Dendritensegmente werden dabei in Untersegmente zerteilt, die jeweils nicht länger als 0.1 Lambda sind. Auf jedes Untersegment werden die entsprechenden Ionenkanäle gesetzt, die aus einer Datei eingelesen werden, und deren Leitfähigkeit für das jeweilige Untersegment berechnet wird. Außerdem erhält jedes Untersegment ein Kalzium-Kompartiment.

<pre>PROGRAMM dopamine_neurone; USES crt,Graph; lau=""; TYPE str8=String[8]; str9=String[9]; str40=String[40]; str80=String[80]; str120=String[120]; t_kanal=RECORD anz:Integer; name:array[0..10] of Str9; dichte:ARRAY[1..10] of String; END; zeiger=^element; element=RECORD laenge:INTEGER; (* µm *) capacitance,membrane_resistance,axial_resistance:Real; (* nF, MOhm, MOhm *) lambda,dicke:Real; stem:Boolean; x,y,z:Real; next1,next2,vor:zeiger; END; CONST umax=100;Hm=7; (*U: Anzahl der Segmente; Hm: Höhe eines Baumes*) MaxStems = 7; (*Anzahl der Stämme*) e4=10000;e6=1000000;e9=1000000000; faraday=96487; (* C/mole *) d_ca=0.0000002; (* m; dicke 0.2 µm *) lit_CAPACITY=1; (* µF/cm^2 *) capacity=lit_CAPACITY*1000/e4/e4; (* -> nF/µm^2 *) lit_Membrane_Resistivity=10; (* kOhm*cm^2 *) membrane_resistivity=lit_Membrane_Resistivity*e4*e4/1000; (* -> mOhm*µm^2 *) lit_Axial_Resistivity=0.2; (* kOhm*cm *) axial_resistivity=lit_Axial_Resistivity*e4/1000; (* -> nF/µm *) e_c=' nF/µm^2'; e_rm=' MOhm*µm^2'; e_ra=' MOhm*µm'; si_membrane_resistivity=membrane_resistivity*0.000001; (*Ohm*m^2*) si_axial_resistivity=axial_resistivity;(*Ohm*m*)</pre>	<p>Siehe Fig. 26.</p> <p>Im Programm werden andere Einheiten verwendet als in der Literatur.</p>
--	--

<pre> si_capacity=capacity*1000; (*F/m^2*) tau=membrane_resistivity*capacity; e_tau=' ms'; TYPE NeuronTyp = RECORD kommentar:Str80; Stems,nodes,twigs : integer; Soma : ARRAY [1..MaxStems] of zeiger; l_stems, l_nodes, l_twigs : REAL; (*durchschnittliche Längen*) u : byte; (*Gesamtanzahl von Segmenten*) hm,lmax:Integer; (*Höhe, höchste Höhe*) l : real; (* totale dendritische Länge *) l_mean : REAL; (*durchschnittliche Länge aller Segmente*) somalaenge,somadicke:Integer; somaarea,totalarea, soma_membrane_resistance, soma_axial_resistance, soma_capacitance:Real; stemux,stemuy,stemuz:ARRAY[1..10] OF Real; END; t_string=String[Hm+4]; t_feldlaenge=ARRAY[0..umax] OF t_String; t_felddicke=ARRAY[1..umax] OF real; VAR neuron:neurontyp; name:Str8; feld_laenge:t_feldlaenge; feld_dicke:t_felddicke; somakanaele,stemkanaele,dendkanaele:Str120; neuronkanaele:ARRAY[0..2] of t_kanal; (*0:soma,1:stem,2:dend*) i,j,c:Integer; a,au:Char; ok:Boolean; bogen,ux,uy,x,y:real; input_conductance:Real; einh:ARRAY['1'..'7'] OF Str8; procedure InstallGraphics (var done : boolean); var grDriver,grMode,Errcode : Integer; begin done := false; grDriver := Detect; InitGraph (grDriver, grMode, "); ErrCode := GraphResult; if ErrCode = grOk then done := true else writeln('Graphics error:', GraphErrorMsg(ErrCode)); END; PROCEDURE titel(name:Str40); VAR i:Integer; BEGIN Clrscr; textcolor(13); Writeln(name); FOR i:= 1 TO 15 DO BEGIN textcolor(i);write('**'); END; textcolor(11); writeln; END; </pre>	
<pre> Function lambda(d,rm,ra:Real):Real; BEGIN lambda:=sqrt((d/4)*(rm/ra)); (* µm *) END; </pre>	<p>Lambda: Längskonstante</p>

<pre>Function tanh(x:Real):Real; VAR e1, e2: Real; BEGIN e1:=Exp(x); e2:=Exp(-x); tanh:=(e1-e2)/(e1+e2); END;</pre>	
<pre>FUNCTION tochter_dicke(dicke,ralfaktor:real):real; (* d^(3/2)=2*(tochterd^(3/2) *) VAR dhoch:Real; BEGIN dhoch:=exp(ralfaktor*ln(dicke)); tochter_dicke:= exp((1/ralfaktor)*ln(dhoch/2)) ; END;</pre>	<p>Berechnet den Durchmesser eines Dendritensegments mit Hilfe des Verzweigungsexponenten in Gleichung 2, der der Variablen „ralfaktor“ entspricht.</p>
<pre>FUNCTION gauss(sd,ralfaktor:real):real; VAR i:Integer;zufall:Real; BEGIN zufall:=0; FOR i:=1 TO 12 DO zufall:=zufall+RANDOM; zufall:=(zufall-6)*sd+ralfaktor; gauss:=zufall; IF zufall<0 THEN BEGIN writeln('negativer Exponent, Standardabweichung zu gross ! '); readln; end; END;</pre>	<p>Der Verzweigungsexponent (entspricht der Variablen „ralfaktor“) ist normalverteilt mit einer Standardabweichung „sd“. Aus dieser Normalverteilung wird zufällig ein Wert für den Verzweigungsexponenten gezogen.</p>
<pre>FUNCTION g_in(d:zeiger):real; VAR gout,goo,g,l_durch_lambda:Real; BEGIN l_durch_lambda:=d^.laenge/d^.lambda; goo:=pi*d^.lambda*d^.dicke/membrane_resistivity; IF d^.next1=NIL THEN g:=goo*tanh(l_durch_lambda) ELSE BEGIN gout:=g_in(d^.next1)+g_in(d^.next2); g:=goo*((gout/goo)+tanh(l_durch_lambda))/(1+(gout/goo)*tanh(l_durch_lambda)); END; g_in:=g; END;</pre>	<p>Der Eingangswiderstand g_in wird nach den Gleichungen 3-5 rekursiv berechnet.</p>
<pre>Procedure datei_kommentar(VAR datei:text); Var dateialt:text; eingabe:Char; kommentar:Str80; BEGIN Write(' Kommentar übernehmen ? '); Readln(eingabe); IF eingabe='j' THEN BEGIN Assign(dateialt,lau+name+'.dat'); Reset(dateialt); Repeat Readln(dateialt,kommentar); Writeln(datei,kommentar); UNTIL kommentar='*'; Close(dateialt); END ELSE BEGIN Writeln(' Kommentar der neuen Datei: ("*" für Ende) '); Repeat Readln(kommentar); Writeln(datei,kommentar); Until kommentar='*'; END; END;</pre>	<p>Wir speichern die Kompartiment-Neuronmodelle in ASCII-Dateien mit speziellem Format.</p>

<pre> PROCEDURE erstelle_baum(VAR ze:Integer;sp:Integer;VAR d,vorgaenger:zeiger); VAR element:String[4];elementint,c,zaehl : integer; BEGIN element:=copy(feld_laenge[ze],sp,length(feld_laenge[ze])-sp+1); VAL (element,elementint,c); new(d); d^.laenge:=elementint; d^.dicke:=feld_dicke[ze]; IF vorgaenger=NIL THEN d^.stem:=true ELSE d^.stem:=false; d^.next1:=NIL; d^.next2:=NIL; d^.vor:=vorgaenger; ze:=ze+1; zaehl:=1; WHILE feld_laenge[ze][zaehl]=' ' DO inc(zaehl); IF zaehl=sp+1 THEN BEGIN sp:=sp+1; erstelle_baum(ze,sp,d^.next1,d); erstelle_baum(ze,sp,d^.next2,d); END; END; </pre>	<p>Aus den Daten in unseren Dateien können wir eine Liste binärer Bäume für das Segment-Neuronmodell erstellen. Hier wird rekursiv ein Dendritenbaum des Neurons erstellt.</p>
<pre> PROCEDURE total_length(d:zeiger;VAR neuron:neurontyp;VAR h,laengemax:INTEGER); VAR hm1,hm2,l1,l2:Integer; BEGIN h:=h+1; laengemax:=laengemax+d^.laenge; WITH neuron DO BEGIN IF d^.next1=NIL THEN BEGIN twigs:=twigs+1; l_twigs:=l_twigs+d^.laenge; END ELSE BEGIN nodes:=nodes+1; l_nodes:=l_nodes+d^.laenge; hm1:=h;hm2:=h; l1:=laengemax; l2:=laengemax; total_length(d^.next1,neuron,hm1,l1); total_length(d^.next2,neuron,hm2,l2); IF hm1<hm2 THEN hm1:=hm2; IF h<hm1 THEN h:=hm1; IF l1<l2 THEN l1:=l2; IF laengemax<l1 THEN laengemax:=l1; END; END; END; </pre>	<p>Berechnung der Gesamtlänge der Dendriten und der Anzahl der aufeinanderfolgenden Segmente.</p>
<pre> PROCEDURE parameter_berechnen(VAR neuron:neurontyp); (* max Höhe und Laenge eines Dendritenbaumes *) VAR i,hm1,hm2,l1,l2,laengemax:Integer; BEGIN WITH neuron DO BEGIN nodes:=0;twigs:=0; l_stems:=0;l_nodes:=0;l_twigs:=0; U:=0;l:=0;l_mean:=0; hm:=1;laengemax:=0; FOR i:=1 TO stems DO BEGIN l_stems:=l_stems+soma[i]^laenge; IF soma[i]^next1<>NIL THEN BEGIN hm1:=1;hm2:=1; </pre>	<p>Berechnung diverser metrischer Parameter</p>

<pre> l1:=soma[i]^*.laenge; l2:=soma[i]^*.laenge; total_length(soma[i]^*.next1,neuron,hm1,l1); total_length(soma[i]^*.next2,neuron,hm2,l2); END; IF hm1<hm2 THEN hm1:=hm2; IF hm<hm1 THEN hm:=hm1; IF l1<l2 THEN l1:=l2; IF laengemax<l1 THEN laengemax:=l1; END; lmax:=laengemax; l:=l_stems+l_nodes+l_twigs; u:=stems+nodes+twigs; l_mean:=l / u; l_stems:=l_stems / stems; IF nodes<>0 THEN l_nodes:=l_nodes / nodes; IF twigs<>0 THEN l_twigs:=l_twigs / twigs; END; END; </pre>	
<pre> FUNCTION dend_area(d:zeiger):real; BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN dend_area:=d^.laenge*pi*d^.dicke+dend_area(d^.next1)+dend_area(d^.next2); END ELSE dend_area:=0; END; </pre>	<p>Berechnung der Oberfläche eines jeden Segmentes durch rekursiven Funktionsaufruf</p>
<pre> PROCEDURE membranoberflaeche(VAR neuron:neurontyp); VAR i:Integer; BEGIN WITH neuron DO BEGIN somaarea:=somalaenge*somadicke*pi; totalarea:=somaarea; FOR i:=1 TO stems DO totalarea:=totalarea+dend_area(soma[i]); END; END; </pre>	<p>Berechnung der Membranoberfläche des gesamten Neurons</p>
<pre> PROCEDURE dendritendicke(neuron:neurontyp); VAR typen:text; nameneu:Str8; stammdicke:Real; kommentar:Str80; dicke:array[1..18] of Integer; (*z:Integer; *) rallfaktor,sd:Real; PROCEDURE rall_dendritendicke(d:zeiger;sp:Integer;dicke,rallfaktor,sd:real); VAR laenge,dummy:string[20]; i:Integer; gaussrall:Real; BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN str(d^.laenge,laenge); dummy:=""; for i:=1 to sp-1 do dummy:=dummy+' '; laenge:=dummy+laenge; Writeln(typen,laenge); Writeln(typen,dicke:3:2); IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN IF sd<>0 THEN gaussrall:=gauss(sd,rallfaktor) ELSE gaussrall:=rallfaktor; rall_dendritendicke(d^.next1,sp+1,tochter_dicke(dicke,gaussrall),rallfaktor,sd); rall_dendritendicke(d^.next2,sp+1,tochter_dicke(dicke,gaussrall),rallfaktor,sd); </pre>	<p>Für ein Segment-Neuronmodell können in der zugehörigen Datei die Dicken der einzelnen Segmente abgespeichert werden. Man wird nach dem Verzweigungsexponenten (=“rallfaktor“) gefragt. Gibt man keinen an, so werden die Dicken auf vom Benutzer bestimmte Werte für Stamm, Mittelstücke und Endverzweigungen gesetzt. Dies geschieht in rek_dend_dicke.</p> <p>Wird ein Verzweigungsexponent angegeben, so wird nach der Standardabweichung und der Dicke der Stämme gefragt, und danach werden die folgenden Dicken in der Funktion „rall_dendritendicke“ berechnet. In dieser Funktion wird für jede Verzweigung ein Zufallswert aus der Gauss-Normalverteilung des Verzweigungsexponenten mit</p>

<pre> END; END; END; PROCEDURE rek_dend_dicke(VAR d:zeiger;sp:INTEGER); VAR laenge,dummy:String[18]; i,segment:INTEGER; BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN str(d^.laenge,laenge); dummy:=""; for i:=1 to sp-1 do dummy:=dummy+' '; laenge:=dummy+laenge; Writeln(typen,laenge); IF sp=1 THEN segment:=1 ELSE IF d^.next1=NIL THEN segment:=3 ELSE segment:=2; Writeln(typen,dicke[segment]); END; IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN rek_dend_dicke(d^.next1,sp+1); rek_dend_dicke(d^.next2,sp+1); END; END; END; BEGIN titel(' Dicken veraendern :'); Write(' Name der neuen Datei : '); Readln(nameneu); Assign(typen,lau+nameneu+'.dat'); Rewrite(typen); datei_kommentar(typen); Writeln(typen,neuron.somalaenge); Writeln(typen,neuron.somadicke); Writeln(typen,neuron.stems); (* anzahl der staemme *) write('Faktor für Berechnung nach Rall (0 für Einzeleingabe) : '); readln(rallfaktor); IF rallfaktor=0 THEN BEGIN writeln('dicke stem : ');readln(dicke[1]); writeln('dicke node : ');readln(dicke[2]); writeln('dicke twig : ');readln(dicke[3]); FOR i:=1 TO neuron.stems DO rek_dend_dicke(neuron.soma[i],1); END ELSE BEGIN Write('Dicke des Stammes: '); Readln(stammdicke); Write('Standardabweichung : '); Readln(sd); FOR i:=1 TO neuron.stems DO rall_dendritendicke (neuron.soma[i],1,stadmdicke,rallfaktor,sd); END; Close(typen); END; </pre>	<p>der eingegebenen Standardabweichung gezogen, und mit diesem Wert die Dicke der jeweils folgenden Dendritensegmente nach Gleichung 2 berechnet.</p> <p>Das Neuronmodell mit den so berechneten Dicken kann in einer Datei abgespeichert werden.</p>
<pre> Procedure isometrisches_wachstum(neuron:neurontyp); (* multipliziert in *.dat Länge und Dicken mit Wachstumsfaktoren *) VAR datei:text; nameneu:Str8; eingabe:Char; laengenfaktor,dickenfaktor,somafaktor:Real; PROCEDURE rek_isodendriten(d:zeiger;sp:Integer); VAR laenge,dummy:string[20]; </pre>	<p>Man kann ein Neuronmodell isometrisch skalieren. Dazu gibt man die Skalierungsfaktoren für Längen- und Dickenskalierung ein. (Nur wenn die Längen- und Dickenskalierungsparameter gleich sind, handelt es sich um isometrische Skalierung) Die Datei des Neuronmodells</p>

<pre> dicke:real; i:Integer; BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN d^.laenge:=round(d^.laenge*laengenfaktor); str(d^.laenge,laenge); dummy:=""; for i:=1 to sp-1 do dummy:=dummy+' '; laenge:=dummy+laenge; Writeln(datei,laenge); dicke:=d^.dicke*dickenfaktor; Writeln(datei,dicke:2:1); IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN rek_isodendriten(d^.next1,sp+1); rek_isodendriten(d^.next2,sp+1); END; END; END; BEGIN titel(' Isometrisches wachstum '); Write(' Name der neuen Datei : '); Readln(nameneu); Assign(datei,lau+nameneu+'.dat'); Rewrite(datei); datei_kommentar(datei); write(' Wachstums-Faktor Länge: '); readln(laengenfaktor); write(' Wachstums-Faktor Dicke: '); readln(dickenfaktor); write(' Wachstums-Faktor Soma: '); readln(somafaktor); Writeln(datei,round(neuron.somalaenge*somafaktor)); Writeln(datei,round(neuron.somadicke*somafaktor)); Writeln(datei,neuron.stems); (* anzahl der staemme *) FOR i:=1 TO neuron.stems DO rek_isodendriten(neuron.soma[i],1); Close(datei); END; </pre>	<p>wird entsprechend aktualisiert.</p>
<pre> PROCEDURE kanaele_einlesen; VAR kanaldatei:text; name:String[8]; kommentar:Str80; anz,i,segment:INTEGER; BEGIN titel(' Kanaele einlesen'); Write(' Name der Kanal Datei : '); Readln(name); Assign(kanaldatei,lau+name+'.k'); Reset(kanaldatei); kommentar:=""; WHILE NOT (copy(kommentar,1,1)='*') DO BEGIN readln(kanaldatei,kommentar); writeln(kommentar); END; FOR segment:=0 TO 2 DO BEGIN Readln(kanaldatei,anz); Writeln('Anzahl: ',anz); neuronkanaele[segment].anz:=anz; FOR i:=1 TO anz DO BEGIN readln(kanaldatei,neuronkanaele[segment].name[i]); Write(' ',neuronkanaele[segment].name[i],' '); </pre>	<p>Diese Prozedur wird für die Erstellung aktiver Modelle gebraucht, um Kanäle auf die einzelnen Segmente zu setzen.</p>

<pre> readln(kanaldatei,neuronkanaele[segment].dichte[i]); Writeln(neuronkanaele[segment].dichte[i]); END; Close(kanaldatei); somakanaele:="";stemkanaele:="";dendkanaele:=""; FOR i:=1 TO neuronkanaele[0].anz DO somakanaele:=somakanaele+neuronkanaele[0].name[i]+' '+neuronkanaele[0].dichte[i]+' '; FOR i:=1 TO neuronkanaele[1].anz DO stemkanaele:=stemkanaele+neuronkanaele[1].name[i]+' '+neuronkanaele[1].dichte[i]+' '; FOR i:=1 TO neuronkanaele[2].anz DO dendkanaele:=dendkanaele+neuronkanaele[2].name[i]+' '+neuronkanaele[2].dichte[i]+' '; writeln(somakanaele); writeln(stemkanaele); writeln(dendkanaele); END; (* Wert:=(2*neuron.somadicke*0.2-0.04)* *) (* neuron.somalaenge*PI/4; *) (* Wert:=-1/(2*96487*Wert); 1/(z*F*vol)* *) (* str(Wert,neuron.soma_kanaele.dichte[i]);*) </pre>	
<pre> PROCEDURE electrical_parameters(neuron:neurotyp;VAR d:zeiger); VAR area,xarea:Real; BEGIN area :=d^.laenge*d^.dicke*pi; xarea:=pi*d^.dicke*d^.dicke/4; d^.membrane_resistance:=membrane_resistivity/area; d^.axial_resistance:=axial_resistivity*d^.laenge/xarea; (* MOhm *) d^.capacitance:=capacity*area;(* nF *) d^.lambda:=lambda(d^.dicke,membrane_resistivity,axial_resistivity); IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN electrical_parameters(neuron,d^.next1); electrical_parameters(neuron,d^.next2); END; END; </pre>	<p>Berechnet elektrophysiologische Parameter für die einzelnen Segmente</p>
<pre> PROCEDURE installiere; VAR vor:zeiger;ze:Integer; BEGIN einh['3']:='nF'; einh['1']:='MOhm'; einh['2']:='MOhm'; einh['5']:='µm'; einh['6']:='µm'; einh['4']:='µm'; einh['7']:='units'; ze:=1; val(feld_laenge[0],neuron.stems,c); vor:=NIL; FOR i:=1 TO neuron.stems DO erstelle_baum(ze,1,neuron.soma[i],vor); writeln('Stamm',i); parameter_berechnen(neuron); membranoberflaeche(neuron); FOR i:=1 TO neuron.stems DO electrical_parameters(neuron,neuron.soma[i]); neuron.soma_membrane_resistance:=membrane_resistivity/(pi*neuron.somadicke*neuron.somalaenge); neuron.soma_axial_resistance:=axial_resistivity*neuron.somalaenge/(neuron.somadicke </pre>	<p>Erstellt die Liste der binären Bäume für ein Neuronmodell und berechnet metrische und elektrophysiologische Parameter und Eingangswiderstand für das gesamte Neuron und Membraneigenschaften (Rm, Ra, Cm) für den Zellkörper.</p>

<pre> ke*neuron.somadicke*pi/4); neuron.soma_capacitance:=capacity*pi*neuron.somadicke*neuron.somalaenge; input_conductance:=1/neuron.soma_membrane_resistance; FOR i:=1 TO neuron.stems DO input_conductance:=input_conductance+g_in(neuron.soma[i]); Writeln('baum erstellt'); readln; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE feld_laden(VAR laenge:t_feldlaenge;VAR dicke:t_felddicke;var stems:integer); VAR typen:text; z,c,n:integer; kommentar:Str80; BEGIN titel(' Neuron laden'); Write(' Name : '); Readln(name); Assign(typen,lau+name+'.dat'); Reset(typen); Readln(typen,kommentar); textcolor(15); neuron.kommentar:=kommentar;writeln(kommentar); kommentar:="; WHILE NOT (kommentar=*) DO BEGIN readln(typen,kommentar); writeln(kommentar); END; textcolor(11); Readln(typen,neuron.somalaenge); Readln(typen,neuron.somadicke); Readln(typen,laenge[0]); (* anzahl der staemme *) n:=1; while not eof(typen) do begin readln(typen,laenge[n]); readln(typen,dicke[n]); n:=n+1; end; Close(typen); val(laenge[0],stems,c); writeln('feld geladen'); readln; installiere; END; </pre>	<p>Lädt die Daten für ein Neuronmodell aus einer Datei und erstellt damit das Modell (d.h. es ruft die Funktion „installiere“ auf).</p>
<pre> PROCEDURE gesamtparameter_ausgeben(neuron:neurontyp); BEGIN gotoxy(1,16); writeln('Parameter des gesamten neurons'); WITH neuron DO BEGIN Writeln(stems,' stems mean length: ',l_stems:6:2); Writeln(nodes,' internodes mean length: ',l_nodes:6:2); Writeln(twigs,' twigs mean length: ',l_twigs:6:2); Writeln('mean length : ',l_mean:6:2); Writeln('total length : ',l:6:0); Writeln('number of segments : ',u); Writeln('max Höhe eines Dendriten : ',hm); Writeln('max Länge eines Dendriten : ',lmax); END; END; </pre>	<p>Gibt die metrischen Parameter des Neuronmodells aus.</p>
<pre> PROCEDURE feldausgabe(a:Char;d:zeiger;x:Integer;VAR y:Integer); BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN Gotoxy(x,y); </pre>	<p>Gibt einen Parameter eines Dendritenbaumes als Feld aus.</p>

<pre> CASE a OF '1':Write(d^.membrane_resistance:4:4); '2':Write(d^.axial_resistance:4:1); '3':Write(d^.capacitance:4:3); '4':Write(d^.lambda:4:3); '5':Write(d^.laenge); '6':Write(d^.dicke:2:1); END; IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN y:=y+1; feldausgabe(a,d^.next1,x+1,y); y:=y+1; feldausgabe(a,d^.next2,x+1,y); END; END; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE baumausgabe(a:Char;d:zeiger;x,y,z:INTEGER); BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN Gotoxy(x,y); CASE a OF '1':Write(d^.membrane_resistance:4:4); '2':Write(d^.axial_resistance:4:1); '3':Write(d^.capacitance:4:3); '4':Write(d^.lambda:4:3); '5':Write(d^.laenge); '6':Write(d^.dicke:2:1); '7':write(d^.laenge/d^.lambda:4:3); END; baumausgabe(a,d^.next1,x-z,y+1,z div 2); baumausgabe(a,d^.next2,x+z,y+1,z div 2); END; END; </pre>	<p>Gibt einen Parameter eines Dendritenbaumes in binärer Baumstruktur aus.</p>
<pre> PROCEDURE ausgabe(b,a:Char;neuron:neurontyp); VAR i,y:Integer; BEGIN CLRSCR; REPEAT y:=2; Gotoxy(1,1); Writeln('stem number (1-',neuron.stems,') : '); Readln(i); IF i<>0 THEN BEGIN Clrscr; writeln('die einheit ist : ',ein[a], ' '); IF b='b' THEN baumausgabe(a,neuron.soma[i],30,6,16) ELSE feldausgabe(a,neuron.soma[i],1,y); Readln; END; UNTIL i=0; END; </pre>	<p>Gibt einen Dendritenbaum als binären Baum oder als Feld aus.</p>
<pre> PROCEDURE ausgabe_parameters(b:char;neuron:neurontyp); VAR a:Char; BEGIN REPEAT titel(' Ausgabe'); Writeln('1) membrane resistance'); Writeln('2) axial resistance'); Writeln('3) capacitance'); Writeln('4) lambda'); Writeln('5) laenge'); </pre>	<p>Man kann auswählen, welche Werte ausgegeben werden sollen. Zu Beginn werden in jedem Fall die metrischen Parameter des gesamten Neurons ausgegeben. Man muß noch angeben, welchen Dendritenbaum man ausgegeben haben möchte, und dann wird dieser in binärer</p>

<pre> Writeln('6 dicke'); writeln('7 l/lambda'); gesamtparameter_ausgeben(neuron); gotoxy(1,10); readln(a); IF a<>'0' THEN ausgabe(b,a,neuron) UNTIL a='0'; END; </pre>	<p>Baumstruktur oder als Feld ausgegeben.</p>
<pre> PROCEDURE konstanten_und_soma_ausgabe; BEGIN Clrscr; textcolor(13); Writeln('capacity :',capacity:12:10,e_c); Writeln('membrane resistivity :',membrane_resistivity:12:10,e_rm); Writeln('axial resistivity :',axial_resistivity:12:10,e_ra); Writeln('membrane time const :',tau:12:10,e_tau); Writeln; Writeln('surface area ',neuron.totalarea:8:6,' µm^2'); Writeln('input conductance ',input_conductance:12:10,' ',µS); Writeln('input resistance ',1/input_conductance:12:10,' ',MΩ); Writeln; WITH neuron DO BEGIN Writeln(' SOMA'); Writeln('length ',somalaenge,' µm'); Writeln('diameter ',somadicke,' µm'); Writeln('surface area ',somaarea:8:6,' µm^2'); Writeln('capacitance ',soma_capacitance,' nF'); Writeln('membrane resistance',soma_membrane_resistance,' MΩ'); Writeln('axial resistance ',soma_axial_resistance,' MΩ'); END; Readln; END; </pre>	<p>Es werden Standardparameter und Zellkörperparameter ausgegeben.</p>
<pre> PROCEDURE graphik(d:zeiger;x,y,z:INTEGER); BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN setcolor(white); line(x,y,x,y-z); line(x,y-z,x+trunc(80*(d^.next1^.laenge/d^.next1^.lambda)),y-z); line(x,y,x,y+z); line(x,y+z,x+trunc(80*d^.next2^.laenge/d^.next2^.lambda),y+z); graphik(d^.next1,x+trunc(80*d^.next1^.laenge/d^.next1^.lambda),y-z,z div 2); graphik(d^.next2,x+trunc(80*d^.next2^.laenge/d^.next2^.lambda),y+z,z div 2); END; END; PROCEDURE graphik2(d:zeiger;x,y,z:INTEGER); BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN setcolor(white); line(x,y,x,y-z); line(x,y-z,x+trunc(d^.next1^.laenge/5),y-z); line(x,y,x,y+z); line(x,y+z,x+trunc(d^.next2^.laenge/5),y+z); graphik2(d^.next1,x+trunc(d^.next1^.laenge/5),y-z,z div 2); graphik2(d^.next2,x+trunc(d^.next2^.laenge/5),y+z,z div 2); END; END; </pre>	<p>Ein Dendritenbaum wird als Dendrogramm ausgegeben. Wir benutzen die Funktion „graphik2“.</p>
<pre> PROCEDURE kastendend(d:zeiger;x,y,z:INTEGER); BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN setcolor(white); line(x,y,x,y-z); bar(x,y-z, </pre>	<p>Das Neuronmodell kann als Dendrogramm aus Strichen oder Kästen grafisch dargestellt werden. Es können Dateien erzeugt werden, die die grafische Darstellung</p>

<pre> x+trunc(d^.next1^.laenge/5),y-z+round(d^.next1^.dicke)); rectangle(x,y-z, x+trunc(d^.next1^.laenge/5),y-z+round(d^.next1^.dicke)); line(x,y,x,y+z); bar(x,y+z, x+trunc(d^.next2^.laenge/5),y+z+round(d^.next2^.dicke)); rectangle(x,y+z, x+trunc(d^.next2^.laenge/5),y+z+round(d^.next2^.dicke)); kastendend(d^.next1,x+trunc(d^.next1^.laenge/5),y-z,z div 2); kastendend(d^.next2,x+trunc(d^.next2^.laenge/5),y+z,z div 2); END; END; PROCEDURE kastendendrogramm(neuron:neurontyp); BEGIN installgraphics(ok); outtext(neuron.kommentar); line(20,400,40,400); line(20,398,20,402); line(40,398,40,402); moveto(24,406); outtext('100 µm'); line(30,420,30,424); line(28,420,32,420); line(28,424,32,424); moveto(39,420); outtext('5 µm'); setfillstyle(1,5); line(100,82,100,82*neuron.stems); (*Stämme verbinden*) bar(100-(round(neuron.somalaenge/5)), round(82*neuron.stems/2)+round(neuron.somadicke/2), 100,round(82*neuron.stems/2)-round(neuron.somadicke/2)); rectangle(100-(round(neuron.somalaenge/5)), round(82*neuron.stems/2)+round(neuron.somadicke/2), 100,round(82*neuron.stems/2)-round(neuron.somadicke/2)); FOR i:=1 TO neuron.stems DO BEGIN bar(100,82*i, 100+round(neuron.soma[i]^laenge/5), 82*i+round(neuron.soma[i]^dicke)); rectangle(100,82*i, 100+round(neuron.soma[i]^laenge/5), 82*i+round(neuron.soma[i]^dicke)); kastendend(neuron.soma[i],100+round(neuron.soma[i]^laenge/5),82*i,28); (*line(80*i,100,80*i,100+round(100*neuron.soma[i]^laenge/neuron.soma[i]^lambda)); graphik(neuron.soma[i],80*i,100+round(100*neuron.soma[i]^laenge/neuron.soma[i]^lambda),20);*) END; readln; closegraph; END; PROCEDURE pskastendendrogramm(neuron:neurontyp); VAR psdatei:text; x,y:Real; lskal:Real; (*Laengenskalierung für Druck*) Const obererrand=840; links=120; abst=100; (* Abstand zwischen Dendriten*) PROCEDURE pskastendend(neuron:neurontyp;d:zeiger;x,y:Real;z:Integer;VAR datei:text); VAR psx,psy:Real; BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN psx:=x;psy:=obererrand-y; Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto'); psx:=x;psy:=obererrand-(y-z); Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto'); psy:=obererrand-(y-z); Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto'); </pre>	<p>beschreiben.</p>
---	---------------------

```

psx:=x+d^.next1^.laenge/lskal;psy:=obererrand-(y-z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x+d^.next1^.laenge/lskal; psy:=obererrand-(y-z+d^.next1^.dicke);;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x; psy:=obererrand-(y-z+d^.next1^.dicke);;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x; psy:=obererrand-(y-z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x;psy:=obererrand-y;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto');
psx:=x;psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,x,' ',psy,' moveto');
psx:=x+d^.next2^.laenge/lskal;psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x+d^.next2^.laenge/lskal; psy:=obererrand-(y+z+d^.next2^.dicke);;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x; psy:=obererrand-(y+z+d^.next2^.dicke);;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
psx:=x; psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
pskastendend(neuron,d^.next1,(x+d^.next1^.laenge/lskal),y-z,z div 2,datei);
pskastendend(neuron,d^.next2,(x+d^.next2^.laenge/lskal),y+z,z div 2,datei);
END;

END;

BEGIN
titel(' PS Datei fuer Kasten-Dendrogramm');
Write(' Name der Datei: ');
Readln(name);
Writeln('Längenskalierung :');
Readln(lskal);
Assign(psdatei,lau+name+'.ps');
Rewrite(psdatei);
(* writeln(psdatei,'%!PS-Adobe-2.0');*)
writeln(psdatei,'%!PS-Adobe-2.0');
writeln(psdatei,'/Times-Roman findfont 10 scalefont setfont');
writeln(psdatei,'0.4 0.4 scale');
x:=15;y:=obererrand-15;
writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
writeln(psdatei,'(',neuron.kommentar,') show');
Writeln(psdatei,'newpath');

x:=100; y:=obererrand-abst*neuron.stems;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=199; y:=obererrand-abst*neuron.stems;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems-10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=199; y:=obererrand-(abst*neuron.stems-10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=199; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=205;y:=obererrand-(abst*neuron.stems+2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
writeln(psdatei,'( 100 µm show');

x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=90; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=110; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20);

```

```

Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=90; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=110; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=115;y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
writeln(psdatei,'( 5 µm) show');

x:=links; y:=obererrand-abst*neuron.stems;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=links; y:=obererrand-abst;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=links-neuron.somalaenge/lskal;
y:=obererrand-
  ((neuron.stems+1)*abst/2 + neuron.somadicke/2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); (*soma an die y-Mitte des Baumes*)
x:=links;
y:=obererrand-((neuron.stems+1)*abst/2 + neuron.somadicke/2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=links;
y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 - neuron.somadicke/2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=(links-neuron.somalaenge/lskal);
y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 - neuron.somadicke/2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=(links-neuron.somalaenge/lskal);
y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 + neuron.somadicke/2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
  FOR i:=1 TO neuron.stems DO
    BEGIN
x:=links; y:=obererrand-abst*i;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=links+(neuron.soma[i]^laenge/lskal); y:=obererrand-abst*i;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=links+(neuron.soma[i]^laenge/lskal);
abst*i+(neuron.soma[i]^dicke);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=links; y:=obererrand-abst*i+neuron.soma[i]^dicke;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=links; y:=obererrand-abst*i;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');

pskastendend(neuron,neuron.soma[i],links+(neuron.soma[i]^laenge/lskal),abst*i,28,p
sdatei);
  END;
Writeln(psdatei,'stroke');
Writeln(psdatei,'showpage');
close(psdatei);
writeln('Datei geschrieben'); readln;
END;

PROCEDURE psdendrogramm(neuron:neurontyp);
VAR psdatei:text;
    x,y:Real;

Const obererrand=840;
      links=60;
      abst=50; (* Abstand zwischen Dendriten*)
      dickenskal=0.8;
      lskal=0.2;

PROCEDURE psdend(neuron:neurontyp;d:zeiger;x,y:Real;z:Integer;VAR datei:text);
VAR psx,psy:Real;
BEGIN
IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN

```

```

Writeln(datei,'1 setlinewidth');
psx:=x;psy:=obererrand-y;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto');
psx:=x;psy:=obererrand-(y-z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
writeln(datei,'stroke');
psy:=obererrand-(y-z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto');
psx:=x+d^.next1^.laenge*lskal;psy:=obererrand-(y-z);
Writeln(datei,d^.next1^.dicke*dickenskal,' setlinewidth');
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
Writeln(datei,'stroke');

Writeln(datei,'1 setlinewidth');
psx:=x;psy:=obererrand-y;
Writeln(datei,psx,' ',psy,' moveto');
psx:=x;psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
writeln(datei,'stroke');
Writeln(datei,d^.next2^.dicke*dickenskal,' setlinewidth');
psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,x,' ',psy,' moveto');
psx:=x+d^.next2^.laenge*lskal;psy:=obererrand-(y+z);
Writeln(datei,psx,' ',psy,' lineto');
writeln(datei,'stroke');
psdend(neuron,d^.next1,(x+d^.next1^.laenge*lskal),y-z,z div 2,datei);
psdend(neuron,d^.next2,(x+d^.next2^.laenge*lskal),y+z,z div 2,datei);
END;
END;

BEGIN
titel(' PS Datei fuer Dendrogramm');
Write(' Name der Datei: ');
Readln(name);
(* Writeln('Längenskalierung :');Readln(lskal);*)
Assign(psdatei,lau+name+'.ps');
Rewrite(psdatei);
(* writeln(psdatei,'%!PS-Adobe-2.0');*)
writeln(psdatei,'%!PS-Adobe-2.0');
writeln(psdatei,'/Times-Roman findfont 10 scalefont setfont');
(* writeln(psdatei,'0.4 0.4 scale');*)
x:=15;y:=obererrand-15;
writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
(* writeln(psdatei,'(,neuron.kommentar,) show');*)
Writeln(psdatei,'newpath');

(* x:=100; y:=obererrand-abst*neuron.stems;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=199; y:=obererrand-abst*neuron.stems;
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems-10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=199; y:=obererrand-(abst*neuron.stems-10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=199; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+10);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=205;y:=obererrand-(abst*neuron.stems+2);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
writeln(psdatei,'( 100 µm) show');

x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto');
x:=100; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24);
Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto');
x:=90; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20);

```

<pre> Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); x:=110; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+20); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); x:=90; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24); Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); x:=110; y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); x:=115;y:=obererrand-(abst*neuron.stems+24); Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); writeln(psdatei,'(5 µm) show'); *) x:=links; y:=obererrand-abst*neuron.stems; Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); x:=links; y:=obererrand-abst; Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); writeln(psdatei,'stroke'); writeln(psdatei,neuron.somadicke*dickenskal,' setlinewidth'); x:=links; y:=obererrand-(neuron.stems+1) *abst/2); writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); x:=links-neuron.somalaenge*lskal; writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); writeln(psdatei,'stroke'); (* x:=links-neuron.somalaenge/lskal; y:=obererrand-(neuron.stems+1) *abst/2 + neuron.somadicke/2); Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); soma an die y-Mitte des Baumes x:=links; y:=obererrand-((neuron.stems+1)*abst/2 + neuron.somadicke/2); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); x:=links; y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 - neuron.somadicke/2); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); x:=(links-neuron.somalaenge/lskal); y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 - neuron.somadicke/2); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); x:=(links-neuron.somalaenge/lskal); y:=obererrand-(abst*(neuron.stems+1)/2 + neuron.somadicke/2); Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); *) FOR i:=1 TO neuron.stems DO BEGIN Writeln(psdatei,neuron.soma[i]^d.icke*dickenskal,' setlinewidth'); x:=links; y:=obererrand-abst*i; Writeln(psdatei,x,' ',y,' moveto'); x:=links+(neuron.soma[i]^l.aenge*lskal); y:=obererrand-abst*i; Writeln(psdatei,x,' ',y,' lineto'); writeln(psdatei,'stroke'); psdend(neuron,neuron.soma[i],links+(neuron.soma[i]^l.aenge*lskal), abst*i,14,psdatei); END; Writeln(psdatei,'stroke'); Writeln(psdatei,'showpage'); close(psdatei); writeln('Datei geschrieben'); readln; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE neuron_zeichnen(d:zeiger;x,y,bogen,interval:Real;i:Integer;neuron:neurontyp); VAR x1,y1,x2,y2,bogen1,bogen2:Real; BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN setcolor(white); bogen1:=bogen*i+interval; bogen2:=bogen*i-interval; x1:=x+cos(bogen1)*d^.next1^.laenge; x2:=x+cos(bogen2)*d^.next2^.laenge; y1:=y+sin(bogen1)*d^.next1^.laenge; </pre>	<p>Die Dendritenbäume werden radiär um den Zellkörper angeordnet ausgegeben.</p>

<pre> y2:=y+sin(bogen2)*d^.next2^.laenge; d^.next1^.x:=x1;d^.next1^.y:=y1; d^.next1^.z:=0; d^.next2^.x:=x2;d^.next2^.y:=y2; d^.next2^.z:=0; line(round(200+x/10),round(200+y/10),round(200+x1/10),round(200+y1/10)); line(round(200+x/10),round(200+y/10),round(200+x2/10),round(200+y2/10)); neuron_zeichnen(d^.next1,x1,y1,bogen,interval/2,i,neuron); neuron_zeichnen(d^.next2,x2,y2,bogen,interval/2,i,neuron); END; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE drehe_koordinaten(xyz:Char;VAR hilfx,hilfy,hilfz:Real;phi:Real); BEGIN IF xyz='z' THEN BEGIN hilfx:=hilfx*cos(phi)+hilfy*sin(phi); hilfy:=-hilfx*sin(phi)+hilfy*cos(phi); END ELSE IF xyz='y' THEN BEGIN hilfy:=hilfy*cos(phi)+hilfz*sin(phi); hilfz:=-hilfy*sin(phi)+hilfz*cos(phi); END ELSE BEGIN hilfx:=hilfx*cos(phi)+hilfz*sin(phi); hilfz:=-hilfx*sin(phi)+hilfz*cos(phi); END; END; PROCEDURE rotiere_soma(xyz:Char;d:zeiger;x,y,z:real;neuron:neurontyp); VAR x1,y1,x2,y2,z1,z2,bogen1,bogen2:Real; BEGIN IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN setcolor(white); drehe_koordinaten(xyz,d^.next1^.x,d^.next1^.y,d^.next1^.z,0.1); drehe_koordinaten(xyz,d^.next2^.x,d^.next2^.y,d^.next1^.z,0.1); x1:=d^.next1^.x;y1:=d^.next1^.y; z1:=d^.next1^.z; x2:=d^.next2^.x;y2:=d^.next2^.y; z2:=d^.next2^.z; line(round(200+x/10),round(200+y/10),round(200+x1/10),round(200+y1/10)); line(round(200+x/10),round(200+y/10),round(200+x2/10),round(200+y2/10)); rotiere_soma(xyz,d^.next1,x1,y1,z1,neuron); rotiere_soma(xyz,d^.next2,x2,y2,z1,neuron); END; END; PROCEDURE r; VAR xyz:Char; BEGIN installgraphics(ok); outtext(neuron.kommentar); outtext('richtung x,y,z ');readln(xyz); REPEAT clrscr; circle(200,200,10); FOR i:=1 TO neuron.stems DO BEGIN drehe_koordinaten(xyz,neuron.stemux[i],neuron.stemuy[i],neuron.stemuz[i],0.1); ux:=neuron.stemux[i];uy:=neuron.stemuy[i]; drehe_koordinaten(xyz,neuron.soma[i]^x,neuron.soma[i]^y,neuron.soma[i]^z,0.1); x:=neuron.soma[i]^x;y:=neuron.soma[i]^y; line(round(200+ux/10),round(200+uy/10),round(200+x/10),round(200+y/10)); rotiere_soma(xyz,neuron.soma[i],neuron.soma[i]^x,neuron.soma[i]^y,neuron.soma[i]^z,neuron); END; END; </pre>	<p>Das Neuron kann in einer Grafik wahlweise um die x-, y-, oder z-Achse rotiert werden (unnötige Funktion)</p>

<pre> au:=0';au:=readkey;delay(70); UNTIL au='0'; closegraph; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE koor_rek(VAR datei:text;d:zeiger;ux,uy,x,y,bogen,interval:Real; i:integer;a:t_string;neuron:neurontyp;eingabe:Char); (* teilsegment von (ux,uy) nach (x,y) *) VAR x1,y1,x2,y2,teilposx,teilposy,merketeilx,merketeily,bogen1,bogen2:Real; aneu,vorg,teilverg:string[30]; kanalstring:String[120]; B_Wert:Real;B:String[16]; k,zerlegung,teil,teillaenge:Integer; suffix:String[4]; (*komp kann in 9999 teile zerlegt werden*) BEGIN IF d<>NIL THEN BEGIN vorg:=copy(a,1,length(a)-1); IF vorg='dend' then vorg:='soma'; IF vorg='soma' THEN kanalstring:=stemkanaele ELSE kanalstring:=dendkanaele; zerlegung:=trunc(10*d^.laenge/d^.lambda)+1; (*Komp nicht laenger als 0.1 lamda*) IF eingabe='n' THEN zerlegung:=1; teillaenge:=trunc(d^.laenge/zerlegung); B_Wert:=(2*d^.dicke*0.2-0.04)*teillaenge*PI/4; B_Wert:=-1/(2*96487*B_Wert); (* 1/(z*F*vol) *) B_Wert:=B_Wert*e9*e9; (* von µm in m *) str(B_Wert:16,B); kanalstring:='ca '+B+' '+kanalstring; teil:=1; teilverg:=""; merketeilx:=ux;merketeily:=uy; WHILE teil<zerlegung DO BEGIN teilposx:=(teil*(x-ux) / zerlegung)+ux; teilposy:=(teil*(y-uy) / zerlegung)+uy; str((zerlegung-teil),suffix); suffix:="["+suffix+"]"; IF teil=1 THEN Writeln(datei,a,suffix,' ',vorg,' ',teilposx:6:0, teilposy:6:0,' 0 ',d^.dicke:3:2,' ',kanalstring) ELSE Writeln(datei,a,suffix,' ',a+teilverg,' ', teilposx:6:0,teilposy:6:0,' 0 ',d^.dicke:3:2,' ',kanalstring); teilverg:=suffix; teil:=teil+1; (* line(round(200+merketeilx),round(200+merketeily), round(200+teilposx),round(200+teilposy));*) merketeilx:=teilposx;merketeily:=teilposy; END; IF zerlegung>1 THEN BEGIN Writeln(datei,a,' ',a+teilverg,' ',x:6:0,y:6:0,' 0 ', d^.dicke:3:2,' ',kanalstring); (*line(round(200+merketeilx),round(200+merketeily),round(200+x),round(200+y));*) END ELSE BEGIN Writeln(datei,a,' ',vorg+teilverg,' ',x:6:0,y:6:0,' 0 ', d^.dicke:3:2,' ',kanalstring); (*line(round(200+ux),round(200+uy),round(200+x),round(200+y));*) END; bogen1:=bogen*i+interval; bogen2:=bogen*i-interval; x1:=x+cos(bogen1)*d^.next1^.laenge; x2:=x+cos(bogen2)*d^.next2^.laenge; y1:=y+sin(bogen1)*d^.next1^.laenge; </pre>	<p>Erstellt eine p-Datei in dem für eine Simulation aktiven elektrophysiologischen Verhaltens in GENESIS nötigen Format.</p> <p>Die Dendritensegmente werden dabei in Kompartimente zerteilt, die jeweils nicht länger als 0.1 Lambda sind. Das Neuronmodell wird so dargestellt, daß die Dendritenbäume radiär vom Zellkörper ausgehen. Dazu werden die Koordinaten für jedes Kompartiment in der rekursiven Funktion „koop_rek“ berechnet. Auf jedes Kompartiment werden die entsprechenden Ionenkanäle gesetzt, die aus einer Datei eingelesen werden. Außerdem erhält jedes Kompartiment ein Kalzium-Kompartiment.</p>

<pre> y2:=y+sin(bogen2)*d^.next2^.laenge; IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN aneu:=a+1'; koor_rek(datei,d^.next1,x,y,x1,y1,bogen,interval/2,i,aneu,neuron,eingabe); aneu:=a+2'; koor_rek(datei,d^.next2,x,y,x2,y2,bogen,interval/2,i,aneu,neuron,eingabe); END; END; END; PROCEDURE erzeuge_p_datei(neuron:neurontyp); VAR datei:text; p_name:Str8;c,n,k:integer; a:t_string; B_Wert:Real; B:String[16]; eingabe:Char; kanalstring:string[120]; BEGIN titel(' Erstellen einer p datei '); (*channels(neuron);*) kanaele_einlesen; Writeln('Sollen die Kompartments zerlegt werden?'); Readln(eingabe); Write(' Name der p datei : '); Readln(p_name); Assign(datei,lau+ p_name+'.p'); Rewrite(datei); Writeln(datei,'*asymmetric'); Writeln(datei,'*absolute'); Writeln(datei,'*set_global RM ',si_membrane_resistivity:8:6); (*Ohm*m^2*) Writeln(datei,'*set_global RA ',si_axial_resistivity:8:6);(*Ohm*m*) Writeln(datei,'*set_global CM ',si_capacity:8:6); (*F/m^2*) B_Wert:=(2*neuron.somadicke*0.2-0.04)*neuron.somalaenge*PI/4; B_Wert:=-1/(2*96487*B_Wert); (* 1/(z*F*vol) *) B_Wert:=B_Wert*e9*e9; (* von µm in m *) str(B_Wert:16,B); kanalstring:='ca '+B+' '+somakanaele; Writeln(datei,'soma',none ', ' 0', ' 0', ', ',neuron.somalaenge, ', ',neuron.somadicke,', ',kanalstring); bogen:=2*pi/neuron.stems; IF neuron.stems=1 then bogen:=pi; FOR i:=1 TO neuron.stems DO BEGIN ux:=cos(bogen*i);uy:=sin(bogen*i); x:=ux+cos(bogen*i)*neuron.soma[i]^laenge; y:=uy+sin(bogen*i)*neuron.soma[i]^laenge; str(i,a); a:='dend'+a; koor_rek(datei,neuron.soma[i],ux,uy,x,y,bogen,bogen/2,i,a,neuron,eingabe); END; (* readln; closegraph;*) close(datei); writeln('p datei erstellt');readln; END; </pre>	
<pre> PROCEDURE leitfaehigkeiten_bei_kompartiment_setzen(VAR script:text;komp:str8;laenge,dicke:real); VAR flaeche,leitf:real; i,segment,c:Integer; BEGIN flaeche:=laenge*dicke*PI; IF komp='soma' THEN segment:=0 ELSE IF komp='stem' THEN segment:=1 ELSE segment:=2; (*0:soma,1:stem,2:dend*) </pre>	<p>Erstellt eine g-Datei in dem für eine Simulation aktiven elektrophysiologischen Verhaltens in GENESIS nötigen Format. Die Dendritensegmente werden dabei in Kompartiment zerteilt, die jeweils nicht länger als 0.1 Lambda sind. Auf jedes</p>

```

FOR i:=1 TO neuronkanaele[segment].anz DO
BEGIN
  val(neuronkanaele[segment].dichte[i],leitf,c);
  Writeln(script,'setfield ',neuronkanaele[segment].name[i],' Gk ',flaeche*leitf);
END;

END;

PROCEDURE script_dendriten(VAR script:text;d:zeiger;i:t_String);
VAR t,zerlegung:Integer;
    b,teillaenge:Real;
    vorg:String[30];
    kompartment:String;
const
suffix:string='abcdefghijklmnopqrstuvwxyABCDEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ';
BEGIN
  vorg:=copy(i,1,length(i)-1);
  IF vorg="" THEN vorg:='soma';
  IF vorg='soma' then kompartment:='stem' ELSE kompartment:='dend';
  zerlegung:=trunc(10*d^.laenge/d^.lambda)+1;
  teillaenge:=d^.laenge/zerlegung;
  FOR t:=1 to (zerlegung-1) DO
  BEGIN
  IF kompartment='stem' THEN
  Writeln(script,'copy stem /',i+suffix[(zerlegung-t)])
    ELSE
  Writeln(script,'copy dend /',i+suffix[(zerlegung-t)]);

  Writeln(script,'pushe ',i+suffix[(zerlegung-t)]);
  b:=1/(2*faraday*(2*d^.dicke*d_ca-(d_ca*d_ca))*(teillaenge)*pi/4);
  Writeln(script,'setfield ca B ',b:8:6);
  leitfaehigkeiten_bei_kompartiment_setzen(script,
    kompartment,teillaenge,d^.dicke);

  Writeln(script,
'setfield ^ Em -0.060 Rm ',
  membrane_resistivity/(d^.dicke*PI*teillaenge)*1000000:12:10,
  ' Cm ',d^.capacitance*(teillaenge)*d^.dicke*PI/1000000000);
  Writeln(script,'setfield ^ Ra ',
axial_resistivity*(teillaenge)/(d^.dicke*d^.dicke*PI/4)*1000000:12:10);

  IF t=1 THEN Writeln(script,'link_kompartiment ^ .. ')
    ELSE Writeln(script,'link_kompartiment ^ ../',i+suffix[(zerlegung-t+1)]);
  Writeln(script,'pope');
  END;
  IF kompartment='stem' THEN Writeln(script,'copy stem /',i)
    ELSE Writeln(script,'copy dend /',i);
  Writeln(script,'pushe ',i);
  b:=1/(2*faraday*(2*d^.dicke*d_ca-(d_ca*d_ca))*(teillaenge)*pi/4);
  Writeln(script,'setfield ca B ',b:8:6);
  leitfaehigkeiten_bei_kompartiment_setzen(script,
    kompartment,teillaenge,d^.dicke);

  Writeln(script,
'setfield ^ Em -0.060 Rm ',
  membrane_resistivity/(d^.dicke*PI*teillaenge)*1000000:12:10,
  ' Cm ',d^.capacitance*(teillaenge)*d^.dicke*PI/1000000000);
  Writeln(script,'setfield ^ Ra ',
axial_resistivity*(teillaenge)/(d^.dicke*d^.dicke*PI/4)*1000000:12:10);

  IF zerlegung=1 THEN Writeln(script,'link_kompartiment ^ .. ')
    ELSE Writeln(script,'link_kompartiment ^ ../',i+suffix[1]);

  IF d^.next1<>NIL THEN BEGIN
  script_dendriten(script,d^.next1,i+'1');
  script_dendriten(script,d^.next2,i+'2');
  END;
  Writeln(script,'pope');
END;
END;

```

Kompartiment werden die entsprechenden Ionenkanäle mit ihren Leitfähigkeiten gesetzt, die aus einer Datei eingelesen werden. Außerdem erhält jedes Kompartiment ein Kalzium-Kompartiment.

```

PROCEDURE ca_kompartment_auf_kompartment_erstellen(VAR script:text);
VAR b:real;
BEGIN
  Writeln(script,'create Ca_shell ca ');
  Writeln(script,'setfield ca tau 0.0001 // s');
  b:=1/(2*faraday* (2*neuron.somadicke*d_ca-(d_ca*d_ca))*neuron.somalaenge*pi/4);
  Writeln(script,'setfield ca B ',b:8:6);
  Writeln(script,'setfield ca Ca_base 50e-6 // moles/m^3=mM');
  Writeln(script,'setfield ca dia ',d_ca:8:7,'//m');
END;

PROCEDURE kanaele_auf_kompartment_erstellen(VAR
script:text;kanal:Str9;segment:Str8);
VAR umkehrpot:Str8;
BEGIN
  IF kanal='na_ogata' THEN umkehrpot:='0.045' ELSE
  IF kanal='pca_kang' THEN umkehrpot:='0.135' ELSE
  IF kanal='tca_kang' THEN umkehrpot:='0.135' ELSE
  IF kanal='hva_kang' THEN umkehrpot:='0.135' ELSE
  IF kanal='ir_silva' THEN umkehrpot:='-0.030' ELSE
  umkehrpot:='-0.085';
  Writeln(script,'make_',kanal,' . {',umkehrpot,'} {0}');
  Writeln(script,'link_channel2 ',kanal,' ');

  IF kanal='pca_kang' THEN
  BEGIN
    Writeln(script,'addmsg pca_kang ca I_Ca Ik');
    Writeln(script,'addmsg ca pca_kang CONCEN Ca');
  END;
  IF kanal='tca_kang' THEN
  Writeln(script,'addmsg pca_kang ca I_Ca Ik');
  IF kanal='hva_kang' THEN
  BEGIN
    Writeln(script,'addmsg hva_kang ca I_Ca Ik');
    Writeln(script,'addmsg ca hva_kang CONCEN Ca');
  END;
  IF kanal='sk_silva' THEN
  Writeln(script,'addmsg ca sk_silva CONCEN Ca');
  IF kanal='bk_silva' THEN
  Writeln(script,'addmsg ca bk_silva CONCEN Ca');
END;

PROCEDURE script_erstellen(neuron:neurontyp);
VAR script:text;
  name:String[8];
  a:t_string;
  b:real;
  kan:Integer;
BEGIN
  Clrscr;
  kanaele_einlesen; readln;
  titel(' Erstellen eines g skripts'); (* alles si einheiten *)
  Write(' Name: ');
  Readln(name);
  Assign(script,lau+name+'.g');
  Rewrite(script);
  writeln(script,'//genesis');
  writeln(script, 'float CM=', si_capacity:12:10);
  writeln(script, 'float RM=', si_membrane_resistivity:12:10);
  writeln(script, 'float RA=', si_axial_resistivity:12:10);
  Writeln(script,'create compartment /soma');
  Writeln(script,'pushe /soma');
  Writeln(script,'setfield ^ Em -0.060 Rm
',neuron.soma_membrane_resistance*1000000:12:10);
  Writeln(script,'setfield ^ Cm ',neuron.soma_capacitance/1000000000,' Ra
',neuron.soma_axial_resistance*1000000:12:10);

```

<pre> ca_kompartment_auf_kompartment_erstellen(script); For kan:=1 TO neuronkanaele[0].anz DO kanaele_auf_kompartment_erstellen(script, neuronkanaele[0].name[kan], 'soma'); leitfaehigkeiten_bei_kompartment_setzen(script, 'soma', neuron.somalaenge, neuron.somadicke); Writeln(script, 'pope'); Writeln(script, 'create compartment /stem'); Writeln(script, 'pushe /stem'); Writeln(script, 'setfield ^ Em -0.060 Rm ', neuron.soma_membrane_resistance*1000000:12:10); Writeln(script, 'setfield ^ Cm ', neuron.soma_capacitance/1000000000, ' Ra ', neuron.soma_axial_resistance*1000000:12:10); ca_kompartment_auf_kompartment_erstellen(script); For kan:=1 TO neuronkanaele[1].anz DO kanaele_auf_kompartment_erstellen(script, neuronkanaele[1].name[kan], 'stem'); Writeln(script, 'pope'); Writeln(script, 'create compartment /dend'); Writeln(script, 'pushe /dend'); Writeln(script, 'setfield ^ Em -0.060 Rm ', neuron.soma_membrane_resistance*1000000:12:10); Writeln(script, 'setfield ^ Cm ', neuron.soma_capacitance/1000000000, ' Ra ', neuron.soma_axial_resistance*1000000:12:10); ca_kompartment_auf_kompartment_erstellen(script); For kan:=1 TO neuronkanaele[2].anz DO kanaele_auf_kompartment_erstellen(script, neuronkanaele[2].name[kan], 'dend'); Writeln(script, 'pope'); Writeln(script, ""); FOR i:=1 TO neuron.stems DO BEGIN str(i, a); script_dendriten(script, neuron.soma[i], a); END; writeln(script, 'write_cell da.p /soma -author mf'); close(script); Writeln('Script erstellt'); readln; END; </pre>	
<pre> BEGIN Clrscr; textcolor(1); feld_laden(feld_laenge, feld_dicke, neuron.stems); REPEAT a:= ' '; Clrscr; textcolor(3); writeln; Writeln(' ', neuron.kommentar); writeln; textcolor(5); write(' '); FOR i:= 1 TO 46 DO BEGIN textcolor((i mod 15)+1); write('*'); END; writeln; textcolor(13); Writeln(' * L) Neuron laden *'); textcolor(5); Writeln(' * D) Dicken veraendern *'); Writeln(' * i) isometrisches Wachstum *'); textcolor(9); Writeln(' * K) Konst und Soma *'); Writeln(' * B) Baum ausgeben *'); </pre>	<p>Hauptmenü</p>

```

Writeln(' * F) Feld ausgeben *');
textcolor(3);
Writeln(' * S) Neuron zeichnen *');
Writeln(' * ä) Dendrogramm *');
Writeln(' * ö) Dendrogramm mit Dicken *');
Writeln(' * ü) Dendrogramm mit Dicken als .ps *');
textcolor(11);
Writeln(' * P) p-Datei erstellen *');
Writeln(' * G) g-Datei erstellen *');
textcolor(15);
Writeln(' * 0) Ende *');
textcolor(1);
write(' ');
FOR i:= 1 TO 46 DO BEGIN textcolor((i mod 15)+1);write('*'); END;
(* REPEAT UNTIL keypressed;*)
a:=readkey;
delay(300);
writeln;
CASE a OF

'l': feld_laden(feld_laenge,feld_dicke,neuron.stems);
'd': dendritendicke(neuron);
'i': isometrisches_wachstum(neuron);
'k': konstanten_und_soma_ausgabe;
'b': ausgabe_parameters('b',neuron);
'f': ausgabe_parameters('f',neuron);
's':BEGIN
installgraphics(ok);
outtext(neuron.kommentar);
circle(200,200,10);
bogen:=2*pi/neuron.stems;
IF neuron.stems=1 then bogen:=pi;
FOR i:=1 TO neuron.stems DO
BEGIN
ux:=0+100*cos(bogen*i);uy:=0+100*sin(bogen*i);
neuron.stemux[i]:=ux;neuron.stemuy[i]:=uy; neuron.stemuz[i]:=0;
x:=ux+cos(bogen*i)*neuron.soma[i]^laenge;
y:=sin(bogen*i);
y:=uy+sin(bogen*i)*neuron.soma[i]^laenge;
neuron.soma[i]^x:=x;neuron.soma[i]^y:=y; neuron.soma[i]^z:=0;
line(round(200+ux/10),round(200+uy/10),round(200+x/10),round(200+y/10));
neuron_zeichnen(neuron.soma[i],x,y,bogen,bogen/2,i,neuron);
END;
readln;
closegraph;
END;
'r':r;
'ä':BEGIN
installgraphics(ok);
outtext(neuron.kommentar);
line(20,400,40,400);
line(20,398,20,402); line(40,398,40,402);
moveto(24,406); outtext('100 µm');
FOR i:=1 TO neuron.stems DO
BEGIN

line(100,80*i,100+round(neuron.soma[i]^laenge/5),80*i);

graphik2(neuron.soma[i],100+round(neuron.soma[i]^laenge/5),80*i,30);

(*line(80*i,100,80*i,100+round(100*neuron.soma[i]^laenge/neuron.soma[i]^lambda));

graphik(neuron.soma[i],80*i,100+round(100*neuron.soma[i]^laenge/neuron.soma[i]^l
ambda),20);*)
END;
readln;
closegraph;

```

<pre>END; 'ö':psdendrogramm(neuron); (* 'ö':pskastendendrogramm(neuron); *) 'ü':kastendendrogramm(neuron); 'p':erzeuge_p_datei(neuron); 'g':BEGIN script_erstellen(neuron); END; END; UNTIL a='0'; END.</pre>	
--	--

Literatur

- Amini, B., Clark Jr., J. W., Canavier, C. C. (1999) Calcium dynamics underlying pacemaker-like and burst firing in midbrain dopaminergic neurons: a computational study. *J. Neurophysiol.* **82**, 2249-61.
- Andén, N.-E., Fuxe, K., Hamberger, B. and Hökfelt, T. (1966) A quantitative study of the nigro-neostriatal dopamine neuron system in the rat. *Acta Physiol. Scand.* **67**, 306-312.
- Bekkers, J.M. and Stevens, C.F. (1990) Two different ways evolution makes neurons larger. In: *Prog. Brain Res.*, pp. 37-45. Eds. J. Storm-Mathisen, J. Zimmer and O. P. Ottersen. Vol. 83 Elsevier: Amsterdam.
- Bishop, G. A., Chang, H. T. and Kitai, S. T. (1982) Morphological and physiological properties of neostriatal neurons: An intracellular horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* **7**, 179-191.
- Blinkov, S. M. and Glezer, I. I. (1968) *Das Zentralnervensystem in Zahlen und Tabellen*. Gustav Fischer: Jena.
- Bok, S. T. (1959) *Histonomy of the cerebral cortex*. Elsevier: Amsterdam.
- Bower, J. M., Beeman, D. (1998) *The Book of Genesis: Exploring Realistic Neural Models with the General Neural Simulation System*, 2. Auflage, Springer Verlag.
- Braak, H. and Braak, E. (1986) Nuclear configuration and neuronal types of the nucleus niger in the brain of the human adult. *Human Neurobiol.* **5**, 71-82.
- Brodmann, K. (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde*. Barth: Leipzig.
- Bunney, B. S., Chiodo, L. A. and Grace, A. A. (1991) Midbrain dopamine system electrophysiological functioning: A review and new hypothesis. *Synapse* **9**, 79-94.
- Callaway, J., Wilson, C. (1997) Imaging voltage-dependent calcium oscillations in the dopaminergic neurons of the substantia nigra, pars compacta. *Soc. Neurosci. Abstr.* **23**, 1278.
- Canavier, C. (1999) Sodium dynamics underlying burst firing and putative mechanisms for the regulation of the firing pattern in midbrain dopamine neurons: a computational approach. *J. Comput. Neurosci.* **6**, 49-69.
- Cardozo, D. L. (1993) Midbrain dopaminergic neurons from postnatal rat in long-term primary culture. *Neuroscience* **56**, 409-421.
- Chiodo, L. A. and Kapatos, G. (1992) Membrane properties of identified mesencephalic dopamine neurons in primary dissociated cell culture. *Synapse* **11**, 294-309.
- Danner, H. and Pfister, C. (1982) Sieben Neurontypen in der Substantia nigra der Ratte. Eine Golgi-rapid-Imprägnationsstudie. *J. Hirnforsch.* **23**, 553-556.
- De Schutter, E. and Bower, J. M. (1994) An active membrane model of the cerebellar Purkinje cell I. Simulation of current clamps in slice. *J. Neurophysiol.* **71**, 375-400.

- DiFiglia, M., Pasik, P. and Pasik, T. (1976) A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkeys. *Brain Res.* **114**, 245-256.
- Domesick, V. B., Stinus, L. and Paskevich, P. A. (1983) The cytology of dopaminergic and nondopaminergic neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat: A light- and electron-microscopic study. *Neuroscience* **8**, 743-765.
- Driesang, R.B., Pape, H.C. (1998) Ionic mechanisms of intrinsic oscillations in neurons of the basolateral amygdaloid complex. *J. Physiol.* **79(1)**:217-26.
- Fallon, J. H., Riley, J. N. and Moore, R. Y. (1978) Substantia nigra dopamine neurons: Separate populations project to neostriatum and allocortex. *Neurosci. Lett.* **7**, 157-162.
- Flach, K. A. and Gerhardt, G. A. (1994) Spontaneous firing in a multicompartamental dopamine cell model. *Soc. Neurosci. Abstr.* **20**, 564, No. 238.6.
- Gerfen, C. R., Baimbridge, K. G. and Thibault, J. (1987) The neostriatal mosaic: III. Biochemical and developmental dissociation of patch-matrix mesostriatal systems. *J. Neurosci.* **7**, 3935-3944.
- Gibb, W. R. and Lees, A. J. (1991) Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal sub-population of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **54**, 388-396.
- Gonon, F. G. (1988) Nonlinear relationship between impulse flow and dopamine released by rat midbrain dopaminergic neurons as studied by in vivo electrochemistry. *Neuroscience* **24**, Nr. 1, 19-28.
- Grace, A. A. (1991) Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience* **41**, Nr. 1, 1-24.
- Grace, A. A. (1991) Regulation of spontaneous activity and oscillatory spike firing in rat midbrain dopamine neurons recorded in vitro. *Synapse* **7**, 221-234.
- Grace, A. A. and Bunney, B. S. (1983a) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons - 1. Identification and characterisation. *Neuroscience* **10**, 301-315.
- Grace, A. A. and Bunney, B. S. (1983b) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons - 2. Action potential generating mechanisms and morphological correlates. *Neuroscience* **10**, 317-331.
- Grace, A. A. and Bunney, B. S. (1984) The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J. Neurosci.* **4**, 2877-2890.
- Grace, A. A. and Onn (1988a) Regulation of sodium and calcium spikes in immunocytochemically identified rat dopamine neurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* **14**: 75.
- Grace, A. A. and Onn (1988b) Biphasic regulation of activity in immunocytochemically identified rat midbrain dopamine neurons recorded in vitro. *J. Neurosci. Methods* **24**: 190.

- Grace, A. A. and Onn, S. P. (1989) Morphology and electrophysiological properties of immunocytochemically identified rat dopamine neurons recorded in vitro. *J. Neurosci.* **9**, 3463-3481.
- Graveland, G. A., Williams, R. S. and DiFiglia, M. (1985) A Golgi study of human neostriatum: Neurons and afferent fibers. *J. Comp. Neurol.* **234**, 317-333.
- Grofova, I., Deniau, J. M. and Kitai, S. T. (1982) Morphology of the substantia nigra pars reticulata projection neurons intracellularly labeled with HRP. *J. Comp. Neurol.* **208**, 352-368.
- Gulley, R. L. and Wood, R. L. (1971) The fine structure of the neurons in the rat substantia nigra. *Tissue Cell* **3**, 675-690.
- Hainsworth, A. H., Röper, J., Kapoor, R. and Ashcroft, F. M. (1991) Identification and electrophysiology of isolated pars compacta neurons from guinea-pig substantia nigra. *Neuroscience* **43**, 81-93.
- Hajdu, F., Hassler, R. and Bak, I. J. (1973) Electron microscopic study of the substantia nigra and the strio-nigral projection in the rat. *Z. Zellforsch.* **146**, 207-221.
- Hajós, M. and Greenfield, S. A. (1993) Topographic heterogeneity of substantia nigra neurons: Diversity in intrinsic membrane properties and synaptic inputs. *Neuroscience* **55**, 919-934.
- Hanaway, J., McConnell, J. A. and Netsky, M. G. (1970) Cytoarchitecture of the substantia nigra in the rat. *American J. Anat.* **129**, 417-438.
- Harris N. C., Webb, C., Greenfield, S. A. (1989) A possible pacemaker mechanism in pars compacta neurons of the guinea-pig substantia nigra revealed by various ion channel blocking agents. *Neuroscience* **31**, Nr. 2, 355-362.
- Harris N. C., Constanti, A. (1995) Mechanism of block by ZD 7288 of the hyperpolarization-activated inward rectifying current in guinea pig substantia nigra neurons in vitro. *Journal of Neurophysiology* **74**, Nr. 6, 2366-2378.
- Hill, A. A. V., Edwards, D. H. and Murphey, R. K. (1994) The effect of neuronal growth on synaptic integration. *J. Comput. Neurosci.* **1**, 239-254.
- Hirosawa, K. (1968) Electron microscopic studies on pigment granules in the substantia nigra and locus coeruleus of the Japanese monkey (*Macaca fuscata* Yakui). *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* **88**, 187-203.
- Hubbard, J. E. and DiCarlo, V. (1974) Fluorescence histochemistry of monoamine-containing cell bodies in the brain stem of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). II. Catecholamine-containing groups. *J. Comp. Neurol.* **153**, 369-384.
- Jiang Z.-G., Pessia, M., North, R. A. (1993) dopamine and baclofen inhibit the hyperpolarisation-activated cation current in rat ventral tegmental neurons. *Journal of Physiology* **462**, 753-764.
- Johnson, S.W., Seutin, V., North, R. A. (1992) Burst Firing in Dopamine Neurons Induced by N-Methyl-D-Aspartate: Role of Electrogenic Sodium Pump. *Science.* **258**, 665-667.

- Johnston, D., Miao-Sin Wu, S. (1995) Foundations of cellular neurophysiology. A Bradford Book, The MIT Press: Cambridge, Mass. - London.
- Juraska, J. M., Wilson, C. J. and Groves P.M. (1977) The substantia nigra of the rat: A Golgi study. *J. Comp. Neurol.* **172**, 585-600.
- Kang, Y. and Kitai, S. T. (1993) A whole cell patch-clamp study on the pacemaker potential in dopaminergic neurons of rat substantia nigra compacta. *Neurosci. Res.* **18**, 209-221.
- Kang, Y. and Kitai, S. T. (1993) Calcium spike underlying rhythmic firing in dopaminergic neurons of the rat substantia nigra. *Neurosci. Res.* **8**, 195-207.
- Kita, T., Kita, H. and Kitai, S. T. (1986) Electrical membrane properties of rat substantia nigra compacta neurons in an in vitro slice preparation. *Brain Res.* **372**, 21-30.
- Kötter, R. and Feizelmeier, M. (1996a) Computer simulation study of ionic mechanisms underlying voltage traces recorded from dopaminergic neurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* **22**, 2028, No. 798.2.
- Kötter, R. and Feizelmeier, M. (1996b) Relationship between morphological and electrophysiological properties of dopaminergic neurons. In: *Computational Neuroscience*, pp. 89-94. Ed. J. M. Bower. Academic: San Diego.
- Kötter, R. and Wickens, J. R. (1995) Interactions of glutamate and dopamine in a computational model of the striatum. *J. Comput. Neurosci.* **2**, 195-214.
- Kötter, R. and Wickens, J. R. (1998) Striatal mechanisms in Parkinson's disease: new insights from computer modeling. *Artificial Intelligence in Medicine* **13**, 37-55.
- Lang, D. G. and Ritchie, A. K. (1987) Large and small conductance calciumactivated potassium channels in the GH3 anterior pituitary cell line. *Pfluegers Arch.* **410**, 614-622.
- Llinas R., Greenfield, S. A., Jahnsen, H. (1984) Electrophysiology of pars compacta cells in the in vitro substantia nigra – a possible mechanism for dendritic release. *Brain Research* **294**, 127-132.
- Lacey, M. G., Mercury, N. B. and North, R. A. (1989) Two cell types in rat substantia nigra zona compacta distinguished by membrane properties and the action of dopamine and opioids. *J. Neurosci* **9**, 1233-1241.
- Lee, T. H., Ellinwood, T. H. and Einstein, G. (1992) Intracellular recording from dopamine neurons in the substantia nigra: Double labelling for identification of projection site and morphological features. *J. Neurosci. Meth.* **43**, 119-127.
- Li, Y.-X., Bertram, R. and Rinzel, J. (1996) Modeling N-methyl-D-aspartate-induced bursting in dopamine neurons. *Neuroscience* **71**, 397-410.
- Liu, L., Shen, R., Kapatos, G., Chiodo, L. A. (1994) Dopamine neuron membrane physiology: characterization of the transient outward current (I_A) and demonstration of a common signal transduction pathway for I_A and I_K . *Synapse* **17**, 230-240.

- McCormick, Pape (1990) Properties of a hyperpolarization-activated cation current and its role in rhythmic oscillation in thalamic relay neurones. *J. Physiol.* **431**, 291-318.
- O'Boyle, M.P., Carnevale, N.T., Claiborne, B.J. and Brown, T.H. (1996) A new graphical approach for visualizing the relationship between anatomical and electrotonic structure. In: *Computational Neuroscience*, pp. 423-428. Ed. J. M. Bower. Academic: San Diego.
- Ogata, N. and Tatebayashi, H. (1992) Na⁺ current kinetics are not the determinants of the action potential duration in neurons of the rat ventral tegmental area. *Brain Res. Bull.* **29**, 691-695.
- Overton, P. G., O'Callaghan, J. F. and Greenfield, S. A. (1995) Possible intermixing of neurons from the subthalamic nucleus and substantia nigra pars compacta in the guinea-pig. *Exp. Brain Res.* **107**, 151-165.
- Overton, P. G., Clark, D. (1997) Burst firing in midbrain dopaminergic neurons. *Brain Research Review* **25**, 312-334.
- Pasik, P., Pasik, T. and DiFiglia, M. (1976) Quantitative aspects of neuronal organization in the neostriatum of the Macaque monkey. In: *The Basal Ganglia*, pp. 57-90. Ed. M. D. Yahr. Raven: New York.
- Ping, H. X., Shepard, P. D. (1996) Apamin- sensitive Ca²⁺-activated K⁺-channels regulate pacemaker activity in nigral dopamine neurons. *NeuroReport* **7**, 809-814.
- Poirier, L. J., Giguère, M. and Marchand, R. (1983) Comparative morphology of the substantia nigra and ventral tegmental area in the monkey, cat and rat. *Brain Res. Bull.* **11**, 371-397.
- Preston, R. J., Bishop, G. A. and Kitai, S. T. (1980) Medium spiny neuron projection from the rat striatum: An intracellular horseradish peroxidase study. *Brain Res.* **183**, 253-263.
- Preston, R. J., McCrea, R. A., Chang, H. T. and Kitai, S. T. (1981) Anatomy and physiology of substantia nigra and retrorubral neurons studied by extra- and intracellular recordings and by horseradish peroxidase labelling. *Neuroscience* **6**, 331-339.
- Rall, W., Burke, R. E., Holmes, W. R., Jack, J. J. B., Redman, S. J. and Segev, I. (1992) Matching dendritic neuron models to experimental data. *Physiol. Rev.* **72(Suppl.)**, S159-S186.
- Rinvik, E. and Grofová, I. (1970) Observations on the fine structure of the substantia nigra in the cat. *Exp. Brain Res.* **11**, 229-248.
- Sanghera, M. K., Trulson, M. E. and German, D. C. (1984) Electrophysiological properties of mouse dopamine neurons: In vivo and in vitro studies. *Neuroscience* **12**, 793-801.
- Scarnati, E. and Pacitti, C. (1982) Neuronal responses to iontophoretically applied dopamine, glutamate, and gaba of identified dopaminergic cells in the rat substantia nigra after kainic acid-induced destruction of the striatum. *Exp. Brain Res.* **46**, 377-382.
- Schierwagen, A. and Grantyn, R. (1986) Quantitative morphological analysis of deep superior colliculus neurons stained intracellularly with HRP in the cat. *J. Hirnforsch.* **27**, 611-623.

- Schneider, J. S., Yuwiler, A. and Markham, C. H. (1987) Selective loss of subpopulations of ventral mesencephalic dopaminergic neurons in the monkey following exposure to MPTP. *Brain Res.* **411**, 144-150.
- Schofield, S. P. M. and Everitt, B. J. (1981) The organisation of catecholamine-containing neurons in the brain of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J. Anat.* **132**, 391-418.
- Schultz, W., Ruffieux, A. and Aebischer, P. (1983) The activity of pars compacta neurons of the monkey substantia nigra in relation to motor activation. *Exp. Brain Res.* **51**, 377-387.
- Schwyn, R. C. and Fox, C. A. (1974) The primate substantia nigra: A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* **15**, 95-126.
- Segev, I., Burke, R. E. (1998) Compartmental models of complex neurons. In: *Methods in Neuronal Modeling. From Ions to Networks*. Herausgeber: Koch, C, Segev, I., MIT Press: Cambridge, Mass. - London
- Seutin, V., Johnson, S. W., North, R. A. (1993) Apamin increases NMDA-induced burst-firing of rat mesencephalic dopamine neurons. *Brain Res.* **630**, 341-344.
- Shepard, P. D., Bunny, B. S. (1991) Repetitive firing properties of putative dopamine-containing neurons in vitro: regulation by an apamin-sensitive Ca^{2+} -activated K^{+} -conductance. *Exp. Brain Res.* **86**, 141-150.
- Shepard, P. D. and German, D. C. (1984) A subpopulation of mesocortical dopamine neurons possesses autoreceptors. *Eur. J. Pharmacol.* **98**, 455-456.
- Silva, N. L., Pechura, C. M. and Barker, J. L. (1990) Postnatal rat nigrostriatal dopaminergic neurons exhibit five types of potassium conductances. *J. Neurophysiol.* **64**, 262-281.
- Spruston, N., Jaffe, D. B. and Johnston, D. (1994) Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: The role of passive membrane properties. *Trends Neurosci.* **17**, 161-166.
- Steinfels, G. F., Heym, J., Strecker, R. E. and Jacobs, B. L. (1983) Behavioral correlates of dopaminergic unit activity in freely moving cats. *Brain Res.* **258**, 217-228.
- Suaud-Chadney, M. F., Chergui, K., Chouvet, G., Gonon, F. (1992) Relationship between dopamine release in the rat nucleus accumbens and the discharge activity of dopaminergic neurons during local in vivo application of amino acids in the ventral tegmental area. *Neuroscience.* **49**, Nr. 1, 63-72.
- Tepper, J. M., Sawyer, S. F. and Groves, P. M. (1987) Electrophysiologically identified nigral dopaminergic neurons intracellularly labelled with HRP: Light microscopic analysis. *J. Neurosci.* **7**, 2794-2806.
- Tepper, J. M., Trent, F. and Nakamura, S. (1990) Postnatal development of the electrical activity of rat nigrostriatal dopaminergic neurons. *Devel. Brain Res.* **54**, 21-33.
- Tepper, J. M., Damlama, M. and Trent, F. (1994) Postnatal changes in the distribution and morphology of rat substantia nigra dopaminergic neurons. *Neuroscience* **60**, 469-477.

- Trulson, M. E., Preussler, D. W. and Howell, G. A. (1981) Activity of substantia nigra units across the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Neurosci. Lett.* **26**, 183-188.
- Wilson, M.A. and Bower, J.M. (1989) The simulation of large-scale neural networks. In: *Methods in Neuronal Modeling. From Synapses to Network*, pp. 291-333. Eds. C. Koch and I. Segev. MIT Press: Cambridge, Mass. - London.
- Yelnik, J. F., Francois, C., Percheron, G. and Heyner, S. (1987) Golgi study of the primate substantia nigra. I. Quantitative morphology and typology of nigral neurons. *J. Comp. Neurol.* **265**, 455-472.
- Yung, W. H., Häusser, M. A. and Jack, J. J. B. (1991) Electrophysiology of dopaminergic and nondopaminergic neurons of the guinea-pig substantia nigra pars compacta. *J. Physiol.* **436**, 643-667.
- Zilles, K., Rehkämper, G. (1993) Funktionelle Neuroanatomie, Springer Verlag.

Lebenslauf

Name	Margareta Krickl
Geburtsdatum	23.8.1971
Geburtsort	Ulm
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet

Schulbildung

1978 bis 1982	Grundschule in Neu-Ulm
1982 bis 1988	Gymnasium in Neu-Ulm
1988-1991	Gymnasium in Gelsenkirchen im Mai 1991 mit Abitur abgeschlossen

Studium

1991/1992	Diplomstudiengang Chemie/Physik in Bielefeld
1992 –1998	Medizinstudium an der Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf Abschluß des Medizinstudiums im Juni 1998
1992-1993	Diplomstudiengang Mathematik mit Nebenfach Informatik als Zweitstudium an der Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf für drei Semester

Umschulung

3.8.1998 bis 14.4.1999	Fortbildungslehrgang zur Spezialistin für objektorientierte Programmierung bei der DEKRA-Akademie
---------------------------	--

Beruf

ab 14.4.1999	Anwendungsentwicklerin bei Alldata
ab 3.9.99	Erziehungsurlaub

Kaarst, 25.9.2000

Computergestützte Analyse der Struktur-Funktionsbeziehungen dopaminerger Neurone

Margareta Krickl

Die dopaminergen Neurone der Substantia nigra sind von großer Bedeutung bei einer Reihe von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen. Zum Beispiel ist der pathologische Hauptbefund bei Morbus Parkinson ein Dopaminmangel, der durch Degeneration dopaminerger Neurone in der Substantia nigra pars compacta verursacht wird. Die Wirksamkeit von Dopaminantagonisten in der Behandlung der Schizophrenie läßt auf eine Beteiligung dopaminerger Neurone oder eine Veränderung der Dopaminrezeptoren in Art, Quantität oder Verteilung bei dieser Erkrankung schließen.

Ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen dieser Erkrankungen erfordert deshalb genaue Kenntnis des Verhaltens dopaminerger Neurone.

Das Ziel der Arbeit ist die Charakterisierung des Verhaltens der dopaminergen Neurone unter besonderer Berücksichtigung ihrer Struktur-Funktions-Relationen. Dies geschieht durch Analyse der morphologischen und physiologischen Eigenschaften und durch Computersimulation ihres Zusammenspiels bei der Generierung verschiedener Aktivitätsmuster in diesen Neuronen.

In einer Reihe von Computermodellen mit zunehmender Komplexität wurden folgende Fragen untersucht:

1. Wie verändern sich die morphologischen Eigenschaften dopaminerger Neurone bei verschiedenen Spezies und wie wirkt sich dies auf ihr elektrophysiologisches Verhalten aus?
2. Wie interagieren die verschiedenen Membranströme während der Spontanaktivität dopaminerger Neurone und bei Anwendung von Stimulationsparadigmen?

Diese Studie zeigt, daß

1. die Morphologie dopaminerger Neurone zwischen den Spezies systematisch variiert, und zwar so, daß die veränderten Membraneigenschaften kein einheitliches elektrophysiologisches Verhalten erwarten lassen.
2. das komplexe Verhalten dopaminerger Neurone durch die Interaktionen von bis zu zehn verschiedenen Ionenströmen bestimmt wird.

Insgesamt stellt sich heraus, daß die in der Literatur häufig zitierte Annahme der Speziesunabhängigkeit nicht haltbar ist. Dies hat erhebliche Auswirkung auf die Interpretation von Tiermodellen für Störungen des dopaminergen Systems beim Menschen. Gleichzeitig bieten sich Ansatzpunkte für die Systematisierung der Unterschiede und die Erklärung des spezifischen Verhaltens dopaminerger Neurone bei der Ratte.

Abstract genehmigt durch:

Margareta Krickl

Universitätsprofessor Dr. med. K. Zilles