

***Die Entwicklung der neonatalen
hippokampalen Netzwerkaktivität bei *Mus
musculus* – Vergleich von Wildtyp (Linnaeus
1758) und einer Vorderhirn-spezifischen
NKCC1-KO Mutante (*Emx1^{cre}/Slc12a2^{fl/fl}*)***



Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von

Robin Till Hinsch

aus Hamburg

angenommen im Jahr 2025

Begutachtung:

Prof. Dr. Dirk Isbrandt

Prof. Dr. rer. nat. Martin Nawrot

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die frühe Netzwerkentwicklung des murinen Hippocampus (Ammonshorn-Region, CA1) innerhalb der ersten beiden Lebenswochen zu charakterisieren. Hierzu wurden zum einen die elektrophysiologischen Ereignisse von C57Black/6 Mäusen im Alter *Postnatal* (P)3, P5, P7, P9, P12 und P14 und zum anderen die elektrophysiologischen Ereignisse von Na²⁺/K⁺/2Cl⁻-*Cotransporter* (NKCC1) *Knockout* (KO) und Wildtyp (WT) im Vergleich im Alter von P4, P7 und P12 beschrieben und charakterisiert.

Die hippocampalen Netzwerkmuster (HNM) veränderten sich schrittweise von klar abzugrenzenden Ereignissen mit langen Phasen Oszillatorischer Ruhe an P3 und P5 über lange Ereignisse mit wenigen Ruhephasen an P7 und P9 bis hin zu einer nahezu kontinuierlichen Oszillatorischen Aktivität an P12 und P14. Dies bestätigt eine Altersgruppierung, die so z. B. auch im Barrel-Cortex beschrieben wurde und womöglich strukturübergreifende grundsätzliche Entwicklungsstufen der Maus repräsentiert und daher bei der Planung von elektrophysiologischen Mausexperimenten berücksichtigt werden sollte.

Sharp-Waves (SPW) konnten in allen Altersgruppen und Genotypen detektiert und charakterisiert werden. Eine Charakterisierung anhand der auftretenden Stromsenke (*Sinks*) im *Current-Source-Density* (CSD) entlang der Achse *Stratum Oriens* (STO) à *Stratum Pyramidale* (STP) à *Stratum Radiatum* (STR) à *Stratum Lacunosum Molekulare* (STLM) à *Gyrus Dentatus* (DG) ergab mindestens vier deutlich voneinander zu unterscheiden SPW-Typen: (1) Doppel (DPL)-SPW: SPW mit zwei *Sinks* die in kurzer Abfolge in den Schichten des STR und STLM auftraten; (2) Oriens (ORI)-SPW: SPW mit einem *Sink* im STO; (3) Proximale (PRX)-SPW: SPW mit einem proximalen *Sink* im STR, diese SPW traten ab P9 vermehrt als SPR auf und (4) Distale (DST)-SPW: SPW mit einem distalen *Sink* in STLM.

DPL-SPW dominierten in den Altersstufen P3 und P5, während P7 ein Alter mit hoher Varianz an SPW darstellte. Ab P9 wurden vor allem DST-SPW detektiert und mit P12 hatten PRX-SPW einen deutlichen höheren Anteil.

Stimulationsexperimente bestätigten eine funktionale Verbindung aus CA3 als Ursache für PRX-SPW ab einem Alter von P7, während für DST-SPW die Signalquelle mindestens vom *perforant path* (PP) ausgehen musste. Der vorderhirnspezifischer KO von NKCC1 hatte keinen profunden Einfluss auf das Auftreten und die Komposition der vier verschiedenen SPW-Typen.

Bei der Untersuchung des primären visuellen Cortex (V1) wurden neben bekannten Ereignissen wie *Slow-activity-transients* (SAT) und *Spindle*-Oszillationen eine in dieser Form in der Maus noch nicht beschriebenes Ereignis dokumentiert, die lange V1 „ β -Oszillation“.

Die vorliegende Arbeit bietet den ersten umfassenden elektrophysiologischen Überblick über die ersten zwei Lebenswochen der Maus (P3 – P14). Sie kann hierbei als Referenz für zukünftige

Arbeiten dienen und zeigt, dass die elektrophysiologische Entwicklung kein gleichmäßiger Vorgang ist, sondern in bestimmten Abschnitten stattfindet. Diese Abschnitte sind möglicherweise von besonderer Bedeutung, wenn es um die Frage einer Krankheitsbehandlung im „verwundbaren Zeitfenster“ geht.

Abstract

The aim of this thesis was to characterize the early network development of the murine hippocampus (Ammon's horn region, CA1) within the first two weeks of life. Electrophysiological events in C57Black/6 mice aged P3, P5, P7, P9, P12, and P14 were characterized, alongside a comparison between NKCC1 KO and WT at P4, P7, and P12.

HNM evolved from distinct events with prolonged oscillatory rest periods at P3 and P5, to extended events with fewer rest periods at P7 and P9 and culminating in nearly continuous oscillatory activity at P12 and P14. This developmental progression mirrors age-related changes observed in the barrel cortex, suggesting fundamental developmental stages across structures that should be considered in planning mouse electrophysiological experiments.

SPW were detected and characterized across all age groups and genotypes. Analysis based on CSD revealed at least four distinct SPW types along the STO à STP à STR à STLM à DG axis: (1) DPL-SPW: with two sinks occurring in quick succession or simultaneously in the STR and STLM; (2) ORI-SPW: with a sink in STO; (3) PRX-SPW: featuring a proximal sink in STR, transitioning to SPR from P9 onwards; and (4) DST-SPW: with a distal sink in STLM. DPL-SPW predominated at P3 and P5, whereas P7 exhibited high variability in SPW types. From P9 onwards, DST-SPW predominated, with PRX-SPW becoming prominent at P12.

Stimulation experiments confirmed a functional connection from CA3 as the source of PRX-SPW from P7 onwards, while DST-SPW required the PP as the signal source. A frontal cortex-specific NKCC1 KO showed no significant impact on the occurrence and composition of the four SPW types.

Investigation of the V1 revealed a novel event termed the long V1 "β-oscillation" not previously described in mice. This study provides a comprehensive electrophysiological overview of the first two weeks of mouse development (P3 –P14), serving as a reference for future research. It highlights that electrophysiological development occurs in distinct phases, potentially critical for understanding vulnerability windows in disease treatment strategies.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	1
Abstract	2
Inhaltsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis.....	6
Abbildungsverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	10
Einheiten	11
Präfixe.....	11
1. Einleitung.....	12
1.1. Netzwerkaktivität im Hippocampus.....	12
1.1.1. Sharp-Waves	15
1.1.1.1. Der Ursprung von SPWs	17
1.1.1.2. NKCC1	20
1.2. Primärer visueller Cortex	21
1.3. Ionenkanäle/Transporter (Defekte)	23
1.3.1. „Vulnerable Fenster“ der Hirnentwicklung.....	24
2. Ziel der Arbeit	25
3. Materialien.....	26
3.1. Mauslinien	26
3.2. Puffer und Lösungen	26
3.3. Materiallisten.....	26
4. Methoden	30
4.1. Mauszucht	30
4.2. Elektrophysiologische Methoden.....	30
4.2.1. Funktionsweise Aufnahmesystem: Digital Lynx 4SX.....	30
4.2.2. Aufbau und Funktionstest: elektrische Stimulation.....	31
4.2.3. Ableitung des lokalen Feldpotentials in vivo mit Tiefenelektroden in neonatalen Mäusen.....	33
4.2.4. Elektrische Stimulation mit Wolframelektroden	35
4.3. Molekularbiologische Methoden.....	36
4.3.1. Genotypisierung	36

4.3.2.	PCR-Protokolle	38
4.4.	Verhaltensbiologische Methoden	41
4.4.1.	Umdrehtest beim Neonaten	41
4.4.2.	Klippenvermeidungstest beim Neonaten	41
4.5.	Weitere Methoden	42
4.5.1.	Anfertigung von Hirnschnitten	42
4.6.	Analytische Methoden	42
4.6.1.	Definition der Kanäle zugehöriger Schichten (Grundkategorien)	42
4.6.2.	Automatisierte SPW-Detektion	44
4.6.3.	Automatische SPW-Kategorisierung	44
4.7.	Statistische Methoden	45
5.	Ergebnisse	46
5.1.	Zeitlinie hippocampale Netzwerkentwicklung im Wildtyp	46
5.1.1.	Hippokampale Netzwerkstruktur und Methodik	46
5.1.2.	Kategorisierung der SPW	47
5.1.3.	SPR	58
5.1.4.	Elektrische Stimulation der VHC/CA3 und des PP	59
5.2.	Entwicklung der hippocampalen Netzwerkaktivität in NKCC1-KO Mutanten	64
5.2.1.	Verhaltenstests	65
5.2.2.	HNM in NKCC1	66
5.2.3.	SPW-Entwicklung in NKCC1	67
5.3.	Zeitlinie der kortikalen Netzwerkentwicklung im C56BL/6J/WT und in NKCC1-KO/WT 73	
5.3.1.	V1 Spindle & V1 β	74
5.3.2.	V1 SAT	76
5.3.3.	Entwicklung der kortikalen Netzwerkaktivität in NKCC1-KO	77
6.	Diskussion	79
6.1.	Hippokampale Netzwerkstruktur (HNM) im β -Frequenzbereich zeigten sich bereits ab P3 und verändern sich progressiv mit dem Alter.	79
6.2.	SPW: Frühe SPW lassen sich in klar voneinander abgrenzbaren unterschiedlichen Kategorien einordnen mit jeweils charakteristischen Eingangs- („Sink“) und Ausgangs- („Source“) Signalen.	81
6.2.1.	Herausforderungen bei der automatischen Detektion von SPW über eine große Altersspanne (P3 – P14).	81

6.2.2.	Experimente in adulten und neonatalen Ratten geben Aufschluss über die in dieser Arbeit beobachteten Aktivitätsmuster.	83
6.2.3.	DPL-SPW: Produkt eines aufbauenden (Bottom-Up) Systems, welches seinen Ursprung in Myoklonien hat?	84
6.2.4.	PRX-SPW; Zwei unterschiedliche SPW je nach Alter.....	86
6.2.5.	DST-SPW: Das reine L2 Signal	86
6.2.6.	ORI-SPW: Die Unbekannte	87
6.2.1.	TRP-SPW.....	87
6.3.	Warum keine Verzögerung zwischen den Sinks bei DPL-SPW an P3 – P5?.....	88
6.4.	SPR: Das erstmalige Auftreten eines Markers für die Fähigkeit, Erinnerungen zu bilden? 88	
6.5.	Abgrenzung der beobachteten Sinks der einzelnen SPW-Kategorien durch elektrische Stimulation der VHC (CA3 Input) und elektrische Stimulation des PP (Signalweiterleitung der L2 und L3 des EC).....	89
6.6.	Eine Theorie zu dem hier in dieser Arbeit beobachten Auftreten von verschiedenen SPW-Typen.	92
6.7.	NKCC1: Untersuchung des Einflusses einer Vorderhirn-spezifischen Deletion des in der neuronalen Entwicklung wichtigen Ionenkanals NKCC1 auf die Netzwerkaktivität.	92
6.8.	Untersuchung der neonatalen Netzwerkaktivität im V1 zeigte bekannte Aktivitätsmuster sowie einen möglichen neuen Oszillationstyp.	94
7.	Ausblick.....	96
8.	Anhang.....	97
8.1.	Zusätzliche Abbildungen.....	97
8.2.	Tabellen mit statistischen Analysen.....	104
8.3.	Matlab-Skripte Kopien.....	123
8.3.1.	Basisskripte zur Prozessierung der Rohdaten	123
8.3.2.	Detektionsskripte	126
8.3.3.	Find SPW Skript und Plotting Skripte	134
8.3.4.	Wrapperskripte.....	155
8.3.5.	Statistikskripte.....	158
9.	Literaturverzeichnis	167

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mauslinien.....	26
Tabelle 2: Liste der Puffer und Lösungen.....	26
Tabelle 3: Liste der Chemikalien, Substanzen und Enzyme	26
Tabelle 4: Lister der Primer	28
Tabelle 5: Verbrauchsmaterial.....	28
Tabelle 6: Geräteliste.....	29
Tabelle 7: Softwareliste	29
Tabelle 8: Eigenschaften Aufnahmesystem Digital Lynx SX (Neuronexus)	31
Tabelle 9: Durchschnittlicher Abstand für Lambda und Bregma.....	34
Tabelle 10: PCR-Rezeptur	37
Tabelle 11: Primerliste	38
Tabelle 12: Protokoll (50 µl)	38
Tabelle 13: Cycler-Programm	38
Tabelle 14: Primerliste	39
Tabelle 15: Protokoll (50 µl)	39
Tabelle 16: Cycler Programm.....	39
Tabelle 17: Primerliste	40
Tabelle 18: Protokoll (50 µl)	40
Tabelle 19: Cycler Programm.....	40
Tabelle 20: Idealisierte Zuordnung der Kanäle einer 16-Kanal-Elektrode	44
Tabelle 21: Aufschlüsselung der verschiedenen Kategorien	44
Tabelle 22 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Rate)	104
Tabelle 23 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Anteil)	105
Tabelle 24 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Amplitude)	106
Tabelle 25 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Dauer)	107
Tabelle 26 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Rate)	108
Tabelle 27 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Anteil)	109
Tabelle 28 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Amplitude)	110
Tabelle 29 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Dauer).....	111

Tabelle 30 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Rate)	112
Tabelle 31 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Anteil)	113
Tabelle 32 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Amplitude)	114
Tabelle 33 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Dauer)	115
Tabelle 34 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Rate)	116
Tabelle 35 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Anteil)	117
Tabelle 36 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Amplitude)	118
Tabelle 37 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Dauer)	119
Tabelle 38 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12:	119
Tabelle 39 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der Erfolgsrate (%) für P7 und P12.	120
Tabelle 40 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der Verzögerung (ms) für P7 und P12	120
Tabelle 41 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen	120
Tabelle 42 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen	121
Tabelle 43 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen	121
Tabelle 44 (Anhang): Auflistung der Signifikanzen der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen	121
Tabelle 45 (Anhang): Auflistung der Signifikanzen der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen	122
Tabelle 46 (Anhang): Übersicht der Spaltenwert des SPW-Anteils.	122

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: EC-hippocampalen <i>feedforward</i> Kreislauf	13
Abbildung 2: DAPI gefärbter Hirnschnitt einer P12 Maus (C57/B6) mit überlagerter schematischer Darstellung des DSK.	14
Abbildung 3: Typisches Muster einer CA1 SPW in der Ratte (nach Abbildung 14d von Buzsáki <i>et al.</i> 1983) im Vergleich zur säulenartigen Anordnung der Pyramidenzellen im Hippocampus in Relation zur Aufnahmeelektrode.	16
Abbildung 4: Schematischer Aufbau des Aufnahmesystems.....	31
Abbildung 5: Schematischer Aufbau der Wolfram-Stimulationselektroden für bipolare elektrische Stimulationen.	32
Abbildung 6: Stimulationsprotokoll.	35
Abbildung 7: Hippokampale Netzwerkentwicklung innerhalb der ersten zwei Lebenswochen der Maus.	46
Abbildung 8: Übersicht über die vier Haupttypen an SPW.....	49
Abbildung 9: Vergleich von DPL-SPW und ORI-SPW an P3.....	51
Abbildung 10: Vergleich von DPL-SPW und PRX-SPW an P3	51
Abbildung 11: Vergleich von DST-SPW an P3	52
Abbildung 12: Vergleich der SPW-Entwicklung über die verschiedenen Altersstufen.....	53
Abbildung 13: Alleinstehendes ORI-SPW an P5.....	54
Abbildung 14 (vorherige Seite): Quantifikation der hippocampalen SPW zwischen P3 – 14.	56
Abbildung 15: Vergleich der CSD-SPW-Amplitude Altersgruppenübergreifend.....	56
Abbildung 16: Vergleich der SPW-Dauer Altersgruppenübergreifend.	57
Abbildung 17: Varianz von SPW an P7.....	58
Abbildung 18: Quantifikation der SPR innerhalb der ersten beiden Lebenswochen.	59
Abbildung 19: Vergleich des Tiefenprofils von physiologischen und induzierten SPW.....	62
Abbildung 20: Vergleich Grundlinienaktivität, PP-Stimulation, VHC-Stimulation	63
Abbildung 21: Umdreh- und Klippenvermeidungstest bei NKCC1 WT und KO	65
Abbildung 22: HNM in NKCC1.....	66
Abbildung 23 (vorherige Seite): Schachbrettübersicht über die vier Haupttypen an SPW in NKCC1.	69
Abbildung 24: Übersicht der NKCC1 SPW-Statistik.....	70
Abbildung 25: Übersicht der SPW-Kategorie Anteils pro Altersstufe und Genotyp in NKCC1.....	71
Abbildung 26: V1 und CA1 intrinsische Aktivität im Vergleich.	73
Abbildung 27: Vergleich V1 <i>Spindle</i> und V1 β in P3-P9 alten Tieren.	75
Abbildung 28: Übersicht des Auftretens von langsamen Transienten (<i>Slow-Activity-Transients</i> , SAT).....	77
Abbildung 29: Vergleich der Spontanaktivität in V1 in P4 NKCC1.....	78
Abbildung 30 (Kopie der Abbildung 1): DAPI gefärbter Hirnschnitt einer P12 Maus (C57/B6) mit überlagerter schematischer Darstellung des DSK.....	79
Abbildung 31: Aufbauendes (<i>Bottom-up</i>) Modell nach Valeeva <i>et al.</i>	85
Abbildung 32 (Anhang): Übersicht der Erfolgsquote für die VHC jedes stimulierten Tieres.....	97

Abbildung 33 (Anhang): Messung der durchschnittlichen Verzögerung nach einer Stimulation.....	98
Abbildung 34 (Anhang): Berechnung der durchschnittlichen Amplitude (CSD, mV/mm ²) stimulierter SPW.....	99
Abbildung 35 (Anhang): Messung der durchschnittlichen Dauer aller stimulierten SPW.	100
Abbildung 36 (Anhang): Übersicht der Verteilung der SPW-Kategorien pro stimulierte Tiefe.	101
Abbildung 37 (Anhang, vorherige Seite): Übersicht der PP-Stimulation.	103

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ANOVA	<i>Analysis-of-variance</i>
ATP	Adenosintriphosphat
CA	<i>Cornu Ammonis</i>
Ca ²⁺	Calcium Kationen
Cl ⁻	Chlorid Anionen
CSD	<i>Current-Source-Density</i> (Stromdichte)
dd	Doppelt destilliert
DG	<i>Dentate Gyrus (Gyrus Dentatus)</i>
DiI	<i>1,1'-diodecyl-3,3,3',3'-tetramethyl-indocarbocyanine perchlorate</i>
DAPI	<i>4',6-Diamidin-2-phenylindol</i>
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
dNTP	Didesoxyribonukleosid-Triphosphat
DSK	Drei-Synapsen-Kreislauf
DPL	Doppel
DST	Distal
EC	Entorhinaler Cortex
ECOG	Elektrocortigramm
EDTA	<i>Ethylendiamintetraacetat</i> (Ethylendiamintetraessigsäure)
EEG	Elektroenzephalogramm
eVTH	Experimentelle Versuchstierhaltung
GABA	<i>Gamma-Aminobutyric acid</i>
GDP	<i>Giant Depolarizing Potential</i>
HF	Hippokampale Fissur
HNM	Hippokampale Netzwerkstruktur
HS	<i>Head Stage</i>
IPSP	Inhibitorische Postsynaptische Potentiale
K ⁺	Kalium Kationen
KO	<i>Knock-Out</i>
L2	<i>Layer 2</i> (Schicht II)
L3	<i>Layer 3</i> (Schicht III)
LFI	Lehre und Forschungsinstitut
LFP	Lokales Feldpotenzial
LIA	<i>Large irregular activity</i>
MEC	Medialer EC
ML	<i>Molecular layer</i>
MoDG	Molekularer DG
Na ⁺	Natrium Kationen
NKCC1	Na ²⁺ /K ⁺ /2Cl ⁻ Cotransporter
ns	Nicht signifikant
ORI	<i>Oriens</i>
P	<i>Postnatal</i> (Tage nach der Geburt)
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
PFA	<i>Perfluoralkoxy-Polymere</i>
PP	<i>Perforant Path (Tractus Perforans)</i>

Abkürzung	Bedeutung
PRX	<i>Proximal</i>
Std.	Standard
REM	<i>Rapid-Eye-Movement</i>
SAT	<i>Slow-activity-transients</i>
SC	Schaffer Collateralen
spSPW	<i>Spontaneous potentiated SPW</i>
SPW	<i>Sharp-Wave</i>
SPR	<i>Sharp-Wave-Ripple</i>
STLM	<i>Stratum Lacunosum Molekulare</i>
STO	<i>Stratum Oriens</i>
STP	<i>Stratum Pyramidale</i>
STR	<i>Stratum Radiatum</i>
TAE	<i>Tris base, acetic acid</i> und EDTA
TRP	<i>Tripple</i>
UV	Ultraviolett
V1	Primärer visueller Cortex
VHC	Ventrale Hippokampale Kommissur (<i>Commissure</i>)
WT	Wild-Typ
ZMNH	Zentrums für Molekulare Neurobiologie Hamburg
ZNS	Zentrales Nervensystem

Einheiten

Präfixe

p	=	pico (10^{-12})
n	=	nano (10^{-9})
μ	=	mikro (10^{-6})
m	=	milli (10^{-3})
c	=	centi (10^{-2})
k	=	kilo (10^3)
M	=	mega (10^6)
G	=	giga (10^9)
α	=	Alpha
β	=	Beta
γ	=	Gamma
δ	=	Delta
θ	=	Theta

1. Einleitung

1.1. Netzwerkaktivität im Hippocampus

Der Hippocampus ist ein wichtiger Bestandteil des Gehirns der Wirbeltiere und befindet sich beim Menschen und auch bei anderen Säugetieren bilateral im zentralen Nervensystem (ZNS). Seinen Namen hat er aufgrund der Ähnlichkeit des menschlichen Hippocampus mit dem tierischen Seepferdchen (griechisch: *ἵππόκαμπος*, "Seepferd" von *ἵππος/hippos*, "Pferd" und *κάμπος/kampos*, "Seeungeheuer"). Seine Funktion liegt in der Verarbeitung, Weiterleitung und dem Wiederauffinden von Erinnerungen. Wesentlicher Bestandteil dieser Prozesse sind vom Hippocampus selbstgenerierten Netzwerkmuster und deren Zusammenspiel mit anderen Regionen des Gehirns, vor allem dem *entorhinalen Cortex* (EC) (Buzsaki 2011).

Zum Hippocampus gehören das Ammonshorn (*Cornu Ammonis*, CA), der *Gyrus Dentatus* (*dentate gyrus*, DG), sowie das Subiculum. Das CA wird in vier Unterregionen aufgeteilt und von 1 – 4 nummeriert, CA1, CA2, CA3 und CA4, wobei die Region CA4 oft dem DG zugeordnet wird. Die Region CA1 ist hierbei von besonderer Bedeutung, sie bildet im so genannten Drei-Synapsen-Kreislauf (DSK) die letzte Region im Hippocampus, bevor Informationen über das Subiculum und der Fornix wieder aus dem Hippocampus geleitet werden.

Der DSK wurde bereits 1911 von Santiago Ramon y Cajal in seiner berühmten Arbeit in seinen Grundzügen korrekt beschrieben (Ramón y Cajal 1911). Die Bezeichnung DSK beruht auf der weitestgehend unidirektionalen Informationsweiterleitung innerhalb des Hippocampus über die drei hauptsächlich beteiligten Regionen DG, CA3 und CA1 (Abbildung 2). Der DSK bildet hierbei den hippocampalen Teil des EC-hippocampalen *feedforward* Kreislauf ab, Informationen aus dem EC Schicht II (*Layer 2*, L2) kommen hinein und gehen in das *Subiculum* und die EC Schicht V (*Layer 5*, L5) wieder hinaus um mit anderen Cortexregionen zu kommunizieren, unter anderem um Gedächtnisinhalten zu konsolidieren, zwischen L5 und L2/3 existiert eine Verbindung, über die aber noch nicht so viel bekannt ist (Buzsaki 2011; Witter et al. 2017).

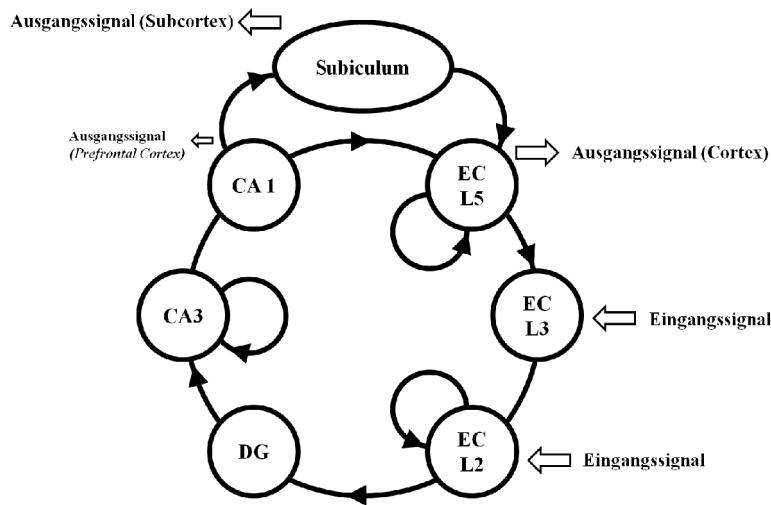


Abbildung 1: EC-hippocampalen *feedforward* Kreislauf

CA: *Cornu Ammonis*; EC: Entorhinaler Cortex; L2: Schicht II (*Layer 2*); L3: Schicht III (*Layer 3*); L5: Schicht V (*Layer 5*); DG: *Dentate Gyrus* (*Gyrus Dentatus*); Abbildung nach (Buzsaki 2011)

Der Kreislauf beginnt mit dem Informationseingang vom EC, welcher seinerseits Informationen von einer Vielzahl von neocorticalen Bereichen bekommt, vor allem der assoziativen Cortices und dem limbischen System, hier vor allem vom Hippocampus selbst. Dies macht den Hippocampus zu einer zentralen Schaltstelle bei der Verarbeitung und Speicherung von Informationen. Der EC besteht aus den Schichten I – VI. Die Schichten I und IV sind hierbei relativ frei von Neuronen (Canto, Wouterlood, and Witter 2008). Die EC-L2 leitet die eingehenden Informationen weiter an den DG über den so genannten *tractus perforans* (*perforant path*, PP), die Übertragung an den DG bildet hierbei die 1. Synapse im DSK, darüber hinaus besteht von der Schicht III (*Layer 3*, L3) eine direkte Verbindung nach CA1 in das *Stratum Lacunosum Moleculare* (STLM). Die Schichten V und VI erhalten die Antwort von CA1 und dem Subiculum und projizieren selbst weiter in vielfältige cortikale und subcortikale Regionen des Vorderhirns (Rosene and Van Hoesen 1977; Kosel, Van Hoesen, and Rosene 1982; Witter et al. 2017). Die zweite Synapse im DSK besteht in der Verbindung der Körnerzellen des DG zu den Pyramidenzellen in CA3 über die so genannten Moosfasern (MF). Von CA3 aus besteht dann eine direkte Verbindung nach CA1 in das *Stratum Radiatum* (STR) über die Schaffer Collaterale (SC), welche die dritte Synapse im DSK bildet und diesen so vervollständigen. Zusätzlich zu den bereits genannten Subregionen STR und STLM besteht die CA1-Region noch aus zwei weiteren Subregionen, dorsal liegt das *Stratum Oriens* (STO) und von dort in ventraler Richtung folgt die primäre Pyramidenzellschicht (*Stratum Pyramidale*, STP) wo sich die höchste Dichte an Zellkörpern besteht (hellblaues Band in Abbildung 2).

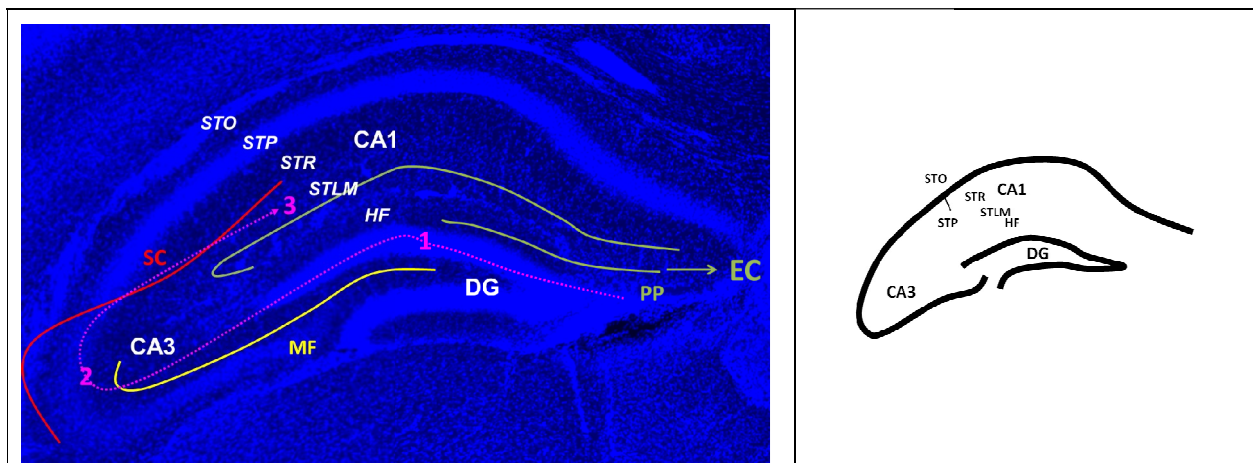


Abbildung 2: DAPI gefärbter Hirnschnitt einer P12 Maus (C57/B6) mit überlagerter schematischer Darstellung des DSK.

CA: Cornu Ammonis; EC: Entorhinaler Cortex; DG: Dentate Gyrus (Gyrus Dentatus); HF: Hippocampale Fissur; MF: Moosfasern; PP: Perforant Path (Tractus Perforans); SC: Schaffer Collateralen; STLM: Stratum Lacunosum Molekulare; STO: Stratum Oriens; STP: Stratum Pyramidale; STR: Stratum Radiatum; Schematische Darstellung des DSK (pink) mit den beteiligten Bereichen der Synapsen (1 – 3). Beteiligte Leiterbahnen: PP (grün); MF (gelb); SC (rot)

Aufgrund dieses klaren Aufbaus bildet der Hippocampus seit Jahrzehnten eine optimale Struktur für elektrophysiologische Experimente (Pelkey et al. 2017; Nicoll 2017; Freund and Buzsáki 1996; G Buzsáki 1984). Einer der fundamentalen Aspekte, der bei der Untersuchung derartiger Kreisläufe entdeckt wurde, war die Entdeckung von Oszillationen, das synchrone Feuern großer Neuronenpopulationen in klar abgegrenzten Frequenzbereichen, sowie die Korrelation der hieraus resultierenden Frequenzbänder mit bestimmten Verhaltensweisen.

Im Allgemeinen wurden hierbei bislang fünf unterschiedliche Frequenzbänder im Säugetierbereich beschrieben: Delta (δ : 0,1 – < 4 Hz), Theta (θ : 4 – < 8 Hz), Alpha (α : 8 – < 12 Hz), Beta (β : 12 – < 30 Hz) und Gamma (γ : 30 – 80 Hz) und hohes-Gamma (*high γ* > 80 Hz), wobei die Frequenzbänder überlappen und sich oft leicht in den Grenzen je nach Quelle unterscheiden (Moran and Hong 2011; György Buzsáki and Draguhn 2004; Penttonen and Buzsáki 2003). Die δ -Oszillationen stehen hierbei mit wiederholten Bewegungsabläufen in Verbindung und haben eine wichtige zeitliche Relation zu SPW-Ripple (SPR) (Furtunato et al. 2020; Sirota et al. 2003), während θ -Oszillationen mit der Bewegungsgeschwindigkeit bzw. der Bewegungsintensität im Allgemeinen in Verbindung steht (György Buzsáki 2002, 2005; Vanderwolf 1969; Furtunato et al. 2020).

Im Nagetier wird das dominante Auftreten von θ -Oszillationen auch als θ -Modus oder „*on-line state*“ bezeichnet und kennzeichnet den Wachzustand, sowie die *Rapid-Eye-Movement* (REM)-Phase (György Buzsáki 2002; Blumberg et al. 2020). Die α -Oszillationen dienen

womöglich der Unterdrückung von sensorischem Input, je stärker α -Oszillationen sind, desto geringer ist die kortikale Erregbarkeit (Foxe and Snyder 2011). Der Frequenzbereich von β -Oszillationen hat sich in zwei fundamentalen Bereichen hervorgetan, zum einen treten β -Oszillationen in sensorischen Bereichen bei reizbestimmten Belohnungen auf und zum anderen bei entscheidungsfindenden Prozessen, wodurch gezieltes erinnerungsbasiertes Verhalten gesteuert wird (Miles, Kidder, and Mizumori 2023). Die hochfrequenten γ -Oszillationen wurden in einer Vielzahl physiologischer als auch pathologischer Prozesse beobachtet, grundsätzlich spielt dieser Frequenzbereich eine Rolle in der Verbindung verschiedener Gehirnbereiche, so wurden verschiedenen γ -Generatoren im EC als auch im CA1 und CA3 identifiziert (Jozsef Csicsvari et al. 2003; Butler, Hay, and Paulsen 2018). Langsame γ -Oszillationen wurde mit verschiedenen neurophysiologischen Erkrankungen wie Alzheimer, Parkinson und Schizophrenie in Verbindung gebracht (Guan et al. 2022). Eine weitere kurzlebige Oszillation spielt im Nagetier während einer Phase eine bedeutende Rolle die als *large irregular activity* (LIA) bekannt ist. Während die zuvor genannte θ -Oszillationen während der aktiven Bewegungsphase auftreten, wechselt das Gehirn während nicht-lokomotorischen Verhaltens der Maus wie Immobilität, Nahrungs- und Wasseraufnahme oder der Fellpflege in einen Status von LIA. In der LIA-Phase dominieren im Hippocampus neben den fluktuierenden Breitbandoszillationen zufällig auftretenden großen einzelnen Ausschläge, so genannte *Sharp-Waves* (SPW). Diese SPW werden vor allem während des non-REM teilweise von sehr hochfrequenten Oszillationen mit bis zu 220 Hz begleitet. Dieses Phänomen, welches mit der Speicherung von Erinnerungen in Zusammenhang gebracht wird, wird auch als SPR bezeichnet (György Buzsáki & Silva, 2012).

Der Hippocampus ist somit als essenzieller Bestandteil des Gehirns eine optimale Zielstruktur um die frühe Netzwerkentwicklung zu untersuchen und mit den SPW bietet sich klares Ereignis, um diese Entwicklung zu verfolgen.

1.1.1. Sharp-Waves

Der Begriff SPW taucht erstmals in den 1950er Jahren im Zusammenhang mit mentalen Störungen, fokal-neurologischen Ausfällen bei Epilepsien, sowie supratentoriellen Tumoren auf (JONES and NEVIN 1954; KIRSTEIN 1953). In der Folge etablierte sich der Begriff als Beschreibung von „scharfen“, steil ansteigenden und ebenso steil abfallenden, klar abgegrenzten, kurzlebigen, über das Oberflächen Elektroenzephalogramm (EEG) synchronisierten Populationsereignissen vor allem in der Beschreibung der neuronalen Eigenschaften der Creutzfeldt-Jakobs Krankheit (Siedler and Malamud 1963; MIYAZAKI, EBE, and AKI 1964; May 1968; Elliott et al. 1974). Auch heute werden SPW für starke, unspezifische, scharf umrissene Wellen bei Enzephalopathien und Hirnläsionen verwendet, wobei im Deutschen wie auch im Englischen der Begriff „Triphasische Wellen / *triphasic waves*“ gebräuchlicher ist (Emmady and Murr 2023). Ende der 50er Jahre wurde zudem erstmalig ein vergleichbares Ereignis außerhalb des Menschen beschrieben, jedoch ohne eine zugrundeliegende Erkrankung. Jouvett, Michel und Courjon betrachteten die im ventralen Hippocampus der Katze aufgezeichneten „*EEG-Spikes*“ als ein Korrelat des Tiefschlafs (*slow-wave sleep*) (Jouvett,

Michel, and Courjon 1959). Zeitgleich mit der Etablierung von SPW als charakteristisch pathologisches Muster bei verschiedenen neurophysiologischen Erkrankungen, zeigten Freeman *et al.* sowohl bei Affen, als auch dem Menschen, dass SPW außerhalb von abnormalen EEG auftreten können (F R Freeman, McNew, and Adey 1969; Frank R Freeman and Walter 1970). Ebenso wurde in diesem Zeitraum der Begriff der LIA-Phase im Hippocampus der Ratte geprägt (Vanderwolf 1969). Bestandteil dieser LIA-Phase waren neben δ -Wellen scharfe Ausschläge (*sharp Spikes*) von 50 – 100 ms Dauer (Vanderwolf 1969). Etwa 20 Jahre nachdem Juvet, Michel und Courjon „*EEG-Spikes*“ im Hippocampus der Katze beschrieben hatten, griffen Hartse *et al.* die „*ventral hippocampal Spikes*“ erneut auf und beschrieben ein mit dem Non-REM Schlaf assoziiertes Ereignis von 50 – 150 ms Länge und einer Amplitude von 300 μ V (Hartse *et al.* 1979). Nicht pathologische SPW und die bereits verwendete Abkürzung „SPW“ wurden 1983 von Buzsáki, Leung und Vanderwolf in der Ratte geprägt. In dieser grundsätzlichen Arbeit wurden die SPW und vor allem die bei Tiefenhirnaufnahmen bei linearen Elektroden charakteristische Phasenumkehr im Hippocampus erstmals beschrieben (G Buzsáki, Leung, and Vanderwolf 1983).

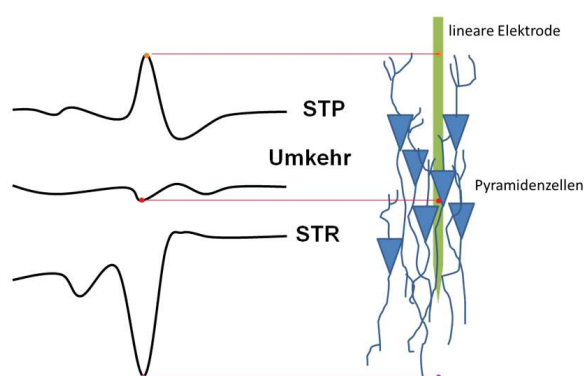


Abbildung 3: Typisches Muster einer CA1 SPW in der Ratte (nach Abbildung 14d von Buzsáki *et al.* 1983) im Vergleich zur säulenartigen Anordnung der Pyramidenzellen im Hippocampus in Relation zur Aufnahmeelektrode.

Die SPW wurden in erwachsenen (300 – 400 g) männlichen Long-Evans Ratten mittels Wolframelektroden aufgenommen. STP: *Stratum Pyramidale*; STR: *Stratum Radiatum*

In dieser Arbeit wurden neben physiologischen SPW auch künstliche SPW mittels elektrischer Stimulation über Stahlelektroden im Bereich der SC generiert. Diese generierten SPW glichen den physiologischen SPW mit einer Phasenumkehr unmittelbar unterhalb des STP im STR (G Buzsáki, Leung, and Vanderwolf 1983). In einem weiteren Datensatz in Ratten wurden SPW mit einer Frequenz von 0,01 – 3,0 SPW/s detektiert, die dortigen SPW wurden im STR mit einer Amplitude von bis zu 3 mV aufgezeichnet. SPW welche entlang der CA1-DG Achse aufgezeichnet wurden, hatten ihren stärksten positiven Ausschlag im STP und zwei negative Ausschläge im STR und DG. Da der stärkste Ausschlag im STR stattfand, wurde vermutet, dass diese SPW via SC aus CA3 aktiviert wurden. Als Alternative wurde eine Aktivierung via Körnerzellen und MF vorgeschlagen (G Buzsáki 1986). Jede SPW geht mit einer

großen Anzahl feuender Pyramidenzellen im STP einher, aber auch Interneuronen und Körnerzellen erhöhten ihre Feuerrate während einer SPW (G Buzsáki 1986). Die Amplitude von SPW erhöhte sich bei systemischer Gabe von Atropin (Acetylcholin Rezeptorblockade) oder Picrotoxin (nichtkompetitiver *Gamma-Aminobutyric acid* [GABA]-A-Rezeptor-Antagonist), wobei die Häufigkeit sich nicht veränderte. Diazepam und Nembutal (GABA-A-Rezeptor Agonisten) reduzierten die Häufigkeit von SPW deutlich, ohne die Amplitude zu verändern (G Buzsáki 1986). Die den SPW zugrundeliegenden zellulären Eigenschaften teilen sich in wesentliche Merkmale mit dem physiologischen Prozess der *Long-Term-Potentiation*, welche im Zusammenhang mit der Generierung von Erinnerungen steht (G Buzsáki 1986). Etwa ein Jahrzehnt später wurden von Ylinen *et al.* hochfrequente (200 Hz) Oszillationen (SPR), welche zeitgleich mit SPW auftraten, im intakten Hippocampus beschrieben (Ylinen et al. 1995). Diese SPR getauften Ereignisse resultieren aus der Interaktion von CA1-Pyramidenzellen und deren inhibitorischen Neuronen auf Grundlage von starker Populationsaktivität in CA3 (G Buzsáki et al. 1992; Ylinen et al. 1995). Der Zusammenhang mit Erinnerungsbildung und der Generierung von SPR wurde bereits früh postuliert und konnte über viele Versuche in Nagetieren, vor allem Ratten, bestätigt werden (G Buzsáki 1986; Ylinen et al. 1995; J Csicsvari et al. 1999; György Buzsáki 2006; Sullivan et al. 2011; Jozsef Csicsvari and Dupret 2014; György Buzsáki 2015; Pronier, Morici, and Girardeau 2023). Versuche im Affen waren konsistent mit den Erkenntnissen aus Nagetieren (Skaggs et al. 2007). Auch im Menschen konnten SPR aufgezeichnet werden. Die Verlinkung mit der Bildung von Erinnerungen bleibt, auch aufgrund der Limitationen auf meist nur Oberflächen-EEG anstatt Tiefenhirnaufnahmen, bislang jedoch schwach, auch weil die Unterscheidung mit pathologischen SPW und deren *Ripple* oft schwierig ist (Ramadan, Eschenko, and Sara 2009; Jefferys et al. 2012; Takagi 2023).

1.1.1.1. Der Ursprung von SPWs

Die Arbeit von Ylinen *et al.* ist zusammen mit der parallel erschienen Arbeit von Bragin *et al.* die erste Arbeit, welche konsequent Siliziumelektroden mit mehreren (meist 16) linearen Ableitpunkten für die Aufnahme von Tiefenhirn-EEG verwendet (Ylinen et al. 1995; Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995). Diese Technik ermöglicht die Darstellung von Stromdichten (*Current-Source-Density*, CSD)-Diagrammen, welche das lokale Feldpotenzial (LFP) in den verschiedenen Schichten des Hippocampus visualisiert und so über die Verteilung von lokalen Elektronenminima (*Sinks*, üblicherweise in blau) den Eingang („*Input*“, hereinkommende Ströme) bzw. über lokale Elektronenmaxima (*Sources*, üblicherweise in rot) die Weiterleitung („*Output*“, herausgehende Ströme) von Signalen anzeigt (während grün üblicherweise die Abwesenheit von Strömen anzeigt).

Es wurden in beiden Publikationen drei unterschiedliche Ereignisse gezeigt, eine durch PP stimulierte SPW, welche bei Ylinen *et al.* zu *Sinks* in STO, STR und vor allem der Molekularschicht des DG (*Molecular layer*, ML) führte, während bei Bragin *et al.* nur ein *Sink* im ML detektiert wurde. In der Arbeit von Bragin *et al.* führte jedoch eine bilaterale Entfernung des EC zu zwei *Sinks* oberhalb der hippocampalen Fissur (HF) sowohl bei einer PP-Stimulation

als auch einer Stimulation der *Ventral Hippocampal Commissure* (VHC). Bei intaktem EC wurden durch eine Stimulation der VHC SPW mit *Sinks* im STO und STR erzeugt, sowie nachfolgend mit *Sinks* im ML. Physiologische SPW zeigten einen *Sink* im STR und nachfolgend in ML bei Ylinen *et al.* in Abbildung 1D bzw. zwei *Sinks* in STR bei Bragin *et al.* in Abbildung 11 (Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995; Ylinen *et al.* 1995). Das STLM wurde hierbei nicht definiert, *Sinks* im vermuteten STLM sind jedoch bei Ylinen *et al.* sowohl bei der PP-Stimulation als auch bei physiologischen SPW nachfolgend des ersten Ereignisses zu sehen und bei Bragin *et al.* bei der physiologischen SPW (Ylinen *et al.* 1995; Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995). Der EC projiziert via PP in den Hippocampus (Amaral and Witter 1989; Lopes da Silva *et al.* 1990). Das der EC auch für die im CSD beobachteten *Sinks* im STLM verantwortlich ist, konnte durch bilaterale Entfernung des EC in Ratten gezeigt werden, während im intakten Gehirn das übliche Muster von *Sinks* im STO, STR und primär STLM zu sehen war (siehe Abbildung 4 linke Seite; (György Buzsáki 2002)) fehlte der *Sink* im STLM völlig bei Tieren welchen bilateral der EC entfernt wurde (Abbildung 4 rechte Seite; (György Buzsáki 2002)). Konträr zu diesen Ergebnissen führte in der zuvor genannten Arbeit von Bragin *et al.* eine bilaterale Läsion des EC erst zu einem Auftreten von zwei *Sinks* im STR und STLM bei einer PP-Stimulation, sowie einer Verstärkung des STR *Sinks* bei der Stimulation des VHC und einer Verstärkung des STLM *Sinks* bei physiologischen SPW (Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995). Während SPW im erwachsenen Gehirn umfangreich erforscht sind, hat sich die Datenlage in der frühen Entwicklung erst vor kurzem verbessert. Dies ist insbesondere dahingehend wichtig, da frühe (pathogene) Veränderungen in der neonatalen Hirnentwicklung weitreichende Folgen für die spätere Entwicklung haben können (Hadders-Algra 2021; Günther and Hanganu-Opatz 2022; Bourgeron 2015).

Was bekannt ist: SPW in Ratten konnten im Alter von *Postnatal* (Tage nach der Geburt; P)1 – P18 mit Hilfe von Tiefenelektroden detektiert werden (Leinekugel *et al.* 2002; K. Å. Karlsson *et al.* 2006; Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007; Mohns and Blumberg 2008). Bis zu einem Alter von P8 treten SPW hierbei im Zusammenhang mit unwillkürlichen Zuckungen (*Startles*) auf, in P2 – P4 teilweise jede zweite SPW, wobei dies mit dem Alter abnahm und ab P10 fast gar nicht mehr auftrat (K. Å. Karlsson *et al.* 2006; Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). Das Tiefenprofil im CSD zeigt hier vor allem einen prominenten *Sink* im STR an (siehe Abbildung 1, exemplarisch P2, P10 und P18 in Mohns *et al.*), SPW mit zwei *Sinks* (STR und STLM; Doppel-SPW [DPL-SPW]) wurden ausschließlich in den Altersgruppen P8 – P11 detektiert (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). Die direkte Infusion der stark exzitatorisch wirkenden Kainsäure kontralateral zur Aufnahmeelektrode führte nur in jenem Zeitraum, vor allem P9, wo auch DPL-SPW auftraten, zu einer Überstimulation. Bei diesen Anfällen traten *interiktal Spikes* auf welche eine Phasenumkehr im Vergleich zu den bisher beobachteten SPW hatten mit einem *Sink* im STO und einer *Source* in STR (STO-SPW; siehe Abbildung 5C in (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007)). In allen anderen Altersgruppen war auch oft nach zehn Injektionen kein Anfall zu beobachten (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007).

Valeeva *et al.* untersuchten kopffixierte Ratten im Alter von P2 – P7, wobei die elektrophysiologischen Aufnahmen im Alter P4 – P6 vorgenommen wurden. Auch hier konnten SPW detektiert werden, welche hier *early* SPW (eSPW) getauft wurden, da diesen SPW die typischen SPR fehlten, welche üblicherweise SPW in älteren Tieren begleiten (Valeeva et al. 2019). Valeeva *et al.* führten ebenfalls Stimulationen durch, zum einen über den VHC und zum anderen über das *angular bundle* (AB) welches u. A. den PP beinhaltet. Stimulationen des VHC generierten auch in der P5-Ratte SPW mit einem deutlichen *Sink* im STR ohne weitere erkennbare *Sinks* (STR-SPW), während über den AB stimulierte SPW in P3-Ratten zwei *Sinks* (DPL-SPW) zeigten; einen (schmaleren) im STR und einen im STLM, eine Verteilung wie sie auch bei den physiologischen eSPW zu sehen war. Die Verteilung war über die Altersstufen P2 – P7 konsistent (Valeeva et al. 2019). In einem Folgeexperiment in Ratten im Alter von P5 – P6 konnte gezeigt werden, dass durch mechanische Stimulation der Schnurrhaare SPW provoziert werden konnten, die raumzeitlich und im CSD-Profil identisch zu eSPW waren. Auch die provozierten SPW zeigten im CSD Profil einen doppelten *Sink*, einen im STR und einen im STLM welches eine Signalweiterleitung aus dem EC via dem PP und aus CA3 via SC vermuten lässt (Gainutdinov et al. 2023). Zusammen mit früheren Beobachtungen, die einem Zusammenhang von unwillkürlichen Zuckungen (*Startles*) mit SPW in sich frei bewegenden Ratten im Alter von P1 – P4 beschreiben, stärkt dies die Vermutung, dass eine somatosensorische Rückkopplung SPW und myoklonische Bewegungen miteinander verbindet (Gainutdinov et al. 2023; Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007).

Alle zuvor genannten Untersuchungen wurden in Ratten durchgeführt, obwohl die Maus anteilig das am meisten verwendete Versuchstier in der (Neuro)-forschung ist mit 72,2 % aller verwendeten Versuchstiere 2021 (Bundesinstitut für Risikobewertung 2022). Tiefenprofile von SPW in Mäusen wurden bislang nur selten gezeigt. In einer Untersuchung eines Epilepsiemodells basierend auf dysfunktionalen Kalium (Kv7) Kanälen zeigt sich an P7 sowohl in Kontrolltieren als auch in den dortigen Mutanten ein CSD-Tiefenprofil (ein *Sink* unterhalb STP in STR) wie die VHC-Stimulation an P5 bzw. physiologische SPW an P2 und P10 in der Ratte (vgl. Abbildung 6A (Valeeva et al. 2019); Abbildung 1A (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007) und ergänzende Abbildung S5a und S5d (Marguet et al. 2015)). In einem weiteren Experiment wurde in Mäusen untersucht, ob eine auf glutamaterge Neuronen spezifische Deletion des Ionenkanals NKCC1 Auswirkungen *in vivo* auf die Netzwerkentwicklung hat (siehe hierzu auch Abschnitt 1.1.1.2), wie sie *in vitro* bereits gezeigt werden konnte. Sowohl in Kontrollmäusen als auch NKCC1-KO Mäusen zeigten sich an P4 SPW welche im CSD-Tiefenprofil den zuvor in Ratten beobachten DPL-SPW entsprachen; zwei *Sinks*, je einer in STR und STLM; vgl. Abbildung 5C SPW in Graf *et al.* und Abbildung 4A in Mohns *et al.* (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007; Graf et al. 2021). Zusätzlich konnten hier physiologisch in beiden Mauslinien jene STO-SPW beobachten werden, wie sie in der Ratte bislang nur bei Anfallsereignissen auftraten; vgl. Abbildung 5C in Graf *et al.* und Abbildung 5C in Mohns *et al.* (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007; Graf et al. 2021).

Die SPW ist ein optimales neurophysiologisches Ereignis, um Veränderungen in der frühen Netzwerkentwicklung zu untersuchen, die Erforschung von SPW in den ersten beiden Lebenswochen der Maus ist jedoch so noch nicht durchgeführt worden.

Um die frühe Netzwerkentwicklung besser verstehen zu können muss vor allem die Entwicklung von GABA als im adulten Tier primären inhibitorischen Transmitter besser verstanden werden.

Die ersten beiden Lebenswochen im Nagetier sind von einer Vielzahl von neuronalen Entwicklungsprozessen geprägt, so werden bis zu einem Alter von etwa P20 die dendritische Entwicklung und Synaptogenese abgeschlossen. Vor allem aber beginnen mit der Geburt Prozesse wie die Verarbeitung von äußeren Einflüssen („*Input*“) und die entsprechende Reaktion darauf („*Output*“), die Myelinisierung von Nervenbahnen, das „Beschneiden“ von synaptischen Verbindungen („*synaptic pruning*“) und spezifische, apoptotische Prozesse. Mit diesen multiplen Vorgängen werden in den ersten beiden Lebenswochen Prozesse abgebildet die beim Menschen vom dritten Trimester, über die Geburt bis ins Erwachsenenalter ablaufen (Chini, Pfeffer, and Hanganu-Opatz 2022). Ein charakteristisches Detail, welches in diesem Zeitraum *in vitro* beobachtet wurde ist das graduelle Verschwinden der *Giant Depolarizing Potential* (GDP) zwischen den Zeitpunkten P8 – P12, welches mit dem Abklingen der depolarisierenden Wirkung von GABA zwischen P6 und P9 einhergeht (Ben-Ari et al. 1989; Strata and Cherubini 1994). Im Zeitraum vor P6 agiert GABA hingegen stark depolarisierend auf zellulärer Ebene, jedoch wie gewohnt inhibitorisch auf Netzwerkebene (Kirmse et al. 2015). Netzwerktechnisch werden kurz vor der Geburt zunächst weit reichende Glutamerge und GABAerge Verbindungen aufgebaut, gefolgt von dendritischer Inhibition in der ersten Lebenswoche und somatischen GABAergen Inputs zum Ende der zweiten Lebenswoche (Cossart and Khazipov 2022).

Eine Möglichkeit die Entwicklung von GABA zu untersuchen ist es jene Kanäle zu manipulieren, die die Rezeptoren steuern, die einen Einfluss auf die GABA-Transmission haben.

1.1.1.2. NKCC1

Die ionotropische GABA-Transmission wird über Anionen durchlässige GABA-Rezeptoren gesteuert. Als Anionen sind vor allem Chloridionen von Bedeutung deren aktive Aufnahme in unausgereiften Pyramidenzellen primär über den Natrium-Kationen (Na^{2+})/Kalium Kationen (K^{+})/2 Chlorid-Anionen (Cl^{-}) Co-Transporter (NKCC1) erfolgt (Virtanen et al. 2020). Das Level an Chloridionen und damit die chemische Spannung bestimmt maßgeblich die Funktionsweise der GABAergen Inaktivierung durch Chlorid-durchlässige Rezeptoren (Bormann, Hamill, and Sakmann 1987). In ausgereiften Pyramidenzellen halten Chlorid-Transporter, welche Chlorid aus der Zelle transportieren den intrazellulären Chloridionen Level niedrig. Hierdurch agiert GABA hyperpolarisierend und kann seine inaktivierende Funktion ausführen. Die inaktivierende Funktion von GABA ist essenziell, um zum einen Zustände einer Übererregbarkeit zu verhindern und zum anderen um innerhalb von Zellverbänden Oszillationen zu steuern. Wenn GABA

depolarisierend wirkt, werden kurze Ausbrüche von Spontanaktivität generiert, diese kurzen Ausbrüchen („*Bursts*“) spielen eine wesentliche Rolle in der frühen Reifung der neuronalen Aktivität (Sipilä et al. 2005).

Um den Einfluss von NKCC1 in der Netzwerkentwicklung zu untersuchen, generierte die Arbeitsgruppe um Prof. Holthoff ein NKCC^{-/-} KO-Modell, bei dem der NKCC1 KO an den vorderhirnspezifischen Promoter *Emx1* gekoppelt ist. In diesen Tieren wird *Slc12a2* (welches NKCC1 kodiert) in etwa 88 % aller Neuronen des Neocortex, Hippocampus und den Gliazellen des Pallium mit Hilfe der Mauslinie B6.129S2-*Emx1*^{tml(cre)}Krj/J entfernt (The Jackson Laboratory 2023; Gorski et al. 2002; Graf et al. 2021).

1.2. Primärer visueller Cortex

Die zweite Gehirnstruktur, welche innerhalb dieser Arbeit untersucht wurde, war der visuelle Cortex. Es wurde hierbei der Fokus auf den primären Teil (V1) gelegt, welcher direkt die Informationen der Sehorgane erhält. Der V1 liegt caudal im Gehirn und bezieht sich in einer P6-Maus nur auf die obersten 600 µm (Paxinos et al. 2006). Die Augen bei Mäusen öffnen sich etwa um das Alter P12 (Hoy and Niell 2015). Die erste Aktivität im V1 wird durch intrinsische Aktivität der Retina und nicht durch externe Lichtstimuli hervorgerufen (Ackman, Burbridge, and Crair 2012). Diese retinalen Wellen bilden das erste Eingangs- oder auch Trainingssignal, welches vom V1 verarbeitet wird. Innerhalb eines Tages nach Augenöffnung ist die Aktivität von V1 bereits mit der eines erwachsenen Tieres vergleichbar. Hierzu zählen die kontinuierliche Aktivität, Reaktion auf Stimulierung, sowie niederfrequente Oszillationen während der Ruhephasen (Hoy and Niell 2015). In der frühen Netzwerkentwicklung wurden bislang vier unterschiedliche Muster unterschieden: (1) *Spindle Bursts*, (2) *Slow-Activity-Transients* (SAT), (3) γ -Oszillationen und (4) Lange-Oszillationen, auf die in der Folge noch etwas genauer eingegangen wird.

(1) *Spindle Bursts*: Bei dem am häufigsten beschriebenen Muster handelt es sich um kurze, 1 – 10 s anhaltenden, Oszillationen mit einer Frequenz von maximal 15 Hz. *Spindle Bursts* wurden in der Ratte (Hanganu, Ben-Ari, and Khazipov 2006; M. T. Colonnese and Khazipov 2010; Kummer et al. 2016; Rustem Khazipov et al. 2004; Minlebaev, Ben-Ari, and Khazipov 2007) als auch in der Maus beschrieben (Shen and Colonnese 2016). *Spindle Bursts* werden durch Aktivität in der Retina ausgelöst, welche dort sowohl intrinsisch als auch extrinsisch, durch Lichtreize generiert werden können (Hanganu, Ben-Ari, and Khazipov 2006). *Spindle Bursts* gelten als das Nagetieräquivalent der „ *δ -Brushes*“ im menschlichen Ungeborenen (25. – 38. Schwangerschaftswoche) (André et al. 2010; Yang et al. 2016).

(2) SAT: Zuerst wurden SAT im Menschen als sehr langsame (< 0,5 Hz) 700 µV starke Ereignisse beschrieben, welche hochfrequente Oszillationen einschlossen (Vanhatalo et al. 2002, 2005; Tolonen et al. 2007). In der Maus wurden SAT als lange (> 9 s) sehr langsame (< 0,5 Hz) Wellen beschrieben. Wie auch im Menschen beinhalteten diese Ereignisse ebenfalls

hochfrequente Oszillationen im β -Frequenzbereich (17 – 29 Hz) (M. T. Colonnese and Khazipov 2010).

(3) γ -Oszillationen oder γ -Ausbrüche (*Bursts*): Kurze hochfrequente (30 – 40 Hz) Oszillationen, welche alle 10 – 30 s auftraten (Yang et al. 2009). Vergleichbare Oszillationen wurden auch im Menschen bei achtmonatigen Babys gesehen (Csibra et al. 2000).

(4) Lange-Oszillationen: bis zu 83 s lange Oszillationen mit einer durchschnittlichen Frequenz zwischen 10 und 20 Hz. Während die zuvor beschriebenen Aktivitäten lokal begrenzt sind, weiten sich lange Oszillationen über den gesamten Cortex aus und synchronisieren dabei innerhalb von 600 – 800 μm große cortikale Bereiche (Yang et al. 2009).

1.3. Ionenkanäle/Transporter (Defekte)

Elektrische Aktivität im Gehirn wird durch den Fluss von Ionen, vor allem Na^+ und K^+ , sowie zu einem Teil noch Calcium Kationen (Ca^{2+}), sowie Cl^- , vermittelt. Im Ruhezustand (Ruhepotential) einer Nervenzelle herrscht eine Potentialdifferenz dieser Ionen zwischen dem Milieu innerhalb der Zelle (intrazellulär) und dem Bereich außerhalb (extrazellulär) der Zelle. Für die meisten Nervenzellen beträgt diese Differenz -70 mV. Um diese Potentialdifferenz zu erreichen ist vor allem die Na^+/K^+ -Pumpe verantwortlich, diese pumpt beständig Na^+ aus der Zelle heraus und K^+ in die Zelle hinein. Wird eine Zelle im Ruhepotential durch einen externen elektrischen Reiz stimuliert, öffnen sich spannungsabhängige Natriumkanäle was zu einem rapiden Einfluss von Natrium in die Zelle führt und diese auf eine positive Differenz von +40 mV depolarisiert. Zum einen führt diese Depolarisation am so genannten Axonhügel zu einer Reizweiterleitung und zum anderen öffnen sich spannungsabhängige Kaliumkanäle, wodurch K^+ entlang seines elektrochemischen Gradienten aus der Zelle fließt und die Zelle repolarisiert. Dieser Ausfluss an K^+ -Ionen führt jedoch zu einem kurzzeitigen Überschießen der Polarisation, der Hyperpolarisation, in dem sich ein Spannungsgradient von -90 mV einstellt und sich alle spannungsabhängigen Ionenkanäle wieder schließen. Nun kann die Na^+/K^+ -Pumpe wieder arbeiten und durch das Verschieben von drei Na^+ gegen zwei K^+ das Ruhepotential wieder herstellen. Da dieser Prozess Energie (Adenosintriphosphat. ATP) verbraucht ist er langsamer als der schnelle Ausgleich der Konzentration über den elektrochemischen Gradienten. Genetische Mutationen der an diesem Prozess beteiligten Enzyme und Ionenkanäle können gravierende Folgen haben. Eine der häufigsten Krankheiten in diesem Zusammenhang sind Kanalopathien, Mutationen an den Ionenkanälen. Ionenkanäle können in ihrer Funktion gehemmt oder komplett inhibiert sein und keine Ionen mehr durchlassen oder auch eine Überfunktion (gain-of-function) aufweisen. Die Aktivierungsschwelle bei spannungsabhängigen Kanälen kann verschoben sein, so dass diese später oder auch früher aktiv werden. Kanalopathien sind eine der häufigsten Ursachen bei Epilepsien. Kommt es z. B. zu einem Verschieben der Aktivierungsschwelle des Na^+ -Kanals zu einem niedrigeren Wert (*gain of function*), könnte dieser bereits durch leichte Reize (z. B. flackerndes Licht) auslösen und den Prozess der Depolarisierung in Gang setzen. Auf der anderen Seite könnte ein Verschieben der Aktivierungsschwelle bei Na^+ -Kanälen zu einem höheren Wert diese erst deutlich später oder gar nicht auslösen lassen, was gerade bei Zellen, die für eine Inhibition zuständig sind, ebenfalls zu einer größeren Reizempfindlichkeit führt. Jedoch nicht nur bei der Pathogenese spielen Ionenkanäle eine große Rolle, auch bei der normalen Netzwerkentwicklung ist die normale Funktion von Ionenkanälen und Transportern von entscheidender Wichtigkeit.

1.3.1. „Vulnerable Fenster“ der Hirnentwicklung

Viele genetisch bedingte Erkrankungen des ZNS manifestieren sich bereits in der frühen Hirnentwicklung, in welcher Zeit das sich entwickelnde Gehirn anfälliger für epileptische Anfälle ist (Ben-Ari and Holmes 2006). Gleichmaßen sprechen junge Gehirne besonders gut auf pharmakologische Interventionen an (Turrigiano and Nelson 2004). Kritische Phasen der Hirnentwicklung sind besonders für das visuelle System bekannt, wo eine frühe Unterdrückung der Sehfähigkeit zu bestimmten Zeitpunkten die spätere Verarbeitung der visuellen Signale verändert (Katagiri, Fagiolini, and Hensch 2007; Hensch 2004; Levelt and Hübener 2012). Dieses Konzept trifft prinzipiell auch auf Krankheiten, wie Epilepsien, zu. So konnten Peters *et al.* zunächst zeigen, dass ein steuerbarer Defekt des Kv7-Kanals in Mäusen spezifisch innerhalb der ersten zwei Wochen postnatal zu einem späteren epileptischen Phänotyp, Gehirn- und Verhaltensänderungen führte, während ein Defekt des Kanals vor und nach den ersten zwei Wochen postnatal zu keinen Veränderungen und zu keiner Epilepsie führte (Peters et al. 2005). In der Arbeit von Marguet *et al.* konnte in der Folge gezeigt werden, dass eine gezielte pharmakologische Behandlung innerhalb eines spezifischen Zeitraums (das „vulnerable Fenster“) der frühen Hirnentwicklung eine durch einen Defekt des Kanals ansonsten verursachte Enzephalopathie verhindern kann. Dieser Effekt hielt an, obwohl der zugrunde liegende Defekt des Kanals weiterhin vorlag (Marguet et al. 2015). Es ist in der Folge nun wichtig eben jene „verwundbaren Fenster“ zu identifizieren und für die Therapie zugänglich zu machen. Diese Art der Behandlung ermöglicht eine zielgerichtete Therapie und verhindert eine mögliche lebenslange Therapie mit starken Medikamenten und deren assoziierten Nebenwirkungen.

Innerhalb dieser Arbeit werden in dem am häufigsten verwendeten Versuchstier, der Maus, die ersten zwei Wochen der hippocampalen Netzwerkentwicklung auf Basis von Feldpotenzialmessungen charakterisiert, um für spätere Forschungen eine Grundlage und Referenz zu schaffen und so „verwundbare Fenster“ besser zu identifizieren.

2. Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die frühe Netzwerkentwicklung des murinen Hippocampus (Ammonshorn-Region, CA1) innerhalb der ersten beiden Lebenswochen zu charakterisieren. Hierfür wurden elektrophysiologische Aufnahmen der hippokampalen Netzwerkaktivität in neugeborenen Mäusen im Alter von P1 – P12, sowie an P14 durchgeführt. Ziel war es einen vollständigen Überblick über die Netzwerkaktivität in den ersten zwei Lebenswochen zu erhalten.

Bisherige Annahme, basierend auf *in vitro* Studien war, dass die frühe Netzwerkaktivität der CA1-Region im Hippocampus durch die CA3-Region gesteuert wird. Neuere Studien geben jedoch Hinweise auf einen frühen Einfluss des EC. Um diese Theorie zu überprüfen, wurde an den Zeitpunkten P7 und P12 die CA3-Region über die VHC, und dem PP, der Hauptverbindung vom EC, elektrisch mittels Wolframelektroden stimuliert.

Um die Komposition der frühen Netzwerkaktivität (SPW und Oszillationen) aufzuschlüsseln wurde zudem eine vorderhirnspezifische NKCC1 Knockout Mutante an den Tagen P4, P7 und P12 im Vergleich zu Wildtypen (WT) untersucht. Bei NKCC1 handelt es sich um den Natrium-Kalium-2-Chlorid-Cotransporter 1, welcher in der frühen Entwicklung stark exprimiert wird und Verursacher der depolarisierenden Wirkung des im adulten Gehirn inhibitorischen Neurotransmitters GABA gilt. Die depolarisierende Wirkung von GABA gilt darüber hinaus als Quelle der *in vitro* beobachteten GDP, welche die Grundlage für die Theorie der frühen Treiberaktivität von CA3 ist. Die Untersuchung einer NKCC1 *Knock-Out* (KO) Mutante sollte hierbei Licht auf den Einfluss von GDP bzw. dem EC mit dem Ionenkanal NKCC1 in der frühen Entwicklung bringen.

Zusammenfassend bildet diese Arbeit eine Grundlagenreferenz für zukünftige elektrophysiologische Experimente in neonatalen Mäusen. Die neuen Erkenntnisse über den Entstehungsursprung der SPW können darüber hinaus bei der Entwicklung von gezielten Therapien helfen.

3. Materialien

3.1. Mauslinien

Tabelle 1: Mauslinien

Mauslinie	Herkunft	Ort
C57BL/6J (Bl6)	Charles River Laboratories International, Inc.	Wilmington, USA / Mäuse bezogen vom Standort: Erkrath, Deutschland
NKCC1 (Emx1 ^{cre} /Slc12a2 ^{fl/fl}) “NKCC1 IRES Cre / NKCC1-KO”	Klinik für Neurologie, AG BioImaging (Prof. Dr. Knut Holthoff)	Jena, Deutschland
NKCC1: Na ²⁺ /K ⁺ /2Cl ⁻ Cotransporter		

Die Zucht und Erhaltung der Mauslinien wurde in der zentralen Tierhaltung des Zentrums für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH), der Experimentellen Tierhaltung des ZMNH, der Tierhaltung Pharmakologie des Universitätsklinikums Köln, sowie der Experimentellen Tierhaltung im Lehre und Forschungsinstitut (LFI) des Universitätsklinikums Köln durchgeführt. Die Haltung der Tiere erfolgte nach den anerkannten Standards der experimentellen Tierhaltung und mit entsprechenden behördlichen Genehmigungen.

3.2. Puffer und Lösungen

Tabelle 2: Liste der Puffer und Lösungen

Name	Rezept
Ohrlochstanzen-Lysispuffer	50 mm Tris-HCl, pH 8,0 100 mm NaCl 0,2 % Nonidet P-40 + 0,2 % Tween 20 1 mm EDTA 0,1 mg/mL Proteinkinase K
PBS (20 ×) Stocklösung	3 M NaCl 161 mm Na ₂ HPO ₄ 39 mm KH ₂ PO ₄
Puffer (10 ×)	0,02 g Bromphenolblau 0,02 g Xylencyanol 5 mL Glycerin 1,7 mL 0,5 M EDTA pH 8,0 10 mL H ₂ O bi-destilliert.
Wasserstoffperoxid-Lösung (10 %)	1 × PBS 10 % H ₂ O ₂
EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure; PBS: <i>Phosphate buffered saline</i> (Phosphatgepufferte Salzlösung)	

3.3. Materiallisten

Tabelle 3: Liste der Chemikalien, Substanzen und Enzyme

Chemikalie / Substanz / Enzym (Handelsname)	Hersteller	Ort
2-Methylbutan 99+%	Acros Organics / Thermo Fischer Scientific	Waltham, MA, USA
Abs. Ethanol (Rotipuran® 99,8 %)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Agarose	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Steinheim, Deutschland
Augengel (Vidisc®)	Bausch + Lomb GmbH	Heidelberg, Deutschland

Chemikalie / Substanz / Enzym (Handelsname)	Hersteller	Ort
Bupivacain(hydrochlorid) (Bucain® 0,5 %)	Actavis	Parsippany-Troy Hills, NJ, USA
Buprenorphin (Temgesic®)	RB Pharmaceuticals	Slough, Berkshire, Vereinigtes Königreich
DiI (1,1'-Diioctadecyl-3,3,3',3'-Tetramethylindocarbocyanine Perchlorate ('DiI'; DiIC18(3)))	Thermo Fischer Scientific	Waltham, MA, USA
di-Natriumhydrogenphosphat-dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Druckluft (Dust-Off®)	Falcon Safety Products Inc.	Branchburg, NJ, USA
Eindeckmedium (Roti®-Histokitt)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Einfriermedium (Cryo-Glue)	SLEE Medical GmbH	
Essigsäure (Rotipuran® 100 %)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Ethanol (MEK) (99 %, vergällt mit 1 % Methylethylketon)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Fluxmittel (Stay Brite Stay-Clean Jewelry soldering Flux [4 oz.])	J.W. Harris Co. Inc.	Mason, OH, USA
Isofluran (Forene® 100 %)	AbVie	North Chicago, IL, USA
Isotonische Kochsalzlösung (0,9 % Natrium-Chlorid-Lösung)	Fresenius Kabi	Bad Homburg vor der Höhe, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Ketamin 10 %	WDT	Garbsen, Deutschland
Kresylviolett(acetat)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Lidocain-HCl B. Braun 2 %	B. Braun Melsungen AG	Melsungen, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl) 99,8 %	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Nonidet P-40	Roche Diagnostik GmbH	Mannheim, Deutschland
Paraformaldehyd-Lösung (4,5 % Roti®-Histofix)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Proteinkinase-K	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Saccharose (99,5 % D+)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Steinheim, Deutschland
Salzsäure (HCl) ([37 %, rauchend] Rotipuran®)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Sauerstoff (medizinisch)	Linde (Hausversorger)	Köln, Deutschland
Sekundenkleber (Cyanacrylat) (Blitzschnell, Mini Gel)	Uhu	Bühl / Baden, Deutschland
Taq-Polimerase	Eigene Herstellung	Hamburg, Deutschland / Köln, Deutschland
Trockeneis	Linde (Hausversorger)	Köln, Deutschland
Tween®-20	AppliChem GmbH	Darmstadt
Urethan ≥ 99 %	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Steinheim, Deutschland
Wasser für Injektionszwecke (Aqua ad injectabilia) Mini-Plasco® connect	Braun	Aschaffenburg, Deutschland
Wasserstoffperoxid (H_2O_2) (30 %)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH	Steinheim, Deutschland
Xylazin ([20 mg / mL] Sedaxylan)	WDT	Garbsen, Deutschland
Xylol (Xylol-Ersatz) (Roti®-Histol)	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe, Deutschland
Zahnzement (lichthärtend, flüssig) (Opti-Bond® All-In-One)	Kerr Dental Europe	Bioggio, Schweiz
Zahnzement (lichthärtend, viskos) (A3 Tetric EvoFlow)	Ivoclar Vivadent AG	Schaan, Liechtenstein

Tabelle 4: Lister der Primer

Name	Sequenz
NKCC1-IRES-Cre	EMX1-IRES-cre oIMR4170: 5'- AAG GTG TGG TTC CAG AAT CG -3' oIMR4171: 5'- CTC TCC ACC AGA AGG CTG AG -3' oIMR1084: 5'- GCG GTC TGG CAG TAA AAA CTA TC -3' oIMR1085: 5'- GTG AAA CAG CAT TGC TGT CAC TT -3' NKCC1 flox/flox NKCC1-KO: 5'- TAG TGA TAG CAA TTA AGT TTG GAG -3' NKCC1-WT0: 5'- CTT AGG TCA AGA GTA ATC AG -3' NKCC1_Sap_R: 5'- GTC CTT CTT GAG GTA CTG TCC -3'

Tabelle 5: Verbrauchsmaterial

Name	Typ	Hersteller	Ort
Bohrköpfe	0,45 mm und 0,6 mm	Stoelting	Wood Dale, IL, USA
Deckgläser	24 × 50 mm # 1.5	Menzel Gläser	Braunschweig, Deutschland
Einbettungs-Gussform	Peel-A-Way® Embedding Molds	Polysciences, Inc.	Warrington, PA, USA
Einmalspritzen	Omni-Fix®-F	Braun	Aschaffenburg, Deutschland
Erdungskabel mit Silberdraht	Sonderteil	Eigene Herstellung	Hamburg / Köln, Deutschland
Gewebeklebeband	Leukosilk®	BSN Medical	Hamburg, Deutschland
Implantations Elektroden zur Aufnahme von lokalen Feldpotentialen („Silicon Probes“)	A1x16-3mm-50-703-A16 A1x16-5mm-50-703-A16 A1x16-3mm-100-177-A16 A1x16-5mm-100-177-A16 A1x32-6mm-50-703-A32	NeuroNexus Technologies Inc. / Nuvectra	Ann Arbor, MI, USA / Plano, TX, USA
Kanülen	Sterican® 27 G (mittelgrau) 0,40 mm Ø × 12 mm	Braun	Aschaffenburg, Deutschland
Kosmetiktücher	Tissue-Box	Roth	Karlsruhe, Deutschland
Nackenrohr „Neckbar“	Sonderteil	Eigene Herstellung	Hamburg / Köln, Deutschland
Objektträger	Superfrost Ultra Plus®	Thermoscientific / Thermo Fischer Scientific	Waltham, MA, USA
Pinsel	Artists' Water Colour Sable	Winsor & Newton	London, United Kingdom
Rasierklingen (Cryostat)	Einwegklingen, schmal (grün)	SLEE Medical GmbH	Mainz, Deutschland
Rasierklingen (Universal)	Stainless Steel Blades	Campden Instruments Limited	Loughborough, Leicester, United Kingdom
Rasierklingen (Vibrotom)	Platinum Coated Blades	Feather Safety Razor Co., Ltd.	Osaka, Japan
Rollrandschnappdeckelgläser + Rollrandschnappdeckelgläserdeckel	40 × 19 mm, 5 mL, Soda, 18 mm Deckel	Scherf Präzision GmbH	Meinigen, Deutschland
Rundkopfstiltupfer	Eurotubo®	Deltalab	Rubí, Spanien
Spannfolie	Parafilm®	Pechiney Plastic Packaging, Inc. / Bemis Company	Batavia, IL, USA / Neenah, WI, USA

Name	Typ	Hersteller	Ort
Zellkulturplatte (24 Well)	Standard, F	SARSTEDT AG & Co. KG	Nümbrecht, Deutschland

Tabelle 6: Geräteliste

Name	Typ	Hersteller	Ort
Aufnahmesystem	NLX Digitaly Lynx 4SX	NeuraLynx, Inc.	Bozeman, MT, USA
Bohrer	Electer EMax	NSK-Nakanishi International	Shimohinata, Kanuma, Japan
Digitales Multimeter	Modell 187	Fluke Corporation	Everett, WA, USA
Druckluftadapter	Dust-Off® 360° Valve	Falcon Safety Products Inc.	Branchburg, NJ, USA
Elektroden (Stimulation)	Wolfram-Elektroden (2 × 100 µm)	Eigene Herstellung (siehe Abschnitt 4.2.2)	Köln, Deutschland
Geldokumentation	Gel iX20 Imager Windows Version	Intas Science Imaging Instruments GmbH	Göttingen, Deutschland
Heizmatten	div. Größen	Stoelting	Wood Dale, IL, USA
Impedanzmessgerät + Zubehör	NiPod	NeuroNexus Technologies Inc. / Nuvector	Ann Arbor, MI, USA / Plano, TX, USA
Kartuschenhalter (Zahnzement)	Applikatorpistole (Compules® Tips Gun)	Dentsply Detrey	Konstanz, Deutschland
Maus und neonatale Ratten Adapter „Ableittischchen“	Mouse and Neonatal Rat Adaptor	Stoelting Co.	Wood Dale, IL, USA
Messingblock	Sonderteil	Eigene Herstellung	Hamburg, Deutschland
Mikroliterpipetten	0,5 – 10 µL 10 – 100 µL 100 – 1000 µL	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
Mikroliterspritzen	u. A. Neuros®	Hamilton	Reno, NV, USA
Mikroskope	Stereomikroskop mit Digitalkamera / Fluoreszenzmikroskop (Axio Imager.M2 mit HXP 120 V) / KL 1500 LED	Zeiss / Zeiss / Olympus	Oberkochen, Deutschland / Oberkochen, Deutschland / Shinjuku, Japan
Mobile Lötstation	WHS MC	Weller	Besigheim, Deutschland
Narkosegasanlage (Isofluran) + Flaschenadapter	Verdampfer + Sicherheitseinfüller für Isofluran	Eickemeyer®	Ranstadt, Deutschland
OP-Besteck	Div.	Fine Science Tools	Heidelberg, Deutschland
Präzisionspumpe	Nicht mehr erhältlich	Neurostar	Tübingen, Deutschland
Signalgenerator (Audio)	Minirater-MR1	NTI-Audio AG	Schaan, Liechtenstein
Spannungsgenerator	STG 3000	Multi Channel Systems MCS GmbH	Reutlingen, Deutschland
Stereotakt + Koordinatenmessgerät	Model 940	David Kopf Instruments	Tujunga, CA, USA
Stereotakt + Koordinatenmessgerät	Lab Standard	Stoelting Co.	Wood Dale, IL, USA
Thermocycler	Modell T3	Biometra	Göttingen, Deutschland
Thermostat	DC Temperature Control System	FHC	Bowdoin, ME, USA
Wasserrohrzange	Toom-Eigenmarke	Toom	Köln, Deutschland
Zentrifuge	Modell 5424	Eppendorf	Hamburg, Deutschland

Tabelle 7: Softwareliste

Produkt	Hersteller
Illustrator, InDesign, Photoshop	Adobe

Produkt	Hersteller
Matlab 2011b – 2017a	Mathworks
Office 2010	Microsoft
Prism 6	Graph Pad

4. Methoden

4.1. Mausezucht

Die in dieser Arbeit verwendeten C57BL/6J-Mäuse wurden unter spezifisch-pathogenfreien-Bedingungen in der zentralen Versuchstierhaltung bzw. experimentellen Versuchstierhaltung des ZMNH des Universitätsklinikums Eppendorf und der Versuchstierhaltung des Zentrums für Molekulare Medizin in Köln, sowie der experimentellen Versuchstierhaltung (eVTH) im LFI an der Universitätsklinik Köln gezüchtet. Die NKCC1 ($Emx1^{cre}/Slc12a2^{fl/fl}$)-Mäuse wurden zunächst in der zentralen Tierhaltung in Jena gezüchtet und im Anschluss in der eVTH des LFI erhalten. In der eVTH herrschte ein invertierter Tag-Nacht-Zyklus von 12:12 Stunden (06:00 – 18:00 dunkel). In allen Tierhaltungen wurde eine Temperatur von $23 \pm 1^\circ\text{C}$ und 50 % relative Luftfeuchtigkeit gehalten. Futter und Wasser standen den Tieren *ad libitum* zur Verfügung. Alle Tierexperimente wurden von der Behörde für Soziales, Familie, Gesundheit und Verbraucherschutz der Freien und Hansestadt Hamburg genehmigt, die entsprechenden Genehmigungen wurden für die Tierversuche in Köln von dem Landesamt für Natur-, Umwelt- und Verbraucherschutz NRW, Recklinghausen übernommen (2015.A019). Aus Gründen der besseren Lesbarkeit werden im Folgenden die Mäuse der Linie NKCC1 ($Emx1^{cre}/Slc12a2^{fl/fl}$) entsprechend ihres Genotyps als WT ($Emx1^{+/+}/Slc12a2^{fl/fl}$) oder KO ($Emx1^{+/cre}/Slc12a2^{flx/ko}$) bezeichnet.

4.2. Elektrophysiologische Methoden

4.2.1. Funktionsweise Aufnahmesystem: Digital Lynx 4SX

Bei dem Aufnahmesystem Digital Lynx SX handelte es sich um ein kommerzielles System zur analogen Aufnahme und digitalen Konvertierung von (neuro)biologisch elektrischen Signalen. Das komplette System bestand aus drei Hauptkomponenten: Der jeweiligen „Headstage“, dem Aufnahmesystem, sowie einem Computer. Die Headstage diente als Adapter zur Elektrode (*Silicon Probe*, Abbildung 4) sowie einer einfachen Verstärkung des analogen Signals. Die Headstage befand sich innerhalb eines faradayschen Käfigs und war über ein geschirmtes Kabel mit dem außerhalb des faradayschen Käfigs befindlichen Aufnahmesystem verbunden. Dieses filterte und digitalisierte das Signal und leitete dieses zu einem Computer weiter, der die Daten speicherte. Das Aufnahmesystem wurde im hier vorliegenden Fall auf eine Abtastrate von 32.000 Hz (32 kHz) und einen Messbereich von 2000 μV (2 mV) eingestellt, die Digitalisierung erfolgte in 16-bit. Nach erfolgter Aufnahme wurde das Rohsignal um den Faktor 25 heruntergetaktet (*downsampling*) und für den Bereich 4 – 80 Hz (für die SPW-

Analysen) bzw. 4 – 200 Hz (SPR-Analysen und alle anderen Analysen) gefiltert. Weitere Spezifikationen des Aufnahmesystems können aus der Tabelle 8 entnommen werden.

Verwendet wurden Elektroden zur Aufnahme von LFP so genannte *silicon probes* / *neural probes* (*electrode array & package*) von NeuroNexus (Ann Arbor, MI, USA) mit 16 bzw. 32 einzelnen Elektrodenpunkten welche linear im Abstand von 50 µm angeordnet waren (A1x16 bzw. 32-(Lin)-3mm-50-703-A16 bzw. A32).

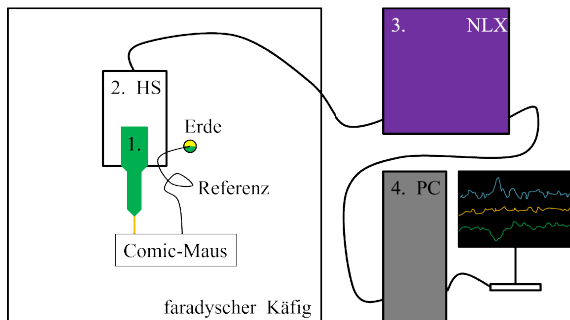


Abbildung 4: Schematischer Aufbau des Aufnahmesystems.

(1) Elektrode für Tiefenhirnableitungen (Neuronexus, „Silicon Probe“); (2) *Headstage* (HS) zur Verstärkung des analogen Signals. (3) Aufnahmesystem (Typ NLX Digital Lynx 4SX der Firma Neuralynx); (4) PC zur Speicherung des digitalen und gefilterten Signals.

Tabelle 8: Eigenschaften Aufnahmesystem Digital Lynx SX (Neuronexus)

Name	Digital Lynx SX
Anzahl Kanäle	Bis zu 128 analoge Eingaben pro System
Abtastrate	16 – 40 kHz
Transistor-Transistor Logic Eingang	Vier 8-bit I/O Anschlüsse
Analoge Ausgänge	Zwei 3,5 mm Stereoausgänge
Digitale Ausgänge	Zwei optische Gigabit Ethernet Ausgänge
Analoge Bandbreite	0,1 Hz – 8 kHz
Analoger Messbereich	+/- 132 mV
Rauschfaktor	4 µV Spitze (1,3 µV RMS)

4.2.2. Aufbau und Funktionstest: elektrische Stimulation

Sämtliche in dieser Arbeit gezeigten elektrischen Stimulationen wurden mit hierfür gesondert angefertigten Wolfram-Stimulationselektroden (Abbildung 5) sowie dem kommerziell erhältlichen Signalgenerator „STG4002 Series; MC Stimulus II“ (Multi Channel Systems MCS GmbH; Reutlingen, Germany) durchgeführt.

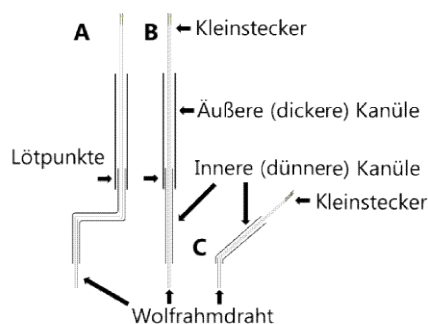


Abbildung 5: Schematischer Aufbau der Wolfram-Stimulationselektroden für bipolare elektrische Stimulationen.

Sechsteilige Wolfram-Stimulationselektroden. Bestehend aus: Zwei Wolframdrähten, zwei Kleinstecker, einer 20G Kanüle (äußere Kanüle) und einer 27G Kanüle (innere Kanüle). (A) Gewinkelte Stimulationselektrode für Anwendungen mit beschränktem Platzangebot. (B) Gerade Stimulationselektrode. (C) Verkürzte Stimulationselektrode für semi-chronische Implantation.

Zur Herstellung der Stimulationselektroden wurden zunächst zwei Wolframdrähte (100 μm) auf jeweils 8 cm zugeschnitten. Die beiden Drähte (oder ein Draht, im Falle einer monopolaren Elektrode), wurden daraufhin mittels Sekundenkleber in der dünneren (27G) der beiden Kanülen fixiert. Hierbei war darauf zu achten, dass im Falle von zwei Drähten (bipolare Elektrode) diese absolut parallel lagen und mindestens 2 cm hervorstanden. Es konnte hilfreich sein die Drähte zunächst über mehrere Tage zu glätten da sie durch die Aufbewahrung auf der Rolle eine sehr starke Biegung besaßen. Nach etwa einem Tag aushärten (der Sekundenkleber härtete innerhalb der Kanüle nur sehr langsam aus) konnte die dünnere Kanüle je nach Bedarf verbogen werden. Sollte die Elektrode später mit Hilfe des Elektrodenhalters verwendet werden so empfahl es sich eine dickere Kanüle (20G) über die dünnere Kanüle zu schieben und dort festzulöten (Abbildung 5A/B „Lötunkt“). Zum Verlöten der Kleinstecker wurde das jeweilige Ende abgeflammt, um die Isolierung zu entfernen und die blanken Enden mit einem Fluxmittel behandelt. Abschließend wurde das andere Ende nach Bedarf gekürzt (minimal 4 mm). Durch das Kürzen der Enden entstanden weitestgehend gleichmäßige blanke Kontaktpunkte für die Stimulation. Das Testen der Stimulationselektroden konnte in einem ähnlichen Aufbau durchgeführt werden wie auch für reguläre Elektroden. Die Stimulationselektrode wurde hierfür in einem Metallkessel mit isotonischer Kochsalzlösung positioniert und mit dem Signalgenerator verbunden, bei monopolaren Stimulationselektroden wurde ein Kabel mit blanker Spitze zusätzlich in den Kessel gelegt. In der zugehörigen Software war ein angepasstes Stimulationsprotokoll zum Testen neuer Stimulationselektroden hinterlegt, dieses Protokoll sendete jede Sekunde einen starken bipolaren Puls aus. War die Stimulationselektrode funktionsfähig so konnten aufsteigende Bläschen an der Spitze der Elektrode beobachtet werden (Elektrolyse).

4.2.3. Ableitung des lokalen Feldpotentials in vivo mit Tiefenelektroden in neonatalen Mäusen

Um die zeitliche Entwicklung der frühen Netzwerkaktivität zu untersuchen, wurde das LFP in neonatalen Mäusen aufgenommen. Von der C56BL/6J Mauslinie wurden Mäuse im Alter von P3 – P14 (Tag der Geburt = P0; entsprechend Tage nach der Geburt P3, P5, P7, P9, P12, P14) aufgenommen. Basierend auf den Daten dieser Versuchsreihe wurden bei den NKCC1 Experimenten die Altersstufen P4, P7 und P14 verwendet. Das Alter P4 stellte hierbei einen Kompromiss aus der schwierigen Operation und Aufnahme an P3 und dem höheren Alter an P5 dar. Im Gegenzug für den größeren Altersabstand wurden dann für eine bessere statistische Power mehr Tiere pro Alter aufgenommen. Die Vorgehensweise entsprach der Methode in Marguet *et. al.* (Marguet et al. 2015), welche dahingehend modifiziert wurde, um neonatale Mäuse bis zu einem Alter von P14 aufzunehmen. Hierzu wurde ein speziell angefertigter wärmeleitfähiger Adapter verwendet, um die älteren Mäuse in eine für die Ableitung optimale Position zu bringen.

Die Mäuse wurden am Tag der Ableitung einzeln aus dem Heimatkäfig genommen und in Nistmaterial verpackt, um einen Wärmeverlust zu vermeiden, zum Operationstisch gebracht. Die Maus wurde gewogen und 0,03 – 0,05 mg/g Körpergewicht Buprenorphin als Analgetikum gegeben. Der für Mäuse optimierte Ableittisch, einschließlich des Adapters wurde während der Operation auf 32 – 34 °C vorgeheizt. Die Einleitung der Narkose erfolgte mit 3 – 4 % Isofluran in 100% Sauerstoff. Während der Operation wurde die Isoflurankonzentration je nach Zustand des Tieres auf 0,9 – 1,5 % angepasst. Eine ausreichend tiefe Narkose war erreicht so bald kein Schmerzreflex (Zwischenzehreflex) mehr auslösbar war. Nach erfolgter Einleitung wurde die Kopfoberfläche gesäubert und gegebenenfalls bei älteren Tieren rasiert. Im Bereich der Schnittränder wurde mit dem Oberflächenanesthetikum Bupivacain betäubt. Bevor der erste Schnitt gesetzt wurde, wurde nochmals auf einen negativen Schmerzreflex getestet. Der Schnitt erfolgte entlang der Mitte des Schädels bis kurz zwischen die Augen. Von dort erfolgten zwei weitere Schnitte im Halbkreis zurück in den Nacken, um eine kreisförmige Fläche zu präparieren. Die Wundränder wurden direkt erneut mit Bupivacain behandelt. Zum Entfernen des Periosts wurde Wasserstoffperoxid (10 %) mittels eines Stiltupfers aufgetragen und unmittelbar danach mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnt und entfernt. Der freigelegte Schädelknochen wurde dann mit Druckluft gesäubert und getrocknet. Zur Befestigung der Erdungs- und Referenzelektrode wurde über dem Cerebellum ein Loch gebohrt, wobei darauf geachtet wurde die Dura nicht zu verletzen und keinen Liquor austreten zu lassen. Etwaiges austretendes Blut durch im Schädel verlaufende Blutgefäße wurde direkt mit faserfreiem Zellstoff aufgenommen. Das Silberdrahtende der Erdungs- und Referenzelektrode wurde zu einem Haken gebogen und in der präparierten Öffnung verhakt. Der gesamte Schädel, mit Ausnahme der Implantationsregion für die Aufnahmeelektroden, wurde im Anschluss bis zu dreimal mit dem flüssigen Grundierungszement (Opti-Bond) bedeckt und mit Ultraviolett (UV)-Licht gehärtet. Es empfiehlt sich die Referenzpunkte Lambda und Bregma vor diesem Schritt mit einem Stift zu markieren. Im Nacken wurde ein zurecht geschnittenes Metallrohr von etwa 1 cm Länge

(Nackenrohr) in der Achse der beiden Ohren mit einem 90° Winkel zur mittleren Schädelnaht platziert und mit viskosen Zahnzement fixiert. Um den Implantationsbereich wurde im Anschluss ein Ring aus Zahnzement gezogen. Mit Hilfe des Nackenrohres wurde die Maus dann auf dem Adapter in den Ohrstangen fixiert, so dass Lambda und Bregma horizontal auf einer Ebene lagen. Die Zu- und Abluft wurde entsprechend umgelegt. Im Bereich der Schnauze wurde mittels Zahnzement eine dritte Fixierung an der Zahnstange erstellt. Nun konnten die Koordinaten für die Elektroden, basierend auf dem Abstand zwischen den Schädelnähten Lambda und Bregma, ausgemessen und die Löcher gebohrt werden. Die Position basierte auf publizierten Kopfatlanten und wurde aus Erfahrung des Labors angepasst.

Tabelle 9: Durchschnittlicher Abstand für Lambda und Bregma

Alter	Durchschnittlicher Abstand Lambda-Bregma (mm)
P3	2,03
P4 (NKCC1 WT)	2,18
P4 (NKCC1 KO)	2,31
P5	2,57
P7	3,05
P7 (NKCC1 WT)	3,02
P7 (NKCC1 KO)	3,03
P12	3,71
P12 (NKCC1 WT)	3,75
P12 (NKCC1 KO)	3,64
P14	3,84

Um ein Wiederverschließen der Löcher durch Gerinnung oder Austrocknung zu vermeiden wurde der Schädel oberhalb der Bohrlöcher mit einem biokompatiblen Silikonöl behandelt. Die Maus konnte nun auf dem Ableittischen im faradayschen Käfig überführt und dort an die Zu- und Abluft angeschlossen werden, die Zuleitung des Narkosemittels wurde spätestens jetzt gestoppt, die Sauerstoffzufuhr jedoch aufrechterhalten. Der Ableittisch wurde in dem Stereotakt fixiert und die Heizplatte verbunden. Während der gesamten Ableitung wurde wie auch während der OP eine Temperatur von 32 – 34 °C aufrecht gehalten. Um eine spätere genaue Identifizierung der Implantation zu ermöglichen, wurden je nach Experiment verschiedene Techniken verwendet: Elektroden wurden in den ersten Experimenten nach Aufnahmeende entfernt und an gleicher Stelle durch eine mit DiI beschichtete, funktionsuntüchtige oder Dummy-Elektrode ersetzt. Um den durch die Reimplantation entstandenen Genauigkeitsverlust zu vermeiden, wurde in späteren Experimenten die Elektroden noch vor der Implantation auf der Rückseite der Elektroden spitze mit DiI beschichtet. In allen Fällen wurde zur Kontrolle der Elektrodenposition zunächst die Akquisition gestartet und Anhand des elektrophysiologischen Tiefenprofils der Ableitung die Position kontrolliert. Nach 20 – 30 Minuten, um einen Einfluss der Narkose zu vermeiden, wurde die Aufnahme gestartet. Nach Abschluss der Aufnahme wurde die Maus tief anästhesiert, anschließend dekapitiert, das Gehirn entnommen und in ein Rollrandschnappdeckelglas mit 4 % *Paraformaldehyde* (PFA) überführt. Die Gehirne wurden bis zur weiteren Verwendung bei 4 °C gelagert.

4.2.4. Elektrische Stimulation mit Wolframelektroden

Um zu untersuchen, welche Hirnregion in welchen Bereich in CA1 im Hippocampus projiziert, wurden die VHC sowie der PP elektrisch stimuliert. Die Stimulationselektroden wurden wie herkömmliche Elektroden implantiert. Als Halter diente der Elektrodenhalter mit geriffelter viereckiger Endplatte. Die „semi-chronische“ Elektrodenvariante (Abbildung 5C) wurde während der Operation nach erfolgter Befestigung der Nackenstange an einer Klemme hängend implantiert und mit Zahnzement auf der gewünschten Tiefe fixiert.

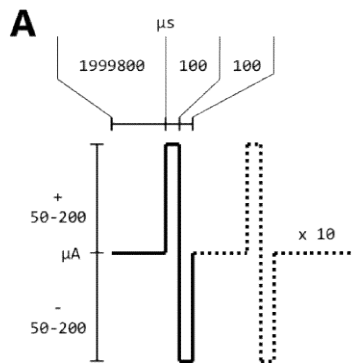


Abbildung 6: Stimulationsprotokoll.

(A) Bipolare Stimulation, $\pm 50 - 200 \mu\text{A}$ je $100 \mu\text{s}$ lang in einem Abstand von $1999800 \mu\text{s}$ (2 s insgesamt) zehnmal wiederholt.

Vor Beginn der Stimulationszyklen wurde bei jedem Tier für mindestens 20 Minuten eine Grundlinie an Aktivität aufgenommen. Während dieser Aufnahmezeit war der Generator nicht verbunden, um Störsignale während der Grundaktivität zu vermeiden, die ins Gehirn weitergeleitet werden könnten. Ein Teil der Elektroden war beweglich und wurde während der Aufnahme nach einer Stimulation von mindestens drei Zyklen mit je $\pm 50 - 200 \mu\text{A}$ um $100 \mu\text{m}$ tiefer gedreht. Jeder Stimulus dauerte $100 \mu\text{s}$ und wurde in einem Abstand von zwei Sekunden zehnmal wiederholt (Abbildung 6). Sobald keine Antwort mehr auf eine Stimulation sichtbar oder eine Elektrode maximal 4 mm tief implantiert war, wurde die Aufnahme gestoppt. Durch den entstandenen Wundkanal ist keine Stimulation mehr möglich, wenn die Elektrode höher gedreht wurde. Die Maus wurde im Anschluss tief anästhesiert. Die Position der Stimulationselektrode wurde auf ihrer tiefsten Position durch eine Läsion von $100 \mu\text{A}$ für mindestens eine Sekunde markiert.

4.3. Molekularbiologische Methoden

4.3.1. Genotypisierung

Alle gentechnisch veränderten Mauslinien wurden je nach Zeitpunkt der Ableitung zwei Tage nach der Geburt oder dem Absetzalter genotypisiert. Bei Mäusen bis zu einem Alter von P14 wurden Schwanzbiopsien genommen, bei allen älteren Tieren Ohrstanzen. Um eine spätere Identifizierung der genotypisierten Mäuse zu gewährleisten, wurden die Tiere an P2 bzw. P7 tätowiert, wobei direkt im Anschluss die Schwanzbiopsie genommen wurde. Zur Tätowierung kam ein kommerziell erhältliches, speziell für die Verwendung an neonatalen Mäusen angepasstes Tätowiersystem zum Einsatz.

4.3.1.1. Lyse der Biopsien

Zur Isolation der genomischen DNA aus Ohrstanzen- bzw. Schwanzbiopsien wurden 20 µl (Stanze oder Schwanzbiopsie) oder 40 µl (> 2 Stanzen / große Schwanzbiopsie) auf die Biopsien gegeben und über Nacht für acht Stunden bei 54 °C auf einem Schüttler lysiert. Im Anschluss wurden die Enzyme im Lysat bei 84 °C mindestens eine Stunde inaktiviert.

4.3.1.2. Polymerasekettenreaktion

Das Lysat wurde nach der Inaktivierung als Grundlage für eine Polymerasekettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) verwendet, welche sich wie folgt zusammensetzte:

Tabelle 10: PCR-Rezeptur

Komponente	Menge
DNA (Lysat)	2,0 µl
Vorwärts-Primer	0,5 µl
Rückwärts-Primer	0,5 µl
Nukleotide (dNTPs)	0,5 µl
Magnesiumchlorid	2,0 µl
PCR-Puffer (10x)	5,0 µl
DMSO	2,5 µl
Polymerase	0,5 µl
DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA: Deoxyribonucleotidic acid; dNTPs: Didesoxyribonukleosid-Triphosphat	

Als Polymerase wurden entweder eine eigensynthetisierte taq-Polymerase verwendet oder die kommerziell erhältliche Dream-taq[®]. Das Dimethylsulfoxid (DMSO) diente dem einfacheren Amplifizieren von GC-reichen DNA-Fragmenten. In den meisten Fällen handelte es sich um eine *Touchdown*-PCR in denen die optimale Temperatur der Primer-Bindung durch zyklusweise Erniedrigung der Schmelztemperatur erreicht wird. Hierdurch werden Primer-Dimere und Artefakte verringert und eine höhere Spezifität der Primer erzielt.

4.3.1.3. Gelelektrophoretische Auftrennung von Nukleinsäuren

Die Visualisierung der PCR-Produkte wurde durch eine gelelektrophoretische Auftrennung erzielt. Hierzu wurde 1 µl der fertig amplifizierten PCR-Proben mit 19 µl Probenpuffer versetzt und in den Taschen eines 1,8 %igen Agarose-Gel mit GreenFluor aufgetragen. Die Auftrennung erfolgte durch Anlegen einer Spannung. Nach erfolgter Auftrennung, sichtbar durch die farblichen Banden des ebenfalls aufgetrennten Längenstands, wurde das PCR-Produkt auf einem UV-Tisch mittels einer Digitalkamera dokumentiert.

4.3.2. PCR-Protokolle

4.3.2.1. *EMX1-IRES-cre*

Protokoll: Knut Kirmse bzw. B6.129S2-*Emx1^{tm1(cre)Krtj}/J*

Linien: *Emx1-IRES-cre*, *Emx1-IRES-NKCC1*

Tabelle 11: Primerliste

Name	Sequenz
oIMR4170	5'- AAG GTG TGG TTC CAG AAT CG -3'
oIMR4171	5'- CTC TCC ACC AGA AGG CTG AG -3'
oIMR1084	5'- GCG GTC TGG CAG TAA AAA CTA TC -3'
oIMR1085	5'- GTG AAA CAG CAT TGC TGT CAC TT -3'

Tabelle 12: Protokoll (50 µl)

Substanz	Menge
ddH ₂ O	36,5 µl
10x PCR-Puffer	5,0 µl
MgCl ₂ (50 mm)	2,0 µl
DMSO	2,5 µl
oIMR4170 (50 pmol)	0,5 µl
oIMR4171 (50 pmol)	0,5 µl
Taq-Polymerase	0,5 µl
dNTPs	0,5 µl
DNA-Template	2,0 µl
dd: Doppelt destilliert; DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA: <i>Desoxyribonucleic acid</i> ; dNTP: Didesoxyribonukleosid-Triphosphat	

Tabelle 13: Cyclor-Programm

Schritt	Temperatur (°C)	Zeit	Anmerkung
(1)	95	5'	
(2)	94	30''	
(3)	55	30''	
(4)	72	30''*	*Wiederholung ab Schritt (2) = 35 x
(5)	72	5'	
(6)	10	∞	Erhaltung

Produkt: WT-Bande: 378 bp UND *cre*-Bande: 102 bp

4.3.2.2. NKCC1 PCR 1

Protokoll: Knut Kirmse

Linien: NKCC1^{fl/fl}/NKCC1^{fl/ko}, Emx1-IRES-NKCC1

Tabelle 14: Primerliste

Name	Sequenz
NKCC1-KO	5'- TAG TGA TAG CAA TTA AGT TTG GAG -3'
NKCC1-WT	5'- CTT AGG TCA AGA GTA ATC AG -3'

Tabelle 15: Protokoll (50 µl)

Substanz	Menge
ddH ₂ O	36,5 µl
10 × PCR-Buffer	5,0 µl
MgCl ₂ (50 mM)	2,0 µl
DMSO	2,5 µl
NKCC1-KO (50 pmol)	0,5 µl
NKCC1-WT (50 pmol)	0,5 µl
Taq-Polymerase	0,5 µl
dNTPs	0,5 µl
DNA-Template	2,0 µl
dd: Doppelt destilliert; DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA: <i>Desoxyribonucleid acid</i> ; dNTP: Didesoxyribonukleosid-Triphosphat; NKCC1: Na ²⁺ /K ⁺ /2Cl ⁻ Cotransporter	

Tabelle 16: Cycler Programm

Schritt	Temperatur (°C)	Zeit	Anmerkung
(1)	95	5'	
(2)	94	30''	
(3)	57	30''	
(4)	72	30''*	*Wiederholung ab Schritt (2) = 35 x
(5)	72	5'	
(6)	10	∞	

Produkt: WT-Bande: 200 bp UND flox-Bande: 320 bp

4.3.2.3. *NKCC1* PCR 2

Protokoll: Knut Kirmse

Linien: NKCC1^{fl/fl}/NKCC1^{fl/ko}, Emx1-IRES-NKCC1

Tabelle 17: Primerliste

Name	Sequenz
NKCC1-KO	5'- TAG TGA TAG CAA TTA AGT TTG GAG -3'
NKCC1_Sap_R	5'- GTC CTT CCT GAG GTA CTG TCC -3'

Tabelle 18: Protokoll (50 µl)

Substanz	Menge
ddH ₂ O	36,5 µl
10x PCR-Puffer	5,0 µl
MgCl ₂ (50 mM)	2,0 µl
DMSO	2,5 µl
NKCC1-KO (50 pmol)	0,5 µl
NKCC1_Sap_R (50 pmol)	0,5 µl
Taq-Polymerase	0,5 µl
dNTPs	0,5 µl
DNA-Template	2,0 µl
dd: Doppelt destilliert; DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA: <i>Desoxyribonucleid acid</i> ; dNTP: Didesoxyribonukleosid-Triphosphat; NKCC1: Na ²⁺ /K ⁺ /2Cl ⁻ Cotransporter	

Tabelle 19: Cycler Programm

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit	Anmerkung
(1)	95	5'	
(2)	94	30''	
(3)	53	30''	
(4)	72	30''*	*Wiederholung ab Schritt (2) = 35 ×
(5)	72	5'	
(6)	10	∞	

Produkt: KO-Bande: 200 bp

4.4. Verhaltensbiologische Methoden

Um zu untersuchen, ob es bereits sehr früh in der Entwicklung einen Unterschied im Verhalten der NKKC1-Mutanten gibt, wurden vor jeder Aufnahme zwei Verhaltenstests durchgeführt, welche auf angeborenen Reflexen von Mausneonaten basieren.

4.4.1. Umdrehtest beim Neonaten

Bei diesem Test wurde die Motorkoordination des Neonaten getestet. Hierzu wurde der Neonat vorsichtig aus der Bauchlage auf den Rücken gedreht und nach etwa zwei Sekunden losgelassen. Es wurde die Zeit gestoppt, die der Neonat brauchte, um sich wieder auf alle vier Pfoten zu drehen. Ein Test galt nur dann als erfolgreich, wenn sich nach dem Umdrehen alle vier Pfoten wieder mit dem Ballen auf der Tischplatte befanden. Nach einem erfolgreichen Versuch oder maximal 30 Sekunden wurde 30 Sekunden gewartet und der Test insgesamt zweimal wiederholt.

4.4.2. Klippenvermeidungstest beim Neonaten

Bei diesem Test wurde die Verarbeitung von sensomotorischer Information durch das Erkennen einer „Klippe“ und der Reaktion auf diese getestet (Motorkoordination). Hierzu wurde der Neonat vorsichtig an eine Kante („Klippe“, der Rand des Stereotakten) geführt, bis die Vorderpfoten und das Kinn diese ebenso überragten. Die Kante des Stereotakten war nicht abgerundet, um für den Neonaten klar erkennbar zu sein. Es wurde die Zeit gestoppt wie lange der Neonat benötigte, um sich von der Kante wegzubewegen. Als erfolgreich galt ein Versuch, wenn sich der Neonat um mindestens 90 ° von der Kante wegdrehte, ohne dabei von der Kante auf den Tisch hinunterzurutschen, wobei eine Verletzung des Neonaten (Fallhöhe etwa 1 cm vom Stereotakten auf den Tisch) ausgeschlossen war. Ein Test war auch dann erfolgreich, wenn der Neonat sich rückwärts von der Kante wegbewegte und beide Vorderpfoten und der Kopf nicht mehr über die Kante ragten. Nach maximal 30 Sekunden, oder wenn der Neonat auf den Tisch rutschte, wurde der Test beendet. Ein auf den Tisch rutschen wurde als 30 Sekunden gewertet. Der Test wurde insgesamt zweimal wiederholt.

4.5. Weitere Methoden

4.5.1. Anfertigung von Hirnschnitten

Um die genaue Position der implantieren Elektroden zu bestimmen, wurden die explantierten Gehirne mittels Vibratom präpariert. Das Vibratom diente der Herstellung von Gewebeschnitten von bis zu 50 – 400 μm Dicke. Für koronale Schnitte wurde das Cerebellum bzw. für Elektrodenpositionen, welche am dorsalen Ende lagen (z. B. im EC) ein entsprechendes Stück des frontalen Gewebes entfernt und das Gehirn mit der Schnittfläche mittels Sekundenkleber auf den Trägersmagneten fixiert. Für sagittale Schnitte wurde das Gehirn entlang der Mittellinie aufgetrennt und die entsprechende Hälfte mit der Schnittfläche auf den Trägersmagneten fixiert. Sobald der Klebstoff vollständig getrocknet war, wurde das Gehirn auf dem Träger in das Schnittbecken, welches mit $1\times$ *Phosphate buffered saline* (PBS) gefüllt war, überführt. Es wurden 100 μm Schnitte angefertigt welche zunächst in $1\times$ PBS in einer 24-Well-Platte aufgenommen wurden und aus dieser dann mittels eines feinen Pinsels auf Objektträger aus Glas überführt wurden. Die Eindeckung erfolgte mit einem *4',6-Diamidin-2-phenylindol* (DAPI) haltigen Eindeckmedium (DAPI-Fluoromount). Die Objektträger wurden im Anschluss bei 4 °C gelagert.

4.6. Analytische Methoden

Für die Analyse der Daten wurden individuell angefertigte Matlab-Skripte verwendet. Matlab wurde in den Versionen 2011b und 2017a verwendet. Die Funktionsweise der wichtigsten Skripte soll hier im Anschluss beschrieben werden. Kopien der Skripte finden sich im Anhang.

4.6.1. Definition der Kanäle zugehöriger Schichten (Grundkategorien)

Die hippocampale CA1 Region wurde mit 16-Kanal Elektroden (50 μm inter-Elektrodenabstand) an P3, P5, P7, P12, P14 in den C56BL/6J aufgenommen und mit 32-Kanal Elektroden (50 μm inter-Elektrodenabstand) in den NKCC1-KO und entsprechenden WT.

4.6.1.1. Stratum Pyramidale

Als STP wurde jener Kanal definiert, welcher im CSD die niedrigste Amplitude hatte und im ungefilterten Rohsignal die höchste Einzelzellaktivität zeigte. Zusätzlich zeigte der Großteil der SPW eine Phasenumkehr um diesen Kanal. Der Kanal der Pyramidenzellschicht wurde als Referenz zur Berechnung der anderen Schichten genutzt. SPW welche ihren Peak auf diesem Kanal hatten wurden als proximale (PRX)-SPW bezeichnet. SPW mit einem Peak auf diesem und dem Kanal der HF oder einem der STLM-Kanäle wurden als DPL-SPW bezeichnet.

4.6.1.2. Hippokampale Fissur

Der Kanal der HF wurde aus zunächst aus der Distanz zwischen der Mitte des STP und der HF histologisch bestimmt. Da in allen Aufnahmen Elektroden mit einem inter-Elektrodenabstand von 50 µm verwendet wurden ergab sich folgende Umrechnung in Kanäle:

$$\frac{\text{Distanz (STP – HF)}}{\text{Elektrodenabstand}} = \text{Anzahl Kanäle (gerundet ohne Nachkommastelle)}$$

z. B.

$$\frac{325 \mu\text{m}}{50 \mu\text{m}} = 7 \text{ Kanäle (6,50) bzw. } \frac{324 \mu\text{m}}{50 \mu\text{m}} = 6 \text{ Kanäle (6,49)}$$

Dieser Kanalabstand wurde mit der Elektrophysiologie im CSD verglichen und unter Umständen um bis zu zwei Kanäle angepasst. SPW die ihren Peak auf diesem Kanal hatten wurden als distale (DST)-SPW bezeichnet. SPW mit einem Peak auf diesem und dem Kanal der STP oder den Kanälen des STR wurden als DPL-SPW bezeichnet.

4.6.1.3. STO

Der Kanal welcher STO einschließt wurde mit zwei Kanälen oberhalb des Kanals der PYR definiert. SPW die ihren Peak auf einem dieser Kanäle hatten wurden als Oriens (ORI)-SPW bezeichnet.

4.6.1.4. Stratum Radiatum

Der Kanal welcher STR begrenzt wurde, wenn möglich, aus der Distanz zwischen der Mitte der Pyramidenzellschicht und der Grenze zum STLM gebildet. Da in den Aufnahmen zu den Daten der P3 – P14-Tiere diese Messung nicht mehr möglich war, wurde hier pauschal 40 % der Distanz bis zur HF genommen (50 % bei P12 und P14). Auch der Kanal des STR wurde basierend auf der Elektrophysiologie angepasst. In P12 und P14 wurden hierzu SPR als Referenz genommen. SPW die ihren Peak auf einem dieser Kanäle hatten wurden ebenfalls als PRX-SPW bezeichnet. SPW mit ihrem Peak auf einem dieser Kanäle und dem Kanal der HF oder den Kanälen des STLM wurden als DPL-SPW bezeichnet.

4.6.1.5. Stratum Lacunosum Moleculare

Die Schicht STLM wurde unterhalb durch die hippocampale Fissur und dem hierfür definierten Kanal begrenzt und oberhalb durch den Kanal der STR. SPW mit ihrem Peak auf einem dieser Kanäle wurden wie auch die SPW auf dem HF-Kanal als DST-SPW bezeichnet. SPW die ihren Peak auf einem dieser Kanäle und dem Kanal der HF oder STR wurden als DPL-SPW bezeichnet.

4.6.1.6. Weitere Schichten

SPW die ihren Peak auf einem anderen Kanal hatten wurden von dem automatisierten SPW-Detektionsskript nicht erfasst.

Tabelle 20: Idealisierte Zuordnung der Kanäle einer 16-Kanal-Elektrode

Kanal	Zellschicht	Grundkategorie	
1 – 3	Cortex	Nicht analysiert	
4 – 5	STO	ORI	
6	STP	PRX	DPL
7 – 9	STR		
10 – 14	STLM	DST	
14	HF (zugehörig zu STLM)		
15 – 16	MoDG	nicht analysiert	
DPL: Doppel; DST: Distal; HF: <i>Hippocampal Fissure</i> ; MoDG: <i>Molecular Dentate Gyrus</i> ; ORI: Oriens; PRX: Proximal; STLM: <i>Stratum Lacunosum Moleculare</i> ; STO: <i>Stratum Oriens</i> ; STP: <i>Stratum Pyramidale</i> ; STR: <i>Stratum Radiatum</i>			

4.6.2. Automatisierte SPW-Detektion

Für die Detektion von SPW wurde zunächst ein CSD der originalen LFP-Aufnahme mit einem Filter unterhalb von 4 Hz und einem Filter oberhalb von 80 Hz gefiltert. Für jede Aufnahme wurde individuell eine Auswahl an Kanälen getroffen. Die Auswahl umfasste den Bereich zwischen STO und der HF (siehe Abschnitt 4.6.1). Auf jedem ausgewählten Kanal wurden die Ausschläge detektiert. Für die Detektion der Ausschläge wurde das Matlab interne Werkzeug *findpeaks* (Matlab 2007b und neuer) verwendet. Als Ausschlag galt die Überschreitung der Amplitude im CSD um 0,1 mV für Tiere jünger als P12; 0,12 mV für P12 und 0,15 mV für P14 (*MinPeakHeight*). Für alle Aufnahmen galt, dass Ausschläge auf einem Kanal mindestens 30 ms (*MinPeakDistance*) voneinander entfernt liegen mussten. Die Zeitpunkte der detektierten Ausschläge wurden chronologisch sortiert und mit dem Kanal auf dem detektiert wurde versehen. Diese Rohdetektion wurde an das Kategorisierungs-Skript übergeben.

4.6.3. Automatische SPW-Kategorisierung

Um den detektierten Ausschlägen Kategorien zuzuweisen wurde zunächst getestet, ob sich innerhalb von 15 ms ein weiterer Ausschlag unabhängig vom Kanal (außer dem aktuellen Kanal) befand und ausgehend von diesem Ausschlag jeweils innerhalb von 15 ms weitere Ausschläge. Diese Ausschläge wurden zu einer Gruppe zusammengefasst. Jede Gruppe wurde auf das Vorhandensein eines Ausschlags auf einem Kanal der 3 Grundkategorien (siehe Abschnitt 4.6.1) untersucht. Die Reihenfolge des Auftretens war hierbei unerheblich. Auf diese Weise ergaben sich acht theoretische Kombinationen, welche in der folgenden Tabelle aufgelistet sind:

Tabelle 21: Aufschlüsselung der verschiedenen Kategorien

Kombination der Grundkategorien	Kategorie	Beschreibung
0 – 0 – 0	Keine	Kein Treffer entspricht keiner Detektion

Kombination der Grundkategorien	Kategorie	Beschreibung
		Nur möglich, wenn der Bereich der Kategorisierung kleiner ist als die Kanalauswahl der Detektion. In dieser Arbeit wurden alle Bereiche so gewählt, dass diese Kombination unmöglich war.
1 – 0 – 0	ORI	Ausschließlich Detektionen im Oriens
0 – 1 – 0	PRX	Ausschließlich Detektionen auf den proximalen Kanälen in Relation zum STP
1 – 1 – 0		Detektionen im Oriens und auf den proximalen Kanälen in Relation zum STP
0 – 0 – 1	DST	Ausschließlich Detektionen auf den distalen Kanälen in Relation zum STP
1 – 0 – 1		Detektionen im Oriens und auf den distalen Kanälen in Relation zum STP
0 – 1 – 1	DPL	Detektionen auf den proximalen und den distalen Kanälen in Relation zum STP
1 – 1 – 1		Detektionen im Oriens, auf den proximalen und den distalen Kanälen in Relation zum STP
DST = Distal; DPL = Doppel; ORI = Oriens; PRX = Proximal; SPW = <i>Sharp Wave</i> ; STP: <i>Stratum Pyramidale</i> 1 = WAHR: Detektion einer SPW in dieser Kategorie; 0 = FALSCH: Keine Detektion einer SPW in dieser Kategorie		

4.7. Statistische Methoden

Sofern nicht anders angegeben wurden in allen Fällen die Durchschnittswerte pro Tier zu Gruppen zusammengefasst (z. B. Alter oder Genotyp) und diese Gruppen mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse (*1-way analysis-of-variance; 1-way ANOVA*) sowie einer Post-Hoc Alphafehler-Kumulierung nach Tukey (*Tukeys multiple comparison*) untersucht. Bei einem Vergleich mit nur zwei Gruppen wurde der t-Test angewendet. Das Signifikanzniveau Alpha lag bei 5 %, wobei ein p-Wert zwischen 5 % und 10 % als Tendenz gewertet wurde.

5. Ergebnisse

5.1. Zeitlinie hippocampale Netzwerkentwicklung im Wildtyp

5.1.1. Hippokampale Netzwerkmuster und Methodik

Um die neonatale Netzwerkentwicklung der Maus innerhalb der ersten zwei Lebenswochen zu untersuchen, wurden elektrophysiologische *in-vivo* Tiefenhirnableitungen an C57BL/6J Mäuse im Alter P3 – P14 durchgeführt. Untersucht wurden Tiere in den Altersstufen P3 (N = 3), P5 (N = 5), P7 (N = 4), P9 (N = 4), P12 (N = 4) und P14 (N = 5). Wie von (Marguet et al. 2015) in P5 – P7-Mäusen beschrieben, konnten auch hier zwei verschiedene Aktivitätsmuster beobachtet werden (Marguet et al. 2015). Zum einen SPW (Abbildung 7d) und Oszillationen mit unterschiedlichen spektralen Frequenzen (Abbildung 7e & f).

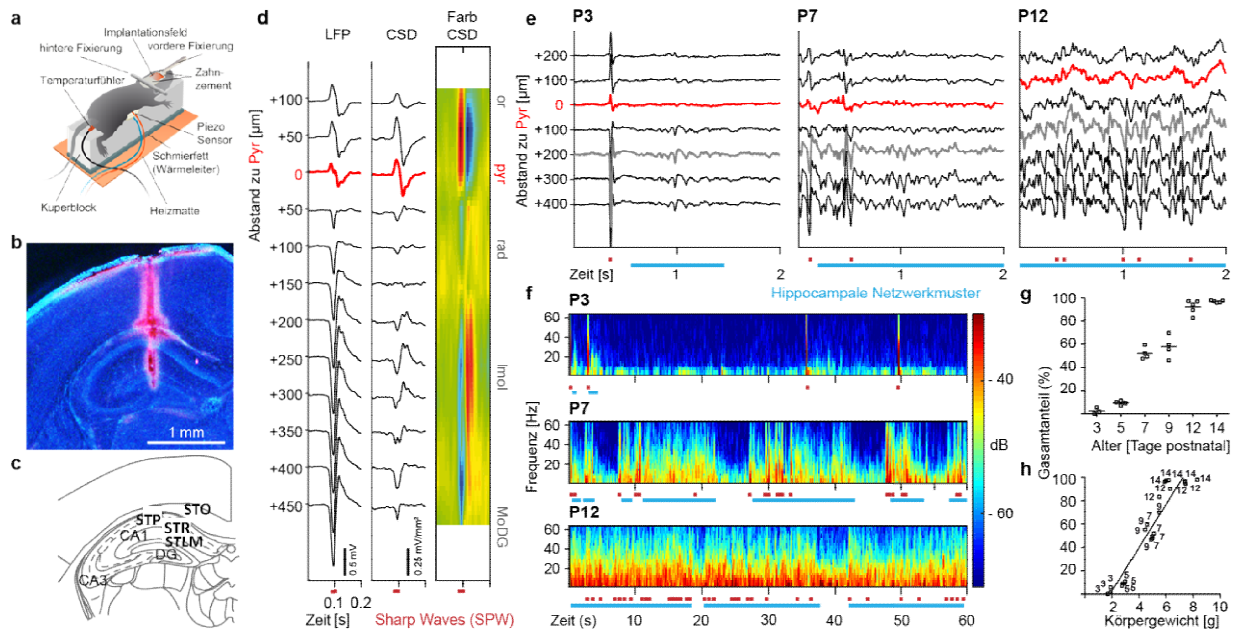


Abbildung 7: Hippokampale Netzwerkentwicklung innerhalb der ersten zwei Lebenswochen der Maus.

(a) Schematische Darstellung der Aufnahmemethode für elektrophysiologische *in vivo* Tiefenhirnaufnahmen in Mäusen bis zu einem Alter von P 14. (b) Ausschnitt einer DAPI (blau) / DiI (rosa) Fluoreszenzaufnahme eines 100 µm koronalen Hirnschnittes der hippocampalen Region einer P5-Maus. Die rosa Markierung zeigt den Implantationsweg der verwendeten Elektrode an. (c) Zu (b) korrespondierende schematische Atlas-Darstellung der hippocampalen Region. (d) Beispiel einer hippocampalen SPW einer P5 Maus aufgenommen mit einer 16-Kanal Elektrode (interner Elektrodenabstand, 50 µm), gezeigt sind aus technischen Gründen nur 12 Kanäle (siehe CSD-Analyse). Schichtenbezeichnung korrespondierend zu (c); Kanal der Pyramidenzellschicht in Rot; (e) Drei beispielhafte 2-Sekunden-Ausschnitte der Oszillatorischen (blaue Linie), und SPW (dunkelrote Punkte) -Aktivität im neonatalen Hippocampus in den Altersstufen P3, P7 und P12. Kanal mit der stärksten Aktivität in grau. (f) Größere 60-Sekunden-Ausschnitte derselben Aktivität wie in (e) als Spektrogramme. Blau steht für keine Oszillatorische Aktivität in diesem Frequenzbereich, rot steht für hohe Aktivität. (g) Prozentuale Verteilung der Oszillatorischen Aktivität über die gesamte Aufnahmedauer im Vergleich zum Alter der Mäuse. Mediane sind signifikant unterschiedlich über alle Altersgruppen (***, $P = 0,001$, Kruskal-Wallis Test); One-Way ANOVA multiple

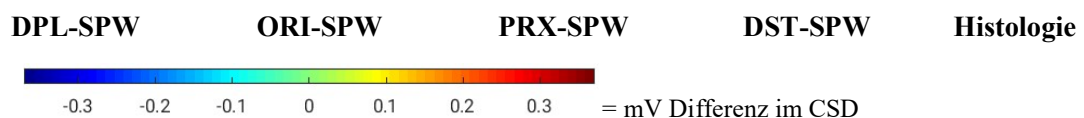
comparison Test: P3 vs. P12 = *, P3 vs. P14 = **, P5 vs. P14 = *). (h) Prozentuale Verteilung der Oszillatorischen Aktivität über die gesamte Aufnahmedauer im Vergleich zum Gewicht der Mäuse (Alter als Nummer direkt im Diagramm). Steigung ist signifikant abweichend von null (***, $p < 0,001$, linear regression: $R^2 = 0,903$). * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. CA1: Cornu Ammonis Region 1; CA3: Cornu Ammonis Region 3; CSD: *Current Source Density*; DG DG (*Gyrus Dentatus*); LFP: Lokales Feld Potential; STO: *Stratum Oriens*; STP: *Stratum Pyramidale*; STR: *Stratum Radiatum*; STLM: *Stratum Lacunosum Moleculare*;

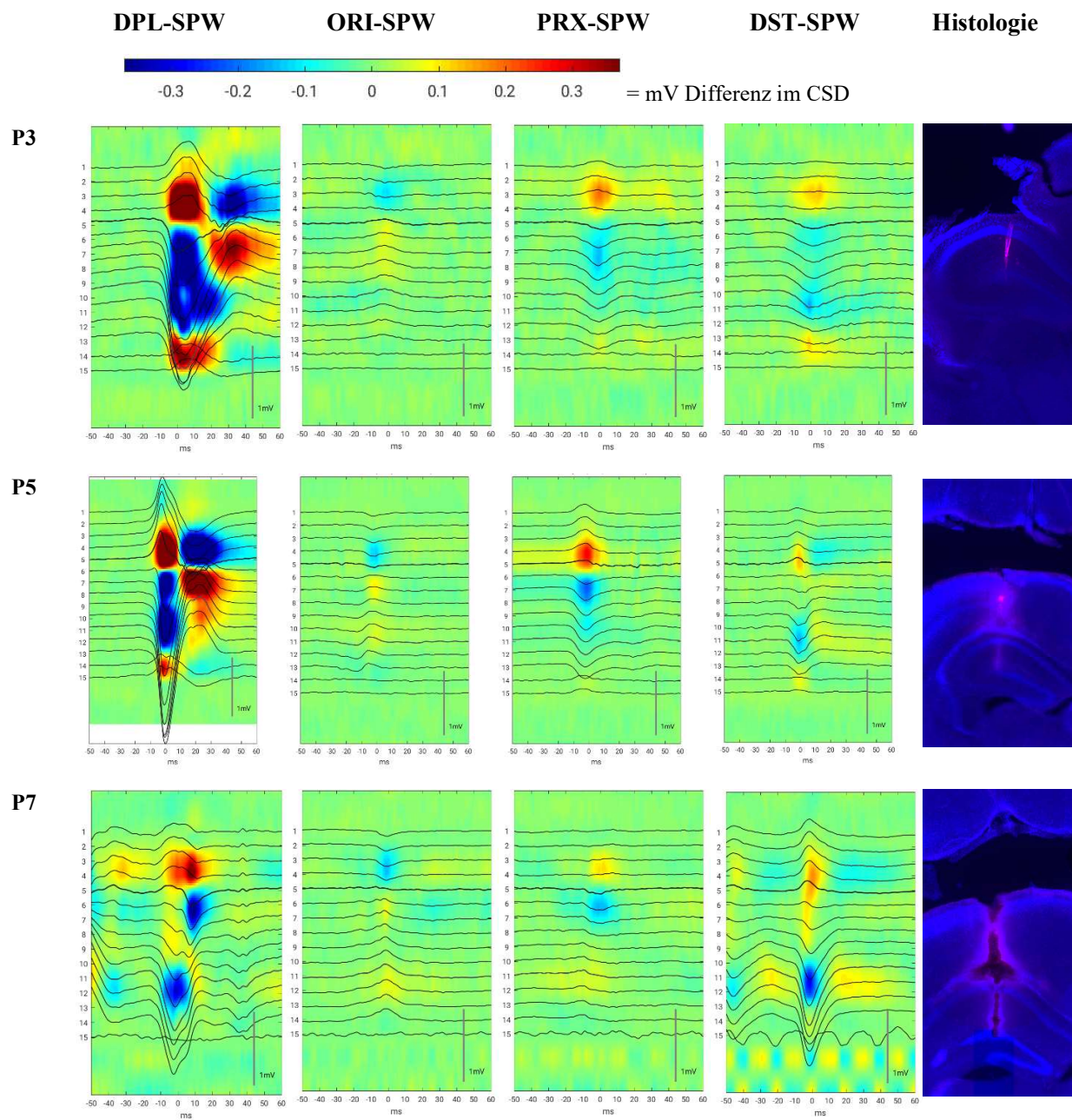
Die in der Literatur beschriebenen β -Oszillationen und SPW (G Buzsáki 1986; Marguet et al. 2015) konnten hier in P5 und P7 ebenfalls beschrieben werden. In der jüngeren Altersgruppe P3 waren ähnliche Aktivitätsmuster nur sehr selten zu sehen (vgl. Häufigkeit und Spitzenfrequenz Abbildung 7f P3 und P7). In den älteren Gruppen P12 und P14 war die Aktivität kaum noch durch Episoden von geringer Aktivität unterbrochen (vgl. dunkelblaue Bereiche Abbildung 7f).

Die Aktivität besaß einen starken Anteil an hochfrequenten Signalen (siehe Spitzenfrequenz Abbildung 7f). Da in diesem Zusammenhang nicht mehr von einem einheitlichen Frequenzspektrum für diese Aktivitätsmuster gesprochen werden kann und so die etablierte Bezeichnung „hippokampale β Oszillationen“ (Marguet et al. 2015), welche explizit Oszillationen im Frequenzbereich 10 – 30 Hz (β) beschreibt, nicht auf diese Daten anwendbar ist, wird in dieser Arbeit die Bezeichnung „hippokampale Netzwerk Muster (HNM)“ verwendet. Der Anteil dieser HNM betrug in P3 ($2,23 \pm 2$ %); P5 ($9 \pm 1,53$ %); P7 ($52,24 \pm 5,3$ %); P9 ($57,84 \pm 9,73$ %); P12 ($91,46 \pm 6,29$ %); P14 ($97,38 \pm 0,85$ %) (Abbildung 7g). Der Mittelwert über alle Altersgruppen ist hierbei signifikant unterschiedlich (*** = $p < 0,05$, 1way-ANOVA). Der paarweise Mittelwertvergleich ergab bis auf die Paarungen P3/5, P7/9 und P12/14 signifikante Unterschiede (*** = $p < 0,001$; Tukeys Post-hoc-Test). Aufgrund der hohen Varianz vor allem in P7 und P9-Tieren wurde der Anteil an HNM an der Aufnahme im Verhältnis zum Gewicht gesetzt (Abbildung 7h). Das Körpergewicht korreliert dabei linear mit der Aktivität von HNM (*** = $p < 0,001$, linear regression: $R^2 = 0,9028$).

5.1.2. Kategorisierung der SPW

Die SPW wurden mit Hilfe der CSD-Analyse genauer untersucht. Diese Methode basiert auf der Verteilung der lokalen Elektronenminima (*Sinks*) über die verschiedenen Schichten innerhalb einer SPW: PRX-SPW (*Sink* in STR), DST-SPW (*Sink* in STLM), DPL-SPW (*Sinks* sowohl in STR als auch STLM) und ORI-SPW (*Sink* in STO).





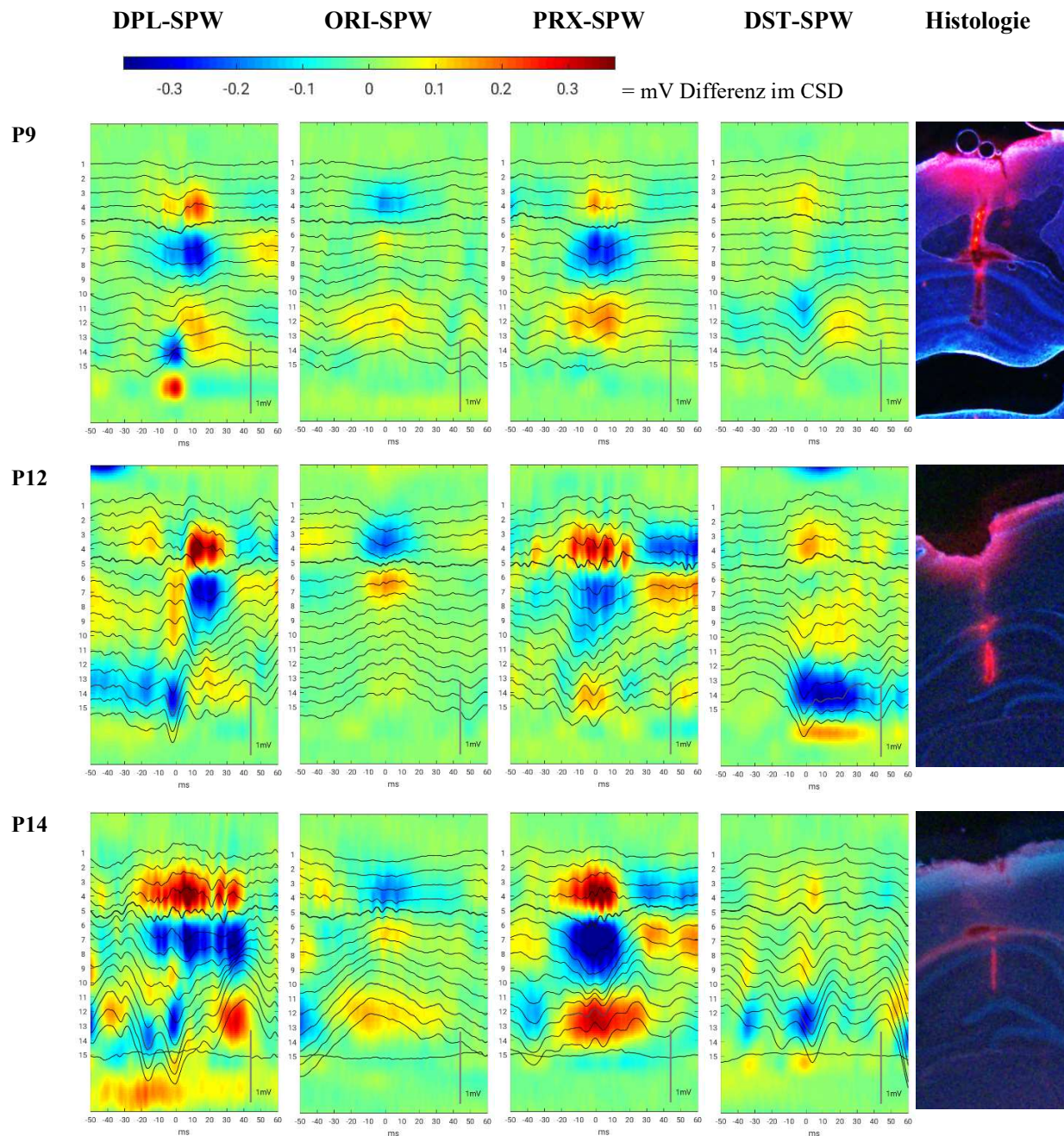
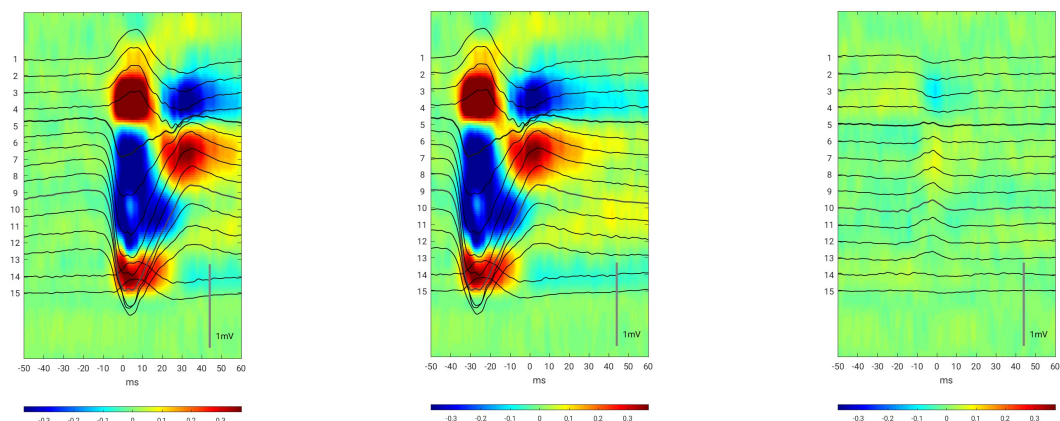


Abbildung 8: Übersicht über die vier Haupttypen an SPW.

Darstellung der vier SPW-Kategorien und ihrer Entwicklung über die verschiedenen Altersstufen (P3; P5; P7; P9; P12; P14). DPL-SPW: Detektion auf den proximalen und den distalen Kanälen in Relation zum STP, sowie Detektionen im Oriens, auf den proximalen und den distalen Kanälen in Relation zum STP. ORI-SPW: Ausschließlich Detektionen im Oriens; PRX-SPW: Ausschließlich Detektionen auf den proximalen Kanälen in Relation zum STP, sowie Detektionen im Oriens und auf den proximalen Kanälen in Relation zum STP; DST-SPW: Ausschließlich Detektionen auf den distalen Kanälen in Relation zum STP, sowie Detektionen im Oriens und auf den distalen Kanälen in Relation zum STP. DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; STP: *Stratum Pyramidale*.

An P3 traten vor allem DPL-SPW mit einer dominanten *Sink*-Verteilung über STR und STLM auf, meist direkt gefolgt von einer starken ORI-SPW welche mit über 15 ms Abstand oft als eigenständig detektiert wurde. PRX-SPW sind selten an P3 und haben meistens einen starken *Sink* nach einer DPL-SPW innerhalb STR. DST-SPW sind deutlich schwächer und ohne folgende ORI-SPW. An P5 haben die DPL-SPW mit eine *Sink*-Verteilung über STR und STLM mit deutlicher Umverteilung nach LM, wie an P3 jedoch auch direkt gefolgt von einer ORI-SPW welche mit über 15 ms Abstand wieder oft als eigenständig detektiert wurde. Die primäre *Source* liegt bei DPL-SPW in STO und bei ORI-SPW in STR. Vermehrt, aber weiterhin selten konnten PRX-SPW auch an P5 detektiert werden, die meistens PRX-SPW waren jedoch der starke *Sink* nach einer starken DPL-SPW/ORI-SPW-Kombination. Die DST-SPW hatten im Vergleich zu P3 teilweise eine folgende ORI-SPW. An hatten waren die DPL-SPW schwächer in ihrer Amplitude und sehr variabel. Eines der neuen Merkmale war ein Versatz in der *Sink*-Verteilung innerhalb von 15 ms; der PRX-*Sink* folgte oft dem DST-*Sink*, wobei die *Source*-Verteilung für beide *Sinks* in STO waren. ORI-SPW waren an P7 eher eigenständig mit einer *Source* in STR und LM. Wie auch in P3 und P5 waren PRX-SPW selten und schwach, durch die schwächeren DPL-SPW jedoch nicht mehr als Folge dieser starken Ereignisse. DST-SPW waren an P7 sehr häufig mit der der gleichen *Source*-Verteilung wie bei DPL-SPW. An P9 traten DPL-SPW im Verhältnis seltener auf, ihre *Sink-Source*-Verteilung ähnelte zumeist denen an P7. Die ORI-SPW waren nun oftmals alleinstehend mit der *Source* in STR. Die PRX-SPW mit der *Source* in STO waren nun dominanter und breiter als an P7. Die DST-SPW hatten zwei unterscheidbaren *Source* in STO und STR mit primärem Anteil in STO. An P12 DPL-SPW nochmals seltener und vergleichbar mit P9. Die ORI-SPW waren nun stärker als an P9 mit gleicher *Source*-Verteilung. Die PRX-SPW zeigen hier erstmals 100 Hz Ripple und die DST-SPW ähnelten jenen an P9, jedoch mit annähernd gleicher *Source*-Stärke in STO und STR. Vor allem aufgrund der Allgemeinen starken Aktivität waren an P14 DPL-SPW wieder häufiger mit gleicher Verteilung wie an P12, ORI-SPW waren wieder stärker mit klarer *Source* in STR. Die PRX-SPW waren nun sehr stark ausgeprägt und zeigten sich oft als SPR-Komplexe. Die DST-SPW waren nun sehr häufig mit zwei *Source*, wobei der größere Anteil nun bei der STR-*Source* lag.

Im Rahmen der Auswertung viel auf, dass das zur Interpretation der SPW genutzte Skript, bei bestimmten SPW-Typen häufig Fehldetektionen aufwies, so wurden viele ORI-SPW an P3 und P5 fälschlicherweise als eigenständige Ereignisse detektiert, wobei diese in Wirklichkeit Teil einer DPL-SPW waren.



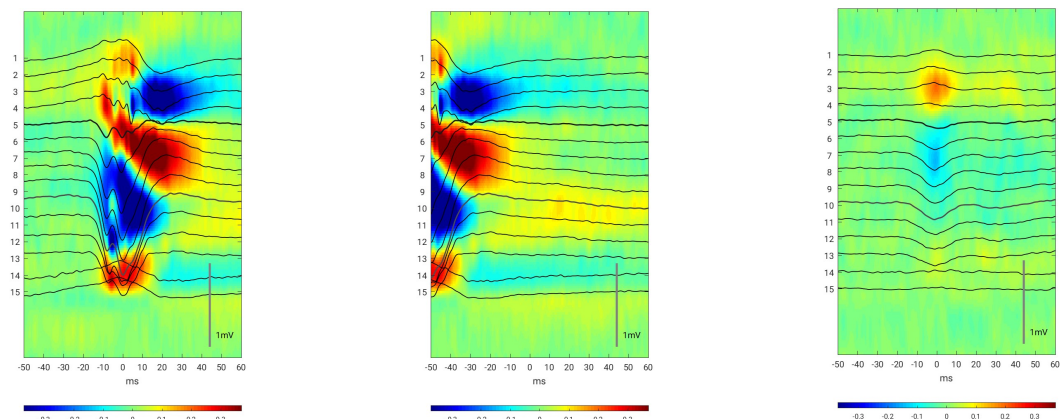
a) DPL-SPW (korrekt)

b) Gleiche DPL-SPW wie in a) jedoch erneut als inkorrekt als ORI-SPW detektiert, der *Sink* in Oriens ist weiter als 30 ms von den beiden *Sinks* der DPL-SPW entfernt.

c) Korrekte ORI-SPW der gleichen Aufnahme

Abbildung 9: Vergleich von DPL-SPW und ORI-SPW an P3

Es wurden sich daher die Detektion nochmals angeschaut, es zeigte sich bei manueller Selektion der ORI-SPW, dass nur etwa jede 7. SPW (14 %) korrekt klassifizierte ORI-SPW war und nicht Teil einer DPL-SPW. Alle DPL-SPW waren vom Skript korrekt als solche klassifiziert worden. Im gleichen Zuge wurden sich auch die PRX-SPW erneut angeschaut.



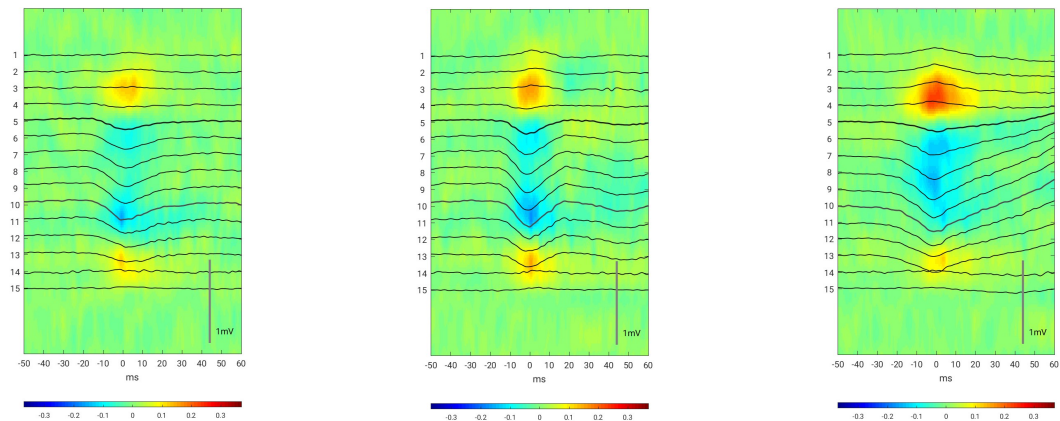
a) DPL-SPW (korrekt)

b) Gleiche DPL-SPW wie in a) jedoch inkorrekt als PRX-SPW detektiert, der *Sink* in Radium ist weiter als 30 ms von den beiden *Sinks* der DPL-SPW entfernt.

c) Korrekte PRX-SPW der gleichen Aufnahme

Abbildung 10: Vergleich von DPL-SPW und PRX-SPW an P3

Bei manueller Selektion der PRX-SPW zeigte sich, dass insgesamt in allen Aufnahmen nur 11 SPW mit einem einzigen *Sink* in Radium korrekt klassifiziert wurden, entsprechend einem Anteil von 8 % aller mit dem Skript klassifizierten PRX-SPW. Zuletzt wurden auch die vom Skript als DST-SPW klassifizierten SPW einer manuellen Kontrolle unterzogen.



a) DST-SPW (korrekt)

b) DPL-SPW wo der erste *Sink* nicht die minimale Detektionsschwelle erreicht hat und so als DST-SPW detektiert wurde.

c) DST-SPW aus der gleichen Aufnahme wo der *Sink* nicht so tief sitzt (Zwischentyp)

Abbildung 11: Vergleich von DST-SPW an P3

Die DST-SPW wurden im Vergleich zu ORI-SPW und PRX-SPW besser klassifiziert, die manuelle Kontrolle erbrachte etwa 33 % korrekt klassifizierte DST-SPW. Fälle in denen DST-SPW falsch klassifiziert wurden, waren DPL-SPW deren oberer *Sink* nicht die nötige Mindestamplitude erreichte (Abbildung 11b). Es gab auch Sonderfälle wo der relevante *Sink* zu tief für eine Klassifizierung als PRX-SPW lag und diese somit in die Kategorie der DST-SPW fielen, der relevante *Sink* dieser DST-SPW jedoch deutlich höher als bei den meisten anderen DST-SPW war (vgl. Abbildung 11c).

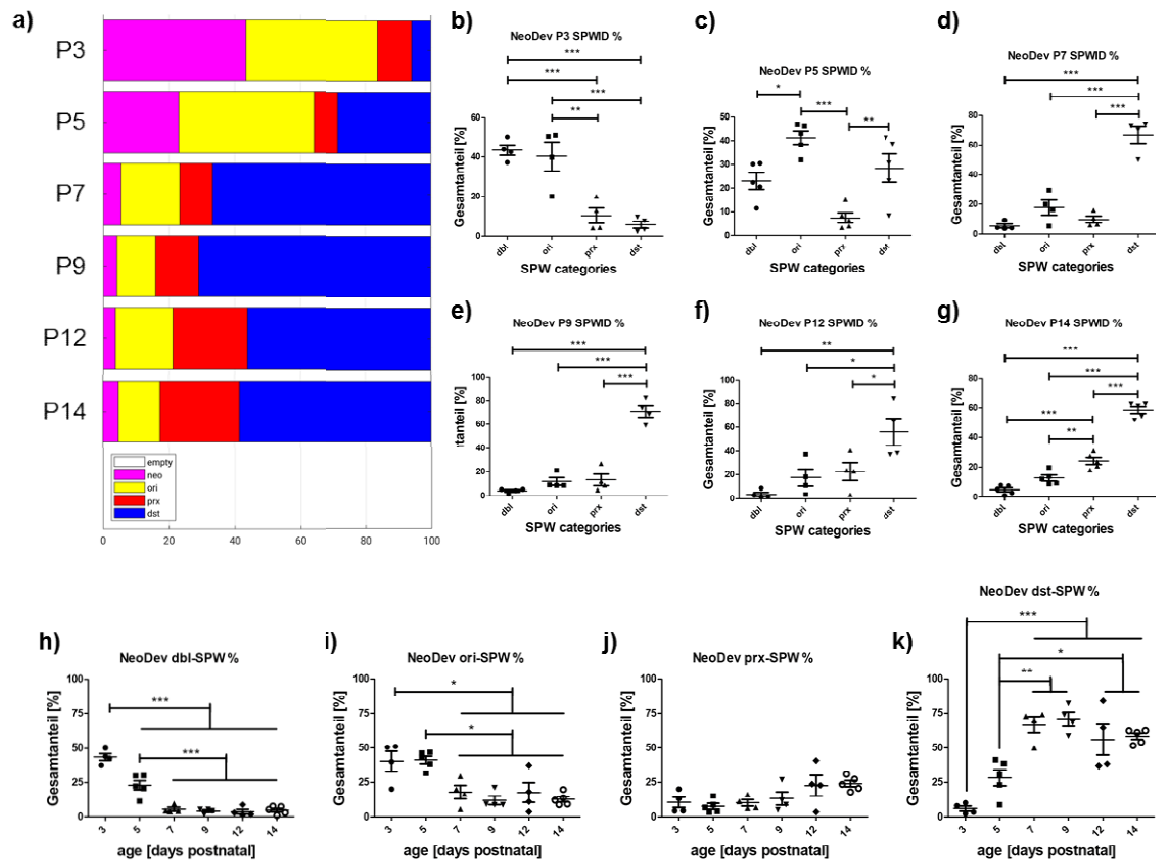


Abbildung 12: Vergleich der SPW-Entwicklung über die verschiedenen Altersstufen.

DPL-SPW (Magenta); ORI-SPW (Gelb); PRX-SPW (Rot); DST-SPW (Blau). (a-g) Der Anteil DPL-SPW verringert sich beständig übers Alter (P3: 43,4 % $\pm$ 2,6 zu P14: 4,8 % $\pm$ 1,3). Im gleichen Zeitraum nimmt der Anteil von DST-SPW zu (P3: 5,8 % $\pm$ 1,8; P7: 66,8 % $\pm$ 5,7; P14: 58,5 % $\pm$ 2,3) ohne das zunächst der Anteil an PRX-SPW zunimmt (P3: 10,4 % $\pm$ 3,8; P7: 9,9 % $\pm$ 2,3) erst mit P14 steigt der Anteil wieder (P14: 24,2 % $\pm$ 2,4). Der Anteil an Oriens beträgt an P3 – P5: 40,3 – 41,2 % ($\pm$ 7,3 – $\pm$ 2,8) und in den folgenden Altersstufen P7 – P14 zwischen 12 – 17 %. (h – k) Im direkten Vergleich der SPW-Anteil über die Altersstufen ergeben sich signifikant (***) mehr DPL-SPW an P3 und P5 als an P7 – P14. Auch ORI-SPW waren signifikant (*) häufiger an P3 und P5 als an P7 – P14. PRX-SPW waren über alle Altersstufen nicht signifikant unterschiedlich, wenn auch der Anteil an P3 – P5 (siehe oben) tendenziell geringer ist als an P14. DST-SPW waren an P3 – P5 signifikant geringer vertreten als an P7 – P14. (P3 vs. P7 – P14 = ***; P5 vs. P7 – P9 = **; P5 vs. P12 – P14 = *). Hier war der Anteil an DST-SPW tendenziell geringer an P12 – P14 als im Vergleich zu P7 – P9. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Multiple Comparison Test berechnet ($P \leq 0,05 = *$; $P < 0,01 = **$; $P < 0,001 = ***$). DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: Sharp Wave.

In den Messungen zeigt sich eine deutliche Veränderung der dominanten Aktivitätsmuster in Abhängigkeit vom Alter. An P5 machen DPL-SPW mit 23 % ($\pm$ 3,5) nur noch etwa die Hälfte im Vergleich zu P3 (43,4 % $\pm$ 2,6) aus (Abbildung 12a-c, h-k). Im gleichen Zeitraum verringerte sich der ORI-Anteil kaum (P3: 40,33 % $\pm$ 7,3; P5: 41,2 % $\pm$ 2,8) Abbildung 12a-c, h-k). Es traten vermehrt alleinstehende ORI-SPW auf (Abbildung 13). Während der Anteil an DST-SPW

anstieg (P3: 5,8 % [$\pm 1,8$]; P5: 28,4 % [$\pm 5,9$]) blieb der Anteil an PRX-SPW unverändert (P3: 10,4 % [$\pm 3,8$]; P5: PRX 7,5 % [$\pm 2,1$]) Abbildung 12a-c, h-k). Es gab also einen relativen Verlust an PRX-SPW, da DPL-SPW per Definition aus PRX- und DST-SPW bestehen (Abbildung 12a-c, h-k) und sich deren Anteil verringerte ohne jedoch zu einem gleichen Anstieg alleinstehender PRX-SPW und DST-SPW zu führen.

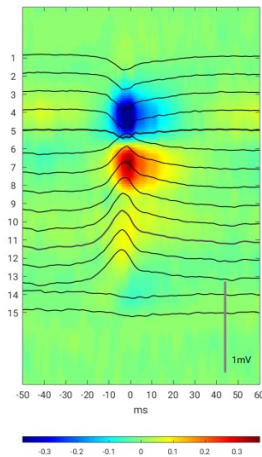
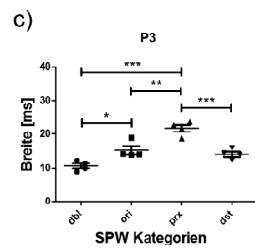
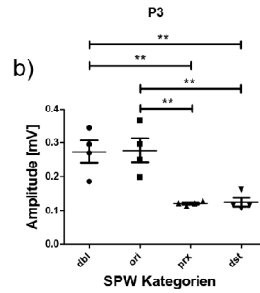
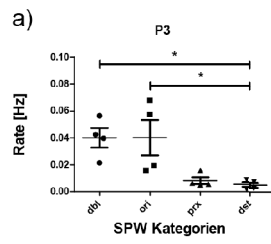


Abbildung 13: Alleinstehendes ORI-SPW an P5

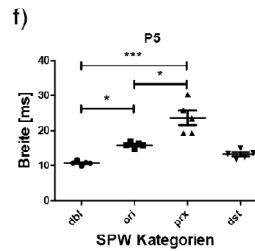
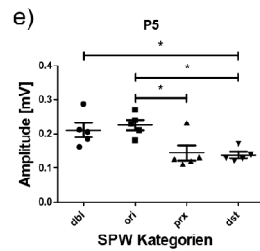
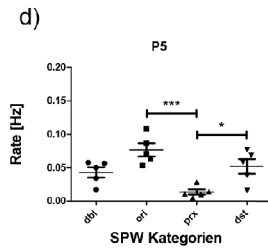
Einzelnes eigenständige ORI-SPW mit klarem *Sink* in STO oberhalb der Phasenumkehr (STP) und einzelner deutlicher *Sink* in STR ohne weitere *Sinks*.

Dieser Trend setzte sich an P7 fort. Erneut reduzierte sich der Anteil an DPL-SPW von P5 (23 % [$\pm 3,5$]) bis P7 (5,5 % [$\pm 1,4$]) bei gleichzeitigem Anstieg der DST-SPW von P5 (28,4 % [$\pm 5,9$]) bis P7 (66,8 % [$\pm 5,7$]); ohne eine Veränderung der PRX-SPW zwischen P5 (7,5 % [$\pm 2,1$]) und P7 (9,9 % [$\pm 2,3$]). ORI-SPW wurden wie DPL-SPW weniger an P5 (41,2 % [$\pm 2,8$]) und P7 (17,84 % [± 5]) detektiert; Abbildung 12a, c – d, h – k. An P9 gab es im Vergleich zu P7 wenig Veränderung, nur PRX-SPW traten etwas häufiger auf (9,9 % [$\pm 2,3$]; 13,1 % [$\pm 4,8$]) Abbildung 12a, d – e, h – k. An P12 (22,7 % [$\pm 7,6$]) und P14 (24,15 % [$\pm 2,4$]) erhöhte sich erneut der Anteil der PRX-SPW gegenüber P9 (13,1 % [$\pm 4,8$]) bei gleichzeitiger Verringerung der DST-SPW an P9 (71 % [$\pm 4,9$]) gegenüber P12 (56,10 % [$\pm 11,4$]) und P14: (58,5 % [$\pm 2,3$]) Abbildung 12a, e – k). PRX-SPW zeigten nun häufig überlagerte *Ripple*, Abbildung 18). Der Anteil an DPL-SPW blieb gering an P9 (4,1 % [$\pm 0,9$]); P12 (3,7 % [$\pm 1,7$]) und P14: (4,8 % [$\pm 1,3$]) (Abbildung 12a, e – k).

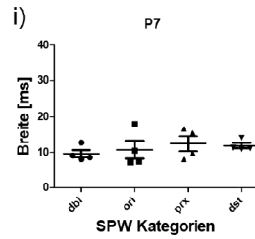
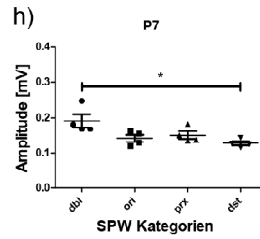
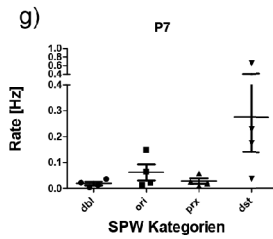
P3



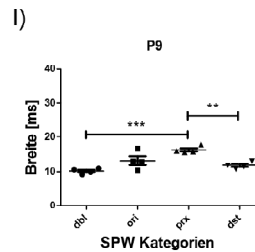
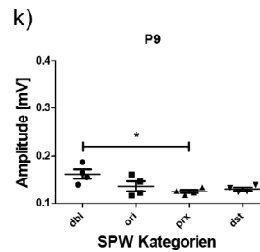
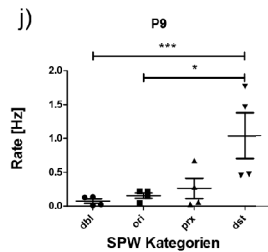
P5



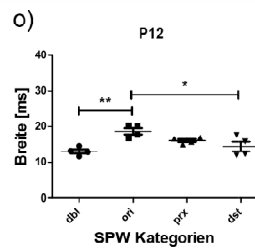
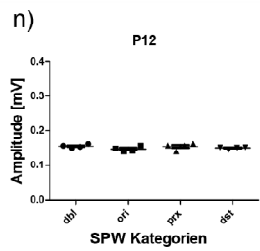
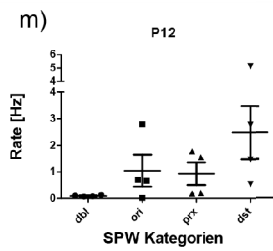
P7



P9



P12



P14

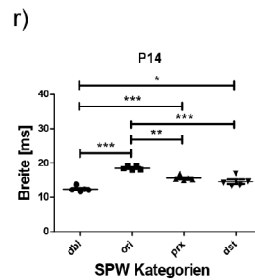
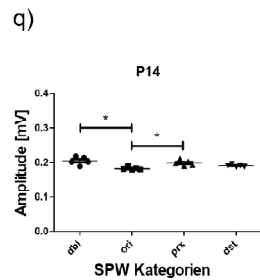
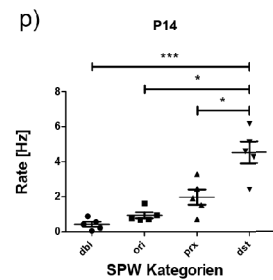


Abbildung 14 (vorherige Seite): Quantifikation der hippocampalen SPW zwischen P3 – 14.

(a), (d), (g), (j), (m), (p) Rate (Hz) für P3-P14; Amplitude (CSD; mV/mm²) (b) (e), (h), (k), (n), (q) für P3-P14. Dauer (CSD, bei halber Amplitude; ms) (c), (f), (i), (l), (o), (r). Jeweils für DPL-SPW, ORI-SPW, PRX-SPW und DST-SPW; P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12: n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$). Für eine genaue Auflistung der Spaltenstatistik und tabellarischen Werte siehe Tabelle 22 (Anhang) und Tabelle 23 (Anhang). CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; STP: *Stratum Pyramidale*.

Neben einer Veränderung der jeweils dominanten Aktivitätsmuster zeigte sich im Altersverlauf auch, dass die Amplitude der SPW signifikant unterschiedlich über die verschiedenen Altersstufen waren. Hierbei gab es jedoch deutliche Unterschiede zwischen den vier Kategorien. So zeigten DBL-SPW und ORI-SPW eine auffällige „Schalen“-Form über die verschiedenen Altersgruppen, daher war die Amplitude in jungen (P3 und P5) als auch in den älteren Mäusen (P12 und P14) höher als an P7 und P9. Signifikante Unterschiede zeigten sich bei DPL-SPW, welche zwischen P3 und P9 und P12 signifikant unterschiedlich waren (P3: 0,274 mV/mm² [$\pm 0,033$]; P9: 0,161 mV/mm² [$\pm 0,01$]; P12: 0,155 mV/mm² [$\pm 0,003$]) jedoch nicht zwischen P3 und P5, P7 oder P14. Bei ORI-SPW war der Effekt ebenfalls sichtbar, jedoch insofern ausgeprägter, dass hier zusätzliche signifikante Unterschiede zwischen P5 und P7 – P12 existierten (siehe Tabelle 22) und auch P3 ORI-SPW eine signifikant höhere Amplitude aufwiesen als an P14. Die durchschnittlichen Amplituden von PRX-SPW und DST-SPW zeigten einen graduellen Anstieg der Amplituden über das Alter, mit signifikanten Unterschieden hauptsächlich zwischen der Altersgruppen P14 und den jüngeren Altersgruppen (siehe Tabelle 23).

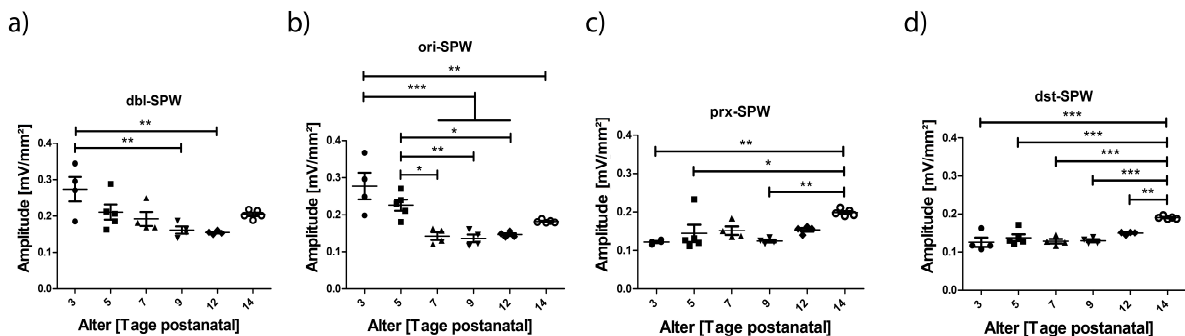


Abbildung 15: Vergleich der CSD-SPW-Amplitude Altersgruppenübergreifend.

Amplitude wurde im CSD gemessen (mV/mm²). (a) DPL-SPW (b) ORI-SPW (c) PRX-SPW (d) DST-SPW. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$). CSD: *Current Source Density* (Stromdichte); DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; STP: *Stratum Pyramidale*.

Weiterhin wurde die Dauer der auftretenden SPW untersucht, die größten Unterschiede in der Dauer von SPW zeigten sich an den PRX-SPW (Abbildung 16c). So waren die PRX-SPW,

welche an P3 und P5 meistens Bestandteil einer größeren DPL-SPW waren, signifikant länger als PRX-SPW an anderen Alterszeitpunkten, eine Ausnahme bildete der Vergleich P3 gegen P9 und P3 gegen P12. Ereignisse an P7 gehörten in allen vier Kategorien zu den kürzesten Ereignissen. Signifikante Unterschiede bestanden hierbei zwischen P7 und P12/P14 für DPL-SPW und ORI-SPW (Abbildung 16a-b) und P7 und P3/P5 für PRX-SPW (Abbildung 16c). Bei DST-SPW bestanden keine Signifikanzen zwischen der Dauer der einzelnen SPW, jedoch gab es auch hier einen Trend zu einer „Schale“ mit den längsten SPW an P3 und P14 und den kürzesten SPW an P7.

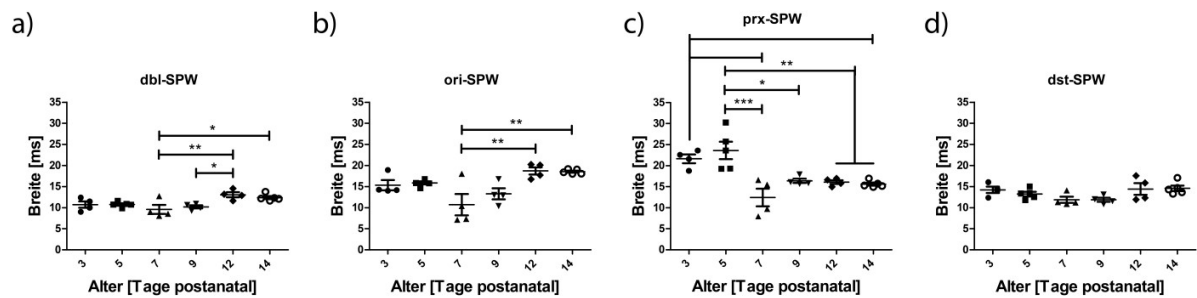


Abbildung 16: Vergleich der SPW-Dauer Altersgruppenübergreifend.

Die Dauer wurde im CSD bei halber Amplitude gemessen. (a) DPL-SPW (b) ORI-SPW (c) PRX-SPW (d) DST-SPW. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$). CSD: *Current Source Density* (Stromdichte); DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; STP: *Stratum Pyramidale*.

5.1.2.1. Varianz an P7

Neben den zuvor beschriebenen Ereignissen zeigte sich vor allem an P7 eine erhöhte Varianz. Während P3 und P5 von DPL-SPW dominiert wurden, so zeigten die Ergebnisse an P7 ein uneinheitliches Bild, was teilweise an die Aktivitätsmuster älterer, teilweise aber auch jüngerer Tiere erinnerte.

- | | | | |
|---|---|---|-----------------|
| a) P7 „DPL“-SPW
mit frühem ersten
<i>Sink</i> und zusätzlicher
<i>Source</i> | b) P7 „DPL“-SPW
mit gleichzeitigen
<i>Sinks</i> | c) P7 „DPL“-SPW
mit spätem ersten
<i>Sink</i> | d) P7 „TRP“-SPW |
|---|---|---|-----------------|

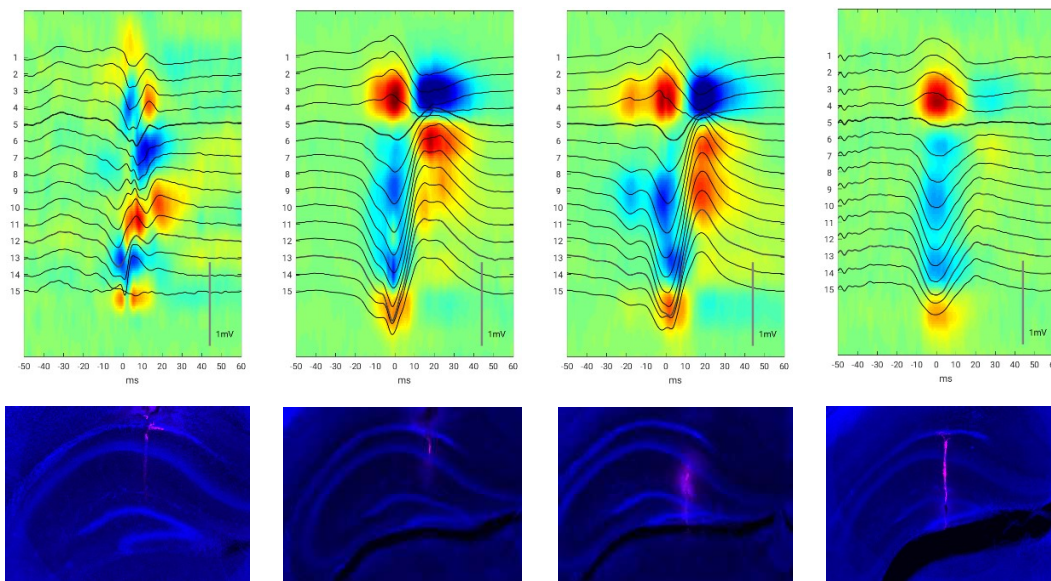


Abbildung 17: Varianz von SPW an P7

Vergleich von 4 unterschiedlichen SPW, welche an P7 gemessen werden konnten. *Sink* (Blau) und *Source* (Rot).

Die SPW in Abbildung 17a ist aus dem gleichen Datensatz wie jene in Abbildung 8 und zeigte den DST-*Sink* vor dem PRX-*Sink* wie dies oft ab P9 detektiert wurde. Jedoch zeigte sich zusätzlich ein *Sink* in STO, sowie eine zusätzliche *Source* zwischen dem DST *Sink* und dem PRX-*Sink*. Die SPW in Abbildung 17b und c stammen aus derselben Aufnahme, jeweils aus der *Baseline*-Aufnahmeperiode der Detektionsexperimente. Die SPW in Abbildung 17b zeigt im Gegensatz zu den in anderen P7-Aufnahmen detektierten DPL-SPW das Muster einer DPL-SPW an P5 mit zwei gleichzeitigen *Sinks*, jedoch mit einer neutralen Zone wo an P5 die PRX-*Sink* detektiert wurden. Die SPW in Abbildung 17c aus derselben Aufnahme hingegen zeigte einen um etwa 5 ms versetzten DST-*Sink*, sowie eine PRX-SPW kurz zuvor, beide SPW mit der gleichen neutralen Zone zwischen der oberen *Source* und dem PRX-*Sink*. Die SPW in Abbildung 17d ist aus einer anderen Aufnahme aus der *Baseline*-Aufnahmeperiode der Detektionsexperimente und zeigte zusätzlich an jener Stelle, wo in anderen P7 Aufnahmen eine neutrale Zone ist, einen *Sink*, wodurch die SPW drei klar erkennbare *Sink* hat und als Tripple (TRP)-SPW bezeichnet werden könnte.

5.1.3. SPR

Im Alter von P12 konnten erstmals kurze hochfrequente Oszillationen beobachtet werden, welche synchron mit PRX-SPW auftraten. Aufgrund ihrer Ähnlichkeit zu den in adulten Tieren bekannten sogenannten SPR-Komplexen, werden diese Oszillationen ebenfalls hier als SPR bezeichnet. SPR wurden in den Altersgruppen P9, P12 und P14 identifiziert. In den jüngeren Altersgruppen konnte keine mit adulten SPR vergleichbare Aktivität beobachtet werden. Für die detektierten Ereignisse wurden für jedes Tier eine Abschätzung der Stärke des Signals im Frequenzbereich zwischen 50 und 500 Hz, welches den Frequenzbereich adulter RPL umfasst, mittels der so genannten Welch-Methode durchgeführt (Abbildung 18).

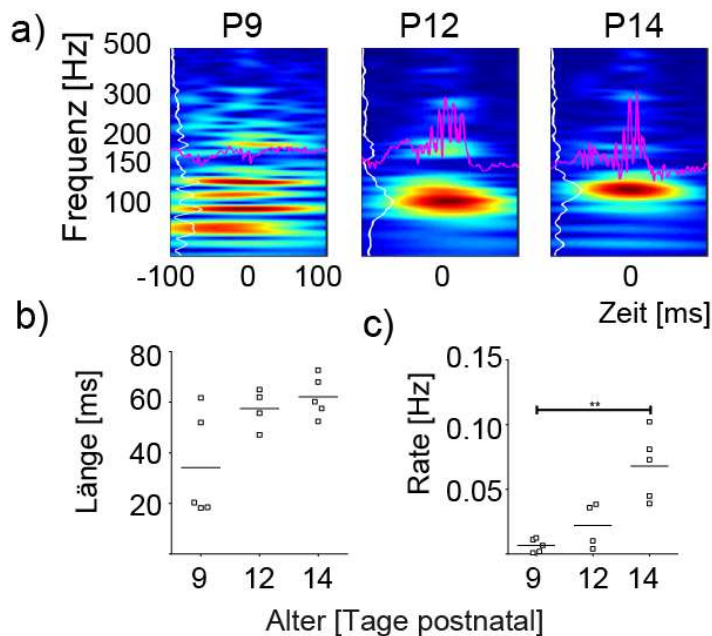


Abbildung 18: Quantifikation der SPR innerhalb der ersten beiden Lebenswochen.

Stetiger Anstieg der spektralen Energie, der spektralen Frequenz, der Länge und der SPR-Rate über die Altersstufen P9, P12 und P14. (a) Beispiel SPR an P9, P12 und P14. (b) Durchschnittliche Länge der SPR an P9, P12 und P14. (c) Durchschnittliches Auftreten [Hz] von SPR an P9, P12 und P14. SPR: *Sharp Wave Ripple*.

Für die Ereignisse an P9 konnte hierbei kein dominanter Frequenzbereich festgestellt werden, stattdessen wurden mehrere Frequenzbereiche mit erhöhter Stärke detektiert. Für die Ereignisse an P12 gab es bei vier von fünf Tieren einen dominanten Frequenzbereich um 100 Hz, welcher jedoch für jedes Tier leicht unterschiedlich und von unterschiedlicher Stärke war. Wurden die Ereignisse an P9, welche auf dem gefilterten und heruntergetaktetem EEG-Signal detektiert wurden mit dem ungefilterten und nicht heruntergetaktetem Rohsignal verglichen so zeigte sich das es sich bei P9-SPR um Bereiche mit stark erhöhter Einzelzellfrequenz und nicht um diskrete Oszillationen handelt. Ereignisse an P12 und P14 konnten sowohl im EEG als auch im Rohsignal als SPR identifiziert werden (Abbildung 18a). Die Varianz der Länge der Ereignisse war an P9 noch hoch, an P12 und P14 waren SPR durchschnittlich 60 ms lang (Abbildung 18b) und traten an P12 mit einer Häufigkeit von durchschnittlich 0,025 Ereignissen/s und an P14 mit 0,075 Ereignissen/s auf (Abbildung 18c).

5.1.4. Elektrische Stimulation der VHC/CA3 und des PP

Das frühe alleinige Auftreten von DST-SPW und das geringe alleinige Auftreten von PRX-SPW an P7, sowie das Auftreten von DPL-SPW ließen vermuten, dass die SPW ihren Ursprung im EC haben. Um dies zu untersuchen wurden die beiden Haupteingangswegen zu CA1, die VHC (stellvertretend für ein Eingangssignal aus CA3) und der PP (stellvertretend für ein Eingangssignal aus dem EC) als Nervenfaserbündel elektrisch stimuliert. Basierend auf den vorherigen Daten wurden hierfür P7 und P12-Tiere untersucht. Um eine direkte Vergleichbarkeit der Stimulationen zu gewährleisten, wurden die Stimulationselektroden für die VHC/CA3 und

PP/EC so implantiert das es während der Aufnahme nicht nötig war, die Stimulationselektroden zu entfernen. Hierzu wurde die Stimulationselektrode für den PP auf einer festen Tiefe von 1,2 mm für P7 und 1,5 mm für P12-Tiere implantiert. Diese Tiefe wurde bei Testexperimenten im Vorfeld als die beste Tiefe mit der höchsten Erfolgsrate bestimmt. Die Stimulationselektrode der VHC/CA3 war in allen Experimenten beweglich und wurde während der Aufnahme in 0,2 mm Schritten tiefer implantiert. Start und Endpunkt der Implantation waren in allen Experimenten unterschiedlich. Generell wurde mit 100 – 200 μ A bipolar, sowie positiv und negativ zu je 100 μ s stimuliert und nach einer Stimulation einschließlich des Pulses zwei Sekunden gewartet (Abbildung 6).

Zunächst wurde getestet, ob die Stimulation zum Erfolg und damit dem Auftreten einer SPW, vergleichbar mit der einer natürlich, spontan vorkommenden SPW, geführt hat. Hierbei wurden dieselben Kriterien wie bei der Detektion von spontanen SPW verwendet. Für alle Auswertungen wurde nur die erste detektierte SPW, nicht aber sekundäre oder tertiäre SPW, berücksichtigt. Als Erfolg galt eine Detektion einer SPW innerhalb von 5 – 45 ms nach erfolgter Stimulation. Es wurde nicht zwischen natürlichen SPW und stimulierten SPW unterschieden. Es konnte also theoretisch sein, dass eine natürliche SPW zufällig innerhalb des Detektionsfenster von 5 – 45 ms auftrat. Die gezeigten Experimente der VHC zeigen jedoch konkrete Tiefen, in denen keine SPW innerhalb des Detektionsfenster aufgenommen werden konnten (Abbildung 32, außerhalb des grünen Bereiches). Daher ist nicht davon auszugehen, dass SPW zufälligerweise im Detektionsfenster auftraten.

In jeder Tiefe wurden zwischen 30 – 70 Stimulationen (drei bis sieben Stimationsreihen zu je zehn Stimulationen) durchgeführt. In beiden Altersstufen gab es bei jedem Tier einen zusammenhängenden Tiefenbereich mit einer Erfolgsrate von über 80 % (hellgrüne Schattierung; Abbildung 32 [Anhang]). Als Erfolg galt das Auftreten einer SPW frühestens nach 5 ms, zur Vermeidung des Stimulationsartefakts, bis maximal 45 ms nach Abschluss der Einzelstimulation. Der angegebene Wert entspricht dem Durchschnitt aller Stimationsreihen für die jeweilige Tiefe (Abbildung 32 [Anhang]). Im nächsten Schritt wurde die durchschnittliche Verzögerung gemessen, mit der die erste SPW nach einer Stimulation auftrat.

Mit der Verzögerung wurde die durchschnittliche Zeit gemessen bis eine SPW generiert werden konnte. Erfolgreich stimulierte SPW traten mit 10 – 15 ms deutlich schneller auf als SPW die in Bereichen mit geringerer Erfolgsquote generiert wurden (Abbildung 33 [Anhang]). Da für die Berechnung der Verzögerung nicht erfolgreiche Stimulationen nicht berücksichtigt wurden sind nur die hellgrün schattierten Bereiche aussagekräftig, da in den anderen Bereichen nur eine einzige SPW für die gemessene Verzögerung verantwortlich sein kann.

Zusätzlich zur Erfolgsquote und Verzögerung wurde noch die Amplitude (CSD, mV/mm² Abbildung 34 [Anhang]) und Dauer (CSD, bei halber Amplitude, Abbildung 35 [Anhang]) der generierten SPW gemessen. In sieben von acht Tieren (P7: P7-Experiment 2 kein Ausschlag, Abbildung 34b [Anhang]) gab es einen eng begrenzten Bereich, in dem stimulierte SPW eine

teilweise deutlich höhere Amplitude hatten als in anderen Bereichen (Abbildung 34 [Anhang]). In sechs dieser sieben Tiere (P12-Experiment 1 unterhalb, Abbildung 34e [Anhang]) lag dieser Bereich innerhalb des Bereiches mit der höchstens Erfolgsquote und niedrigsten Verzögerung (dunkelgrüne Schattierung; Abbildung 34 [Anhang]).

Erfolgreich stimulierte SPW waren zudem durchschnittlich schmaler als SPW in Bereichen mit geringerer Erfolgsquote. Werden die SPW im Stimulationsbereich kategorisiert, ergibt sich für jedes Tier ein Bereich, in dem bestimmte Klassen an SPW vermehrt generiert werden. So gab es bis auf zwei P12-Tiere in jedem Tier einen Bereich in dem durch die Stimulierung der VHC/CA3 mindestens zu 80 % proximale (rot) Ereignisse generiert wurden (Abbildung 36 [Anhang]). Dieser Bereich (grüne Umrandung) wurde als VHC/CA3-Stimulierung definiert. In den beiden P12-Tieren, wo es zu keiner gehäuften, ausschließlich proximalen Stimulation kam, ergab die Analyse der Histologie, dass dort die Stimulationselektrode direkt durch den rostralen Hippocampus lief und die VHC nicht direkt berührte.

Im Wechsel mit der VHC-Stimulation wurden PP-Stimulationen in den vorimplantierten festen Tiefen durchgeführt. Die durchschnittliche Erfolgsquote bei PP-Stimulation lag an P7 bei 35 – 40 % und an P12 bei 60 – 80 %, welche unter der durchschnittlichen Erfolgsquote bei Stimulationen innerhalb der VHC (etwa 85 %) lag und höher als die durchschnittliche Erfolgsquote von Stimulationen außerhalb der VHC (unterhalb von 20 %) war.

Bei der Stimulation des PP wurden fast ausschließlich DST-SPW oder DPL-SPW und fast keine PRX-SPW oder ORI-SPW gemessen. Die Verzögerung zwischen Stimulation und SPW lag bei 23 – 25 ms (P7) bzw. 18 – 20 ms (P12) und damit über der bei VHC-Stimulationen (10 – 15 ms). Die Amplitude lag bei 0,2 mV/mm² (P7) bzw. 0,25 mV/mm² (P12). Über den PP generierte SPW waren in beiden Altersgruppen etwa 10 ms breit.

Erwähnenswert ist, dass SPW die durch VHC-Stimulation an P7 generiert, wurden im CSD keinen natürlich vorkommenden SPW ähnelten. Während SPW die durch VHC-Stimulation an P12 oder durch PP-Stimulation an P7 und P12 generiert wurden jeweils eine Ähnlichkeit mit den natürlich vorkommenden SPW in diesem Alter hatten (Abbildung 19).

Zum direkten Vergleich der Verteilung der SPW wurden die Werte der Grundlinienaktivität, der PP-Stimulation sowie der Durchschnitt jenes Bereiches der VHC/CA3-Stimulation, in dem die Erfolgsquote mindestens 80 % und die Verzögerung unter 15 ms lag, verwendet.

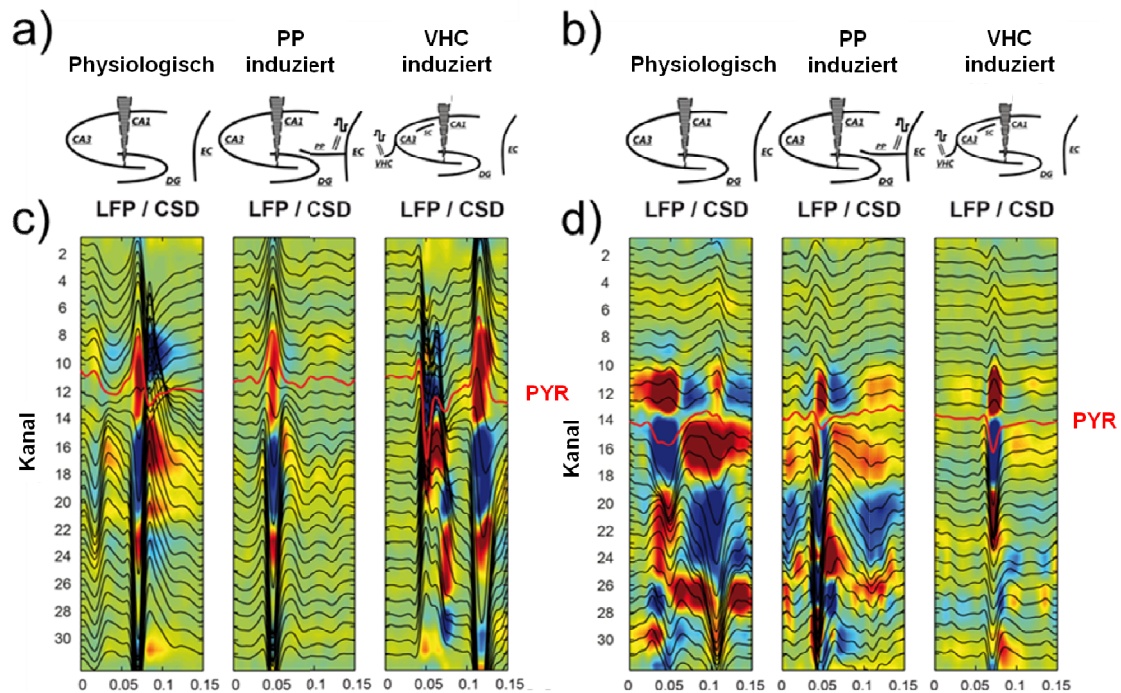


Abbildung 19: Vergleich des Tiefenprofils von physiologischen und induzierten SPW

(a,b) Schematische Darstellung der Lokalisation der Aufnahmeelektrode bzw. Stimulationselektroden. (c) linke Spalte: Beispielhaftes CSD-Profil mit überlagertem LFP-Signal einer typischen DPL-SPW (häufigste SPW-Kategorie) an P7. (c) mittlere Spalte: Durch PP-Stimulation an P7 induzierte SPW. (c) rechte Spalte: Durch VHC-Stimulation an P7 induzierte SPW. (d) linke Spalte: Beispielhaftes CSD-Profil mit überlagertem LFP-Signal einer typischen PRX-SPW (erste SPW) und DST-SPW (zweite SPW) an P12. (d) mittlere Spalte: Durch PP-Stimulation an P12 induzierte SPW. (d) rechte Spalte: Durch VHC-Stimulation an P12 induzierte SPW. CA: *Cornu Ammonis*; CSD: *Current-Source-Density* (Stromdichte); DG: *Dentate Gyrus* (*Gyrus Dentatus*); EC: Entorhinaler Cortex; LFP: Lokales Feldpotenzial; PP: *Perforant Path* (*Tractus Perforans*); SC: Schaffer Collateralen; VHC: Ventrale hippocampale Commissure.

Die Grundlinienaktivität wurde in den ersten 20 – 30 Minuten aufgenommen, die Stimulationselektroden waren zu diesem Zeitpunkt bereits implantiert. Die Verteilung der physiologisch vorkommenden SPW an P7 und P12 während der Grundlinienaktivität entsprach für P7 und P12 (Abbildung 20a) der gezeigten Verteilung in P5 – P7 und P12 ohne Stimulationselektroden (Abbildung 12a, P3).

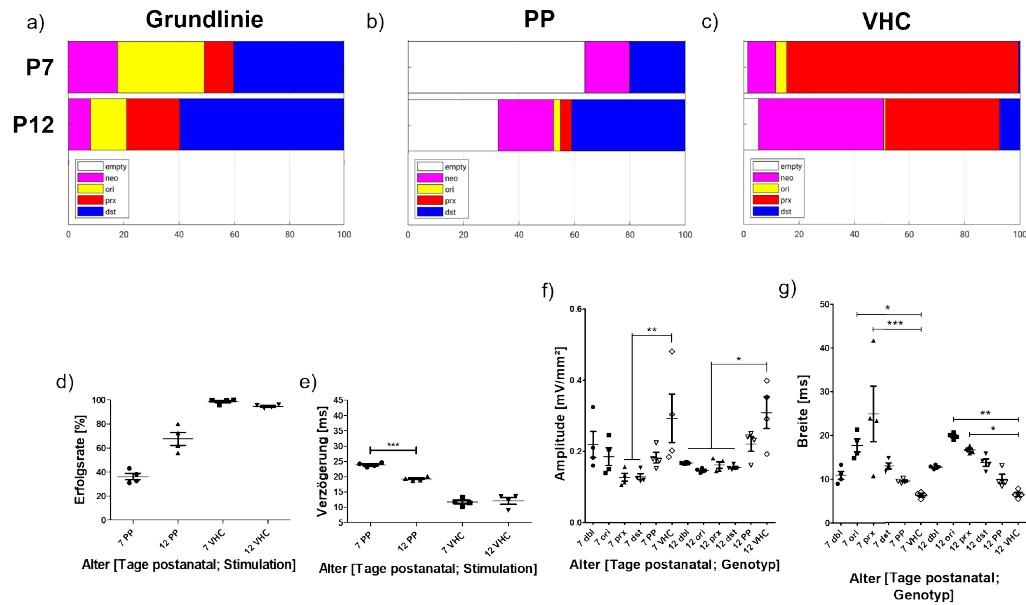


Abbildung 20: Vergleich Grundlinienaktivität, PP-Stimulation, VHC-Stimulation

(a) Verteilung der SPW-Kategorien während Grundlinienaktivität: P7: DPL-SPW 17,86 % ($\pm 6,42$); ORI-SPW 31,38 % ($\pm 8,23$); PRX-SPW 10,56 % ($\pm 2,4$); DST-SPW 40,2 % ($\pm 15,9$); P12: DPL-SPW 7,98 % ($\pm 2,2$); ORI-SPW 13,09 % ($\pm 2,7$); PRX-SPW 19,19 % ($\pm 1,63$); DST-SPW 59,74 % ($\pm 3,24$). (b) Verteilung der SPW-Kategorien während Stimulation des PP: P7: DPL-SPW 16,16 % ($\pm 6,16$); ORI-SPW 0,09 % ($\pm 0,09$); PRX-SPW 0 % (± 0); DST-SPW 19,98 % ($\pm 8,84$); P12: DPL-SPW 20,09 % ($\pm 7,65$); ORI-SPW 2,38 % ($\pm 1,45$); PRX-SPW 4,11 % ($\pm 2,71$); DST-SPW 41,02 % ($\pm 2,56$). (c) Verteilung der SPW-Kategorien während Stimulation der VHC). P7: DPL-SPW 10,12 % ($\pm 7,33$); ORI-SPW 4,02 % ($\pm 2,23$); PRX-SPW 83,92 % ($\pm 7,54$); DST-SPW 0,59 % ($\pm 0,39$); P12: DPL 45,18 % ($\pm 14,48$); ORI-SPW 0,98 % ($\pm 0,51$); PRX-SPW 41,06 % ($\pm 17,34$); DST-SPW 7,4 % ($\pm 7,06$). (d) Erfolgsrate bei Stimulation des PP oder der VHC (nur > 80 % und < 20 ms Verzögerung). DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; STP: *Stratum Pyramidale*; VHC: Ventrale hippocampale Commissure.

Die Stimulation des PP führte bei P7 in 36,24 % ($\pm 2,75$) der Fälle zu einer Stimulation einer SPW, was signifikant unter der Erfolgsrate bei PP-Stimulationen an P12 mit 67,59 % ($\pm 5,35$) liegt. Durch die vorab getroffene Auswahl war sowohl an P7 als auch an P12 die Erfolgsrate mit 98,65 % ($\pm 1,06$) und 94,62 % ($\pm 0,72$) bei VHC-Stimulation sehr hoch. Der Anteil erfolgreich über den PP stimulierten SPW war bei DPL-SPW 45 % (P7) bzw. 30 % (P12) und 55 % (P7) bzw. 61 % (P12) bei DST-SPW. Ori- und PRX-SPW wurden gar nicht (P7) oder nur zu einem geringen (4 % bzw. 6%, P12) PRX-SPW detektiert. Durch Stimulation der VHC wurden an P7 primär PRX-SPW generiert (85 %) gefolgt von DPL-SPW (10 %) und ORI-SPW (4 %). DST-SPW konnten fast gar nicht detektiert werden. An P12 wurden bei VHC-Stimulation zu etwa gleichen Teilen DPL-SPW (48 %) und PRX-SPW (43 %) detektiert. ORI-SPW (1 %) und DST-SPW (8 %) wurden seltener detektiert. Hierbei sollte beachtet werden, dass der Anteil an generierten PRX-SPW in zwei Tieren (Abbildung 36e-f) deutlich unter dem in den anderen beiden Tieren lag (Abbildung 36g-h) und in Richtung DPL-SPW verschoben war.

An P7 führte eine erfolgreiche Stimulation des PP nach durchschnittlich 24 ms [$\pm 0,3$] zu einer SPW, dies lag signifikant über der durchschnittlichen Verzögerung einer erfolgreichen PP-Stimulation an P12 (19 ms [$\pm 0,3$]). In beiden Altersgruppen wurden erfolgreiche SPW nach einer VHC-Stimulation signifikant früher generiert (P7: 12 ms [0,6]; P12: 12 ms [± 1]).

Durch VHC-stimulierte SPW hatten eine signifikant höhere Amplitude im CSD an P7 im Vergleich zu PRX- und DST-SPW (P7 VHC: 0,29 mV/mm² [$\pm 0,07$]; PRX: 0,13 mV/mm² [$\pm 0,01$]; DST 0,13 mV/mm² [$\pm 0,01$]) und an P12 im Vergleich zu allen SPW-Kategorien (P12 VHC: 0,31 mV/mm² [$\pm 0,04$]; DPL: 0,17 mV/mm² [$\pm 0,001$]; ORI: 0,15 mV/mm² [$\pm 0,003$] PRX: 0,13 mV/mm² [$\pm 0,01$]; DST 0,13 mV/mm² [$\pm 0,01$]). Durch PP-stimulierte Ereignisse waren tendenziell ebenfalls erhöht (Abbildung 20f). Hier ist zu beachten, dass die Amplitude des generierten Ereignisses von der verwendeten Stimulationsstärke abhängig ist (nicht gezeigt) und sich hier auf die verwendete Stärke von 100 – 200 μ A bezieht. Auffällig war darüber hinaus, dass stimulierte Ereignisse tendenziell schmäler als physiologische Ereignisse waren (Abbildung 20g). Zwischen ORI-SPW und PRX-SPW bestand hierbei ein signifikanter Unterschied zu Ereignissen, welche über die VHC stimuliert wurden (P7 VHC: 6,5 ms [$\pm 0,4$]; ORI: 17,7 ms [$\pm 1,5$]; PRX: 24,9 ms [$\pm 6,4$]; P12 VHC: 6,7 ms [$\pm 0,5$]; ORI: 19,8 ms [$\pm 0,3$]; PRX: 16,7 ms [$\pm 0,4$]).

5.2. Entwicklung der hippocampalen Netzwerkaktivität in NKCC1-KO Mutanten

Um zu untersuchen was eine Veränderung der Ionenkanalzusammensetzung im Vorderhirn auf das Auftreten und die Eigenschaften der beobachteten Netzwerkaktivität bewirkt, wurde eine Vorderhirn-spezifische NKCC1 Knockout Mutante untersucht. Das mutierte Gen lag „gefloxt“ vor und wurde nur bei entsprechender Verpaarung mit einer Cre-exprimierenden Linie inaktiviert. Eine Vorderhirnspezifität der Mutation wurde durch den Emx1-Promotor gewährleistet. Für die Verpaarung wurden ausschließlich weibliche Träger der Cre-Rekombinase verwendet. Dies diente zum einen zur Vermeidung einer potenziellen Keimbahndeletion des NKCC1 und zum anderen ergaben sich bei der Verpaarung mit den cre-freien Männchen interne Kontrollen. Alle Mütter waren entsprechend Mutanten (Knockouts). Für die Aufnahme wurden gleichermaßen weibliche und männliche Neonaten im Alter von P4, P7 und P12 verwendet. HNM, V1-*Spindle* und V1- β -Oszillationen wurden an P4 untersucht. SPW wurden in allen Altersgruppen untersucht. SPR wurden in P12-Tieren untersucht.

5.2.1. Verhaltenstests

Es wurden vor jeder Aufnahme zwei einfache Verhaltenstests durchgeführt: (1) Der Umdrehtest und (2) der Klippenvermeidungstest. Beim Umdrehtest wird die Zeit gemessen, die ein Neonat braucht, um sich vom Rücken wieder auf alle vier Beine zu drehen. Beim Klippenvermeidungstest wird die Zeit gemessen, die ein Neonat benötigt, sich von einer „Klippe“ bzw. Kante vollständig wegzudrehen (siehe Abschnitt 4.4).

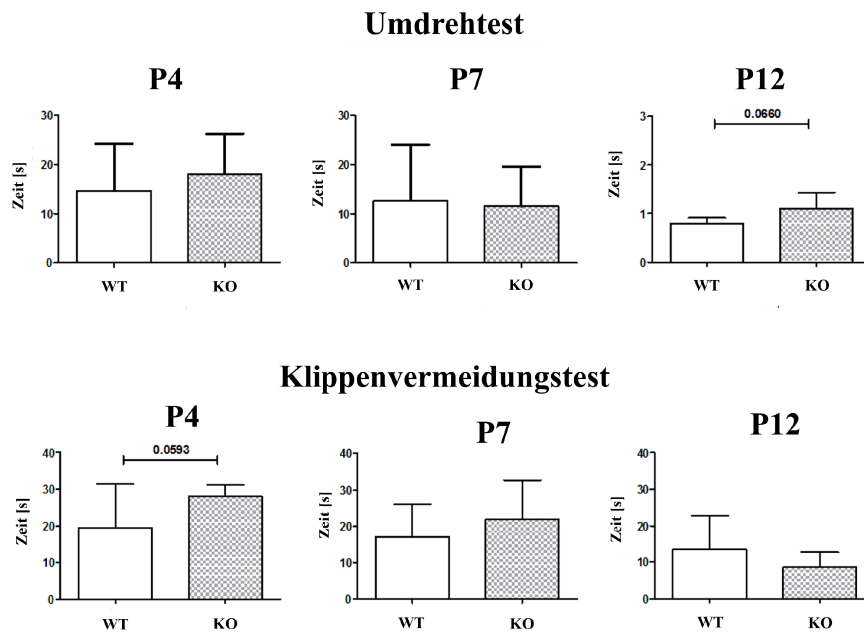


Abbildung 21: Umdreh- und Klippenvermeidungstest bei NKCC1 WT und KO

Beim Umdrehtest gab es zwischen NKCC1 WT und KO keinen signifikanten Unterschied. An P12 war der Unterschied im Bereich einer Tendenz ($p = 0,0660$) in Richtung einer längeren Umdrehzeit bei KO-Tieren. Beim Klippenvermeidungstest lagen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede vor. An P4 war der Unterschied im Bereich einer Tendenz ($p = 0,0593$) in Richtung einer längeren Zeit bis zum vollständigen Wegdrehen bei KO-Tieren. KO: *Knock-Out*; WT: Wildtyp.

Insgesamt gab es bei den beiden Verhaltenstest keine signifikanten Unterschiede. Beim Umdrehtest brauchten die Neonaten im Durchschnitt etwa 15 s an P4 und etwa 11 s an P7 mit einem deutlichen Geschwindigkeitssprung an P12, wo sie nur noch etwa 1 s benötigten. An P12 lag eine Tendenz in Richtung einer längeren (etwa 0,5 s) Umdrehzeit bei KO-Tieren vor (Abbildung 21; $p = 0,0660$). Auch an P4 waren KO-Tiere im Durchschnitt langsamer, ohne dass es signifikant war. An P7 waren KO-Tiere etwas schneller, wobei die Varianz bei den WT-Tieren sehr hoch war. Beim Klippenvermeidungstest lag an P4 eine Tendenz in Richtung einer längeren Wegdrehzeit (etwa 10 s) von der Klippe bei KO-Tieren vor (Abbildung 21; $p = 0,0593$). Auch an P7 brauchten KO-Tiere länger, jedoch ohne, dass der Unterschied signifikant war. An P12 waren KO-Tiere dann etwas schneller. Beim Klippenvermeidungstest war ebenfalls eine Verbesserung über das Alter zu beobachten, auch wenn der Unterschied zwischen P7 und P12 nicht so stark wie beim Umdrehtest war.

5.2.2. HNM in NKCC1

Wie auch in den zuvor beschriebenen C57BL/6J-WT Mäusen wurde sich zunächst die HNM-Aktivität quantifiziert:

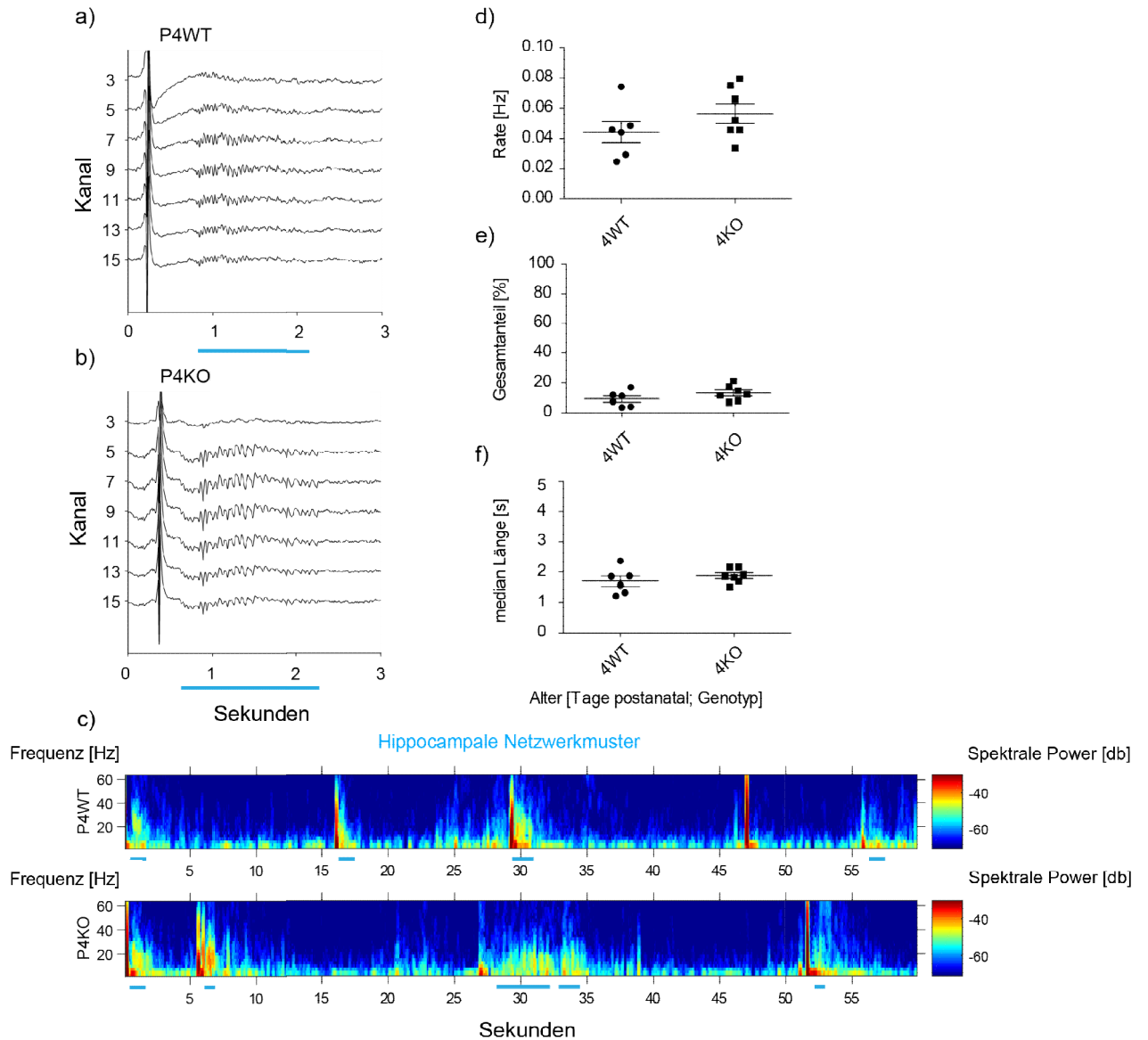
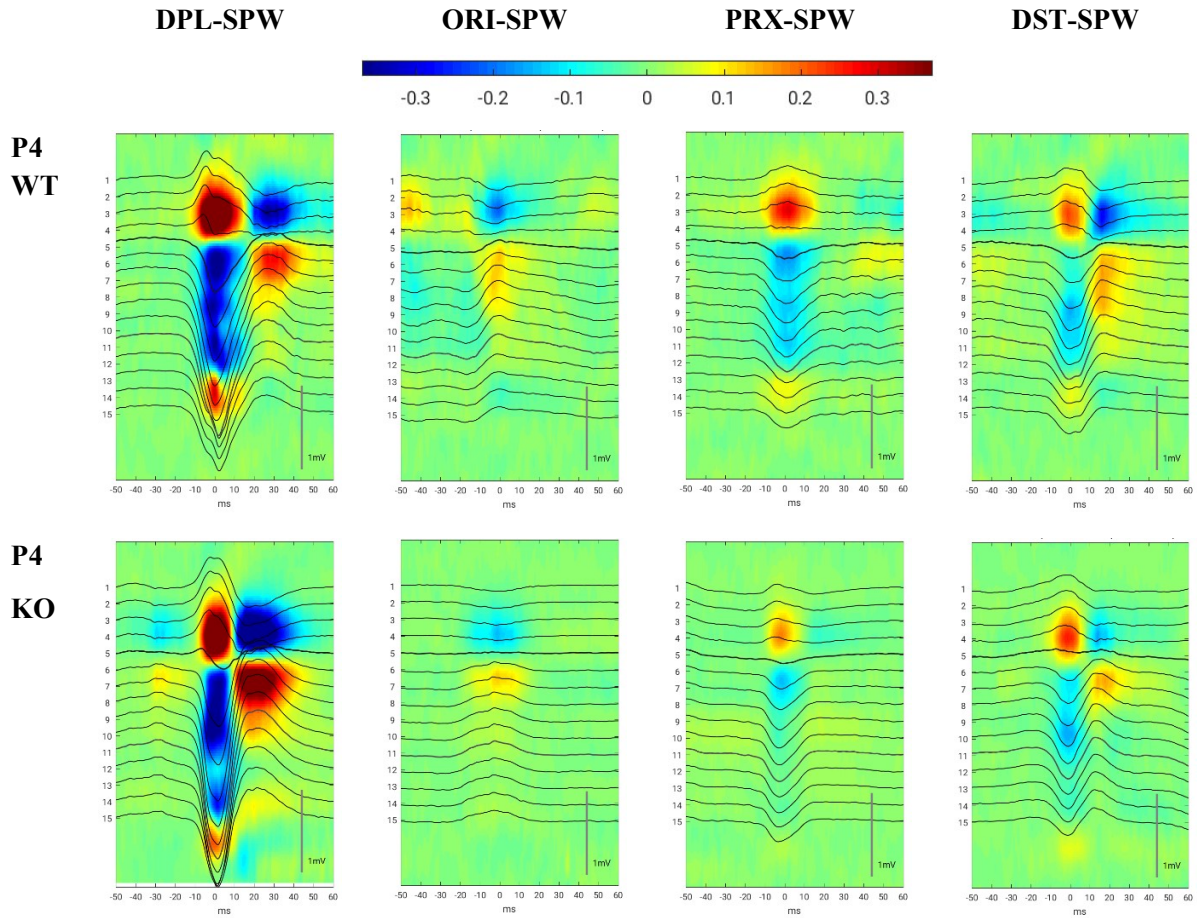


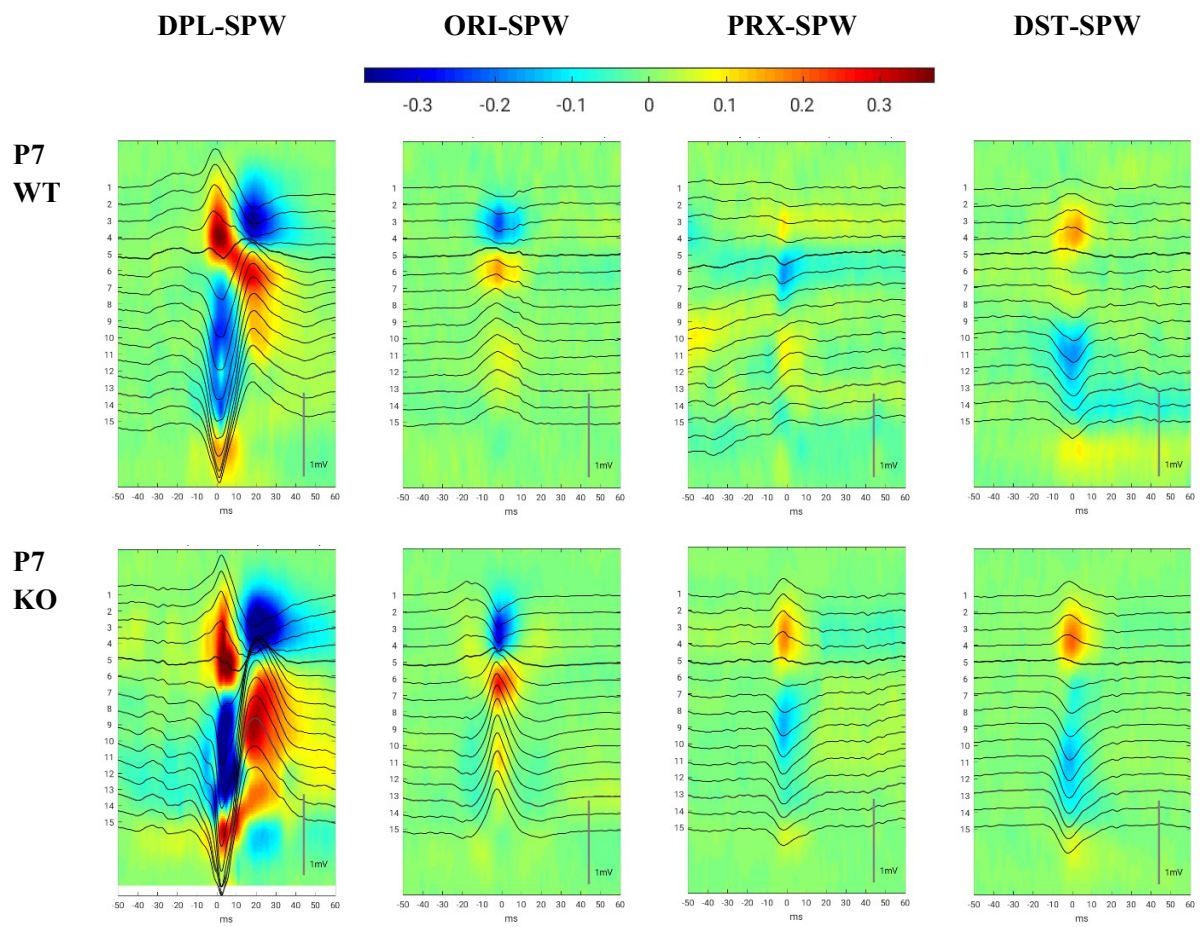
Abbildung 22: HNM in NKCC1

a) Beispielhafter drei Sekunden Ausschnitt aus P4 WT mit einer SPW und eines 2-sekündigen HNM (blaue Linie). b) Beispielhafter drei Sekunden Ausschnitt aus P4 KO mit einer SPW und eines 2,2-sekündigen HNM (blaue Linie). c) Beispielhaftes 60-Sekunden Spektrogramm jener Kanäle mit der höchsten Aktivität in a) und b). Frequenzbereich ist 0 – 60 Hz. HNM sind mit blauen Linien markiert. Beispiel aus a) und b) sind jeweils die ersten HNM. d) Vergleich der Rate [HNM/s, Hz] des Auftretens von HNM, keine Signifikanz (WT: $0,044 \text{ Hz} \pm 0,007$; KO: $0,057 \text{ Hz} \pm 0,006$). e) Vergleich des Anteils an HNM an der gesamten Aufnahme, keine Signifikanz (WT: $9,2 \% \pm 2,1$; KO: $13,2 \% \pm 2$). f) Vergleich der medianen Länge der HNM, keine Signifikanz (WT: $1,71 \text{ s} \pm 0,17$; KO: $1,88 \text{ s} \pm 0,24$). Alle Vergleiche sind ungepaarte t-Test mit Standfehler des Durchschnitts. WT: $n = 6$; KO: $n = 7$.

Im Vergleich der HNM zwischen NKCC1-WT und KO konnte kein Unterschied in den untersuchten Parametern festgestellt werden. In beiden Genotypen traten HNM gleich häufig (WT: $0,044 \text{ Hz} \pm 0,007$; KO: $0,057 \text{ Hz} \pm 0,006$; Abbildung 22d) und zu gleichen Anteilen (WT: $9,2 \% \pm 2,1$; KO: $13,2 \% \pm 2$; Abbildung 22e) auf. Auch in der Länge der untersuchten HNM gab es keinen Unterschied (WT: $1,71 \text{ s} \pm 0,17$; KO: $1,88 \text{ s} \pm 0,24$) Abbildung 22f).

5.2.3. SPW-Entwicklung in NKCC1





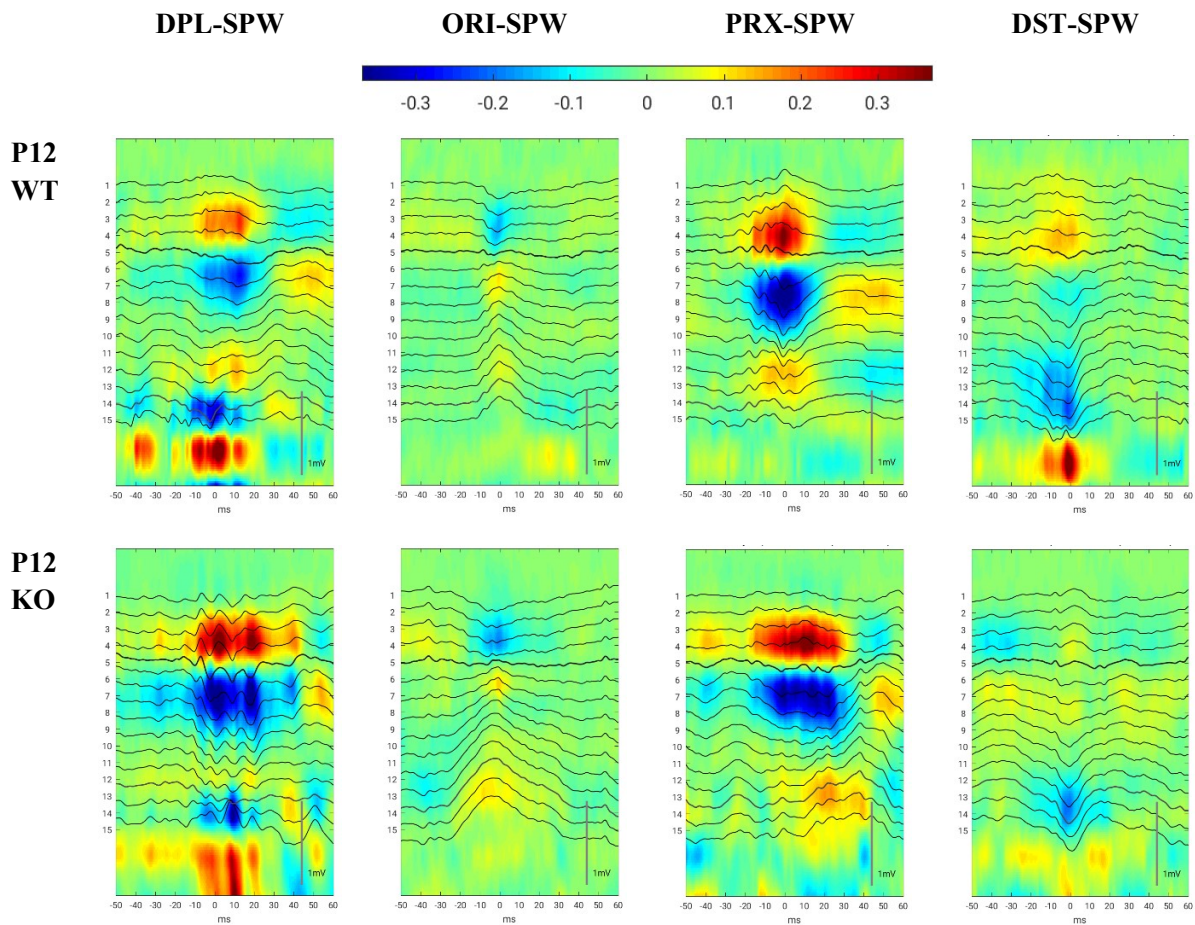


Abbildung 23 (vorherige Seite): Schachbrettübersicht über die vier Haupttypen an SPW in NKCC1.

Darstellung der vier SPW-Kategorien (ORI-SPW, PRX-SPW, DST-SPW und DPL-SPW) und ihrer Entwicklung über die verschiedenen Altersstufen in Tieren mit NKCC1-WT und NKCC1-KO. DPL: Doppel; DST: Distal; KO: *Knock-Out*; NKCC1: $\text{Na}^2+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ Cotransporter; ORI: Oriens; PRX: Proximal; SPW: *Sharp Wave*; WT: Wildtyp

An P4 hatten DPL-SPW eine dominante *Sink*-Verteilung über STR und STLM, direkt gefolgt von einer starken ORI-SPW, wie auch in C56BL/6J/WT, welche mit über 15 ms Abstand auch hier oft als eigenständig detektiert wurde. Die primäre *Source* lag bei den DPL-SPW in ORI und bei ORI-SPW in STR. PRX-SPW waren selten an P4 und wie auch schon in den C56BL/6J/WT meistens der starke *Sink* nach einer DPL-SPW innerhalb STR. DST-SPW waren deutlich schwächer und ohne folgende ORI-SPW. An P7 zeigten hier die DPL-SPW eine *Sink*-Verteilung über STR und STLM mit deutlicher Umverteilung nach STLM, direkt gefolgt von einem ORI-SPW welches mit über 15 ms Abstand als wiederum oft als eigenständig detektiert wurde. Die primäre *Source* lag bei DPL-SPW in Oriens und bei ORI-SPW in STR. ORI-SPW waren eher eigenständig mit einer *Source* in STR und STLM. PRX-SPW waren hier selten und schwach, jedoch nicht mehr als regelmäßige Folge von DPL-SPW. DST-SPW traten mit weit voneinander entfernten *Sink-Source* Paaren auf. An P12 waren DPL-SPW selten, während ORI-SPW stärker als an P7 jedoch mit gleicher *Source*-Verteilung waren, vergleichbar mit

umgekehrten PRX-SPW, die PRX-SPW zeigen hier erstmals 100 Hz Ripple (nicht analysiert).

Im Vergleich mit der SPW-Entwicklung im WT zeigte sich nur an P7 ein Unterschied in DPL-SPW. Alle anderen SPW konnten direkt verglichen werden. DPL-SPW bei den untersuchten C56BL/6J/WT waren in ihrem Aufbau eher mit DPL-SPW an P9 vergleichbar, während DPL-SPW an P7 bei den NKCC1-WT und KO eher mit jüngeren Tieren vergleichbar sind. Zwischen P7 C56BL/6J/WT und P7 NKCC1-WT/KO bestand ein Gewichtsunterschied (P7 C56BL/6J/WT: $4,93 \text{ g} \pm 0,19$; P7 NKCC1-WT/KO: $4,37 \text{ g} \pm 0,51$), daher könnten diese visuellen Unterschiede in den DPL-SPW darauf zurückzuführen sein, dass die C56BL/6J/WT-Tiere in Wirklich etwas älter und damit schwerer als die NKCC1-WT/KO-Tiere waren.

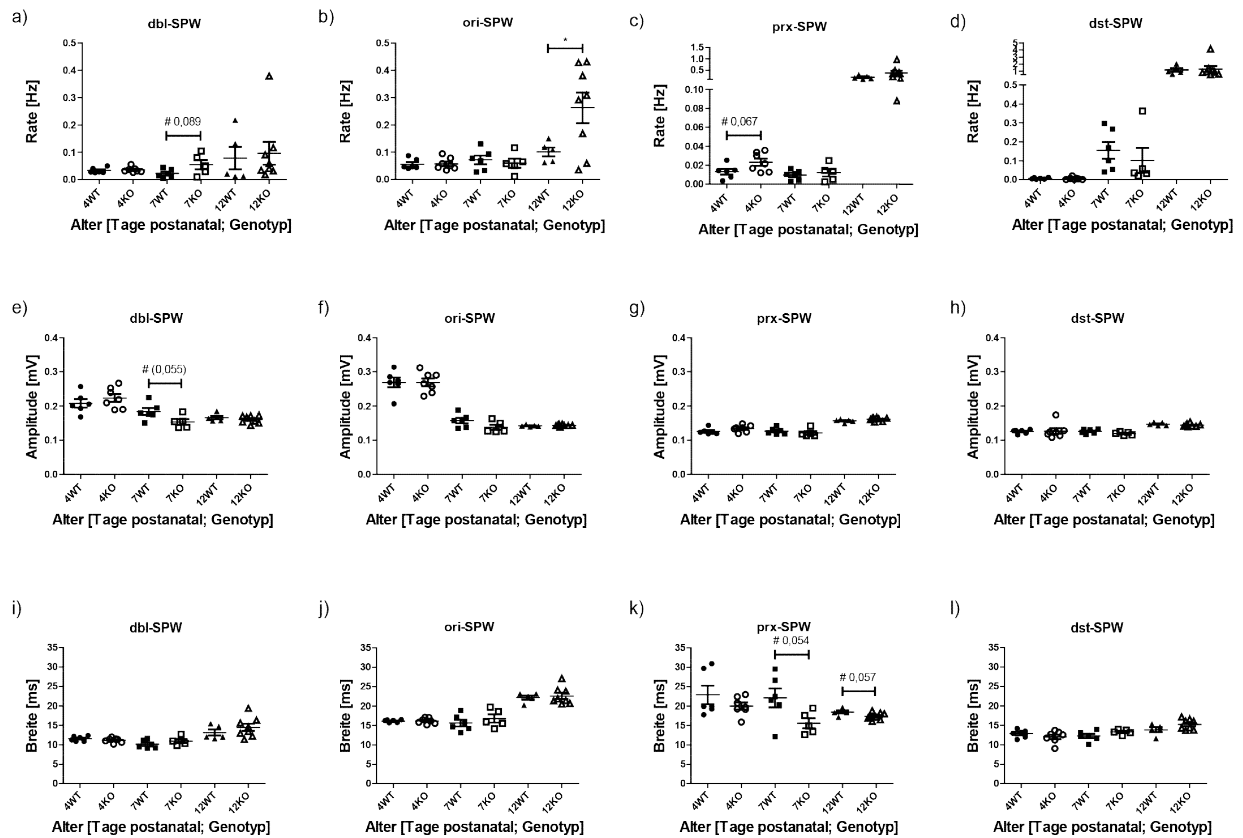


Abbildung 24: Übersicht der NKCC1 SPW-Statistik

Jeweiliger Vergleich der ORI-SPW, PRX-SPW, DST-SPW und DPL-SPW. Statistischer Vergleich der Genotypen ist ein ungepaarter t-Test für jeweils individuell für die drei Altersstufen P4, P7 und P12. $p < 0,5 = *$; $P > 0,5 \text{ \& } < 0,1 = \#$ (Trend; p-Wert in Klammern). a – d) Vergleich der Rate der verschiedenen SPW (Ereignisse/s, Hz). Einzige Signifikanz ist eine erhöhte Rate an ORI-SPW an P12 für KO (P12 WT: $0,101 \text{ Hz} [\pm 0,017]$; P12 KO: $0,263 \text{ Hz} [\pm 0,057]$). Trend (#) im Vergleich der DPL-SPW-Rate an P7 (höhere Rate im KO) und der PRX-SPW-Rate and P4 (höhere Rate im KO). e – h) Vergleich der Amplitude im CSD (mV/mm²). Keine Signifikanzen zwischen den Genotypen. Trend (#) für DPL-SPW an P7 (niedrigere Amplitude im KO). i – l) Vergleich der Dauer (bei halber Amplitude im CSD). Keine Signifikanzen zwischen den Genotypen. Trend (#) für PRX-SPW an P7 und P12 (schmalere Ereignisse im KO).

Im Vergleich der 3 untersuchten Parameter: Rate (Ereignisse/s, Hz) wurde in einem Fall ein signifikanter Unterschied innerhalb einer Altersstufe festgestellt. Nur an P12 war die ORI-SPW-Rate signifikant im KO erhöht (Abbildung 24b). Gleichzeitig ergab der F-Test hier eine signifikant erhöhte Varianz zwischen den beiden Genotypen ($p = 0,014$).

Es wurde zusätzlich untersucht ob sich der Anteil eines Typs SPW an der Gesamtheit an Ereignisse pro Genotyp und Alter verändert hat (vgl. Abbildung 12).

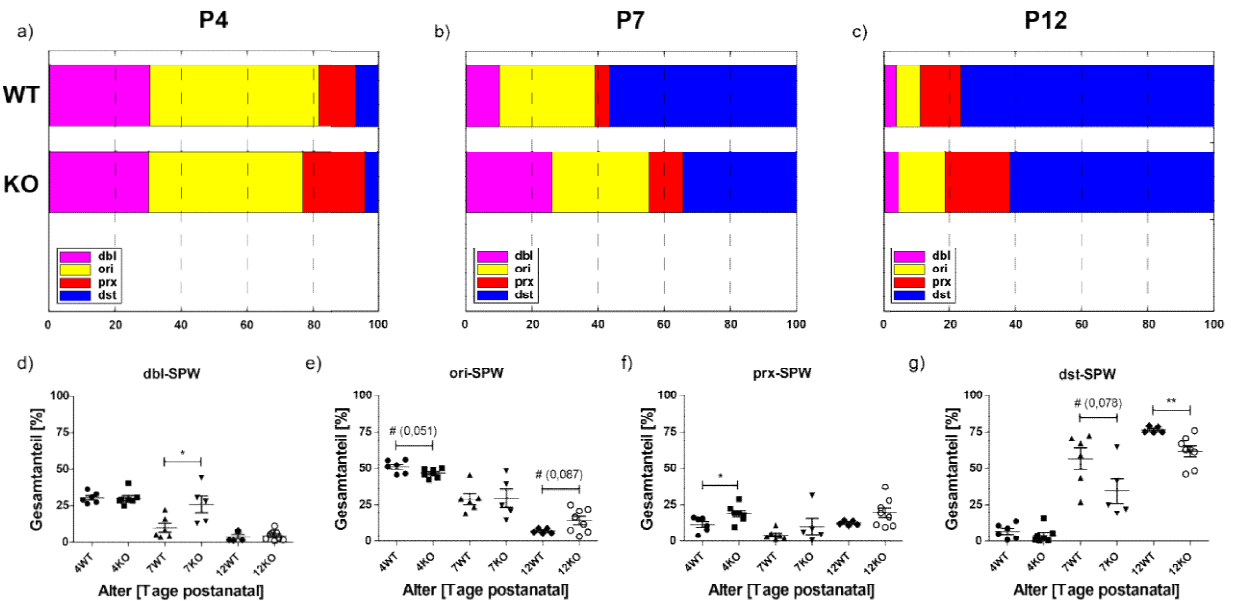


Abbildung 25: Übersicht der SPW-Kategorie Anteile pro Altersstufe und Genotyp in NKCC1

(a – c) Gestapelte Balkendiagramm-Übersicht des Anteils an DPL-/ (Magenta) ORI-/ (Gelb) PRX-/ (Rot) und DST- (Blau) SPW. Für eine genaue Übersicht der Statistik siehe Tabelle 46 (Anhang). Signifikante Unterschiede bei DPL-SPW an P7 (WT: 9,99 % $\pm$ 3,06; KO: 25,99 % $\pm$ 5,77; *). Bei PRX-SPW an P4 (WT: 11,45 % $\pm$ 1,95; KO: 18,99 % $\pm$ 2,24; *) und bei DST-SPW an P12 (WT: 76,47 % $\pm$ 0,95; KO: 61,76 % $\pm$ 3,6; **), diese Vergleiche wurden in orange hinterlegt. Vergleiche mit einem p-Wert zwischen 0,05 und 0,1 wurden als Trends (#) markiert. Diese ergaben sich für ORI-SPW an P4 (WT: 51,16 % $\pm$ 1,81; KO: 46,67 $\pm$ 1,1) und P12 (WT: 7,16 % $\pm$ 0,79; KO: 14,12 % $\pm$ 2,83), sowie bei DST-SPW an P7 (WT: 56,64 % $\pm$ 7,3; KO: 34,4 % $\pm$ 8,47) und wurden blau hinterlegt. Direkte Vergleiche der Werte pro Altersstufe mittels ungepaarten t-Test. $p < 0,01 = **$; $p < 0,05 = *$; $p > 0,05$ & $p < 0,1 = \#$.

In der jüngsten Altersgruppe P4 gab es bei DPL-SPW und DST-SPW keine Veränderung (Abbildung 25d, g). PRX-SPW waren signifikant (WT: 11,45 % $\pm$ 1,95; KO: 18,99 % $\pm$ 2,24) im KO erhöht (Abbildung 25f), während es bei ORI-SPW einen Trend zu weniger Ereignissen gab (Abbildung 25e). An P7 gab es eine signifikante Erhöhung des Anteils an DPL-SPW im KO (WT: 9,99 % $\pm$ 3,06; KO: 25,99 % $\pm$ 5,77, Abbildung 25d) bei einem gleichzeitigen Trend zu einem geringeren Anteil an DST-SPW im KO (Abbildung 25g), ohne Veränderung des Anteils an PRX-SPW (Abbildung 25f). Bedingt durch die Definition von DPL-SPW entspricht dies einer relativen Erhöhung an PRX-SPW im KO durch den tendenziell niedrigeren Anteil an DST-SPW. In der ältesten Altersgruppe P12 gab es einen signifikant niedrigeren Anteil an DST-SPW (WT:

76,47 % [$\pm 0,95$]; KO: 61,76 % [$\pm 3,6$]) im KO (Abbildung 25g) und einen Trend zu mehr ORI-SPW (Abbildung 25e).

5.3. Zeitlinie der kortikalen Netzwerkentwicklung im C56BL/6J/WT und in NKCC1-KO/WT

Zu jeder hippocampalen Aufnahme wurde zeitgleich der V1 aufgenommen. Dies diente zum einen der Verfolgung der Entwicklung der kortikalen Aktivität, zum anderen dem direkten Vergleich der hippocampalen Aktivität, um Volumen-induzierte Aktivitäten auszuschließen.

In Abbildung 26 ist Spontanaktivität in V1 und CA1 des gleichen Tieres zum gleichen Zeitpunkt gezeigt. Während die intrinsische V1 Aktivität sich nicht auf die Aufnahme des CA1 überträgt (Abbildung 26a – c, e, grau gestrichelte Linie linke Seite) ist bei intrinsischer Aktivität im CA1 eine starke Volumenübertragung des Signals in V1 zu sehen (Abbildung 26a – b, d, f, grau gestrichelte Linie rechte Seite).

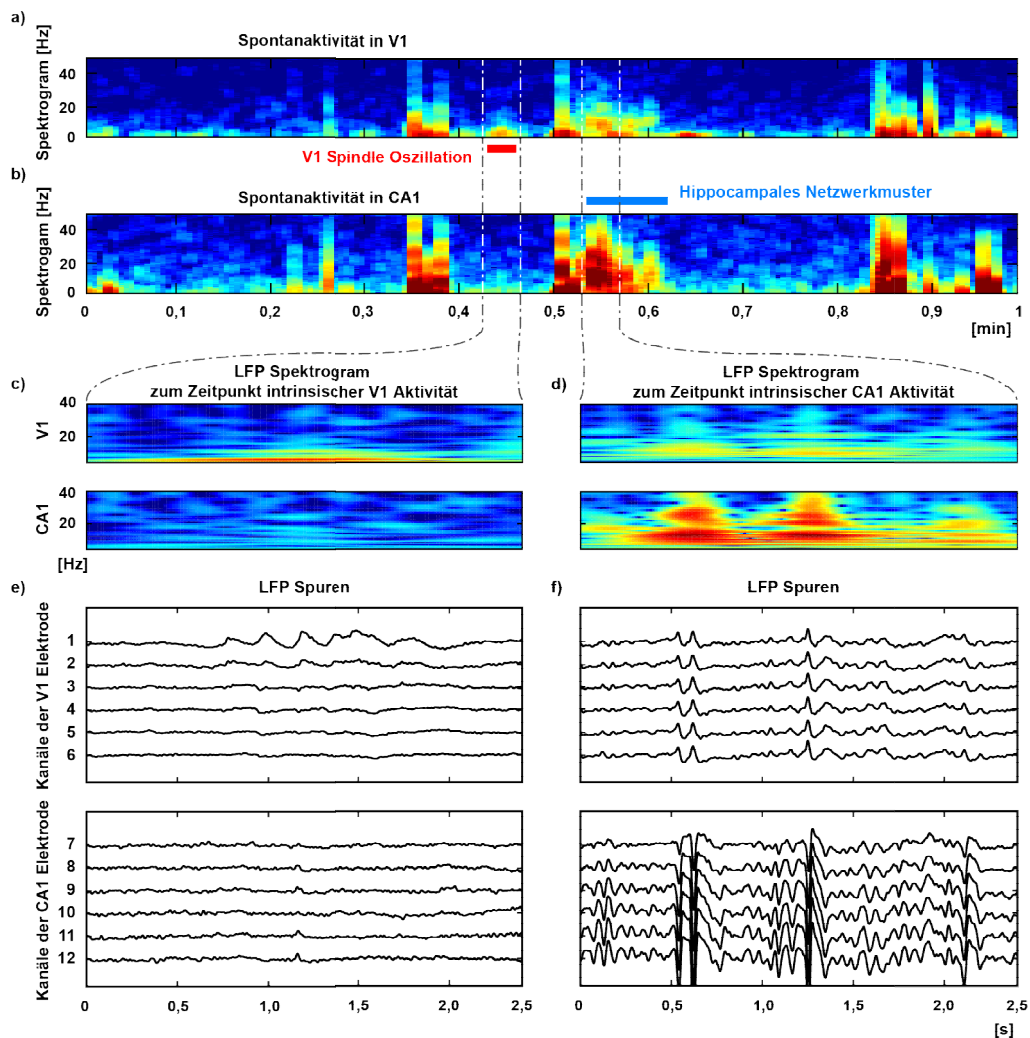


Abbildung 26: V1 und CA1 intrinsische Aktivität im Vergleich.

a) Beispiel Spektrogramm eines einminütigen Ausschnitts aus dem V1 einer P5. Eine *Spindle*-Oszillation ist in rot markiert. b) Beispiel Spektrogramm eines einminütigen Ausschnitts aus der CA1-Region einer P5 zum gleichen Zeitpunkt wie das Spektrogramm in CA1. Ein HNM ist in blau markiert. c) Vergleich eines 2,5-sekündigen Wavelets

des 1-min V1 oder CA1 Spektrogramms zum Zeitpunkt intrinsischer V1-Aktivität (*Spindle*-Oszillation). d) Vergleich eines 2,5-sekündigen Wavelets des 1-min V1 oder CA1 Spektrogramms zum Zeitpunkt intrinsischer CA1-Aktivität (HNM). e) Vergleich der LFP-Spuren aus V1 und CA1 zum Zeitpunkt desselben 2,5 s Ausschnitts wie in c zum Zeitpunkt intrinsischer V1 Aktivität. e) Vergleich der LFP-Spuren aus V1 und CA1 zum Zeitpunkt desselben 2,5 s Ausschnitts wie in d zum Zeitpunkt intrinsischer CA1 Aktivität.

Insgesamt konnten in V1 drei intrinsische Aktivitäten beobachtet werden: (1) 4 – 15 Hz *Spindles*, (2) seltenere 15 – 25 Hz und längere Oszillationen (β , lange Oszillationen), (3) starke, einzelne SPW-artige Ereignisse, die SAT.

5.3.1. V1 *Spindle* & V1 β

Cortikale *Spindles* konnten bis zu einem Alter von P9 beobachtet werden. Innerhalb dieser Alterspanne lag die durchschnittliche Länge bei 5 s an P3 und bei 10 s an P7 (Abbildung 27g). *Spindles* zeichneten sich im Vergleich mit β -Oszillationen vor allem durch ihre stärkere Amplitude, häufigeres Auftreten und häufige Harmonien aus (Abbildung 27a – e). Abbildung 27a zeigt eine typische 6 Hz *Spindle*-Oszillation in einem P5-Tier, welche bei entsprechend 8 und 16 Hz Harmonien zeigt. In Abbildung 26a ist eine deutlich schwächere *Spindle* gezeigt die über keine Harmonien verfügt und sich optisch wenig von der Hintergrundaktivität abhebt.

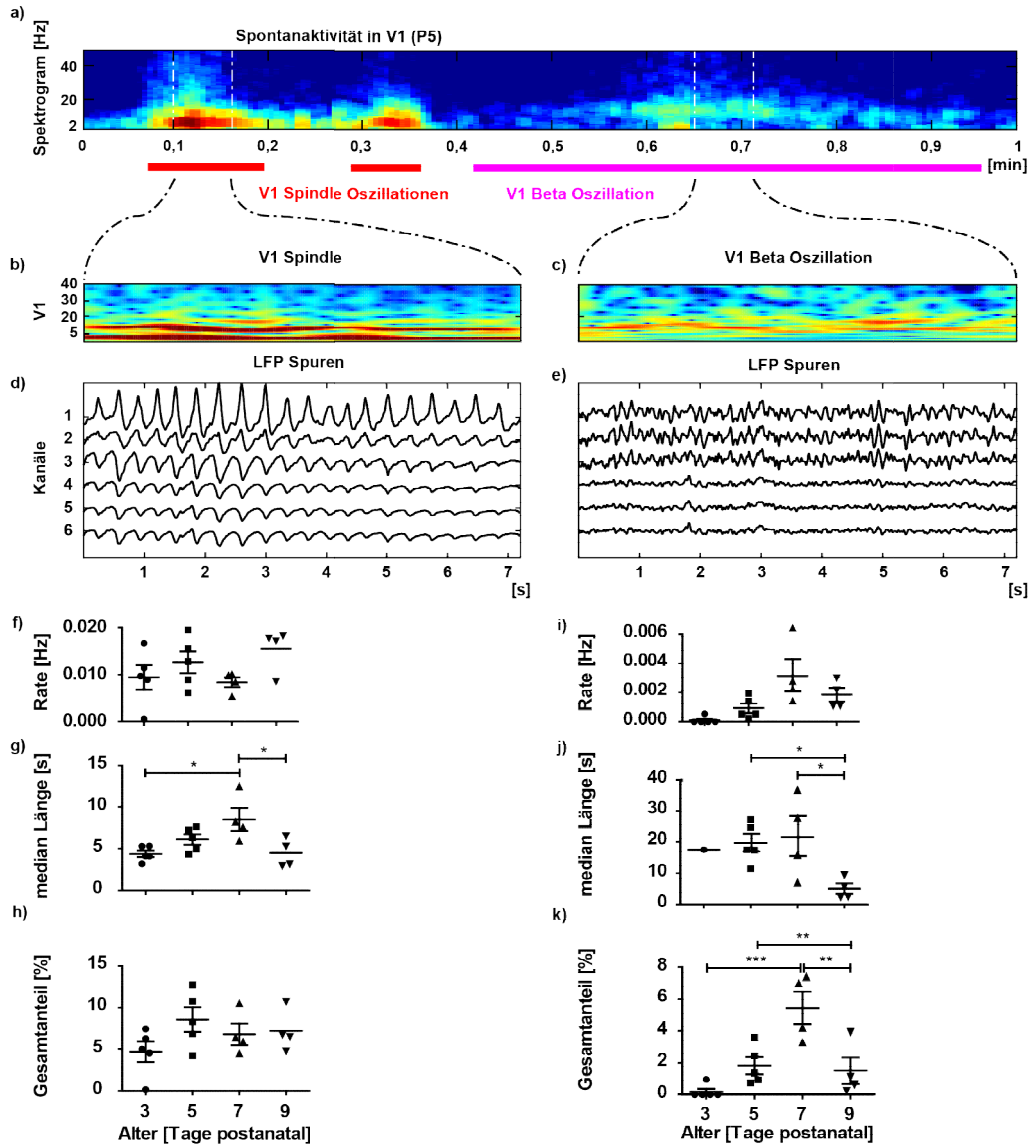


Abbildung 27: Vergleich V1 *Spindle* und V1 β in P3-P9 alten Tieren.

a) Mittels 1 – 70 Hz gefiltertes LFP-Signal eines 1-minütigen Beispielausschnitts (2 – 49 Hz dargestellt) einer P5, welcher sowohl zwei *Spindle*-Oszillationen (rote Markierung) als auch eine lange β -Oszillation (Magenta Markierung) zeigt. b, c) Mittels Wavelet-Transformation (3,25 – 40,75 Hz) erstellte 7-Sekunden Ausschnitte des Signals aus a) für *Spindle*- und β -Oszillationen. *Spindle* zeigen eine Primärfrequenz von 4 Hz mit Harmonien bei 8 und 16 Hz, während β -Oszillationen nur eine Hauptfrequenz zwischen 10 – 20 Hz zeigen. d, e) LFP-Signal des gleichen Ausschnittes wie in b, c). *Spindle*-Oszillationen haben eine deutlich stärkere und markantere Form welche – im Vergleich zu der β -Oszillation, welche weniger harmonisch ist – relativ frei ist. f) Kein Unterschied im Auftreten von *Spindle* Oszillationen über die verschiedenen Altersgruppen. Maximalwert an P9 mit 0,015 Ereignisse/s (0,9 Ereignisse/min). g) Signifikanter Verlängerung der *Spindle*-Oszillationen zwischen P3 und P7 (P3: 4,41 s $\pm$ 0,9; P5: 6,12 s $\pm$ 1,4; P7: 8,51 s $\pm$ 2,78). Zudem signifikant kürzere *Spindle*-Oszillationen zwischen P7 und P9 (4,53 s $\pm$ 1,72). h) *Spindle*-Oszillationen traten am seltensten an P3 auf (4,69 % $\pm$ 2,76) und vergleichbar häufig an P5-P9 (7,52 % $\pm$ 0,76). i) β -Oszillationen waren deutlich seltener mit maximal 0,003 Ereignissen/s $\pm$ 0,002 (0,18 Ereignisse/min) an P7 und nur einem einzigen Ereignis an P3. j) Die Länge der β -Oszillationen lag mit durchschnittlich 19,57 s $\pm$ 6,32 an P5 und 21,66 s $\pm$ 13,08 an P7 über der medianen Länge von *Spindle*-

Oszillationen. An P9 waren β -Oszillationen mit 5,08 s [$\pm 3,36$] signifikant kürzer als an P5 und P7. Das einzelne Ereignis an P3 war 17,45 s lang. k) Anteil an β -Oszillationen an der Gesamtaufnahmelänge (P3: 0,19 % [$\pm 0,19$]; P5: 1,83 % [$\pm 1,2$]; P7: 5,45 % [$\pm 2,02$]; P9: 1,51 % [$\pm 1,68$]). P7 ist im Vergleich zu allen anderen Altersgruppen signifikant erhöht. Alle Signifikanztests wurden mittels 1-Way ANOVA und Tukeys-Post-Hoc Test berechnet durchgeführt. $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$.

Zusätzlich zu Spindeln konnten in V1 noch über 30 s lange, Oszillationen beobachtet werden (Abbildung 27a, c, e). Diese Oszillationen hatten eine Frequenz von 15 – 20 Hz (β -Frequenzbereich) und traten primär in P7-Tieren und nur ein einziges Mal in P3 und seltener in P5 und P9-Tieren auf (Abbildung 27k). Die Frequenz änderte sich hierbei nicht. Auffallend war, dass β -Oszillationen an P5 und P7 signifikant länger als an P9 waren. Im direkten Vergleich zu *Spindle*-Oszillationen konnten in β -Oszillationen keine Harmonien im Powerspektrum beobachtet werden.

5.3.2. V1 SAT

Neben V1-*Spindle* und V1- β -Oszillationen konnten noch einzelne langsame Ereignisse beobachtet werden. Diese waren durchschnittlich 0,6 s lang und hatten entweder einen starken, mehrere Kanäle spannenden positiven Anteil (SAT (Typ 1), Abbildung 28a) oder waren lokal begrenzt und ohne, oder sehr geringen positiven Anteil (SAT (Typ 2), Abbildung 28b). Während SAT (Typ 2) gleichhäufig über alle untersuchten Altersgruppen auftraten (Abbildung 28d), gab es P9-Tiere in denen SAT (Typ 1) häufiger auftraten, jedoch auch ein Tier ohne detektierbare SAT (Typ 2) (Abbildung 28c).

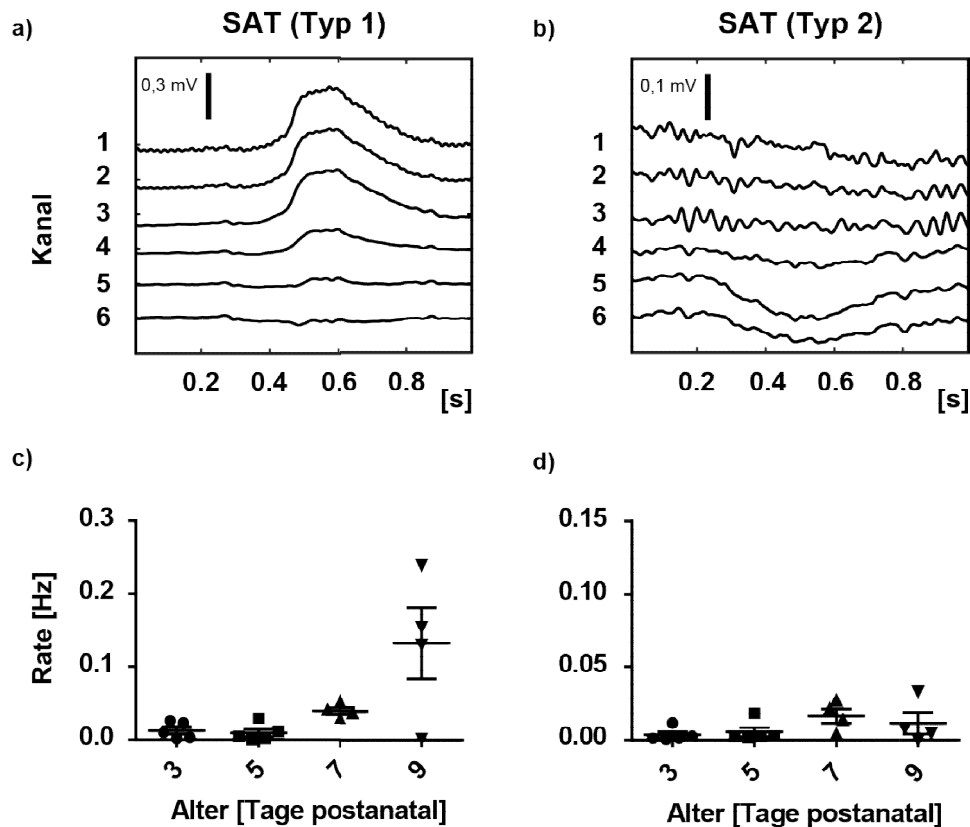


Abbildung 28: Übersicht des Auftretens von langsamen Transienten (*Slow-Activity-Transients*, SAT)

a) Beispiel eines SAT (Typ 1) mit primär positivem Ausschlag im LFP. b) Beispiel eines SAT (Typ 2) mit primär negativem Ausschlag im LFP. c) Rate in Ereignisse/s (Hz) des Auftretens von SAT (Typ 1). Nicht signifikanter Anstieg über P7 bis P9 auf maximal 0,13 Ereignisse/s [$\pm 0,1$] (7,8 Ereignisse/min). d) Seltenes aber konstantes Auftreten von SAT (Typ 2) Ereignissen. Häufigstes Auftreten an P7 mit 0,016 Ereignisse/s [$\pm 0,01$] (0,96 Ereignisse / min).

5.3.3. Entwicklung der kortikalen Netzwerkaktivität in *NKCC1-KO*

Auch in den *NKCC1*-Mutanten wurde die kortikale Aktivität in den P4-Tieren untersucht. Wie schon in den P3-WT-Tieren traten β -Oszillationen nur sehr selten auf. Nur in zwei Tieren, je einem WT und einem KO konnten β -Oszillationen beobachtet werden. β -Oszillationen wurden entsprechend nicht weiter untersucht.

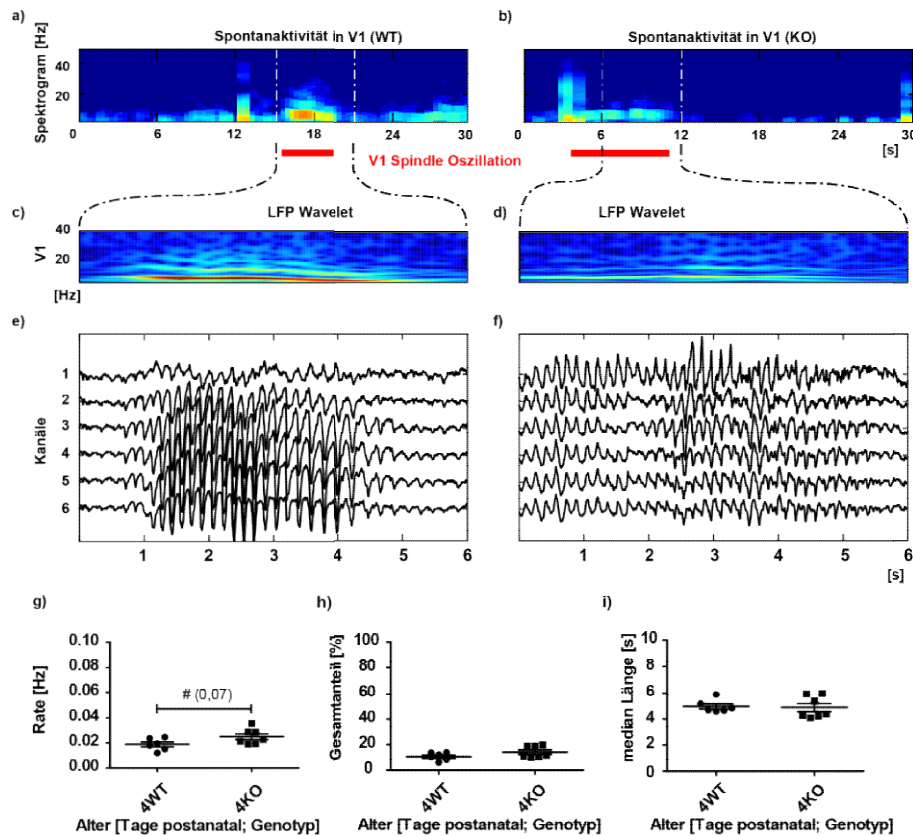


Abbildung 29: Vergleich der Spontanaktivität in V1 in P4 NKCC1

a) Spektrogramm eines 30 s Beispielausschnitts mit einer *Spindle*-Oszillation (rote Markierung) in einem NKCC1-WT. b) Spektrogramm eines 30 s Beispielausschnitts mit einer *Spindle*-Oszillation (rote Markierung) in einer NKCC1-KO. c) Vergrößertes 6 s Wavelet der NKCC1-WT *Spindle*-Oszillation (a) d) Vergrößertes 6 s Wavelet der NKCC1-KO *Spindle*-Oszillation (b). e, f) Korrespondierende LFP Linien Diagramm der jeweiligen Beispiele a – d. g) Vergleich des Auftretens an *Spindle*-Oszillationen in NKCC1-WT und KO (Ereignisse / s; Hz), Trend ($P = 0,07$) NKCC1-WT ($0,019 \pm 0,002$), NKCC1-KO ($0,025 \pm 0,002$) t-Test. h) Vergleich des Gesamtanteils von *Spindle*-Oszillation an der gesamten Aufnahmelänge in NKCC1-WT und KO. Keine Signifikante Änderung i) Vergleich der medianen Länge der *Spindle*-Oszillationen in NKCC1-WT und KO. Keine Signifikante Änderung

Kortikale *Spindle*-Oszillationen waren in allen untersuchten Charakteristika vergleichbar zwischen WT und KO. Einzig in der Rate des Auftretens zeichnete sich eine Tendenz ($p = 0,07$) zu häufigeren *Spindle*-Oszillationen im KO ab.

6. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die frühe Netzwerkentwicklung innerhalb des Hippocampus (CA1-Region), sowie einer kortikalen Region (V1) der Maus über die ersten zwei Lebenswochen (P3 – P14) zu beschreiben und somit eine Referenz für zukünftige Experimente zu erstellen.

Die in dieser Arbeit untersuchte CA1-Region besteht grundsätzlich aus den folgenden Subregionen (von dorsal nach ventral entsprechend der implantierten linearen Siliziumelektroden): STO, STP, STR und STLM. Weiter ventral folgen noch die HF und die beiden Schwerter des DG.

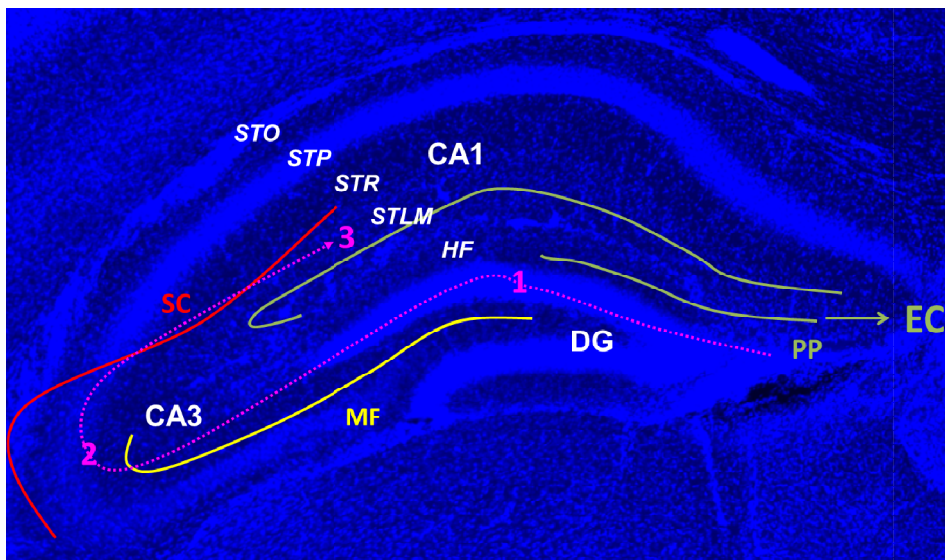


Abbildung 30 (Kopie der Abbildung 1): DAPI gefärbter Hirnschnitt einer P12 Maus (C57/B6) mit überlagerter schematischer Darstellung des DSK.

CA: Cornu Ammonis; EC: Entorhinaler Cortex; DG: Dentate Gyrus (Gyrus Dentatus); HF: Hippocampale Fissur; MF: Moosfasern; PP: Perforant Path (Tractus Perforans); SC: Schaffer Collateralen; STLM: Stratum Lacunosum Molekulare; STO: Stratum Oriens; STP: Stratum Pyramidale; STR: Stratum Radiatum; Schematische Darstellung des DSK (pink) mit den beteiligten Bereichen der Synapsen (1 – 3). Beteiligte Leiterbahnen: PP (grün); MF (gelb); SC (rot)

6.1. Hippokampale Netzwerkmuster (HNM) im β -Frequenzbereich zeigten sich bereits ab P3 und verändern sich progressiv mit dem Alter.

Als erstes Ereignis in der Netzwerkentwicklung wurde eine Oszillatorische Aktivität beobachtet, diese Oszillationen wurden im Rahmen dieser Arbeit als HNM bezeichnet. Diese HNM traten in allen untersuchten Altersstufen auf und zeigten sich somit bereits an P3. Die Frequenz, Rate und Länge veränderten sich progressiv mit dem Alter. Vor P7 zeigten die HNM den schmalsten Frequenzbereich mit 10 – 15 Hz (hohe α -Oszillationen bis zu niedrigen β -Oszillationen). Dieser Frequenzbereich weitete sich mit dem Alter aus, bis dieser mit P12 – P14 keinen klaren Frequenzhöhepunkt mehr zeigte. In Ratten konnte ab P6 ein so genannter

“ γ -Schwanz” von 60 – 100 Hz, vorwiegend nach SPW gezeigt werden (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). In den hier aufgenommen Mäusen zeigte sich im gleichen Alter eine Frequenz im β -Bereich von 10 – 40 Hz, welches sich möglicherweise mit Speziesunterschieden erklären lässt.

Im Gegensatz zur Literatur konnten bei den hier vorliegenden Experimente keine klaren θ -Oszillationen beobachtet werden, dies hängt vielleicht mit der Art der Aufnahme zusammen die keine natürliche Bewegung zulässt und auch weitestgehend den normalen Schlaf verhindert (Seelke and Blumberg 2008; Mohns and Blumberg 2008; Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). In Aufnahme ohne Kopffixierung konnten bis zu einem Alter von P2 θ -Perioden in REM-artigem Schlaf beobachtet werden (K. A. Karlsson and Blumberg 2003). Klare θ -Oszillationen traten erst ab einem Alter von P10 mit einem graduellen Anstieg in der Frequenz und Amplitude bis zu einem Alter von P23 auf (Leblanc and Bland 1979).

Es lassen sich in dieser Arbeit drei Altersgruppen in der Verteilung von HNM zeigen, zum einen P3 – P5; P7 – P9 und P12 – P14. Diese Sprünge reflektieren möglicherweise Entwicklungssprünge in der Maus, wie sie auch beim Menschen zu finden sind (National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities 2023). Im Allgemeinen entspricht die in dieser Arbeit untersuchte Altersspanne der Mäuse von P3 bis P14 in etwa der menschlichen Entwicklung vom Ende zweites Trimenon (ca. P3) über das Neugeborene (ca. P10/11) zum Beginn des Jugendlichen (P14, Ende „Kind“) (Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV) 2023; Delage et al. 2021; Charvet, Clancy, and Finlay 2024). Mäuse sind vor allem in der frühen Entwicklung des ZNS in wesentlichen Aspekten vergleichbar mit dem Menschen. So findet der Hauptteil der Neurogenese vor der Geburt statt und endet weitestgehend mit der Geburt, wobei bei der Maus noch bis P15 noch eine gewisse Neurogenese zu beobachten ist. Dies ist vorteilhaft zu sehen, da hierdurch in der Maus postnatal Vorgänge untersucht werden können, die beim Menschen pränatal auftreten. Die primäre Synaptogenese findet in beiden Spezies in der Zeit nach der Geburt statt und das synaptische Pruning findet zu einem späteren Zeitpunkt (in der Maus ab P15) statt, der nicht durch die hier in dieser Arbeit untersuchte Altersspanne abgebildet wird (Chini, Pfeffer, and Hanganu-Opatz 2022). Unterschiede zwischen den beiden Spezies liegen im Höhepunkt des programmierten Zelltods, welcher bei der Maus um die Geburt herum stattfindet, beim Menschen primär pränatal. Zudem unterscheidet sich die Myelinisierung, die beim Menschen bereits früh pränatal einsetzt und sich mit einem Höhepunkt um das erste Lebensjahr herum bis zum 30. Lebensjahr fortsetzt, während diese bei der Maus etwa ab P10 einsetzt und daher in dieser Arbeit durch die beiden Altersgruppen P12 und P14 abgebildet wird (Chini, Pfeffer, and Hanganu-Opatz 2022). Außerdem findet das primäre Größenwachstum des Gehirns beim Menschen pränatal statt, bei der Maus zwischen etwa P9 und P12 (Zeiss 2021). Während sich Tiere im Alter von P3 – P5 nicht frei bewegen und sich ausschließlich im Nest aufhalten, beginnen Mäuse ab P7 sich aktiv im Nest zu bewegen. Mäuse ab P12 zeigen bereits reiferes Verhalten und begeben sich außerhalb des Nestes, zudem ist ab P12 die Körperbehaarung deutlich ausgeprägt, während P7 noch keine Haare zeigen. Die Unterschiede in Frequenz, Häufigkeit und Länge der HNM korrelieren nicht nur mit dem Alter, sondern auch mit dem

Körpergewicht. So sind die für diese Arbeit aufgenommen P9-Tiere vom Gewicht her vergleichbar mit den ebenfalls für diese Arbeit aufgenommen P7-Tiere – auch die HNM sind vergleichbar.

Diese deutliche Veränderung in der Netzwerkaktivität geht mit der *in vitro* dokumentierten und kontrovers diskutierten Veränderung in der GABA-Aktivität einher (Ben-Ari et al. 1989; Roman Tyzio et al. 2007; Khalilov et al. 2015; Kirmse et al. 2015; Valeeva et al. 2016). Unabhängig von der tatsächlichen Natur des GABA-Effektes lassen sich die beobachteten Unterschiede womöglich mit der Entwicklung des zugrunde liegenden GABAergen Interneuron-Netzwerks erklären (Allene et al. 2012). Wenn die tangential Invasion der Interneuronen im Kortex vollständig ist und somit fertige Pyramidenzell-Interneuron-Komplexe vorhanden sind, hängt die folgende Feinabstimmung stark von der fortlaufenden Aktivität in sowohl den Pyramidenzellen als auch den Interneuronen ab (Allene et al. 2012; Anastasiades et al. 2016; Duan et al. 2020). Weitere Studien haben gezeigt, dass sich die hippocampalen Schaltkreise sequentiell entwickeln, so entstehen GABAerge Synapsen vor Glutamatergen Synapsen und Interneuronen reifen vor Pyramidenzellen (R Tyzio et al. 1999; Hennou et al. 2002). Eine ähnliche Gruppierung von Entwicklungsschritten (P3 – P5; P7 – P9 und P12 – P14) wie sie auch in dieser Arbeit beobachtet wurden, wurde auch im Barrel-Cortex beschrieben, Nakazawa *et al.* beschreibt hier drei Phasen: Phase I mit einer spontanen „Flickwerk“ Aktivität um das Alter P5 – P7, dann die Phase II zwischen P7 – P9 zu welchem Zeitpunkt die Formierung des Barrel-Cortex vollständig ist und eine synchronisierte Aktivität herrscht. Und final die Phase III die um P11 herum auftritt wenn die L4-Neuronenaktivität de-synchronisiert ist und eine spärliche Aktivität herrscht (Nakazawa et al. 2020). Dies spricht für strukturübergreifende grundsätzliche Entwicklungsstufen der Maus und sollte bei der Planung von elektrophysiologischen Mausexperimenten berücksichtigt werden.

6.2.SPW: Frühe SPW lassen sich in klar voneinander abgrenzbaren unterschiedlichen Kategorien einordnen mit jeweils charakteristischen Eingangs- („Sink“) und Ausgangs- („Source“) Signalen.

6.2.1. Herausforderungen bei der automatischen Detektion von SPW über eine große Alterspanne (P3 – P14).

Neben der Oszillatorischen Aktivität wurden im Rahmen dieser Arbeit das Auftreten und die Komposition von SPW analysiert. Mit Hilfe eines aus dem LFP-Signal gewonnen CSD wurden beim Auftreten einer SPW die unterschiedlichen Eingangssignale (*Sinks*) auf den einzelnen Kanälen zunächst einer anatomischen Schicht zugeordnet (siehe Abschnitt 4.6.1 und die idealisierte Zuordnung in Tabelle 20). SPW die ihren Peak (stärkster *Sink*) im STP oder STR hatten, wurden zu PRX-SPW zusammengefasst. SPW die ihren Peak in den Schichten STLM oder der HF hatten, wurden zu DST-SPW zusammengefasst, während SPW mit einem Peak im

STO die ORI-SPW-Kategorie bildeten. Traten zwei zeitgleiche *Sinks* sowohl im STR (oder STP) als auch im STLM (oder HF) auf bildete dies die DPL-SPW-Kategorie.

Bei den SPW handelt es sich um komplexe Ereignisse mit oft mehreren definierten *Sinks* innerhalb einer SPW. Auf einem Kanal mussten zwischen zwei *Sinks* mindestens ein Abstand von 30 ms sein, zusätzlich wurde getestet ob sich innerhalb von 15 ms auf einem anderen Kanal ein weiterer *Sink* befand, wenn ja wurde die beiden SPW zu einer Gruppe zusammengefasst. Beispiele aus einzelnen Experimenten werden in Abbildung 8 gezeigt. An den Beispielen zeigt sich ein grundsätzliches Problem der hier verwendeten Detektionsmethode. Die Methode zielt auf einen größtmögliche Vermeidung von Bias ab und setzt auf möglichst gleiche Parameter in allen Altersgruppen (Tripepi et al. 2010).

Dennoch wurde zur Vermeidung einer Überdetektion, vor allem in den älteren Tieren, für die Altersgruppen P3 – P9 ein Grenzwert für die Detektion von 0,1 mV (Grundwert) verwendet, für P12 ein Wert von 0,12 mV und für P14 ein Wert von 0,15 mV. In der Altersgruppe P3 zeigte sich jedoch die Limitation dieser Art der Detektion. Charakteristisch für dieses Alter waren komplexe SPW mit mehreren *Sinks* die innerhalb von bis zu 30 ms auftraten, einer hohen Amplitude und sehr stark ausgeprägten *Sources* und *Sinks*. Allen diesen SPW war eine ausgeprägte *Source* im STO und ein weitläufiger, viele Kanäle umfassender *Sink* im Bereich des STR, STLM und teilweise DG gemeinsam. Etwa 10 ms später folgte eine Umkehr der *Source* und *Sink* mit einem zunächst lokal begrenzten *Sink* im STO und dann bis zu 40 ms nach dem ersten initialen Ausschlag ein weitläufiger *Sink* ebenfalls im STO. Die Beispiele für P3/P5 (Abbildung 8, Abbildung 9, Abbildung 10 und Abbildung 11) zeigen, dass es hierbei bei automatischer Klassifikation zu einer häufigen Fehlkategorisierung der ORI-SPW gekommen ist. Wenn der langgezogene *Sink* im STO mehr als 15 ms vom vorherigen *Sink* entfernt war wurde dieser als eigenständige SPW detektiert. Gleiches wurde auch für PRX-SPW an P3/P5 (deutlicher in P5) beobachtet. Durch den starken *Sink* in STO kam es zu einer erneuten Umkehr etwa 30 ms nach dem Abklingen der ORI-SPW bzw. Ende der DPL-SPW. Frühe DST-SPW waren selten, zudem bestand bei diesem SPW-Typ die Herausforderung, dass durch die Definition einer Mindestamplitude des *Sink* für die Kategorisierung es zu Fehldetektionen kam wo der einer, häufig der proximale *Sink* in STR nicht die Mindestamplitude von 0,1 mV (an P3/P5) überschritt und so nur ein *Sink* zur Kategorisierung herangezogen wurde.

Eine Möglichkeit für P3 und P5 die Detektion und Kategorisierung zu verbessern ist es in Abhängigkeit von einem vorherigen Ausschlag die Mindestamplitude für eine Detektion für einige Millisekunden anzuheben um falsch-positive PRX-SPW auszuschließen oder abzusenken, um falsch-negative ORI-SPW oder DST-SPW zu detektieren um damit auch die Detektionsqualität der DPL-SPW zu verbessern. Außerdem wäre es möglich die Detektion für einzelne Altersgruppen, oder sogar individuelle Tiere zu optimieren. Trotz der genannten Unsicherheiten traten an P3 und P5 signifikant mehr DPL-SPW und ORI-SPW im Vergleich zu PRX-SPW und DST-SPW auf, wobei in Zukunft zu klären ist wie viele ORI-SPW in Wirklichkeit der DPL-Kategorie zugeordnet werden müssten. Zudem bleibt offen, wie viele der

an P5 gemessenen Ereignisse, wo der Anteil an DST-SPW am größten war, eigentlich der DPL-Kategorie zugehörig wären. Sowohl an P3 als auch an P5 waren unter 10 % aller PRX-SPW, weshalb deren Fehldetektion jedoch nicht grundlegend ins Gewicht fällt.

6.2.2. Experimente in adulten und neonatalen Ratten geben Aufschluss über die in dieser Arbeit beobachteten Aktivitätsmuster.

Die in dieser Arbeit beobachteten DPL-SPW bei Mäusen ähnelten in ihrer Komposition den physiologischen SPW vor und nach bilateraler Entfernung des EC und den via PP und VHC stimulierten SPW in Erwachsenen (300 – 450 g) Sprague-Dawley Ratten (vgl. Abbildung 8 DPL-SPW [und Ori-SPW] an P3 und P5 und Abbildung 11 c, e, f, g in (Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995)). Der doppelte *Sink* wird in dieser Publikation jedoch nicht diskutiert und nur der tiefere *Sink* als *Output* der SC von CA3 interpretiert, SLM ist in der Abbildung in der Arbeit von Bragin *et al.* nicht gekennzeichnet. Vergleichbarer sind die in einer späteren Arbeit von Kamondi *et al.* und Buzsáki gezeigten θ -Oszillationen in der erwachsenen Ratte, diese zeigten jenen doppelten *Sink* im STR (exzitatorischer Input via SC) und STLM (exzitatorischer Input via PP) wie er im Rahmen dieser Arbeit bei den DPL-SPW in der Maus identifiziert werden konnte. Der *Sink* im STLM verschwand weitestgehend bei bilateraler Entfernung des EC (Kamondi *et al.* 1998; György Buzsáki 2002). In neonatalen Ratten wurden hauptsächlich SPW beobachtet welche den PRX-SPW in dieser Arbeit ab P7 entsprechen mit einer definierten *Source* in STR (vgl. Abbildung 1 in (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007)). Diese SPW erhalten vermutlich ihren *Input* über die SC aus CA3. In der gleichen Publikation wurden in einzelnen Ratten SPW mit einer doppelten Phasenumkehr beobachtet welche in ihrem Aussehen jenen DPL-SPW an P3 – P5 dieser Arbeit ähnelten aber nur zwischen P8 und P11 auftraten (in der Publikation „spontaneous potentiated SPW, spSPW“ genannt) und auch nur in einzelnen Tieren, in diesen Tieren machten diese spSPW jedoch alle detektierten SPW aus (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). Eine genaue Erklärung bleibt die Arbeit von Mohns, Karlsson und Blumberg schuldig, vor allem bleibt es schwierig zu erklären warum die dortigen spSPW nur in bestimmten Tieren, in einem engen Altersfenster, auftraten, in dieser Arbeit jedoch in allen Tieren über alle Altersgruppen beobachtet werden konnten. Mohns *et al.* stellen nur fest, dass im gleichen Alterszeitraum, in dem spSPW in einigen Tieren beobachtet werden konnte, die Krampfanfälligkeit (durch Injektion von Kainsäure) am höchsten ist, die Expression von AMPA (α -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsäure)-Rezeptoren ihren Höhepunkt erreicht und auch andere spezifische Oszillatorische Ereignisse (60 – 100 Hz Schwänze, γ -tails nach einer SPW) und Populations-*Spikes* auftraten (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). Nach Injektion von Kainsäure konnten von Mohns *et al.* interiktal *Spikes* beobachtet werden. Diese interiktal *Spikes* zeigten im CSD-Profil ein vergleichbares Aussehen mit den in dieser Arbeit sporadisch physiologisch auftretenden ORI-SPW. Bei den in dieser Arbeit beobachteten ORI-SPW könnte es sich um funktional ähnliche Ereignisse handeln wie die interiktal *Spikes*, diese *Spikes* in neonatalen Mäusen aufgrund einer möglicherweise schwächer ausgeprägten Inhibition jedoch physiologisch Auftreten.

6.2.3. DPL-SPW: Produkt eines aufbauenden (Bottom-Up) Systems, welches seinen Ursprung in Myoklonien hat?

In einer Publikation von Valeeva *et al.* wurden LFP-Aufnahmen von P2 – P7 alten Wistar-Ratten mit einer ähnlichen Technik (kopffixierte elektrophysiologische Tiefenprofilaufnahmen mittels Siliziumelektroden) aufgenommen wie in der hier vorliegenden Arbeit. Alle physiologisch auftretenden SPW die von Valeeva *et al.* (in der Publikation eSPW genannt) aufgenommen wurden zeigten im Durchschnitt ein CSD-Profil wie die DPL-SPW dieser Arbeit, vor allem an P3 – P5 (Valeeva *et al.* 2019). Valeeva *et al.* beobachten zum einen eine starke Korrelation mit starker Aktivität (*Bursts*) in der L3 des medialen EC (MEC) und einen Zusammenhang mit unwillkürlichen Bewegungen (*Startles*). Der obere *Sink* ist hierbei vermutlich das Resultat der Signalweiterleitung des DSK (MEC L2 → DG → CA3 [+L2 → CA3] → CA1 STR) und der untere *Sink* das Resultat einer Signalweiterleitung des temporoammonischen Signalwegs (MEC L3 → CA1 STLM) (Valeeva *et al.* 2019). In der Arbeit von Valeeva *et al.* wurden ebenfalls mittels bipolarer Wolframelektroden elektrisch an P7 stimuliert. Die Ergebnisse der Stimulation sind hierbei konsistent mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Eine Stimulation der VHC führte an P5 zu einer SPW mit nur einem *Sink* in STR (Vergleichbar mit PRX-SPW) und eine Stimulation des PP an P3 führte zu einer SPW mit 2 *Sinks* in STR und STLM (Vergleichbar mit den DPL-SPW dieser Arbeit) (Valeeva *et al.* 2019). Valeeva *et al.* beschreiben jedoch keine physiologisch vorkommenden PRX-SPW, während in dieser Arbeit PRX-SPW natürlich vorkommen. Dabei wurden PRX-SPW bis zu P7 nur selten detektiert und treten erst ab P9 regelmäßig auf.

Die Tatsache, dass frühe PRX-SPW zuverlässig nur durch eine VHC-Stimulation an P7 erzeugt werden kann stärkt die Vermutung, dass eSPW (Valeeva *et al.*) bzw. die in dieser Arbeit beschriebenen DPL-SPW eine intrahippokampale Koaktivierung benötigen mit *Input* aus dem EC und CA3. Die CA3-Aktivierung wird hierbei ebenfalls durch den EC gesteuert, da eine Aktivierung des EC (simuliert durch eine Stimulation des PP) zu zwei *Sinks* (STR und STLM) führt, während eine Aktivierung von CA3 (simuliert durch eine Stimulation des VHC) zu nur zu einem *Sink* (STR) führt. Das von Valeeva *et al.* vorgeschlagene Modell, welches auch auf die P3 – P7 Daten dieser Arbeit passt, müsste eigentlich zu einem zeitlichen Versatz der *Sinks* in STR und STLM führen. Dieser wurde jedoch weder bei Valeeva *et al.* noch in dieser Arbeit bei den meisten P3, P5 und P7-Tieren nicht detektiert. Eine mögliche Erklärung, die auch von Valeeva *et al.* aufgebracht wird, ist dass dies durch die insgesamt lange Dauer einer SPW in diesem Alter zu erklären ist, so dass beide *Inputs* in einem Ereignis resultieren weshalb inhibitorische Prozesse, oder auch nur ein Schließen aktiver Kanäle, langsamer oder überhaupt nicht stattfindet. Beobachtungen einiger P7 und älterer Tiere (P9 – P14; siehe Abbildung 8) zeigten jedoch genau einen solchen Versatz zwischen den beiden *Sinks*. Der erste *Sink* trat dabei in STLM auf und wurde etwa 10 ms später (noch innerhalb des Detektionsfensters) in STR gemessen, was das vorgeschlagene Modell bestärkt. Valeeva *et al.* stellten zudem fest, dass die eSPW häufig in zeitlichem Zusammenhang mit spontanen, unwillkürlichen Myoklonien (*Twitches* und *Startles*) auftraten, weshalb die Autoren ein aufbauendes (*Bottom-up*) Modell

vorschlagen, welches den Aufbau von DPL-SPW erklären könnte wie sie an P3, P5 und in einem Teil der P7 auftreten:

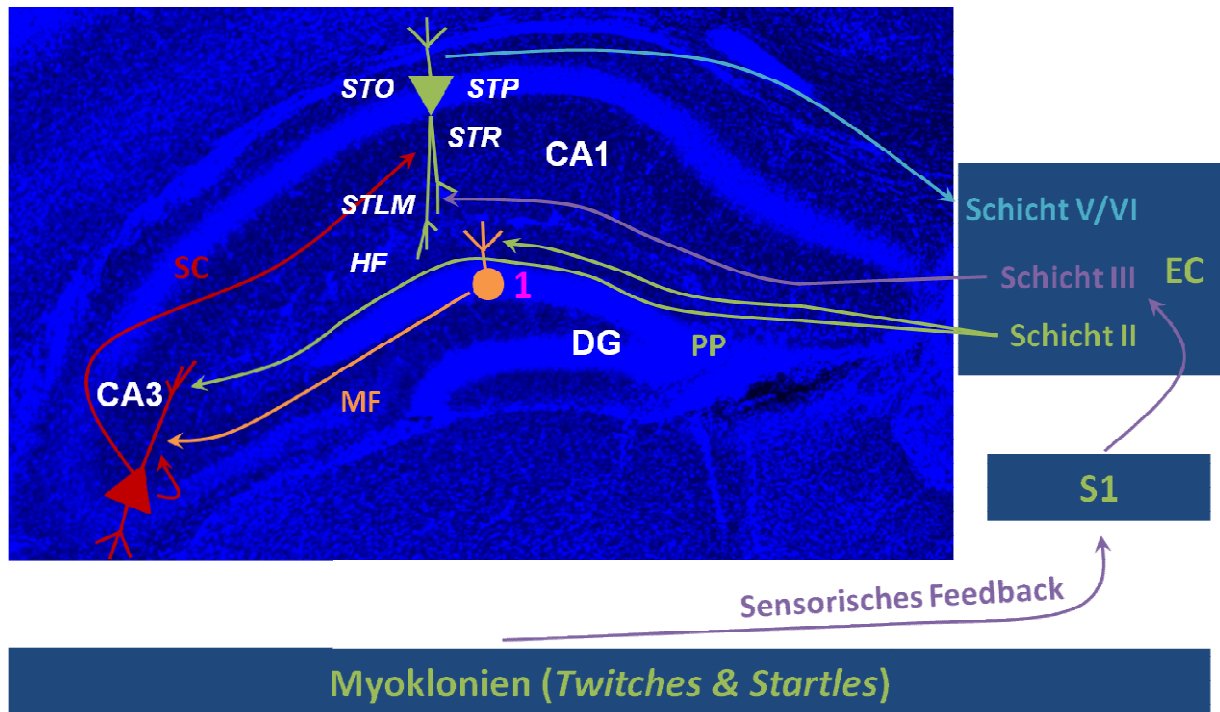


Abbildung 31: Aufbauendes (*Bottom-up*) Modell nach Valeeva *et al.*

Myoklonien, unwillkürliche Zuckungen (*Twitches & Startles*) erzeugen thalamokortikale Oszillationen (frühe γ -Oszillationen und *Spindle Bursts*) im S1 Cortex, dieser wiederum leitet diese Information weiter an die oberen (L2 und L3) Schicht des EC, welcher dann über den temporoammonischen Signalweg (aus der L3) die apikalen distalen Dendriten (zweiter *Sink* einer DPL-SPW; Abbildung 8 an P3 und P5) der CA1-Zellen aktiviert. Parallel werden über den PP (aus der L2) Zellen des DG und CA3 aktiviert (möglicherweise der dritte *Sink* in den NKCC1-WT und KO, welche mit längeren 32-Kanal Elektroden aufgenommen wurden, die bis in den DG reichen; Abbildung 8 und Abbildung 23). Die aktivierten CA3-Zellen leiten nun ihrerseits das Signal über die SC weiter an die proximalen Dendriten der CA1-Zellen (erster *Sink*; Abbildung 8 und Abbildung 23). Das Ausgangssignal geht dann vom STO in die Schicht V/VI des EC.

Die Beteiligung von Myoklonien wurde in einer Folgepublikation weiter untersucht. In der Arbeit von Gainutdinov *et al.* konnte gezeigt werden, dass unter Anästhesie, wo Myoklonien weitestgehend unterdrückt werden, eine sensorische Stimulation eben jene eSPW (DPL-SPW in dieser Arbeit) mit nahezu identischen CSD-Profilen auslösen konnte (vgl. DPL-SPW (Abbildung 8 Abbildung 23) und Abbildung 3 in (Gainutdinov et al. 2023)). Des Weiteren konnten Gainutdinov *et al.* in den meisten Tieren einen dritten *Sink* beobachten, der auch in dieser Arbeit bei P4 NKCC1-KO und WT-Tieren (Abbildung 23) sowie einigen P7 detektiert wird (Abbildung 17). Dieser *Sink* wird möglicherweise durch Aktivierung der L2 des EC auf Synapsen auf den Dendriten von DG-Körnerzellen erzeugt und war im Vergleich zum zweiten *Sink* in STLM leicht verzögert. Diese Verzögerung schreiben Gainutdinov *et al.* der Urethan-Anästhesie zu, die zu einer langsameren Aktivierung der L2 im Vergleich zu L3 führt. In dieser Arbeit wurden bei DPL-SPW an P3 – P5 keine Verzögerung zwischen den *Sinks* beobachtet, erst in einigen P7 und

zuverlässig ab P9 hatten die dortigen DPL-SPW eine Verzögerung, wobei hier der *Sink* im STR verzögert nach dem *Sink* im STLM auftrat und so die Verzögerung der Synapsen des DSK reflektiert.

6.2.4. PRX-SPW; Zwei unterschiedliche SPW je nach Alter

Vermehrt traten PRX-SPW erstmalig in P7 auf, möglicherweise in jenen P7 die bei DPL-SPW eine Verzögerung zwischen den *Sinks* hatten. Ab P9 wurden PRX-SPW regelmäßig detektiert. Auffällig ist sowohl bei C57Black/6 Mäusen (Abbildung 8) als auch NKKC1 KO/WT Mäusen an P7 (Abbildung 23) eine Lücke („leeres STR“) zwischen der starken *Source* im STO und dem ersten *Sink* in STLM. Bei P3 – P5 wurde dies nicht detektiert. Eine mögliche Erklärung ist, dass das frühe neonatale System (P3 – P5) primär über den EC, sowie vorrangende Ereignisse wie Myoklonien via S1, gesteuert wird und der dortigen *Sink* in STR eine Weiterleitung aus dem EC über mehrere Synapsen ist, welcher Aufgrund der Unreife inhibitorischer Mechanismen in einem Ereignis, der DPL-SPW, resultiert. Diese Weiterleitung verschwindet oder wird um das Alter P7 inhibiert; jenem Alter, in dem auch in Ratten die Rate an SPW steigt, deren Amplitude sich vergrößert, die Myoklonien zurückgehen, die Dauer einer SPW am kürzesten ist und eine höhere Anfälligkeit für Anfälle besteht (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007). Auch wird ab diesem Alter CA3 als eigenständiger Signalgeber aktiv, der *Sink* in STR tritt nicht mehr zeitgleich mit dem *Sink* in STLM auf und ist nun üblicherweise völlig alleinstehend. Jene alleinstehenden PRX-SPW zeigen ab P9 dann auch erste unreife Ripple (SPR), die sich mit den folgenden Altersgruppen (P12, P14) manifestieren und an Intensität zunehmen (Abbildung 18).

6.2.5. DST-SPW: Das reine L2 Signal

Reine DST-SPW treten an P3 – P5 nur sehr selten auf und bei einigen Ereignissen, vor allem an P5 könnte es sich um DPL-SPW handeln, wo einer der beiden *Sink* nicht die nötige Mindestamplitude erreicht hatte (Abbildung 11). Bei jenen korrekt detektierten DST-SPW handelt es sich nach dem obigen Modell um SPW, die durch ein Signal aus der L2 des EC generiert wurden. Dieses Signal war jedoch zu schwach oder wurde durch inhibitorische Prozesse daran gehindert, weiter nach CA3 geleitet zu werden um dann über die SC den STR-*Sink* zu generieren, wodurch es bei dem einzelnen *Sink* in STLM bleibt. DST-SPW bilden ab P7 die dominante SPW-Kategorie. Der Wechsel zu DST-SPW als die dominante SPW-Kategorie geht einher mit dem Auftreten von „ γ -tails“ in P6 Ratten (Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007), einem möglichen Vorläufer der in adulten Tieren bekannten γ -Oszillationen (Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995).

6.2.6. ORI-SPW: Die Unbekannte

Als vierte SPW-Kategorie wurden in dieser Arbeit SPW kategorisiert die ausschließlich über einen *Sink* im STO verfügten und in ihrem Aussehen invertierten PRX-SPW ähnelten, da sich die *Source* immer im STR befand. In den frühen Altersgruppen P3 – P5 kam es, wie bereits diskutiert, vermutlich zu einer häufigen falsch-positiven Detektion (Abbildung 9). Bei vielen „ORI-SPW“ handelt es sich dabei um Ereignisse, die direkt auf eine DPL-SPW folgen, jedoch in ihrem zeitlichen Abstand und Stärke als eigenständig detektiert wurden. Bei den ORI-SPW die direkt auf eine DPL-SPW folgen könnte es sich um die starke kontralaterale Reaktion auf die parallel in der anderen Hälfte des Hippocampus stattfindende SPW handeln und es aufgrund der immensen Stärke der vorangehenden DPL-SPW zu einer kontralateralen Projektion in das STO kommt. Reine ORI-SPW (Abbildung 13) sind jedoch noch herausfordernder in ihrer Erklärung, ihr Eingangssignal müsste unilateral entstehen und dann einmalig kontralateral projizieren. Um den Einfluss von der kontralateralen Seite zu untersuchen könnten experimentell die Verbindungen zwischen den beiden Hirnhälften getrennt und die hier in dieser Arbeit beschriebenen Aufnahmen wiederholt werden. Die EC L5/L6 könnte gezielt inhibiert werden, ggf. über optogenetische Methoden, um seinen Einfluss zu untersuchen.

6.2.1. TRP-SPW

Um das Alter P7 zeigt sich die größte Varianz an SPW. Dieses Alter wurde bereits in verschiedenen Publikationen als ein Kipppunkt in der Netzwerkentwicklung der Maus und Ratte beschrieben (Ben-Ari 2001; M. T. M. Colonnese et al. 2010; Mohns, Karlsson, and Blumberg 2007; Roman Tyzio et al. 2007; Murata and Colonnese 2020; R Khazipov, Minlebaev, and Valeeva 2013). Die Altersbestimmung in dieser Arbeit erfolgte nach dem üblichen Schema, dass sowohl morgens als auch abends das Nest kontrolliert wurde, bei dadurch entdeckten Neugeborene galt dieser Zeitpunkt als P0. Wurden Jungtiere, vor allem kurz nach der Abendkontrolle oder kurz nach der Morgenkontrolle geboren könnten als „P7“ bezeichnete Tiere bis zu 23 Stunden im wahren Alter auseinander liegen; eine Zeitspanne die, wie diese Arbeit zeigt, bereits zu starken Veränderungen der Netzwerkaktivität führen kann. So könnten manche Tiere, trotz gleicher Altersangabe, bereits weiter oder weniger weit in ihrer Netzwerkentwicklung vorangeschritten sein. Es könnte daher sein, dass P7 in denen die *Sinks* einer DPL-SPW zeitgleich auftreten in ihrer Netzwerkentwicklung noch eher jüngeren (P5) Tieren entsprechen, während P7 in denen eine größere Differenzierung mit einem Versatz der *Sinks* auftritt eher älteren Tieren (P9) entsprechen (Abbildung 17a, b). Die TRP-SPW traten sehr selten auf und das Detektionsskript war auch nicht dafür programmiert, diese zu kategorisieren (Abbildung 17c). Eine TRP-SPW bildet ein Ereignis ab wo gleichzeitig in der CA1-DG-Achse Eingangssignale aus der L2, der L3 des EC und aus CA3 eintreffen, derartige Ereignisse wurden von Gainutdinov beschrieben. Der zusätzliche *Sink* könnte durch Aktivierung der L2 des EC auf Synapsen auf den Dendriten von DG-Körnerzellen erzeugt worden sein. Zur Untersuchung dieser Theorie bietet sich eine spezifische EC L2 Inhibition an.

6.3. Warum keine Verzögerung zwischen den Sinks bei DPL-SPW an P3 – P5?

Eine offene Frage in dem von Valeeva adaptierten Modell für diese Arbeit ist, dass vor allem der *Sink* in STR, welcher eigentlich gemäß des DSK deutlich verzögert von dem *Sink* in STLM auftreten müsste. Würde da das Signal aus dem EC erst über mehrere Synapsen (DG, CA3) weitergeleitet werden, müsste die Verzögerung aus jeder Synapse so auch im CSD sichtbar sein und zu einem Versatz zwischen den *Sinks* führen. Ein Versatz zwischen den *Sinks* bei den Aufnahmen in dieser Arbeit war erst ab P7 sichtbar, zuvor traten die *Sinks* nahezu zeitgleich auf. Eine möglicher Erklärung hierzu könnte in der hohen Amplitude und der langen Dauer der DPL-SPW liegen, wodurch die einzelnen in zeitlicher Abfolge eingehenden Signale maskiert werden und als ein einzelnes sehr starkes Signal detektiert werden, da das System vom ersten Input aus, aufgrund unreifer Inhibitionsprozesse, noch nicht wieder in seinen Ausgangszustand zurückgekehrt ist (Valeeva et al. 2019). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass in diesem Alter die synaptische Weiterleitung gar nicht der Haupttreiber ist und es aufgrund der in diesem Alter noch dicht gepackten Neuronen vermehrt zu einer größeren Populationsaktivität kommt, als in älteren Tieren wo die Zellkörper weniger dicht gepackt sind und es so zu einer häufigen direkten Stimulation via *Gap-Junction* mit benachbarten Zellen kommt, die keine Verzögerung verursachen. Die Synapse wird in diesem Fall „übersprungen“. In Neonaten der Ratte konnten an P3 – P5 bei 70 % der untersuchten Zellen eine solche Signalweiterleitung via *Gap-Junction* beobachtet werden (Bennett and Zukin 2004; Belluardo et al. 2000). Eine weitere Möglichkeit ist, dass wenn man von einer Leitungsgeschwindigkeit von 1 m/s in unmyelinisierten Axonen ausgeht und eine Strecke von 0,5 mm annimmt (SCs), ergibt sich eine Leitungsverzögerung von $0,5 \text{ mm} / 1000 \text{ mm/s} = 0,0005 \text{ s} = 0,5 \text{ ms}$. Bei einer synaptischen Verzögerung von 1 ms ergibt sich eine Gesamtverzögerung von 1.5 ms welche Möglicherweise in der Auflösung des hier verwendeten LFP „untergeht“.

6.4. SPR: Das erstmalige Auftreten eines Markers für die Fähigkeit, Erinnerungen zu bilden?

An P3 existiert so vermutlich noch kein eigenständiger Informationsfluss aus CA3. Erst mit P9 ist die Reifung abgeschlossen und CA3 agiert als eigenständiger Impulsgeber nach STR. Ein klares Indiz hierfür ist das erste, sehr sporadische, Auftreten von SPR mit unter 0,025 SPR/s an P9 (Abbildung 18). Diese SPR kennt man unter anderem von Aufnahmen von schlafenden adulten Tieren (György Buzsáki 2015). In P4 – P6 alten Ratten-Neonaten wurden noch keine SPR beschrieben (Leinekugel et al. 2002). Die früheste Beschreibung von SPR findet sich in P17-Ratten, welche bereits in der Lage waren einfache Labyrinth zu durchqueren (Muessig et al. 2019). In der hier vorliegenden Arbeit konnte an P9 eine erhöhte Einzelzellaktivität während einiger PRX-SPW erkannt werden, eine klare Oszillation lässt sich jedoch erst in einigen P12-Tieren ausmachen. Hier treten im Durchschnitt SPR mit einer Häufigkeit von 0,025 SPR/s auf, wobei in der Hälfte der Aufnahmen wenige SPR und in den anderen Aufnahmen häufig SPR

auftraten. Das häufigere Auftreten von SPR an P12 geht mit im CSD deutlich ausgeprägten PRX-SPW einher. Den größten Sprung bei den SPR passiert dann mit P14 wo SPR mit einer Häufigkeit von bis zu 0,1 SPR/s auftreten und eine klare Oszillation mit einer Peak-Frequenz von etwa 120 Hz (P12 etwa 100 Hz und an P9 ohne klare Frequenz) aufweisen. Die SPR werden mit einer Vielzahl von physiologischen Ereignissen in Verbindung gebracht (György Buzsáki 2015). Gleichzeitig geht das vermehrte Auftreten von PRX-SPW sowie SPR mit der verstärkten Unabhängigkeit von P14 Mäusen einher, die in diesem Alter anfangen ihre Umgebung zu erkunden und dann wieder selbstständig in ihr Nest zurückzukehren. Diese Arbeit bildet zusammen mit der jüngsten Arbeit von Pochinok *et al.* möglicherweise das erste experimentelle Indiz ab wann Mausneonaten in der Lage sind Erinnerungen zu formen (Präsenz von SPR) (Pochinok et al. 2024).

6.5. Abgrenzung der beobachteten Sinks der einzelnen SPW-Kategorien durch elektrische Stimulation der VHC (CA3 Input) und elektrische Stimulation des PP (Signalweiterleitung der L2 und L3 des EC)

Um den Ursprung der in CA1 beobachteten verschiedenen SPW-Kategorien zu klären, wurde mittels elektrischer Stimulation des VHC (repräsentativ für eine Aktivierung von CA3) und des PP (repräsentativ für eine Aktivierung der L2 und L3 des EC) erfolgreich SPW in CA1 generiert und deren CSD-Profil untersucht. Elektrische Stimulationen wurden in P7 und P12 durchgeführt. Jüngere Tiere wurden aufgrund der Größe der verwendeten bipolaren Wolframstimulationselektroden nicht untersucht, diese konnten in P3 und P5-Tieren nicht zuverlässig implantiert werden. Für die Stimulation wurde ein 200 μ A starker und 100 μ s-100 μ s langer Wechsellpuls $10 \times$ in einem Intervall von 2 s verwendet (Abbildung 6).

Der Ort der elektrischen Stimulation wurde anhand der in früheren Experimenten gut beschriebenen Lokalisation der Nervenbündel gewählt, die zur CA1 Region führen. Zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit von CA3 nach CA1 wurde die VHC gewählt und für die Verbindung EC nach CA1 der PP (Ylinen et al. 1995; Bragin, Jandó, and Nádasdy 1995; Lehtonen et al. 2022). Die Abbildung 32 (Anhang) bestätigt, dass eine erfolgreiche Stimulation nur in einer klar definierten Tiefe möglich war. Die Stimulationselektrode für den PP war bei P7 in einer Tiefe von 1,2 mm bei P7 und 1,5 mm bei P12 fixiert und nicht beweglich. Die Tiefe war in Einzelexperimente zuvor bestimmt worden (nicht gezeigt). Die Stimulationselektrode für die VHC war, (siehe Abbildung 32 (Anhang)) beweglich und führte nur in einem sehr begrenzten Bereich ab etwa 2 mm Tiefe zu einer erfolgreichen Stimulation. Dies bestätigt, dass gezielt Hirnregionen stimuliert werden konnten, da es Bereiche vor und nach der Zielfasern gab, in denen keine erfolgreiche Stimulation möglich war. Die erfolgreiche Stimulation erstreckte sich über eine Tiefe von mehreren Millimetern (Min. = 2,1 mm, Max. = 3,2 mm in P7 und Min. = 1,5 mm und Max. = 3,3 mm in P12; Abbildung 32), dies reflektiert vor allem die vom Volumen her deutlich größeren Gehirne an P12. Der Bereich für eine erfolgreiche VHC-

Stimulation korrelierte zudem mit einem kürzeren Verzug bis zu einem Ereignis und einem klarer definierten (schmalere) Ereignis (Abbildung 33 (Anhang) und Abbildung 35 (Anhang)).

Auch wenn auf verschiedene Tiefe teilweise jede Stimulation zu einem Ereignis führte, zeigte sich innerhalb dieser „Erfolgsbereiche“ meist ein nur ein sehr begrenzter, etwa 0,1 mm breiter Bereich, in dem die maximale Amplitude der durch die Stimulation ausgelösten SPW erreicht wurde (Abbildung 34 (Anhang)). Dies hängt vermutlich mit der relativ unpräzisen Art der elektrischen Feldstimulation zusammen, bei einer solchen Stimulation werden nicht präzise Nervenbündel oder gar Einzelneuronen bzw. Gruppen von Neuronen stimuliert, stattdessen entsteht ein „Konus“ rund um die Spitze der Stimulationselektrode welcher alle im Umkreis befindlichen Neuronen kollektiv aktiviert (Lehtonen et al. 2022). Es kann außerdem sein, dass der elektrische Impuls direkt über die Nervenbündel an CA1 weitergeleitet wird. Je näher die Stimulationselektrode der tatsächlich relevanten Nervenbahn war, desto stärker war das Ereignis in CA1 in seiner Amplitude. Während an P7 physiologisch nur ein geringer Anteil von PRX-SPW detektiert wurde (~10 %, Abbildung 12 und der wahre Anteil vermutlich aufgrund falsch positiver Detektion noch darunter liegt), führte eine erfolgreiche VHC-Stimulation zu nahezu ausschließlich PRX-SPW (Abbildung 36). Diese PRX-SPW wurden in zwei der vier Experimente an P7 von ORI-SPW flankiert, hier kam es vermutlich zu einer zeitlichen Übereinstimmung von kontralateralen CA3 Signalen auf STO derselben elektrischen Stimulation. Darüber hinaus entsprach das LFP und CSD-Profil dieser VHC-stimulierten PRX-SPW nicht dem einer physiologischen SPW. Während der *Sink* wie für eine PRX-SPW beschrieben in STR lag, war die *Source* primär im STLM und nicht im STO. Weiterhin hatte die VHC-induzierte SPW keinen uniformen starken positiven Ausschlag wie die physiologische SPW, sondern zunächst nur einen schwachen positiven Ausschlag gefolgt von einem starken negativen Ausschlag und wieder einem schwachen positiven Ausschlag. Damit wurde insgesamt ein gegenüber einer physiologischen PRX-SPW umgekehrtes Muster beobachtet (Abbildung 19c [VHC induziert] und Abbildung 8 [P7; PRX-SPW], sowie die PRX-SPW an P12 Abbildung 19d [physiologisch]).

In P12-Tieren traten üblicherweise primäre DST-SPW und PRX-SPW mit klar definierten *Sink* in STLM bzw. respektive STR auf. Wenn der VHC stimuliert wurde, konnte in einem kleinen Tiefenfenster deutlich ausgeprägte PRX-SPW stimuliert werden (Abbildung 36 (Anhang)). Außerhalb dieses kleinen Fensters traten jedoch bei weiterhin hoher Erfolgsquote auch zu einem überraschend hohen Anteil DPL-SPW auf, welche in P12 üblicherweise nur noch selten auftreten. Vor allem in einem der Experimente wurden teilweise bis zu 100 % DPL-SPW in einigen Tiefen generiert (Abbildung 36e (Anhang)). Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um die physiologische Rückwärtsprojektion von CA3 auf den Hilus vom DG und auf Körnerzellen (Meier et al. 2020).

Durch die PP Stimulation wurden an P7 entweder primär DST-SPW oder DPL-SPW stimuliert, in keinem Fall wurde ein durch die PP-Stimulation ausgelöste SPW als solitäre PRX-SPW oder ORI-SPW klassifiziert (Abbildung 37a – e (Anhang)). In P12 wurden in den

ersten beiden Tieren teilweise PRX-SPW detektiert, in den anderen beiden Tieren jedoch fast ausschließlich DST-SPW und DPL-SPW (Abbildung 37f–j (Anhang)). Die von den Stimulationen ausgelösten SPW waren in ihrem Aussehen und Erscheinen nach nicht von physiologischen SPW zu unterscheiden, was dafürspricht, dass es sich hierbei nicht um künstliche Artefakte handelt, sondern tatsächlich Nervenzellen stimuliert wurden und diese das Signal an die CA1-Region weitergeben haben (Abbildung 19). Ebenfalls hierfür spricht der Umstand, dass zwischen dem elektrischen Signal und dem aufgezeichneten Signal eine Verzögerung von mehreren Millisekunden lag. Im Falle der VHC-Stimulation war diese sogar abhängig von der Tiefe, was mit der üblichen Verzögerung bei physiologischer Signalweiterleitung übereinstimmt. Ein rein durch die Stimulation erzeugtes Artefakt würde zeitgleich mit dem Stimulationspuls auftreten, tatsächlich ist im LFP zum Zeitpunkt der Stimulation ein klares Artefakt zu erkennen, welches sich deutlich von den eigentlichen SPW unterscheidet. Vor jeder Stimulation wurde für 30 min die Grundaktivität eines jeden Tieres aufgezeichnet, um einen direkten Vergleich der physiologischen Verteilung der verschiedenen SPW mit den stimulierten Ereignissen zu ermöglichen. Die PP-Stimulation an P12 hatte eine deutlich höhere Erfolgsquote im Vergleich zu P7 (Abbildung 20d). Möglicherweise ist durch die größeren Hirnstrukturen an P12 ein erfolgreiches Implantieren in PP einfacher, oder SPW an P7, die nicht durch Myoklonien ausgelöst wurden haben durch unbekannte Mechanismen eine geringere Wahrscheinlichkeit eine generiert zu werden. Ein Indiz hierfür könnte sein, dass erfolgreich durch PP stimulierte SPW an P7 signifikant länger zum Erscheinen brauchten als an P12 (Abbildung 20e). Die Verzögerung könnte durch inhibitorische Prozesse entlang der Nervenbahnen entstehen, oder durch eine noch nicht vollständige Myelinisierung, welche die Leitungsgeschwindigkeit herabsetzt. Durch Stimulationen ausgelöste SPW waren vor allem an P12 signifikant höher in ihrer Amplitude (Abbildung 20f). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass durch die elektrische Stimulation ausgelöste SPW eher frühen „Orientierungsereignissen“ entsprechen (Gainutdinov et al. 2023; Valeeva et al. 2019). Die Stimulationsexperimente zeigen, dass sowohl an P7 als auch P12 die VHC bzw. CA3 Verbindung zum CA1 als auch die PP und damit EC-Verbindung zum CA1 funktional sind und durch erzwungene Aktivierung SPW generiert werden können, die den physiologischen SPW entsprechen, selbst wenn diese, wie PRX-SPW an P7 physiologisch eigentlich nur selten Auftreten. In adulten Mäusen lassen sich durch VHC-Stimulation primär die hier als PRX-SPW beschriebenen SPW generieren, welche am meisten jenen SPW ähneln wie sie hier in P12 generiert und in P12 und P14 beobachtet wurden (vergleiche Abbildung 19d „physiologisch“ und „durch VHC-stimuliert“ und Abbildung 3c in (Lehtonen et al. 2022)).

In zukünftigen Experimenten wäre zu klären, ob sich durch vergleichbare Stimulationsexperimente auch an P3 oder P5 ähnliche SPW generieren lassen. Insbesondere wäre das CSD-Profil von VHC-stimulierten SPW interessant – entspricht dieses ähnlich wie an P7 „künstlichen“ SPW oder ist eine VHC-Stimulation in diesem Alter gar nicht möglich?

6.6. Eine Theorie zu dem hier in dieser Arbeit beobachteten Auftreten von verschiedenen SPW-Typen.

Eine mögliche Erklärung für die in dieser Arbeit beobachteten SPW ist, dass die frühe Aktivität (P3, P4, P5) über den EC, möglicherweise primär über Myoklonien (bzw. sensorische Stimulation), gesteuert wird. Die reinen PRX-SPW in dem Alter primär falsch-positiv sind, es sich nicht um physiologischen *Input* ausschließlich von CA3 handelt und erst um P7 ein Wechsel stattfindet. Erst im Alter von P7 kommen langsam "echte" PRX-SPW. Die durch die elektrische Stimulation generierten SPW entsprechen zwar den hier definierten Eigenschaften einer PRX-SPW, diese stimulierten PRX-SPW sehen aber nicht "natürlich" aus. In den P7 C56BL/6J/WT dieser Arbeit verschwindet der PRX-Sink bei den DPL-SPW bzw. wird verschoben, was als mögliche Reifung inhibitorischer Prozesse angesehen werden kann. Ab P9 (P12, P14) ist dann ein klarer Versatz bei den DPL-SPW zu sehen, aber auch klar getrennte PRX-SPW, teilweise als SPR und DST-SPW. Bis zu einem Alter von P7 agiert also der EC als alleiniger Signalgeber, erst mit der weiteren Reifung des Gehirns wird CA3 aktiv und es werden die aus adulten Tieren bekannten SPW (PRX-SPW) generiert, die mit P9 dann auch erste Vorläufer von SPR zeigen und ab P12 dann adultartige SPR. Mit der Reifung des Gehirns und der Aktivierung von CA3 nimmt der Einfluss vom EC ab und die von dort stammenden Signale enden in den distalen Dendriten der CA1-Pyramidenzellen.

6.7. NKCC1: Untersuchung des Einflusses einer Vorderhirn-spezifischen Deletion des in der neuronalen Entwicklung wichtigen Ionenkanals NKCC1 auf die Netzwerkaktivität.

Der NKCC1 spielt in der frühen Netzwerkentwicklung *in vitro* eine wichtige Rolle, Daher wurde in dieser Arbeit untersucht, welchen Einfluss ein Vorderhirn spezifischer NKCC1-KO auf die frühe Netzwerkentwicklung *in vivo* hat und wie sich das in einer möglichen Veränderung der zuvor beschriebenen SPW-Kategorien widerspiegelt. Die Entfernung der direkten Möglichkeit der Chlorid-Aufnahme *in vivo* in einem Großteil der Neuronen im Neocortex, Hippocampus und den Gliazellen des Palliums, ließ eine bedeutende Änderungen der hippocampalen Netzwerk- und SPW-Aktivität vermuten. Bei den Experimenten konnte jedoch kein fundamentaler Unterschied identifiziert werden. Es wurden wie auch in den vorherigen Experimenten Tiere im Alter von P7 und P12 untersucht. Bei den jüngeren Tieren wurde ein Kompromiss in Form von P4 gefunden, da P3 noch sehr wenig Aktivität zeigen und der Abstand zwischen P5 und P7 zu gering war. Es konnte zwischen den WT-Tieren und KO-Tieren kein signifikanter Unterschied der HNM im Aussehen im LFP, im Gesamtanteil über die analysierte Dauer, der medianen Länge und der Rate des Auftretens an P4 beobachtet werden (Abbildung 22). Numerisch waren HNM bei KO-Tieren etwas länger, nahmen dadurch einen etwas größeren Anteil an der Gesamtaufnahme ein und traten vor allem etwas häufiger auf (Abbildung 22d-f). Alle zuvor definierten Kategorien: DPL-SPW, ORI-SPW, PRX-SPW und DST-SPW konnten sowohl in WT

als auch KO-Tieren beobachtet werden, ihr Aussehen im CSD war zwischen den verschiedenen Altersgruppen (P4, P7, P12) vergleichbar mit jenen in C57Black/6 WT. Die größten Unterschiede traten bei P7 auf, Unterschiede zwischen den C56/Black/6 WT und den NKCC1 WT und KO Tiere sind vermutlich darauf zurückzuführen, dass die die NKCC1_Tiere jünger (leichter) als die C57Black/6 WT P7 Tiere waren (Abbildung 8 und Abbildung 23, sowie die Varianz an P7 Abbildung 17).

Bei den unterschiedlichen Aspekten der SPW (Rate des Auftretens [Hz], Amplitude [mV] und Dauer [ms]) konnte nur ein signifikanter Unterschied in P12 bei ORI-SPW beobachtet werden, die signifikant häufiger bei KO-Tieren auftraten, ohne dass bei den anderen SPW-Kategorien zu einem Unterschied kam (Abbildung 24b). In P12 könnte der NKCC1 KO den Effekt haben, dass besonders starke Ereignisse, die im WT im EC gestoppt werden würden, im KO zu einer vermehrten oder stärkeren kontralateralen Projektion führen und dadurch häufiger ORI-SPW beobachtet werden konnten. Insgesamt ist bei diesen ORI-SPW eine starke Varianz im Auftreten zu beobachten, was möglicherweise unterschiedliche „Erfolgsraten“ bei potenziellen Kompensationsmechanismen widerspiegelt.

Weitere signifikante Unterschiede waren ein prozentual größerer Anteil an DPL-SPW im KO an P7 (Abbildung 25d), prozentual größerer Anteil an PRX-SPW im KO an P4 (Abbildung 25f) und ein prozentual geringerer Anteil von DST-SPW am Gesamtanteil in P12 (Abbildung 25g). Der signifikante größere Anteil an PRX-SPW an P4 und der signifikant geringere Anteil an DST-SPW an P12 wurde durch einen geringeren (P4) bzw. höheren (P12) Anteil an ORI-SPW „kompensiert“. Aufgrund der zuvor beschriebenen Problematik bei der Detektion von ORI-SPW handelt es sich hierbei vermutlich nur um eine Varianz in der Detektionsgenauigkeit.

Der systemweite Verlust von NKCC1 im Neocortex und eine damit einhergehende Veränderung der GABA vermittelten Inhibition müsste *in vivo* zu deutlichen Veränderungen des Auftretens und oder Komposition der SPW führen. Das im Rahmen dieser Arbeit weitestgehend nur numerische Unterschiede beobachtet werden konnten und die signifikanten Unterschiede in keine eindeutige Richtung weisen, liegt möglicherweise an kompensatorischen Mechanismen in der neonatalen Entwicklung (Minei et al. 2023; Pan et al. 2018; Kreiner 2015).

Da die Unterschiede, wenn überhaupt vorhanden, nur subtiler Art sind, bleibt viel Raum für Interpretationen, Hypothesen und Theorien. Dies ist insbesondere Erstaunlich, da ein NKCC1-KO *in vitro* einen deutlichen Einfluss auf die elektrophysiologische Aktivität hat, während dieser *in vivo* weniger stark ausgeprägt ist (Graf et al. 2021). Ob die beobachteten subtilen Unterschiede zwischen WT und KO sich konkret auf den NKCC1-KO zurückführen lassen und welche kompensatorischen Mechanismen zu einer nahezu normalen elektrophysiologischen Aktivität *in vivo* führen muss in zukünftigen Experimenten geklärt werden und ist nicht Umfang dieser Doktorarbeit.

6.8. Untersuchung der neonatalen Netzwerkaktivität im V1 zeigte bekannte Aktivitätsmuster sowie einen möglichen neuen Oszillationstyp.

Zeitgleich mit den Aufnahmen in der CA1-Region des Hippocampus wurden Aufnahmen des Kortex durchgeführt, hierzu wurde die Region „V1“ ausgewählt, da diese am weitesten von der CA1-Region entfernt liegt und so auch an P3 zwei Elektroden gleichzeitig verwendet werden konnten. Darüber hinaus handelt es sich bei der V1-Region um eine relativ gut erforschte Hirnregion mit bekannten elektrophysiologischen Ereignissen, wobei die Veränderungen über die ersten zwei Wochen bislang hauptsächlich in P5 und P6, mit deskriptiver Erwähnung von P2 und älteren Tieren, beschrieben wurden (Hanganu, Ben-Ari, and Khazipov 2006; Hanganu et al. 2007; M. T. Colonnese, Shen, and Murata 2017). Die elektrophysiologische Aktivität, welche prinzipiell jener der Ratte entspricht, wurde in der Maus bislang nur in P6 beschrieben (Fazeli et al. 2017). Bei den Stimulationsexperimenten wurde die V1-Region nicht untersucht, da an dieser Region die Stimulationselektrode für den PP fest angebracht war. Mit Hilfe der gleichzeitigen Aufnahme von V1 und CA1 konnte zudem sicher gestellt werden, dass es sich bei den beobachteten Ereignissen sowohl in CA1 als auch V1 um intrinsische Ereignisse der jeweiligen Region handelt.

In Abbildung 26a und b werden zwei charakteristische Ereignisse der beiden Regionen gezeigt: 1) in V1 die „*Spindle*-Oszillation“ und 2) in CA1 die „HNM“. Zudem sind in CA1 LFP deutlich und in V1 als Artefakt die Ausschläge der SPW zu erkennen. Die V1 *Spindle*-Oszillation ist in Abbildung 26c vergrößert dargestellt, es ist ersichtlich, dass es sich bei diesen Oszillationen um ein intrinsisches Ereignis von V1 handelt, da das zeitgleiche LFP in CA1 keine Aktivität zeigt. In Abbildung 26d ist vergrößert ein HNM des CA1 zu sehen, auch hier ist ersichtlich, dass es sich bei HNM um intrinsische CA1 Ereignisse handelt, da in V1 nur ein Schatten (Artefakt) dieser Aktivität zu sehen ist. Weiterhin ist ersichtlich, dass besonders starke Populationsereignisse wie SPW auch in V1 zu sehen sind und dort nicht fälschlicherweise, als intrinsisches Ereignis klassifiziert, werden dürfen. Bei allen manuellen Detektionen wurden daher immer, wenn vorhanden, die Spuren beider Hirnregionen betrachtet. Charakteristische V1 Ereignisse konnten nur bis etwa P9 zuverlässig beobachtet werden. Die Augen von Mausneonaten öffnen sich mit etwa P12 und sind im Alter von P14 bereits in den meisten Fällen vollständig geöffnet (Ciganok-Hückels et al. 2023). Auch vor P12 ist die Retina bereits lichtempfindlich. Da bei den Aufnahmen jedoch auf eine gleichbleibende Beleuchtung geachtet wurde und es während der Aufnahme zu keinen Schattenwürfen auf die Versuchstiere kam ist eine besondere Stimulation hier vor P12 auszuschließen. Da beginnend mit P12 durch die Öffnung der Augen externe Signale die intrinsische Aktivität überlagern, wurden in dieser Arbeit für V1 nur die Altersgruppen P3, P5, P7 und P9 im Detail betrachtet.

Im Alter von P3 und vor allem P5 zeigt die V1-Region ein charakteristisches Ereignis, welches intrinsisch in V1 generiert wird und bei dem vermutet wird, dass diese als Pfadfinder-Ereignisse fungieren, sogenannte „*Spindle*-Oszillationen“ (Abbildung 27a, b, d) (Hanganu, Ben-Ari, and Khazipov 2006). Zusätzlich wurde ein bislang unbekanntes Ereignis dokumentiert,

welches aufgrund seiner höheren, im β -Bereich von 13 – 30 Hz liegenden Frequenz, als V1 „ β -Oszillation“ bezeichnet wurde. *Spindle*-Oszillationen traten über alle vier Altersgruppen mit etwa der gleichen Häufigkeit auf (Abbildung 27f), die Länge der *Spindle*-Oszillationen wurde jedoch abhängig vom Alter signifikant länger (P3 im Vergleich zu P7) um mit P9 erneut wieder signifikant kürzer zu werden (Abbildung 27g). Dieser Wechsel könnte das Ende der Pfadfinder-Ereignisse bedeuten, die mit P7 den Zweck erfüllt haben. Mit P9 ist der V1 bereit externe Signale zu empfangen.

V1 β -Oszillationen traten nur in einem Tier im Alter von P3 auf, waren ab P5 häufiger zu beobachten und erreichten in P7 ein Maximum. In P9 wurden diese dann seltener beobachtet (Abbildung 27i). Bis P7 waren die β -Oszillationen mit etwa 20 s relativ gleich lang um dann signifikant kürzer (< 10 s) an P9 zu werden (Abbildung 27j). Bei den β -Oszillationen könnte es sich um die Antwort von V1 auf Pfadfinder-Ereignisse der Retina handeln. Auch könnte es sich bei diesen im Vergleich zu V1-*Spindle*-Oszillationen deutlich längeren Ereignissen um eine andere Art der intrinsischen Pfadfinderaktivität des V1 handeln. Derartig lange Oszillationen, die sich in ihrer spektralen Frequenz von den V1 *Spindle*-Oszillationen / *Spindle Bursts* unterscheiden, wurden bislang nicht beschrieben. Zusätzlich zu den Oszillatorischen Ereignissen konnten einzelne starke Populationsereignisse in V1 beobachtet werden. In der Literatur sind diese als SAT bekannt (M. T. Colonnese and Khazipov 2010; Shen and Colonnese 2016). Es konnte in dieser Arbeit erstmals zwei charakteristisch unterschiedliche SAT beobachtet werden. Zum einen das „klassische“ SAT (Typ 1) mit ausschließlich positiven Ausschlägen im LFP und zum anderen der SAT (Typ 2) die primär negativen Ausschläge im LFP zeigten (Abbildung 28a und b). Im Vergleich über das Alter treten SAT (Typ 1) am häufigsten in P9, kurz vor Augenöffnung, auf, wobei es einen deutlichen Sprung zwischen P9 und P7 gibt (Abbildung 28c). Dagegen nehmen SAT (Typ 2) bis P7 zu und nehmen dann scheinbar an P9 wieder ab (Abbildung 28d). Aus den Daten der NKCC1-Tiere wurden zudem die V1 *Spindle*-Oszillationen der P4-Tiere analysiert, da diese die am besten abzugrenzende Ereignisse in V1 zeigten (Abbildung 29, *Spindle*). Diese traten an P4 in KO-Tieren numerisch häufiger als im WT auf. Dies könnte mit dem Verlust von NKCC1 und der damit einhergehenden schlechteren Kontrolle der GABA vermittelten Inhibition zu tun haben, wahrscheinlicher ist jedoch auch hier, dass kompensatorische Mechanismen den wahren Effekt des NKCC1 KO maskieren.

7. Ausblick

Die vorliegende Arbeit bietet den ersten umfassenden elektrophysiologischen Überblick über die ersten zwei Lebenswochen der Maus (P3 – P14). Sie kann daher als Referenz für zukünftige Arbeiten dienen. Des Weiteren bestätigt diese Arbeit, dass die elektrophysiologische Entwicklung kein gleichmäßiger Vorgang ist, sondern in bestimmten Abschnitten stattfindet. Diese Abschnitte sind möglicherweise von besonderer Bedeutung, wenn es um die Frage einer Krankheitsbehandlung im „verwundbaren Fenster“ geht.

Gleichzeitig beantwortet diese Arbeit nicht die diesen Abschnitten zugrunde liegenden biochemischen Prozesse, hier bestünde die Möglichkeit über spezifische KO-Linien die Veränderungen in den elektrophysiologischen Ereignissen zu beobachten.

Darüber hinaus besteht zum einen Erweiterungspotenzial, in dem zusätzliche Experimente in P1-Tieren durchgeführt werden, sowie eine feinere Auflösung der Ergebnisse durch die Aufnahme von P2, P4, P6, P8, P10, P11 und P13-Tieren in entsprechender Quantität und Qualität. Zum anderen könnte durch Fortschritte in der Art der Detektion und Charakterisierung von SPW möglicherweise schon bald eine robustere Art der Typenklassifizierung entwickelt werden, da der bisherige Standard, wie an verschiedenen Stellen ausgeführt, einige Limitationen aufweist.

Über weitere Stimulationsexperimente, z. B. mittels spezifischer Lichtstimulation einzelner Neuronen, könnte der Ursprung der SPW genauer aufgeklärt werden.

8. Anhang

8.1. Zusätzliche Abbildungen

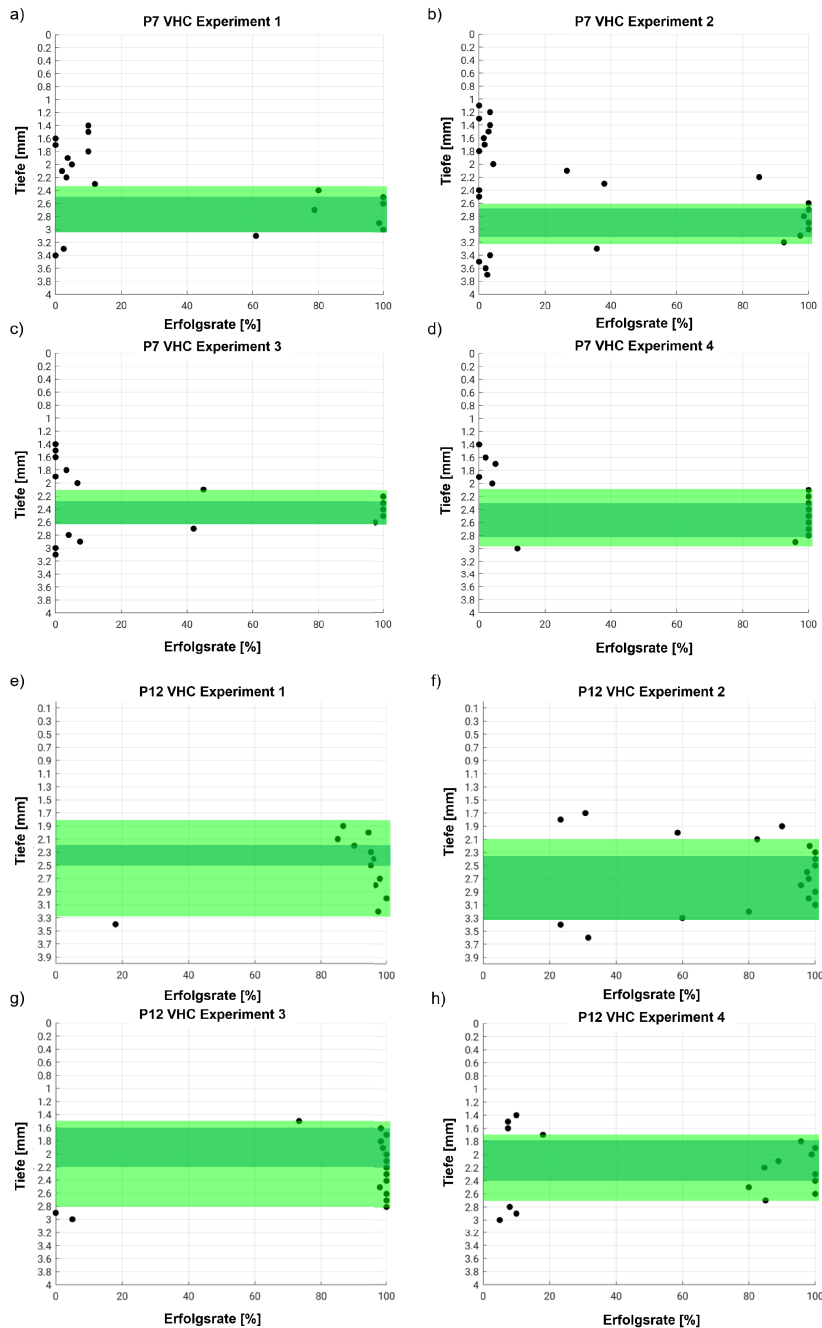


Abbildung 32 (Anhang): Übersicht der Erfolgsquote für die VHC jedes stimulierten Tieres.

Die Erfolgsquote entspricht in wie vielen Fällen prozentual nach einer Stimulation bei 30 – 70 Stimulationen pro Tiefe eine SPW innerhalb von 5 – 45 ms nach erfolgter Stimulation detektiert werden konnte. Tiefen mit einer zusammenhängenden Erfolgsquote von mindestens 80 % sind hellgrün schattiert. Innerhalb dieses Bereichs sind

zusammenhängende Tiefen mit einer Verzögerung von unter 15 (10; P12-Experiment 1) ms (siehe Abbildung 33) dunkelgrün schattiert.

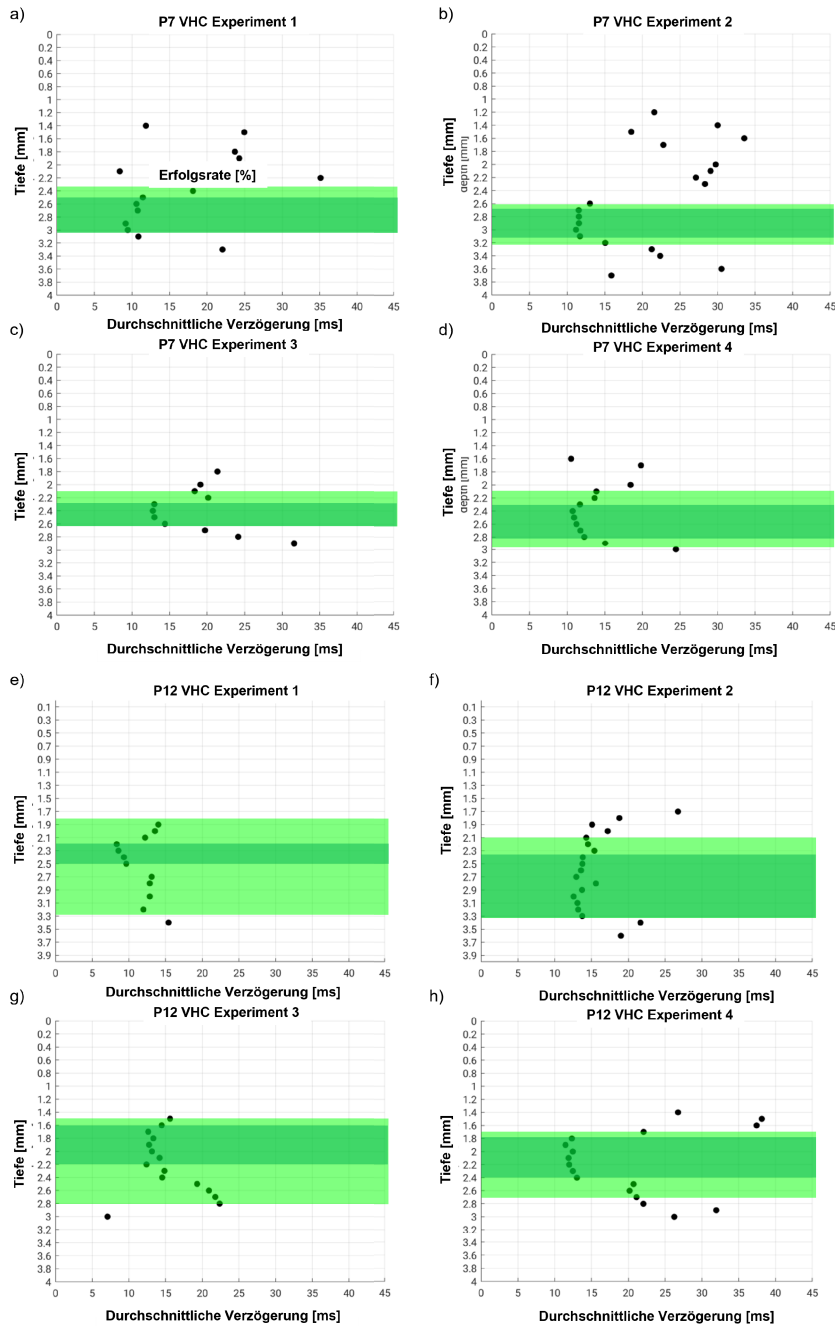


Abbildung 33 (Anhang): Messung der durchschnittlichen Verzögerung nach einer Stimulation.

Berücksichtigt für die Messung wurden nur erfolgreiche Stimulationen und nur SPW innerhalb des Zeitfensters von 5 – 45 ms. Tiefen mit einer Erfolgsquote von mindestens 80 % sind grün schattiert. SPW mit einer Verzögerung von unter 15 ms (P12-Experiment 1: 10 ms) sind dunkelgrün schattiert.

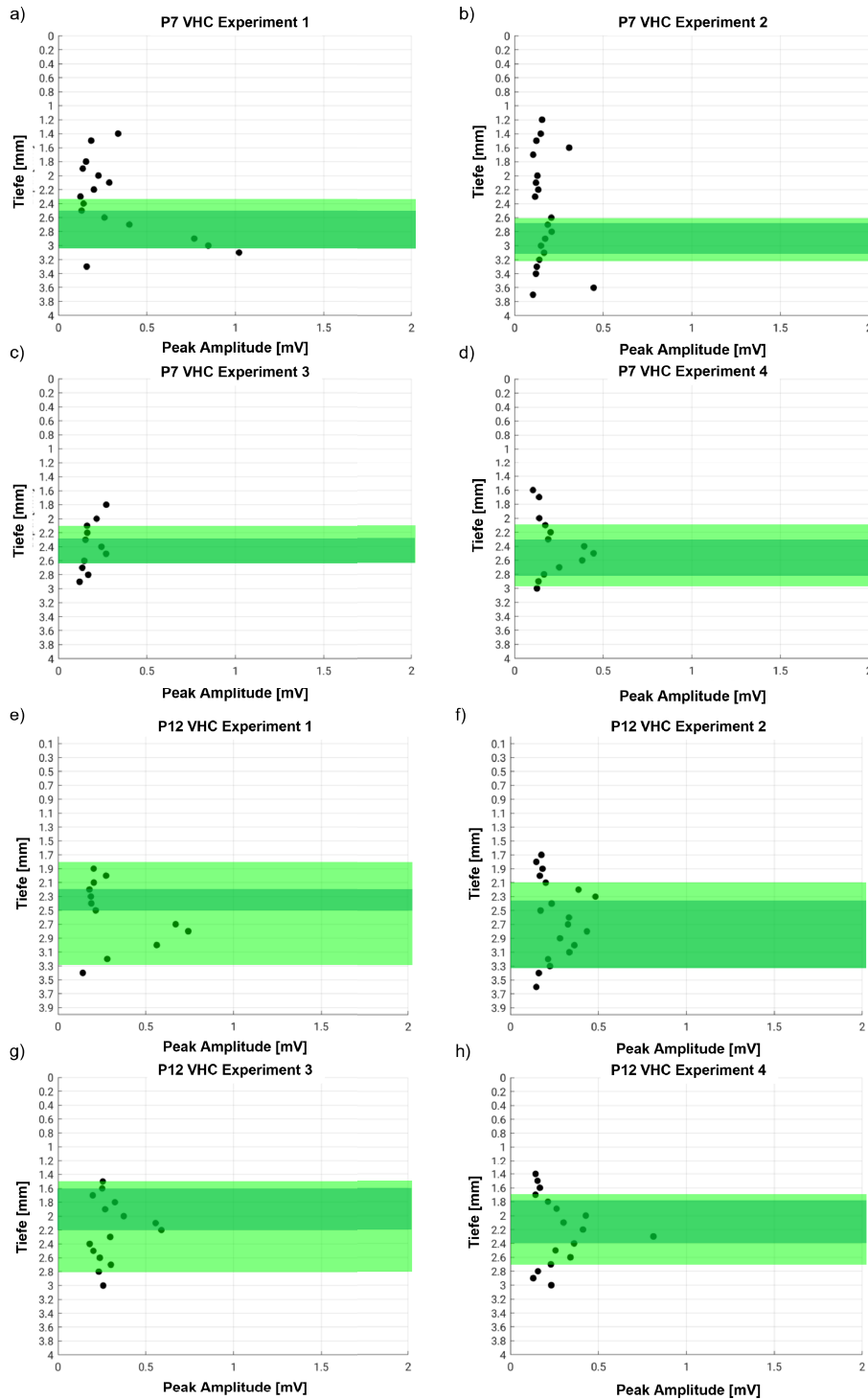


Abbildung 34 (Anhang): Berechnung der durchschnittlichen Amplitude (CSD, mV/mm²) stimulierter SPW.

Zur Berechnung wurden nur erfolgreiche Stimulierungen verwendet. Tiefen mit einer Erfolgsquote von mindestens 80 % sind grün schattiert. SPW mit einer Verzögerung von unter 15 ms (P12-Experiment 1: 10 ms) sind dunkelgrün schattiert.

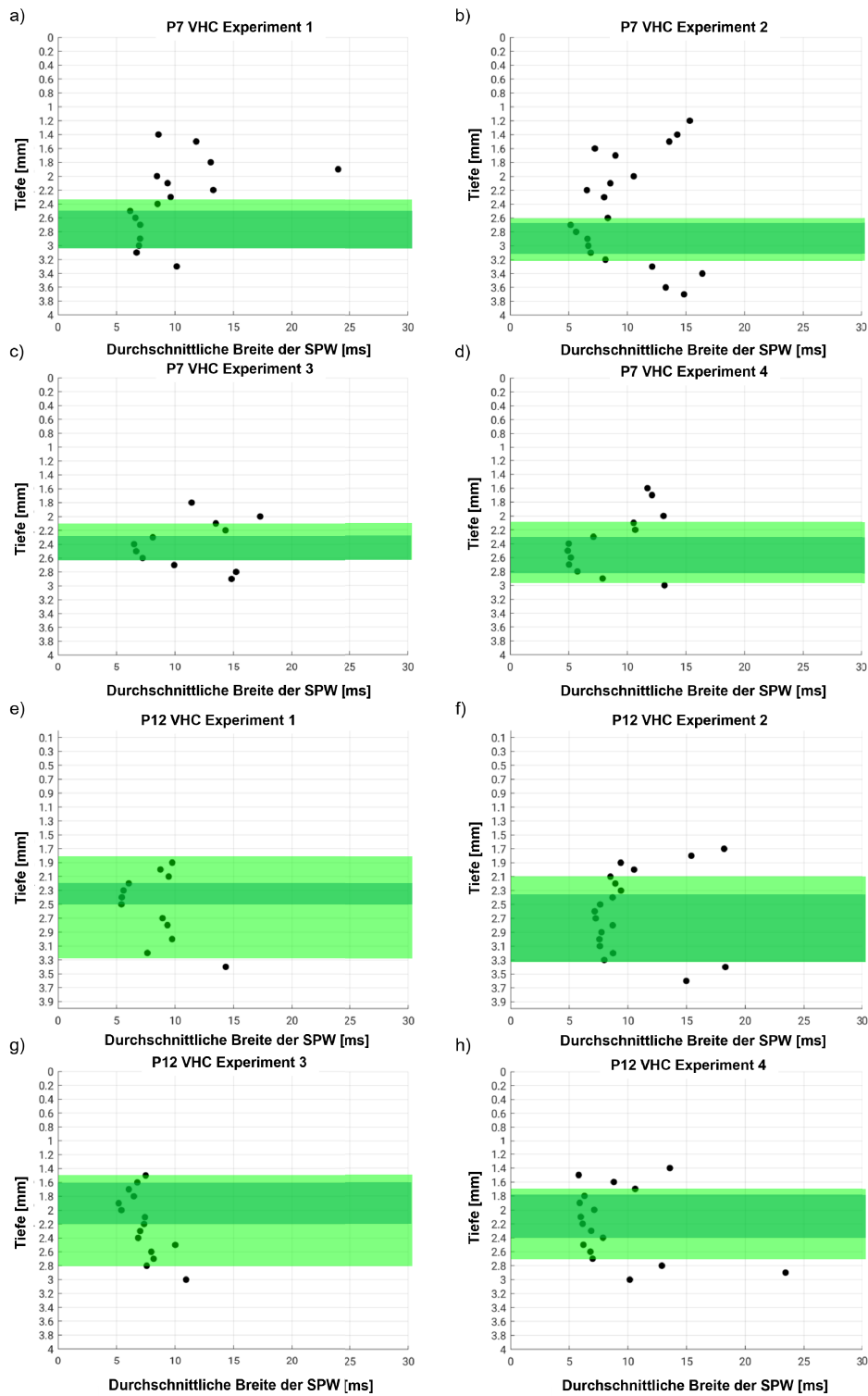


Abbildung 35 (Anhang): Messung der durchschnittlichen Dauer aller stimulierten SPW.

Tiefen mit einer Erfolgsquote von mindestens 80 % sind grün schattiert. SPW mit einer Verzögerung von unter 15 ms (P12-Experiment 1: 10 ms) sind dunkelgrün schattiert.

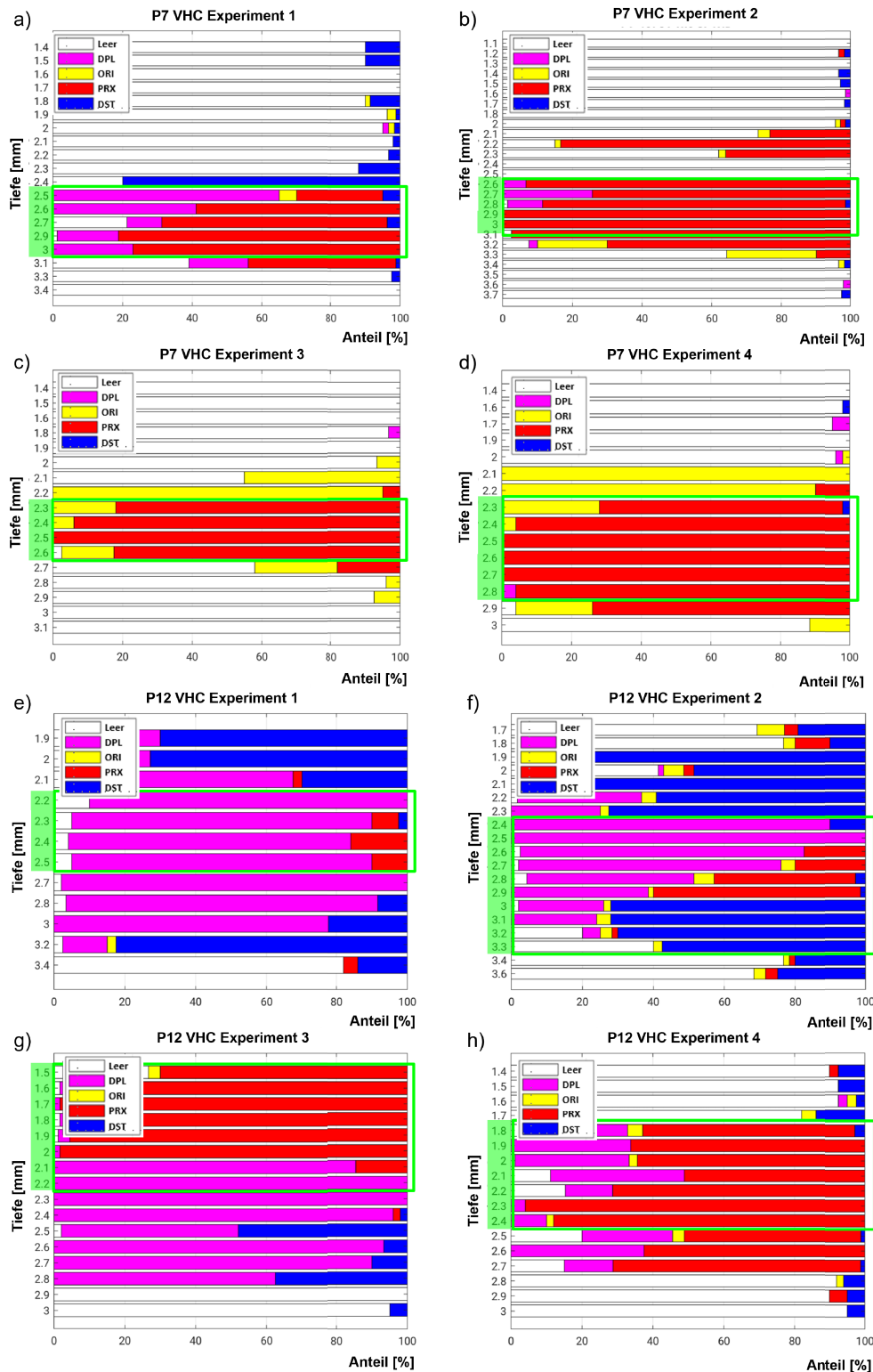
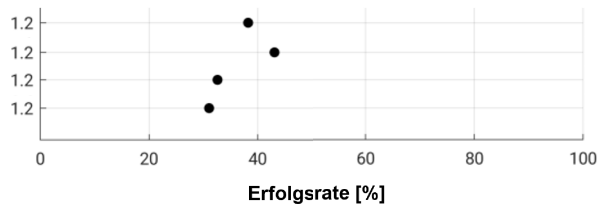


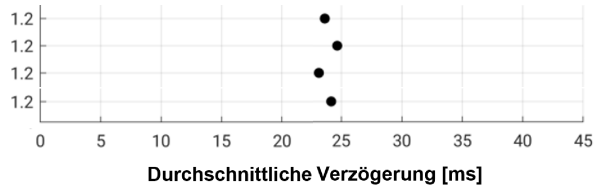
Abbildung 36 (Anhang): Übersicht der Verteilung der SPW-Kategorien pro stimulierte Tiefe.

Die Gesamterfolgsquoten entsprechen der Abbildung 32. Weiß: kein Ereignis detektiert; Magenta: DPL-SPW; Gelb: ORI-SPW; Rot: PRX-SPW; Blau: DST-SPW.

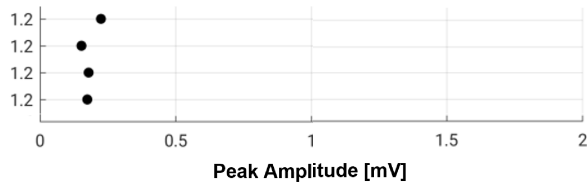
a)



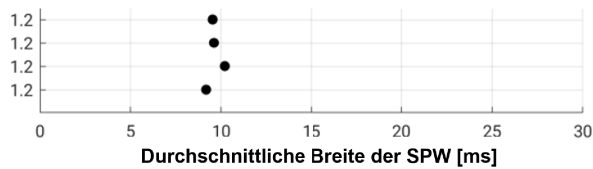
b)



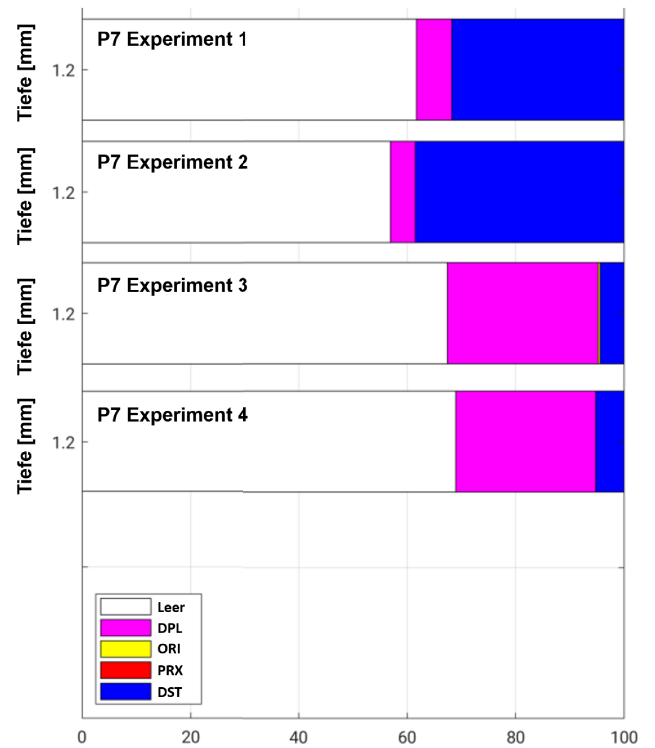
c)



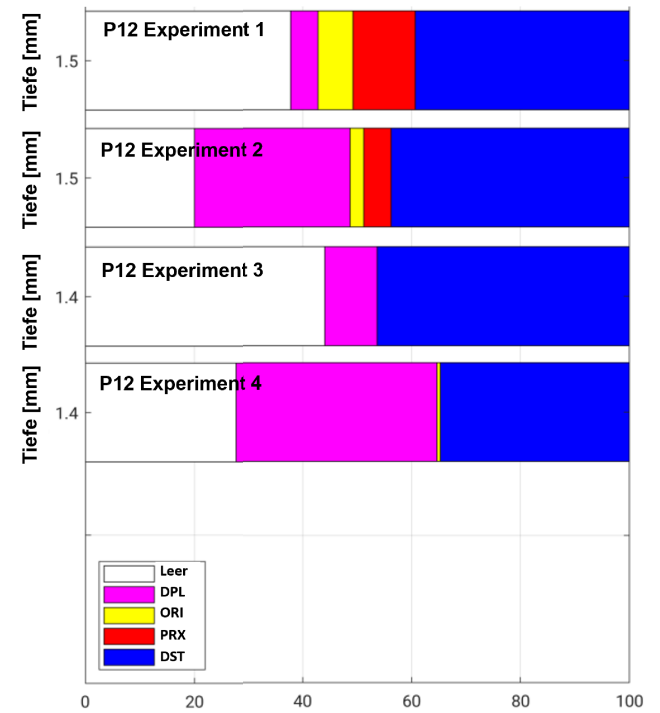
d)



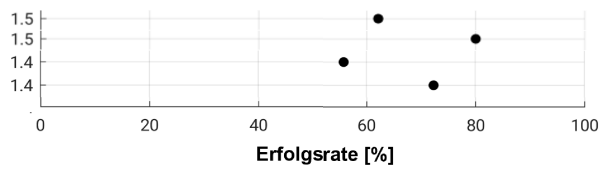
e)



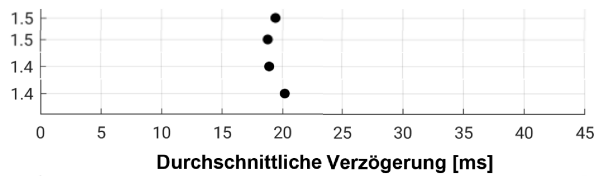
j)



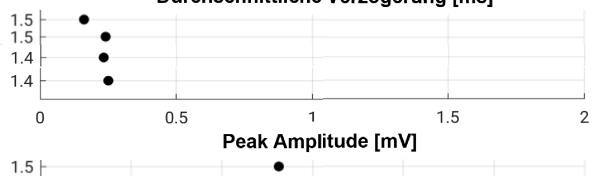
f)



g)



h)



i)



Abbildung 37 (Anhang, vorherige Seite): Übersicht der PP-Stimulation.

Weiß: keine Ereignisse detektiert; Magenta: DPL-SPW; Gelb: ORI-SPW; Rot: PRX-SPW; Blau: DST-SPW. Alle Messwerte wurden im CSD erhoben. (a) P7: Erfolgsrate bei PP-Stimulation; stimulierte SPW/Anzahl Stimulationen (Prozentual). P7-Experiment 1: 65/170 38 %; P7-Experiment 2: 56/130 (43 %); P7-Experiment 3: 88/270 (33 %); P7-Experiment 4: 59/190 (31 %). (b) P7: Durchschnittliche Verzögerung bis SPW-Generation. P7-Experiment 1: 24 ms; P7-Experiment 2: 25 ms; P7-Experiment 3: 23 ms; P7-Experiment 4: 24 ms; (c) P7: Durchschnittliche SPW-Amplitude nach Stimulation. (d) P7: Durchschnittliche SPW-Dauer (bei halber Amplitude) nach Stimulation. (e) Verteilung der SPW-SPW-Kategorien (f) P12: Erfolgsrate bei PP-Stimulation. P12-Experiment 1: 87/140 (62,1429 %); P12-Experiment 2: 64/80 (80 %); P12-Experiment 3: 76/136 (55,8824 %); P12-Experiment 4: 123/170 (72,3529 %). (g) P12: Durchschnittliche Verzögerung bis SPW-Generation. (h) P12: Durchschnittliche SPW-Amplitude nach Stimulation. (i) P12: Durchschnittliche SPW-Dauer (bei halber Amplitude) nach Stimulation.

8.2. Tabellen mit statistischen Analysen

Tabelle 22 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Rate)

P3 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,040000	0,04014	0,008194	0,005347
STA	0,014390	0,02636	0,005124	0,003524
STF	0,007195	0,01318	0,002562	0,001762
P5 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,043110	0,07661	0,01367	0,05172
Standardabweichung	0,017210	0,02173	0,008831	0,02469
Standardfehler	0,007697	0,009716	0,003949	0,01104
P7 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,01931	0,06222	0,02903	0,2753
Standardabweichung	0,01400	0,06177	0,02126	0,2674
Standardfehler	0,006999	0,03089	0,01063	0,1337
P9 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,07389	0,1547	0,2602	1,039
Standardabweichung	0,06587	0,07884	0,2967	0,6764
Standardfehler	0,03294	0,03942	0,1484	0,3382
P12 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,1031	1,044	0,9322	2,479
Standardabweichung	0,03062	1,201	0,8489	1,994
Standardfehler	0,01531	0,6007	0,4245	0,9968
P14 (Rate)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,4253	0,9392	1,978	4,518
Standardabweichung	0,3199	0,3965	0,9697	1,376
Standardfehler	0,1431	0,1773	0,4337	0,6156
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal				

Tabelle 23 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Anteil)

P3 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	43,43	40,33	10,41	5,835
Standardabweichung	5,288	14,51	7,617	3,567
Standardfehler	2,644	7,255	3,808	1,783
P5 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	22,98	41,19	7,458	28,38
Standardabweichung	7,893	6,237	4,709	13,21
Standardfehler	3,530	2,789	2,106	5,908
P7 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	5,456	17,84	9,937	66,77
Standardabweichung	2,762	9,990	4,631	11,30
Standardfehler	1,381	4,995	2,316	5,650
P9 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	4,138	11,78	13,13	70,95
Standardabweichung	1,811	6,272	9,686	9,765
Standardfehler	0,9054	3,136	4,843	4,883
P12 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	3,731	17,50	22,67	56,10
Standardabweichung	3,368	14,46	15,19	22,70
Standardfehler	1,684	7,232	7,593	11,35
P14 (Anteil)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	4,810	12,54	24,15	58,50
Standardabweichung	2,852	4,490	5,254	5,199
Standardfehler	1,276	2,008	2,350	2,325
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal				

Tabelle 24 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Amplitude)

P3 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,2739	0,2776	0,1220	0,1261
Standardabweichung	0,06662	0,07187	0,005586	0,02475
Standardfehler	0,03331	0,03593	0,002793	0,01238
P5 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,2109	0,2262	0,1445	0,1380
Standardabweichung	0,04736	0,03367	0,05019	0,01990
Standardfehler	0,02118	0,01506	0,02244	0,008900
P7 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,1921	0,1425	0,1516	0,1285
Standardabweichung	0,03843	0,02052	0,02207	0,01164
Standardfehler	0,01921	0,01026	0,01103	0,005820
P9 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,1614	0,1362	0,1247	0,1300
Standardabweichung	0,01980	0,02099	0,006957	0,007537
Standardfehler	0,009901	0,01049	0,003479	0,003769
P12 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,1547	0,1465	0,1538	0,1497
Standardabweichung	0,005188	0,007365	0,009447	0,003468
Standardfehler	0,002594	0,003683	0,004723	0,001734
P14 (Amplitude)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	0,2046	0,1819	0,1984	0,1906
Standardabweichung	0,01174	0,004196	0,008809	0,003829
Standardfehler	0,005252	0,001877	0,003939	0,001712
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal				

Tabelle 25 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Dauer)

P3 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	10,71	15,34	21,62	14,22
Standardabweichung	1,506	2,389	2,086	1,514
Standardfehler	0,7528	1,194	1,043	0,7570
P5 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	10,74	15,86	23,61	13,23
Standardabweichung	0,6293	0,8189	4,633	1,226
Standardfehler	0,2814	0,3662	2,072	0,5483
P7 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	9,580	10,71	12,43	11,87
Standardabweichung	2,140	5,080	4,247	1,485
Standardfehler	1,070	2,540	2,123	0,7424
P9 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	10,20	13,28	16,39	11,87
Standardabweichung	0,7346	2,640	1,036	0,9653
Standardfehler	0,3673	1,320	0,5179	0,4827
P12 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	13,06	18,70	16,08	14,42
Standardabweichung	1,216	1,728	0,8875	2,746
Standardfehler	0,6080	0,8640	0,4438	1,373
P14 (Dauer)	DPL	ORI	PRX	DST
Ø	12,38	18,53	15,60	14,58
Standardabweichung	0,8005	0,5353	0,8048	1,493
Standardfehler	0,3580	0,2394	0,3599	0,6675
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. CSD: Current Source Density; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal				

Tabelle 26 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Rate)

P3 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	*
ORI	ns		ns	*
PRX	ns	ns		ns
DST	*	*	ns	
P5 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	ns
ORI	ns		***	ns
PRX	ns	***		*
DST	ns	ns	*	
P7 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	ns	ns		ns
DST	ns	ns	ns	
P9 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	*
ORI	ns		ns	*
PRX	ns	ns		ns
DST	*	*	ns	
P12 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	ns	ns		ns
DST	ns	ns	ns	
P14 SPW Rate [Hz]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	***
ORI	ns		ns	***
PRX	ns	ns		**
DST	***	***	**	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

DPL, ORI, PRX, DST.

ANOVA: *Analysis-of-variance*; CSD: Current Source Density; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal

Tabelle 27 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Anteil)

P3 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	***	***
ORI	ns		**	***
PRX	**	**		ns
DST	**	***	ns	
P5 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		*	ns	ns
ORI	*		***	ns
PRX	ns	***		**
DST	ns	ns	**	
P7 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	***
ORI	ns		ns	***
PRX	ns	ns		***
DST	***	***	***	
P9 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	***
ORI	ns		ns	***
PRX	ns	ns		***
DST	***	***	***	
P12 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	**
ORI	ns		ns	*
PRX	ns	ns		*
DST	**	*	*	
P14 SPW Anteil [%]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	***	***
ORI	ns		**	***
PRX	***	**		***
DST	***	***	***	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

ANOVA: *Analysis-of-variance*; CSD: Current Source Density; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal

Tabelle 28 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Amplitude)

P3 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	**	**
ORI	ns		**	**
PRX	**	**		ns
DST	**	**	ns	
P5 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	*
ORI	ns		*	*
PRX	ns	*		ns
DST	*	*	ns	
P7 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	*
ORI	ns		ns	ns
PRX	ns	ns		ns
DST	*	ns	ns	
P9 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	*	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	*	ns		ns
DST	ns	ns	ns	
P12 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	ns	ns		ns
DST	ns	ns	ns	
P14 SPW Amplitude [mV]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		**	ns	ns
ORI	**		*	ns
PRX	ns	*		ns
DST	ns	ns	ns	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

ANOVA: *Analysis-of-variance*; CSD: Current Source Density; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal

Tabelle 29 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen internen Vergleich (Dauer)

P3 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		*	***	ns
ORI	*		**	ns
PRX	***	**		***
DST	ns	ns	***	
P5 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		*	***	ns
ORI	*		*	ns
PRX	***	*		***
DST	ns	ns	***	
P7 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	ns	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	ns	ns		ns
DST	ns	ns	ns	
P9 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		ns	***	ns
ORI	ns		ns	ns
PRX	***	ns		**
DST	ns	ns	**	
P12 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		**	ns	ns
ORI	**		ns	*
PRX	ns	ns		ns
DST	ns	*	ns	
P14 SPW Dauer [ms]	DPL	ORI	PRX	DST
DPL		***	***	*
ORI	***		**	***
PRX	***	**		ns
DST	*	***	ns	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; p < 0,001 = ***).

ANOVA: *Analysis-of-variance*; CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; PRX: Proximal

Tabelle 30 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Rate)

Rate (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,040000	0,043110	0,019310	0,07389	0,1031	0,4253
Standardabweichung	0,014390	0,017210	0,014000	0,06587	0,03062	0,3199
Standardfehler	0,007195	0,007697	0,006999	0,03294	0,01531	0,1431
Rate (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,04014	0,07661	0,06222	0,1547	1,044	0,9392
Standardabweichung	0,02636	0,02173	0,06177	0,07884	1,201	0,3965
Standardfehler	0,01318	0,009716	0,03089	0,03942	0,6007	0,1773
Rate (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,008194	0,01367	0,02903	0,2602	0,9322	1,978
Standardabweichung	0,005124	0,008831	0,02126	0,2967	0,8489	0,9697
Standardfehler	0,002562	0,003949	0,01063	0,1484	0,4245	0,4337
Rate (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,005347	0,05172	0,2753	1,039	2,479	4,518
Standardabweichung	0,003524	0,02469	0,2674	0,6764	1,994	1,376
Standardfehler	0,001762	0,01104	0,1337	0,3382	0,9968	0,6156
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal						

Tabelle 31 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Anteil)

Anteil (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	43,43	22,98	5,456	4,138	3,731	4,810
Standardabweichung	5,288	7,893	2,762	1,811	3,368	2,852
Standardfehler	2,644	3,530	1,381	0,9054	1,684	1,276
Anteil (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	40,33	41,19	17,84	11,78	17,50	12,54
Standardabweichung	14,51	6,237	9,990	6,272	14,46	4,490
Standardfehler	7,255	2,789	4,995	3,136	7,232	2,008
Anteil (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	10,41	7,458	9,937	13,13	22,67	24,15
Standardabweichung	7,617	4,709	4,631	9,686	15,19	5,254
Standardfehler	3,808	2,106	2,316	4,843	7,593	2,350
Anteil (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	5,835	28,38	66,77	70,95	56,10	58,50
Standardabweichung	3,567	13,21	11,30	9,765	22,70	5,199
Standardfehler	1,783	5,908	5,650	4,883	11,35	2,325
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal						

Tabelle 32 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Amplitude)

Amplitude (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,27390	0,21090	0,19210	0,161400	0,154700	0,204600
STA	0,06662	0,04736	0,03843	0,019800	0,005188	0,011740
STF	0,03331	0,02118	0,01921	0,009901	0,002594	0,005252
Amplitude (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,27760	0,22620	0,14250	0,13620	0,146500	0,181900
STA	0,07187	0,03367	0,02052	0,02099	0,007365	0,004196
STF	0,03593	0,01506	0,01026	0,01049	0,003683	0,001877
Amplitude (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,12200	0,14450	0,15160	0,124700	0,153800	0,198400
STA	0,005586	0,05019	0,02207	0,006957	0,009447	0,008809
STF	0,002793	0,02244	0,01103	0,003479	0,004723	0,003939
Amplitude (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	0,12610	0,13800	0,12850	0,130000	0,149700	0,190600
STA	0,02475	0,01990	0,01164	0,007537	0,003468	0,003829
STF	0,01238	0,008900	0,005820	0,003769	0,001734	0,001712
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler						

Tabelle 33 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der vier untersuchten Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Dauer)

Dauer (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	10,710	10,740	9,580	10,200	13,060	12,380
STA	1,5060	0,6293	2,140	0,7346	1,2160	0,8005
STF	0,7528	0,2814	1,070	0,3673	0,6080	0,3580
Dauer (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	15,34	15,86	10,71	13,28	18,700	18,530
STA	2,389	0,8189	5,080	2,640	1,728	0,5353
STF	1,194	0,3662	2,540	1,320	0,8640	0,2394
Dauer (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	21,62	23,61	12,43	16,39	16,08	15,60
STA	2,086	4,633	4,247	1,036	0,8875	0,8048
STF	1,043	2,072	2,123	0,5179	0,4438	0,3599
Dauer (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
Ø	14,220	13,230	11,870	11,870	14,42	14,580
STA	1,5140	1,2260	1,4850	0,9653	2,746	1,4930
STF	0,7570	0,5483	0,7424	0,4827	1,373	0,6675
Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm ²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. CSD: <i>Current Source Density</i> ; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler						

Tabelle 34 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Rate)

Rate (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	**
P5	ns		ns	ns	ns	**
P7	ns	ns		ns	ns	**
P9	ns	ns	ns		ns	*
P12	ns	ns	ns	ns		*
P14	**	**	**	*	*	
Rate (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	ns	ns
P9	ns	ns	ns		ns	ns
P12	ns	ns	ns	ns		ns
P14	ns	ns	ns	ns	ns	
Rate (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	***
P5	ns		ns	ns	ns	***
P7	ns	ns		ns	ns	***
P9	ns	ns	ns		ns	**
P12	ns	ns	ns	ns		ns
P14	***	***	***	**	ns	
Rate (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	*	***
P5	ns		ns	ns	*	***
P7	ns	ns		ns	ns	***
P9	ns	ns	ns		ns	***
P12	*	*	ns	ns		ns
P14	***	***	***	***	ns	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal

Tabelle 35 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Anteil)

Anteil (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		***	***	***	***	***
P5	***		***	***	***	***
P7	***	***		ns	ns	ns
P9	***	***	ns		ns	ns
P12	***	***	ns	ns		ns
P14	***	***	ns	ns	ns	
Anteil (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	*	**	*	**
P5	ns		*	**	*	**
P7	*	*		ns	ns	ns
P9	**	**	ns		ns	ns
P12	*	*	ns	ns		ns
P14	**	**	ns	ns	ns	
Anteil (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	ns	ns
P9	ns	ns	ns		ns	ns
P12	ns	ns	ns	ns		ns
P14	ns	ns	ns	ns	ns	
Anteil (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	***	***	***	***
P5	ns		**	***	*	*
P7	***	**		ns	ns	ns
P9	***	***	ns		ns	ns
P12	***	*	ns	ns		ns
P14	***	*	ns	ns	ns	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal

Tabelle 36 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Amplitude)

Amplitude (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	**	**	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	ns	ns
P9	**	ns	ns		ns	ns
P12	**	ns	ns	ns		ns
P14	ns	ns	ns	ns	ns	
Amplitude (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	***	***	***	**
P5	ns		*	**	*	ns
P7	***	*		ns	ns	ns
P9	***	**	ns		ns	ns
P12	***	*	ns	ns		ns
P14	**	ns	ns	ns	ns	
Amplitude (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	**
P5	ns		ns	ns	ns	*
P7	ns	ns		ns	ns	ns
P9	ns	ns	ns		ns	**
P12	ns	ns	ns	ns		ns
P14	**	*	ns	**	ns	
Amplitude (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	***
P5	ns		ns	ns	ns	***
P7	ns	ns		ns	ns	***
P9	ns	ns	ns		ns	***
P12	ns	ns	ns	ns		**
P14	***	***	***	***	**	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL, ORI, PRX, DST. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).

CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ns: Nicht signifikant; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal

Tabelle 37 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der verglichenen Parameter für den Altersgruppen übergreifenden Vergleich (Dauer)

Dauer (DPL)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	**	*
P9	ns	ns	ns		*	ns
P12	ns	ns	**	*		ns
P14	ns	ns	*	ns	ns	
Dauer (ORI)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	**	**
P9	ns	ns	ns		ns	ns
P12	ns	ns	**	ns		ns
P14	ns	ns	**	ns	ns	
Dauer (PRX)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	**	ns	ns	*
P5	ns		***	*	**	**
P7	**	***		ns	ns	ns
P9	ns	*	ns		ns	ns
P12	ns	**	ns	ns		ns
P14	*	**	ns	ns	ns	
Dauer (DST)	P3	P5	P7	P9	P12	P14
P3		ns	ns	ns	ns	ns
P5	ns		ns	ns	ns	ns
P7	ns	ns		ns	ns	ns
P9	ns	ns	ns		ns	ns
P12	ns	ns	ns	ns		ns
P14	ns	ns	ns	ns	ns	

Rate (Hz); Anteil an der Gesamtheit an Ereignisse (%); Amplitude (CSD; mV/mm²) und Dauer (bei halber Amplitude; ms) für jede der vier Kategorie: DPL-SPW, ORI-SPW, PRX-SPW, DST-SPW. P3: n = 4; P5 n = 5; P7: n = 4; P9: n = 4; P12 n = 4; P14: n = 5. Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***).
CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ns: Nicht signifikant; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal

Tabelle 38 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12:

Erfolgsrate [%]	P7 PP	P12 PP	P7 VHC	P12 VHC
Ø	36,24	67,59	98,65	94,62
STA	5,506	10,70	2,114	1,436
STF	2,753	5,350	1,057	0,7179
Verzögerung [ms]	P7 PP	P12 PP	P7 VHC	P12 VHC
Ø	23,91	19,32	11,69	12,09
STA	0,6548	0,6226	1,237	2,174
STF	0,3274	0,3113	0,6185	1,087

Erfolgsrate (%): Wahrscheinlichkeit das nach einer Stimulation ein Ereignis generiert wurde; Verzögerung (ms): Durchschnittliche Zeit, bis ein Ereignis nach einer Stimulation geniert wurde (nur erfolgreiche Stimulationen berücksichtigt). P7: n = 4; P12 n = 4.
P: Postnatal; PP: *Perforant Path*; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 39 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der Erfolgsrate (%) für P7 und P12.

Erfolgsrate [%]	P7 PP	P12 PP	P7 VHC	P12 VHC
P7 PP		***	***	***
P12 PP	***		***	***
P7 VHC	***	***		ns
P12 VHC	***	***	ns	

P7: n = 4; P12 n = 4; Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($P < 0,05 = *$; $P < 0,01 = **$; $P < 0,001 = ***$).
ANOVA: *Analysis-of-variance*; P: Postnatal; PP: *Perforant Path*; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 40 (Anhang): Tabellarische Auflistung aller Signifikanzen der Verzögerung (ms) für P7 und P12.

Verzögerung [ms]	P7 PP	P12 PP	P7 VHC	P12 VHC
P7 PP		**	***	***
P7 VHC	***		***	**
P12 PP	**	***		ns
P12 VHC	***	***	ns	

P7: n = 4; P12 n = 4; Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($P < 0,05 = *$; $P < 0,01 = **$; $P < 0,001 = ***$).
ANOVA: *Analysis-of-variance*; P: Postnatal; PP: *Perforant Path*; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 41 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen

Amplitude (mV/mm ²)	P7 DPL	P7 ORI	P7 PRX	P7 DST	P7 PP	P7 VHC	P12 DPL	P12 ORI	P12 PRX	P12 DST	P7 VHC	P12 VHC
Ø	0,2193	0,1851	0,1271	0,1287	0,1822	0,2929	0,1674	0,1463	0,1619	0,1544	0,2209	0,3086
STA	0,07313	0,04970	0,02269	0,01709	0,03012	0,1358	0,00178	0,00608	0,01812	0,00706	0,04061	0,08897
STF	0,03657	0,02485	0,01135	0,00855	0,01506	0,06791	0,00089	0,00304	0,00906	0,00353	0,02031	0,04449

Amplitude (CSD, mV/mm²); P7: n = 4; P12 n = 4.
CSD: *Current Source Density*; DPL: *Doppel*; DST: *Distal*; ORI: *Oriens*; P: *Postnatal*; PRX: *Proximal*; STA: *Standardabweichung*; STF: *Standardfehler*

Tabelle 42 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen

Dauer (ms)	P7					
	DPL	ORI	PRX	DST	PP	VHC
Ø	10,87	17,74	24,94	13,07	9,628	6,463
STA	1,860	2,934	12,71	1,340	0,4271	0,7019
STF	0,9299	1,467	6,353	0,6701	0,2136	0,3510

Dauer (halbe Amplitude, CSD, ms), P7: n = 4
CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; PP: *Perforant Path*; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler *Path*; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 43 (Anhang): Auflistung der tabellarischen Werte der zwei stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen

Dauer (ms)	P12					
	DPL	ORI	PRX	DST	VHC	VHC
Ø	12,83	19,81	16,67	13,79	10,10	6,658
STA	0,4272	0,6697	0,7802	1,688	2,063	0,9387
STF	0,2136	0,3349	0,3901	0,8441	1,031	0,4694

Dauer (halbe Amplitude, CSD, ms), P12 n = 4.
CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; PP: *Perforant Path*; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 44 (Anhang): Auflistung der Signifikanzen der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen

Amplitude (mV/mm ²)	P7 DPL	P7 ORI	P7 PRX	P7 DST	P7 PP	P7 VHC	P12 DPL	P12 ORI	P12 PRX	P12 DST	P12 PP	P12 VHC
P7 DPL		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 ORI	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 PRX	ns	ns		ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 DST	ns	ns	ns		ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	**
P7 PP	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 VHC	ns	ns	**	**	ns		ns	*	ns	ns	ns	ns
P12 DPL	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	*
P12 ORI	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns		ns	ns	ns	*
P12 PRX	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	*
P12 DST	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	*
P12 PP	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns
P12 VHC	ns	ns	ns	**	ns	ns	*	*	*	*	ns	

Amplitude (CSD, mV/mm²); P7: n = 4; P12 n = 4.
Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet (P < 0,05 = *; P < 0,01 = **; P < 0,001 = ***). Blau schattiert sind die Vergleiche der Grundlinienaktivität an P7 und P12 mit den beiden stimulierten Bereichen im jeweiligen Alter.
CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; PP: *Perforant Path*; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 45 (Anhang): Auflistung der Signifikanzen der zwei Stimulierten Bereiche PP und VHC für P7 und P12 sowie Grundlinienaktivität für beide Altersgruppen

Dauer (ms)	P7 DPL	P7 ORI	P7 PRX	P7 DST	P7 PP	P7 VHC	P12 DPL	P12 ORI	P12 PRX	P12 DST	P7 VHC	P12 VHC
P7 DPL		ns	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 ORI	ns		ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	*
P7 PRX	***	ns		**	***	***	**	ns	ns	*	***	***
P7 DST	ns	ns	**		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
P7 PP	ns	ns	***	ns		ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
P7 VHC	ns	*	***	ns	ns		ns	**	*	ns	ns	ns
P12 DPL	ns	ns	**	ns	ns	ns		ns	ns	ns	ns	ns
P12 ORI	ns	ns	ns	ns	*	**	ns		ns	ns	ns	**
P12 PRX	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns		ns	ns	*
P12 DST	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns	ns
P12 PP	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns		ns	ns
P12 VHC	ns	*	***	ns	ns	ns	ns	**	*	ns	ns	

Dauer (halbe Amplitude, CSD, ms); P7: n = 4; P12 n = 4.

Alle Signifikanzen wurden mittels 1way-ANOVA mit Tukeys Post-Hoc Test berechnet ($P < 0,05 = *$; $P < 0,01 = **$; $P < 0,001 = ***$). Blau schattiert sind die Vergleiche der Grundlinienaktivität an P7 und P12 mit den beiden stimulierten Bereichen im jeweiligen Alter.

CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; PP: *Perforant Path*; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

Tabelle 46 (Anhang): Übersicht der Spaltenwert des SPW-Anteils.

Anteil (DPL)	P4WT	P4KO	P7WT	P7KO	P12WT	P12WT
Ø	30,52	30,19	9,991	25,99	3,993	4,686
STA	3,744	4,818	7,494	12,90	3,334	3,346
STF	1,528	1,821	3,060	5,768	1,491	1,183
Anteil (ORI)	P4WT	P4KO	P7WT	P7KO	P12WT	P12WT
Ø	51,16	46,67	28,97	29,50	7,156	14,12
STA	4,430	2,903	9,043	13,94	1,764	8,016
STF	1,809	1,097	3,692	6,235	0,7888	2,834
Anteil (PRX)	P4WT	P4KO	P7WT	P7KO	P12WT	P12WT
Ø	11,45	18,99	4,393	10,12	12,38	19,44
STA	4,778	5,919	3,430	12,16	1,619	9,731
STF	1,951	2,237	1,400	5,437	0,7239	3,441
Anteil (DST)	P4WT	P4KO	P7WT	P7KO	P12WT	P12WT
Ø	6,865	4,152	56,64	34,40	76,47	61,76
STA	4,997	5,364	17,98	18,95	2,135	10,28
STF	2,040	2,027	7,340	8,474	0,9549	3,636

Signifikante Vergleiche sind orange schattiert ($p < 0,05$), Trends ($p > 0,05$ & $< 0,1$) sind blau schattiert.

CSD: *Current Source Density*; DPL: Doppel; DST: Distal; ORI: Oriens; P: Postnatal; PRX: Proximal; PP: *Perforant Path*; STA: Standardabweichung; STF: Standardfehler; VHC: *Ventral hippocampal commissure*

8.3. Matlab-Skripte Kopien

8.3.1. Basisskripte zur Prozessierung der Rohdaten

8.3.1.1. Basic-1_make_DAT_and_EEG.m

```
%% function make_DAT_and_EEG(animals,IDs2use,useNl2Dat,onlyEEG)
% function to make .dat and .eeg files of recorded .ncs files
% IDs2use: which IDs (row numbers) of the animal struct should be used; e.g. [5:21], default (if left empty) is
% 1:length(animals)
% # IDs2use = 1:21
% useNl2Dat: (boolean) if yes (1) the script uses the outdated "nl2dat_zmnh1" programm, may produce dat-files where
% process_nlx fails; default (if empty) is 0
% useNl2Dat: 0
% onlyEEG: (boolean) if set to 1 the DAT creation is skipped and only EEGs are done (DAT-files must exist); default (if
% empty) is 0
% # onlyEEG = 0
% dat-files are downsampled with factor 25 (e.g. 32000 -> 1280)

function make_DAT_and_EEG(animals,IDs2use,useNl2Dat,onlyEEG)

%fprintf('### ----> STRUCT: %s <--- ###\n', animals(1).version); % display

%% error checks
if ~myisboolean(onlyEEG); error('onlyEEG is not a boolean');
elseif ~myisboolean(useNl2Dat); error('useNl2Dat is not a boolean');
end

%% default values
if isempty(IDs2use), IDs2use = 1:length(animals); end
if isempty(useNl2Dat), useNl2Dat = 0; end % by default the "new" process_nlx is used for dat-files
if isempty(onlyEEG), onlyEEG = 0; end % by default both dat- and eeg-files are created

%% main loop
for n = IDs2use
    % defines the file path and names
    sourcePath = [animals(n).dir]; % main directory
    filePath = [animals(n).fullpath]; % main file directory
    datFile = [filePath '.dat']; % complete dat-file name
    eegFile = [filePath '.eeg']; % complete eeg-file name
    ncsFiles = [sourcePath '*.ncs']; % ncs-files name string
    ncsFileCount = length(dir([sourcePath, '*.ncs']));
    nChString = num2str(ncsFileCount); % total number of channels as a string

    %% sanity checks
    if (~ exist(sourcePath))
        error(['Type in fileList!! dirName: ' sourcePath ' was not an existing directory!']);
    end

    if ncsFileCount == 0 && ~onlyEEG && ~exist(datFile,'file')
        warning('No ncs-files and no dat-file found, skipping...')
        continue
    elseif ncsFileCount == 0 && ~onlyEEG && exist(datFile,'file')
        warning('No ncs-files found but script was not set to do the EEG only, existing dat-file is used')
        warning('number of channels is taken from the excel!')
        nChString = num2str(animals(n).nCh); % total number of channels as a string
    elseif ncsFileCount == 0 && onlyEEG && ~exist(datFile,'file')
        warning('No dat-file found but script was set to do the EEG only and no ncs-files found, skipping...')
        continue
    elseif ~ncsFileCount == 0 && onlyEEG && ~exist(datFile,'file')
        warning('No dat-file found but script was set to do the EEG only; ncs-files found, recalculating dat-file')
        makeDatCmd = ['process_nlxconvert -o ' filePath ' -s -e -a -w ' ncsFiles ' ' sourcePath 'Events.nev'];
        % without -w command
        [status result] = system(makeDatCmd);
    % elseif ~ncsFileCount == 0 && onlyEEG && ~exist(datFile,'file')
    %     warning('No dat-file found but script was set to do the EEG only; ncs-files found, recalculating dat-file')
    %     makeDatCmd = ['ncs2dat ' filePath ' ' ncsFiles];
    end

    %% make DAT
    % creates the string for the dat-file creation / acute setup, no video
    if ~onlyEEG
        if useNl2Dat
            makeDatCmd = ['ls ' ncsFiles 'nl2dat_zmnh1 -o ' datFile];
        else
            makeDatCmd = ['process_nlxconvert -o ' filePath ' -s -e -a -w ' ncsFiles ' ' sourcePath 'Events.nev'];
        end

        disp(['***Making .dat file for: ' num2str(animals(n).ID)]); % first, make the .dat file with process_nlxconvert
        [status result] = system(makeDatCmd)
    end

    %% make EEG
    % creates the string for the eeg-file creation
```



```

% TODO: check whether .xls.nCh value (in struct) matches size of ncsFiles
% IF NOT: send warning but use the number of files from the glob regexp ncsFiles
makeEegCmd = [downsample ' datFile ' eegFile ' ' nChString ' 25 0']; % fixed downsample value

% second, use 'downsample' to make the .eeg file from the .dat
disp(['***Making .eeg file for: ' num2str(animals(n).ID)]);
[status result] = system(makeEegCmd)
end

```

8.3.1.2. *Basic-2_interpolate_Channels.m*

```

function interpolate_Channels(animals,IDs2use,file2interpolate)

%% interpolate_Channels
% interpolate_Channels
% interpolates channels in the eeg based on the paramters in the excel
% no outputfile, function will overwrite existing data
% uses the bad channel list from the animals-excel
% useses "probeSetup" to determine to position of the movement and edge channels to be excluded from the interpolation
%
%%%% variables %%%
%
% animals: the overarching animals struct
% # animals = animals
%
% IDs2use: specifies which animals from the struct should be analyzed; works as "detectPeriod".
% 1:10 = (animal 1 until 10), [] = all animals, [1:4, 7:10] = animals 1 until 4 and 7 until 10
% # IDs2use = [1:10]
%
% file2interpolate: file-ending of the file to be interpolated
% # file2interpolate = '.eeg'in

for n = IDs2use
    counter = 0; % reset counter

    if ~isnan(animals(n).badCh) % if there are bad channels
        for m = 1:length(animals(n).probeSetup) % go through the probe setup defined by the xls2struct and make_struct
            if sum([strcmp(animals(n).probeSetup(m).location, {'mov','stim'})]) == 0 % if not move or stim
                counter = counter + 1; % count up
                skipChs(counter) = animals(n).probeSetup(m).ChList(1); % add skip first channel of the probe
                counter = counter + 1; % count up
                skipChs(counter) = animals(n).probeSetup(m).ChList(end); % add skip last channel of the probe
            elseif strcmp(animals(n).probeSetup(m).location, 'mov') % if a movement channel is detected
                counter = counter + 1; % count up
                skipChs(counter) = animals(n).probeSetup(m).movCh; % add skip movement channel
            elseif strcmp(animals(n).probeSetup(m).location, 'stim') % if a movement channel is detected
                counter = counter + 1; % count up
                skipChs(counter) = animals(n).probeSetup(m).stimCh; % add skip movement channel
            end
        end

        badChs = animals(n).badCh; % grab the bad channels
        badChs2Interpolate = setdiff(badChs,skipChs); % delete any channel that cannot be interpolated

        if ~isempty(badChs2Interpolate) % as long if a channel is left to be interpolated
            fid = fopen([animals(n).fullpath '.interpolated_chans'],'w'); % create and open a list

            for m = 1:length(badChs2Interpolate) % interpolate the bad channels with the auxillary function
                interpolate_Channels_aux([animals(n).fullpath file2interpolate],badChs2Interpolate(m),animals(n).nCh);
            end

            fclose(fid); % close the file
        end
    end
end
end

```

8.3.1.3. *Basic-3_create_BFIL_and_CSD_animals.m*

```

%% function create_BFIL_and_CSD_animals
% this script will create two bandpassfiltered files out of the original eeg-file
% uses the animals-struct
% one 1-50 Hz (low-high cut) filtered for use with "CheckEeg"
% one 1-200 Hz (low-high cut) filtered to create an eeg
% keep in mind that the original eeg-file appears filtered due to the downsampling for precision use the dat-file
% if the script crashes with an error message that matlab can't find the path of an internal function
% (e.g. during the butter function) go to "Set Path" and click "Default" this will replace the current setpath with
% the correct default for the active matlab version
% ATTENTION: this will wipe-out your current path, note which path you had included before hitting "Default"
% the for-loop can be adjusted to work on single animals only
% if you want to run over all animals use:
% # for n = 1:size(animals,1)
% if you want to run only over a single animal you need to the struct_ID (not the Name ID) which is the usually the row of the excel-sheet - 2
% # for n = 102
% if you want to use a subset:
% # for n = 102:106
% for multiple subsets
% # for n = [40:42 81:87 102:105]

% animals: the indisasable animals struct
% # animals = animals

```

```

% IDs2Use: which IDs from the animals struct should be processed, can be left empty for all animals. For single animals
% just use the ID from the excel (e.g. 42) or an array (1:42) or combinations ([1:42,48,54:84]) for the last examples
% brackets are necessary
% # IDs2Use = []

function create_BFIL_and_CSD_animals(animals,IDs2use)

fprintf('### ----> STRUCT: %s <--- ###\n', animals(1).version); % displays the current version of the animals struct

%% loop over all animals
if isempty(IDs2use)
    IDs2use = 1:size(animals,1);
end

for n = IDs2use % change here for individual animals 1:length(animals)
    disp(num2str(animals(n).ID)) % displays the current ID
    disp(Filtering...); % display

    %% xml_load
    xmlParameters = xml_load([animals(n).fullpath 'xml']); % loads the xml-file
    fs = str2double(xmlParameters.fieldPotentials.lfpSamplingRate); % grabs the sampling rate from the xml-file
    nCh = str2double(xmlParameters.acquisitionSystem.nChannels); % grabs the number of channels from the xml-file

    %% variable definition
    eegFile = [animals(n).fullpath 'eeg']; % specifies the name of the EEG-file for the script
    % saves the string for the butter function (1 Hz low cut, 50 Hz high cut)
    bfilFile1 = [animals(n).fullpath 'bfil_1-50'];
    % saves the string for the butter function (1 Hz low cut, 200 Hz high cut)
    bfilFile2 = [animals(n).fullpath 'bfil_1-200'];

    %% But Filter Bandpass
    ButFilterBandpass(eegFile,bfilFile1,nCh,1:nCh,1,50,fs);
    ButFilterBandpass(eegFile,bfilFile2,nCh,1:nCh,1,200,fs);

    %% CSD
    disp(creating CSD...); % display
    createCSDAllCh(animals(n).fullpath,bfil_1-200,'csdall'); % uses the newly generated bfil_1-200 file for a CSD
end

```

8.3.1.4. Basic-4_filter_all_CSDs_RTH.m

```

%% script to filter all files in an animals struct

%% load struct
make_neonatal_development_struct
%make_neonatal_NKCC1_struct
%make_adult_NKCC1_struct

%% default parameters
lowCut = 4;
highCut = 80;

inExt = '.csdall';
% for default settings ".csdall_1-100" 1 = lowCut; 100 = highCut
outExt = [inExt '_' num2str(lowCut) '-' num2str(highCut)];

%% specific for 42.. on HOG use 6 or less cores please
delete(gcp('nocreate')), parpool(12)

%% filter all CSD file
parfor n = 1:length(animals)
    fullpath = animals(n).fullpath; % each animals base

    if ~exist([fullpath inExt], 'file')
        warning([fullpath inExt ' is missing for: ' num2str(animals(n).ID) '! Skipping...']);
        continue
    end

    if exist([fullpath outExt], 'file')
        warning([outExt 'file already exists for: ' num2str(animals(n).ID) '! Skipping...']);
        continue
    end

    disp(['creating ' outExt '-file for: ' num2str(animals(n).ID) '! please wait...']); % display fullpath

    xmlParameters = xml_load([fullpath 'xml']); % loads the xml-file
    fs = str2double(xmlParameters.fieldPotentials.lfpSamplingRate); % grabs the sampling rate from the xml-file
    nCh = str2double(xmlParameters.acquisitionSystem.nChannels); % grabs the number of channels from the xml-file

    ButFilterBandpass([fullpath inExt],[fullpath outExt],nCh,1:nCh,lowCut,highCut,fs);
end

```

8.3.1.5. Basic-5_make_dual-file_EEG_with_CSD.m

```
clear animals
%load the 'animals' struct

make_neonatal_development_struct_new

%matlabpool(2)
parfor i=1:length(animals)
    par = xml_load([animals(i).fullpath '.xml']); %loads the xml-file
    nCh = str2num(par.acquisitionSystem.nChannels); %grabs the number of channels from the xml-file
    movChan = nCh-16; %defines the movement channel as number 16 (all channels minus 16 channels (one prone)
    nChCtx = movChan-1; %defines the cortex channels end one before the movement-channel
    movStart = movChan-1; % defines the movement channel

    disp(['Making the Ctx/CSD file for ' num2str(animals(i).ID)]);
    disp('Working...');

    base = animals(i).fullpath;
    bfilfile = [base '.bfil1-4'];
    eegfile = [base '.eeg'];
    csdfile = [base '.csdall'];
    ctxfile = [base '.ctx.eeg'];

    %bfil = bload(bfilfile,[10 lnf,0,'10*short=>single',(33-10)*2]);
    eeg = bload(eegfile,[nChCtx lnf,0,[num2str(nChCtx) '*short=>single',(nCh-nChCtx)*2]);
    csd = bload(csdfile,[nChCtx lnf,0,[num2str(nChCtx) '*short=>single',(nCh-nChCtx)*2]);
    mov = bload(eegfile,[1 lnf,movStart*2,short',(nCh-1)*2]);

    [fid,msg] = fopen(ctxfile,'wb');
    if (fid == -1)
        error(msg);
    end
    disp([num2str(animals(i).ID) ' : ' num2str(fwrite(fid,[eeg;mov;csd;mov], 'short'))]);
    fclose(fid);

    %system(['cp /mnt/raid/data_dir/robinh/acute_recordings/neonatal_development/32/2013-09-23_11-04-01/32_230902013_01ctx.nrs ' base '.ctx.nrs']);
    %system(['cp /mnt/raid/data_dir/robinh/acute_recordings/neonatal_development/32/2013-09-23_11-04-01/32_230902013_01ctx.xml ' base '.ctx.xml']);
end
%matlabpool close
```

8.3.2. Detektionsskripte

8.3.2.1. Detection_1_CheckEegStates_RTH_v002.m

```
function CheckEegStates_RTH_v002(animals,skipMode,stateName)

% GUI for spectral representation of the eeg andsegmenting into states
% unified to work with either an animals struct or without
%
% animals: the overarching animals struct, created by either a 95-style-Excel (.xls) or a modern (.xlsx) Excel, can be
% left empty [], if left empty the script will ask for the different parameters individually which can't be left empty.
% # animals = animals
%
% skipMode: (boolean) if on (1) all settings are set to automatic readout for faster analysis, if off (0) the script
% will ask for each animal if automatic ([]) or an individual setting should be used, skipMode is set to
% off if animals is empty
%
% The following keys switch (on/off) the following behavior:
% t (default) / left click (alternative) - to move the current position pointer
% and display the corresponding trace of eeg'
% n (default) / right click (alternative) - add new region: first click set's one border, second - the other
% m - move one border: click next to the border and drag it where you want or click a new location
% ATTENTION: moves the closest border!
% d - delete the border: Just click on the border
% ATTENTION: deletes the closest border!
% z - toggles zoom state: Mouse :left/right click - zoom in/out the position of the mouse
% Keyboard: f - resets x axis to max
% arrows up/down - zoom in/out the current position
% c - and then up/down - rescale the color axis in spectrograms'...'
% f - and then up/down - zoom in/out the y axis in spectrograms'...'
% w - and then up/down - decrease/increas the size of the window for the traces display
% These keys do:
% h - shows help box
% u - update periods: Removes deleted and reorders all lines, pairs consecutive ones.
% Colorizes blue "beginning", red "ending"
% s - save the results in the file (currently ASCII two column, 1280)
% l - load segmentation periods from a file
% arrows left/right - move in the spectrogram
% space - move to the closest fromt the right beginning of a period
% a - automatics segementation tool:
% To use it mark boundaries of a segment you want to process automatically,
% click inside and press 'a'. A menu to select passband/stopband and channel
% to use will show up. The stopband can be more than one set of bands. The
% algorithym will compute ratio of power in pass/stop bands and perform HMM
% two stage fit. New segments that correspond to the state with high values
% of the power ratio will appear. You may have to wait a bit.
% Mouse click in trace (default) mode does:
% left - view trace at the point of click
```

```

% night - add new border, middle - move the border
%
% modified by Robin to work either as a standalone (given a complete path) or with the animals struct
% questdialogs will ask the user to specify certain values
% v002 uses the field names of the new excel datasheets (this here is v002)
% changes v001 --> v002
% - added "skipMode" if turned on all values are taken out automatically from the struct based on the animal ID
% - added while checks for the non-struct mode that values can be reentered without an error
% - fs (1fp sampling rate) is taken out of the xml instead of hard coded (as most other values)
% - some variables renamed for better readability and to fit the standards

%% default values
% change here for non standard recordings
fileExtension = 'eeg';
clims = [-150 -120];
doWindow = 1;
auxData = [];
movShrink = 10;
action = 'display';
doOverwrite = 0;

%% for old color scheme
disp('### ### ### ### ### ### ### ### ### ###')
disp('Please check bfil extensions and sampling rate within the script!')
disp('### ### ### ### ### ### ### ### ### ###')

%bfilExtension1 = 'bfil1-4';
%bfilExtension2 = 'bfil1-20';
bfilExtension1 = 'bfil_1-50';
bfilExtension2 = 'bfil_1-200';

disp(['Current file extensions are: ' bfilExtension1 ' & ' bfilExtension2])
disp('### ### ### ### ### ### ### ### ### ###')

matlabVersion = version('-release'); % make compatible with different matlab versions

if strcmp(matlabVersion,'2017a') || strcmp(matlabVersion,'2018a')
    set(groot,'DefaultAxesColorOrder',[0 0 1; 0 .5 0; 1 0 0; 0 .75 .75; .75 0 .75; .75 .75 0; .25 .25 .25],...
        'DefaultFigureColormap','jet');
    delete(gcf)
end

if isempty(animals)
    fieldID = input('Please type in the fullpath (complete path without the ending [eg. .eeg]): \n');
    skipMode = 0;
else
    fieldID = input('--> Which field ID does your animal have in the animals struct?: \n');

    while isempty(fieldID)
        disp('Without an animal ID (field ID) the script does not work, please retry...');
        fieldID = input('--> Which field ID does your animal have in the animals struct?: \n');
    end
end

%fieldID = 108; % if a animals struct is present this can be activated (uncommented) to run on a fixed animal (ID)

if ischar(fieldID)
    indvPath = 1;
else
    indvPath = 0;
end

if isempty(fieldID) % testing if the user did an input for the animal number
    error('***You need to type in an animal number***');
end

%% checking the state
% The state name is also the name of the saved .sts-file and if reused loads the values from this .sts-file
if skipMode
    while isempty(stateName)
        disp('can't continue without a state, please type the state of CheckEEG (e.g. "HNP" or "HBO"')
        stateName = input('--> State of CheckEEG?"\n','s'); % input for the State (V1B, HCBeta, ripple, remove, etc.)
    end
    disp(['Current state is: ' stateName]);
else
    stateName = []; % erase given state name when skipMode is not active
    stateName = input('--> State of CheckEEG?"\n','s'); % input for the State (V1B, HCBeta, ripple, remove, etc.)

    while isempty(stateName)
        disp('can't continue without a state, please type the state of CheckEEG (e.g. "HNP" or "HBO"')
        stateName = input('--> State of CheckEEG?"\n','s'); % input for the State (V1B, HCBeta, ripple, remove, etc.)
    end
end

%% checking channel input
% input for Channels, to create a vector it is mandatory to use [] brackets
if skipMode
    nChList = [];
else
    nChList = input(['--> Selection of Channels (use [] brackets, last channel must be movement)"\n"leave empty for' ...
        'automatic depending on state"\n"can't be left empty for an individual animal"\n']);
    while isempty(animals) && isempty(nChList)
        disp('Without an animals struct the channel list can't be left empty, please retry...')
        nChList = input(['--> Selection of Channels (use [] brackets, last channel must be movement)"\n"leave empty for' ...
            'automatic depending on state"\n"can't be left empty for an individual animal"\n']);
    end
end

```

```

end
end

%% set channel list
if isempty(nChList) && indvPath == 0 % checking if Channels where left empty for the diffrent presets
    if strcmp(stateName,'V1B')
        if isfield(animals,'v1bChs'); nChList = animals(fieldID).v1bChs; else; nChList = animals(fieldID).v1Chs; end
    elseif strcmp(stateName,'V1T')
        nChList = animals(fieldID).v1bChs;
    elseif strcmp(stateName,'HCBeta')
        nChList = animals(fieldID).hnpChs;
    elseif strcmp(stateName,'HBO')
        nChList = animals(fieldID).hboChs;
    elseif strcmp(stateName,'HNP')
        nChList = animals(fieldID).hnpChs;
    elseif strcmp(stateName,'rpl')
        nChList = animals(fieldID).rplCh;
    elseif strcmp(stateName,'ripple')
        nChList = animals(fieldID).rplCh;
    elseif strcmp(stateName,'remove')
        nChList = animals(fieldID).rplCh;
    elseif strcmp(stateName,'V1B')
        nChList = animals(fieldID).v1Chs;
    % elseif strcmp(stateName,'Spindle_new')
    %     nChList = animals(fieldID).v1bChs;
    elseif strcmp(stateName,'V1S')
        if isfield(animals,'v1sChs'); nChList = animals(fieldID).v1bChs; else; nChList = animals(fieldID).v1Chs; end
    end
elseif isempty(nChList) && indvPath == 1
    error('channel list can't be empty for an individual animal') % shouldn't be triggered anymore
end

if isempty(nChList) % error if there is no List in the excel
    error('***no channel list specified in the excel_database***');
end

%% checking trave mV (amplitude) settings
if skipMode
    traceMv = [];
else
    traceMv = input(['--> trace mV?' 'n'leave empty for automatic range, depending on age'n'...
        'can't be empty for an individual animal'n']); % input for amplification signal

    while isempty(animals) && isempty(traceMv)
        disp('Without an animals struct the mV for the traces can't be left empty, please retry...')
        traceMv = input(['--> trace mV?' 'n'leave empty for automatic range, depending on age'n'...
            'can't be empty for an individual animal'n']); % input for amplification signal
    end
end

%% set trace MV
if isempty(traceMv) && indvPath == 0 % setting (if empty) the amplification signal depending on age
    if animals(fieldID).age <= 5
        traceMv = .15;
    elseif animals(fieldID).age >= 7
        traceMv = .3;
    end
elseif isempty(traceMv) && indvPath == 0
    error('trace mV can't be empty for an individual animal')
end

if isempty(traceMv) % error if there is no age in the excel
    error('***no age found in the excel_database***');
end

%% checkking frequency range
% input for the FreqRange [] is mandatory
if skipMode
    freqRange = [];
else
    freqRange = input(['--> which Frequency Range? (use [] brackets)"n'...
        'leave empty for automatic depending on State:"n'...
        'can't be empty for an individual animal"n']);

    while isempty(animals) && isempty(freqRange)
        disp('Without an animals struct the frequency range can't be left empty, please retry...')
        freqRange = input(['--> which Frequency Range? (use [] brackets)"n'...
            'leave empty for automatic depending on State:"n'...
            'can't be empty for an individual animal"n']);
    end
end

%% sets frequency range
% selects the FreqRange depending on which type of State / Attention, new states need to be added
if isempty(freqRange) && indvPath == 0
    if strcmp(stateName,'V1B')
        freqRange = [4 30];
    elseif strcmp(stateName,'V1T')
        freqRange = [4 10];
    elseif strcmp(stateName,'HCBeta')
        freqRange = [4 30];
    elseif strcmp(stateName,'HBO')
        freqRange = [4 30];
    elseif strcmp(stateName,'HNP')
        freqRange = [4 30];
    elseif strcmp(stateName,'ripple')

```

```

    freqRange = [0 200];
elseif strcmp(stateName,'rpl')
    freqRange = [0 200];
elseif strcmp(stateName,'remove')
    freqRange = [0 200];
elseif strcmp(stateName,'V1Beta_new')
    freqRange = [2 35];
elseif strcmp(stateName,'Spindle_new')
    freqRange = [2 20];
elseif strcmp(stateName,'V1S')
    freqRange = [2 35];
end
elseif isempty(freqRange) && indvPath == 0
    error('frequency Range can't be empty for an individual animal')
end

%% Display output
if indvPath == 0
    animalID = num2str(animals(fieldID).ID);
    disp('*** animal ID is: ' animalID ' ***');
    disp('*** State: ' stateName ' ***');
    disp('*** Channel selection is: ' num2str(nChList) ' ***');
    disp('*** animal age is: P' num2str(animals(fieldID).age) ' ***');
    disp('*** trace Millivolt is: ' num2str(traceMv) ' mV ***');
    disp('*** frequency Range is: ' num2str(freqRange(1)) ' Hz - ' num2str(freqRange(2)) ' Hz ***');
    basePath = animals(fieldID).fullpath;
else
    animalID = 'non-structured ID';
    disp('*** animal is: ' fieldID ' ***');
    disp('*** State: ' stateName ' ***');
    disp('*** Channel selection is: ' num2str(nChList) ' ***');
    disp('*** trace Millivolt is: ' num2str(traceMv) ' mV ***');
    disp('*** frequency Range is: ' num2str(freqRange(1)) ' Hz - ' num2str(freqRange(2)) ' Hz ***');
    basePath = fieldID;
end

%% load xml
Par = xml_load([basePath '.xml']);
nCh = str2num(Par.acquisitionSystem.nChannels);
vRange = str2num(Par.acquisitionSystem.voltageRange);
nBits = str2num(Par.acquisitionSystem.nBits);
amplification = str2num(Par.acquisitionSystem.amplification);
samplingRate = str2num(Par.acquisitionSystem.samplingRate);
fs = str2num(Par.fieldPotentials.lfpSamplingRate);
sampleTime = 1e6 / samplingRate; %to make backwards compatible

%% original CheckEEG (cleaned of old comments and unused lines of code)
% auxil. struct for gui
global gCheckEegStates
gCheckEegStates = struct;

% constants
UseRulesBefore = 0; % flag to switch heuristics for periods cleaning after automatic segmentation
% MinLen = 5; % seconds

if ~isempty(stateName) % load segmentation results
    if FileExists([basePath '.sts.' stateName])
        Per = load([basePath '.sts.' stateName]);
    else
        Per = [];
    end

    if isempty(Per)
        fprintf('No segments detected in %s state\n',stateName)
        Per = [];
    end
else
    Per = [];
    stateName = '';
end

if isempty(nChList) & FileExists([basePath '.eegseg.par'])
    nChList = load([basePath '.eegseg.par']);
end

if ~isempty(nChList) & ~FileExists([basePath '.eegseg.par'])
    fprintf('You selection of Channels is stored in the file %s for future usage, so that next time you don't have to pass Channels\n',[basePath '.eegseg.par']);
    msave([basePath '.eegseg.par'],nChList);
end

doCompute = 0;

if FileExists([basePath '.eegseg.mat'])
    switch action
    case 'display'
        over = questdlg('Do you want to overwrite existing spectrogram?', 'Overwrite');

        switch over
        case 'No'
            load([basePath '.eegseg.mat']); % load whitened spectrograms from EegSegmentation results
        case 'Yes'
            doCompute = 1;
        end
    case 'compute'
        if doOverwrite
            doCompute = 1;
        end
    end
end

```

```

        else
            return;
        end
    end
end
end

%% Compute the spectrogram
if ~FileExists([basePath 'eegseg.mat']) | doCompute == 1
    if isempty(nChList)
        userCh = inputdlg('Enter channels to use', nChList, 1, {'1'});
        nChList = str2num(userCh{1});
    end

    if ~FileExists([basePath '.eeg'])
        error('no eeg file! \n');
    end

    eegData = LoadBinary([basePath '.' fileExtension], nChList, nCh, 4);

    %% Scale data to absolute scale
    eegData = eegData * vRange / 2 ^ nBits / amplification; % Calculates absolute amplitudes in Volts
    disp('scaled')

    %% spectrogramm math
    fprintf('computing spectrograms, may take time ... \n');
    specWindow = 2 ^ round(log2(doWindow * fs)); % choose window length as power of two
    nFFT = specWindow * 4;
    whiteEEG = WhitenSignal(eegData, fs * round(sampleTime - 1), 0);
    [y, f, t] = mtcsglong(whiteEEG, nFFT, fs, specWindow, [], 2, 'linear', [], freqRange);
    save([basePath 'eegseg.mat'], 'y', 'f', 't', nChList, '-v6');
    disp('saved eegseg.mat')
end

if strcmp(action, 'compute')
    return;
end

if ~exist('t')
    return
end

t = (t(2) - t(1)) / 2 + t;

% to be implemented later
if UseRulesBefore
    switch stateName
        case 'REM'
    end
end

% fill the global structure for future use
if ~FileExists([basePath '.eeg']) & FileExists([basePath '.eeg.0'])
    gCheckEegStates.EegFile = 'eeg.0';
    gCheckEegStates.Channels = 1;
    gCheckEegStates.nChannels = 1;
    gCheckEegStates.nSamples = FileLength([basePath '.eeg.0']) / 2;
else
    gCheckEegStates.EegFile = 'eeg';
    gCheckEegStates.Channels = nChList;
    gCheckEegStates.nChannels = length(nChList);
    gCheckEegStates.nSamples = FileLength([basePath '.eeg']) / nCh / 2;
end

nAuxData = max(size(auxData, 1));
gCheckEegStates.FileBase = basePath;
gCheckEegStates.Par = Par;
gCheckEegStates.State = stateName;
gCheckEegStates.t = 10; % in seconds
gCheckEegStates.eFs = fs;
gCheckEegStates.trange = [t(1) t(end)];
gCheckEegStates.Periods = Per / fs; % in seconds
gCheckEegStates.Mode = 'r';
gCheckEegStates.nPlots = gCheckEegStates.nChannels + 1 + nAuxData;
gCheckEegStates.lh = cell(gCheckEegStates.nPlots, 1);
gCheckEegStates.Window = doWindow * fs * 2;
gCheckEegStates.SelLine = [];
gCheckEegStates.cposh = cell(gCheckEegStates.nPlots, 1);
gCheckEegStates.FreqRange = [min(f) max(f)];
gCheckEegStates.new1 = [];
gCheckEegStates.tstep = t(2) - t(1);
gCheckEegStates.coolln = [];
gCheckEegStates.LastBut = 'normal';
gCheckEegStates.nAuxData = nAuxData;
gCheckEegStates.RefPoints = [];
gCheckEegStates.version = matlabVersion;
gCheckEegStates.bfilExtension1 = bfilExtension1;
gCheckEegStates.bfilExtension2 = bfilExtension2;
gCheckEegStates.animalID = animalID;
gCheckEegStates.CurrentPosOfRec = sprintf('%1f', 0);

if nAuxData > 0
    gCheckEegStates.AuxDataType = auxData(:, 4);
end

% create and configure the figure
gCheckEegStates.figh = figure('ToolBar', 'none');

```



```

set(gCheckEegStates.figh,'DefaultAxesPosition',[.06 .03 0.93 .95]);
set(gCheckEegStates.figh, 'Name', ['CheckEegStates for ' animalID ': traces']);

if strcmp (matlabVersion,'2011b')
    set(gCheckEegStates.figh, 'Number', 'off');
end

% create a CSD figure (added by SLM)
gCheckEegStates.csdFigh = figure('ToolBar','none');
set(gCheckEegStates.csdFigh,'DefaultAxesPosition',[.06 .03 0.93 .95]);
set(gCheckEegStates.csdFigh, 'Name', ['CheckEegStates SPW ' animalID ': csd traces']);
set(gCheckEegStates.csdFigh,'NumberTitle','off');
figure(gCheckEegStates.figh);

gCheckEegStates.traceMv = traceMv; % scale all .eeg traces in last plot to this this range
gCheckEegStates.lastChanShrink = movShrink; % scale last clim & eeg trace by this
gCheckEegStates.fudgeTraceBox = [(gCheckEegStates.nPlots) (gCheckEegStates.nPlots + floor(gCheckEegStates.nPlots / 2))];
disp(gCheckEegStates.fudgeTraceBox)
gCheckEegStates.nPlotsReal = gCheckEegStates.fudgeTraceBox(end);

%% plotting
for m = 1:gCheckEegStates.nChannels
    subplot(gCheckEegStates.nPlotsReal,1,m);
    imagesc(t,f,(10 * log10(squeeze(y(:,m))))),clims)
    set(gca,'YDir','normal');
    ylim(freqRange);
    hold on

    if m == 1
        ylabel('Freq (Hz)');
    end

    if m ~= gCheckEegStates.nChannels
        set(gca,'XTick',[]);
    end

    if (movShrink ~= 1) % we are rescaling last chan (movement)
        if m == gCheckEegStates.nChannels % so, last imagesc
            set(gca,'climmode','auto');
        end
    end
end

if nAuxData > 0
    for m = 1:nAuxData
        subplot(gCheckEegStates.nPlotsReal,1,m + gCheckEegStates.nChannels);
        DisplayAuxData(auxData(m,:));
        xlim(gCheckEegStates.trange);
        hold on
    end
end

subplot(gCheckEegStates.nPlotsReal,1,gCheckEegStates.fudgeTraceBox)
CheckEegStates_spw_aux('traces'); % plot the current eeg traces
hold on

if ~isempty(Per) % plots lines
    CheckEegStates_spw_aux('lines');
end

% assign functions for mouse and keyboard click
set(gCheckEegStates.figh,'WindowButtonDownFcn','CheckEegStates_spw_aux("mouseclick")');
set(gCheckEegStates.figh,'KeyPressFcn','CheckEegStates_spw_aux("keyboard")');
return

function [thratio, ThePeriods] = TDRatioAuto(y,f,t,MinLen)

% automatic theta periods detection just using the thetaratio
thfin = find(f > 6 & f < 9);
thfout = find(f < 5 | (f > 12 & f < 25));
thratio = log(mean(sq(y(:,thfin,1)),2)) - log(mean(sq(y(:,thfout,1)),2));

if nargout > 1
    nStates = 2;
    [TheState thhmm thdec] = gausshmm(thratio,nStates,1,0); % fit gaussian mixture and to HMM - uses only thetaratio

    for k = 1:nStates
        thratio_st(k) = mean(thratio(TheState == k));
    end

    [dummy TheInd] = max(thratio_st);
    InTh = (TheState == TheInd);
    DeltaT = t(2) - t(1);
    MinSeg = round(MinLen / DeltaT);
    TransTime = ThreshCross(InTh,0.5,MinSeg);
    ThePeriods = t(TransTime);
end
return

function DisplayAuxData(Data)

nEl = size(Data,2);
if nEl < 4
    userWarning = 1;
elseif ~isstr(Data{4})
    userWarning = 1;

```

```

else
    userWarning = 0;
end

if userWarning
    warning('AuxData has to be cell array where each row is : xaxis, yaxis, data, display_func');
    close
    return
end

switch Data{4} % switch by functions
case 'plot'
    plot(Data{1},Data{3});
case 'imagesc'
    if length(Data{1}) ~= size(Data{3},1) & length(Data{1}) ~= size(Data{3},2)
        Data{3} = Data{3}';
    end

    imagesc(Data{1},Data{2},Data{3}');
    axis xy
otherwise
    error('wrong data display function');
end
return

```

8.3.2.2. *SPW_detect_RTH.m*

```

%% SPW_detect_RTH
% detect sharp-waves
% created by RTH 09-05-2018
% designed for MATLAB R2018a
% requires the animals struct from an excel
% v47 uses "findpeaks" and calculates "neo","ori","prx","dst" on its own
% the "pyr" channel is excluded from the categorization and detection

%%%% variables %%%
%
% animals: the animals struct
% # animals = animals
%
% IDs2use: index for the animals struct to use, can be a "find" command
% # IDs2use = 21;
% # IDs2use = [3 4:8 12:24]
% # IDs2use = find(strcmp([animals.recType],'old_standard') & [animals.thesisUsage])
% # IDs2use = find([animals.age] == 3)
%
% fileType: type of file to use for detection (.eeg, .csdall, or filtered files) evt files will be named accordingly
% # fileType = '.csdall_4-80'
%
% MinPeakHeight: peak threshold for detection, everything below this will be ignored [in mV]
% # MinPeakHeight = .1
%
% MinPeakDistance: Minimum distance for peaks to be apart on a single channel
% # MinPeakDistance = 25
%
% MinGroupDistance: Minimum distance for peaks to be apart across channels (peaks less than this apart will be grouped)
% # MinGroupDistance = 25
%
% gainSystem: gain of the system (to convert the mV input)
% # gainSystem = 2000
%
%%%% parameters from the animal struct
%
% animals(n).ID
% animals(n).fullpath
% animals(n).pyrCh
% animals(n).pyrChAnatomical
% animals(n).probeSpacing
% animals(n).radh (set to 0 if unknown and a 40/60 ratio is used for the distance pyrCh-hfCh)
% animals(n).radChAnatomical (set to 0 if unknown and a 40/60 ratio is used for the distance pyrCh-hfCh)
% animals(n).hfCh
% animals(n).hfChAnatomical
%
%% NKCCI
%% NeoDev (example call)
% SPW_detect_RTH(animals,21,'csdall_4-80',1,30,2000)

%% main function
function SPW_detect_RTH(animals,IDs2use,fileType,MinPeakHeight,MinPeakDistance,gainSystem)

if ~exist('animals','var') || isempty(animals);error('struct needed'); end % check for correct animals
if isempty(IDs2use); IDs2use = 1:size(animals,1); end % use all animals if not defined

%% settings
% assumed is 16-bit with signed integer with 2000  $\mu$ V gain (neonatal) 13000  $\mu$ V (chronic)
nBits = 16; disp(['nBits: ' num2str(nBits)]); % in bit ATTENTION! know your setting
bitRange = 2 ^ nBits / 2 - 1; disp(['bit range: ' num2str(bitRange)]); % 16 bit  $2 * 2^{15} - 1$  (signed integer)
bitFactor = gainSystem / bitRange / 1000; % factor to convert amplitude values (CSD is arbitrary mV/mm2)
MPH_bitRange = MinPeakHeight * bitRange / gainSystem * 1000; % converts the given threshold into the bit range

orLimit = 100; % upper distance to Pyr

%IDs2use = 9

```

```

%% detection and categorization
for n = 1:IDsize % loop over the desired amount of animals
    disp('#####'); disp(['This is: ' num2str(animals(n).ID)]); % ID display

    basePath = animals(n).fullpath; % base path
    file2Load = [basePath fileType]; % file to use (.eeg, .csdall, etc.)

    if ~exist(file2Load,'file'), warning(['Sorry! ' file2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end

    results = []; % reset results struct

    %% loading the xml & calculate base parameter
    disp('loading the xml...'); % display
    xmlParameters = xml_load([basePath 'xml']); % load the xml
    fs = str2double(xmlParameters.fieldPotentials.IfSamplingRate); % load the sampling rate
    nCh = str2double(xmlParameters.acquisitionSystem.nChannels); % load the total amount of channel
    fsFactor = fs / 1e3; % for converting ms into samples

    MPD_samples = fsFactor * MinPeakDistance; % calculate the distance in samples

    %% load the channels
    % use the datasheet excel
    % pyramidal
    pyrCh = animals(n).pyrCh; % user defined pyramidal channel

    if isnan(pyrCh); warning('missing pyramidal channel, skipping...'); continue; end

    pyrChAnatomical = animals(n).pyrChAnatomical; % channel list starts at 1

    % fissure
    hfCh = animals(n).hfCh; % user defined hf channel

    if isnan(hfCh) || hfCh == 0; warning('missing or undefined fissure channel, skipping...'); continue; end

    hfChAnatomical = animals(n).hfChAnatomical; % channel list starts at 1

    % radiatum
    radCh = animals(n).radCh; % user defined rad channel
    radChAnatomical = animals(n).radChAnatomical; % channel list starts at 1

    if radCh == 0
        if animals(n).age < 12
            radValue = .4; % how much [.4 = 40 %] of the distance between the pyrCh and the hfCh are allocated for Rad
        else
            radValue = .5; % larger radiatum for older animals
        end

        pyrRadDistance = round(radValue * (hfCh - pyrCh)); % round to nearest value, in case of a tie, rounds away from 0
        radCh = pyrCh + pyrRadDistance;
        radChAnatomical = pyrChAnatomical + pyrRadDistance;
    end

    % uses probe spacing to calculate oriens
    probeSpacing = animals(n).probeSpacing((animals(n).CA1 Group));

    orCh = pyrCh - orLimit / probeSpacing; % or channel definition based on given distance to pyr
    orChAnatomical = pyrChAnatomical - orLimit / probeSpacing; % channel list starts at 1

    % define analyzing area
    recChs = orCh:hfCh;

    if ~all(diff(recChs) == 1), warning('Sorry, chans must be a continuous list, skipping'); continue; end

    nCh2Load = size(recChs,2); % determine the size of the channels to be loaded
    loadStr = [num2str(nCh2Load) 'short']; % create string for load
    nChSkip = nCh - nCh2Load; % non-read channels for load

    %% step 1: extract the data
    disp('step 1: loading data');
    disp(['file type: ' fileType '-file...']); % display
    data = single(bload(file2Load,[size(recChs,2) Inf],(recChs(1) - 1) * 2,loadStr,nChSkip * 2)); % load everything
    disp('zero the mean...');
    normalizedData = data - repmat(mean(data)',1,size(data,2)); % not used
    timeRowData = (1:size(normalizedData,2)) / fsFactor; % time axis in ms, based on fs (sampling rate) from the xml
    fprintf('complete!'); fprintf('\n'); % 100 % and new line

    %% step 2: detection
    % detect negative peaks with findpeaks (-data)
    disp('step 2: detecting SPW...') % display

    for c = 1:size(recChs,2) % over the three base categories
        if recChs(c) == pyrCh
            continue % skip the pyrCh
        end

        %channelData = data(c,:);
        channelData = normalizedData(c,:);

        % find peaks
        [pk,loc,width,prmnc] = findpeaks(-channelData,'MinPeakHeight',MPH_bitRange,'MinPeakDistance',MPD_samples,...
            'WidthReference','halfheight');

        % save parameters
        results(c).findPeaks(1,:) = timeRowData[loc]; % time (of detection)
        results(c).findPeaks(2,:) = c + orChAnatomical - 1; % channel (on which the event was detected)
        results(c).findPeaks(3,:) = prmnc * bitFactor; % amplitude (prominence) [mV]
    end
end

```

```

        results(c).findPeaks(4,:) = pk * bitFactor; % amplitude (peaks) [mV]
        results(c).findPeaks(5,:) = width / fsFactor; % measured at "halfheight" [ms]
    end

    combinedResults = [results.findPeaks];

    [~,idx] = sort(combinedResults(1,:)); % sort by the first row (time)
    sortedResults = combinedResults(:,idx); % use the idx of the sorted first row to sort the whole matrix

    ons = []; tms = []; pks = []; wths = []; % reset

    tms = num2cell([sortedResults(1,:)]); % times in s

    chs = num2cell([sortedResults(2,:)]); % channels
    prms = num2cell([sortedResults(3,:)]); % prominences in mV
    pks = num2cell([sortedResults(4,:)]); % peaks in mV
    wths = num2cell([sortedResults(5,:)]); % widths in ms
    ons(1:size(tms,2)) = ones; ons = num2cell(ons); % ones (1) for later (and neuroscope)

    % saving
    % UILEIEM R.u.N.N.E.L 78+792
    if isempty(tms)
        warning(['No 'extCats{m} '-events for this animal (' animals(n).ID ') found!'])
    else
        save2evt(animals(n).fullpath,[fileType(2:end) 'SPW.rte.evt'],tms,ons); % 1s for neuroscope
        save2evt(animals(n).fullpath,[fileType(2:end) 'SPW.chs.evt'],tms,chs); % channels
        save2evt(animals(n).fullpath,[fileType(2:end) 'SPW.prm.evt'],tms,prms); % prominence
        save2evt(animals(n).fullpath,[fileType(2:end) 'SPW.pks.evt'],tms,pks); % peaks
        save2evt(animals(n).fullpath,[fileType(2:end) 'SPW.whs.evt'],tms,wths); % widths
    end
end

```

8.3.3. Find SPW Skript und Plotting Skripte

8.3.3.1. INJ_find_SPW.m

```

%% function INJ_find_SPW
% this script searches for events (SPWs) within a definable time period after the TTL signal (timeFrameMsStart-/End).
% This version is modified to find all SPWs within one or more definable time periods after an TTL pulse

%% step 2

% struct2use: struct from SPW_detect
% # struct2use = struct2use;
%
% msDelay: delay until an analyzing window starts; 0 means directly after the pulse
%
% # msDelay = 5
%
% msSize: size of analyzing window
%
% # msSize = 6e5
%
% winRep: window repetitions; how often should the the window between msStart and msEnd repeated? The script tries to
% squeeze the given window into the time frame between two TTLs,the last window (which can be the first) will be
% truncated if the given window is too large for the period. Remaining time between to TTLs after calculation of the
% windows will be ignored.
%
% # winRep = 3
%
% baselineKeyString: this string defines the first item to be found where the baseline ends, if several
% baselines exist the script can easily adapted by changing the later "find" command to
% search for more than the first occurrence.
% # baselineKeyString = 'Signal-1'

%% out2 = INJ_find_SPW(newOut,5,300000,3,'HelloWorld')

function outstruct = INJ_find_SPW(struct2use,msDelay,msSize>windowRep,fileExt,cats,baselineKeyString)

    %%% load all 8 evt-files (neo,ori,prx,dst with peak and width)
    % for keeping the string an array neo = 1; ori = 2; prx = 3; dst = 4;
    %cats = {'neo','ori','prx','dst'};
    %fileExt = '.csdall_4-80';
    %fileExt = '';

    hitLimit = 1; % not sure how it works in v004 with more than 1
    allowedKeyStringHits = 1; % not tested with more than 1

    %%% tested only on compatible data! ('40780' and others)

    for n = 1:length(struct2use)
        temp = [];

        for m = 1:size(cats,2)
            pksLoaded = []; whsLoaded = [];

            peakFile2Load = [struct2use(n).fullpath fileExt '.pks.' cats{m} '.evt'];
            widthFile2Load = [struct2use(n).fullpath fileExt '.whs.' cats{m} '.evt'];

            if ~exist(peakFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' peakFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end

```

```

if ~exist(widthFile2Load, 'file'), warning('Sorry! ' widthFile2Load ' did not exist! skipping file!'); continue; end

[fid,msg] = fopen(peakFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
pksLoaded = textscan(fid,'%f%');
fclose(fid);

[fid,msg] = fopen(widthFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
whsLoaded = textscan(fid,'%f%f');
fclose(fid);

% times
temp(m).loadedCats(1,:) = pksLoaded{1,1};

% peaks
temp(m).loadedCats(2,:) = pksLoaded{1,2};

% widths
temp(m).loadedCats(3,:) = whsLoaded{1,2};

% cats (1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst)
temp(m).loadedCats(4,:) = m;
end

combinedResults = [temp.loadedCats];

[~,idx] = sort(combinedResults(1,:)); % sort by the first row (time)
sortedResults = combinedResults(:,idx); % use the idx of the sorted first row to sort the whole matrix

if isempty(struct2use(n).ID); continue; end

baselineKeyArray = []; keyStringPositions = []; endOfBaseline = []; indexBaselineSPW = []; % safety clears

baselineKeyArray = strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},baselineKeyString); % logical array of the key string occurrence
keyStringPositions = find(baselineKeyArray,allowedKeyStringHits);
endOfBaseline = struct2use(n).TTL(keyStringPositions).time;
%indexBaselineSPW = find([sortedResults(1,:)] < endOfBaseline);
struct2use(n).baselineSPW = sortedResults(:,sortedResults(1,:) < endOfBaseline); % save the baseline SPWs

%% determine the available base windows
ttlIndex = []; startIndex = []; endIndex = [];

ttlIndex = strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},TTL); % search for TTLs (end of injection start of analysing Window)
startIndex = strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},'startInj'); % search for start of injection (end of baseline, window)
firstTrue = find(startIndex == 1,1);
startIndex(1) = false; % delete to first start injection index
endIndex = strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},'endOfRec'); % search for the end of the recording (end of last window)
windowTimes = []; % safety clear
windowTimes(:,1) = [struct2use(n).TTL(ttlIndex).time]; % start times for the windows

if sum(startIndex) ~= 0; windowTimes(1:end-1,2) = [struct2use(n).TTL(startIndex).time]; end

windowTimes(end) = struct2use(n).TTL(endIndex).time;

%% construct the analyzing windows
% if not all repetitions fit into the available post injection window the analysis is skipped
% if only the last window does not fit, it will be truncated

injection = [];

for m = 1:size(windowTimes,1)
    completeWindowSize = diff(windowTimes(m,:)); % available window
    windowCount = completeWindowSize / (msSize + msDelay); % how many analyzing windows fit into the given window
    windowFit = windowCount - windowRep;

    if windowFit < -1 % windows are too large, or available window too small
        disp(['ID: ' struct2use(n).ID ' injection: ' num2str(m)]);
        warning('Can't fit the given window into the available window Nr. (' num2str(m) ')! skipping...!')
        continue
    elseif windowFit > -1 && windowFit < 0 % if the last window does not fit entirely
        disp(['ID: ' struct2use(n).ID ' injection: ' num2str(m)]);
        warning('Last analyzing window does not fit entirely, will be truncated')
        windowRef = 0;

        for k = 1:windowRep % over the repetitions of the analyzing window
            if k == windowRep
                aWindows(k).times(1,1) = windowTimes(m,1) + msDelay + windowRef;
                aWindows(k).times(1,2) = windowTimes(m,2);

                %% find all SPWs that fit into the window

                indexSPW = [];
                indexSPW = find(combinedResults(1,:) > aWindows(k).times(1,1) & ...
                    combinedResults(1,:) < aWindows(k).times(1,2));

                if isempty(indexSPW)
                    aWindows(k).SPWs = [];
                    aWindows(k).timestamp = 0;
                    aWindows(k).peak = 0;
                    aWindows(k).width = 0;
                    aWindows(k).SPWID = 0;
                else
                    aWindows(k).SPWs = combinedResults(indexSPW);
                    aWindows(k).timestamp = sortedResults(1,indexSPW);
                    aWindows(k).peak = sortedResults(2,indexSPW);
                    aWindows(k).width = sortedResults(3,indexSPW);
                    aWindows(k).SPWID = sortedResults(4,indexSPW);
                end
            end
        end
    end
end

```

```

end

continue
end

aWindows(k).times(1,1) = windowTimes(m,1) + msDelay + windowRef;
aWindows(k).times(1,2) = windowTimes(m,1) + msDelay + msSize + windowRef;
windowRef = windowRef + msDelay + msSize;

%% find all SPWs that fit into the window
indexSPW = [];
indexSPW = find(combinedResults(1,:) > aWindows(k).times(1,1) & ...
    combinedResults(1,:) < aWindows(k).times(1,2));

if isempty(indexSPW)
    aWindows(k).SPWs = [];
    aWindows(k).timestamp = 0;
    aWindows(k).peak = 0;
    aWindows(k).width = 0;
    aWindows(k).SPWID = 0;
else
    aWindows(k).SPWs = combinedResults(indexSPW);
    aWindows(k).timestamp = sortedResults(1,indexSPW);
    aWindows(k).peak = sortedResults(2,indexSPW);
    aWindows(k).width = sortedResults(3,indexSPW);
    aWindows(k).SPWID = sortedResults(4,indexSPW);
end
end
else
    windowRef = 0; aWindows = [];

    for k = 1:windowRep % over the repetitions of the analyzing window
        aWindows(k).times(1,1) = windowTimes(m,1) + msDelay + windowRef;
        aWindows(k).times(1,2) = windowTimes(m,1) + msDelay + msSize + windowRef;
        windowRef = windowRef + msDelay + msSize;

        %% find all SPWs that fit into the window
        indexSPW = [];
        indexSPW = find(combinedResults(1,:) > aWindows(k).times(1,1) & ...
            combinedResults(1,:) < aWindows(k).times(1,2));

        if isempty(indexSPW)
            aWindows(k).SPWs = [];
            aWindows(k).timestamp = 0;
            aWindows(k).peak = 0;
            aWindows(k).width = 0;
            aWindows(k).SPWID = 0;
        else
            aWindows(k).SPWs = combinedResults(indexSPW);
            aWindows(k).timestamp = sortedResults(1,indexSPW);
            aWindows(k).peak = sortedResults(2,indexSPW);
            aWindows(k).width = sortedResults(3,indexSPW);
            aWindows(k).SPWID = sortedResults(4,indexSPW);
        end
    end
end

injection(m).results = aWindows;
end

struct2use(n).injection = injection;
end

outstruct = struct2use;

```

8.3.3.2. *INJ_plot_mean_SPW_parameters.m*

```

%% INJ_plot_mean_SPW_parameters
%
% former plot_TTL_SPW_v003 (changed since this script processes data and plots via an additional script
% This is a wrapper function that groups all data based on the type of stimulation and the stimulation depth and
% determines and plots the success rate and local minimum distribution. Based on this function the appropriate depth
% for displaying can be selected (e.g. highest success depth)
%

%% step 3

% struct2use: struct from SPW_detect
% # struct2use = struct2use;
%
% savePath: save path for saving the plots, here this path will be completed
% # savePath = '/mnt/raid/data_dir/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/'
%
% doEps: should eps-files be created? (boolean)
% # doEps: 1

function INJ_plot_mean_SPW_parameters(struct2use,savePath,cats,doEps,noVisiblePlot)

for n = 1:length(struct2use)
    %% search for unique location entries
    meanStruct = [];

    for m = 1:size(struct2use(n).injection,2)

```

```

for k = 1:size(struct2use(n).injection(m).results,2)
    meanStruct(m).injection(k).rate = size(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWs,2) / ...
        (diff(struct2use(n).injection(m).results(k).times) / 1000);
    meanStruct(m).injection(k).peak = mean(struct2use(n).injection(m).results(k).peak);
    meanStruct(m).injection(k).width = mean(struct2use(n).injection(m).results(k).width);

    SPWIDMatrix = [];

    for p = 1:size(cats,2)+1
        SPWIDMatrix(1,p) = p - 1; % ID
        SPWIDMatrix(2,p) = size(find(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWID == p-1),2); % raw count
        SPWIDMatrix(3,p) = SPWIDMatrix(2,p) / size(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWID,2) * 100; % perc
    end

    meanStruct(m).injection(k).SPWIDMatrix = SPWIDMatrix;
    meanStruct(m).SPWIDBar(k,:) = SPWIDMatrix(3,:);
end

%% plot
toPlotX = []; toPlotY = [];
ageString = num2str(struct2use(n).age);
IDString = struct2use(n).ID;
titleStringPart = ['P' num2str(struct2use(n).age) ' ' struct2use(n).ID ' injection ' num2str(m)];
toPlotY = 1:size(meanStruct(m).injection,2);

% plot rate
toPlotX = [meanStruct(m).injection(:).rate];
savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _SPW_rate_' titleStringPart];
plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' SPW rate'], ...
    toPlotX,toPlotY,'rate [Hz]',injection [n'],'rateInj',0,savePathString,doEps,noVisiblePlot)
toPlotX = []; savePathString = [];

% plot mean peak
savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanPeak_' titleStringPart];
toPlotX = [meanStruct(m).injection(:).peak];
plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanPeak'], ...
    toPlotX,toPlotY,'mean peak [mV]',injection [n'],'meanPeak',0,savePathString,doEps,noVisiblePlot)
toPlotX = []; savePathString = [];

% plot mean width
savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanWidth_' titleStringPart];
toPlotX = [meanStruct(m).injection(:).width];
plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanWidth'], ...
    toPlotX,toPlotY,'mean width [ms]',injection [n'],'meanWidth',0,savePathString,doEps,noVisiblePlot)
toPlotX = []; savePathString = [];

% plot SPWID Bar graphs
savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_SPWID_' titleStringPart];

yBar = meanStruct(m).SPWIDBar;

if size(yBar,1) == 1
    yBar(:,1) = NaN; %'stacked' bar graph does not work with a single graph so a dummy row is created...
    h = barh(yBar,'stacked');
    set(h,['FaceColor',{ 'w';'m';'y';'r';'b'}]);
    set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100])%,'XLim',[0 4])
    title([titleStringPart ' SPWID']); % title
    ylabel('injection [n]'); % x-label
    yticklabels(toPlotY)
    xlim([0 100]); % x-limits (0 to 100 %)
    grid on
    l = cell(1,5);
    l{1}='empty'; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
    legend(h,l,'Location','southwest');
else
    h = barh(yBar,'stacked');
    set(h,['FaceColor',{ 'w';'m';'y';'r';'b'}]);
    set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100])%,'XLim',[0 4])
    title([titleStringPart ' SPWID']); % title
    ylabel('injection [n]'); % x-label
    yticks(toPlotY)
    yticklabels(toPlotY)
    grid on
    l = cell(1,5);
    l{1}='empty'; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
    legend(h,l,'Location','northwest');
end

print(gcf,'-dpng','-r300',[savePathString '.png'])

if doEps
    print(gcf,'-depsc2','-painters',[savePathString '.eps'])
end

close all
end
end

```


8.3.3.3. *INJ_plot_mean_SPW_parameters_2.m*

```

%% INJ_plot_mean_SPW_parameters
%
% former plot_TTL_SPW_v003 (changed since this script processes data and plots via an additional script
% This is a wrapper function that groups all data based on the type of stimulation and the stimulation depth and
% determines and plots the success rate and local minimum distribution. Based on this function the appropriate depth
% for displaying can be selected (e.g. highest success depth)
%
% version 2 will group baseline and all injection windows

%% step 3

% struct2use: struct from SPW_detect
% # struct2use = struct2use;
%
% savePath: save path for saving the plots, here this path will be completed
% # savePath = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/'
%
% cats: categorization categories
% # cats = {'neo','ori','prx','dst'}
%
% doEps: should eps-files be created? (boolean)
% # doEps: 1
%
% nVP: "noVisiblePlot" turns off that every plot will be displayed. (1 = no plots display; 0 = all plots display)
% # nVP = 1

function INJ_plot_mean_SPW_parameters_2(struct2use,savePath,cats,doEps,nVP)

for n = 1:length(struct2use)
    %% search for unique location entries
    meanStruct = [];
    SPWIDBar = [];
    SPWIDMatrix = [];

    meanStruct(1).rate = size(struct2use(n).baselineSPW,2) / (struct2use(n).TTL(1).time / 1000);
    meanStruct(1).peak = mean(struct2use(n).baselineSPW(2,:));
    meanStruct(1).width = mean(struct2use(n).baselineSPW(3,:));
    meanStruct(1).label = 'baseline';

    for p = 1:size(cats,2)+1
        SPWIDMatrix(1,p) = p - 1; % ID
        SPWIDMatrix(2,p) = size(find(struct2use(n).baselineSPW(4,:) == p-1),2); % raw count
        SPWIDMatrix(3,p) = SPWIDMatrix(2,p) / size(struct2use(n).baselineSPW,2) * 100; % perc
    end

    meanStruct(1).SPWIDMatrix = SPWIDMatrix;
    SPWIDBar(1,:) = SPWIDMatrix(3,:);

    cntr = 2;

    for m = 1:size(struct2use(n).injection,2)
        for k = 1:size(struct2use(n).injection(m).results,2)
            meanStruct(cntr).rate = size(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWs,2) / ...
                (diff(struct2use(n).injection(m).results(k).times) / 1000);
            meanStruct(cntr).peak = mean(struct2use(n).injection(m).results(k).peak);
            meanStruct(cntr).width = mean(struct2use(n).injection(m).results(k).width);
            meanStruct(cntr).label = ['injection Nr. ' num2str(m) ' window Nr. ' num2str(k)];

            SPWIDMatrix = [];

            for p = 1:size(cats,2)+1
                SPWIDMatrix(1,p) = p - 1; % ID
                SPWIDMatrix(2,p) = size(find(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWID == p-1),2); % raw count
                SPWIDMatrix(3,p) = SPWIDMatrix(2,p) / size(struct2use(n).injection(m).results(k).SPWID,2) * 100; % perc
            end

            meanStruct(cntr).SPWIDMatrix = SPWIDMatrix;
            SPWIDBar(cntr,:) = SPWIDMatrix(3,:);

            cntr = cntr + 1;
        end
    end

    %% plot
    toPlotX = []; toPlotY = [];
    ageString = num2str(struct2use(n).age);
    IDString = struct2use(n).ID;
    titleStringPart = ['P' num2str(struct2use(n).age) ' ' struct2use(n).ID];
    toPlotY = 1:size(meanStruct,2);
    ylimValues = [1 size(meanStruct,2)];
    yTickLabels = {meanStruct(:,label)};

    % plot rate
    toPlotX = [meanStruct(:,rate)];
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' SPW_rate ' titleStringPart];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v004([titleStringPart ' SPW_rate'], ...
        toPlotX,toPlotY,'rate [Hz]',injection [n],rateInj,ylimValues,yTickLabels,savePathString,doEps,nVP)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean peak
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanPeak ' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(:,peak)];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v004([titleStringPart ' meanPeak'], ...

```

```

    toPlotX,toPlotY,'mean peak [mV]',injection [n]',peakInj',ylimValues,yTickLabels,savePathString,doEps,nVP)
toPlotX = []; savePathString = [];

% plot mean width
savePathString = [savePath 'P' ageString '_' IDString '_stim_meanWidth_' titleStringPart];
toPlotX = [meanStruct(:).width];
plot_SPW_st_stim_scatter_v004([titleStringPart 'meanWidth'], ...
    toPlotX,toPlotY,'mean width [ms]',injection [n]',widthInj',ylimValues,yTickLabels,savePathString,doEps,nVP)
toPlotX = []; savePathString = [];

% plot SPWID Bar graphs
savePathString = [savePath 'P' ageString '_' IDString '_stim_SPWID_' titleStringPart];

yBar = SPWIDBar;

if size(yBar,1) == 1
    yBar(2,:) = NaN; %'stacked' bar graph does not work with a single graph so a dummy row is created...
    h = barh(yBar,'stacked');
    set(h,{FaceColor},{w'm';y'r';b'b});
    set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100])%,'XLim',[0 4])
    title([titleStringPart 'SPWID']); % title
    ylabel(injection [n]); % x-label
    yticklabels(yTickLabels)
    xlim([0 100]); % x-limits (0 to 100 %)
    grid on
    l = cell(1,5);
    l{1}='empty'; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
    legend(h,l,'Location','northeastoutside');
else
    h = barh(yBar,'stacked');
    set(h,{FaceColor},{w'm';y'r';b'b});
    set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100])%,'XLim',[0 4])
    title([titleStringPart 'SPWID']); % title
    ylabel(injection [n]); % x-label
    yticks(toPlotY)
    yticklabels(yTickLabels)
    grid on
    l = cell(1,5);
    l{1}='empty'; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
    legend(h,l,'Location','northeastoutside');
end

print(gcf,'-dpng','-r300',[savePathString '.png'])

if doEps
    print(gcf,'-depsc2','-painters',[savePathString '.eps'])
end

close all
end

```

8.3.3.4. *INJ_readout_and_conversion.m*

```

%% function INJ_readout_and_conversion
% this script adds a substruct to the existing struct with the start times of an injection
% compared to stimulation experiments, injection experiments have long windows after each injection (maybe only one)
% instead of multiple very small ones.
% Updated to SPW_detect_RTH.
% The signal key is "injection" injection is followed by a 1 (start of injection) or -1 (end of injection). This period
% is excluded from all analysis.
% The first appearance of an injection 1 marks the end of the baseline

%% step 1

% animals: the overarching animals struct
% # animals = animals
%
% struct2use: input struct, must be created by "SPW_detect_RTH_v039"
% # struct2use = struct2use
%
% signalKey: the keyword for signals, default in all stimulation experiments is "Signal-1"
% # signalKey = 'Signal-1'
%
% evtID2safe: identifier to be saved as the ttl.evt (can be depth for example), the other parameter is the time point
% # evtID2safe = 'depth';

function outstruct = INJ_readout_and_conversion(struct2use,evtID2safe)

for n = 1:length(struct2use)
    recType = struct2use(n).recType;

    switch (recType)
        case {'old_standard'}
            disp('old recording: no readout')
        case {'stimulation_electrical'}
            struct2use(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(struct2use(n),fullpath,'stm.evt');
        case {'injection'}
            struct2use(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(struct2use(n),fullpath,'inj.evt');
        case {'stimulation_visual'}
            struct2use(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(struct2use(n),fullpath,'stv.evt');
    end
end

```

```

end

startTimes = []; endTimes = [];

startTimes = [struct2use(n).evtFileStruct([struct2use(n).evtFileStruct(:).info == 1],time);
endTimes = [struct2use(n).evtFileStruct([struct2use(n).evtFileStruct(:).info == -1],time);

evtInfo = [struct2use(n).evtFileStruct(:).evtInfo];
evtCells = {evtInfo(strcmp({evtInfo(:).type},evtID2safe)),value};

% grr / will only work for this specific dataset (or if any other dataset is typed the exact way!
cntr = 0;

for m = 1:size(evtCells,2)
    cntr = cntr + 1;
    evtValue = str2double(evtCells{m}(1:end-3));
    struct2use(n).TTL(cntr).time = startTimes(m);
    struct2use(n).TTL(cntr).ID = 'startInj';
    struct2use(n).TTL(cntr).(evtID2safe) = evtValue;
    cntr = cntr + 1;
    struct2use(n).TTL(cntr).time = endTimes(m);
    struct2use(n).TTL(cntr).ID = 'TTL';
    struct2use(n).TTL(cntr).(evtID2safe) = evtValue;
end

cntr = cntr + 1;
struct2use(n).TTL(cntr).time = struct2use(n).recordingMinutes(end) * 60 * 1e3; % save end of recording in ms
struct2use(n).TTL(cntr).ID = 'endOfRec';

tIDs = strcmp([struct2use(n).TTL.ID,'TTL'];
save2evt(struct2use(n).fullpath,'ttl.evt',{struct2use(n).TTL(tIDs).time},{struct2use(n).TTL(tIDs).(evtID2safe)});
end

outstruct = struct2use; % "good" animal control is now in the function call by reducing the input struct to those

```

8.3.3.5. *Plot_V1_Abbildung.m*

```

% global animals
% if isempty(animals)
%     error('Missing struct! Please load a struct!');
% end
animalName = '425';
saveBase = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/thesis/';

file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/425/2014-04-09_15-45-11/425_090402014_01';

% channel and color limits and [start end] seconds for top row, spectrogram of CSD
csdSpecCh = 1;
specTime = [300 360]; % intrinsic vs. volume conducted
%specTime = [1512.5 1572.5]; % harmonies
%specTime = [2515 2575]; % no harmonies

% time in minutes for zoom in of Spindle burst (middle rows)
%trcMins = [0.425 0.465]; % intrinsic
trcMins = [0.53 0.57]; % volume conducted
%trcMins = [0.46 0.54]; % harmonies

% error if trcMins does not fit into specTime
specTime_timespan = (specTime(2)-specTime(1))/60;
if trcMins(1) > specTime_timespan || trcMins(2) > specTime_timespan
    error('The given timespan for the zoomed plots (trcMins) does not fit into the timespan of the given spectrogram (specTime)');
end

% which channels (of LFP) to show wavelets for, on left
exChans = [1 2 3];

%% SAT placeholders
sat1_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';
sat2_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';

% time in seconds for SAT examples [start end]
sat1Time = [197.7 198.7];
sat2Time = [393.7 394.7];

% color limits in CSD
CsdCLim = [10.5 40];

wid = 17.6; hgt = 13; % in cm

%% margins for figure (all in percent)
leftPos = .05;
topMarg = .03; bot = .05; midSpec = .08;
totHgt = 1-(topMarg+bot+midSpec);
specHgt = totHgt/8; % height of spectrogram
trcHgt = totHgt/3; % height of traces
topYPos = 1-topMarg-specHgt;
midYPos = topYPos-midSpec-trcHgt;
wvltWid = .29; wvltSpc = .02; % width of wavelet
wvltHgt = (trcHgt-2*wvltSpc)/3; % height of wavelet
trcWid = .57; trcXPos = leftPos+wvltWid+.05; % width of trace
statWid = .55; statSpc = .06; satSpc = .03; % width of stats
satWid = (1-statWid-statSpc-leftPos-satSpc)/2; % sat width defined by statwid
cggHgt = .09; satHgt = .17;

```

```

satYPos = bot+ccgHgt+.09;

mtspecPos = [leftPos topYPos 1-leftPos-.01 specHgt];
sbTrcPos = [trcXPos midYPos trcWid trcHgt];
wvlt1Pos = [leftPos midYPos+2*(wvltHgt+wvltSpc) wvltWid wvltHgt];
wvlt2Pos = [leftPos midYPos+wvltHgt+wvltSpc wvltWid wvltHgt];
wvlt3Pos = [leftPos midYPos wvltWid wvltHgt];
sat1Pos = [leftPos satYPos satWid satHgt];
sat2Pos = [leftPos+satWid+satSpc satYPos satWid satHgt];

%% positions for upper right barplots, only matters if you have stats
barWid = .14; barSpc = .06; topstatY = satYPos; barHgt = .16;
botBoxLeft = sat2Pos(1)+sat2Pos(3)+.06;
clear stat stat2
stat(1).boxpos = [botBoxLeft topstatY barWid barHgt];
stat(2).boxpos = [botBoxLeft+(barWid+barSpc) topstatY barWid barHgt];
%stat(3).boxpos = [botBoxLeft+2*(barWid+barSpc) topstatY barWid barHgt];
%stat(4).boxpos = [botBoxLeft+2*(barWid+barSpc) topstatY-barHgt-.095 barWid barHgt];
stat2(1).boxpos = [botBoxLeft+2*(barWid+barSpc) topstatY barWid barHgt];

% positions for the left two CCGs, only matters if you have CCGs
ccgWid = .14; ccgHgt = .09; vertSpc = .08; bott = .05;
ccg1pos = [leftPos bott+ccgHgt+vertSpc ccgWid ccgHgt];
ccg2pos = [leftPos bott ccgWid ccgHgt];
ccg3pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott+ccgHgt+vertSpc ccgWid ccgHgt];
ccg4pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott ccgWid ccgHgt];

% wavelet parameters
gparams.fs = 1280/5; % recording sample rate, divide by 5
gparams.octave = 1/5; % (depends on later downsampling by 5!!!)
gparams.n_steps = 48;
gparams.f_start = 3.2; % change minimum freq here for wavelets, change values also below
gparams.f_end = 39.8; % change maximum freq here for wavelets, change values also below
%gparams.f_start = 1.2;
%gparams.f_end = 39.8;

%% this needs to be run once the first time you use the script
addpath('~\smarguet\matlab\others\timefreq_1.1/')
h = figure, axes('Parent',h)
[freqs gabor] = create_gabormorlet(gparams.fs,gparams.f_start,...
    gparams.f_end,gparams.n_steps,...
    gparams.octave);
close(h)

h = figure('DefaultAxesPosition',[0.05 0.05 0.93 0.9],...
    'PaperPositionMode','manual',...
    'DefaultAxesLineWidth',75,'DefaultLineLineWidth',75,...
    'DefaultAxesFontSize',5,'DefaultTextFontSize',5,...
    'DefaultAxesFontName','Arial','DefaultTextFontName','Arial',...
    'PaperUnits','centimeters','Units','centimeters',...
    'Position',[0 0 wid hgt], 'PaperPosition',[0 0 wid hgt]);

colormap jet

par = xml_load([file '.xml']);
fs = str2num(par.fieldPotentials.lfpSamplingRate);
nCh = str2num(par.acquisitionSystem.nChannels);
vRange = str2num(par.acquisitionSystem.voltageRange);
amplif = str2num(par.acquisitionSystem.amplification);
startByte = specTime(1)*nCh*fs*2;

%% LOAD, PLOT CSD SPECTRUM
axes('Position',mtspecPos);
csdTrc = bload([file '.eeg'],[1 diff(specTime)*fs,startByte+2*csdSpecCh,'short',(nCh-1)*2]);

[b,a] = butter(3,[1 70]/fs*2,'bandpass');
csdTrc = filtfilt(b,a,csdTrc);
win = [1 1/3]; % 1 sec win stepped 1/3 sec intervals
params.tapers = [3 5];
params.Fs = fs;
params.trialave = 0;
params.fpass = [2 49]; % set frequency range displayed in the CSD spectrum
[S,t,f] = mtspecgram(csdTrc',win,params);
t = t/60; % minutes
imagesc(t,f,10*log10(abs(S')));
set(gca,'YDir','normal');
ylabel('spectrogram [Hz]',Fontsize,8); xlabel('minutes',Fontsize,8);
set(gca,'CLim','CsdCLim'); title(['Spindle burst in CSD (ch: num2str(csdSpecCh) )'],Fontsize,8)

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
eegTraces = bload([file '.eeg'],[nChToLoad diff(specTime)*fs,startByte,...
    num2str(nChToLoad)'*short',(nCh-nChToLoad)*2]);
eegTraces = eegTraces./((2^16)/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.5 49]/fs*2,'bandpass');

% put lines on top mtspectrum
line(repmat(trcMins(1),1,2),params.fpass,'LineStyle','-','Color',[.3 .3 .3],'LineWidth',75);
line(repmat(trcMins(2),1,2),params.fpass,'LineStyle','-','Color',[.3 .3 .3],'LineWidth',75);

%% SB TRACE STUFF HERE

```

```

clear trcEeg
trcInds = round(trcMins(1)*60*fs);round(trcMins(2)*60*fs);

for c = 1:nChToLoad; trcEeg(c,:) = filtfilt(b,a,eegTraces(c,trcInds));end

trcAx = linspace(trcMins(1)*60,trcMins(2)*60,length(trcEeg));

nSamps = size(trcEeg,2);
multipl = 2 / .2; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
trcEegPlot = (trcEeg*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sbTrcPos);
plot(trcAx,trcEegPlot,'k','LineWidth',1);
axis tight;
ylim([-2 nChToLoad+1.5]); % y axis limits for Spindle burst LFP traces
set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
title('LFP traces of a Spindle burst','FontSize',8)
ylabel('channel','FontSize',8); xlabel('seconds');

%% SB WAVELET STUFF HERE
for c = 1:3
    eval(['axes("Position",wvlt',num2str(c),'Pos);']);
    downSamp = medfilt1(eegTraces(exChans(c),trcInds),5,50);
    eegSpec = gmfilterfast(downSamp(1:5:end),gabor);

    h = pcolor(trcAx(1:20:end),freqs,double(eegSpec(:,1:4:end)*10+log(eegSpec(:,1:4:end))));
    set(h,'edgecolor','none'), %set(gca,'CLim',[-5 3.6]);
    set(gca,'YDir','normal');

    if 3 ~= c, set(gca,'XTick',[]); else xlabel('seconds'); end

    ylim([3.25 40.75]); set(gca,'CLim',[-6.5 0]); %set(gca,'CLim',[-7 .6]); %change under ylim according to the actual frequency
    ylabel(['ch: ' num2str(exChans(c))'],'FontSize',8);

    if 1 == c, title('LFP spectrogram','FontSize',8); end
end

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat1Time(1)*fs)*nCh*2;
sat1Trace = bload([sat1_file '.eeg'],[nChToLoad diff(sat1Time)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) '*short'],(nCh-nChToLoad)*2);
sat1Trace = sat1Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');

for c = 1:nChToLoad; sat1Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat1Trace(c,:)); end
nSamps = size(sat1Trace,2);
multipl = 2 / .12; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat1Trace = (sat1Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sat1Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat1Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight; ylim([-0.1 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
ylabel('channel','FontSize',6); title('SAT (type I)','FontSize',7); xlabel('seconds');

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat2Time(1)*fs)*nCh*2;
sat2Trace = bload([sat2_file '.eeg'],[nChToLoad diff(sat2Time)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) '*short'],(nCh-nChToLoad)*2);
sat2Trace = sat2Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');

for c = 1:nChToLoad; sat2Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat2Trace(c,:)); end

nSamps = size(sat2Trace,2);

multipl = 2 / .15; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat2Trace = (sat2Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sat2Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat2Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight; ylim([-0.1 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',[]); title('SAT (type II)','FontSize',7); xlabel('seconds');

print(gcf,'-dpng','-r150',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.png']);
print(gcf,'-depsc2','-painters',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.eps']);

```

8.3.3.6. *Plot_V1_Abbildung_V1B.m*

```
% global animals
% if isempty(animals)
%     error('Missing struct! Please load a struct!');
% end
animalName = '427';
saveBase = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/thesis/';

file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/427/2014-04-09_10-41-55/427_090402014_01';

% channel and color limits and [start end] seconds for top row, spectrogram of CSD
csdSpecCh = 1;
specTime = [1996 2056];

% time in minutes for zoom in of Spindle burst (middle rows)
trcMins = [0.65 0.71]; % volume conducted

% error if trcMins does not fit into specTime
specTimeError = (specTime(2)-specTime(1))/60;

if trcMins(1) > specTimeError || trcMins(2) > specTimeError
    error('The given timespan for the zoomed plots (trcMins) does not fit into the timespan of the given spectrogram (specTime));
end

% which channels (of LFP) to show wavelets for, on left
exChans = [1 2 3];

% SAT placeholders
sat1_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';
sat2_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';

% time in seconds for SAT examples [start end]
sat1Time = [197.7 198.7];
sat2Time = [393.7 394.7];

% color limits in CSD
CsdCLim = [20 55];

wid = 17.6; hgt = 13; % in cm

%% margins for figure (all in percent)
leftPos = .05;
topMarg = .03; bot = .05; midSpC = .08;
totHgt = 1-(topMarg+bot+midSpC);
specHgt = totHgt/8; % height of spectrogram
trcHgt = totHgt/3; % height of traces
topYPos = 1-topMarg-specHgt;
midYPos = topYPos-midSpC-trcHgt;
wvltWid = .29; wvltSpC = .02; % width of wavelet
wvltHgt = (trcHgt-2*wvltSpC)/3; % height of wavelet
trcWid = .57; trcXPos = leftPos+wvltWid+.05; % width of trace
statWid = .55; statSpC = .06; satSpC = .03; % width of stats
satWid = (1-statWid-statSpC-leftPos-satSpC)/2; % sat width defined by statwid
ccgHgt = .09; satHgt = .17;
satYPos = bot+ccgHgt+.09;

mtspecPos = [leftPos topYPos 1-leftPos-.01 specHgt];
sbTrcPos = [trcXPos midYPos trcWid trcHgt];
wvlt1Pos = [leftPos midYPos+2*(wvltHgt+wvltSpC) wvltWid wvltHgt];
wvlt2Pos = [leftPos midYPos+wvltHgt+wvltSpC wvltWid wvltHgt];
wvlt3Pos = [leftPos midYPos wvltWid wvltHgt];
sat1Pos = [leftPos satYPos satWid satHgt];
sat2Pos = [leftPos+satWid+satSpC satYPos satWid satHgt];

%% positions for upper right barplots, only matters if you have stats
barWid = .14; barSpC = .06; topstatY = satYPos; barHgt = .16;
botBoxLeft = sat2Pos(1)+sat2Pos(3)+.06;
clear stat stat2
stat(1).boxpos = [botBoxLeft topstatY barWid barHgt];
stat(2).boxpos = [botBoxLeft+(barWid+barSpC) topstatY barWid barHgt];
stat2(1).boxpos = [botBoxLeft+2*(barWid+barSpC) topstatY barWid barHgt];

% positions for the left two CCGs, only matters if you have CCGs
ccgWid = .14; ccgHgt = .09; vertSpC = .08; bott = .05;
ccg1pos = [leftPos bott+ccgHgt+vertSpC ccgWid ccgHgt];
ccg2pos = [leftPos bott ccgWid ccgHgt];
ccg3pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott+ccgHgt+vertSpC ccgWid ccgHgt];
ccg4pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott ccgWid ccgHgt];

% wavelet parameters
gparams.fs = 1280/5; % recording sample rate, divide by 5
gparams.octave = 1/5; % (depends on later downsampling by 5!!!)
gparams.n_steps = 48;
gparams.f_start = 3.2; % change minimum freq here for wavelets, change values also below
gparams.f_end = 39.8; % change maximum freq here for wavelets, change values also below

%% this needs to be run once the first time you use the script
addpath('~/smarguet/matlab/others/timefreq_1.1/')
h = figure, axes('Parent',h)
[freqs gabors] = create_gabormorlet(gparams.fs,gparams.f_start,gparams.f_end,gparams.n_steps,gparams.octave);
close(h)

h = figure('DefaultAxesPosition',[0.05 0.05 0.93 0.9],...
    'PaperPositionMode','manual',...
```

```

'DefaultAxesLineWidth',75,'DefaultLineLineWidth',75,...
'DefaultAxesFontSize',5,'DefaultTextFontSize',5,...
'DefaultAxesFontName','Arial','DefaultTextFontName','Arial',...
'PaperUnits','centimeters','Units','centimeters',...
'Position',[0 0 wid hgt], 'PaperPosition',[0 0 wid hgt]);

colormap jet

par = xml_load([file '.xml']);
fs = str2num(par.fieldPotentials.lfpSamplingRate);
nCh = str2num(par.acquisitionSystem.nChannels);
vRange = str2num(par.acquisitionSystem.voltageRange);
amplif = str2num(par.acquisitionSystem.amplification);
startByte = specTime(1)*nCh*fs*2;

%% LOAD, PLOT CSD SPECTRUM
axes('Position',mtspecPos);
csdTrc = bload([file '.eeg'],[1 diff(specTime)*fs,startByte+2*csdSpecCh,short',(nCh-1)*2]);

[b,a] = butter(3,[1 70]/fs*2,'bandpass');
csdTrc = filtfilt(b,a,csdTrc);
win = [1 1/3]; % 1 sec win stepped 1/3 sec intervals
params.tapers = [3 5];
params.Fs = fs;
params.trialave = 0;
params.fpass = [2 49]; % set frequency range displayed in the CSD spectrum
[S,t,f] = mtspecgram(csdTrc',win,params);
t = t/60; % minutes
imagesc(t,f,10*log10(abs(S')));
set(gca,'YDir','normal');
ylabel('spectrogram [Hz]',FontSize,8); xlabel('minutes',FontSize,8);
set(gca,'CLim','CsdCLim'); title(['Spindle burst in CSD (ch: num2str(csdSpecCh) )'],FontSize,8)

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
eegTraces = bload([file '.eeg'],[nChToLoad diff(specTime)*fs,startByte,...
    num2str(nChToLoad)*short',(nCh-nChToLoad)*2]);
eegTraces = eegTraces./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.5 49]/fs*2,'bandpass');

% put lines on top mtspectrum
line(repmat(trcMins(1),1,2),params.fpass,'LineStyle','-',Color',[.3 .3 .3],LineWidth,75);
line(repmat(trcMins(2),1,2),params.fpass,'LineStyle','-',Color',[.3 .3 .3],LineWidth,75);

%% SB TRACE STUFF HERE
clear trcEeg
trcInds = round(trcMins(1)*60*fs):round(trcMins(2)*60*fs);

for c = 1:nChToLoad; trcEeg(c,:) = filtfilt(b,a,eegTraces(c,trcInds)); end
trcAx = linspace(trcMins(1)*60,trcMins(2)*60,length(trcEeg));

nSamps = size(trcEeg,2);
multipl = 2 / .2; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
trcEegPlot = (trcEeg*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sbTrcPos);
plot(trcAx,trcEegPlot,'k',LineWidth,1);
axis tight;
ylim([-2 nChToLoad+1.5]); % y axis limits for Spindle burst LFP traces
set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
title(['LFP traces of a Spindle burst'],FontSize,8)
ylabel('channel',FontSize,8); xlabel('seconds');

%% SB WAVELET STUFF HERE
for c = 1:3
    eval(['axes("Position",wvlt',num2str(c),'Pos)']);
    downSamp = medfilt1(eegTraces(exChans(c),trcInds),5,50);
    eegSpec = gmfilterfast(downSamp(1:5:end),gabors);

    h = pcolor(trcAx(1:20:end),freqs,double(eegSpec(:,1:4:end)*10+log(eegSpec(:,1:4:end)))));
    set(h,'edgecolor','none'), %set(gca,'CLim',[-5 3.6]);
    set(gca,'YDir','normal');

    if 3 ~= c, set(gca,'XTick',[]); else xlabel('seconds'); end

    ylim([3.25 40.75]); set(gca,'CLim',[-6.5 0]);
    ylabel(['ch: ' num2str(exChans(c))],FontSize,8);

    if 1 == c, title('LFP spectrogram',FontSize,8); end
end

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat1Time(1)*fs)*nCh*2;
sat1Trace = bload([sat1_file '.eeg'],[nChToLoad diff(sat1Time)*fs,startByte,...
    num2str(nChToLoad)*short',(nCh-nChToLoad)*2]);
sat1Trace = sat1Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');
for c = 1:nChToLoad
    sat1Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat1Trace(c,:));
end
nSamps = size(sat1Trace,2);

```



```

multipl = 2 / .12; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat1Trace = (sat1Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1);

axes('Position',sat1Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat1Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight, ylim([-0.01 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
ylabel('channel','FontSize',6); title('SAT (type I)','FontSize',7); xlabel('seconds');

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat2Time(1)*fs)*nCh*2;
sat2Trace = bload([sat2_file '.ecg'],[nChToLoad diff(sat2Time)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) 'short'],(nCh-nChToLoad)*2);
sat2Trace = sat2Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');

for c=1:nChToLoad; sat2Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat2Trace(c,:)); end
nSamps = size(sat2Trace,2);
multipl = 2 / .15; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat2Trace = (sat2Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1);

axes('Position',sat2Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat2Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight, ylim([-0.01 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',[]); title('SAT (type II)','FontSize',7); xlabel('seconds');

print(gcf,'-dpng','-r150',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.png']);
print(gcf,'-depsc2','-painters',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.eps']);

```

8.3.3.7. Plot_V1_Abbildung_VIS.m

```

% global animals
% if isempty(animals)
%     error('Missing struct! Please load a struct!');
% end
animalName = '427';
saveBase = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/thesis/';

file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/427/2014-04-09_10-41-55/427_090402014_01';

% channel and color limits and [start end] seconds for top row, spectrogram of CSD
csdSpecCh = 1;
specTime = [1996 2056];

% time in minutes for zoom in of Spindle burst (middle rows)
trcMins = [0.1 0.16]; % volume conducted

% error if trcMins does not fit into specTime
specTimeError = (specTime(2)-specTime(1))/60;

if trcMins(1) > specTimeError || trcMins(2) > specTimeError
    error('The given timespan for the zoomed plots (trcMins) does not fit into the timespan of the given spectrogram (specTime)');
end

% which channels (of LFP) to show wavelets for, on left
exChans = [1 2 3];

%% SAT placeholders
sat1_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';
sat2_file = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/414/2014-03-31_09-09-12/414_310302014_01';

% time in seconds for SAT examples [start end]
sat1Time = [197.7 198.7];
sat2Time = [393.7 394.7];

% color limits in CSD
CsdCLim = [20 55];

wid = 17.6; hgt = 13; % in cm

%% margins for figure (all in percent)
leftPos = .05;
topMarg = .03; bot = .05; midSpec = .08;
totHgt = 1-(topMarg+bot+midSpec);
specHgt = totHgt/8; % height of spectrogram
trcHgt = totHgt/3; % height of traces
topYPos = 1-topMarg-specHgt;
midYPos = topYPos-midSpec-trcHgt;
wvltWid = .29; wvltSpec = .02; % width of wavelet
wvltHgt = (trcHgt-2*wvltSpec)/3; % height of wavelet
trcWid = .57; trcXPos = leftPos+wvltWid+.05; % width of trace
statWid = .55; statSpec = .06; satSpec = .03; % width of stats
satWid = (1-statWid-statSpec-leftPos-satSpec)/2; % sat width defined by statwid
ccgHgt = .09; satHgt = .17;
satYPos = bot+ccgHgt+.09;

mtspecPos = [leftPos topYPos 1-leftPos-.01 specHgt];
sbTrcPos = [trcXPos midYPos trcWid trcHgt];
wvlt1Pos = [leftPos midYPos+2*(wvltHgt+wvltSpec) wvltWid wvltHgt];

```

```

wvlt2Pos = [leftPos midYPos+wvltHgt+wvltSpw wvltWid wvltHgt];
wvlt3Pos = [leftPos midYPos wvltWid wvltHgt];
sat1Pos = [leftPos satYPos satWid satHgt];
sat2Pos = [leftPos+satWid+satSpw satYPos satWid satHgt];

%% positions for upper right barplots, only matters if you have stats
barWid = .14; barSpw = .06; topstatY = satYPos; barHgt = .16;
botBoxLeft = sat2Pos(1)+sat2Pos(3)+.06;
clear stat stat2
stat(1).boxpos = [botBoxLeft topstatY barWid barHgt];
stat(2).boxpos = [botBoxLeft+(barWid+barSpw) topstatY barWid barHgt];
stat(1).boxpos = [botBoxLeft+2*(barWid+barSpw) topstatY barWid barHgt];

%% positions for the left two CCGs, only matters if you have CCGs
ccgWid = .14; ccgHgt = .09; vertSpw = .08; bott = .05;
ccg1pos = [leftPos bott+ccgHgt+vertSpw ccgWid ccgHgt];
ccg2pos = [leftPos bott ccgWid ccgHgt];
ccg3pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott+ccgHgt+vertSpw ccgWid ccgHgt];
ccg4pos = [leftPos+ccgWid+.035 bott ccgWid ccgHgt];

%% wavelet parameters
gparams.fs = 1280/5; % recording sample rate, divide by 5
gparams.octave = 1/5; % (depends on later downsampling by 5!!!)
gparams.n_steps = 48;
gparams.f_start = 3.2; % change minimum freq here for wavelets, change values also below
gparams.f_end = 39.8; % change maximum freq here for wavelets, change values also below

%% this needs to be run once the first time you use the script
addpath('~/smarguet/matlab/others/timefreq_1.1/')
h = figure, axes('Parent',h)
[freqs gabors] = create_gabormorlet(gparams.fs,gparams.f_start,gparams.f_end,gparams.n_steps,gparams.octave);
close(h)

h = figure('DefaultAxesPosition',[0.05 0.05 0.93 0.9],...
    'PaperPositionMode','manual',...
    'DefaultAxesLineWidth',75,'DefaultLineLineWidth',75,...
    'DefaultAxesFontSize',5,'DefaultTextFontSize',5,...
    'DefaultAxesFontName','Arial','DefaultTextFontName','Arial',...
    'PaperUnits','centimeters','Units','centimeters',...
    'Position',[0 0 wid hgt], 'PaperPosition',[0 0 wid hgt]);

colormap jet

par = xml_load([file 'xml']);
fs = str2num(par.fieldPotentials.lfpSamplingRate);
nCh = str2num(par.acquisitionSystem.nChannels);
vRange = str2num(par.acquisitionSystem.voltageRange);
amplif = str2num(par.acquisitionSystem.amplification);
startByte = specTime(1)*nCh*fs*2;

%% LOAD, PLOT CSD SPECTRUM
axes('Position',mtspecPos);
csdTrc = bload([file 'eeg'],1, diff(specTime)*fs],startByte+2*csdSpecCh,'short',(nCh-1)*2);

[b,a] = butter(3,[1 70]/fs*2,'bandpass');
csdTrc = filtfilt(b,a,csdTrc);
win = [1 1/3]; % 1 sec win stepped 1/3 sec intervals
params.tapers = [3 5];
params.Fs = fs;
params.trialave = 0;
params.fpass = [2 49]; % set frequency range displayed in the CSD spectrum
[S,t,f] = mtspecgram(csdTrc,win,params);
t = t/60; % minutes
imagesc(t,f,10*log10(abs(S')));
set(gca,'YDir','normal');
ylabel('spectrogram [Hz]', 'FontSize',8); xlabel('minutes','FontSize',8);
set(gca,'CLim','CsdCLim'); title(['Spindle burst in CSD (ch: num2str(csdSpecCh) )'], 'FontSize',8)

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
eegTraces = bload([file 'eeg'],nChToLoad diff(specTime)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) 'short'],(nCh-nChToLoad)*2);
eegTraces = eegTraces./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.5 49]/fs*2,'bandpass');

% put lines on top mtspectrum
line(repmat(trcMins(1),1,2),params.fpass,'LineStyle','-','Color',[.3 .3 .3],'LineWidth',75);
line(repmat(trcMins(2),1,2),params.fpass,'LineStyle','-','Color',[.3 .3 .3],'LineWidth',75);

%% SB TRACE STUFF HERE
clear trcEeg
trcInds = round(trcMins(1)*60*fs):round(trcMins(2)*60*fs);

for c = 1:nChToLoad; trcEeg(c,:) = filtfilt(b,a,eegTraces(c,trcInds)); end
trcAx = linspace(trcMins(1)*60,trcMins(2)*60,length(trcEeg));

nSamps = size(trcEeg,2);
multipl = 2 / 1; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
trcEegPlot = (trcEeg*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1,nSamps,1]);

axes('Position','sbTrcPos');
plot(trcAx,trcEegPlot,'k','LineWidth',1);
axis tight;
ylim([-2 nChToLoad+1.5]); % y axis limits for Spindle burst LFP traces

```

```

set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
title([LFP traces of a Spindle burst'],'FontSize',8)
ylabel('channel','FontSize',8); xlabel('seconds');

%% SB WAVELET STUFF HERE
for c = 1:3
    eval(['axes(''Position'',wvlt' num2str(c) 'Pos);']);
    downSamp = medfilt1(egTraces(exChans(c),trcInds),5,50);
    eegSpec = gmfilterfast(downSamp(1:5:end),gabor);

    h = pcolor(trcAx(1:20:end),freqs,double(eegSpec(:,1:4:end)*10+log(eegSpec(:,1:4:end))));
    set(h,'edgecolor','none'),% set(gca,'CLim',[-10 50]);
    set(gca,'YDir','normal');

    if 3 ~= c, set(gca,'XTick',[]); else xlabel('seconds'); end

    ylim([3.25 40.75]); set(gca,'CLim',[-6.5 5]);
    ylabel(['ch: ' num2str(exChans(c))'],'FontSize',8);

    if 1 == c, title('LFP spectrogram','FontSize',8); end
end

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat1Time(1)*fs)*nCh*2;
sat1Trace = bload([sat1_file '.eeg'],[nChToLoad diff(sat1Time)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) '*short'],(nCh-nChToLoad)*2);
sat1Trace = sat1Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');
for c=1:nChToLoad
    sat1Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat1Trace(c,:));
end
nSamps = size(sat1Trace,2);
multipl = 2 / .12; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat1Trace = (sat1Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sat1Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat1Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight, ylim([-0.01 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',1:nChToLoad,'YTickLabel',nChToLoad:-1:1);
ylabel('channel','FontSize',6); title('SAT (type I)','FontSize',7); xlabel('seconds');

%% LOAD AREA TO ZOOM
nChToLoad = 6;
startByte = round(sat2Time(1)*fs)*nCh*2;
sat2Trace = bload([sat2_file '.eeg'],[nChToLoad diff(sat2Time)*fs],startByte,...
    [num2str(nChToLoad) '*short'],(nCh-nChToLoad)*2);
sat2Trace = sat2Trace./(2^16/((vRange*1e3)/amplif));

[b,a] = butter(3,[.2 35]/fs*2,'bandpass');
for c=1:nChToLoad; sat2Trace(c,:) = filtfilt(b,a,sat2Trace(c,:)); end
nSamps = size(sat2Trace,2);
multipl = 2 / .15; % second arg is target mV range per ch
% should resize to fit from 0:n so we can have chan #s as yticks
sat2Trace = (sat2Trace*multipl)+repmat([nChToLoad:-1:1],nSamps,1)';

axes('Position',sat2Pos);
plot(linspace(0,diff(sat1Time),nSamps),sat2Trace,'k','LineWidth',1);
axis tight, ylim([-0.01 nChToLoad+2.5]); xlim([0.01 diff(sat1Time)-.01])
set(gca,'YTick',[]); title('SAT (type II)','FontSize',7); xlabel('seconds');

print(gcf,'-dpng','-r150',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.png']);
print(gcf,'-depsc2','-painters',[saveBase animalName '_visual_cortex_' num2str(specTime(1)) '-' num2str(specTime(2)) '.eps']);

```

8.3.3.8. *SPW_categorize_RTH.m*

```

%% SPW_detect_and_categorize_RTH
% detect sharp-waves
% created by RTH 09-05-2018
% designed for MATLAB R2018a
% requires the animals struct from an excel
% v47 uses "findpeaks" and calculates "neo","ori","prx","dst" on its own
% the "pyr" channel is excluded from the categorization and detection

%% %% variables %%
%
% animals: the animals struct
% # animals = animals
%
% IDs2use: index for the animals struct to use, can be a "find" command
% # IDs2use = 21;
% # IDs2use = [3 4:8 12:24]
% # IDs2use = find(strcmp([animals.recType],'old_standard') & [animals.thesisUsage])
% # IDs2use = find([animals.age] == 3)
%
% fileType: type of file to use for detection (.eeg, .csdall, or filtered files) evt files will be named accordingly
% # fileType = '.csdall_4-80'
%
% MinPeakHeight: peak threshold for detection, everything below this will be ignored [in mV]

```

```

% # MinPeakHeight = .1
%
% MinPeakDistance: Minimum distance for peaks to be apart on a single channel
% # MinPeakDistance = 25
%
% MinGroupDistance: Minimum distance for peaks to be apart across channels (peaks less than this apart will be grouped)
% # MinGroupDistance = 25
%
% gainSystem: gain of the system (to convert the mV input)
% # gainSystem = 2000
%
% %%% parameters from the animal struct
%
% animals(n).ID
% animals(n).fullpath
% animals(n).pyrCh
% animals(n).pyrChAnatomical
% animals(n).probeSpacing
% animals(n).radh (set to 0 if unknown and a 40/60 ratio is used for the distance pyrCh-hfCh)
% animals(n).radChAnatomical (set to 0 if unknown and a 40/60 ratio is used for the distance pyrCh-hfCh)
% animals(n).hfCh
% animals(n).hfChAnatomical
%
% % NKCC1
% % NeoDev (example call)
% SPW_categorize_RTH(animals,21,'csdall_4-80SPW.chs.evt',15)

%% main function
function SPW_categorize_RTH(animals,IDs2use,chFileExt,peakFileExt,promFileExt,widthFileExt,MinGroupDistance)
function SPW_categorize_RTH(animals,IDs2use,chFileExt,MinGroupDistance)

if ~exist('animals','var') || isempty(animals);error('struct needed'); end % check for correct animals
if isempty(IDs2use); IDs2use = 1:size(animals,1); end % use all animals if not defined

%% settings
orLimit = 100; % upper distance to Pyr

%IDs2use = 9

%% detection and categorization
for n = IDs2use % loop over the desired amount of animals
    disp('###-----###'); disp(['This is: ' num2str(animals(n).ID)]); % ID display

    allPeaksSorted = []; loadedChEvents = []; loadedPromEvents = []; loadedPeakEvents = []; loadedWidthEvents = [];

    basePath = animals(n).fullpath; % base path

    chFile2Load = [basePath chFileExt];
    promFile2Load = [basePath promFileExt];
    peakFile2Load = [basePath peakFileExt];
    widthFile2Load = [basePath widthFileExt];

    if ~exist(chFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' chFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end
    if ~exist(promFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' promFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end
    if ~exist(peakFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' peakFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end
    if ~exist(widthFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' widthFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end

    % load the channels
    % use the datasheet excel
    % pyramidal

    pyrCh = animals(n).pyrCh; % user defined pyramidal channel

    if isnan(pyrCh); warning('missing pyramidal channel, skipping...'); continue; end

    pyrChAnatomical = animals(n).pyrChAnatomical; % channel list starts at 1

    % fissure
    hfCh = animals(n).hfCh; % user defined hf channel

    if isnan(hfCh) || hfCh == 0; warning('missing or undefined fissure channel, skipping...'); continue; end

    hfChAnatomical = animals(n).hfChAnatomical; % channel list starts at 1

    % radium
    radCh = animals(n).radCh; % user defined rad channel
    radChAnatomical = animals(n).radChAnatomical; % channel list starts at 1

    if radCh == 0
        if animals(n).age < 12
            radValue = .4; % how much [.4 = 40 %] of the distance between the pyrCh and the hfCh are allocated for Rad
        else
            radValue = .5; % larger radium for older animals
        end

        pyrRadDistance = round(radValue * (hfCh - pyrCh)); % round to nearest value, in case of a tie, rounds away f0
        radCh = pyrCh + pyrRadDistance;
        radChAnatomical = pyrChAnatomical + pyrRadDistance;
    end

    % uses probe spacing to calculate oriens
    probeSpacing = animals(n).probeSpacing((animals(n).CA1Group));

    orCh = pyrCh - orLimit / probeSpacing; % or channel definition based on given distance to pyr
    orChAnatomical = pyrChAnatomical - orLimit / probeSpacing; % channel list starts at 1

```

```

% define analyzing area
recChs = orCh:hiCh;

if ~all(diff(recChs) == 1), warning('Sorry, chans must be a continuous list, skipping'); continue; end

%% defining the base categorization
% three base categories and extended categories with "neonatal" and "undefined" events
cFactor = orChAnatomical - 1; % correction based on the oriens channel to compensate the reduction of channels
baseCats = {'ori','prx','dst'}; % base categories {oriens, proximal, distal}
extCats = {'neo','ori','prx','dst','unf'}; % extended categories {neontal, oriens, proximal, distal, undefined}
% define layers based on the channels; catCh size must equal the size of the base categorization
catCh(1) = {(orChAnatomical:pyrChAnatomical-1) - cFactor}; % ori
catCh(2) = {(pyrChAnatomical+1:radChAnatomical) - cFactor}; % prx
catCh(3) = {(radChAnatomical+1:hiChAnatomical) - cFactor}; % dst

%% load the evt-file (channels)
[fid,msg] = fopen(chFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
loadedChEvents = textscan(fid,'%f%f');
fclose(fid);

%% load the evt-file (prominences)
[fid,msg] = fopen(promFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
loadedPromEvents = textscan(fid,'%f%f');
fclose(fid);

%% load the evt-file (peaks)
[fid,msg] = fopen(peakFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
loadedPeakEvents = textscan(fid,'%f%f');
fclose(fid);

%% load the evt-file (widths)
[fid,msg] = fopen(widthFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
loadedWidthEvents = textscan(fid,'%f%f');
fclose(fid);

% times
allPeaksSorted(1,:) = loadedChEvents{1,1};

% channels
allPeaksSorted(2,:) = loadedChEvents{1,2};

% prominence
allPeaksSorted(3,:) = loadedPromEvents{1,2};

% peaks
allPeaksSorted(4,:) = loadedPeakEvents{1,2};

% widths
allPeaksSorted(5,:) = loadedWidthEvents{1,2};

%% grouping
timegaps = diff(allPeaksSorted(1,:)); % determine the gaps of no-detection
gapidx = find(timegaps > MinGroupDistance); % find gaps larger than the given threshold

groups = []; groups(1),SPWidx = 1:gapidx(1); % initialize group results matrix

for m = 2:size(gapidx,2); groups(m),SPWidx = gapidx(m-1)+1:gapidx(m); end % group the events

for m = 1:size(gapidx,2) % add data
    groups(m),tms = allPeaksSorted(1,groups(m),SPWidx); % detection point [in s]
    groups(m),chs = allPeaksSorted(2,groups(m),SPWidx); % channels
    groups(m),prm = allPeaksSorted(3,groups(m),SPWidx); % prominence amplitudes [in mV]
    groups(m),pks = allPeaksSorted(4,groups(m),SPWidx); % peak amplitudes [in mV]
    groups(m),wdths = allPeaksSorted(5,groups(m),SPWidx); % width at half prominence [in ms]
end

%% categorize
for m = 1:size(gapidx,2)
    switchboard = [false,false,false]; % reset switchboard to all false (ori, prx, dst)

    for p = 1:size(groups(m),chs,2) % over all channels
        for pp = 1:size(catCh{1},2) % ori
            if groups(m),chs(p) == catCh{1}(pp) + orChAnatomical - 1 % compare to predefined channels
                switchboard(1) = true; % set switch
            end
        end

        for pp = 1:size(catCh{2},2) % prx
            if groups(m),chs(p) == catCh{2}(pp) + orChAnatomical - 1 % compare to predefined channels
                switchboard(2) = true; % set switch
            end
        end

        for pp = 1:size(catCh{3},2) % dst
            if groups(m),chs(p) == catCh{3}(pp) + orChAnatomical - 1 % compare to predefined channels
                switchboard(3) = true; % set switch
            end
        end
    end

    catID = []; % reset categorization ID

    % 0-0-0 | (default) no fit (no detection)
    %
    % base categories
    %

```

```

% 1-0-0 | "oriens" ori
% 0-1-0 | "proximal" prx
% 0-0-1 | "distal" dst
%
% extended categories
%
% 1-1-1 | "neonatal" neo (all three base categories present in one event)
% 0-1-1 | "neonatal" neo (prx and dst in one event, no oriens)
%
% 1-1-0 | "proximal" prx (ori and prx present in one event)
% 1-0-1 | "distal" dst (ori and dst present in one event)

if switchboard == true % all true
    catID = 'neo';
elseif switchboard(1) == false && switchboard(2) == true && switchboard(3) == true % only prx & dst
    catID = 'neo';
elseif switchboard(1) == true && switchboard(2) == true && switchboard(3) == false % only ori & prx
    catID = 'prx';
elseif switchboard(1) == true && switchboard(2) == false && switchboard(3) == true % only ori & dst
    catID = 'dst';
elseif switchboard(1) == true && switchboard(2) == false && switchboard(3) == false % only ori
    catID = 'ori';
elseif switchboard(1) == false && switchboard(2) == true && switchboard(3) == false % only prx
    catID = 'prx';
elseif switchboard(1) == false && switchboard(2) == false && switchboard(3) == true % only dst
    catID = 'dst';
else % remaining possibilities
    catID = 'unf';
end

groups(m).catID = catID;
% first detection defines SPW time, peak and width
groups(m).firstTime = groups(m).tms(1); % time (detection) in s
groups(m).firstProm = groups(m).prm(1); % prominence (amplitude) in mV
groups(m).firstPeak = groups(m).pks(1); % peak (amplitude) in mV
groups(m).firstWidth = groups(m).wdths(1); % width in ms
end

disp('done!');

%% creating and saving evt files
% for every ID (neo, ori, prx, dst, unf)
% for each ID (1, amplitude, width)

for m = 1:size(extCats,2)
    catIdx = []; ons = []; tms = []; pks = []; wdths = []; % reset
    %catIdx = []; ons = []; tms = [];

    catIdx = find(strcmp({groups.catID},extCats(m))); % collecting

    tms = num2cell([groups(catIdx).firstTime]); % times in s

    ons(1:size(catIdx,2)) = ones; ons = num2cell(ons); % ones (1) for later (and neuroscope)
    prm = num2cell([groups(catIdx).firstProm]); % prominences in mV
    pks = num2cell([groups(catIdx).firstPeak]); % peaks in mV
    wdths = num2cell([groups(catIdx).firstWidth]); % widths in ms

    % saving
    if isempty(tms)
        warning(['No 'extCats{m} '-events for this animal (' animals(n).ID ') found!'])
    else
        save2evt(animals(n).fullpath,['rte' ',' extCats{m} '.evt'],tms,ons); % ones
        save2evt(animals(n).fullpath,['prm' ',' extCats{m} '.evt'],tms,prm); % prominences
        save2evt(animals(n).fullpath,['pks' ',' extCats{m} '.evt'],tms,pks); % peaks
        save2evt(animals(n).fullpath,['whs' ',' extCats{m} '.evt'],tms,wdths); % widths
    end
end
end
end

```

8.3.3.9. *TTL_find_SPW.m*

```

%% function TTL_find_SPW
% this script searches for events (SPWs) within a definable time period after the TTL signal (timeFrameMsStart-/End).
% This version is modified to find all SPWs within one or more definable time periods after an TTL pulse

%% step 2

% struct2use: struct from SPW_detect
% # struct2use = struct2use;
%
% timeFrameMsStart: start time for the search window in [ms] after the TTL pulse. The value 0 is standard,
% but 5 might produce more accurate results
% # timeFrameMsStart: 0
%
% timeFrameMsEnd: end time for the search window in [ms] after the TTL pulse. The value 50 is standard,
% but 25 might produce more accurate result
% # timeFrameMsEnd: 50
%
% baselineKeyString: this string defines the first item to be found where the baseline ends, if several
% baselines exist the script can easily adapted by changing the later "find" command to
% search for more than the first occurrence.
% # baselineKeyString = 'Signal-1'

```

```

%% newOut2 = TTL_find_SPW(newOut,5,25,'Signal_1')

function outstruct = TTL_find_SPW(struct2use,timeFrameMsStart,timeFrameMsEnd,baselineKeyString)

hitLimit = 1; % not sure how it works in v004 with more than 1
allowedKeyStringHits = 1; % not tested with more than 1

%% tested only on compatible data! ('40780' and others)

for n = 1:size(struct2use,2)

    %% load all 8 evt-files (neo,ori,prx,dst with peak and width)
    % for keeping the string an array neo = 1; ori = 2; prx = 3; dst = 4;
    cats = {'neo','ori','prx','dst'};
    %fileExt = 'csdall_4-80';
    fileExt = '';

    temp = [];

    for m = 1:size(cats,2)
        pksLoaded = []; whsLoaded = [];

        peakFile2Load = [struct2use(n).fullpath fileExt'.pks.' cats{m} '.evt'];
        widthFile2Load = [struct2use(n).fullpath fileExt'.whs.' cats{m} '.evt'];

        if ~exist(peakFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' peakFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end
        if ~exist(widthFile2Load,'file'), warning(['Sorry! ' widthFile2Load ' did not exist! skipping file!']); continue; end

        [fid,msg] = fopen(peakFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
        pksLoaded = textscan(fid,'%f%f');
        fclose(fid);

        [fid,msg] = fopen(widthFile2Load,'r'); if fid<0, error(msg); end
        whsLoaded = textscan(fid,'%f%f');
        fclose(fid);

        % times
        temp(m).loadedCats(1,:) = pksLoaded{1,1};

        % peaks
        temp(m).loadedCats(2,:) = pksLoaded{1,2};

        % widths
        temp(m).loadedCats(3,:) = whsLoaded{1,2};

        % cats (1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst)
        temp(m).loadedCats(4,:) = m;
    end

    combinedResults = [temp.loadedCats];

    [~,idx] = sort(combinedResults(1,:)); % sort by the first row (time)
    sortedResults = combinedResults(:,idx); % use the idx of the sorted first row to sort the whole matrix

    if isempty(struct2use(n).ID); continue; end

    baselineKeyArray = []; keyStringPositions = []; endOfBaseline = []; indexBaselineSPW = []; % safety clears

    baselineKeyArray = strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},baselineKeyString); % logical array of the key string occurrence
    keyStringPositions = find(baselineKeyArray,allowedKeyStringHits);
    endOfBaseline = struct2use(n).TTL(keyStringPositions).time;
    %indexBaselineSPW = find([sortedResults(1,:)] < endOfBaseline);
    struct2use(n).baselineSPW = sortedResults(:,sortedResults(1,:) < endOfBaseline); % save the baseline SPWs

    for m = 1:size(struct2use(n).TTL,2)

        if struct2use(n).TTL(m).cntr == 0; continue; end % skip the "Signal-1" - line

        indexSPW = []; fullIndexSPW = []; % safety clear
        startPoint = struct2use(n).TTL(m).time + timeFrameMsStart;
        endPoint = struct2use(n).TTL(m).time + timeFrameMsEnd;
        fullIndexSPW = find(sortedResults(1,:) > startPoint & sortedResults(4,:) < endPoint,hitLimit);

        if ~isempty(fullIndexSPW); indexSPW = fullIndexSPW(1); end % use only the first hit for safety reasons

        if ~isempty(indexSPW)
            struct2use(n).TTL(m).SPW = sortedResults(:,indexSPW);
            struct2use(n).TTL(m).success = 1;
            struct2use(n).TTL(m).sinkCh = 0; % change!
            struct2use(n).TTL(m).timestamp = sortedResults(1,indexSPW);
            struct2use(n).TTL(m).delay = diff([struct2use(n).TTL(m).time,sortedResults(1,indexSPW)]);
            struct2use(n).TTL(m).peak = sortedResults(2,indexSPW);
            struct2use(n).TTL(m).width = sortedResults(3,indexSPW);
            struct2use(n).TTL(m).SPWID = cats{sortedResults(4,indexSPW)};
            struct2use(n).TTL(m).SPWIDNr = sortedResults(4,indexSPW);
        else
            struct2use(n).TTL(m).success = 0;
            struct2use(n).TTL(m).sinkCh = 0;
            struct2use(n).TTL(m).timestamp = struct2use(n).TTL(m).time;
            struct2use(n).TTL(m).delay = 0;
            struct2use(n).TTL(m).peak = 0;
            struct2use(n).TTL(m).width = 0;
            struct2use(n).TTL(m).SPWID = '\';
            struct2use(n).TTL(m).SPWIDNr = 0;
        end
    end
end

```



```

end

outstruct = struct2use;

```

8.3.3.10. *TTL_plot_mean_SPW_parameters.m*

```

%% TTL_plot_mean_SPW_parameters
% former plot_TTL_SPW_v003 (changed since this script processes data and plots via an additional script
% This is a wrapper function that groups all data based on the type of stimulation and the stimulation depth and
% determines and plots the success rate and local minimum distribution. Based on this function the appropriate depth
% for displaying can be selected (e.g. highest success depth)
%

%% step 3

% struct2use: struct from SPW_detect
% # struct2use = struct2use;
%
% savePath: save path for saving the plots, here this path will be completed
% # savePath = '/mnt/raid/data_dirk/robinh/acute_recordings/neonatal_development/analysis/'
%
% doEps: should eps-files be created? (boolean)
% # doEps: 1

function TTL_plot_mean_SPW_parameters(struct2use,savePath,doEps,noVisiblePlot)

%% defining the categories
% must be consistent with the previous scripts
cats = {'neo','ori','prx','dst'}; % 1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst

for n = 1:size(struct2use,2)
    %% search for unique location entries
    meanStruct = [];
    subgroups = unique({struct2use(n).TTL(:),location}); % find the unique entries in the given field

    for m = 1:size(subgroups,2)
        subgroupfind = structfind(struct2use(n).TTL,'location',subgroups{m}); % find the indices for all locations
        uniqueDepths = unique([struct2use(n).TTL(subgroupfind).depth]); % within this the unique depths
        meanStruct(m).location = subgroups{m};
        meanStruct(m).SPWIDBar = [];

        %% find for each location the individual depths and only the TTL pulses
        % excludes lines such "Signal-1" or other non-TTL related remnants
        for j = 1:size(uniqueDepths,2)
            depthIndex = []; locationIndex = []; ttlIndex = []; SPWIDMatrix = [];
            depthIndex = find([struct2use(n).TTL(:).depth] == uniqueDepths(j)); % find index for the depths
            locationIndex = find(strcmp({struct2use(n).TTL(:).location},subgroups{m})); % find index for the location
            ttlIndex = find(strcmp({struct2use(n).TTL(:).ID},TTL)); % find index for the TTL pulses
            firstIntersect = intersect(depthIndex,locationIndex); % match depthIndex and locationIndex
            secondIntersect = intersect(firstIntersect,ttlIndex); % match the 1st intersect with the ttlIndex
            meanStruct(m).depthStruct(j).depth = uniqueDepths(j);
            meanStruct(m).depthStruct(j).success = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).success];
            meanStruct(m).depthStruct(j).sinkCh = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).sinkCh];
            meanStruct(m).depthStruct(j).delay = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).delay];
            meanStruct(m).depthStruct(j).peak = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).peak];
            meanStruct(m).depthStruct(j).width = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).width];
            meanStruct(m).depthStruct(j).SPWID = [struct2use(n).TTL(secondIntersect).SPWIDNr];

            %% collect SPWIDs (0 = no detection, 1 = neo, 2 = ori, 3 = prx, 4 = dst)
            for k = 1:size(cats,2)+1
                SPWIDMatrix(1,k) = k - 1; % ID
                SPWIDMatrix(2,k) = size(find(meanStruct(m).depthStruct(j).SPWID == k-1),2); % raw count
                SPWIDMatrix(3,k) = SPWIDMatrix(2,k) / size(meanStruct(m).depthStruct(j).SPWID,2) * 100; % percentage
            end

            meanStruct(m).depthStruct(j).SPWIDMatrix = SPWIDMatrix;

            %% means
            % no events = 0;
            meanSuccess = mean(meanStruct(m).depthStruct(j).success);

            if isnan(meanSuccess); meanSuccess = 0; end

            meanStruct(m).depthStruct(j).successRate = meanSuccess * 100;

            % avoiding wrong mean with zeros
            meanSinkCh = ...
                sum(meanStruct(m).depthStruct(j).sinkCh,2) / sum(meanStruct(m).depthStruct(j).sinkCh ~= 0,2);

            % avoiding wrong mean with zeros
            meanDelay = ...
                sum(meanStruct(m).depthStruct(j).delay,2) / sum(meanStruct(m).depthStruct(j).delay ~= 0,2);

            % avoiding wrong mean with zeros
            meanPeak = ...
                sum(meanStruct(m).depthStruct(j).peak,2) / sum(meanStruct(m).depthStruct(j).peak ~= 0,2);

            % avoiding wrong mean with zeros
            meanWidth = ...
                sum(meanStruct(m).depthStruct(j).width,2) / sum(meanStruct(m).depthStruct(j).width ~= 0,2);

            % avoiding wrong mean with zeros
            meanSPWID = ...

```

```

sum(meanStruct(m).depthStruct(j).SPWID,2) ./ sum(meanStruct(m).depthStruct(j).SPWID ~= 0,2);

if isempty(meanSinkCh); meanSinkCh = 0; meanDelay = 0; meanPeak = 0; meanWidth = 0; meanSPWID = 0; end

meanStruct(m).depthStruct(j).meanSinkCh = meanSinkCh;
meanStruct(m).depthStruct(j).meanDelay = meanDelay;
meanStruct(m).depthStruct(j).meanPeak = meanPeak;
meanStruct(m).depthStruct(j).meanWidth = meanWidth;
meanStruct(m).depthStruct(j).meanSPWID = meanSPWID;

meanStruct(m).SPWIDBar(j,:) = SPWIDMatrix(3,:);
end
end

%%keyboard

%% plot
for j = 1:size(meanStruct,2)
    toPlotX = []; toPlotY = [];
    ageString = num2str(struct2use(n).age);
    IDString = struct2use(n).ID;
    titleStringPart = ['P' num2str(struct2use(n).age) ' ' struct2use(n).ID ' ' meanStruct(j).location];
    toPlotY = [meanStruct(j).depthStruct(:).depth];
    %maxCh = struct2use(n).nChAnatomical;
    maxCh = struct2use(n).probeArrangement(1);

    % plot success rate
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).successRate];
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_success_rate_' titleStringPart];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' success rate'], ...
        toPlotX,toPlotY,'success rate [%]','depth [mm]','success',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean local minimum channel distribution / replaced by SPWID as an event is no longer defined by one ch
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanSink_Ch_' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).meanSinkCh];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanSinkCh'], ...
        toPlotX,toPlotY,'mean sink [Ch]','depth [mm]','meanLocMinCh',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean SPWID / replaced by stacked bar graph
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanSPWID_' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).meanSPWID];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanSPWID'], ...
        toPlotX,toPlotY,'SPWID [1-2-3-4]','depth [mm]','meanSPWID',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean delay
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanDelay_' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).meanDelay];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanDelay'], ...
        toPlotX,toPlotY,'mean delay [ms]','depth [mm]','meanDelay',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean peak
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanPeak_' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).meanPeak];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanPeak'], ...
        toPlotX,toPlotY,'mean peak [mV]','depth [mm]','meanPeak',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot mean width
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_meanWidth_' titleStringPart];
    toPlotX = [meanStruct(j).depthStruct(:).meanWidth];
    plot_SPW_st_stim_scatter_v003([titleStringPart ' meanWidth'], ...
        toPlotX,toPlotY,'mean width [ms]','depth [mm]','meanWidth',maxCh,savePathString,doEps,no VisiblePlot)
    toPlotX = []; savePathString = [];

    % plot SPWID Bar graphs
    savePathString = [savePath 'P' ageString ' ' IDString ' _stim_SPWID_' titleStringPart];

    yBar = meanStruct(j).SPWIDBar;

    if size(yBar,1) == 1
        yBar(2,:) = NaN; %'stacked' bar graph does not work with a single graph so a dummy row is created...
        h = barh(yBar,'stacked');
        set(h,['FaceColor','w','m';'y','r';'b']);
        set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100]%, 'XLim',[0 4])
        title([titleStringPart ' SPWID']); % title
        ylabel('depth [mm]'); % x-label
        yticklabels([meanStruct(j).depthStruct(:).depth])
        xlim([0 100]); % x-limits (0 to 100 %)
        grid on
        l = cell(1,5);
        l{1}='empty'; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
        legend(h,l,'Location','southwest');
    else
        h = barh(yBar,'stacked');
        set(h,['FaceColor','w';'m';'y';'r';'b']);
        set(gca,'Ydir','reverse','XLim',[0 100]%, 'XLim',[0 4])
        title([titleStringPart ' SPWID']); % title
        ylabel('depth [mm]'); % x-label
        yticks(1:size(meanStruct(j).depthStruct(:).depth,2))
        yticklabels([meanStruct(j).depthStruct(:).depth])
        grid on
        l = cell(1,5);

```

```

l{1}=empty; l{2}='neo'; l{3}='ori'; l{4}='prx'; l{5}='dst';
legend(h,1,'Location','northwest');
end

print(gcf,'-dpng','-r300',[savePathString '.png'])

if doEps
    print(gcf,'-depsc2','-painters',[savePathString '.eps'])
end

close all
end
end

```

8.3.3.11. TTL_readout_and_conversion.m

```

%% function TTL_readout_and_conversion
% this script adds a substruct to the existing struct with the TTLs of events during the recording
% the script uses a hardcoded value of 10 ms to merge TTL signals, this is due to a earlier problem with the stimulus
% generator which created random TTL pulses within up to 10 ms (usually within 1-2 ms).
% Updated to SPW_detect_RTH.
% Delete "signalKey" without following TTL-Signals before running this script as these values will create empty plots in
% follow up scripts.

%% step 1

% animals: the overarching animals struct
% # animals = animals
%
% struct2use: input struct, must be created by "SPW_detect_RTH_v039"
% # struct2use = struct2use
%
% signalKey: the keyword for signals, default in all stimulation experiments is "Signal-1"
% # signalKey = 'Signal-1'
%
% evtID2safe: identifier to be saved as the ttl.evt (can be depth for example), the other parameter is the time point
% # evtID2safe = 'depth';

function outstruct = TTL_readout_and_conversion(animals,IDs2use,signalKey,evtID2safe)

if isempty(IDs2use); IDs2use = 1:size(animals,2); end

for n = IDs2use
    recType = animals(n).recType;

    switch (recType)
        case {'old_standard'}
            disp('old recording: no readout')
        case {'stimulation_electrical'}
            animals(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(animals(n).fullpath,'.stm.evt');
        case {'injection'}
            animals(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(animals(n).fullpath,'.inj.evt');
        case {'stimulation_visual'}
            animals(n).evtFileStruct = ...
                evt_file_general_readout_v002(animals(n).fullpath,'.stv.evt');
    end
end

TTLdiffFilter = 10; % TTL filter, TTL pulses within the given value [ms] are considered to be one

for n = IDs2use
    if isempty(animals(n).ID); continue; end

    TTLStructRaw = []; TTLStruct = []; % safety clear
    TTLcNtr = 1; TTLStCntr = 1; % counter resets

    for m = 1:length(animals(n).evtFileStruct) % search for the signal keyword and the TTL pulse
        if strcmp(animals(n).evtFileStruct(m).evtID,signalKey)
            nameIndex = []; depthCoord = []; depthDouble = []; % safety clears
            nameIndex = strfind(animals(n).evtFileStruct(m).evtIDString,'at');
            depthCoord = nameIndex + 3; nameIndex + 5; % works with 0.0000 - 9.9999 mm depths
            depthDouble = str2double(animals(n).evtFileStruct(m).evtIDString(depthCoord));
            warningSwitch = 1; % reset

            for k = 1:length(animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo) % safety loop to catch the correct value
                if strcmp(animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo(k).type,'location') % only if "location" is found
                    locationProbe = animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo(k).value;
                    warningSwitch = 0;
                end
            end

            if warningSwitch; warning('no location entry found: value set to unknown'); locationProbe = 'unknown'; end

            TTLStructRaw(TTLStCntr).ID = animals(n).evtFileStruct(m).evtID;
            TTLStructRaw(TTLStCntr).cntr = 0;
            TTLStructRaw(TTLStCntr).time = animals(n).evtFileStruct(m).time;
            TTLStructRaw(TTLStCntr).depth = depthDouble;
            TTLStructRaw(TTLStCntr).location = locationProbe;
            TTLStructRaw(TTLStCntr).diff = 0;
            warningSwitch = 1; % resets the warning switch for the next test
        end
    end
end

```

```

for k = 1:length(animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo)
    if strcmp(animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo(k).type,'repetitions')
        TTLStructRaw(TTLStCntr).rep = animals(n).evtFileStruct(m).evtInfo(k).value;
        warningSwitch = 0;
    end
end

if warningSwitch; warning('no repetition entry found: value set to unknown');
    TTLStructRaw(TTLStCntr).rep = 'unknown';
end

TTLStCntr = TTLStCntr + 1; TTLCntr = 1; % counter resets

elseif strcmp(animals(n).evtFileStruct(m).evtID,'TTL')
    TTLStructRaw(TTLStCntr).ID = animals(n).evtFileStruct(m).evtID;
    TTLStructRaw(TTLStCntr).cntr = TTLCntr;
    TTLStructRaw(TTLStCntr).time = animals(n).evtFileStruct(m).time;
    TTLStructRaw(TTLStCntr).depth = depthDouble;
    TTLStructRaw(TTLStCntr).location = locationProbe;
    TTLStructRaw(TTLStCntr).diff = ...
        % measures the difference between two TTL pulses, used to reduce the amount to TTL signals to 1
        diff([animals(n).evtFileStruct(m).time, animals(n).evtFileStruct(m+1).time]);
    TTLStCntr = TTLStCntr + 1;
    TTLCntr = TTLCntr + 1;
end
end

TTLCntr = 1; TTLStCntr = 1; % counter resets

%% clear junk
for m = 1:length(TTLStructRaw)
    if strcmp(TTLStructRaw(m).ID,signalKey)
        TTLStruct(TTLStCntr).ID = TTLStructRaw(m).ID;
        TTLStruct(TTLStCntr).cntr = 0;
        TTLStruct(TTLStCntr).time = TTLStructRaw(m).time;
        TTLStruct(TTLStCntr).rep = TTLStructRaw(m).rep;
        TTLStruct(TTLStCntr).depth = TTLStructRaw(m).depth;
        TTLStruct(TTLStCntr).location = TTLStructRaw(m).location;
        TTLStCntr = TTLStCntr + 1;
        TTLCntr = 1;
    elseif strcmp(TTLStructRaw(m).ID,'TTL')
        if TTLStructRaw(m).diff > TTLdiffFilter
            TTLStruct(TTLStCntr).ID = TTLStructRaw(m).ID;
            TTLStruct(TTLStCntr).cntr = TTLCntr;
            TTLStruct(TTLStCntr).time = TTLStructRaw(m).time;
            TTLStruct(TTLStCntr).rep = TTLCntr;
            TTLStruct(TTLStCntr).depth = TTLStructRaw(m).depth;
            TTLStruct(TTLStCntr).location = TTLStructRaw(m).location;
            TTLStCntr = TTLStCntr + 1;
            TTLCntr = TTLCntr + 1;
        end
    end
end

animals(n).TTL = TTLStruct;

%% save ttl.evt file with a chosen indicator field
TTLIDs = strcmp({animals(n).TTL.ID},'TTL');
save2evt(animals(n).fullpath,['ttl.evt',{animals(n).TTL(TTLIDs).time},{animals(n).TTL(TTLIDs).(evtID2safe)}]);
end

% placeholder for a struct reducing loop (keep only the good ones)

outstruct = remove_fields(animals,1:size(animals,1),length(fieldnames(animals)));

```

8.3.4. Wrapperskripte

8.3.4.1. SPW_detect_and_categorize_wrapper_NeoDev.m

```

%% SPW_detect_v047_wrapper_NeoDev
% wrapper script to call v047 with different parameters, especially for different ages

%% variables %%%
%
% animals: the animals struct
% # animals = animals
%
% IDs2use: index for the animals struct to use, can be a "find" command
% # IDs2use = 21;
% # IDs2use = [3 4:8 12:24]
% # IDs2use = find(strcmp({animals.recType},'old_standard') & [animals.thesisUsage])
% # IDs2use = find([animals.age] == 3)
%
% fileType: type of file to use for detection (.eeg, .csdall, or filtered files) evt files will be named accordingly
% # fileType = '.csdall_4-80'
%
% tHoldMV: peak threshold for detection, everything below this will be ignored [in mV] should be adjusted per age or per

```

```

% animal
% # tHoldMV = .1
%
% iHoldMS: threshold to group events, events less than this value apart will be grouped as one; might be adjusted per
% age or animal
% # iHoldMS = 25
%
% gainSystem: gain of the system (to convert the mV input)
% # gainSystem = 2000

make_neonatal_development_struct

%IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'old_standard'] & [animals.thesisUsage]));
%IDs2use = 1:size(animals,1);
%IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'old_standard'] & [animals.thesisUsage] & [animals.age] == 3));
IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'injection'] & [animals.thesisUsage]));
fileType = '.csdall_4-80';
gainSystem = 2000;
chFileExt = '.csdall_4-80SPW.chs.evt';
promFileExt = '.csdall_4-80SPW.prm.evt';
peakFileExt = '.csdall_4-80SPW.pks.evt';
widthFileExt = '.csdall_4-80SPW.whs.evt';

for n = IDs2use
    if animals(n).age == 3
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 5
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 7
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 9
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 12
        tHoldMV = .12;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 14
        tHoldMV = .15;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    else
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    end

    SPW_detect_RTH(animals,n,fileType,tHoldMV,iHoldMS,gainSystem)
    SPW_categorize_RTH(animals,n,chFileExt,peakFileExt,promFileExt,widthFileExt,MinGroupDistance)
end

```

8.3.4.2. *SPW_detect_and_categorize_wrapper_NKCC1.m*

```

%% SPW_detect_v047_wrapper_NeoDev
% wrapper script to call v047 with different parameters, especially for different ages

%% variables
%
% animals: the animals struct
% # animals = animals
%
% IDs2use: index for the animals struct to use, can be a "find" command
% # IDs2use = 21;
% # IDs2use = [3 4:8 12:24]
% # IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'old_standard'] & [animals.thesisUsage]
% # IDs2use = find([animals.age] == 3)
%
% fileType: type of file to use for detection (.eeg, .csdall, or filtered files) evt files will be named accordingly
% # fileType = '.csdall_4-80'
%
% tHoldMV: peak threshold for detection, everything below this will be ignored [in mV] should be adjusted per age or per
% animal
% # tHoldMV = .1
%
% iHoldMS: threshold to group events, events less than this value apart will be grouped as one; might be adjusted per
% age or animal
% # iHoldMS = 25
%
% gainSystem: gain of the system (to convert the mV input)
% # gainSystem = 2000

make_neonatal_NKCC1_struct

%IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'old_standard'] & [animals.thesisUsage]));
IDs2use = 1:size(animals,1);
%IDs2use = find(strcmp([animals.recType,'old_standard'] & [animals.thesisUsage] & [animals.age] == 3));

```

```

fileType = '.csdall_4-80';
gainSystem = 2000;
chFileExt = '.csdall_4-80SPW.chs.evt';
promFileExt = '.csdall_4-80SPW.prm.evt';
peakFileExt = '.csdall_4-80SPW.pks.evt';
widthFileExt = '.csdall_4-80SPW.whs.evt';

for n = IDs2use
    if animals(n).age == 4
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 7
        tHoldMV = .1;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    elseif animals(n).age == 12
        tHoldMV = .12;
        iHoldMS = 30;
        MinGroupDistance = 15;
    end

    SPW_detect_RTH(animals,n,fileType,tHoldMV,iHoldMS,gainSystem)
    SPW_categorize_RTH(animals,n,chFileExt,peakFileExt,promFileExt,widthFileExt,MinGroupDistance)
end

```

8.3.4.3. *Baseline_SPW_wrapper_neoDev.m*

```

%% D_baseline_SPW_wrapper_NeoDev(struct2use,cats,catFileExt,IDString,groups,trueForAll)
% used for the thesis statistics

function means = D_baseline_SPW_wrapper_neoDev(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,groups,trueForAll)

%% over the given groups
means = [];
cFE = catFileExt;

for n = 1:size(groups,2)
    logicArray = trueForAll & [struct2use.age] == groups(n);
    ageString = num2str(groups(n));
    titleStringPart = ['P' ageString ' IDString ' baseline SPWID']; tSP = titleStringPart;
    savePathString = ['P' ageString ' IDString ' baseline SPWID']; sPS = savePathString;

    means(n).age = groups(n);
    means(n).SPWIDs = ...
        plot_baseline_mean_SPWID_Group(struct2use(logicArray),[savePath 'NeoDev_results_baseline/' sPS],cats,cFE,tSP,0,1);
end

```

8.3.4.4. *Baseline_SPW_wrapper_NKCC1.m*

```

%% D_baseline_SPW_wrapper_NeoDev(struct2use,cats,catFileExt,IDString,groups,trueForAll)
% used for the thesis statistics

function means = D_baseline_SPW_wrapper_NKCC1(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,groups,trueForAll)

%% over the given groups
means = [];
cFE = catFileExt;

for n = 1:size(groups,2)
    logicArray = trueForAll & [struct2use.age] == groups(n);
    ageString = num2str(groups(n));
    titleStringPart = ['P' ageString ' IDString ' baseline SPWID']; tSP = titleStringPart;
    savePathString = ['P' ageString ' IDString ' baseline SPWID']; sPS = savePathString;

    means(n).age = groups(n);
    means(n).SPWIDs = ...
        plot_baseline_mean_SPWID_Group(struct2use(logicArray),[savePath 'baseline/' sPS],cats,cFE,tSP,1,1);
end

```

8.3.4.5. *INJ_wrapper.m*

```

% wrapper for converting TTL data
%% create animals struct
make_neonatal_development_struct
cats = {'neo','on','prx','dst'};

%% load stim-event file and add TTL to the struct
out = INJ_readout_and_conversion(animals([54:57 103:106]),'volume',2);

%% search for SPW in a window after the TTL
out2 = INJ_find_SPW(out,5,600000,3,'cats','startInj');

%% plot mean values
%INJ_plot_mean_SPW_parameters(out2,[savePath 'inj_results/'],cats,0,1)
INJ_plot_mean_SPW_parameters_2(out2,[savePath 'inj_results2/'],cats,0,1)
%plot_baseline_mean_SPWID(out2,[savePath 'inj_results_baseline/'],0,1)

```

8.3.4.6. *TTL_stim_wrapper.m*

```
% wrapper for converting TTL data
%% create animals struct
make_neonatal_development_struct

%% load stim-event file and add TTL to the struct
outstruct = TTL_readout_and_conversion(animals,find(strcmp({animals.recType},'stimulation_electrical')),'Signal-1','depth');

%% select only the relevant animals
newOut = outstruct([7:10 19:22]);

%% search for SPW in a window after the TTL
newOut2 = TTL_find_SPW(newOut,5,40,'Signal-1');

%% plot mean values
results = TTL_plot_mean_SPW_parameters(newOut2,[savePath 'stim_results/'],0,1);
plot_baseline_mean_SPWID(newOut2,[savePath 'stim_results_baseline/'],0,1)

%% group values by depth
depthsVHC{1} = [2.5,2.6,2.7,2.9,3]; % 40780
depthsVHC{2} = [2.6,2.7,2.8,2.9,3]; % 40781
depthsVHC{3} = [2.3,2.4,2.5,2.6]; % 61449
depthsVHC{4} = [2.3,2.4,2.5,2.6,2.7,2.8]; % 61450
depthsVHC{5} = [2.2,2.3,2.4,2.5]; % 39122
depthsVHC{6} = [2.4,2.5,2.6,2.7,2.8,2.9,3,3.1,3.2,3.3]; % 39123
depthsVHC{7} = [1.5,1.6,1.7,1.8,1.9,2,2.1,2.2]; % 62933
depthsVHC{8} = [1.8,1.9,2,2.1,2.2,2.3,2.4]; % 62934

depthsPP{1} = 1.2; % 40780
depthsPP{2} = 1.2; % 40781
depthsPP{3} = 1.2; % 61449
depthsPP{4} = 1.2; % 61450
depthsPP{5} = 1.5; % 39122
depthsPP{6} = 1.5; % 39123
depthsPP{7} = 1.4; % 62933
depthsPP{8} = 1.4; % 62934

for n = 1:8 % specific length of the current struct
    [selectionStruct(n).results, selectionStruct(n).meanSPWID]= ...
        TTL_plot_mean_SPW_parameters_select(newOut2(n),[savePath 'stim_results_selection/'],depthsVHC(n),{'vhc'},0,1);
end

%% overall mean
[resultsP7vhc, meanSPWIDP7vhc] = ...
    TTL_plot_mean_SPW_parameters_select(newOut2(1:4),[savePath 'stim_results_overall/'],depthsVHC(1:4),{'vhc'},0,1); % P7
[resultsP12vhc, meanSPWIDP12vhc] = ...
    TTL_plot_mean_SPW_parameters_select(newOut2(5:8),[savePath 'stim_results_overall/'],depthsVHC(5:8),{'vhc'},0,1); % P12

[resultsP7pp, meanSPWIDP7pp] = ...
    TTL_plot_mean_SPW_parameters_select(...
        newOut2(1:4),[savePath 'stim_results_overall/'],depthsPP(1:4),{'pp','ppfix'},0,1); % P7
[resultsP12pp, meanSPWIDP12pp] = ...
    TTL_plot_mean_SPW_parameters_select(...
        newOut2(5:8),[savePath 'stim_results_overall/'],depthsPP(5:8),{'pp','ppfix'},0,1); % P12
```

8.3.5. *Statistikskripte*

8.3.5.1. *Field_summarizer_NeoDev.m*

```
%% E_field_summarizer
% specialized script to use the statistic script from E_statistic_collector to sum a desired field
% hard coded to fit the different fields of the given struct
% uses an internal function

fieldNames = {'HBO','V1S','V1B','SAT1','SAT2','DBL','ORI','PRX','DST'};

%% the summed fields
HBOstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{1});
V1Sstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{2});
V1Bstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{3});
SAT1stats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{4});
SAT2stats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{5});
DBLstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{6});
ORIstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{7});
PRXstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{8});
DSTstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{9});

function resultStruct = E_field_summarizer_aux(struct2use,fieldName)
    for n = 1:length(struct2use)
        resultStruct(n).ID = struct2use(n).ID;
        resultStruct(n).age = struct2use(n).age;
        resultStruct(n).recLength = struct2use(n).recordingMinutes(2) * 60 * 1e3; % recording length in ms
        resultStruct(n).Count = struct2use(n).(fieldName).Count;
        resultStruct(n).times = struct2use(n).(fieldName).times;
        resultStruct(n).meanRate = struct2use(n).(fieldName).meanRate;

        if size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName)),1) == 6 % HBO, V1B, V1S
            resultStruct(n).meanLength = struct2use(n).(fieldName).meanLength;
```

```

        resultStruct(n).medianLength = struct2use(n).(fieldName).medianLength;
        resultStruct(n).meanPercentage = struct2use(n).(fieldName).meanPercentage;
    elseif size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName)),1) == 5 % SPWIDs (dbl, ori, prx, dst)
        resultStruct(n).meanPeak = struct2use(n).(fieldName).meanPeak;
        resultStruct(n).meanWidth = struct2use(n).(fieldName).meanWidth;
    elseif size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName)),1) == 3 % SAT1, SAT2
        % no more values
    end
end
end
end

```

8.3.5.2. *Field_summarizer_NKCC1.m*

```

%% E_field_summarizer
% specialized script to use the statistic script from E_statistic_collector to sum a desired field
% hard coded to fit the different fields of the given struct
% uses an internal function

%% there is a problem if no evt-type is detected, peak and width are empty, but due to the way "find" works this empty
%% field causes trouble later on, for now check for any empty fields manually and replace with 0
%% replace with code, maybe

fieldNames = {'HNP','V1S','V1B','DBL','ORI','PRX','DST'}; % NKCC1

%% the summed fields by stat
HNPstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{1});
V1Sstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{2});
V1Bstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{3});
DBLstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{4});
ORIsstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{5});
PRXstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{6});
DSTstats = E_field_summarizer_aux(struct2useR,fieldNames{7});

%% prism style
% matrix columns
% P4WT | P4KO | P7WT | P7KO | P12WT | P12KO
% Assumption: this is the same for all substats
NKCC1(1).index = find([DBLstats(:).age] == 4 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'WT')); % P4WT
NKCC1(2).index = find([DBLstats(:).age] == 4 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'KO')); % P4KO
NKCC1(3).index = find([DBLstats(:).age] == 7 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'WT')); % P7WT
NKCC1(4).index = find([DBLstats(:).age] == 7 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'KO')); % P7KO
NKCC1(5).index = find([DBLstats(:).age] == 12 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'WT')); % P12WT
NKCC1(6).index = find([DBLstats(:).age] == 12 & strcmp([DBLstats(:).genotype], 'KO')); % P12KO

for n = 1:6
    % dbl
    prism_dblRate(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [DBLstats(NKCC1(n).index).meanRate];
    prism_dblAmplitude(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [DBLstats(NKCC1(n).index).meanPeak];
    prism_dblWidth(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [DBLstats(NKCC1(n).index).meanWidth];

    SPWID = [];

    for m = 1:size(NKCC1(n).index,2) % because the indexing that everyone wants does not work this way
        SPWID(m,1) = DBLstats(NKCC1(n).index(m)).meanSPWID(1,2); % 2nd column = dbl
    end

    prism_dblSPWID(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = SPWID;

    % replace zeros by NaN
    zeroIndex = find(prism_dblRate == 0);
    prism_dblRate(zeroIndex) = NaN;
    prism_dblAmplitude(zeroIndex) = NaN;
    prism_dblWidth(zeroIndex) = NaN;
    prism_dblSPWID(zeroIndex) = NaN;

    % ori
    prism_oriRate(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [ORIsstats(NKCC1(n).index).meanRate];
    prism_oriAmplitude(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [ORIsstats(NKCC1(n).index).meanPeak];
    prism_oriWidth(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [ORIsstats(NKCC1(n).index).meanWidth];

    SPWID = [];

    for m = 1:size(NKCC1(n).index,2) % because the indexing that everyone wants does not work this way
        SPWID(m,1) = ORIsstats(NKCC1(n).index(m)).meanSPWID(1,3); % 3rd column = ori
    end

    prism_oriSPWID(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = SPWID;

    % replace zeros by NaN
    zeroIndex = find(prism_oriRate == 0);
    prism_oriRate(zeroIndex) = NaN;
    prism_oriAmplitude(zeroIndex) = NaN;
    prism_oriWidth(zeroIndex) = NaN;
    prism_oriSPWID(zeroIndex) = NaN;

    % prx
    prism_prxRate(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [PRXstats(NKCC1(n).index).meanRate];
    prism_prxAmplitude(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [PRXstats(NKCC1(n).index).meanPeak];
    prism_prxWidth(1:size(NKCC1(n).index,2),n) = [PRXstats(NKCC1(n).index).meanWidth];

    SPWID = [];

```



```

for m = 1:size(NKCC1(n),index,2) % because the indexing that everyone wants does not work this way
    SPWID(m,1) = PRXstats(NKCC1(n),index(m)).meanSPWID(1,4); % 4th column = prx
end

prism_prxSPWID(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = SPWID;

% replace zeros by NaN
zeroIndex = find(prism_prxRate == 0);
prism_prxRate(zeroIndex) = NaN;
prism_prxAmplitude(zeroIndex) = NaN;
prism_prxWidth(zeroIndex) = NaN;
prism_prxSPWID(zeroIndex) = NaN;

% dst
prism_dstRate(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [DSTstats(NKCC1(n),index).meanRate];
prism_dstAmplitude(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [DSTstats(NKCC1(n),index).meanPeak];
prism_dstWidth(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [DSTstats(NKCC1(n),index).meanWidth];

SPWID = [];

for m = 1:size(NKCC1(n),index,2) % because the indexing that everyone wants does not work this way
    SPWID(m,1) = DSTstats(NKCC1(n),index(m)).meanSPWID(1,5); % 5th column = dst
end

prism_dstSPWID(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = SPWID;

% replace zeros by NaN
zeroIndex = find(prism_dstRate == 0);
prism_dstRate(zeroIndex) = NaN;
prism_dstAmplitude(zeroIndex) = NaN;
prism_dstWidth(zeroIndex) = NaN;
prism_dstSPWID(zeroIndex) = NaN;

% HNP
prism_hnpRate(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [HNPstats(NKCC1(n),index).meanRate];
prism_hnpLengthMean(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [HNPstats(NKCC1(n),index).meanLength];
prism_hnpLengthMedian(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [HNPstats(NKCC1(n),index).medianLength];
prism_hnpPercentage(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [HNPstats(NKCC1(n),index).meanPercentage];

% replace zeros by NaN
zeroIndex = find(prism_hnpRate == 0);
prism_hnpRate(zeroIndex) = NaN;
prism_hnpLengthMean(zeroIndex) = NaN;
prism_hnpLengthMedian(zeroIndex) = NaN;
prism_hnpPercentage(zeroIndex) = NaN;

% V1B
prism_v1bRate(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Bstats(NKCC1(n),index).meanRate];
prism_v1bLengthMean(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Bstats(NKCC1(n),index).meanLength];
prism_v1bLengthMedian(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Bstats(NKCC1(n),index).medianLength];
prism_v1bPercentage(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Bstats(NKCC1(n),index).meanPercentage];

% replace zeros by NaN
zeroIndex = find(prism_v1bRate == 0);
prism_v1bRate(zeroIndex) = NaN;
prism_v1bLengthMean(zeroIndex) = NaN;
prism_v1bLengthMedian(zeroIndex) = NaN;
prism_v1bPercentage(zeroIndex) = NaN;

% V1S
prism_v1sRate(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Sstats(NKCC1(n),index).meanRate];
prism_v1sLengthMean(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Sstats(NKCC1(n),index).meanLength];
prism_v1sLengthMedian(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Sstats(NKCC1(n),index).medianLength];
prism_v1sPercentage(1:size(NKCC1(n),index,2),n) = [V1Sstats(NKCC1(n),index).meanPercentage];

% replace zeros by NaN
zeroIndex = find(prism_v1sRate == 0);
prism_v1sRate(zeroIndex) = NaN;
prism_v1sLengthMean(zeroIndex) = NaN;
prism_v1sLengthMedian(zeroIndex) = NaN;
prism_v1sPercentage(zeroIndex) = NaN;
end

%%%% P4WT | P4KO | P7WT | P7KO | P12WT | P12KO

% dblWT | oriWT | prxWT | dstWT | dblKO | oriKO | prxKO | dstKO

% rate
prism_P4Rate(:,1) = prism_dblRate(:,1);
prism_P4Rate(:,2) = prism_oriRate(:,1);
prism_P4Rate(:,3) = prism_prxRate(:,1);
prism_P4Rate(:,4) = prism_dstRate(:,1);
prism_P4Rate(:,5) = prism_dblRate(:,2);
prism_P4Rate(:,6) = prism_oriRate(:,2);
prism_P4Rate(:,7) = prism_prxRate(:,2);
prism_P4Rate(:,8) = prism_dstRate(:,2);

prism_P7Rate(:,1) = prism_dblRate(:,3);
prism_P7Rate(:,2) = prism_oriRate(:,3);
prism_P7Rate(:,3) = prism_prxRate(:,3);
prism_P7Rate(:,4) = prism_dstRate(:,3);
prism_P7Rate(:,5) = prism_dblRate(:,4);
prism_P7Rate(:,6) = prism_oriRate(:,4);
prism_P7Rate(:,7) = prism_prxRate(:,4);
prism_P7Rate(:,8) = prism_dstRate(:,4);

```

```

prism_P12Rate(:,1) = prism_dblRate(:,5);
prism_P12Rate(:,2) = prism_oriRate(:,5);
prism_P12Rate(:,3) = prism_prxRate(:,5);
prism_P12Rate(:,4) = prism_dstRate(:,5);
prism_P12Rate(:,5) = prism_dblRate(:,6);
prism_P12Rate(:,6) = prism_oriRate(:,6);
prism_P12Rate(:,7) = prism_prxRate(:,6);
prism_P12Rate(:,8) = prism_dstRate(:,6);

```

```

% amplitude

```

```

prism_P4Amplitude(:,1) = prism_dblAmplitude(:,1);
prism_P4Amplitude(:,2) = prism_oriAmplitude(:,1);
prism_P4Amplitude(:,3) = prism_prxAmplitude(:,1);
prism_P4Amplitude(:,4) = prism_dstAmplitude(:,1);
prism_P4Amplitude(:,5) = prism_dblAmplitude(:,2);
prism_P4Amplitude(:,6) = prism_oriAmplitude(:,2);
prism_P4Amplitude(:,7) = prism_prxAmplitude(:,2);
prism_P4Amplitude(:,8) = prism_dstAmplitude(:,2);

```

```

prism_P7Amplitude(:,1) = prism_dblAmplitude(:,3);
prism_P7Amplitude(:,2) = prism_oriAmplitude(:,3);
prism_P7Amplitude(:,3) = prism_prxAmplitude(:,3);
prism_P7Amplitude(:,4) = prism_dstAmplitude(:,3);
prism_P7Amplitude(:,5) = prism_dblAmplitude(:,4);
prism_P7Amplitude(:,6) = prism_oriAmplitude(:,4);
prism_P7Amplitude(:,7) = prism_prxAmplitude(:,4);
prism_P7Amplitude(:,8) = prism_dstAmplitude(:,4);

```

```

prism_P12Amplitude(:,1) = prism_dblAmplitude(:,5);
prism_P12Amplitude(:,2) = prism_oriAmplitude(:,5);
prism_P12Amplitude(:,3) = prism_prxAmplitude(:,5);
prism_P12Amplitude(:,4) = prism_dstAmplitude(:,5);
prism_P12Amplitude(:,5) = prism_dblAmplitude(:,6);
prism_P12Amplitude(:,6) = prism_oriAmplitude(:,6);
prism_P12Amplitude(:,7) = prism_prxAmplitude(:,6);
prism_P12Amplitude(:,8) = prism_dstAmplitude(:,6);

```

```

% width

```

```

prism_P4Width(:,1) = prism_dblWidth(:,1);
prism_P4Width(:,2) = prism_oriWidth(:,1);
prism_P4Width(:,3) = prism_prxWidth(:,1);
prism_P4Width(:,4) = prism_dstWidth(:,1);
prism_P4Width(:,5) = prism_dblWidth(:,2);
prism_P4Width(:,6) = prism_oriWidth(:,2);
prism_P4Width(:,7) = prism_prxWidth(:,2);
prism_P4Width(:,8) = prism_dstWidth(:,2);

```

```

prism_P7Width(:,1) = prism_dblWidth(:,3);
prism_P7Width(:,2) = prism_oriWidth(:,3);
prism_P7Width(:,3) = prism_prxWidth(:,3);
prism_P7Width(:,4) = prism_dstWidth(:,3);
prism_P7Width(:,5) = prism_dblWidth(:,4);
prism_P7Width(:,6) = prism_oriWidth(:,4);
prism_P7Width(:,7) = prism_prxWidth(:,4);
prism_P7Width(:,8) = prism_dstWidth(:,4);

```

```

prism_P12Width(:,1) = prism_dblWidth(:,5);
prism_P12Width(:,2) = prism_oriWidth(:,5);
prism_P12Width(:,3) = prism_prxWidth(:,5);
prism_P12Width(:,4) = prism_dstWidth(:,5);
prism_P12Width(:,5) = prism_dblWidth(:,6);
prism_P12Width(:,6) = prism_oriWidth(:,6);
prism_P12Width(:,7) = prism_prxWidth(:,6);
prism_P12Width(:,8) = prism_dstWidth(:,6);

```

```

% SPWID

```

```

prism_P4SPWID(:,1) = prism_dblSPWID(:,1);
prism_P4SPWID(:,2) = prism_oriSPWID(:,1);
prism_P4SPWID(:,3) = prism_prxSPWID(:,1);
prism_P4SPWID(:,4) = prism_dstSPWID(:,1);
prism_P4SPWID(:,5) = prism_dblSPWID(:,2);
prism_P4SPWID(:,6) = prism_oriSPWID(:,2);
prism_P4SPWID(:,7) = prism_prxSPWID(:,2);
prism_P4SPWID(:,8) = prism_dstSPWID(:,2);

```

```

prism_P7SPWID(:,1) = prism_dblSPWID(:,3);
prism_P7SPWID(:,2) = prism_oriSPWID(:,3);
prism_P7SPWID(:,3) = prism_prxSPWID(:,3);
prism_P7SPWID(:,4) = prism_dstSPWID(:,3);
prism_P7SPWID(:,5) = prism_dblSPWID(:,4);
prism_P7SPWID(:,6) = prism_oriSPWID(:,4);
prism_P7SPWID(:,7) = prism_prxSPWID(:,4);
prism_P7SPWID(:,8) = prism_dstSPWID(:,4);

```

```

prism_P12SPWID(:,1) = prism_dblSPWID(:,5);
prism_P12SPWID(:,2) = prism_oriSPWID(:,5);
prism_P12SPWID(:,3) = prism_prxSPWID(:,5);
prism_P12SPWID(:,4) = prism_dstSPWID(:,5);
prism_P12SPWID(:,5) = prism_dblSPWID(:,6);
prism_P12SPWID(:,6) = prism_oriSPWID(:,6);
prism_P12SPWID(:,7) = prism_prxSPWID(:,6);
prism_P12SPWID(:,8) = prism_dstSPWID(:,6);

```

```

function resultStruct = E_field_summarizer_aux(struct2use,fieldName)
for n = 1:length(struct2use)
    resultStruct(n).ID = struct2use(n).ID;
end

```

```

resultStruct(n).age = struct2use(n).age;
resultStruct(n).genotype = struct2use(n).genotype;
resultStruct(n).recLength = struct2use(n).recordingMinutes(2) * 60 * 1e3; % recording length in ms
resultStruct(n).Count = struct2use(n).(fieldName).Count;
resultStruct(n).times = struct2use(n).(fieldName).times;
resultStruct(n).meanRate = struct2use(n).(fieldName).meanRate;

if size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName),1)) == 6 % HBO, V1B, V1S
    resultStruct(n).meanLength = struct2use(n).(fieldName).meanLength;
    resultStruct(n).medianLength = struct2use(n).(fieldName).medianLength;
    resultStruct(n).meanPercentage = struct2use(n).(fieldName).meanPercentage;
elseif size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName),1)) == 5 % SPWIDs (dbl, ori, prx, dst)
    resultStruct(n).meanPeak = struct2use(n).(fieldName).meanPeak;

    if isempty(resultStruct(n).meanPeak) % hack to avoid problems later on
        resultStruct(n).meanPeak = 0;
    end

    resultStruct(n).meanWidth = struct2use(n).(fieldName).meanWidth;

    if isempty(resultStruct(n).meanWidth) % hack to avoid problems later on
        resultStruct(n).meanWidth = 0;
    end

    %%%% correct to single values
    resultStruct(n).meanSPWID = struct2use(n).meanSPWID;
elseif size(struct2cell(struct2use(n).(fieldName),1)) == 3 % SAT1, SAT2
    %% no more values
end
end
[~,index] = sortrows([resultStruct.genotype.']); resultStruct = resultStruct(index); clear index
[~,index] = sortrows([resultStruct.age.']); resultStruct = resultStruct(index); clear index
end

```

8.3.5.3. *Statistic_collector_NeoDev.m*

```

%% statisticStruct = E_statistic_collector
% This script collects a variety of statistical values from all of the previous scripts, this script uses purely the
% script saved in the "sets" collection for the thesis. Any changes made to the original scripts might therefor be
% added to these scripts. Output of this script is a "refined" slimmed down version of "animals" the output of
% xls2struct and the "datasheet"
% Beside giving a comprehensive overview off all relevant statistical values this script might be used to calculate CCG
% based on the saved timestamps for each SPW-Event.

function struct2useMod = E_statistic_collector_NeoDev(struct2use,savePath)

%% valid for all
cats = {'neo','ori','prx','dst'}; % 1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst
catFileExt = '';
IDString = 'all';

%% group by age
% shown in thesis
grps = [3,5,7,9,12,14]; % age in P (days)
trueForAll = strcmp([struct2use.recType],'old_standard') & [struct2use.thesisUsage];

%meanGroups = D_baseline_SPW_wrapper_neoDev(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,trueForAll);

%% valid for single animals
struct2useMod = struct2use(trueForAll); % refine animals struct down to the relevant animals

for n = 1:length(struct2useMod)
    meanSingles = [];
    grps = struct2useMod(n).age;
    IDString = struct2useMod(n).ID;
    tFS = strcmp([struct2useMod.ID],IDString);
    %meanSingles = D_baseline_SPW_wrapper_neoDev(struct2useR,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,tFS);
    %struct2useR(n).meanSPWID = meanSingles.SPWIDs;
end

%% other statistics
parameters = []; doSingleMean = []; nameAdjust = []; logicalArray = [];

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

project = 'NeoDev';
make_neonatal_development_struct % for NeoDev

%parameters = {'HBO','V1S','V1B','ctx.cx1','ctx.cx2','sID.neo','sID.ori','sID.prx','sID.dst','sID.unf',...
parameters = {'HBO','V1S','V1B','ctx.cx1','ctx.cx2',...
    'rte.neo','rte.ori','rte.prx','rte.dst',...
    'pks.neo','pks.ori','pks.prx','pks.dst',...
    'whs.neo','whs.ori','whs.prx','whs.dst'};

mainPara = {'HBO','V1S','V1B','SAT1','SAT2','DBL','ORI','PRX','DST','DBL','ORI','PRX','DST','DBL','ORI','PRX','DST'};

doSingleMean = [0,0,0,0,0,0,0,0,1,1,1,1,1,1,1,1];
logicalArray = strcmp([animals.recType],'old_standard') & [animals.thesisUsage];
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

```

```

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
evtStruct = animals(logicalArray);
logicalEvtArray = strcmp([evtStruct.recType,'old_standard'] & [evtStruct.thesisUsage]; % all true (bad hack)

usableMinutes = {evtStruct(:).usableMinutes};

for n = 1:size(doSingleMean,2)

    animalStatistics = [];
    animalStatistics = evt_file_statistics(evtStruct,[],parameters{n},1,usableMinutes,doSingleMean(n),logicalEvtArray);
    statCell = [];
    statCell = transpose(struct2cell(animalStatistics)); % for indexing the variable fields

    if n < 4 % HBO, V1S, V1B
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101}) || statCell{m,101} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = 0; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = 0; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = 0; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = 0; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = 0; % 106 index of meanPercentage
            else
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101}; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = statCell{m,103}; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = statCell{m,107}; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102}; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = statCell{m,104}; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = statCell{m,105}; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = statCell{m,106}; % 106 index of meanPercentage
            end
        end
    elseif n > 3 && n < 10 % ex1(SAT1); ex2(SAT2); dbl(neo), ori, prx, dst rate
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101}) || statCell{m,101} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times = 0; % 103 index of times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
            else
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101}; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times = statCell{m,103}; % 103 index of times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102}; % 102 index of meanRate
            end
        end
    elseif n > 9 && n < 14 % dbl(neo), ori, prx, dst peak
        for m = 1:length(struct2useMod)
            struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPeak = statCell{m,101}; % 102 index of meanRate
        end
    elseif n > 13 && n < 18 % dbl(neo), ori, prx, dst width
        for m = 1:length(struct2useMod)
            struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanWidth = statCell{m,101}; % 102 index of meanRate
        end
    end
end

%keyboard

```

8.3.5.4. *Statistic_collector_NKCC1.m*

```

%% statisticStruct = E_statistic_collector
% This script collects a variety of statistical values from all of the previous scripts, this script uses purely the
% script saved in the "sets" collection for the thesis. Any changes made to the original scripts might therefor be
% added to these scripts. Output of this script is a "refined" slimmed down version of "animals" the output of
% xls2struct and the "datasheet"
% Beside giving a comprehensive overview off all relevant statistical values this script might be used to calculate CCG
% based on the saved timestamps for each SPW-Event.

function struct2useMod = E_statistic_collector_NKCC1(struct2use,savePath)

%make_neonatal_NKCC1_struct % for NKCC1

%% valid for all
cats = {'dbl','ori','prx','dst'}; % 1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst
catFileExt = '';
IDString = 'all';

%% group by age
% shown in thesis
grps = [4,7,12]; % age in P (days)
trueForAll = [struct2use.thesisUsage];

meanGroups = D_baseline_SPW_wrapper_NKCC1(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,trueForAll);
genotype = {'WT','KO'};

for n = 1:2
    IDString = [all ' genotype{n}'];
    trueGenotype = [struct2use.thesisUsage] & strcmp([struct2use.genotype],genotype{n});
    meanGrpsGT(genotype{n}) = D_baseline_SPW_wrapper_NKCC1(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,trueGenotype);
end

```

```

%% valid for single animals
struct2useMod = struct2use(trueForAll); % refine animals struct down to the relevant animals

for n = 1:length(struct2useMod)
    meanSingles = [];
    grp = struct2useMod(n).age;
    IDString = [struct2useMod(n).genotype ' ' struct2useMod(n).ID];
    tFS = strcmp([struct2useMod.ID],struct2useMod(n).ID);
    meanSingles = D_baseline_SPW_wrapper_NKCC1(struct2useMod,savePath,cats,catFileExt,IDString,grp,tFS);
    struct2useMod(n).meanSPWID = meanSingles.SPWIDs;
end

%% other statistics
parameters = []; doSingleMean = []; nameAdjust = []; logicalArray = [];

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

project = 'NKCC1';
make_neonatal_NKCC1_struct % for NKCC1

parameters = {'hnp','v1s','v1b',...
    'rte.dbl','rte.ori','rte.prx','rte.dst',...
    'pks.dbl','pks.ori','pks.prx','pks.dst',...
    'whs.dbl','whs.ori','whs.prx','whs.dst'};

doSingleMean = [0,0,0,0,0,0,1,1,1,1,1,1,1];

%nameAdjust = [2,2,2,2,2,2,2,2,2,2,2,2,2];
%logicalArray = [struct2use.thesisUsage];

mainPara = {'HNP','V1S','V1B','DBL','ORI','PRX','DST','DBL','ORI','PRX','DST'};

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

evtStruct = struct2use(trueForAll);
logicalEvtArray = [evtStruct.thesisUsage]; % all true (bad hack)

usableMinutes = {struct2useMod(:).usableMinutes};

for n = 1:size(doSingleMean,2)
    animalStatistics = [];
    animalStatistics = evt_file_statistics(evtStruct,[],parameters{n},1,usableMinutes,doSingleMean(n),logicalEvtArray);
    statCell = [];
    statCell = transpose(struct2cell(animalStatistics)); % for indexing the variable fields
    correction = 19; % hard coded for NKCC1

    if n < 4 % HNP, V1S, V1B
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101-correction}) || statCell{m,101-correction} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = 0; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = 0; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = 0; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = 0; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = 0; % 106 index of meanPercentage
            else
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101-correction}; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = statCell{m,103-correction}; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = statCell{m,107-correction}; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102-correction}; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = statCell{m,104-correction}; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = statCell{m,105-correction}; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = statCell{m,106-correction}; % 106 index of meanPercentage
            end
        end
    elseif n > 3 && n < 8 % dbl(neo), ori, prx, dst rate
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101-correction}) || statCell{m,101-correction} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = 0; % 103 index of times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
            else
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101-correction}; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = statCell{m,103-correction}; % 103 index of times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102-correction}; % 102 index of meanRate
            end
        end
    elseif n > 7 && n < 12 % dbl(neo), ori, prx, dst peak
        for m = 1:length(struct2useMod)
            struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPeak = statCell{m,101-correction}; % 102 index of meanRate
        end
    elseif n > 11 && n < 16 % dbl(neo), ori, prx, dst width
        for m = 1:length(struct2useMod)
            struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanWidth = statCell{m,101-correction}; % 102 index of meanRate
        end
    end
end
end

%keyboard

```

8.3.5.5. *Statistic_collector_stim.m*

```

%% statisticStruct = E_statistic_collector
% This script collects a variety of statistical values from all of the previous scripts, this script uses purely the
% script saved in the "sets" collection for the thesis. Any changes made to the original scripts might therefor be
% added to these scripts. Output of this script is a "refined" slimmed down version of "animals" the output of
% xls2struct and the "datasheet"
% Beside giving a comprehensive overview off all relevant statistical values this script might be used to calculate CCG
% based on the saved timestamps for each SPW-Event.

function struct2useMod = E_statistic_collector_stim(struct2use,savePath)

%% valid for all
cats = {'neo','ori','prx','dst'}; % 1 = neo; 2 = ori; 3 = prx; 4 = dst
catFileExt = '';
IDString = 'all';

%% group by age
% shown in thesis
groups = [7,12]; % age in P (days)
trueForAll = strcmp({struct2use.recType},'stimulation_electrical') & [struct2use.thesisUsage];

%meanGroups = D_baseline_SPW_wrapper_neoDev(struct2use,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,trueForAll);

%% valid for single animals
struct2useMod = struct2use(trueForAll); % refine animals struct down to the relevant animals

for n = 1:length(struct2useMod)
    meanSingles = [];
    %grps = struct2useMod(n).age;
    IDString = struct2useMod(n).ID;
    tFS = strcmp({struct2useMod.ID},IDString);
    %meanSingles = D_baseline_SPW_wrapper_neoDev(struct2useR,savePath,cats,catFileExt,IDString,grps,tFS);
    %struct2useR(n).meanSPWID = meanSingles.SPWIDs;
end

%% other statistics
parameters = []; doSingleMean = []; nameAdjust = []; logicalArray = [];

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

project = 'Stim';
make_neonatal_development_struct % for NeoDev

parameters = { ...
    'rte.neo','rte.ori','rte.prx','rte.dst',...
    'pks.neo','pks.ori','pks.prx','pks.dst',...
    'whs.neo','whs.ori','whs.prx','whs.dst'};

mainPara = {'DBL','ORI','PRX','DST','DBL','ORI','PRX','DST','DBL','ORI','PRX','DST'};

doSingleMean = [0,0,0,0,1,1,1,1,1,1,1,1];
logicalArray = strcmp({animals.recType},'stimulation_electrical') & [animals.thesisUsage];

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

evtStruct = animals(logicalArray);
logicalEvtArray = strcmp({evtStruct.recType},'stimulation_electrical') & [evtStruct.thesisUsage]; % all true (bad hack)

usableMinutes = {evtStruct(:).baselineMinutes}; % adjust for baseline

for n = 1:size(doSingleMean,2)
    animalStatistics = [];
    animalStatistics = evt_file_statistics(evtStruct,[],parameters{n},1,usableMinutes,doSingleMean(n),logicalEvtArray);
    statCell = [];
    statCell = transpose(struct2cell(animalStatistics)); % for indexing the variable fields

    if n < 0 % HBO, VIS, VIB / removed for stim (hence the 0)
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101}) || statCell{m,101} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = 0; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = 0; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = 0; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = 0; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = 0; % 106 index of meanPercentage
            else
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101}; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(1,:) = statCell{m,103}; % 103 index of start times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times(2,:) = statCell{m,107}; % 107 index of end times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102}; % 102 index of meanRate
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanLength = statCell{m,104}; % 104 index of meanLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).medianLength = statCell{m,105}; % 105 index of medianLength
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPercentage = statCell{m,106}; % 106 index of meanPercentage
            end
        end
    elseif n > 0 && n < 5 % cx1(SAT1); cx2(SAT2); dbl(neo), ori, prx, dst rate
        for m = 1:length(struct2useMod)
            if isempty(statCell{m,101}) || statCell{m,101} == 0
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = 0; % 101 index of count
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).times = 0; % 103 index of times
                struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = 0; % 102 index of meanRate
            end
        end
    end
end

```

```

else
    struct2useMod(m).(mainPara{n}).Count = statCell{m,101}; % 101 index of count
    struct2useMod(m).(mainPara{n}).times = statCell{m,103}; % 103 index of times
    struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanRate = statCell{m,102}; % 102 index of meanRate
end
end
elseif n > 4 && n < 9 % dbl(neo), ori, prx, dst peak
    for m = 1:length(struct2useMod)
        struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanPeak = statCell{m,101}; % 102 index of meanRate
    end
elseif n > 8 && n < 13 % dbl(neo), ori, prx, dst width
    for m = 1:length(struct2useMod)
        struct2useMod(m).(mainPara{n}).meanWidth = statCell{m,101}; % 102 index of meanRate
    end
end
end
end

baselineMeans = [];

IDString = 'all';

for n = 1:size(groups,2)
    logicArray = trueForAll & [struct2use.age] == groups(n);
    ageString = num2str(groups(n));
    titleStringPart = ['P' ageString ' ' IDString 'baseline SPWID']; tSP = titleStringPart;
    savePathString = ['P' ageString ' ' IDString 'baseline_SPWID']; sPS = savePathString;

    baselineMeans(n).age = groups(n);
    baselineMeans(n).SPWIDs = ...
        plot_baseline_mean_SPWID_Group(struct2use(logicArray),...
            [savePath 'stim_results_baseline/' sPS]cats,tSP,0,1);
end

keyboard

```

9. Literaturverzeichnis

- Ackman, James B, Timothy J Burbridge, and Michael C Crair. 2012. "Retinal Waves Coordinate Patterned Activity throughout the Developing Visual System." *Nature* 490 (7419): 219–25. <https://doi.org/10.1038/nature11529>.
- Allene, Camille, Michel A Picardo, Hélène Becq, Goichi Miyoshi, Gord Fishell, and Rosa Cossart. 2012. "Dynamic Changes in Interneuron Morphophysiological Properties Mark the Maturation of Hippocampal Network Activity." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 32 (19): 6688–98. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0081-12.2012>.
- Amaral, D. G., and M. P. Witter. 1989. "The Three-Dimensional Organization of the Hippocampal Formation: A Review of Anatomical Data." *Neuroscience* 31 (3): 571–91. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7).
- Anastasiades, Paul G, Andre Marques-Smith, Daniel Lyngholm, Tom Lickiss, Sayda Raffiq, Dennis Kätzel, Gero Miesenböck, and Simon J B Butt. 2016. "GABAergic Interneurons Form Transient Layer-Specific Circuits in Early Postnatal Neocortex." *Nature Communications* 7 (February): 10584. <https://doi.org/10.1038/ncomms10584>.
- André, M., M-D M.-D. M-D Lamblin, A M d'Allest, L. Curzi-Dascalova, F. Moussalli-Salefranque, Tich S Nguyen The, M-F M.-F. Vecchierini-Blineau, et al. 2010. "Electroencephalography in Premature and Full-Term Infants. Developmental Features and Glossary." *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 40 (2): 59–124. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2010.02.002>.
- Belluardo, N, G Mudò, A Trovato-Salinaro, S Le Gurun, A Charollais, V Serre-Beinier, G Amato, J A Haefliger, P Meda, and D F Condorelli. 2000. "Expression of Connexin36 in the Adult and Developing Rat Brain." *Brain Research* 865 (1): 121–38. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02300-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02300-3).
- Ben-Ari, Yehezkel. 2001. "Developing Networks Play a Similar Melody." *Trends in Neurosciences* 24 (6): 353–60. [papers2://publication/uuid/C8978A96-DB9F-4C92-8C7A-385AB31BE829](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11523129/).
- Ben-Ari, Yehezkel, E Cherubini, R Corradetti, and Jean-Luc Gaiarsa. 1989. "Giant Synaptic Potentials in Immature Rat CA3 Hippocampal Neurones." *The Journal of Physiology* 416: 303–25. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2575165.
- Ben-Ari, Yehezkel, and Gregory L Holmes. 2006. "Effects of Seizures on Developmental Processes in the Immature Brain." *The Lancet. Neurology* 5 (12): 1055–63. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70626-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70626-3).
- Bennett, Michael V L, and R.Suzanne Zukin. 2004. "Electrical Coupling and Neuronal Synchronization in the Mammalian Brain." *Neuron* 41 (4): 495–511. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(04\)00043-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(04)00043-1).
- Blumberg, Mark S, John A Lesku, Paul-Antoine Libourel, Markus H Schmidt, and Niels C Rattenborg. 2020. "What Is REM Sleep?" *Current Biology* 30 (1): R38–49. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.11.045>.
- Bormann, J, O P Hamill, and B Sakmann. 1987. "Mechanism of Anion Permeation through Channels Gated by Glycine and Gamma-Aminobutyric Acid in Mouse Cultured Spinal Neurones." *The Journal of Physiology* 385 (April): 243–86. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1987.sp016493>.
- Bourgeron, T. 2015. *What Do We Know about Early Onset Neurodevelopmental Disorders?* Edited by K Nikolic and SE Hyman. Translational Neuroscience; Cambridge (MA): MIT Pres. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>.
- Bragin, A, G Jandó, and Z Nádasdy. 1995. "Gamma (40-100 Hz) Oscillation in the Hippocampus of the Behaving Rat." *The Journal of ...* 15 (January). <http://www.jneurosci.org/content/15/1/47.short>.
- Bundesinstitut für Risikobewertung. 2022. "Verwendete Tierarten 2021." 2022. <https://www.bf3r.de/cm/343/abbildung-1-zahlen-und-anteile-der-im-jahr-2021-verwendeten-tierarten-in-tierversuchen.pdf>.
- Butler, James L, Y Audrey Hay, and Ole Paulsen. 2018. "Comparison of Three Gamma Oscillations in the Mouse Entorhinal-Hippocampal System." *The European Journal of Neuroscience* 48 (8): 2795–2806. <https://doi.org/10.1111/ejn.13831>.

- Buzsáki, G. 2011. "Hippocampus." *Scholarpedia* 6: 1468. <http://www.scholarpedia.org/article/Hippocampus>.
- Buzsáki, G. 1984. "Feed-Forward Inhibition in the Hippocampal Formation." *Progress in Neurobiology* 22 (2): 131–53. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(84\)90023-6](https://doi.org/10.1016/0301-0082(84)90023-6).
- . 1986. "Hippocampal Sharp Waves: Their Origin and Significance." *Brain Research* 398 (2): 242–52. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3026567>.
- Buzsáki, G, Z Horváth, R Urioste, J Hetke, and K. Wise. 1992. "High-Frequency Network Oscillation in the Hippocampus." *Science (New York, N.Y.)* 256 (5059): 1025–27. <https://doi.org/1589772>.
- Buzsáki, G, L W Leung, and C H Vanderwolf. 1983. "Cellular Bases of Hippocampal EEG in the Behaving Rat." *Brain Research* 287 (2): 139–71. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6357356>.
- Buzsáki, György. 2002. "Theta Oscillations in the Hippocampus." *Neuron* 33 (3): 325–40. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00586-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00586-X).
- . 2005. "Theta Rhythm of Navigation: Link between Path Integration and Landmark Navigation, Episodic and Semantic Memory." *Hippocampus* 15 (7): 827–40. <https://doi.org/10.1002/hipo.20113>.
- . 2006. *Rhythms of the Brain*. Edited by György Buzsáki. *Rhythms of the Brain*. Vol. 54. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195301069.001.0001>.
- . 2015. "Hippocampal Sharp Wave-Ripple: A Cognitive Biomarker for Episodic Memory and Planning." *Hippocampus* 25 (10): 1073–1188. <https://doi.org/10.1002/hipo.22488>.
- Buzsáki, György, and Andreas Draguhn. 2004. "Neuronal Oscillations in Cortical Networks." *Science (New York, N.Y.)* 304 (5679): 1926–29. <https://doi.org/10.1126/science.1099745>.
- Buzsáki, György, and Fernando Lopes da Silva. 2012. "High Frequency Oscillations in the Intact Brain." *Progress in Neurobiology* 98 (3): 241–49. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.004>.
- Canto, Cathrin B., Floris G. Wouterlood, and Menno P. Witter. 2008. "What Does the Anatomical Organization of the Entorhinal Cortex Tell Us?" *Neural Plasticity* 2008. <https://doi.org/10.1155/2008/381243>.
- Charvet, Christine J, Barbara Clancy, and Barbara L Finlay. 2024. "Translating Time." 2024. <https://www.translatingtime.org/translate/#>.
- Chini, Mattia, Thomas Pfeffer, and Ileana Hanganu-Opatz. 2022. "An Increase of Inhibition Drives the Developmental Decorrelation of Neural Activity." Edited by Liset M de la Prida, Laura L Colgin, and Sampa Vanhatalo. *ELife* 11: e78811. <https://doi.org/10.7554/eLife.78811>.
- Ciganok-Hückels, Natalja, Kevin Jehasse, Lena Kricsfalussy-Hrabár, Mira Ritter, Thomas Rüländ, and Björn M Kampa. 2023. "Postnatal Development of Electrophysiological and Morphological Properties in Layer 2/3 and Layer 5 Pyramidal Neurons in the Mouse Primary Visual Cortex." *Cerebral Cortex* 33 (10): 5875–84. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac467>.
- Colonnese, Matthew T, and Rustem Khazipov. 2010. "'Slow Activity Transients' in Infant Rat Visual Cortex: A Spreading Synchronous Oscillation Patterned by Retinal Waves." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 30 (12): 4325–37. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4995-09.2010>.
- Colonnese, Matthew T MT, Anna Kaminska, Marat Minlebaev, Mathieu Milh, Bernard Bloem, Sandra Lescure, Guy Moriette, Catherine Chiron, Yehezkel Ben-Ari, and Rustem Khazipov. 2010. "A Conserved Switch in Sensory Processing Prepares Developing Neocortex for Vision." *Neuron* 67 (3): 480–98. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.07.015.A>.
- Colonnese, Matthew T, Jing Shen, and Yasunobu Murata. 2017. "Uncorrelated Neural Firing in Mouse Visual Cortex during Spontaneous Retinal Waves." *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11: 289. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00289>.
- Cossart, Rosa, and Roustem Khazipov. 2022. "How Development Sculpts Hippocampal Circuits and Function." *Physiological Reviews* 102 (1): 343–78. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2020>.
- Csibra, G, G Davis, M W Spratling, and M H Johnson. 2000. "Gamma Oscillations and Object Processing in the Infant Brain." *Science (New York, N.Y.)* 290 (5496): 1582–85. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11090357>.

- Csicsvari, J, H Hirase, A Czurkó, A Mamiya, and G Buzsáki. 1999. "Fast Network Oscillations in the Hippocampal CA1 Region of the Behaving Rat." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19 (16): RC20. <http://www.jgp.org/cgi/doi/10.1085/jgp.107.6.663>.
- Csicsvari, Jozsef, and David Dupret. 2014. "Sharp Wave/Ripple Network Oscillations and Learning-Associated Hippocampal Maps." *Phil. Trans. R. Soc. B*, no. December 2013.
- Csicsvari, Jozsef, Brian Jamieson, Kensall D Wise, and György Buzsáki. 2003. "Mechanisms of Gamma Oscillations in the Hippocampus of the Behaving Rat." *Neuron* 37 (2): 311–22. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)01169-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)01169-8).
- Delage, Clément, Toufik Taib, Célia Mamma, Dominique Lerouet, and Valérie C Besson. 2021. "Traumatic Brain Injury: An Age-Dependent View of Post-Traumatic Neuroinflammation and Its Treatment." *Pharmaceutics*. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101624>.
- Duan, Zhe Ran S, Alicia Che, Philip Chu, Laura Modol, Yannick Bollmann, Rachel Babij, Robert N Fetcho, et al. 2020. "GABAergic Restriction of Network Dynamics Regulates Interneuron Survival in the Developing Cortex." *Neuron* 105 (1): 75–92.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.10.008>.
- Elliott, F, C Gardner-Thorpe, D D Barwick, and J B Foster. 1974. "Jakob-Creutzfeldt Disease. Modification of Clinical and Electroencephalographic Activity with Methylphenidate and Diazepam." *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 37 (8): 879–87. <https://doi.org/10.1136/jnnp.37.8.879>.
- Emmady, Prabhu D, and Najib Murr. 2023. "EEG Triphasic Waves." In . Treasure Island (FL).
- Fazeli, Walid, Stefania Zappettini, Stephan Lawrence Marguet, Jasper Grendel, Monique Esclapez, Christophe Bernard, and Dirk Isbrandt. 2017. "Early-Life Exposure to Caffeine Affects the Construction and Activity of Cortical Networks in Mice." *Experimental Neurology* 295 (September): 88–103. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.05.013>.
- Foxe, John, and Adam Snyder. 2011. "The Role of Alpha-Band Brain Oscillations as a Sensory Suppression Mechanism during Selective Attention ." *Frontiers in Psychology* . <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2011.00154>.
- Freemon, F R, J J McNew, and W R Adey. 1969. "Sleep of Unrestrained Chimpanzee: Cortical and Subcortical Recordings." *Experimental Neurology* 25 (1): 129–37. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(69\)90076-4](https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90076-4).
- Freemon, Frank R, and Richard D Walter. 1970. "Electrical Activity of Human Limbic System during Sleep." *Comprehensive Psychiatry* 11 (6): 544–51. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0010-440X\(70\)90017-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0010-440X(70)90017-9).
- Freund, T F, and G Buzsáki. 1996. "Interneurons of the Hippocampus." *Hippocampus* 6 (4): 347–470. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I).
- Furtunato, Alan M B, Bruno Lobão-Soares, Adriano Bretanha Lopes Tort, and Hindiael Belchior. 2020. "Specific Increase of Hippocampal Delta Oscillations Across Consecutive Treadmill Runs ." *Frontiers in Behavioral Neuroscience* . <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2020.00101>.
- Gainutdinov, Azat, Dmitrii Shipkov, Mikhail Sintsov, Lorenzo Fabrizi, Azat Nasretidinov, Roustem Khazipov, and Guzel Valeeva. 2023. "Somatosensory-Evoked Early Sharp Waves in the Neonatal Rat Hippocampus." *International Journal of Molecular Sciences* 24 (10). <https://doi.org/10.3390/ijms24108721>.
- Gorski, Jessica A, Tiffany Talley, Mengsheng Qiu, Luis Puellas, John L R Rubenstein, and Kevin R Jones. 2002. "Cortical Excitatory Neurons and Glia, but Not GABAergic Neurons, Are Produced in the Emx1-Expressing Lineage." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (15): 6309–14. <https://doi.org/20026564>.
- Graf, Jürgen, Chuanqiang Zhang, Stephan Lawrence Marguet, Tanja Herrmann, Tom Flossmann, Robin Hinsch, Vahid Rahmati, et al. 2021. "A Limited Role of NKCC1 in Telencephalic Glutamatergic Neurons for Developing Hippocampal Network Dynamics and Behavior." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118 (14). <https://doi.org/10.1073/pnas.2014784118>.
- Guan, Ao, Shaoshuang Wang, Ailing Huang, Chenyue Qiu, Yansong Li, Xuying Li, Jinfei Wang, Qiang Wang, and Bin Deng. 2022. "The Role of Gamma Oscillations in Central Nervous System Diseases: Mechanism and Treatment." *Frontiers in Cellular Neuroscience* 16: 962957. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.962957>.

- Günther, Anne, and Ileana L Hanganu-Opatz. 2022. "Neuronal Oscillations: Early Biomarkers of Psychiatric Disease?" *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2022.1038981>.
- Hadders-Algra, Mijna. 2021. "Early Diagnostics and Early Intervention in Neurodevelopmental Disorders-Age-Dependent Challenges and Opportunities." *Journal of Clinical Medicine* 10 (4). <https://doi.org/10.3390/jcm10040861>.
- Hanganu, Ileana L, Yehezkel Ben-Ari, and Rustem Khazipov. 2006. "Retinal Waves Trigger Spindle Bursts in the Neonatal Rat Visual Cortex." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (25): 6728–36. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0752-06.2006>.
- Hanganu, Ileana L, Jochen F Staiger, Yehezkel Ben-Ari, and Roustem Khazipov. 2007. "Cholinergic Modulation of Spindle Bursts in the Neonatal Rat Visual Cortex in Vivo." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (21): 5694–5705. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5233-06.2007>.
- Hartse, K M, S F Eisenhart, B M Bergmann, and A Rechtschaffen. 1979. "Ventral Hippocampus Spikes during Sleep, Wakefulness, and Arousal in the Cat." *Sleep* 1 (3): 231–46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/504871>.
- Hennou, Sonia, Ilgam Khalilov, Diabé Diabira, Yehezkel Ben-Ari, and Henri Gozlan. 2002. "Early Sequential Formation of Functional GABA(A) and Glutamatergic Synapses on CA1 Interneurons of the Rat Foetal Hippocampus." *The European Journal of Neuroscience* 16 (2): 197–208. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02073.x>.
- Hensch, Takao K. 2004. "Critical Period Regulation." *Annual Review of Neuroscience* 27: 549–79. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144327>.
- Hoy, Jennifer L., and Cristopher M. Niell. 2015. "Layer-Specific Refinement of Visual Cortex Function after Eye Opening in the Awake Mouse." *Journal of Neuroscience* 35 (8): 3370–83. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3174-14.2015>.
- Jefferys, John G R, Liset Menendez de la Prida, Fabrice Wendling, Anatol Bragin, Massimo Avoli, Igor Timofeev, and Fernando H Lopes da Silva. 2012. "Mechanisms of Physiological and Epileptic HFO Generation." *Progress in Neurobiology* 98 (3): 250–64. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.005>.
- JONES, D P, and S NEVIN. 1954. "Rapidly Progressive Cerebral Degeneration (Subacute Vascular Encephalopathy) with Mental Disorder, Focal Disturbances, and Myoclonic Epilepsy." *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 17 (2): 148–59. <https://doi.org/10.1136/jnnp.17.2.148>.
- Jouvet, M, F Michel, and J Courjon. 1959. "[Electric Activity of the Rhinencephalon during Sleep in Cats]." *Comptes Rendus Des Seances de La Societe de Biologie et de Ses Filiales* 153 (1): 101–5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13663367>.
- Kamondi, Anita, László Acsády, Xiao-Jing Wang, and György Buzsáki. 1998. "Theta Oscillations in Somata and Dendrites of Hippocampal Pyramidal Cells in Vivo: Activity-Dependent Phase-Precession of Action Potentials." *Hippocampus* 8 (3): 244–61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:3<244::AID-HIPO7>3.0.CO;2-J](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:3<244::AID-HIPO7>3.0.CO;2-J).
- Karlsson, Karl Å., Ethan J. Mohns, Gonzalo Viana di Prisco, and Mark S. Blumberg. 2006. "On the Co-Occurrence of Startles and Hippocampal Sharp Waves in Newborn Rats." *Hippocampus* 16 (11): 959–65. <https://doi.org/10.1002/hipo.20224>.
- Karlsson, Karl Ae, and Mark S Blumberg. 2003. "Hippocampal Theta in the Newborn Rat Is Revealed under Conditions That Promote REM Sleep." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (4): 1114–18. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-04-01114.2003>.
- Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV). 2023. "4.3.5 Altersgruppen." 2023. https://www.kbv.de/tools/ebm/html/4.3.5_162395004446927562274884.html.
- Katagiri, Hiroyuki, Michela Fagiolini, and Takao K Hensch. 2007. "Optimization of Somatic Inhibition at Critical Period Onset in Mouse Visual Cortex." *Neuron* 53 (6): 805–12. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.02.026>.
- Khalilov, I., M. Minlebaev, M. Mukhtarov, and R. Khazipov. 2015. "Dynamic Changes from Depolarizing to Hyperpolarizing GABAergic Actions during Giant Depolarizing Potentials in the Neonatal Rat Hippocampus."

- Journal of Neuroscience* 35 (37): 12635–42. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1922-15.2015>.
- Khazipov, R, M Minlebaev, and G Valeeva. 2013. “Early Gamma Oscillations.” *Neuroscience* 250 (October): 240–52. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.07.019>.
- Khazipov, Rustem, Anton Sirota, Xavier Leinekugel, Gregory L Holmes, Yehezkel Ben-Ari, and György Buzsáki. 2004. “Early Motor Activity Drives Spindle Bursts in the Developing Somatosensory Cortex.” *Nature* 432 (7018): 758–61. <https://doi.org/10.1038/nature03132>.
- Kirmse, Knut, Michael Kummer, Yury Kovalchuk, Otto W. Witte, Olga Garaschuk, and Knut Holthoff. 2015. “GABA Depolarizes Immature Neurons and Inhibits Network Activity in the Neonatal Neocortex in Vivo.” *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/ncomms8750>.
- KIRSTEIN, L. 1953. “The Occurrence of Sharp Waves, Spikes and Fast Activity in Supratentorial Tumours.” *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 5 (1): 33–40. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(53\)90050-9](https://doi.org/10.1016/0013-4694(53)90050-9).
- Kosel, K. C., Gary W. Van Hoesen, and Douglas L. Rosene. 1982. “Non-Hippocampal Cortical Projections from the Entorhinal Cortex in the Rat and Rhesus Monkey.” *Brain Research* 244: 201–13.
- Kreiner, Grzegorz. 2015. “Compensatory Mechanisms in Genetic Models of Neurodegeneration: Are the Mice Better than Humans?” *Frontiers in Cellular Neuroscience* 9: 56. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00056>.
- Kummer, Michael, Knut Kirmse, Chuanqiang Zhang, Jens Haueisen, Otto W Witte, and Knut Holthoff. 2016. “Column-like Ca(2+) Clusters in the Mouse Neonatal Neocortex Revealed by Three-Dimensional Two-Photon Ca(2+) Imaging in Vivo.” *NeuroImage* 138 (September): 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.05.050>.
- Leblanc, M O, and B H Bland. 1979. “Developmental Aspects of Hippocampal Electrical Activity and Motor Behavior in the Rat.” *Experimental Neurology* 66 (2): 220–37. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(79\)90076-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(79)90076-1).
- Lehtonen, Suvi-Maaria, Tomi Waselius, Markku Penttonen, and Miriam S Nokia. 2022. “Hippocampal Responses to Electrical Stimulation of the Major Input Pathways Are Modulated by Dentate Spikes.” *Hippocampus* 32 (11–12): 808–17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/hipo.23470>.
- Leinekugel, Xavier, Rustem Khazipov, Robert Cannon, Hajime Hirase, Yehezkel Ben-Ari, and György Buzsáki. 2002. “Correlated Bursts of Activity in the Neonatal Hippocampus in Vivo” 296 (June): 2049–53.
- Levelt, Christiaan N, and Mark Hübener. 2012. “Critical-Period Plasticity in the Visual Cortex.” *Annual Review of Neuroscience* 35: 309–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113813>.
- Lopes da Silva, F H, M P Witter, P H Boeijinga, and A H Lohman. 1990. “Anatomic Organization and Physiology of the Limbic Cortex.” *Physiological Reviews* 70 (2): 453–511. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.453>.
- Marguet, Stephan Lawrence, Vu Thao Quyen Le-Schulte, Andrea Merseburg, Axel Neu, Ronny Eichler, Igor Jakovcevski, Anton Ivanov, et al. 2015. “Treatment during a Vulnerable Developmental Period Rescues a Genetic Epilepsy.” *Nature Medicine* 21 (November): 1–12. <https://doi.org/10.1038/nm.3987>.
- May, W W. 1968. “Creutzfeldt-Jakob Disease. 1. Survey of the Literature and Clinical Diagnosis.” *Acta Neurologica Scandinavica* 44 (1): 1–32. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1968.tb07440.x>.
- Meier, Kolja, Andrea Merseburg, Dirk Isbrandt, Stephan Lawrence Marguet, and Fabio Morellini. 2020. “Dentate Gyrus Sharp Waves, a Local Field Potential Correlate of Learning in the Dentate Gyrus of Mice.” *The Journal of Neuroscience* 40 (37): 7105 LP – 7118. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2275-19.2020>.
- Miles, Jesse Thomas, Kevan Scott Kidder, and Sheri J Y Mizumori. 2023. “Hippocampal Beta Rhythms as a Bridge between Sensory Learning and Memory-Guided Decision-Making .” *Frontiers in Systems Neuroscience* . <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnsys.2023.1187272>.
- Minei, Ryuhei, Hitomi Aoki, Atsushi Ogura, and Takahiro Kunisada. 2023. “Compensatory Gene Expression Potentially Rescues Impaired Brain Development in Kit Mutant Mice.” *Scientific Reports* 13 (1): 4166. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30032-0>.
- Minlebaev, Marat, Yehezkel Ben-Ari, and Rustem Khazipov. 2007. “Network Mechanisms of Spindle-Burst Oscillations in the Neonatal Rat Barrel Cortex in Vivo.” *Journal of Neurophysiology* 97 (1): 692–700. <https://doi.org/10.1152/jn.00759.2006>.

- MIYAZAKI, M, M EBE, and M AKI. 1964. "REPETITIVE SHARP WAVE ON THE ELECTROENCEPHALOGRAM--REPORT OF 2 CASES WITH BOTH CEREBRAL DISEASE AND HEPATIC DYSFUNCTION." *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica* 17 (February): 358–72. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.1963.tb00005.x>.
- Mohns, Ethan J., Karl Æ. Karlsson, and Mark S. Blumberg. 2007. "Developmental Emergence of Transient and Persistent Hippocampal Events and Oscillations and Their Association with Infant Seizure Susceptibility." *European Journal of Neuroscience* 26 (10): 2719–30. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05928.x>.
- Mohns, Ethan J, and Mark S Blumberg. 2008. "Synchronous Bursts of Neuronal Activity in the Developing Hippocampus: Modulation by Active Sleep and Association with Emerging Gamma and Theta Rhythms." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 28 (40): 10134–44. <http://www.jneurosci.org/cgi/content/full/28/40/10134>.
- Moran, Lauren V, and L Elliot Hong. 2011. "High vs Low Frequency Neural Oscillations in Schizophrenia." *Schizophrenia Bulletin* 37 (4): 659–63. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbr056>.
- Muessig, Laurenz, Michal Lasek, Isabella Varsavsky, Francesca Cacucci, and Thomas Joseph Wills. 2019. "Coordinated Emergence of Hippocampal Replay and Theta Sequences during Post-Natal Development." *Current Biology: CB* 29 (5): 834–840.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.005>.
- Murata, Yasunobu, and Matthew T Colonnese. 2020. "GABAergic Interneurons Excite Neonatal Hippocampus in Vivo." *Science Advances* 6 (24): eaba1430. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba1430>.
- Nakazawa, Shingo, Yumiko Yoshimura, Masahiro Takagi, Hidenobu Mizuno, and Takuji Iwasato. 2020. "Developmental Phase Transitions in Spatial Organization of Spontaneous Activity in Postnatal Barrel Cortex Layer 4." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 40 (40): 7637–50. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1116-20.2020>.
- National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities, Centers for Disease Control and Prevention. 2023. "CDC's Developmental Milestones." 2023. <https://www.cdc.gov/ncbddd/actearly/milestones/index.html#print>.
- Nicoll, Roger A. 2017. "A Brief History of Long-Term Potentiation." *Neuron* 93 (2): 281–90. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.015>.
- Pan, Gaojie, Zhicai Chen, Honghua Zheng, Yunwu Zhang, Huaxi Xu, Guojun Bu, Hui Zheng, and Yanfang Li. 2018. "Compensatory Mechanisms Modulate the Neuronal Excitability in a Kainic Acid-Induced Epilepsy Mouse Model." *Frontiers in Neural Circuits* 12: 48. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00048>.
- Paxinos, George, Glenda Margaret Halliday, Charles Watson, Yuri Koutcherov, and Honquin Wang. 2006. *Atlas of the Developing Mouse Brain at E17.5, P0, and P6*.
- Pelkey, Kenneth A., Ramesh Chittajallu, Michael T. Craig, Ludovic Tricoire, Jason C. Wester, and Chris J. McBain. 2017. "Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons." *Physiological Reviews* 97 (4): 1619–1747. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2017>.
- Penttonen, Markku, and György Buzsáki. 2003. "Natural Logarithmic Relationship between Brain Oscillators." *Thalamus & Related Systems* 2 (2): 145–52. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1472-9288\(03\)00007-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1472-9288(03)00007-4).
- Peters, H Christian, Hua Hu, Olaf Pongs, Johan F Storm, and Dirk Isbrandt. 2005. "Conditional Transgenic Suppression of M Channels in Mouse Brain Reveals Functions in Neuronal Excitability, Resonance and Behavior." *Nature Neuroscience* 8 (1): 51–60. <https://doi.org/nn1375> [pii]10.1038/nn1375.
- Pochinok, Irina, Tristan M Stöber, Jochen Triesch, Mattia Chini, and Ileana L Hanganu-Opatz. 2024. "A Developmental Increase of Inhibition Promotes the Emergence of Hippocampal Ripples." *Nature Communications* 15 (1): 738. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-44983-z>.
- Pronier, Éléonore, Juan Facundo Morici, and Gabrielle Girardeau. 2023. "The Role of the Hippocampus in the Consolidation of Emotional Memories during Sleep." *Trends in Neurosciences* 46 (11): 912–25. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2023.08.003>.
- Ramadan, Wiâm, Oxana Eschenko, and Susan J. Sara. 2009. "Hippocampal Sharp Wave/Ripples during Sleep for Consolidation of Associative Memory." Edited by Clayton T. Dickson. *PloS One* 4 (8): e6697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006697>.

- Ramón y Cajal, Santiago. 1911. "Histologie Du Systeme Nerveux de l'Homme et Des Vertebres." *Paris: Maloine*.
- Rosene, Douglas L., and Gary W. Van Hoesen. 1977. "Hippocampal Efferents Reach Widespread Areas of Cerebral Cortex and Amygdala in the Rhesus Monkey." *Science* 198: 315–17.
- Seelke, Adele M H, and Mark S Blumberg. 2008. "The Microstructure of Active and Quiet Sleep as Cortical Delta Activity Emerges in Infant Rats." *Sleep* 31 (5): 691–99. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Retrieve&list_uids=18517038&dopt=abstractplus.
- Shen, Jing, and Matthew T Colonnese. 2016. "Development of Activity in the Mouse Visual Cortex." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 36 (48): 12259–75. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1903-16.2016>.
- Siedler, Howard, and Nathan Malamud. 1963. "Creutzfeldt-Jakob's Disease: Clinicopathologic Report of 15 Cases and Review of the Literature (with Special Reference to a Related Disorder Designated as Subacute Spongiform Encephalopathy)." *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 22 (3): 381–402. <https://doi.org/10.1097/00005072-196307000-00002>.
- Sipilä, Sampsa T, Kristiina Huttu, Ivan Soltesz, Juha Voipio, and Kai Kaila. 2005. "Depolarizing GABA Acts on Intrinsically Bursting Pyramidal Neurons to Drive Giant Depolarizing Potentials in the Immature Hippocampus." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 25 (22): 5280–89. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0378-05.2005>.
- Sirota, Anton, Jozsef Csicsvari, Derek Buhl, and György Buzsáki. 2003. "Communication between Neocortex and Hippocampus during Sleep in Rodents." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (4): 2065–69. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437938100>.
- Skaggs, William E, Bruce L McNaughton, Michele Permenter, Matthew Archibeque, Julie Vogt, David G Amaral, and Carol a Barnes. 2007. "EEG Sharp Waves and Sparse Ensemble Unit Activity in the Macaque Hippocampus." *Journal of Neurophysiology* 98 (2): 898–910. <https://doi.org/10.1152/jn.00401.2007>.
- Strata, F, and E Cherubini. 1994. "Transient Expression of a Novel Type of GABA Response in Rat CA3 Hippocampal Neurons during Development." *The Journal of Physiology* 480 (Pt 3 (3): 493–503. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1994.sp020378>.
- Sullivan, David, Jozsef Csicsvari, Kenji Mizuseki, Sean Montgomery, Kamran Diba, and György Buzsáki. 2011. "Relationships between Hippocampal Sharp Waves, Ripples, and Fast Gamma Oscillation: Influence of Dentate and Entorhinal Cortical Activity." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 31 (23): 8605–16. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0294-11.2011>.
- Takagi, Shunsuke. 2023. "Exploring Ripple Waves in the Human Brain." *Clinical EEG and Neuroscience* 54 (6): 594–600. <https://doi.org/10.1177/15500594211034371>.
- The Jackson Laboratory. 2023. "B6.129S2-Emx1tm1(Cre)Krl/J." 2023. <https://www.jax.org/strain/005628>.
- Tolonen, M, J. M. Palva, S Andersson, and S Vanhatalo. 2007. "Development of the Spontaneous Activity Transients and Ongoing Cortical Activity in Human Preterm Babies." *Neuroscience* 145 (3): 997–1006. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.12.070>.
- Tripepi, Giovanni, Kitty J Jager, Friedo W Dekker, and Carmine Zoccali. 2010. "Selection Bias and Information Bias in Clinical Research." *Nephron. Clinical Practice* 115 (2): c94-9. <https://doi.org/10.1159/000312871>.
- Turrigiano, Gina G, and Sacha B Nelson. 2004. "Homeostatic Plasticity in the Developing Nervous System." *Nature Reviews. Neuroscience* 5 (2): 97–107. <https://doi.org/10.1038/nrn1327>.
- Tyzio, R, A Represa, I Jorquera, Y Ben-Ari, H Gozlan, and L Aniksztejn. 1999. "The Establishment of GABAergic and Glutamatergic Synapses on CA1 Pyramidal Neurons Is Sequential and Correlates with the Development of the Apical Dendrite." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19 (23): 10372–82. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-23-10372.1999>.
- Tyzio, Roman, Gregory L Holmes, Yehezkiel Ben-Ari, and Roustem Khazipov. 2007. "Timing of the Developmental Switch in GABA(A) Mediated Signaling from Excitation to Inhibition in CA3 Rat Hippocampus Using Gramicidin Perforated Patch and Extracellular Recordings." *Epilepsia* 48 Suppl 5 (January): 96–105. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01295.x>.

- Valeeva, Guzel, Sona Janackova, Azat Nasretdinov, Veronika Rychkova, Roman Makarov, Gregory L Holmes, Roustem Khazipov, and Pierre-Pascal Lenck-Santini. 2019. "Emergence of Coordinated Activity in the Developing Entorhinal-Hippocampal Network." *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)* 29 (2): 906–20. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy309>.
- Valeeva, Guzel, Thomas Tressard, Marat Mukhtarov, Agnes Baude, and Rustem Khazipov. 2016. "An Optogenetic Approach for Investigation of Excitatory and Inhibitory Network GABA Actions in Mice Expressing Channelrhodopsin-2 in GABAergic Neurons." *The Journal of Neuroscience* 36 (22): 5961–73. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3482-15.2016>.
- Vanderwolf, CH. 1969. "Hippocampal Electrical Activity and Voluntary Movement in the Rat." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26 (4): 407–18.
- Vanhatalo, Sampsa, J Matias Palva, Sture Andersson, Claudio Rivera, Juha Voipio, and Kai Kaila. 2005. "Slow Endogenous Activity Transients and Developmental Expression of K⁺-Cl⁻ Cotransporter 2 in the Immature Human Cortex." *The European Journal of Neuroscience* 22 (11): 2799–2804. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04459.x>.
- Vanhatalo, Sampsa, P Tallgren, S Andersson, K Sainio, J Voipio, and K Kaila. 2002. "DC-EEG Discloses Prominent, Very Slow Activity Patterns during Sleep in Preterm Infants." *Clinical Neurophysiology* 113 (11): 1822–25. [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(02\)00292-4](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(02)00292-4).
- Virtanen, Mari A, Pavel Uvarov, Christian A Hübner, and Kai Kaila. 2020. "NKCC1, an Elusive Molecular Target in Brain Development: Making Sense of the Existing Data." *Cells* 9 (12). <https://doi.org/10.3390/cells9122607>.
- Witter, Menno P., Thanh P. Doan, Bente Jacobsen, Eirik S. Nilssen, and Shinya Ohara. 2017. "Architecture of the Entorhinal Cortex A Review of Entorhinal Anatomy in Rodents with Some Comparative Notes." *Frontiers in Systems Neuroscience* 11 (June): 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2017.00046>.
- Yang, Jenq-Wei, Ileana L. Hanganu-Opatz, Jyh-Jang J.-J. Sun, and Heiko J. Luhmann. 2009. "Three Patterns of Oscillatory Activity Differentially Synchronize Developing Neocortical Networks in Vivo." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (28): 9011–25. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5646-08.2009>.
- Yang, Jenq-Wei, Vicente Reyes-Puerta, Werner Kilb, and Heiko J Luhmann. 2016. "Spindle Bursts in Neonatal Rat Cerebral Cortex." *Neural Plasticity* 2016: 3467832. <https://doi.org/10.1155/2016/3467832>.
- Ylinen, a, a Bragin, Z Nádasdy, G Jandó, I Szabó, a Sik, and G Buzsáki. 1995. "Sharp Wave-Associated High-Frequency Oscillation (200 Hz) in the Intact Hippocampus: Network and Intracellular Mechanisms." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 15 (1 Pt 1): 30–46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7823136>.
- Zeiss, Caroline J. 2021. "Comparative Milestones in Rodent and Human Postnatal Central Nervous System Development." *Toxicologic Pathology* 49 (8): 1368–73. <https://doi.org/10.1177/01926233211046933>.