

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur Epileptogenese
nach experimentellem Status epilepticus *in vivo*

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -
Universitätsmedizin Berlin

von
Julia Matzen
aus München

Dekane: Prof. Dr. med. Joachim W. Dudenhausen
Prof. Dr. med. Martin Paul

Gutachter: 1. PD Dr. med H. Meierkord, Berlin
2. Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann, Münster
3. Prof. Dr. med A. Draguhn, Heidelberg

Datum der Promotion: 19.07.2004

Für meine Eltern

1	EINLEITUNG	8
1.1	Epilepsien und Status epilepticus	8
1.1.1	Versuchstiermodelle	11
1.2	Die Hippocampusformation	16
1.2.1	Anatomie	16
1.2.2	Funktion	19
1.3	Prinzipien der Hemmung	22
1.3.1	Interneurone des Gyrus dentatus	23
1.3.2	GABA und GABA-Rezeptoren	26
1.4	Theorien zur Epileptogenese	27
1.5	Fragestellung der Arbeit und Hypothesen	29
2	MATERIAL UND METHODEN	30
2.1	Versuchstiere	30
2.2	Versuchsprotokoll und -gruppen: Überblick	30
2.3	Elektrodenimplantation	31
2.3.1	Elektroden	31
2.3.2	Operation	33
2.4	Induktion eines selbsterhaltenden Status epilepticus	37
2.5	Video-Telemetrie	40
2.6	Elektrophysiologie	42
2.6.1	Evozierte Potenziale	42
2.6.2	Datenanalyse	42
2.7	Statistik	44
3	ERGEBNISSE	46
3.1	Induktion des Status epilepticus	46
3.2	Klinische und elektrophysiologische Charakteristika des SSSE	46

3.3	Spontane Anfälle	47
3.3.1	Anfallszahlen in den Versuchsgruppen	47
3.3.2	Zahl der Anfälle pro Tier	48
3.3.3	Schweregrad	50
3.3.4	Dauer	50
3.3.5	Tageszeitliche Verteilung	51
3.4	Elektrophysiologische Messungen	52
3.4.1	Einzelreizparameter	52
3.4.2	Paired pulse-Messung	64
3.4.3	Vergleich der Versuchs- und Kontrollgruppen	84
3.5	Korrelation Anfälle/Inhibitionsverlust	86
4	DISKUSSION	88
4.1	Induktion eines Status epilepticus durch elektrische Stimulation	89
4.2	Entwicklung einer Epilepsie in Folge des Status epilepticus	90
4.2.1	Auswirkung der Dauer des Status epilepticus	92
4.2.2	Zeitlicher Verlauf	96
4.2.3	Tageszeitliche Verteilung der Anfälle	98
4.3	Veränderungen der Inhibition und Exzitabilität im Gyrus dentatus	99
4.3.1	Charakterisierung der verwendeten elektrophysiologischen Parameter	99
4.3.2	Einordnung der Ergebnisse	101
4.3.3	Interpretation der Ergebnisse anhand der Literatur	104
4.4	Vergleich der zeitlichen Entwicklung der Epilepsie und der elektrophysiologischen Messdaten	113
4.5	Zusammenfassende Betrachtung der vier Versuchsgruppen	114
4.5.1	Einführung einer Stimulationskontrollgruppe	114
5	ZUSAMMENFASSUNG	116
6	ANHANG	118
	Literaturverzeichnis	118
	Abkürzungsverzeichnis	138

Danksagung	139
Lebenslauf	140
Wissenschaftliche Beiträge	142
Erklärung an Eides statt	144

1 Einleitung

1.1 Epilepsien und Status epilepticus

Die Epilepsien sind Krankheiten, von denen weltweit 0,4 bis 1 Prozent der Bevölkerung betroffen sind (Sander, 2003). Sie zeichnen sich durch das wiederholte unprovokierte Auftreten partialer oder generalisierter Anfälle aus. Partiale oder fokale Anfälle entstehen durch spontane synchrone Entladungen in einem Verband von Neuronen, der epileptischer Fokus genannt wird. Die anatomische Lokalisation des Fokus innerhalb der Hirnrinde bestimmt das klinische Erscheinungsbild des Anfalls. Bei generalisierten Anfällen, die primär entstehen oder sich sekundär aus einem fokalen Anfall entwickeln können, erstreckt sich die synchronisierte Aktivität über beide Hemisphären.

Ein Status epilepticus stellt die schwerste Ausprägungsform eines epileptischen Anfalls dar. Grundsätzlich kann jeder Anfallstyp in Form eines Status epilepticus auftreten. Nach einer Definition der Internationalen Liga gegen Epilepsie (ILAE) liegt ein Status epilepticus vor, wenn „ein Anfall ausreichend lange anhält oder sich so häufig wiederholt, dass zwischen den einzelnen Anfällen das Bewusstsein nicht wiedererlangt wird“ (Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy, 1981). Im Gegensatz zum „normalen“ epileptischen Anfall versagen beim Status epilepticus Mechanismen, die dazu führen, dass die epileptische Aktivität nach einer begrenzten Zeitspanne spontan sistiert. Welche Mechanismen zu dieser verlängerten synchronen Entladung von Neuronenverbänden führen, ist nicht genau bekannt (Lowenstein und Alldredge, 1998; Coulter und DeLorenzo, 1999). Die offizielle Definition der ILAE enthält keine exakte Angabe bezüglich der Dauer, ab deren Überschreiten ein Anfall als Status epilepticus gilt. In ihren 1993 veröffentlichten Richtlinien zur Durchführung epidemiologischer Studien schlägt die ILAE eine Dauer der Anfallsaktivität von mindestens 30 Minuten als Grundlage der Definition des Status epilepticus vor (Commission on Epidemiology and Prognosis, 1993). Tatsächlich wird diese Zeitspanne in den meisten neueren klinischen Studien der Definition eines Status epilepticus zugrunde gelegt (Shepherd, 1994; Coeytaux et al., 2000; Knake et al.,

2001). Einige Autoren plädieren jedoch dafür, dass im Falle einer generalisiert-konvulsiven Anfallsaktivität schon nach einer Dauer von fünf Minuten von einem Status epilepticus gesprochen werden sollte (Lowenstein et al., 1999; Meldrum, 1999). Diese Forderung beruht auf der klinischen Beobachtung, dass generalisierte tonisch-klonische Anfälle nach Überschreiten einer Dauer von wenigen Minuten mit großer Wahrscheinlichkeit nicht mehr spontan sistieren (Theodore et al., 1994; Shinnar et al., 2001).

In den letzten Jahren wurden in den USA und in Europa mehrere epidemiologische Studien zur Bestimmung der Häufigkeit des Status epilepticus durchgeführt. Die Inzidenz bezogen auf die Gesamtbevölkerung betrug zwischen 9,9 und 18,3 Fälle pro 100.000 Einwohner (Hesdorffer et al., 1998a; Coeytaux et al., 2000; Knake et al., 2001; Vignatelli et al., 2003). Eine deutlich höhere Inzidenz von 41 pro 100.000 Einwohner in Richmond, USA, ist auf den hohen afroamerikanischen Bevölkerungsanteil zurückzuführen, da in dieser Bevölkerungsgruppe die Inzidenz in allen Altersklassen deutlich höher liegt als in der kaukasischen Bevölkerung (DeLorenzo et al., 1995). Geht man davon aus, dass die im Jahre 2001 im Großraum Marburg/Hessen ermittelte Inzidenz von 15,8 pro 100.000 Einwohner (Knake et al., 2001) für Deutschland repräsentativ ist, so ergibt sich, dass ungefähr 14.000 Menschen jährlich in Deutschland einen Status epilepticus erleiden. Damit ist der Status epilepticus einer der häufigsten Notfälle des neurologischen Fachgebietes. Bezüglich der Geschlechterverteilung des Status epilepticus ergab sich in allen genannten Studien mit Ausnahme der italienischen (Vignatelli et al., 2003) eine höhere Inzidenz für Männer als für Frauen. Die am häufigsten vom Status epilepticus betroffenen Altersgruppen sind in allen genannten Studien Kinder bis zum Alter von einem Jahr und Erwachsene ab dem 60. Lebensjahr. Somit ergibt sich für die Altersverteilung des Status epilepticus eine ähnliche zweigipflige Kurve wie für die Epilepsien im Allgemeinen, jedoch mit deutlicher ausgeprägten Maxima und Minima in den häufig bzw. selten betroffenen Altersgruppen (Hesdorffer et al., 1998a). In den meisten Fällen (34-63 Prozent) tritt ein Status epilepticus im Zusammenhang mit akuten Erkrankungen des Zentralnervensystems auf, wie zum Beispiel in Begleitung eines Schlaganfall oder anderer zerebrovaskulärer Störungen, Infektionen des Gehirns oder der Meningen, systemischer metabolischer

Entgleisungen, Tumoren oder Traumata des Gehirns (Hesdorffer et al., 1998a; Coeytaux et al., 2000; Knake et al., 2001; Vignatelli et al., 2003). Auch zeitlich weiter zurückliegende ZNS-Erkrankungen werden ursächlich mit einem Status epilepticus in Verbindung gebracht („remote symptomatic“). Bei Patienten mit einer vorbestehenden Epilepsie tritt ein Status epilepticus meist aufgrund abgesunkener Antiepileptikaspiegel infolge mangelnder Compliance auf. In den genannten Studien liegt der Anteil von Patienten mit einer vorbestehenden Epilepsie mit relativ guter Übereinstimmung bei 39 bis 46 Prozent. In 7 bis 33 Prozent der Fälle tritt ein Status epilepticus ohne erkennbare Ursache oder zugrunde liegende Grunderkrankung auf („idiopathic/cryptogenic“) (Hesdorffer et al., 1998a; Coeytaux et al., 2000; Knake et al., 2001; Vignatelli et al., 2003).

Der Status epilepticus ist mit einer hohen Rate akuter und chronischer Komplikationen assoziiert. Der Anteil von Patienten, die innerhalb von 30 Tagen nach Status epilepticus versterben, liegt in den verschiedenen Studien durchschnittlich bei 9 bis 39 Prozent (DeLorenzo et al., 1995; Sagduyu et al., 1998; Knake et al., 2001; Logroscino et al., 2002; Claassen et al., 2002; Vignatelli et al., 2003; Wu et al., 2002; Mayer et al., 2002; Shneker und Fountain, 2003). Die Letalität ist dabei in hohem Maße vom Alter des Patienten und der Ätiologie des Status epilepticus abhängig: Patienten über 65 Jahre versterben signifikant häufiger als jüngere Erwachsene oder Kinder, nach einem akut symptomatischen Status epilepticus ist die Letalität signifikant höher als nach einem idiopathischen Status epilepticus (DeLorenzo et al., 1995; Claassen et al., 2002). Eine erhöhte Dauer des Status epilepticus erwies sich in einigen Studien ebenfalls als Prädiktor einer erhöhten Sterblichkeit (Towne et al., 1994; Sagduyu et al., 1998). Unter Patienten, die die ersten 30 Tage nach Status epilepticus überlebt haben, bleibt die Sterblichkeitsrate im Vergleich zur Gesamtbevölkerung gleichen Alters weiterhin erhöht (Logroscino et al., 2002). Als Folgen eines Status epilepticus werden kognitive und mnestiche, sowie sensible und motorische Defizite angegeben (Aicardi und Chevrie, 1970; Dodrill und Wilensky, 1990; Krumholz et al., 1995; Claassen et al., 2002). Es ist unklar, ob ein Status epilepticus beim Menschen zur Entwicklung einer chronischen Epilepsie führt. Für hirnschädigende Ereignisse wie Schädel-Hirn-Trauma oder Schlaganfall gilt, dass sie sowohl akut als auch mit einigem zeit-

lichen Abstand zur Entstehung von Anfällen führen können (Herman, 2002). Akut symptomatische Anfälle treten bis zu sieben Tage nach dem Ereignis auf und werden als Epiphänomen bzw. als Ausdruck der Schwere der zugrunde liegenden Schädigung angesehen, ihr Auftreten erlaubt jedoch keine Aussagen über die Prognose (Lee et al., 1995; Labovitz et al., 2001). Späte symptomatische Anfälle treten nach einer Latenzperiode von Wochen, Monaten oder sogar Jahren nach dem hirnschädigenden Ereignis auf und werden als Ergebnis eines epileptogenen Prozesses verstanden (Annegers et al., 1996). In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass Patienten auch nach einem Status epilepticus mit einer gewissen Verzögerung eine chronische Epilepsie entwickeln. In einer pädiatrischen Studie traten bei 37 von 125 Kindern, die vorher noch nie einen epileptischen Anfall gehabt hatten, im Verlauf eines Jahres nach Status epilepticus spontane Anfälle auf (Maytal et al., 1989). Im Rahmen der englischen Child Health and Education Study, einer prospektiven Kohortenstudie, wurden fast 15.000 innerhalb einer Woche geborene Kinder im Abstand von mehreren Jahren klinisch und psychologisch untersucht. Es zeigte sich, dass von 19 Kindern, die im Laufe der Beobachtungsperiode einen Status epilepticus erlitten, 14 in der Folge eine chronische Epilepsie entwickelten (Verity et al., 1993). In einer retrospektiven Kohortenstudie an erwachsenen Patienten betrug das Risiko für das Auftreten unprovoked Anfälle in den folgenden zehn Jahren nach einem einzelnen Anfall 13 Prozent, nach einem Status epilepticus hingegen 41 Prozent (Hesdorffer et al., 1998b). Allen Untersuchungen zur Entwicklung einer Epilepsie in der Folge eines Status epilepticus beim Menschen ist jedoch die methodische Schwierigkeit gemein, dass nicht unterschieden werden kann, ob die Epilepsie Folge des Status epilepticus ist, oder ob der Status epilepticus und die nachfolgende Epilepsie Symptome derselben Grunderkrankung sind. So berichtet zum Beispiel Janz, dass ein Status epilepticus bevorzugt dann als Erstmanifestation einer Epilepsie auftritt, wenn neoplastische oder vaskuläre Veränderungen vorliegen (Janz, 1983).

1.1.1 Versuchstiermodelle

Im Gegensatz zu der unklaren Situation beim Menschen wurde im Tiermodell vielfach gezeigt, dass ein Status epilepticus in den meisten Fällen zur Entwicklung einer chronischen Epilepsie führt. Für die experimentelle Auslösung eines Status

epilepticus existieren prinzipiell zwei Möglichkeiten, die Applikation einer konvulsiv wirkenden chemischen Substanz und die elektrische Stimulation limbischer Strukturen. Die Versuche können an verschiedenen Tierspezies, unter anderem an Mäusen, Katzen und Affen durchgeführt werden, meistens werden jedoch Ratten verwendet. Die Literaturangaben im weiteren Verlauf dieses Kapitels beziehen sich daher alle auf diese Tierart.

Die heute am häufigsten verwendeten Chemokonvulsiva sind Pilocarpin und Kainat, die überwiegend systemisch, aber auch intrahippocampal oder intraventrikulär injiziert werden, woraufhin sich bei den meisten Tieren ein Status epilepticus entwickelt. Die Rate der Tiere, die nach der Applikation des Chemokonvulsivums einen Status epilepticus entwickeln, beträgt für Pilocarpin 40 bis 100 Prozent (Turski et al., 1983; Clifford et al., 1987; Covolan und Mello, 2000), für Kainat 70 bis 100 Prozent (Butcher et al., 1988; Covolan und Mello, 2000). Hierbei wirkt Kainat über eine Bindung an einen Subtyp des ionotropen exzitatorischen Glutamatrezeptors, den Kainatrezeptor, vor allem in der CA3-Region des Hippocampus prokonvulsiv (Monaghan und Cotman, 1982; Ben Ari und Cossart, 2000). Pilocarpin übt primär eine agonistische Wirkung an Acetylcholinrezeptoren vom muskarinergen Typ aus (Turski et al., 1983b), die prokonvulsive Wirkung wird jedoch letztendlich durch eine sekundäre Glutamatfreisetzung erzielt (Savolainen et al., 1994). Erste Versuche mit Kainat zur Induktion eines Status epilepticus wurden von Ben Ari Ende der siebziger Jahre zunächst mittels intraamygdaloidaler, später auch mittels systemischer Applikation der Substanz durchgeführt (Ben Ari und Lagowska, 1978; Ben Ari et al., 1979; Tremblay und Ben Ari, 1984). Frühe Untersuchungen zum Pilocarpin-induzierten Status epilepticus und seiner Folgen stammen von Turski aus den frühen achtziger Jahren (Turski et al., 1983a; Turski et al., 1985). Andere, seltener verwendete Chemokonvulsiva sind u.a. Picrotoxin, Bicucullin und Penicillin (Cole et al., 2002).

Zur experimentellen Induktion eines Status epilepticus durch elektrische Stimulation werden in der Literatur verschiedene methodische Varianten beschrieben. Neben Unterschieden in den gewählten Reizparametern wie der Reizintensität und der kontinuierlichen oder intervallartigen Reizapplikation betreffen Variationen da-

bei die Lokalisation der Reizelektrode und die Dauer der Stimulation. Zudem kann die Stimulation im wachen oder narkotisierten Tier durchgeführt werden. Zu den ersten Versuchen mit der Methode der elektrischen Stimulation zählen die Untersuchungen von McIntyre et al., die Ratten nach vorangegangenem Kindling einer kontinuierlichen einstündigen Stimulation der Amygdala unterzogen, wodurch in der Mehrzahl der Tiere ein selbsterhaltender Status epilepticus ausgelöst wurde (McIntyre et al., 1982). Unter Kindling versteht man die dauerhafte Senkung der Schwelle für die Auslösung epileptischer Aktivität durch wiederholte Applikation einzelner elektrischer Stimuli (McIntyre et al., 2002). Milgram et al. und Vicedomini und Nadler konnten durch hippocampale Stimulation naiver Tiere zeigen, dass die Induktion eines selbsterhaltenden Status epilepticus auch ohne vorangehendes Kindling möglich ist (Milgram et al., 1985; Vicedomini und Nadler, 1987). In allen drei Studien wurde der Status epilepticus an wachen Tieren ausgelöst. Daneben wurde von Sloviter eine Methode der kontinuierlichen Stimulation des Tractus perforans, der Hauptafferenz zur hippocampalen Formation, an narkotisierten Tieren etabliert (Sloviter und Damiano, 1981). Unter der 24-stündigen, intervallartigen Stimulation kommt es zu anhaltender elektrographisch erfassbarer epileptischer Aktivität auf neuronaler Ebene, klinisch sichtbare motorische Konvulsionen werden jedoch durch das zur Narkotisierung verwendete Urethan unterdrückt (Sloviter, 1983). Demnach ist die von Sloviter entwickelte Methode im engeren Sinne kein experimentelles Modell für den Status epilepticus, aber dennoch ein gutes Modell für das Studium eines sekundären epileptogenen Prozesses. In neueren Untersuchungen, wie auch in der vorliegenden Arbeit, wird überwiegend mit der Methode der elektrischen Stimulation an wachen, frei beweglichen Tieren gearbeitet (Bertram und Cornett, 1993; Mazarati et al., 1998; Walker et al., 1999; Gorter et al., 2001). Hieraus resultiert nicht nur nach elektrographischen, sondern auch nach klinischen Kriterien ein Status epilepticus, der über das Ende der eigentlichen Stimulation hinaus für mehrere Stunden anhält und daher als selbsterhaltend bezeichnet wird. Im Vergleich zu der Methode von Sloviter werden die Tiere über deutlich kürzere Perioden, zwischen 30 Minuten und zwei Stunden, stimuliert. Die Erfolgsrate, also der Anteil der Tiere, die durch die Behandlung einen Status epilepticus entwickelt, liegt bei der elektrischen Stimulationsmethode bei 70 bis 94

Prozent (Vicedomini und Nadler, 1987; Lothman et al., 1989; Gorter et al., 2001).

Gegenüber den chemokonvulsiven Modellen hat die elektrische Induktion eines Status epilepticus einige Vorteile. Hier ist zunächst der Wegfall der neurotoxischen Wirkung chemokonvulsiver Substanzen zu nennen. Vor allem Kainat zeigt eine ausgeprägte neurotoxische Wirkung (Ferkany et al., 1984), deren Folgen nicht von den Effekten der Anfallsaktivität unterschieden werden kann. Ein weiterer Nachteil der Applikation von Chemokonvulsiva ist die andauernde Präsenz der Substanz über das Erreichen des Status epilepticus hinaus. Dies ist vor allem bei der Untersuchung potentiell antikonvulsiver Substanzen ungünstig, da es zu einer Interaktion zwischen dem Chemokonvulsivum und der zu testenden Substanz kommen kann. Desweiteren hat vor allem Pilocarpin aufgrund seiner systemischen cholinergen Wirkungen eine stark beeinträchtigende Wirkung auf den Allgemeinzustand der Versuchstiere, so dass diese über einige Tage nach der Behandlung intensiv betreut werden müssen (Cavalheiro et al., 1991; Mello et al., 1993; Gibbs, III et al., 1997). Dabei ist eine Beeinflussung der Gehirnfunktion durch die allgemeinkörperliche Stoffwechsellage sehr wahrscheinlich. Hingegen wurde der Allgemeinzustand der Versuchstiere nach elektrisch induziertem Status epilepticus als gut beschrieben (Goodman, 1998). Die Verabreichung von Pilocarpin ist mit einer hohen Letalität der Versuchstiere verbunden. Sterblichkeitsraten von anfänglich 83 bis 100 Prozent (Jope et al., 1986; Morrisett et al., 1987) konnten durch eine Reduzierung der Dosis, die Verabreichung von Methyloscopolamin zur Verringerung systemischer Nebenwirkungen sowie eine medikamentöse Unterbrechung des Status epilepticus auf 25 bis 42 Prozent verringert werden (Mello et al., 1993; Leite und Cavalheiro, 1995; Longo und Mello, 1999). Auch Kainat zeigt in hohen Dosierungen eine Letalität von über 50 Prozent (Brines et al., 1995). Durch eine fraktionierte Gabe niedriger Dosen von Kainat kann die Letalität in diesem Modell auf 15 Prozent gesenkt werden (Hellier et al., 1998). Im elektrischen Stimulationsmodell liegt die Sterblichkeitsrate der Versuchstiere bei 9 bis 27 Prozent (McIntyre et al., 1982; Shirasaka und Wasterlain, 1994). Ein Nachteil der Methode der elektrischen Stimulation liegt in der Notwendigkeit, mit der Stimulationselektrode einen Fremdkörper in das Gehirn einzubringen. Durch die Untersuchung von Elektrodenkontrollen, also Tieren, die nach Elektrodenimplantation nicht stimuliert

werden, ist es jedoch möglich, die Auswirkungen des durch die Implantation verursachten mechanischen Traumas bzw. der Narbenbildung gesondert zu analysieren. Desweiteren kann durch Stimulation unter medikamentöser Unterdrückung der epileptischen Aktivität bestimmt werden, welchen Einfluss die Stromapplikation auf die Untersuchungsparameter hat. Die Untersuchung dieser Frage, zu der bislang keine Daten existieren, liefert einen wichtigen Beitrag zur Charakterisierung des Modells.

In allen vorgestellten Modellen entwickelt in der Folge des Status epilepticus ein Großteil der Tiere nach einer anfallsfreien Latenzperiode eine chronische Epilepsie. Rekurrente, spontane epileptische Anfälle in variabler Frequenz treten bei 60 bis 100 Prozent der Tiere im Kainat-Modell (Cavalheiro et al., 1982; Hellier et al., 1998; Dudek et al., 2002), 69 bis 100 Prozent im Pilocarpin-Modell (Cavalheiro et al., 1991; Arida et al., 1999; Klitgaard et al., 2002) und 50 bis 100 Prozent der Tiere im elektrischen Stimulationsmodell auf (Lothman et al., 1990; Mathern et al., 1997; Gorter et al., 2001). Es handelt sich dabei überwiegend um fokale eingeleitete, sekundär generalisierte tonisch-klonische Anfälle. Die in den genannten Modellen in der Folge eines Status epilepticus spontan auftretenden motorischen Anfälle sind den während der Prozedur des Kindlings reizabhängig auftretenden Anfällen sehr ähnlich, so dass der Schweregrad dieser Anfälle nach einer von Racine ursprünglich für das Kindling entwickelten Skala eingeteilt wird. Die Einteilung nach Racine beinhaltet fünf Schweregrade, wobei Schweregrad 1 und 2 partialen, limbischen Anfällen mit geringen motorischen Entäußerungen, Schweregrad 3 bis 5 sekundär generalisierten, motorischen Anfällen entspricht (Racine, 1972; Löscher, 2002).

Das histologische Bild der Gehirne von chronisch epileptischen Tieren nach Status epilepticus ist von degenerativen Veränderungen der hippocampalen Formation geprägt. Zwischen den drei Modellen existieren diesbezüglich keine bedeutenden Unterschiede. Sehr ähnliche Veränderungen finden sich auch in resezierten Hippocampi bzw. in Autopsiematerial von Patienten mit einer Temporallappenepilepsie. Aufgrund der Ähnlichkeit des histologischen Befundes sowie aufgrund klinischer Parallelen wird die chronische Epilepsie, die sich bei Versuchstieren in Fol-

ge des experimentellen Status epilepticus entwickelt, häufig als Modell für die menschliche Temporallappenepilepsie verwendet (Sloviter und Damiano, 1981; Nadler, 1981; Mello et al., 1993).

Grundsätzlich können menschliche Krankheitsbilder in Tiermodellen nicht in allen Aspekten übereinstimmend nachgeahmt werden. Trotz dieser allgemeinen Einschränkung sind Tiermodelle für die Erforschung grundlegender Pathomechanismen der Epilepsie von sehr großem Wert. Untersuchungen zur Pathophysiologie der Epilepsie am Menschen sind vor allem aus ethischen Gründen enge Grenzen gesetzt. Zudem ist die Bestimmung der Konsequenzen eines Status epilepticus oder von Anfällen durch zahlreiche Einflussfaktoren erschwert. Hierzu zählen unter anderem das Alter des Patienten, die Ätiologie der Erkrankung, Anfallstyp und -dauer sowie die Einnahme antiepileptischer Medikamente. Tiermodelle bieten den Vorteil der Kontrollierbarkeit bzw. Standardisierbarkeit dieser Variablen. In den vorgestellten Modellen, in denen ein initialer Status epilepticus nach einer Latenzperiode in der überwiegenden Zahl der Tiere zu einer chronischen Epilepsie führt, können verschiedene Prozesse untersucht werden: 1) Pathophysiologie und therapeutische Beeinflussbarkeit des Status epilepticus, 2) strukturelle und funktionelle Grundlagen der Epileptogenese, 3) Eigenschaften und zeitlicher Verlauf der chronischen Epilepsie. In allen Phasen können neben der klinischen Beobachtung histologische, biochemische und elektrophysiologische Untersuchungsmethoden eingesetzt werden. Elektrophysiologische Messungen können dabei sowohl am lebenden Tier, *in vivo*, als auch in der Hirnschnittpräparation, *in vitro*, durchgeführt werden.

1.2 Die Hippocampusformation

1.2.1 Anatomie

Unter dem Begriff Hippocampusformation werden die temporalen Hirnwindungen Gyrus dentatus, Ammonshorn oder Cornu ammonis, auch Hippocampus proper genannt, und die angrenzenden Kortextareale Subiculum, Prä- und Parasubiculum sowie der entorhinale Kortex zusammengefasst (zur Übersicht siehe Johnston und Amaral, 1998). Die Hippocampusformation ist paarig angelegt, die Längsachse der beiden gebogenen Strukturen verläuft jeweils von septal nach

temporal, so dass der Eindruck von zwei aneinander gelehnten „C“s entsteht (siehe Abbildung 1). Medial grenzt die Hippocampusformation an den Thalamus an, lateral wölbt sie sich in das untere Horn des Seitenventrikels vor. Phylogenetisch sind Cornu ammonis und Gyrus dentatus den älteren Anteilen der Hirnrinde, dem Archikortex, zuzuordnen. Es liegt die dem Archikortex eigene dreischichtige Struktur, der Allokortex, vor. Hierbei sind im Schnittbild auch ohne Anfärbung deutlich zellkörperhaltige und faserführende Schichten zu unterscheiden. In der Mitte liegt jeweils die Prinzipalzellschicht, die im Gyrus dentatus in hoher Dichte Körnerzellen, im Cornu ammonis Pyramidenzellen enthält. Nach oben schließt sich im Gyrus dentatus die weitgehend azelluläre Molekularschicht an, in der die Dendriten der Körnerzellen liegen. Auf den Dendriten in dieser Schicht enden zahlreiche Afferenzen, im Gyrus dentatus neben Assoziations- und Kommissurenfasern vor allem Afferenzen aus dem entorhinalen Kortex. Die Körnerzellschicht des Gyrus dentatus umfasst U-förmig eine polymorphe Schicht, Hilus genannt, in der in geringer Dichte die Somata von inhibitorischen Interneuronen und exzitatorischen Mooszellen liegen. Mooszellen sind glutamaterge Neurone, die Prinzipalzellen und Interneurone sowohl des ipsi- als auch des kontralateralen Gyrus dentatus und Hippocampus proper innervieren (Scharfman, 1995). Eine Beschreibung der inhibitorischen Interneurone erfolgt in Kapitel 1.3.1. Durch den Hilus ziehen auch die Axone der Körnerzellen, die sogenannten Moosfasern. Das Ammonshorn ist in seiner Grundstruktur dem Gyrus dentatus sehr ähnlich, die faserführenden Schichten ober- und unterhalb der Prinzipalzellschicht werden lediglich nach den sie erreichenden Afferenzen noch weiter unterteilt. Das Cornu ammonis wird nach Lorente de Nó entsprechend der Größe der Pyramidenzellen in die Abschnitte CA1-CA3 eingeteilt, wobei CA3 mit den größten Pyramidenzellen dem Hilus am nächsten liegt (Lorente de Nó, 1934).

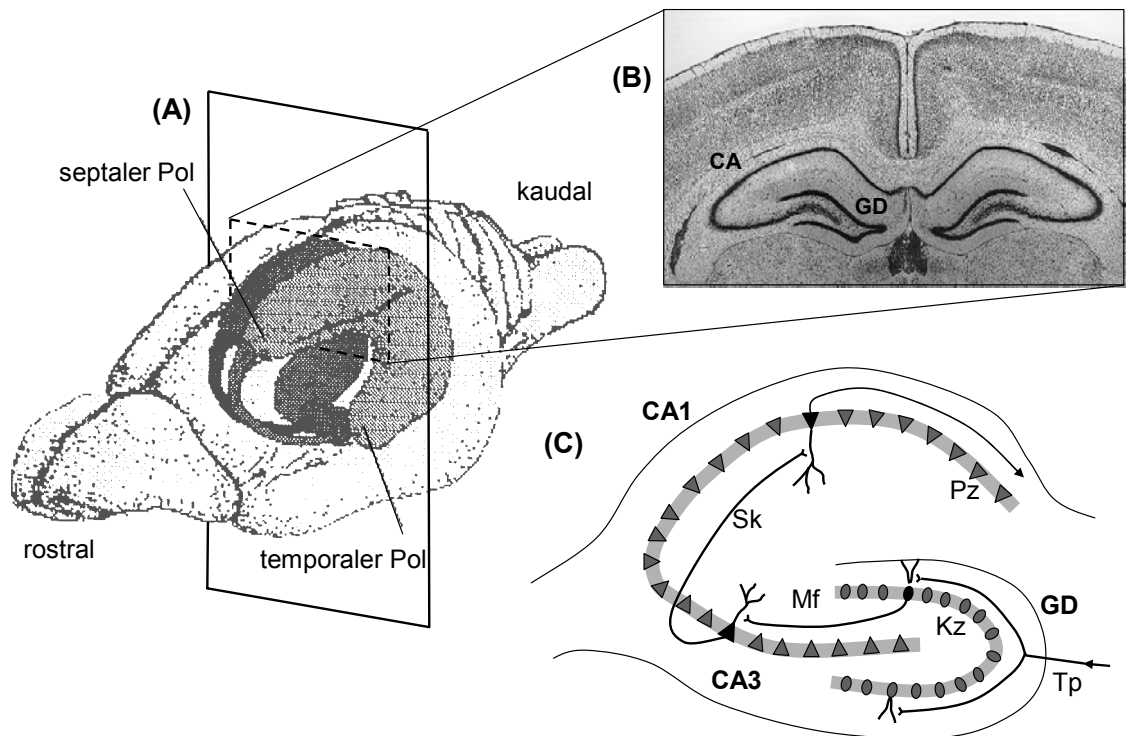


Abb.1:(A) Schematische Darstellung der räumlichen Lage der hippocampalen Formation sowie der Fornices und Corpora mamillaria im Rattengehirn (nach Amaral und Witter, 1989). (B) Ausschnitt aus einem Koronarschnitt durch das Rattengehirn. Die hippocampale Formation mit Cornu ammonis (CA) und Gyrus dentatus (GD) ist aufgrund ihres charakteristischen schichtförmigen Aufbaus gut zu erkennen (nach Paxinos und Watson, 1986). (C) Schemazeichnung des synaptischen Schaltkreises innerhalb der hippocampalen Formation. Durch den Tractus perforans (Tp) erreichen Axone aus dem entorhinalen Kortex die Dendriten der Körnerzellen (Kz). Die Axone der Körnerzellen, die Moosfasern (Mf), ziehen zu den Pyramidenzellen (Pz) der CA3. Deren Axone, die Schafferschen Kollaterale (Sk), projizieren zu den Pyramidenzellen der CA1. Die Axone der CA1-Pyramidenzellen ziehen u.a. zurück zum entorhinalen Kortex.

1.2.1.1 Synaptische Verschaltung

Den wichtigsten synaptischen Eingang in die hippocampale Formation bildet der Tractus perforans. Die Axone dieses Faserbündels entstammen der oberflächlich gelegenen Schicht II des ipsi- und teilweise auch des kontralateralen entorhinalen Kortex. Vom entorhinalen Kortex verlaufen die Axone rostralwärts und durchdringen die hippocampale Fissur, woraus sich der Name Tractus perforans erklärt. Ein Großteil der Fasern teilt sich nach Eintritt in den Gyrus dentatus dichotom und schickt je eine Axonkollaterale zur unteren und oberen Molekularschicht.

Im äußeren und mittleren Drittel der Molekularschicht bilden die Axone mit den stark verzweigten Dendriten der Körnerzellen synaptische Kontakte. Ein Teil der Fasern des Tractus perforans zieht unter Umgehung des Gyrus dentatus direkt zur Dendritenschicht des Ammonshorns. Vom Gyrus dentatus aus verlaufen die Axone der Körnerzellen durch den Hilus, wo sie zahlreiche Kollaterale an Interneurone und Mooszellen abgeben, zu den proximalen Dendriten der Pyramidenzellen in CA3. Die Axone der CA3-Pyramidenzellen innervieren die apikalen und basalen Dendriten von CA1-Pyramidenzellen. Dieses Faserbündel wird Schaffer'sche Kollaterale genannt. Von den Pyramidenzellen der CA1-Region verlaufen die Axone, direkt und nach Umschaltung im Subiculum, zurück zum entorhinalen Kortex, und zwar zu den tief gelegenen Schichten V und VI. Die geschilderten Verbindungen stellen die wichtigsten Erregungsbahnen durch die hippocampale Formation dar und werden nach Andersen et al. trisynaptischer Schaltkreis genannt (Andersen et al., 1971a). Die Bedeutung dieses intrahippocampalen Schaltkreises ergibt sich aus der Tatsache, dass die tiefen entorhinalen Schichten größtenteils zu denselben Kortexarealen projizieren, aus denen die Afferenzen zu den oberflächlichen entorhinalen Schichten stammen. Ein Impuls aus einer bestimmten kortikalen Region kann demnach nach Eintritt in den entorhinalen Kortex den gesamten hippocampalen Schaltkreis durchlaufen und zu seiner Ausgangsstruktur zurückkehren, wobei eine Prozessierung der Information stattfindet (Johnston und Amaral, 1998).

1.2.2 Funktion

Der Hippocampus und die unmittelbar angrenzenden Strukturen gehören zu den am besten untersuchten Regionen des Säugetiergehirns. Aufgrund ihres klaren, schichtartigen Aufbaus bietet die hippocampale Formation die Möglichkeit, Struktur und Funktionsweise von Synapsen, Neuronen und übergeordneten Netzwerken modellhaft zu untersuchen (Patton und McNaughton, 1995).

Ein weiterer Grund für die intensive Erforschung dieser Hirnregion liegt in ihrer Funktion. Die physiologische Funktion der hippocampalen Formation besteht nach heutigem Kenntnisstand in der Prozessierung neu erworbener Information als Vorbereitung auf die Speicherung im Langzeitgedächtnis. Einen ersten Hinweis darauf, dass der Hippocampus eine wichtige Rolle für die Gedächtnisfunktion

spielt, lieferten in den fünfziger Jahren Scoville und Milner mit ihrem Bericht über den Patienten H.M. (Scoville und Milner, 1957). Bei diesem Patienten war zur Behandlung einer pharmakoresistenten Epilepsie eine beidseitige Resektion von Teilen des Temporallappens einschließlich der hippocampalen Formation durchgeführt worden. Als Folge der Operation trat eine permanente anterograde Amnesie auf, also ein Verlust der Fähigkeit, neue Informationen in das Langzeitgedächtnis zu überführen (zur Übersicht siehe Corkin, 2002). Seitdem ist die hippocampale Formation in ihrer Bedeutung für Lernen und Gedächtnis Gegenstand intensiver Forschung. Anfang der siebziger Jahre konnte erstmals gezeigt werden, dass die repetitive Aktivierung exzitatorischer Synapsen des Hippocampus zu einer Verstärkung der synaptischen Übertragung führt, die über Stunden bis Tage anhalten kann (Lomo, 1971b; Bliss und Lomo, 1973). Diese als Langzeit-Potenzierung, englisch long-term potentiation (LTP), bezeichnete langanhaltende, aktivitätsabhängige Zunahme der Effizienz synaptischer Übertragung wird allgemein als zelluläre Grundlage von Lernen und Gedächtnis angesehen. Ein kausaler Zusammenhang zwischen dieser Form der synaptischen Plastizität und der Gedächtnisfunktion ist jedoch nicht unumstritten, da ein definitiver experimenteller Beweis bis heute fehlt (zur Übersicht siehe Malenka und Nicoll, 1999; Martin und Morris, 2002).

Eine große Rolle spielt die hippocampale Formation zudem in der Epilepsieforschung. Von allen Hirnregionen weist der Hippocampus die niedrigste Schwelle für die Auslösung epileptischer Aktivität auf (Green, 1964). Diese Eigenschaft beruht zum einen auf stark ausgeprägten rekurrenten exzitatorischen Verbindungen der Pyramidenzellen der CA3 sowie auf dem intrinsischen Burstverhalten dieser Zellen (Johnston und Amaral, 1998). Zum anderen zeichnet sich der Hippocampus durch einen sehr kleinen Extrazellulärraum aus. Aus diesem Grunde kommen auch nicht-synaptische Synchronisationsmechanismen als Ursache einer erleichterten Entstehung und Ausbreitung epileptischer Aktivität in Betracht (Jefferys, 1995). Aufgrund der großen räumlichen Nähe können Neurone von aktivierten benachbarten Neuronen leichter über Feldeffekte (ephaptisch) erregt werden. Aus demselben Grunde fallen aktivitätsabhängige räumliche Verschiebungen von Ionen stärker ins Gewicht. So kann eine im Rahmen eines Aktionspotentials auftretende Akkumulation von Kaliumionen im Extrazellulärraum über eine Reduktion

des elektrochemischen Gradienten zu einer Depolarisation benachbarter Zellen führen. Auch eine Reduktion extrazellulärer Kalziumionen kann eine Verminderung des transmembranösen Potentialgradienten zur Folge haben, da membranständige negative Ladungen an der Außenseite der Zellmembran weniger durch die positiv geladenen Kalziumionen neutralisiert werden (Heinemann et al., 1977). Die resultierende Depolarisation von Neuronen kann in allen Fällen zur Aufrechterhaltung und Prolongation von Anfällen beitragen. Diese besonderen Eigenschaften des Hippocampus werden in den meisten gängigen *in vivo* und *in vitro* Studien zur experimentellen Auslösung epileptischer Aktivität genutzt. Wie mittels elektrographischer Tiefenableitungen gezeigt wurde, werden bei der häufigsten fokalen Epilepsieform des Menschen, der Temporallappenepilepsie (Siemes und Bourgeois, 2001), 87 Prozent der Anfälle im Hippocampus generiert (Spencer et al., 1990). Zudem zeigen Untersuchungen an resezierten Hippocampi von Patienten mit einer pharmakoresistenten Temporallappenepilepsie in 50 bis 80 Prozent der Fälle morphologische Veränderungen dieser Hirnregion (Engel, Jr. et al., 1975; Williamson et al., 1993). Dabei wird aufgrund der makroskopisch sichtbaren Verkleinerung und Indurierung der Struktur allgemein von einer Hippocampusklerose, Ammonshornklerose oder auch mesialen Temporallappensklerose gesprochen. Auf mikroskopischer Ebene zeichnet sich die Hippocampusklerose durch ein sehr spezifisches Schädigungsmuster aus: Im Hilus des Gyrus dentatus und in der Pyramidenzellschicht von CA1 und CA3 zeigen sich ausgeprägte Zellverluste, während die Körnerzellen des Gyrus dentatus und die Pyramidenzellen in CA2 vergleichsweise gut erhalten sind (Bratz, 1899; Margerison und Corsellis, 1966). Desweiteren gelten eine Verbreiterung der Körnerzellschicht und ein aberrantes Aussprossen von Moosfasern als morphologische Charakteristika des Krankheitsbildes (Sutula et al., 1989; Houser, 1990; Babb et al., 1991). Sehr ähnliche histologische Veränderungen zeigen die Gehirne chronisch epileptischer Versuchstiere nach experimentellem Status epilepticus (Nadler, 1981; Sloviter und Damiano, 1981; Mello et al., 1993), siehe auch Kapitel 1.1.1.

Im Gegensatz zum Hippocampus proper zeichnet sich der Gyrus dentatus unter physiologischen Bedingungen durch eine hohe Schwelle für die Auslösung epileptischer Aktivität aus (Lothman, 1994). Die erschwerte Erregbarkeit beruht

zum Teil auf der starken inhibitorischen Kontrolle durch Interneurone (siehe Kapitel 1.3.1) sowie dem Fehlen rekurrenter exzitatorischer Kreisläufe, zum Teil auf intrinsischen Eigenschaften der Körnerzellen. Diese haben ein sehr negatives Ruhemembranpotenzial, reagieren auf repetitive Stimuli mit einer Frequenzadaptation und zeigen nach einem Aktionspotenzial eine ausgeprägte Nachhyperpolarisation (Scharfman und Schwartzkroin, 1990; Spruston und Johnston, 1992). Es ist möglich, dass der Gyrus dentatus aufgrund der geschilderten Merkmale sowie aufgrund seiner Position als erstes Glied des trisynaptischen Schaltkreises nachgeschaltete Areale wie die CA3-Region vor einer Übererregung schützt (Heinemann et al., 1992; Lothman et al., 1992).

1.3 Prinzipien der Hemmung

Ein grundlegendes Prinzip neuronaler Netzwerke ist, dass die Erregbarkeit von Prinzipalzellen durch inhibitorische Interneurone kontrolliert wird. Als Prinzipalzellen werden exzitatorische Neurone bezeichnet, deren Soma und Axonterminalen in unterschiedlichen Hirnregionen liegen, die also über weite Distanzen projizieren. Interneurone dagegen sind überwiegend inhibitorische, GABAerge Neurone, deren vergleichsweise kurze Axone auf Zielzellen innerhalb derselben Hirnregion enden. Im englischen Sprachgebrauch wird dieser Zelltyp daher auch als „local circuit neuron“ bezeichnet. Neben einer lateralen Hemmung, die vor allem einer Kontrastverstärkung in sensorischen Kortexarealen dient, sind grundsätzlich eine Vorwärts- und eine Rückwärtshemmung, englisch „feedforward-“ und „feedbackinhibition“, zu unterscheiden. Die anatomische Grundlage dieser beiden Mechanismen ist die Innervation von Interneuronen sowohl durch externe Afferenzen als auch durch Prinzipalzellen (Buzsaki, 1984). Bei der afferenten oder Vorwärtshemmung führt die Aktivität eines exzitatorischen Neurons über Afferenzen sowohl zur Erregung einer Prinzipalzelle als auch eines Interneurons. Das Interneuron hat seinerseits synaptischen Kontakt zur Prinzipalzelle, so dass dem exzitatorischen Potenzial in der Prinzipalzelle mit minimaler zeitlicher Verzögerung ein inhibitorisches Potenzial folgt (Pouille und Scanziani, 2001). Von einer rekurrenten oder Rückwärtshemmung spricht man hingegen, wenn die Exzitation eines Interneurons durch die aktivierte Prinzipalzelle erfolgt. Durch rückläufige Axone inhibiert daraufhin das Interneuron die Prinzipalzelle (Andersen et al., 1963). Das Prinzip

der Vorwärts- und Rückwärtshemmung verdeutlicht Abbildung 2.

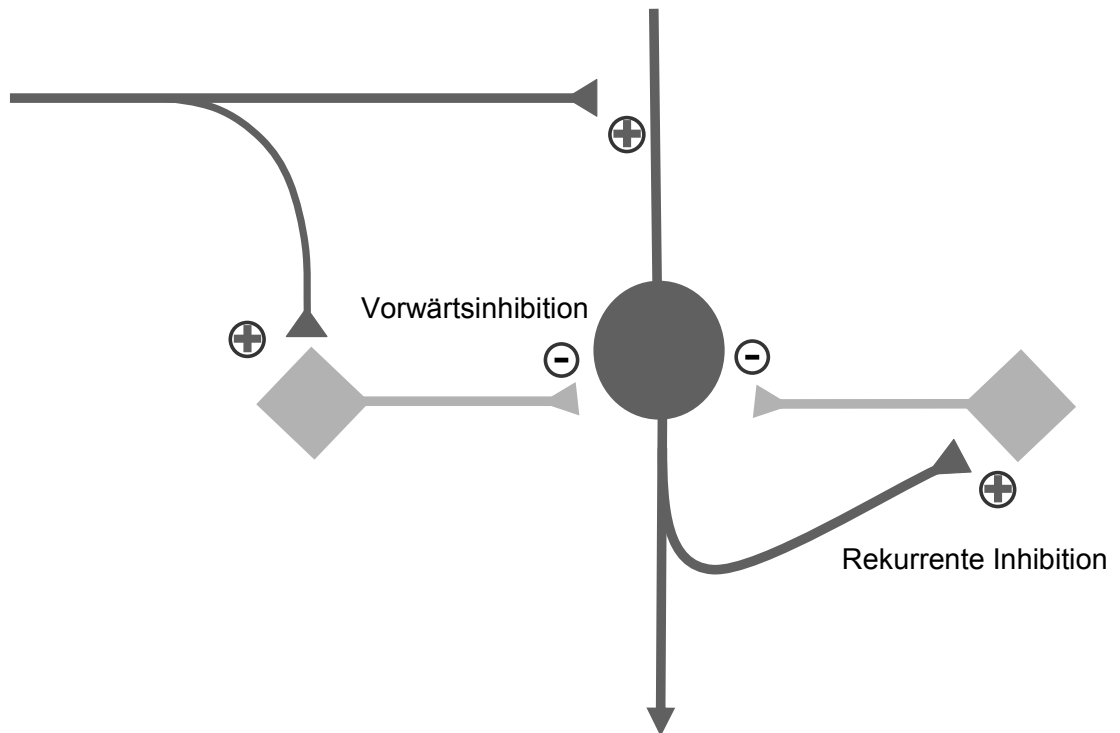


Abb.2: Schematische Darstellung der Vorwärts- und Rückwärtshemmung, englisch „feed-forward-“ und „feedbackinhibition“. Die beteiligten exzitatorischen Neurone/Axone sind dunkel, die inhibitorischen Interneurone hell dargestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Prinzipien der Vor- und Rückwärtshemmung an zwei verschiedenen Interneuronen gezeigt. Bei der Vorwärtsinhibition, in der Abbildung links, erregt ein externes exzitatorisches Neuron die Prinzipalzelle, mittig dargestellt, und das Interneuron, dieses inhibiert die Prinzipalzelle. Somit erhält die Prinzipalzelle fast gleichzeitig zwei synaptische Einflüsse, exzitatorisch und inhibitorisch, deren Effekte sich überlagern. Bei der rekurrenten Inhibition, in der Abbildung rechts, erregt ein exzitatorisches Neuron die Prinzipalzelle, diese erregt das Interneuron, welches über rückläufige Axonkollateralen die Prinzipalzelle inhibiert. Letztere wird durch die inhibitorische Wirkung hyperpolarisiert und reagiert auf eine mit kurzem zeitlichem Abstand nachfolgende Erregung nicht mit einem Aktionspotenzial. (Nach Westbrook, 2000)

1.3.1 Interneurone des Gyrus dentatus

In der hippocampalen Formation kontrollieren inhibitorische Interneurone die Aktivität der Prinzipalzellen auf allen Ebenen des trisynaptischen Schaltkreises. Aber auch die Generierung von Aktionspotenzialen in den Interneuronen selbst unterliegt ihrerseits der Regulation durch andere Interneurone (Misgeld und Frot-

scher, 1986). Eine weitere Funktion der Interneurone, die auf Netzwerkverbindungen sowie auf intrinsischen Eigenschaften dieser Zellen beruht, besteht nach neueren Erkenntnissen in der Synchronisation der Aktivität großer Populationen von Prinzipalzellen (zur Übersicht siehe McBain und Fisahn, 2001; Buzsaki, 2001). Im Gegensatz zu den Prinzipalzellen sind die Interneurone sowohl morphologisch als auch bezüglich ihrer Konnektivität eine ausgesprochen heterogene Zellpopulation. Aufgrund von Studien an Golgi-imprägnierten Hirnschnittpräparaten erfolgte die Beschreibung und Einteilung der Interneurone zunächst anhand morphologischer Kriterien wie der Lokalisation des Somas und der Projektion der Axone (Ramón y Cajal, 1893; Lorente de Nó, 1934). Die Entdeckung, dass Interneurone neben GABA auch Neuropeptide wie Somatostatin, vasoaktives intestinales Peptid (VIP) und Cholezystokinin oder Calcium-bindende Proteine wie Parvalbumin und Calbindin exprimieren (Somogyi et al., 1984; Kosaka et al., 1987; Sloviter, 1989), hat zur Etablierung einer zusätzlichen neurochemischen Klassifikation geführt. Der immunhistochemische Nachweis der exprimierten Proteine bzw. Peptide hat sich als sehr nützlich erwiesen, um die selektive Vulnerabilität verschiedener Subpopulationen von Interneuronen unter pathologischen Bedingungen wie Epilepsie oder Ischämie zu untersuchen.

Da die elektrophysiologischen Messungen in der vorliegenden Arbeit im Gyrus dentatus durchgeführt wurden, sollen im Folgenden die wichtigsten Interneurontypen dieser Region vorgestellt werden. Korbzellen, englisch „basket cells“, deren Benennung von den korbähnlichen Axonplexus herrührt, den diese Zellen ausbilden, sind die am besten untersuchten inhibitorischen Interneurone des Gyrus dentatus sowie auch des Hippocampus proper. Nach Form und Lokalisation werden fünf verschiedene Typen von Korbzellen unterschieden (Ribak und Seress, 1983), nach neurochemischen Gesichtspunkten zwei, nämlich Parvalbumin-haltige und solche, die VIP und/oder Cholezystokinin enthalten (Freund, 2003). Der Anteil der Parvalbumin-positiven Korbzellen beträgt 32-38 Prozent (Ribak et al., 1990). Die Korbzellen des Gyrus dentatus liegen überwiegend im direkt an den Hilus angrenzenden Bereich der Körnerzellschicht, darüber hinaus auch im Hilus selbst und sehr vereinzelt in der Molekularzellschicht (Kosaka et al., 1987). Korbzellen bilden Synapsen mit den Somata und proximalen Dendriten von Körnerzellen, aber auch

von anderen Interneuronen (Katsumaru et al., 1988). Die Innervation der Korbzellen erfolgt zum einen durch Moosfasern, die Axonkollaterale der Körnerzellen, zum anderen durch kommissurale Afferenzen und solche aus dem entorhinalen Kortex, die im Tractus perforans verlaufen (Zipp et al., 1989; Nitsch et al., 1990). Diese Art der Innervation ist die morphologische Basis für die inhibitorische Wirkung der Korbzellen sowohl in Vorwärts- als auch in Rückwärts-Schaltungen (Feedforward- und Feedbackhemmung), wobei die rekurrente Erregung der Korbzellen durch Moosfasern bei weitem überwiegt (Seress et al., 2001). Obwohl das Verhältnis von Korb- zu Körnerzellen nur etwa 1:200 beträgt, ist eine effektive rekurrente Inhibition dadurch gewährleistet, dass eine Korbzelle inhibitorische Synapsen mit bis zu 500 Körnerzellen bildet (Seress und Ribak, 1983).

Ein weiterer Interneurontyp des Gyrus dentatus, der teilweise Parvalbumin exprimiert, ist die Chandelierzelle, die aufgrund der Lokalisation ihrer Axonterminalen auf dem initialen Axonsegment ihrer Zielzellen auch axo-axonische Zelle genannt wird. Die Zielzellen dieses Zelltyps sind zu über 90 Prozent Körnerzellen (Soriano et al., 1990). Chandelierzellen liegen in der inneren Molekularschicht und im angrenzenden äußeren Teil der Körnerzellschicht, außerdem im Hilus. Die Dendriten der axo-axonischen Interneurone der Molekular- und Körnerzellschicht erstrecken sich bis in die äußere Molekularschicht, wo sie, ähnlich den Körnerzellen, synaptischen Eingang durch entorhinale und kommissurale Afferenzen erhalten. Hingegen sind Moosfasersynapsen nur sehr spärlich vorhanden, so dass man davon ausgeht, dass Chandelierzellen in dieser Lokalisation Körnerzellen überwiegend in Vorwärtsrichtung inhibieren (Soriano et al., 1990). Hingegen scheinen im Hilusbereich gelegene Chandelierzellen aufgrund einer dichten Innervation durch Moosfaserkollaterale primär der Feedbackinhibition zu dienen (Martinez et al., 1996).

Eine weitere, heterogene Gruppe von Interneuronen, deren Somata hauptsächlich im Hilusbereich liegen, zeichnet sich durch die vorzugsweise bzw. ausschließliche Innervation der Körnerzeldendriten aus. Für diese Zellpopulation wurde der Überbegriff „dendritische inhibitorische Zellen“ vorgeschlagen (Freund und Buzsaki, 1996). Abgesehen von der Verschiedenheit der Zielstrukturen unterscheidet sich diese Interneuronpopulation von den bisher geschilderten Korb- und Chandelierzellen.

zellen durch ihre physiologischen Eigenschaften. Der dendritischen Inhibition liegen andere Mechanismen zugrunde als der perisomatischen (Miles et al., 1996; Harney und Jones, 2002). Die dendritischen inhibitorischen Zellen machen den überwiegenden Teil der Somatostatin-immunreaktiven Zellen des Hilus aus (Bakst et al., 1986; Leranth et al., 1990). Synaptischen Eingang erhalten die Zellen durch Axone des Tractus perforans und durch Moosfaserkollateralen, so dass eine Aktivierung sowohl vorwärtsgerichtet als auch rekurrent erfolgen kann (Leranth et al., 1990).

1.3.2 GABA und GABA-Rezeptoren

Der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im adulten zerebralen Kortex der Säugetiere ist die γ -Aminobuttersäure (GABA). Auch in der Hippocampusformation ist die inhibitorische synaptische Transmission durch Interneurone hauptsächlich GABA-vermittelt (Roberts, 1974), wohingegen die ebenfalls inhibitorisch wirksame Aminosäure Glycin nur eine untergeordnete Rolle spielt. Innerhalb GABAerger Axonterminale entsteht durch Transaminierung aus α -Ketoglutarat Glutamat, welches durch das Enzym Glutamatdecarboxylase (GAD) in GABA umgewandelt wird. GABA wird in synaptische Vesikel aufgenommen und mittels Calcium-abhängiger Exozytose in den synaptischen Spalt freigesetzt. Leitet man von einer kortikalen Prinzipalzelle intrazellulär monosynaptisch übertragene Hyperpolarisationen ab, so zeigen diese ein frühes Maximum nach ca. 10 ms und ein spätes Maximum nach ca. 150 ms. Nach Applikation spezifischer Rezeptorantagonisten erweist sich die schnelle hyperpolarisierende Antwort als GABA_A- die langsame Antwort als GABA_B-vermittelt (Olsen und Avoli, 1997). GABA_A-Rezeptoren sind heteropentamere Proteine und gehören zur Gruppe der ligandengesteuerten Ionenkanäle. Die Bindung von GABA an den Rezeptor führt direkt zu einer Konformationsänderung der Membranpore, die dadurch durchlässiger für Chloridionen wird. Es resultiert ein Nettoeinwärtsstrom negativ geladener Chloridionen. Neben der Bindungsstelle für GABA verfügt der GABA_A-Rezeptor über mehrere andere Bindungsstellen, unter anderem für Benzodiazepine und Barbiturate, durch deren Besetzung die Funktion des Rezeptors moduliert wird (Mohler, 1992). GABA_A-Rezeptoren sind überwiegend postsynaptisch lokalisiert. GABA_B-Rezeptoren ge-

hören zur Gruppe der metabotropen Rezeptoren und sind überwiegend prä-, aber auch postsynaptisch lokalisiert. Die Bindung von GABA führt bei diesem Rezeptortyp zur Aktivierung von G-Proteinen, was präsynaptisch zu einer Verminderung des Calciumeinstroms, postsynaptisch zu einer Erhöhung der Kaliumpermeabilität und damit einem verstärkten Kaliumausstrom führt (Dutar und Nicoll, 1988; Lüscher et al., 1997). GABA_B-Rezeptoren sind in der Hippocampusformation überwiegend auf präsynaptischen GABAergen, aber auch glutamatergen Nervenendigungen lokalisiert, wo ihre Wirkung in einer Unterdrückung der Transmitterfreisetzung besteht (Thompson et al., 1993). An beiden postsynaptischen Rezeptortypen wirkt GABA, indem es die Leitfähigkeit der Membran für ein Ion erhöht, dessen Gleichgewichtspotenzial negativer als das Ruhemembranpotenzial ist, auf die Zelle hyperpolarisierend, wodurch die Generierung eines Aktionspotenzials verhindert wird. Die GABA-Wirkung wird beendet, indem der Transmitter durch membranständige GABA-Transporter in präsynaptische Nervenendigungen und Gliazellen aufgenommen wird. Unter Mitwirkung des Enzyms GABA-Transaminase erfolgt der Abbau der Substanz.

1.4 Theorien zur Epileptogenese

Das neurobiologische Korrelat eines epileptischen Anfalls besteht darin, dass in einer größeren Population von Prinzipalzellen eine anhaltende Depolarisierung mit übergelagerten multiplen hochfrequenten Aktionspotenzialen auftritt (Ayala, 1983). Dieses Phänomen entsteht aufgrund einer Hyperexzitabilität der beteiligten Zellen, die prinzipiell auf einer verstärkten exzitatorischen oder einer verminderten inhibitorischen Neurotransmission beruhen kann. Ein nahe liegendes Argument für die Hypothese eines Ungleichgewichts zwischen Exzitation und Inhibition als Grundlage epileptischer Aktivität liefert die Wirkungsweise gängiger anti- und prokonvulsiver Substanzen: Die Wirkung einiger antikonvulsiv wirksamer Medikamente beruht auf einer Verstärkung der GABA-Wirkung. Hierzu zählen die Benzodiazepine, die die Bindung von GABA an den GABA-Rezeptor verstärken, die Barbiturate, die die Öffnungszeit des Chloridkanals verlängern, sowie einige neuere Antikonvulsiva, Tiagabin und Vigabatrin, die den GABA-Gehalt im synaptischen Spalt erhöhen (Kwan et al., 2001). Umgekehrt wirken GABA-Antagonisten wie Bicucullin und Picrotoxin im Tiermodell prokonvulsiv. Alternativ ist eine prokonvul-

sive Wirkung experimentell auch durch eine Verstärkung der Glutamat-vermittelten exzitatorischen synaptischen Transmission erzielbar, zum Beispiel durch die in Kapitel 1.1.1 näher beschriebenen Chemokonvulsiva Pilocarpin und Kainat.

Der Begriff der Disinhibitionshypothese im Zusammenhang mit dem Krankheitsbild der Epilepsie wurde ursprünglich aufgrund des Befundes einer erhöhten Zahl GABAerger Interneurone und GABAerger Nervenendigungen in mongolischen Wüstenrennmäusen mit angeborener Epilepsie geprägt (Peterson et al., 1985). Die Autoren folgerten, dass eine gesteigerte Inhibition von Interneuronen durch andere Interneurone zu einer Disinhibition der Körnerzellen und letztlich zum Auftreten von Anfällen führe. Unter Einsatz moderner Nachweismethoden hat sich das ursprünglich der Hypothese zugrunde liegende Ergebnis als nicht haltbar erwiesen (Buckmaster et al., 2000). Das grundsätzliche Prinzip einer Disinhibition von Prinzipalzellen als Ursache epileptischer Aktivität gilt jedoch bis heute. Ein Versagen der inhibitorischen Kontrolle im Zusammenhang mit einer Epilepsie wurde bisher sowohl in experimentellen Modellen als auch beim Menschen auf verschiedenen Ebenen nachgewiesen. Mögliche Mechanismen des Inhibitionsverlustes beinhalten unter anderem einen Untergang von Interneuronen (de Lanerolle et al., 1989; Obenaus et al., 1993), Veränderungen der Netzwerkverbindungen von Interneuronen (Sloviter, 1991b), der GABA-Freisetzung (Hirsch et al., 1999) oder der Zusammensetzung von GABA-Rezeptoren (Fritschy et al., 1999).

1.5 Fragestellung der Arbeit und Hypothesen

In der vorliegenden Arbeit wurden in einem tierexperimentellen Modell das Auftreten epileptischer Anfälle sowie elektrophysiologische Veränderungen im Gyrus dentatus nach Status epilepticus untersucht.

Die folgenden Hypothesen sollten überprüft werden:

- 1) Der elektrisch induzierte Status epilepticus führt bei einem Großteil der Versuchstiere zur Entwicklung einer chronischen Epilepsie in Form von rekurrenten spontanen Anfällen.**
- 2) Nach elektrisch induziertem Status epilepticus kommt es im Gyrus dentatus zu einem Verlust der rekurrenten Inhibition.**
- 3) Die Erregbarkeit der Prinzipalzellen des Gyrus dentatus ist nach Status epilepticus gesteigert.**
- 4) Infolge einer elektrischen Stimulation unter medikamentöser Unterdrückung der epileptischen Aktivität kommt es weder zu signifikanten Veränderungen der elektrophysiologisch messbaren Parameter noch zu einem Auftreten von Anfällen.**

Für die Punkte 1) bis 3) sollten zudem folgende Fragen beantwortet werden:

- a) Welchen Einfluss hat die Dauer des Status epilepticus auf die Messgrößen?**
- b) Wie entwickeln sich die Untersuchungsparameter im zeitlichen Verlauf nach Status epilepticus?**

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche Wistar-Ratten (Charles River, bezogen über Tierzucht Schönwalde, Deutschland) im Alter von 6-8 Wochen mit einem Gewicht von 220-460 g verwendet. Vor der Operation wurden die Tiere in Gruppen zu fünf bis sechs in Kunststoffboxen („Typ 4“, 55 x 33 x 20 cm, Ebeco, Deutschland) mit Gitterdeckeln („Typ 4 Standard“, 55,7 x 33,2 x 0,5 cm, Ebeco, Deutschland) gehalten, nach der Operation einzeln in kleineren Kunststoffboxen („Typ 3“, 37,5 x 21,5 x 15 cm, Ebeco, Deutschland) mit erhöhten Deckeln („Typ 3-erhöht“, 37,9 x 21,7 x 5 cm, Ebeco, Deutschland). Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und Futter („Altromin 1326 Standard-Diät Ratten-Mäuse“, Altromin, Lage, Deutschland). Die Haltung der Tiere erfolgte in Räumen mit konstant gehaltener Temperatur (19-23°C) und Luftfeuchtigkeit (55-60%) bei einem 12stündigen Hell-Dunkel-Wechsel. Die Käfigstreu („Altromin animal bedding“, Altromin, Lage, Deutschland) wurde wenigstens einmal wöchentlich gewechselt.

Die Haltung und Behandlung der Versuchstiere erfolgte gemäß dem in Deutschland geltenden Tierschutzgesetz (TierSchG, 5. Abschnitt, §7-§9 Tierversuche). Sämtliche Eingriffe und Prozeduren waren vom Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt (Genehmigungsnummer G 0226/00).

2.2 Versuchsprotokoll und -gruppen: Überblick

Nach Implantation von Elektroden in den Hippocampus und der nachfolgenden elektrischen Induktion eines selbsterhaltenden Status epilepticus durch Tractus perforans-Stimulation wurden das Auftreten von spontanen Anfällen sowie elektrophysiologische Parameter im Gyrus dentatus zu drei verschiedenen Zeitpunkten untersucht. Die Untersuchungszeitpunkte waren: 7-11 Tage, 28-32 Tage und 56-60 Tage nach Status epilepticus. Zur Vereinfachung werden die Messzeitpunkte im Folgenden als eine Woche, vier Wochen und acht Wochen nach Status epilepticus bezeichnet. Zusätzlich wurden die elektrophysiologischen Messungen

zum Erhalt von individuellen Kontrollwerten auch direkt vor der Induktion des Status epilepticus durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten an zwei verschiedenen Versuchsgruppen mit unterschiedlich langer Statusdauer: selbsterhaltender Status epilepticus nach Stimulationsende 5 Minuten und selbsterhaltender Status epilepticus nach Stimulationsende 3 Stunden, (im Folgenden 5 Minuten- bzw. 3 Stunden-SSSE-Gruppe genannt). Um den Einfluss der implantierten Elektroden und des zur Statusinduktion applizierten Stromes auf die Epileptogenese und die elektrophysiologischen Veränderungen einschätzen zu können, wurden zwei Kontrollgruppen gebildet: Operierte Tiere, bei denen nach der Elektrodenimplantation kein Status induziert, sondern lediglich Pentobarbital appliziert wurde (Elektrodenkontrollen), und Schein-stimulierte Tiere, die nach Applikation von Pentobarbital elektrisch stimuliert wurden, woraufhin sich kein Status epilepticus entwickelte (Stimulationskontrollen). Kontrolltiere wurden zu den gleichen Zeitpunkten gemessen bzw. überwacht wie Statustiere. Einen Überblick über den zeitlichen Versuchsablauf zeigt Abbildung 3.

2.3 Elektrodenimplantation

2.3.1 Elektroden

Als Ableitelektrode diente eine 0,28 mm dicke, Polymide-isolierte Edelstahl-Elektrode mit Sockel (intracranial electrode with socket, E363/1, Plastics One Inc., USA), für die bipolare Stimulationselektrode wurden zwei 0.15 mm dicke Formvar-isolierte Edelstahlelektroden mit Sockel (intracranial electrode with socket, E363/3, Plastics One Inc., USA) eng verdreht. Für die Erdeelektrode wurden zwei ca. 3 cm lange Silberdrähte (Silberdraht, 0,2 mm Durchmesser, hart, Allgemeine Gold- und Silberscheideanstalt AG, Pforzheim, Deutschland) an einen Elektrodensockel (socket contact, E363/0, Plastics One Inc., USA) gelötet. Alle drei Elektrodensockel hatten die gleiche Größe.

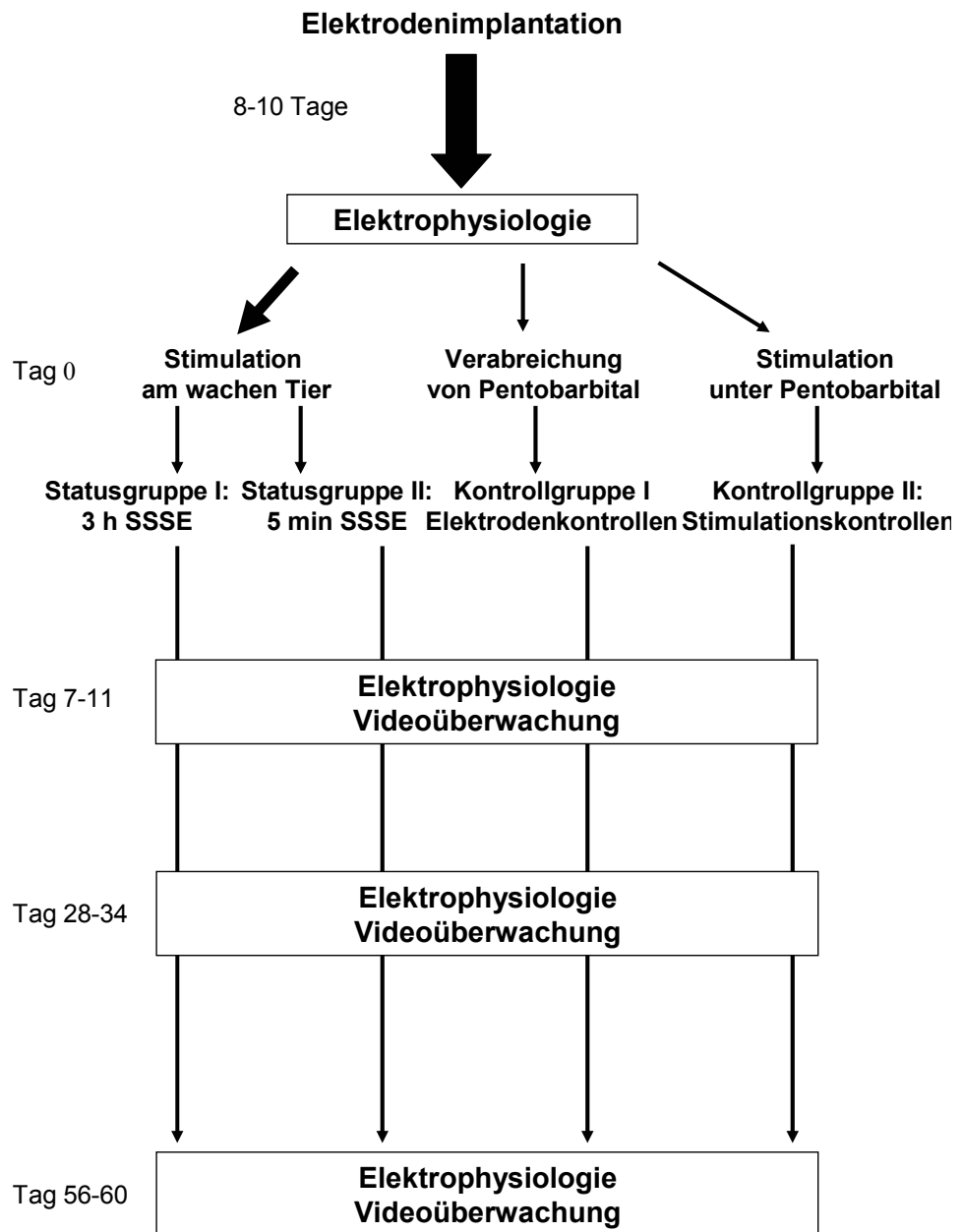


Abb.3: Überblick über die Gruppeneinteilung und den zeitlichen Ablauf der Experimente. Acht bis zehn Tage nach der Implantation der Elektroden, am Tag 0, wurden bei allen Tieren Einzelreiz- und Paired pulse-Messungen durchgeführt, um Ausgangswerte zu erhalten. Ein Teil der Tiere wurde daraufhin im wachen Zustand über zwei Stunden kontinuierlich stimuliert und danach für 5 Minuten oder 3 Stunden im Status epilepticus belassen. Um Kontrollgruppen zu bilden, wurde ein weiterer Anteil von Tieren entweder nach vorangehender Verabreichung von Pentobarbital stimuliert (Stimulationskontrollen) oder nur mit Pentobarbital behandelt (Elektrodenkontrollen). Im weiteren Verlauf wurde bei den Tieren zu denselben drei Zeitpunkten (im Bild links) das Auftreten spontaner Anfälle durch Videoüberwachung über 48 Stunden dokumentiert, sowie Einzelreiz- und Paired pulse-Messungen durchgeführt.

2.3.2 Operation

Die Versuchstiere wurden durch intraperitoneale Injektion von Pentobarbital (4 g Pentobarbital/500 ml Aqua dest. +500 ml Propylenglykol) in einer Dosierung von 52 mg Pentobarbital/kg Körpergewicht anästhesiert. Mit dem Beginn der Operation wurde abgewartet, bis auf das Setzen von Schmerzreizen keine Abwehrreaktion („tail pinch response“) mehr erfolgte. In gleicher Weise wurde die Narkosetiefe während der Operation kontrolliert, gegebenenfalls wurde in 1 ml- (entsprechend 4 mg Wirkstoff) Dosen nachanästhesiert. Zum Schutz vor Austrocknung wurden die Augen mit Panthenol-Salbe (Bepanthen Augen- und Nasensalbe, Roche, Deutschland) bestrichen. Nach Rasur des Kopffelles mit einem handelsüblichen Elektrorasierer wurde der Kopf der Tiere in einen stereotaktischen Rahmen eingespannt. Hierbei wurde der Schädel zunächst seitlich über Ohrhalterungen, danach in Längsrichtung mit Hilfe eines Nasenbügels fixiert. Mittels eines alkoholischen Hautdesinfizierens (Frekaderm®, Fresenius AG, Bad Homburg, Deutschland) wurde die Kopfhaut desinfiziert und hierauf mit Hilfe von Schere und Pinzette kreisförmig eröffnet. Die nun sichtbare Kalotte wurde mittels eines Knochenschabers aufgeraut, um eine bessere Haftfläche für den später zu applizierenden Dentalkunststoff zu schaffen, und mit 3 % H₂O₂ und Zellstofftupfern gereinigt und getrocknet. Die Fixierung des Schädels in der Halterung wurde nun durch Höhenverstellung des Nasenbügels so angepasst, dass Lambda, die Kreuzungsstelle der sagittalen und hinteren Koronarnaht, 1 mm tiefer als das Bregma, die Kreuzungsstelle der sagittalen und vorderen Koronarnaht, zu liegen kam. Um die Positionen der Bohrlöcher für die Elektroden zu markieren, wurde eine an ihrer Öffnung begradigte, in Tinte getauchte Kanüle in die Halterung eines der Stereotaxiearme eingespannt und auf das Bregma aufgesetzt. Die Bregma-Koordinaten wurden abgelesen, und relativ zu diesen Werten die Koordinaten der Bohrlöcher für die Stimulations- und Ableitelektrode berechnet, eingestellt und mit Tinte markiert. Die Koordinaten für die Stimulations- und Ableitelektrode bzw. die Bohrlöcher waren: Bregma +6,9 mm posterior, +4,1 mm lateral (Stimulation) bzw. Bregma +3,1 mm posterior, +1,9 mm lateral (Ableitung). Die Auswahl der Koordinaten für die Elektrodenpositionierung im Angular bundle des Tractus perforans bzw. der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus erfolgte nach dem stereotaktischen Atlas

des Rattengehirns von Paxinos und Watson (Paxinos & Watson, 1998). Mit einer Bohrmaschine (Proxxon FBS 230/E, Proxxon, Niersbach, Deutschland), Bohrerdurchmesser 0,8 mm, wurde die Kalotte unter Schonung der Dura an den markierten sowie an drei weiteren, möglichst weit auseinander liegenden Stellen durchbohrt. In die drei zusätzlichen Bohrlöcher wurden Edelstahlschrauben (Schließblockschrauben VI-076/C, Optotec, Rathenow, Deutschland) eingedreht, von denen zwei mit den beiden Schenkeln der Erdeelektrode umwickelt wurden. Alle drei Schrauben dienten außerdem zur besseren Fixierung des später zu applizierenden Dentalkunststoffs. Zur exakten Positionierung der Stimulations- und Ableit-elektrode wurden diese nach Einspannen in die Stereotaxiearme auf das Bregma aufgesetzt und nach erneuter Koordinatenberechnung innerhalb der Bohrlöcher auf die Dura aufgesetzt. Es wurde auf eine möglichst exakt vertikale Einstellung geachtet. Von dieser Position aus wurden die Elektroden initial um 2 mm abgesenkt. Über Kabel wurden die Elektroden mit einem Vorverstärker (NeuroLog System, A.C. Preamplifier NL104, Digitimer LTD., Hertfortshire, UK) und Oszilloskop (TDS 210 Two Channel Digital Real Time Oscilloscope, Tektronix, Beaverton, USA) bzw. einem Stimulusgenerator (NeuroLog System, Pulse Generator NL 301, Digitimer LTD., Hertfortshire, UK) und -isolator (NeuroLog System, Stimulus Isolator NL 800, Digitimer LTD., Hertfortshire, UK) verbunden und danach für 15 Minuten unmanipuliert in ihrer Anfangsposition belassen. Die optimale vertikale Positionierung der Elektroden im Tractus perforans bzw. Gyrus dentatus erfolgte anhand des durch Einzelreize evozierten Feldpotenzials: Ein Test-Stimulus (Rechteckpuls, 8 mA, 150 μ sec) erzeugte ein Feldpotenzial, von dessen Kriterien auf die schichtbezogene Lage der Elektroden geschlossen werden konnte (siehe Abbildung 4). In der Ausgangslage der Elektroden wurde normalerweise ein kleinamplitudiges (1-2 mV) negatives Potenzial mit übergelagerter positiver Summenaktionspotenzial-Komponente (ca. 2 mV) ausgelöst. Die Amplitude des Summenaktionspotenzials (SAP) diente als Kriterium für die Position der Stimulationselektrode: Diese wurde in ca. 50 μ m-Schritten unter Einzelreizgabe abgesenkt, bis sich die Amplitude des Summenaktionspotenzials nicht mehr weiter vergrößerte. Dabei wurde nach jeweils zehn Reizgaben zur Erholung des Gewebes zwei Minuten abgewartet. Nach Erreichen des maximalen Summenaktionspotenzials wurde die

Stimulationselektrode in ihrer Position belassen, und die Ableitelektrode in der gleichen Weise abgesenkt. Das in der Dendritenzellschicht (Stratum moleculare) abgeleitete negative exzitatorische postsynaptische Feldpotenzial (fEPSP) nahm zunächst an Amplitude zu, verringerte sich dann mit weiterem Absenken bis zum Erreichen eines Umkehrpunktes. Ab diesem war ein positives fEPSP abzuleiten, welches die Lage der Ableitelektrode in der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus anzeigte (Lomo, 1971a). Von einer optimalen Positionierung beider Elektroden wurde ausgegangen, wenn ein maximal grosses positives EPSP mit einem annähernd gleich grossen überlagerten negativ gerichteten Summenaktionspotenzial ausgelöst werden konnte. Die Veränderung des Feldpotenzials während des Vorgangs der Elektrodenabsenkung zeigt Abbildung 4. Im Idealfall wurden fEPSP- und Summenaktionspotenzialamplituden von 12-15 mV erreicht. Tiere, bei denen die Amplitude des Summenaktionspotenzials weniger als 2 mV betrug, wurden von den weiteren Messungen ausgeschlossen.

Nach Erreichen der endgültigen Elektrodenposition wurde die Kalotte erneut mit Hilfe von 3 % H₂O₂ gesäubert und getrocknet. Die Bohrlöcher wurden mit Sekundenkleber (UHU® Sekundenkleber, UHU GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland) verschlossen. Die Elektrodensockel wurden in einen Elektrodenhalter (electrode pedestal, MS363, Plastics One Inc., USA) eingefügt, und die gesamte Anordnung mit kaltpolymerisierendem Dentalkunststoff (Paladur®, Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) an der Kalotte fixiert. Um postoperativen Wundschmerz zu vermeiden, wurden die Wundränder mit Lidocainspray (Xylocain® Pumpspray, AstroZeneca GmbH, Wedel, Deutschland) anästhesiert. Sobald die Kunststoffmasse ausgehärtet war, wurden die Tiere aus der stereotaktischen Halterung ausgespannt und in den mit Hilfe eines Heizkissens vorgewärmten Käfig gelegt. Im Bereich des Nackens wurden 5 ml Ringer-Lösung subkutan injiziert. Die Tiere blieben unter Überwachung, bis aus lebhaften spontanen Bewegungen auf ein Nachlassen der Narkosewirkung geschlossen werden konnte (ca. 1 Stunde nach Operationsende).

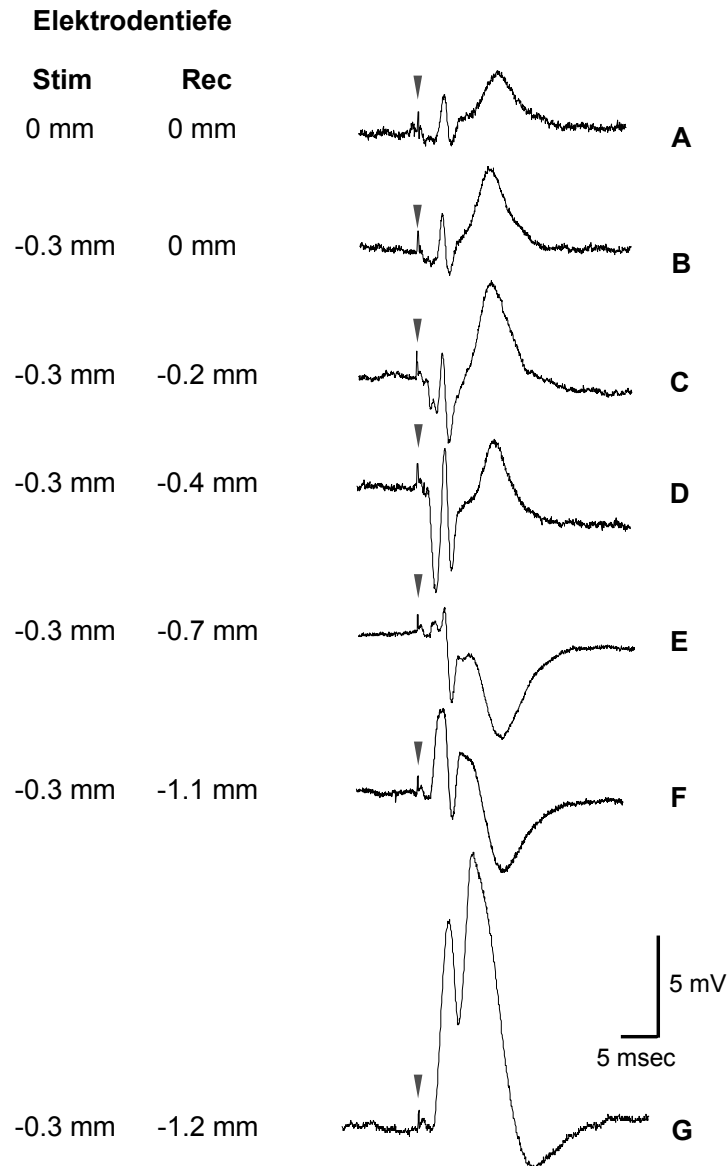


Abb.4 : Entwicklung des Feldpotenzials während des schrittweisen Absenkens der Elektroden bei der Implantation. A zeigt ein typisches Startpotenzial in der Ausgangsposition der Elektroden jeweils 2 mm unter der Kortexoberfläche. Zunächst wird die Stimulationselektrode (Stim) in den medialen Tractus perforans abgesenkt, wodurch sich der erste positiv gerichtete Potenzialanteil vergrößert (B). Wird daraufhin die Ableitelektrode (Rec) abgesenkt, vergrößert sich die Amplitude des negativ gerichteten Potenzialanteils (B-D). Die maximale negative Amplitude entspricht der Positionierung der Ableitelektrode im Bereich der Endigung des Tractus perforans auf den Dendriten der Körnerzellen. Ab dem Erreichen eines Umkehrpunktes (E) führt ein weiteres Absenken der Ableitelektrode zu einer konstanten Amplitudenvergrößerung des positiv gerichteten EPSPs sowie des überlagerten negativ gerichteten Summenaktionspotenzials (F). Schließlich zeigt das Erreichen eines Maximums beider Amplituden eine optimale Elektrodenposition im medialen Tractus Perforans bzw. der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus an (G). Im linken Teil der Abbildung ist die Tiefe der Elektroden im Bezug auf die Ausgangsposition wiedergegeben, diese ist mit 0 mm angegeben. ▼ kennzeichnet das Stimulationsartefakt (verkürzt dargestellt).

2.4 Induktion eines selbsterhaltenden Status epilepticus

Nach einer Regenerationszeit von 8-10 Tagen nach der Implantation der Elektroden wurde durch kontinuierliche elektrische Stimulation des Tractus perforans ein selbsterhaltender Status epilepticus induziert. Hierfür wurden die wachen, frei beweglichen Tiere mittels des Kopfsteckers über ein Kabel (Six Channel Connector Cable, 363-363 6TCS, Plastics One Inc, USA) und eine drehbare Halterung (Swivel Commutator, SL6C, Plastics One Inc, USA) an die Stimulations- und Messeinrichtung angeschlossen (siehe Abbildung 5).

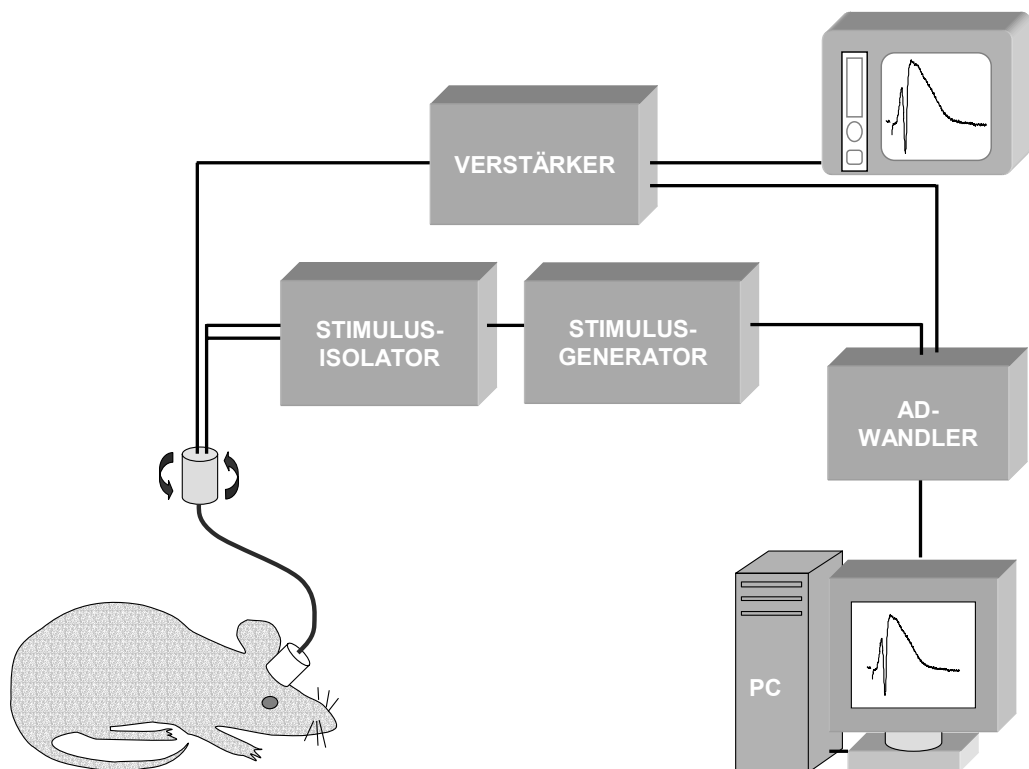


Abb. 5 : Versuchsanordnung zur Durchführung der kontinuierlichen elektrischen Stimulation und der electrophysiologischen Messungen an der frei beweglichen Ratte. Die intrazerebralen Elektroden ragen in den Kopfstecker, von dem aus über Kabel die Verbindung zum Verstärker bzw. zur Stimulationseinheit hergestellt wird. Ein flexibles Kabel von 80 cm Länge sowie eine drehbare Halterung gewährleisten die freie Beweglichkeit der Ratte. Im Gyrus dentatus abgeleitete fEPSPs und EEGs werden nach Durchlaufen eines Verstärkers auf einem Oszilloskop dargestellt sowie unter Verwendung des Programms WinTida mit einer Abtastfrequenz von 20 kHz auf einem PC gespeichert. Die Einstellung der Reizparameter erfolgt manuell am Stimulusgenerator bzw. -isolator. Das Gerät erlaubt ein Umschalten zwischen der Abgabe von einzelnen oder seriellen Reizen, letzteres zur Durchführung der kontinuierlichen zweistündigen Stimulation. Für die Paired pulse-Stimulation mit unterschiedlich langen Interpulsintervallen wird die Stimulationseinheit vom PC angesteuert, das Stimulationsprotokoll wurde in WinTida programmiert.

Über eine Dauer von zwei Stunden wurden ohne Unterbrechung Einzelreize abgegeben (Rechteckpulse, 3 mA, 150 μ sec, 20 Hz). Unter dieser Stimulation zeigten die Tiere zunächst im Abstand von 1-2 Minuten einzelne Anfälle mit Kauen, Zittern der Schnurrhaare und ein- und beidseitigem Lidzucken (Anfallsstadien 1 und 2 nach Racine (Racine1972), siehe Tabelle 1), die jeweils von „Wet Dog Shakes“, kurzem, heftigem Schütteln des ganzen Körpers, beendet wurden. Mit zunehmender Stimulationsdauer traten schwerere Anfälle mit Kloni der Vorderextremitäten, Aufrichten und Umfallen auf. Nach einer durchschnittlichen Stimulationsdauer von 48 Minuten (Spanne 23-83 Minuten) ging die epileptische Aktivität in einen Status epilepticus über. Dieser war elektrographisch definiert durch hochamplitudige (8-10 mV) Entladungen mit einer Frequenz > 1 Hz (siehe Abbildung 6). Klinisch zeichnete sich der Status epilepticus aus durch stereotype, Explorieren ähnelnde Bewegungen mit Gesichtsbewegungen (Kauen, Grimassieren) und Kopfnicken, im Abstand von einigen Minuten unterbrochen von generalisierten motorischen Anfällen mit Vorderextremitätenkloni, Aufrichten und Umfallen (Anfallsschweregrade 4 und 5 nach Racine). Beide Parameter, klinische und elektrographische, hielten über das Ende der Stimulation hinaus für mehrere Stunden an, so dass von einem selbsterhaltenden Status epilepticus, nach der englischen Bezeichnung „self sustaining status epilepticus“ im Folgenden als SSSE abgekürzt, gesprochen werden kann. Um den möglicherweise durch die Stromapplikation entstehenden Schaden in allen Versuchstieren konstant zu halten, wurden alle Tiere über zwei Stunden stimuliert, auch wenn ein Status epilepticus schon nach deutlich kürzerer Stimulationszeit erreicht war. Nach einer Dauer von 5 Minuten bzw. 3 Stunden nach Stimulationsende wurde der SSSE durch intraperitoneale Injektion von 30 mg Pentobarbital/kg Körpergewicht beendet. Hierbei sistierten zunächst die motorischen Entäußerungen, gefolgt von einer Abnahme der Spikeamplitude und -frequenz im EEG. Bis zu einem völligen Sistieren der Spikeaktivität als Kriterium der definitiven Statusunterbrechung vergingen nach der Injektion etwa 5-10 Minuten. Anschließend wurden die Tiere über drei Stunden auf das Wiederauftreten von epileptischer Aktivität überwacht, was bei keinem der Tiere der Fall war. Tieren beider Kontrollgruppen wurde zum gleichen Zeitpunkt nach Elektrodenimplantation, 8-10 Tage, dieselbe Dosis Pentobarbital (30 mg/kg Kör-

pergewicht) intraperitoneal injiziert wie den Tieren der Versuchsgruppen zur Beendigung des SSSE. Tiere der Simulationskontrollgruppe wurden, sobald die Narkosewirkung eingetreten war, unter EEG-Kontrolle mit den gleichen Parametern wie wache Tiere über zwei Stunden stimuliert. Bei keinem der Tiere entwickelte sich darauf, weder klinisch noch nach EEG-Kriterien, ein Status epilepticus. Tiere der Elektrodenkontrollgruppe erhielten die gleiche Dosis Pentobarbital und wurden nicht weiter behandelt.

Tab.1: Klassifikation epileptischer Anfälle bei Ratten, nach Racine 1972. Anfälle der Schweregrade 1 und 2 werden als fokal, Anfälle der Schweregrade 3-5 als generalisiert bezeichnet (Löscher, 2002).

Schweregrad nach Racine	klinisches Erscheinungsbild
1	schwache faziale Klone (stereotypes Schnuppen, Schließen der Augen)
2	starke faziale Klone (Kaubewegungen, Kopfnicken)
3	ein- oder beidseitige Klone der vorderen Extremitäten
4	wie 3, zusätzlich Aufrichten
5	wie 4, zusätzlich Umfallen (Verlust der posturalen Kontrolle)

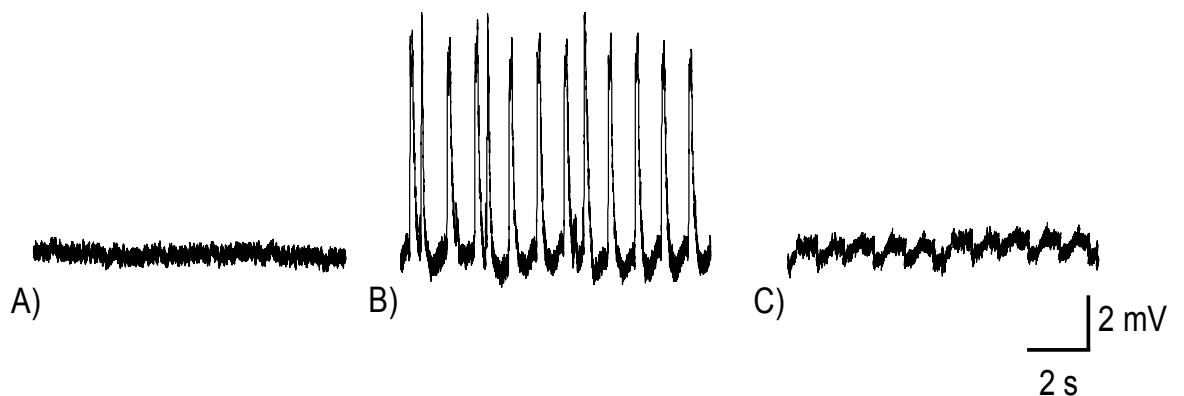


Abb.6: Intrazerebral aus der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus abgeleitete EEGs von jeweils 10 Sekunden Dauer. A) Vor Stimulation. B) Im selbsterhaltenden Status epilepticus nach zweistündiger Stimulation. Ein SSSE ist definiert durch hochamplitudige (8-10 mV) Spikes mit einer Frequenz > 1Hz. C) Slow-Wave-Aktivität nach Beendigung des SSSE durch intraperitoneale Injektion von Pentobarbital.

2.5 Video-Telemetrie

Alle vier Versuchsgruppen wurden zu drei Zeitpunkten, eine Woche, vier Wochen und acht Wochen nach Status epilepticus über jeweils 48 Stunden per Videoüberwachung auf das Auftreten spontaner Anfälle untersucht. Das Filmen der Tiere in den oben geschilderten Käfigen erwies sich als problematisch, da zum einen die Gitterstäbe die Sicht behinderten, zum anderen sich die Tiere zu einem grossen Teil der Zeit unter den Futterluken aufhielten und so der Sicht entzogen waren. Daher wurden die Tiere während der Videoaufzeichnung in eigens angefertigten Plexiglasboxen gehalten. Die vier Boxen waren 55 cm hoch, 40 cm lang und 30 cm breit, nach oben offen und auf eine 1cm dicke Spanplatte montiert. In eine der Seitenwände war jeweils in für die Tiere gut erreichbarer Höhe eine Wasserflaschenhalterung angeschraubt. Der Boden der Boxen wurde mit Streu bedeckt, Futter wurde lose ausgelegt. Mittels einer mittig über den Boxen angebrachten digitalen Kamera (Schwarz-Weiß-System CF8/4 DX, Kappa, Gleichen, Deutschland) wurden jeweils bis zu vier Tiere gleichzeitig über 48 Stunden gefilmt. Die Kamera war an einen Zeitraffer-Videorekorder (Time Lapse Video Cassette Recorder, JVC, Japan) angeschlossen, mit dessen Hilfe die Bilder mit einer Frequenz von 6/s auf VHS-Videokassetten aufgezeichnet wurden. Aufgrund der

Spektralsensitivität der Kamera, 270-1050 nm, und einer hohen Lichtempfindlichkeit konnten die Tiere auch nachts bei geringer Beleuchtung (durch eine rote Glühbirne) gefilmt werden. Ein konstanter 12stündiger Hell-Dunkel-Wechsel war während der Videoaufnahmen nicht gewährleistet. Bei der Auswertung der Videofilme wurden auftretende Anfälle nach Schweregrad, Dauer und Uhrzeit dokumentiert. Nicht alle Tiere wurden zu allen drei Zeitpunkten auf das Auftreten von Anfällen untersucht. Dies lag zum Teil daran, dass Tiere aus dieser Studie im Rahmen einer weiteren Promotionsarbeit (Elsner, 2003) zu denselben drei Zeitpunkten *in vitro* untersucht wurden und somit für spätere *in vivo* Analysen nicht mehr zur Verfügung standen. Das Auftreten von Anfällen der Schweregrade 1 und 2 nach Racine konnte mit der angewandten Methode nicht beurteilt werden.



Abb.7: Originalbild aus der zur Anfallsbeobachtung verwendeten Schwarz-Weiß-Kamera. Bis zu vier Tiere in separaten Boxen wurden von oben über 48 Stunden gefilmt. Am oberen Rand der Boxen waren Etiketten mit der Identifikationsnummer der Tiere angebracht. Die Bilder wurden einem Zeitraffer-Videorekorder zugeführt und mit einer Frequenz von 6 Bildern pro Sekunde auf VHS-Videokassetten aufgezeichnet.

2.6 Elektrophysiologie

2.6.1 Evozierte Potenziale

Die elektrophysiologischen Messungen wurden in allen vier Versuchsgruppen direkt vor der Stimulation bzw. Pentobarbitalinjektion und zu den gleichen Zeitpunkten nach SSSE wie die Videoüberwachung durchgeführt. Als Einschlusskriterium für die Messung galt zu allen Zeitpunkten ein Summenaktionspotenzial größer als 2 mV. Es wurden jeweils zunächst fünf Feldpotenziale (fEPSPs) aufgezeichnet. Zur Auslösung der Potenziale wurde der Tractus perforans über die bipolare Stimulationselektrode mit einzelnen Rechteckpulsen von 150 μ s Dauer gereizt. Es wurde die kleinste Stromstärke, die noch ein maximales Summenaktionspotenzial auslöste (3-8 mA) gewählt, zwischen den Einzelreizen wurde jeweils 40 Sekunden abgewartet. Unter Beibehaltung der Stimulationsparameter wurden als nächstes Einzelreizpaare (Paired pulse) abgegeben. Die Interpulsintervalle betrugen 20, 25, 30, 40, 50, 100, 300, 500 und 1000 ms. Für jedes Intervall wurde jeweils eine Messung aufgezeichnet. Der zeitliche Abstand zwischen den Reizpaaren betrug 40 Sekunden.

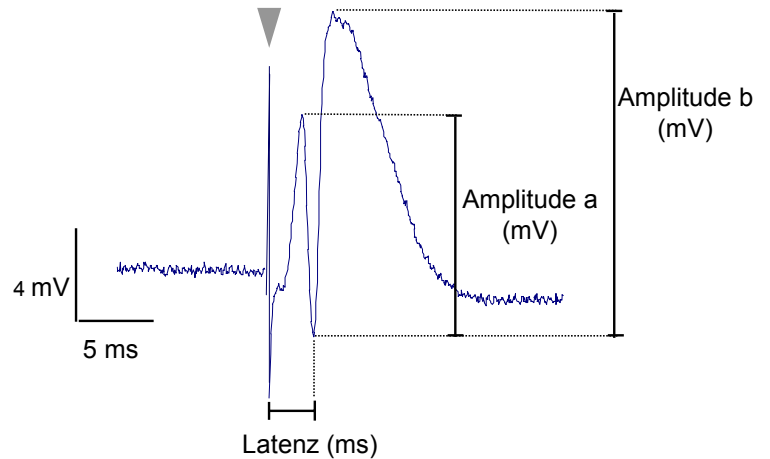
2.6.2 Datenanalyse

2.6.2.1 Einzelreize

Zur Beurteilung der Exzitabilität der Körnerzellen wurden folgende Parameter ausgewertet: Als Maß für die Geschwindigkeit der Depolarisation wurde die Latenz des Summenaktionspotenzials (SAP) gemessen. Die SAP-Latenz wurde definiert als die Zeit zwischen dem Stimulationsartefakt und dem negativen Umkehrpunkt des Summenaktionspotenzials in Millisekunden (ms). Für die Berechnung der Amplitude des Summenaktionspotenzials als Kriterium für die Menge gleichzeitig entladender Körnerzellen wurde der Mittelwert aus dem absteigenden und dem aufsteigenden Schenkel des Summenaktionspotenzials gebildet. Abbildung 8 zeigt die verwendeten Messparameter am Beispiel eines typischen Feldpotenzials. Für beide genannten Einzelreizparameter wurden jeweils in einem Tier die Werte von fünf Einzelreizen gemittelt. Für die SAP-Amplitude wurden die Mittelwerte der Ba-

seline-Messung vor Induktion eines SSSE aufgrund der großen interindividuellen Streuung für jedes Tier gleich 100 % gesetzt. Zu den verschiedenen Messzeitpunkten nach SSSE erhobene Werte wurden in Prozent der Ausgangswerte ausgedrückt. Für die SAP-Latenz erfolgte die Darstellung in absoluten Werten.

Abb.8: Evoziertes Feldpotenzial, abgeleitet in der Körnerzellschicht des rechtsseitigen Gyrus dentatus nach Applikation eines Einzelreizes (8 mA, 150 μ s) im gleichseitigen Tractus perforans. Eingezeichnet sind die gemessenen Parameter SAP-Latenz und SAP-Amplitude. Als SAP-Latenz wurde die Zeit vom Beginn des Stimulationsartefakts (\blacktriangledown) bis zum negativen Umkehrpunkt des Summenaktionspotenzials gemessen. Für die SAP-Amplitude wurde der Mittelwert aus dem absteigenden und dem aufsteigenden Schenkel des Summenaktionspotenzials gebildet ($(a+b)/2$).



2.6.2.2 Paired pulse (Doppelpuls) -Paradigma

Die Paired pulse-Inhibition als Maß für die rekurrente Hemmung im synaptischen Schaltkreis des Gyrus dentatus wurde mittels der Paired pulse-Ratio quantifiziert: Hierfür wurde die Amplitude des Summenaktionspotenzials der zweiten Reizantwort zur Amplitude des Summenaktionspotenzials der ersten Reizantwort ins Verhältnis gesetzt. Werte kleiner 1 entsprachen einer Inhibition der 2. Reizantwort, Werte größer 1 einer Fazilitierung. Zur graphischen Darstellung des Paired pulse-Verhaltens wurde der Wert der Paired pulse-Ratio auf der y-Achse eines Diagramms gegen das jeweilige Interpulsintervall auf der x-Achse aufgetragen. Alle elektrophysiologischen Parameter wurden mit Hilfe der Softwareprogramme WinTida (HEKA Elektronik, Lambrecht, Deutschland) und Signal (Cambridge Design, Cambridge, UK) aufgezeichnet und ausgewertet.

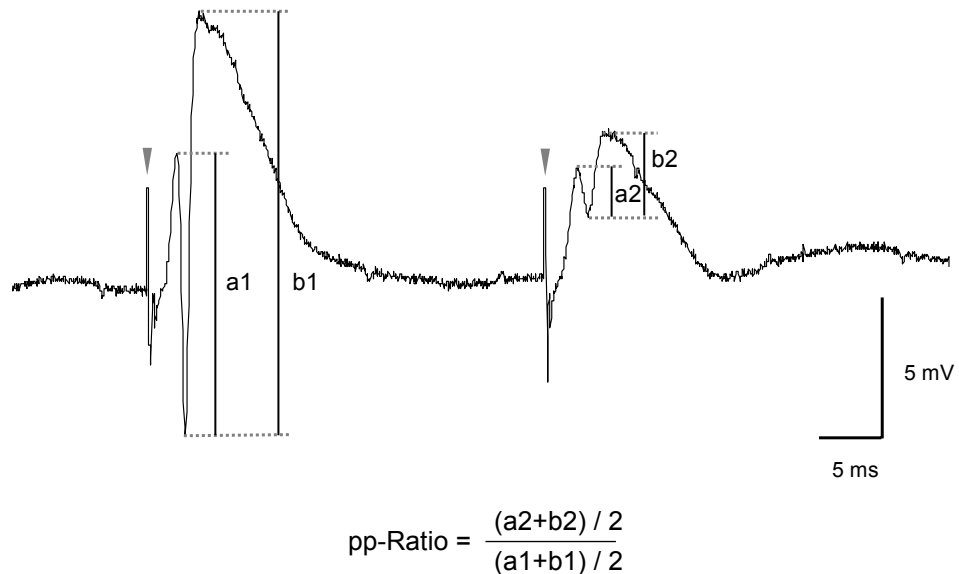


Abb.9: Paired pulse-Paradigma. Die Abbildung zeigt zwei evozierte Feldpotenziale, abgeleitet in der Körnerzellschicht des rechtsseitigen Gyrus dentatus nach Applikation eines Paired pulses, d.h. zweier identischer Reize (8 mA, 150 μ s), an den gleichseitigen Tractus perforans. Der Reizabstand in diesem Beispiel beträgt 30 ms. Es ist eine deutliche Inhibition der zweiten Reizantwort zu erkennen. Das Ausmaß dieser Inhibition wird durch Bildung des Verhältniswertes: Amplitude des 2.SAP/Amplitude des 1.SAP (Paired pulse-Ratio) quantifiziert.

2.7 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte unter Verwendung des Programms Winstat (Kalmia Co. Inc., Cambridge MA, USA). Für alle Daten wurde das arithmetische Mittel errechnet und in der Form Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Für die Beurteilung von Veränderungen innerhalb der einzelnen Gruppen vor und nach der Behandlung (SSSE/Stimulation in Narkose/Injektion von Barbiturat) wurde ein t-Test für gepaarte Daten eingesetzt. Unverbundene Daten wie die Anzahl der Anfälle in den verschiedenen Gruppen wurden unter Verwendung eines Kruskal-Wallis-Tests verglichen, nicht-parametrische Daten wie der Schweregrad der Anfälle mittels des Mann-Whitney-U-Tests. Für den Vergleich von Messwerten zwischen unterschiedlichen Gruppen wurde eine Multivarianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Zur Korrelationsberechnung wurde die Methode nach Pearson verwendet. Unterschiede zwischen Messwerten wurden ab ei-

nem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als signifikant, ab einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$ als hochsignifikant bezeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Induktion des Status epilepticus

Von insgesamt 74 mit dem Ziele der Induktion eines SSSE im wachen Zustand stimulierten Tieren entwickelten 59 Tiere, entsprechend 79,7 Prozent, einen Status epilepticus. Bei 12 Tieren, entsprechend 16,2 Prozent, konnte kein SSSE induziert werden. Diese Tiere zeigten nach Beginn der kontinuierlichen elektrischen Stimulation zunächst ein stimulationstypisches Verhalten und EEG, d.h. Stereotypien, wiederkehrende generalisierte Anfälle und hochamplitudige Spikes, beide Phänomene sistierten jedoch im weiteren Verlauf der Stimulation und traten nicht erneut auf. Drei Tiere (4,1 Prozent) verstarben noch während der zweistündigen Stromapplikation vor der Etablierung eines SSSE, von den 59 mit der Folge einer Statusentwicklung stimulierten Tieren verstarben 11 innerhalb der ersten 24 Stunden nach Beendigung des Status epilepticus. Die Letalität betrug demnach insgesamt 19 Prozent. Bei den 59 erfolgreich stimulierten Tieren betrug die Latenz bis zur Etablierung eines SSSE nach Beginn der Stimulation im Mittel 48 Minuten, variierte jedoch stark von Tier zu Tier zwischen einem Minimum von 23 und einem Maximum von 83 Minuten. Zwischen den beiden Versuchsgruppen bestanden hinsichtlich der Latenz bis zur Etablierung des Status epilepticus keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,54$).

3.2 Klinische und elektrophysiologische Charakteristika des SSSE

Nach Aussetzen der elektrischen Stimulation verblieben die Tiere bis zur Applikation von Pentobarbital im Status epilepticus. Dieser selbsterhaltende, d.h. stimulationsunsabhängige, Status epilepticus unterschied sich klinisch nicht von dem schon während der Stimulation aufgetretenen Bild. In beiden Fällen zeigten die Tiere zwei sich abwechselnde Formen von epileptischer Aktivität: Aus einem konstanten stereotypen Verhalten mit bewegungslosem Verharren oder diskretem Schnuppern, Kauen und Kopfnicken („Explorieren“) entwickelten sich in wechselndem zeitlichen Abstand Phasen stärker ausgeprägter motorischer Aktivität. Letzte-

re bestanden in generalisierten Anfällen mit Kloni der Vorderextremitäten und Aufrichten, teils mit Hintenüberfallen (Anfallsstadien 3 bis 5 nach Racine). Dieser Ablauf war grundsätzlich bei allen Tieren gleich, der Schweregrad der Grundaktivität sowie Frequenz und Schweregrad der überlagerten Anfälle variierten jedoch zwischen den Tieren. Ein Teil der Tiere (n = 35) zeigte einen überwiegend limbischen Status epilepticus mit bewegungslosem Innehalten und dezentem Schnupern und Kauen im Wechsel mit seltenen (alle 8-10 Minuten) Phasen deutlicher ausgeprägter fazialer Kloni und milder Vorderextremitätenkloni. Der andere Teil der Tiere (n = 24) entwickelte einen überwiegend motorischen Status epilepticus mit Kauen, Speicheln und Kopfnicken als Grundaktivität, überlagert von häufigen (alle 2 Minuten) und längeranhaltenden generalisierten Anfällen bis Schweregrad 5. Das EEG zeigte bei beiden Ausprägungsformen hochamplitudige (8-10 mV) Spikes mit einer Frequenz von 1,0-1,9 Hz, während der Anfälle abgelöst von deutlich höherfrequenterer Spikeaktivität mit niedrigerer Amplitude. Die Anzahl von Tieren mit überwiegend limbischem bzw. überwiegend motorischem SSSE war zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht signifikant unterschiedlich (p = 0,180).

3.3 Spontane Anfälle

3.3.1 Anfallszahlen in den Versuchsgruppen

Bei der Auswertung der Videobänder hinsichtlich des Auftretens spontaner epileptischer Anfälle ergaben sich die folgenden Anfallszahlen: In der ersten Beobachtungsperiode, eine Woche nach Status epilepticus, trat in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe bei zwei von 13 Tieren in 48 Stunden ein spontaner Anfall auf. Im selben Beobachtungszeitraum trat in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe bei einem von 14 überwachten Tieren ein Anfall auf. In der zweiten Beobachtungsperiode, vier Wochen nach Status epilepticus, traten in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe bei vier von 13 beobachteten Tieren Anfälle auf, in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe bei sechs von elf beobachteten Tieren. Im dritten Überwachungszeitraum, acht Wochen nach Status epilepticus, wurden in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe bei fünf von zehn Tieren Anfälle beobachtet, in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe bei sieben von neun

Tieren. Der Anteil von epileptischen Tieren war in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe nach acht Wochen signifikant höher als nach einer Woche ($p < 0,05$). Zwischen den beiden Versuchsgruppen war der Anteil der Tiere, die in den jeweiligen Zeiträumen Anfälle zeigten, nicht signifikant unterschiedlich (5 Minuten/3 Stunden eine Woche nach SSSE: $p = 0,504$; 5 Minuten/3 Stunden vier Wochen nach SSSE: $p = 0,249$; 5 Minuten/3 Stunden acht Wochen nach SSSE: $p = 0,223$). In den beiden Kontrollgruppen traten zu keinem der drei Beobachtungszeiträume Anfälle auf. In der Gruppe der mit Elektroden implantierten, aber nicht stimulierten Tiere waren in der ersten Periode fünf von fünf beobachteten Tieren anfallsfrei, in der zweiten elf von elf, in der dritten acht von acht Tieren. In der Gruppe der unter Pentobarbital stimulierten Tiere waren nach einer Woche und nach vier Wochen sechs von sechs Tieren, nach acht Wochen sieben von sieben Tieren anfallsfrei. Tabelle 2 gibt einen Überblick über den prozentualen Anteil der Tiere mit spontanen Anfällen in den beiden SSSE-Gruppen.

Tab.2: Anteil von Tieren mit spontanen Anfällen zu den drei Überwachungszeitpunkten nach 3 Stunden bzw. 5 Minuten SSSE in Prozent

	1 Woche post	4 Wochen post	8 Wochen post
3 h SSSE	7 %	55 %	78 %
5 min SSSE	15 %	31 %	50 %

3.3.2 Zahl der Anfälle pro Tier

Die Anzahl der spontanen Anfälle variierte zwischen den einzelnen Tieren zwischen einem und sieben Anfällen in 48 Stunden. Alle drei nach einer Woche

epileptisch gewordenen Tiere aus den beiden Statusgruppen hatten je einen Anfall in 48 Stunden. Aus der 3 Stunden-SSSE-Gruppe hatten nach vier Wochen vier Tiere je einen Anfall, ein Tier hatte zwei, ein Tier sieben Anfälle in 48 Stunden. Im selben Beobachtungszeitraum zeigten in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe zwei Tiere je einen Anfall, ein Tier zwei und ein Tier sechs Anfälle in 48 Stunden. Nach acht Wochen traten in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe bei drei Tieren je ein Anfall, bei einem Tier zwei Anfälle, bei zwei Tieren je drei Anfälle und bei einem Tier sieben Anfälle in 48 Stunden auf. Alle nach acht Wochen epileptischen Tiere aus der 5 Minuten-SSSE-Gruppe hatten je einen Anfall in 48 Stunden. Damit ergibt sich nach acht Wochen in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe eine mit im Durchschnitt $4,5 \pm 4,3$ Anfällen tendenziell höhere Anfallszahl pro Tier als in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe mit 1 ± 0 Anfällen, der Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p = 0,052$). Die Anfallszahlen je beobachtetem Tier zeigen die Abbildungen 9 und 10.

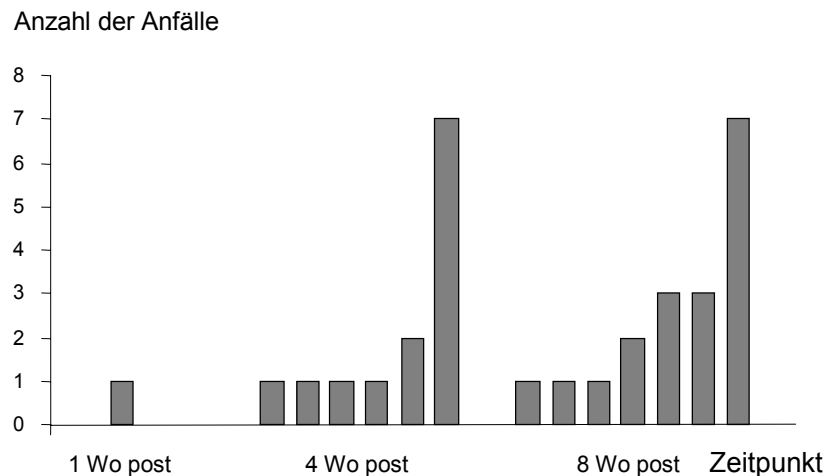


Abb.9: Zahl der Anfälle pro beobachtetem Tier in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe. Ein Balken entspricht jeweils einem Tier, Tiere ohne Anfälle sind nicht berücksichtigt.

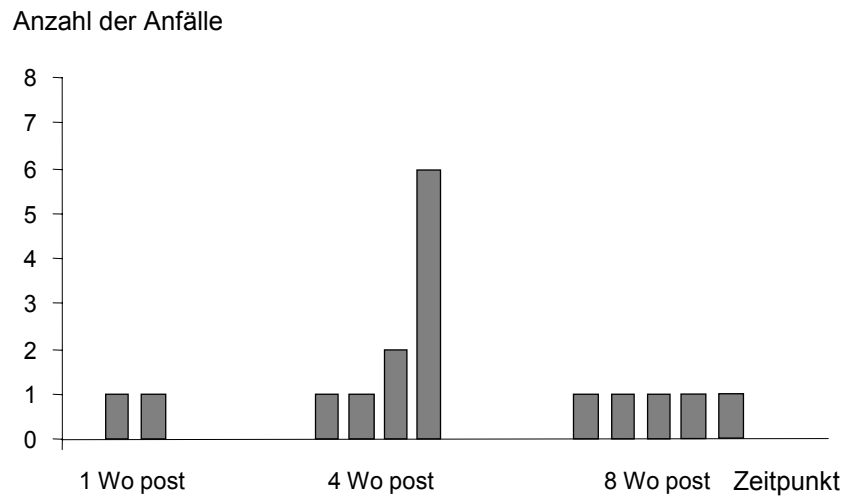


Abb.10: Zahl der Anfälle pro beobachtetem Tier in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe. Ein Balken entspricht jeweils einem Tier, Tiere ohne Anfälle sind nicht berücksichtigt.

3.3.3 Schweregrad

Mit der Videoüberwachungsmethode detektierbare Anfälle waren sämtlich den Schweregraden 3 bis 5 nach Racine zuzuordnen. Generalisierte Anfälle des Schweregrades 3, also mit ein- und beidseitigen Kloni der vorderen Extremitäten, traten in den beiden Statusgruppen insgesamt elfmal auf, Anfälle mit zusätzlichem Aufrichten des Rumpfes, entsprechend Schweregrad 4, 27 mal, Anfälle mit Verlust der posturalen Kontrolle, entsprechend Schweregrad 5, zehnmal. Die Schweregrade waren weder zwischen den beiden Versuchsgruppen (3 Stunden-SSSE-Gruppe/5 Minuten-SSSE-Gruppe vier Wochen post: $p = 0,21$; acht Wochen post: $p = 0,29$), noch innerhalb der Gruppen zu den verschiedenen Beobachtungszeitspannen (3 Stunden-SSSE-Gruppe, vier Wochen post/acht Wochen post: $p = 0,21$; 5 Minuten-SSSE-Gruppe, vier Wochen post/acht Wochen post: $p = 0,21$) signifikant unterschiedlich.

3.3.4 Dauer

Die Dauer der spontanen Anfälle betrug in allen beobachteten Tieren im Mittel $37 \pm 18,5$ Sekunden, der Median lag bei 40 Sekunden Anfallsdauer. Ein signifi-

kanter Unterschied in der Dauer der Anfälle bestand zwischen den beiden späteren Beobachtungszeitspannen in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe: Nach acht Wochen beobachtete Tiere dieser Gruppe hatten im Mittel mit 48 ± 11 Sekunden signifikant längere Anfälle als nach vier Wochen beobachtete Tiere mit im Mittel 31 ± 11 Sekunden andauernden Anfällen ($p < 0.05$). In der 3 Stunden-SSSE-Gruppe ergaben sich zwischen den Überwachungszeiträumen keine signifikanten Unterschiede in der Anfallsdauer (vier Wochen post/acht Wochen post: $p = 0,21$), ebenso wenig zwischen den beiden Gruppen zu den einzelnen Zeiträumen (3 Stunden-SSSE-Gruppe/5 Minuten-SSSE-Gruppe vier Wochen post: $p = 0,79$; acht Wochen post: $p = 0,13$).

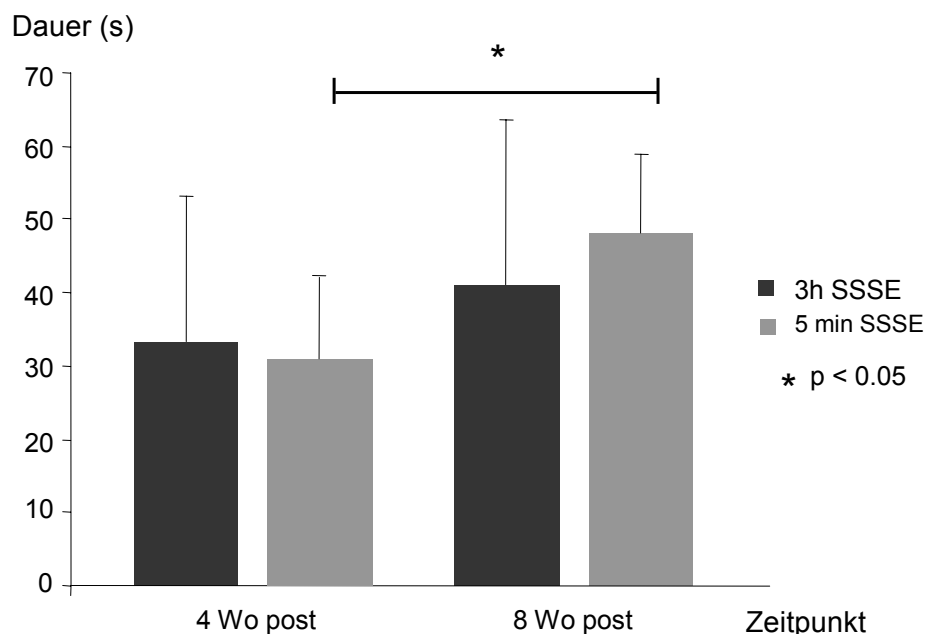


Abb.11: Durchschnittliche Dauer der Anfälle zu den beiden späteren Überwachungszeitpunkten nach Status epilepticus. Aufgrund der niedrigen Anzahl sind Anfälle, die eine Woche nach SSSE auftraten, in der Darstellung nicht berücksichtigt. Werte für die 3 Stunden-SSSE-Gruppe sind mit dunklen Balken, Werte für die 5 Minuten-SSSE-Gruppe mit hellen Balken dargestellt, gezeigt sind die Mittelwerte mit SD.

3.3.5 Tageszeitliche Verteilung

Mit der Ausnahme eines bei einem Tier der 3 Stunden-SSSE-Gruppe nach vier Wochen um 1:07 Uhr aufgetretenen Anfalles fanden alle Anfälle zwischen

5:00 Uhr (5:26 Uhr) morgens und 22:00 Uhr (21:08 Uhr) abends statt. Unter Berücksichtigung der jahreszeitlich bedingten Hell-Dunkel-Schwankungen ereigneten sich 44 der insgesamt 49 Anfälle (entsprechend 89,8 %) bei Tageshelligkeit, und damit hochsignifikant häufiger als bei Nacht ($p < 0.0001$). Abbildung 12 zeigt die Verteilung der Anfälle nach Uhrzeit.

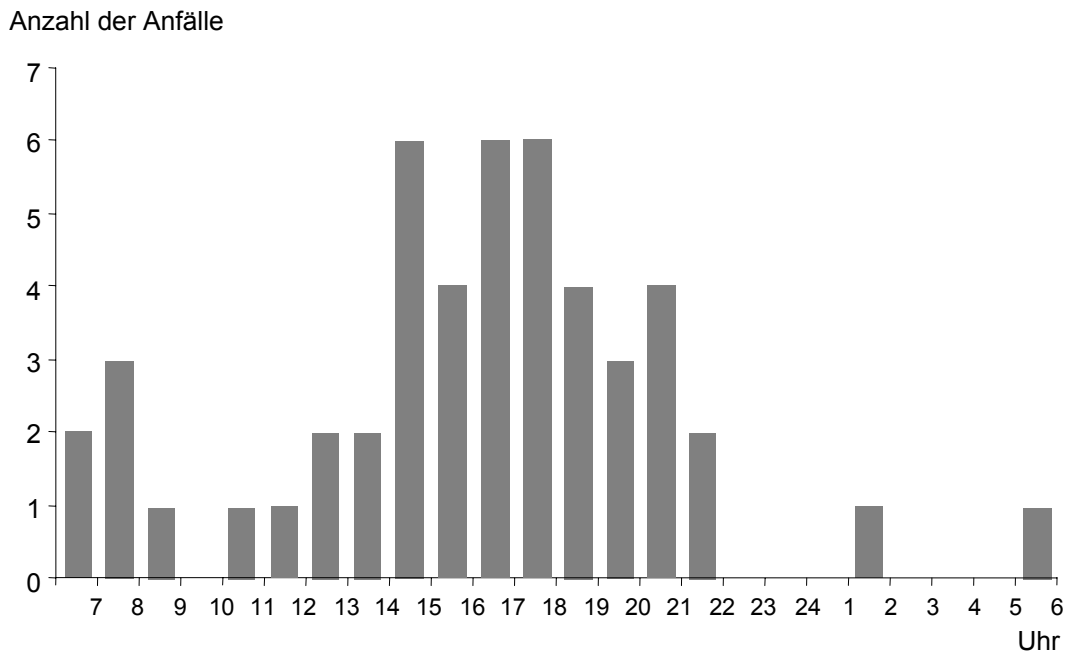


Abb.12: Anzahl spontaner Anfälle bezogen auf die Tageszeit. Dargestellt sind alle in beiden Versuchsgruppen zu den drei untersuchten Zeitpunkten aufgetretenen Anfälle.

3.4 Elektrophysiologische Messungen

3.4.1 Einzelreizparameter

3.4.1.1 *Summenaktionspotenzial: Amplitude*

3.4.1.1.1 Versuchsgruppe 3 Stunden SSSE

Bei neun nach Stimulationsende für 3 Stunden im SSSE belassenen Tieren betrug die Amplitude des Summenaktionspotenzials vor Stimulation $11,9 \pm 5,8$ mV. Aufgrund der grossen interindividuellen Streuung der Amplitudenwerte zwischen minimal 3,3 mV und maximal 17,6 mV wurden die vor der Stimulation erh-

benen Werte in jedem Tier gleich 100 % gesetzt und die bei den nachfolgenden Messungen erhobenen Werte in Prozent des jeweiligen Ausgangswertes ausgedrückt. Anschließend wurden die normalisierten Werte gemittelt. Dasselbe gilt für die anderen Versuchs- bzw. Kontrollgruppen. Die Bezeichnung „annähernd gleich“ wird im Folgenden benutzt, wenn eine Abweichung vom Ausgangswert kleiner als 3 % vorlag.

Eine Woche nach SSSE betrug die SAP-Amplitude bei 9 Tieren im Mittel $85,9 \pm 49,1$ % des Ausgangswertes. Hierbei verhielten sich die Amplitudenänderungen in den einzelnen Tieren nicht einheitlich: in 3 Tieren vergrößerte sich die Amplitude im Vergleich zum Ausgangswert (104,7 %, 122,2 % und 181,3 %), in fünf Tieren nahm sie ab (18,3 %, 47,6 %, 63,3 %, 69,1 % und 78,3 %), in einem Tier blieb sie annähernd gleich (98,2 %). Statistisch ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den eine Woche nach und den vor SSSE erhobenen Werten ($p = 0,780$).

Vier Wochen nach SSSE betrug die SAP-Amplitude im Mittel $83,1 \pm 56,4$ % des Ausgangswertes, eine Messung war zu diesem Zeitpunkt bei sechs Tieren möglich. Von diesen war die Amplitude im Vergleich zu den Ausgangswerten bei zwei Tieren vergrößert (128,1 % und 168,9 %), bei vier Tieren verringert (17,3 %, 45,8 %, 55,6 % und 82,7 %). Im statistischen Vergleich mit den Ausgangswerten der betreffenden sechs Tiere ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,556$).

Acht Wochen nach SSSE war das Einschlusskriterium für die Messung (SAP > 2 mV) noch bei fünf Tieren erfüllt. Die SAP-Amplitude betrug im Mittel $63,7 \pm 63,5$ %. Dabei war die Amplitude bei einem Tier im Vergleich zum Ausgangswert vergrößert (175,5 %), bei den restlichen vier Tieren verringert (20,8 %, 34,8 %, 35,4 % und 51,8 %). Die Werte waren nicht signifikant unterschiedlich zu den in denselben Tieren vor Stimulation gemessenen Werten ($p = 0,074$). Die SAP-Amplitude vor und im zeitlichen Verlauf nach dreistündigem SSSE zeigt die Abbildung 13.

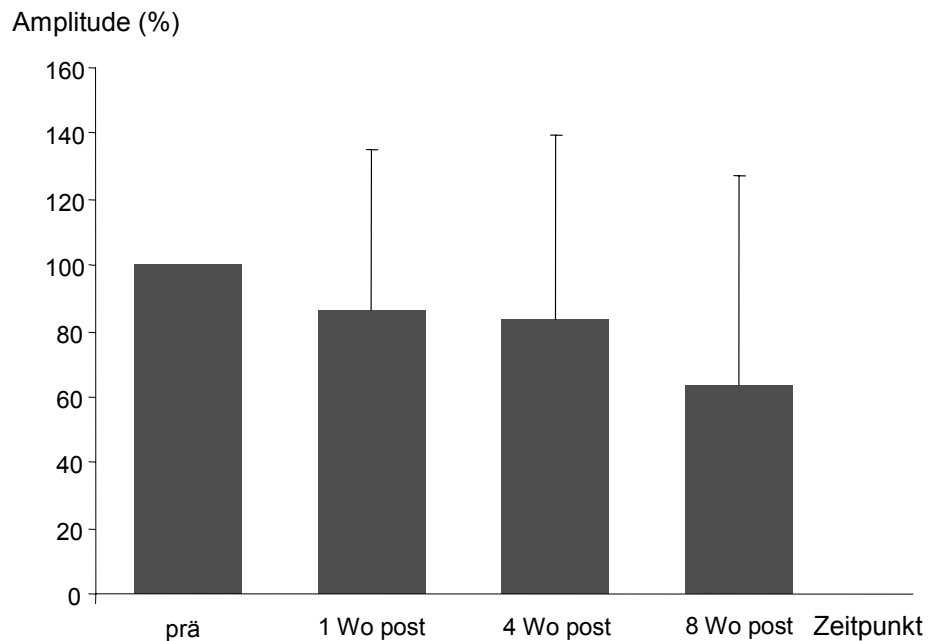


Abb.13: SAP-Amplitude vor und eine, vier und acht Wochen nach dreistündigem SSSE. Da die SAP-Amplitude zwischen den einzelnen Tieren erheblich variierte, wurde der Ausgangswert vor SSSE in jedem Tier gleich 100 % gesetzt und nachfolgende Messwerte in Prozent des Ausgangswertes dargestellt. Dargestellt sind Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere.

3.4.1.1.2 Versuchsgruppe 5 Minuten SSSE

In acht nach der Beendigung der Stimulation 5 Minuten lang im Status epilepticus belassenen Tieren betrug die SAP-Amplitude vor der Stimulation $7,0 \pm 4,9$ mV.

Eine Woche nach SSSE betrug die SAP-Amplitude im Mittel $118,5 \pm 52,6$ % der Ausgangswerte ($n = 8$). Auch in dieser Gruppe war die Veränderung nicht einheitlich: In vier Tieren kam es zu einer Verringerung der SAP-Amplitude (54,1 %, 67,7 %, 71,7 % und 90,3 %), in 4 Tieren zu einer Vergrößerung (130,8 %, 162,1 %, 168,9 % und 174,2 %). Die Veränderungen waren im Vergleich zu den Ausgangswerten nicht signifikant ($p = 0,890$).

Vier Wochen nach SSSE war eine Messung bei fünf Tieren möglich, die SAP-Amplitude betrug im Mittel $104,4 \pm 28,3$ % der Ausgangswerte. Dieser Wert beruhte auf einer Amplitudenverringerung in drei Tieren (77,0 %, 83,0 % und 95,9 %)

und einer Amplitudenvergrößerung in zwei Tieren (121,2 % und 145,0 %). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zu den in denselben Tieren erhobenen Ausgangswerten ($p = 0,960$).

Acht Wochen nach SSSE konnten Einzelreize ausreichender Größe bei sieben Tieren ausgelöst werden, die SAP-Amplitude betrug im Mittel $183,2 \pm 120,7$ % des jeweiligen Ausgangswertes. Dabei fand sich bei drei der Tiere eine verminderte SAP-Amplitude (76,0 %, 83,7 % und 84,7 %), bei vier Tieren eine teils sehr stark ausgeprägte Amplitudenzunahme (161,2 %, 233,9 %, 234,2 % und 408,4 %). Der Unterschied zu den Ausgangswerten war statistisch nicht signifikant ($p = 0,287$). Abbildung 14 zeigt die SAP-Amplitude vor und im zeitlichen Verlauf nach fünfminütigem SSSE.

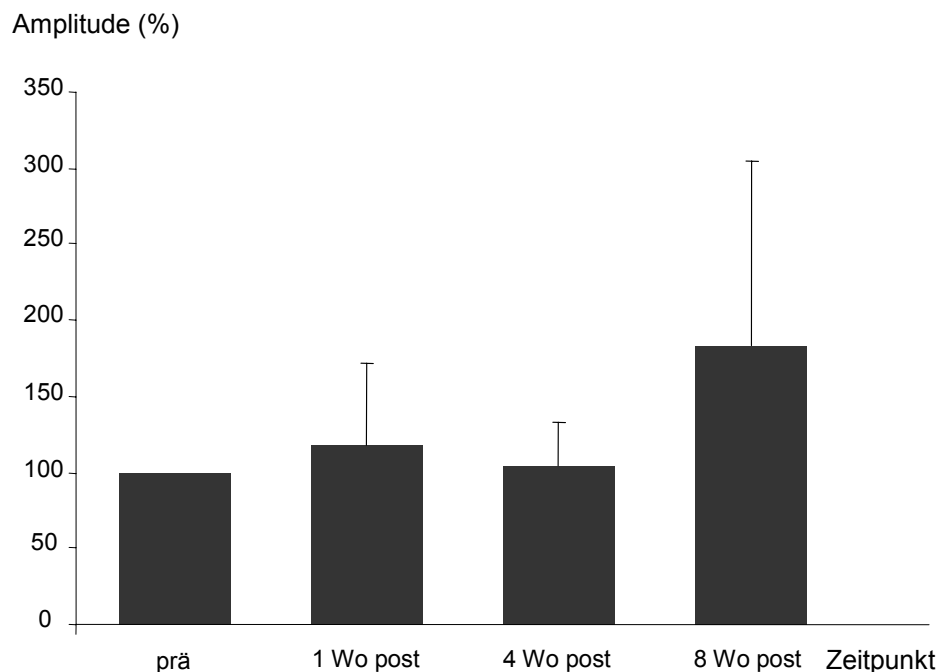


Abb.14: SAP-Amplitude vor und eine, vier und acht Wochen nach fünfminütigem SSSE. Da die SAP-Amplitude zwischen den einzelnen Tieren erheblich variierte, wurde der Ausgangswert vor SSSE in jedem Tier gleich 100 % gesetzt und nachfolgende Messwerte in Prozent des Ausgangswertes dargestellt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere. Man beachte, dass die Skalierung der y-Achse anders ist als in Abb.13 (3 Stunden-SSSE-Gruppe).

3.4.1.1.3 Stimulationskontrollen

In der Gruppe der unter Pentobarbital stimulierten Tiere betrug die SAP-Amplitude vor der Stimulation im Mittel $10,0 \pm 7,2$ mV ($n = 10$).

Eine Woche nach der Stimulation war ein ausreichend großes Potenzial in sechs Tieren auslösbar, die SAP-Amplitude betrug im Mittel $91,4 \pm 55,3$ % des Ausgangswertes. Dabei war die Amplitude in drei Tieren verringert (26,6 %, 30,8 % und 86,6 %), in drei Tieren vergrößert (114,1 %, 121,1 % und 169,1 %). Ein signifikanter Unterschied zu den vor der Stimulation gemessenen Werten bestand nicht ($p = 0,365$).

Vier Wochen nach Stimulation betrug die mittlere SAP-Amplitude in sieben Tieren $68,7 \pm 43,2$ %. Eine im Vergleich zum vor der Stimulation gemessenen Wert vergrößerte Amplitude fand sich in einem Tier (142,7 %), eine annähernd gleiche ebenfalls in einem Tier (101,8 %), eine verringerte Amplitude bei den restlichen fünf Tieren (28,3 %, 35,3 %, 39,6 %, 44,0 % und 88,9 %). Die Veränderung der SAP-Amplitude war nicht signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten ($p = 0,080$).

Acht Wochen nach Stimulation war eine SAP-Amplitude größer als 2 mV bei fünf Tieren zu erhalten, die mittlere SAP-Amplitude betrug $104,2 \pm 61,1$ % der Ausgangswerte. Dieser Mittelwert begründet sich auf eine Amplitudenvergrößerung in drei Tieren (115,5 %, 120,5 % und 187 %) und eine Amplitudenverminderung in zwei Tieren (22,7 % und 74,4 %). Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zu den vor Stimulation gemessenen Werten ($p = 0,920$). Die SAP-Amplitude vor und im zeitlichen Verlauf nach der Stimulation unter Pentobarbital zeigt Abbildung 15.

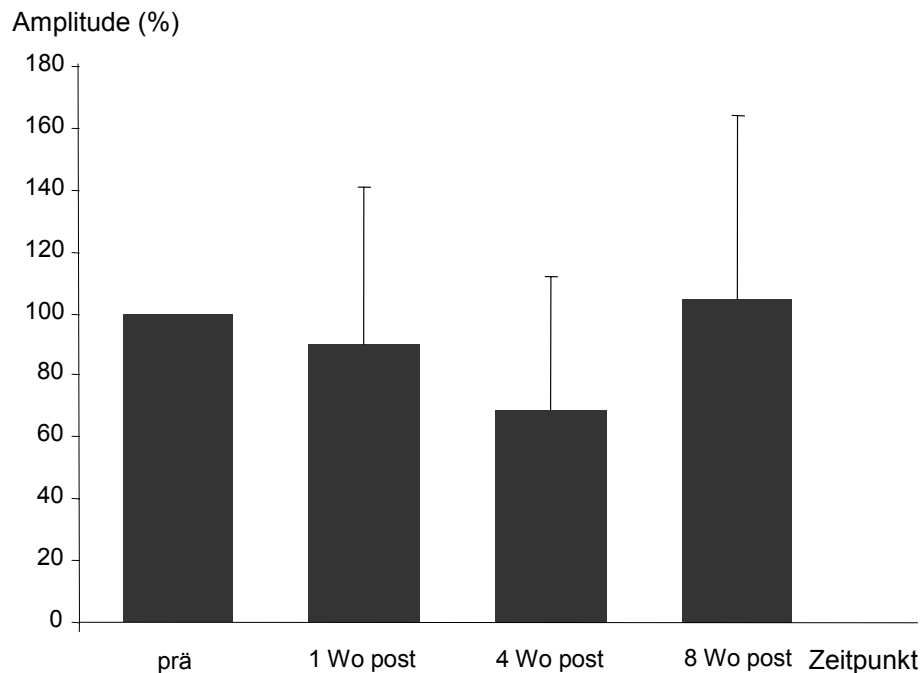


Abb.15: SAP-Amplitude vor und eine, vier und acht Wochen nach Stimulation unter Pentobarbital. Da die SAP-Amplitude zwischen den einzelnen Tieren erheblich variierte, wurde der Ausgangswert vor SSSE in jedem Tier gleich 100 % gesetzt und nachfolgende Messwerte in Prozent des Ausgangswertes dargestellt. Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere.

3.4.1.1.4 Elektrodenkontrollen

Die SAP-Amplitude der mit Elektroden implantierten, nicht stimulierten Tiere betrug vor der Injektion von Pentobarbital (zum Zeitpunkt der Stimulation in den anderen Gruppen) im Mittel $5,00 \pm 1,82$ mV ($n = 11$).

Eine Woche nach Barbituratinjektion betrug die SAP-Amplitude bei elf Tieren im Mittel $119,0 \pm 43,2$ % des Ausgangswertes. Die Amplitude war bei sieben Tieren im Vergleich zum Ausgangswert vergrößert (103,4 %, 106,2 %, 113,3 %, 135,1 %, 151,1 %, 184,2 % und 192,2 %), bei drei Tieren verringert (96,9 %, 50,9 % und 77,8 %) und bei einem Tier annähernd gleich geblieben (97,5 %). Die Werte waren nicht signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten ($p = 0,271$).

Vier Wochen nach Barbituratinjektion betrug die SAP-Amplitude bei acht Tieren im Mittel $89,8 \pm 25,1$ % des Ausgangswertes. Eine im Vergleich zum Ausgangswert

vergrößerte Amplitude fand sich bei zwei Tieren (122,2 % und 125,8 %), eine verminderte Amplitude bei fünf Tieren (58,5 %, 65,4 %, 71,1 %, 83,9 % und 91,2 %), eine annähernd konstant gebliebene Amplitude bei einem Tier (100,2 %). Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zu den Ausgangswerten ($p = 0,430$).

Acht Wochen nach Barbituratinjektion war ein suffizientes SAP bei sechs Tieren auslösbar, die SAP-Amplitude betrug im Mittel $86,6 \pm 27,6$ % des Ausgangswertes. Dabei war die SAP-Amplitude im Vergleich zum Ausgangswert bei vier Tieren vermindert (61,0 %, 62,3 %, 65,1 % und 93,8 %), bei zwei Tieren vergrößert (117,2 % und 120,0 %). Verglichen mit den Ausgangswerten fanden sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,467$). Abbildung 16 zeigt die SAP-Amplitude vor und im Zeitverlauf nach Barbituratinjektion.

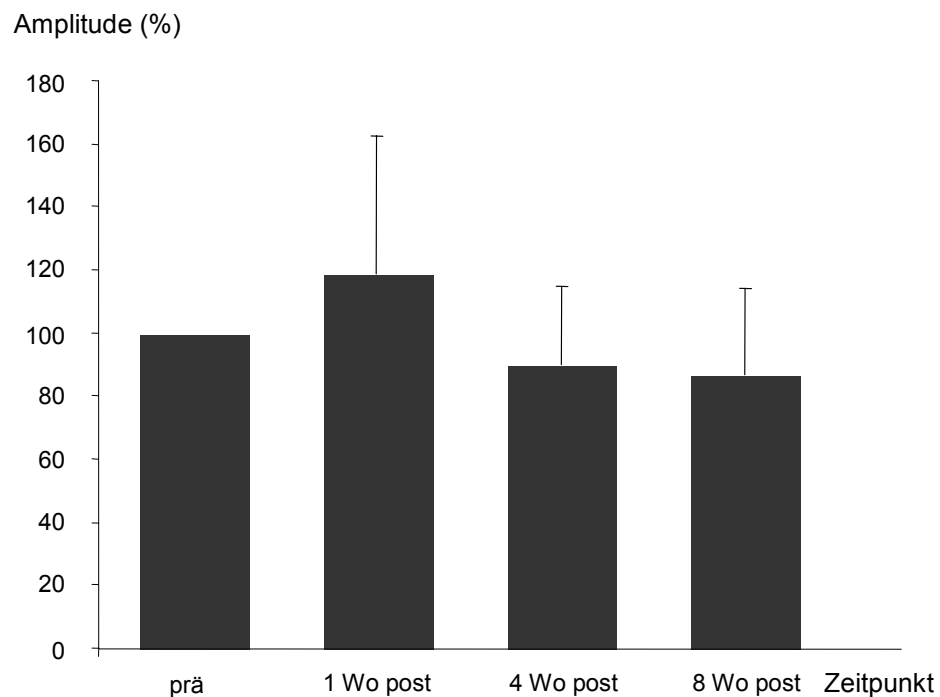


Abb.16: SAP-Amplitude in der Elektrodenkontrollgruppe vor und eine, vier und acht Wochen nach Pentobarbital-Applikation. Da die SAP-Amplitude zwischen den einzelnen Tieren erheblich variierte, wurde der Ausgangswert vor SSSE in jedem Tier gleich 100 % gesetzt und nachfolgende Messwerte in Prozent des Ausgangswertes dargestellt. Gezeigt sind jeweils die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere.

3.4.1.2 Summenaktionspotenzial: Latenz

3.4.1.2.1 Versuchsgruppe 3 Stunden SSSE

In der Gruppe der Tiere mit nach Stimulationsende drei Stunden andauerndem Status epilepticus betrug die SAP-Latenz vor der Stimulation im Durchschnitt $3,01 \pm 0,15$ ms ($n = 9$).

Eine Woche nach SSSE betrug die durchschnittliche SAP-Latenz $3,23 \pm 0,24$ ms ($n = 9$). Zu einer Latenzverlängerung kam es in allen mit Ausnahme von zwei Tieren. Die Latenz war zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant länger als vor der Stimulation ($p = 0,512$).

Vier Wochen nach SSSE betrug die SAP-Latenz in sechs Tieren im Durchschnitt $3,04 \pm 0,51$ ms. Dabei fand sich eine Verlängerung der Latenz in zwei, eine Verkürzung in vier Tieren.

Acht Wochen nach SSSE war die SAP-Latenz in insgesamt fünf Tieren im Mittel leicht verlängert auf $3,11 \pm 0,40$ ms. Bei zwei der Tiere fand sich eine Latenzverkürzung, bei drei Tieren eine Verlängerung. Zu den beiden späteren Messzeitpunkten nach Status epilepticus waren die Latenzen nicht signifikant unterschiedlich zu den vor Statusinduktion erhobenen Werten (vier Wochen post: $p = 0,956$, acht Wochen post: $p = 0,566$). Abbildung 17 zeigt die SAP-Latenz vor und zu den drei Messzeitpunkten nach Status epilepticus.

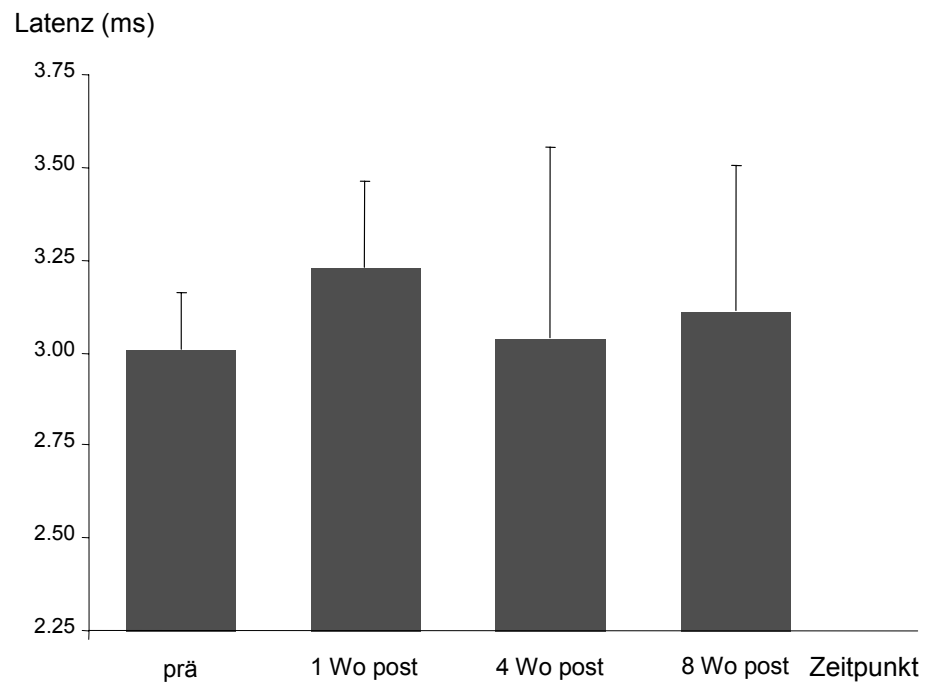


Abb.17: SAP-Latenz in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe vor und eine, vier und acht Wochen nach SSSE. Gezeigt sind die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere. Es ist zu beachten, dass die y-Achse nicht bei 0 beginnt.

3.4.1.2.2 Versuchsgruppe 5 Minuten SSSE

In der Gruppe der Tiere mit einer Statusdauer von fünf Minuten nach Ende der Stimulation betrug die SAP-Latenz vor Stimulation im Mittel $3,25 \pm 0,37$ ms ($n = 8$).

Eine Woche nach SSSE war die SAP-Latenz im Mittel geringfügig verlängert auf $3,29 \pm 0,45$ ms ($n = 8$). Im Einzelnen war die Latenz in 4 Tieren verkürzt, in 3 Tieren verlängert und in einem Tier exakt gleich. Das Ergebnis war nicht signifikant unterschiedlich zu den vor Stimulation erhobenen Werten ($p = 0,994$).

Vier Wochen nach SSSE war die SAP-Latenz im Durchschnitt auf $2,86 \pm 0,25$ ms verkürzt ($n = 5$). Eine Latenzverkürzung lag bei drei Tieren vor, eine Verlängerung bei einem Tier, bei einem weiteren Tier war die Latenz annähernd unverändert. Es bestand kein signifikanter Unterschied zu den Ausgangswerten ($p = 0,172$).

Acht Wochen nach SSSE war die durchschnittliche SAP-Latenz weiter reduziert

auf $2,72 \pm 0,09$ ms ($n = 7$). Mit Ausnahme eines Tieres mit annähernd unveränderter Latenz lag eine Latenzverkürzung bei allen Tieren vor. Die Verkürzung der SAP-Latenz war signifikant im Vergleich zu vor der Stimulation ($p < 0,01$). In Abbildung 18 sind die SAP-Latenzen vor und zu den drei Messzeitpunkten nach Status dargestellt. Um die Einheitlichkeit des Befundes zu verdeutlichen, ist im zweiten Teil der Abbildung die zeitliche Entwicklung der SAP-Latenz für die einzelnen Tiere dargestellt.

3.4.1.2.3 Stimulationskontrollen

Bei zehn unter Pentobarbital stimulierten Tieren betrug die SAP-Latenz vor Stimulation im Durchschnitt $3,19 \pm 0,34$ ms.

Eine Woche nach Stimulation war die SAP-Latenz im Mittel leicht verlängert auf $3,27 \pm 0,28$ ms ($n = 6$). Im Einzelnen betrachtet war die Latenz in zwei Tieren verkürzt, in 3 Tieren annähernd unverändert und in einem Tier verlängert.

Vier Wochen nach Stimulation war die durchschnittliche SAP-Latenz weiter verlängert auf $3,42 \pm 0,24$ ms ($n = 7$). Dabei war die Latenz in einem Tier im Vergleich zum Ausgangswert exakt gleich, in zwei Tieren annähernd gleich und in vier Tieren verlängert.

Acht Wochen nach Stimulation hatte die mittlere SAP-Latenz mit $3,20 \pm 0,18$ ms wieder annähernd den Ausgangswert erreicht ($n = 5$). Bei zwei der Tiere war die Latenz verkürzt, bei einem verlängert, bei zwei Tieren annähernd gleich. Zu keinem der drei untersuchten Zeitpunkte war das Ergebnis signifikant unterschiedlich zu den vor der Stimulation erhobenen Messwerten (eine Woche post: $p = 0,577$, vier Wochen post: $p = 0,081$, acht Wochen post: $p = 0,443$). Die SAP-Latenz vor und im zeitlichen Verlauf nach der Stimulation unter Barbiturat zeigt Abbildung 19.

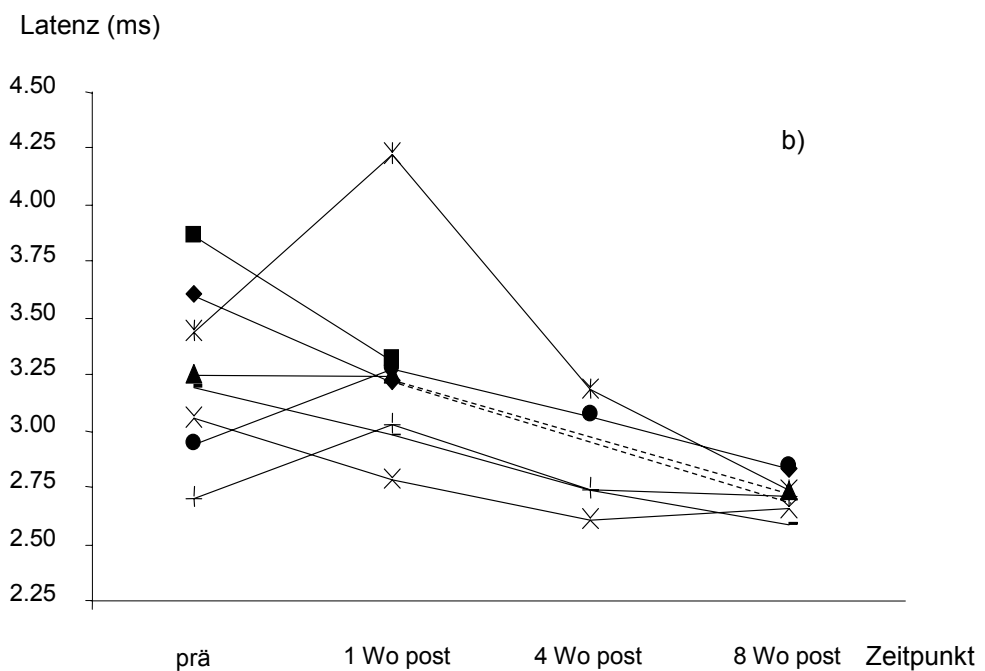
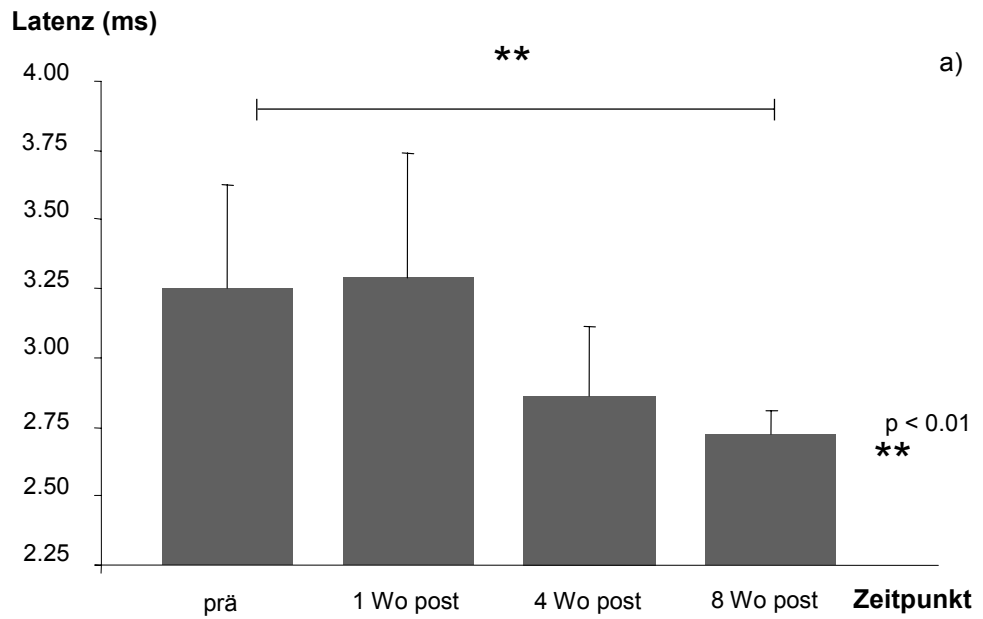


Abb.18: SAP-Latenz in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe vor und eine, vier und acht Wochen nach SSSE a) Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere. b) Einzeldarstellung für jedes Tier. Die Messwerte eines Tieres sind jeweils durch Linien verbunden, gestrichelte Linien verbinden Messwerte, die nicht direkt aufeinander folgen. Es ist zu beachten, dass die y-Achse nicht bei 0 beginnt.

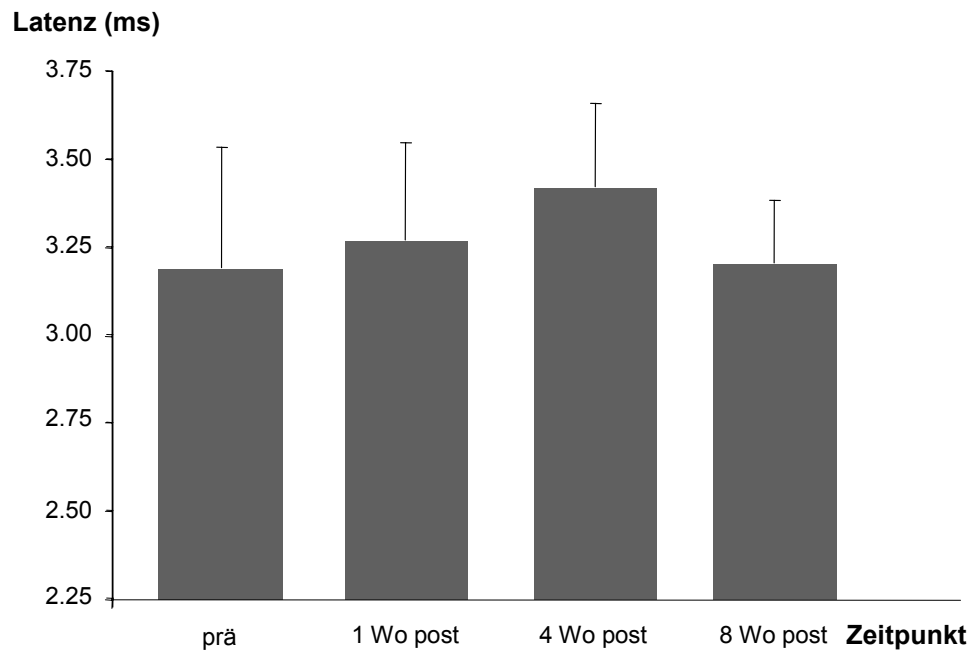


Abb.19: SAP-Latenz in der Stimulationskontrollgruppe vor und eine, vier und acht Wochen nach Stimulation in Pentobarbital-Narkose. Gezeigt sind die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere. Man beachte, dass die y-Achse nicht bei 0 beginnt.

3.4.1.2.4 Elektrodenkontrollen

Vor der Injektion von Pentobarbital (zum Zeitpunkt der Stimulation in den anderen Versuchsgruppen) betrug die mittlere SAP-Latenz in elf Tieren $3,05 \pm 0,42$ ms.

Eine Woche nach Barbituratinjektion war die SAP-Latenz im Mittel mit $3,06 \pm 0,37$ ms annähernd gleich geblieben ($n = 11$). Bei Betrachtung der Messwerte der einzelnen Tiere war die Latenz in zwei Tieren verlängert, in vier Tieren verkürzt und in fünf Tieren annähernd unverändert.

Vier Wochen nach Barbituratinjektion zeigte sich die SAP-Latenz im Mittel leicht verkürzt auf $2,87 \pm 0,38$ ms ($n = 8$). Verglichen mit den Ausgangswerten war die Latenz in einem Tier verlängert, in vier Tieren verkürzt, in zwei Tieren annähernd und in einem Tier exakt gleich.

Acht Wochen nach Barbituratinjektion war die durchschnittliche SAP-Latenz anhaltend verkürzt auf $2,89 \pm 0,20$ ms ($n = 6$). Im Einzelnen ergab sich eine verkürzte Latenz in zwei, eine annähernd gleiche Latenz in 4 Tieren. Im Vergleich mit den jeweiligen Ausgangswerten zeigten sich zu keinem der drei Messzeitpunkte signifikant unterschiedliche Werte (eine Woche post: $p = 0,859$, vier Wochen post: $p = 0,354$, acht Wochen post: $p = 0,130$). Die SAP-Latenzen vor und im zeitlichen Verlauf nach Pentobarbitalinjektion sind in Abbildung 20 graphisch dargestellt.

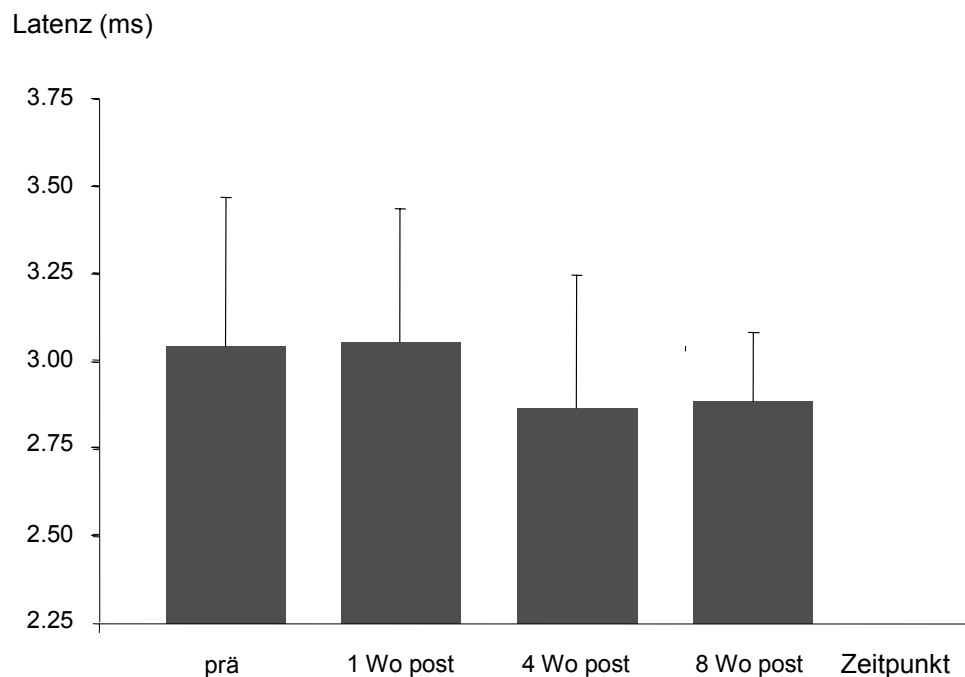


Abb.20: SAP-Latenz in der Elektrodenkontrollgruppe vor und eine, vier und acht Wochen nach Injektion von Pentobarbital. Gezeigt sind die Mittelwerte mit SD aller zum jeweiligen Zeitpunkt gemessenen Tiere. Man beachte, dass die y-Achse nicht bei 0 beginnt.

3.4.2 Paired pulse-Messung

3.4.2.1 Vor Statusinduktion

Das Paired pulse-Verhalten wurde in insgesamt 38 Tieren unter Kontrollbedingungen vor Statusinduktion gemessen. Die mittlere Ratio aus der Amplitude des zweiten Summenaktionspotenzials zur Amplitude des ersten (SAP2 (mV)/SAP1 (mV)) ergab für die einzelnen Interpulsintervalle (IPI) die folgenden

Werte: bei IPI 20 ms $0,07 \pm 0,16$, bei IPI 25 ms $0,13 \pm 0,24$, bei IPI 30 ms $0,24 \pm 0,26$, bei IPI 40 ms $0,54 \pm 0,44$, bei IPI 50 ms $0,69 \pm 0,37$, bei IPI 100 ms $1,11 \pm 0,26$, bei IPI 300 ms $0,81 \pm 0,15$, bei IPI 500 ms $0,82 \pm 0,19$, bei IPI 1000 ms $0,86 \pm 0,18$. Somit erfolgte beim kürzesten gemessenen Interpulsintervall von 20 ms eine annähernd komplette Inhibition des zweiten Summenaktionspotenzials, mit zunehmendem Reizabstand nahm diese Inhibition kontinuierlich ab bis zum Erreichen einer leichten Fazilitierung der zweiten Reizantwort bei 100 ms Interpulsintervall. Mit weiter zunehmendem Reizintervall trat erneut eine geringe Inhibition auf. Wie Abbildung 21 zeigt, war das Paired pulse-Verhalten vor Stimulation in den später den verschiedenen Gruppen zugeordneten Tieren nahezu identisch. Ein geringfügiges Abweichen der Kontroll- bzw. Prä-Werte in den folgenden Abbildungen von den in Abbildung 21 dargestellten beruht darauf, dass in den folgenden Abbildungen die Ausgangswerte nicht aller, sondern jeweils nur der zum betreffenden Zeitpunkt gemessenen Tiere dargestellt wurden, d.h. Gruppen von Tieren zu den einzelnen Zeitpunkten wurden nur mit ihren eigenen Kontrollwerten verglichen. Abbildung 22 zeigt anhand ausgewählter Interpulsintervalle den typischen Verlauf der Paired pulse-Inhibition unter Normalbedingungen am Beispiel eines Tieres aus der 3 Stunden-SSSE-Gruppe.

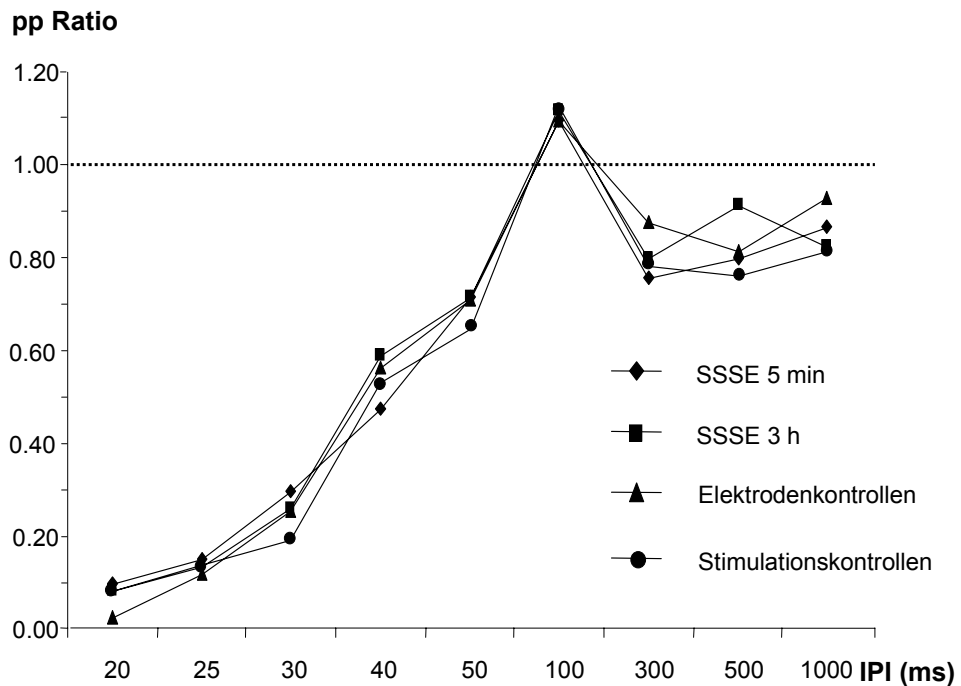


Abb.21: Paired pulse-Kurven der vier Versuchsgruppen vor der Stimulation bzw. Barbiturat-injektion. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf die Darstellung der Standardabweichung verzichtet, diese ist dem Text zu entnehmen. Die pp Ratio ist das Verhältnis der Amplitude der zweiten Reizantwort zur Amplitude der ersten (SAP2 (mV)/SAP1 (mV)). Werte kleiner 1 entsprechen einer Inhibition, Werte größer 1 einer Fazilitierung der zweiten Reizantwort.

3.4.2.2 Zeitverlauf nach Status epilepticus

3.4.2.2.1 Versuchsgruppe 3 Stunden SSSE

Das Paired pulse-Verhalten wurde bei neun Tieren, bei denen der Status epilepticus 3 Stunden nach Stimulationsende beendet worden war, nach Ablauf von einer Woche gemessen. Es ergaben sich die folgenden Werte für die Paired pulse-Ratio: bei IPI 20 ms $0,64 \pm 0,36$, bei IPI 25 ms $0,70 \pm 0,30$, bei IPI 30 ms $0,75 \pm 0,25$, bei IPI 40 ms $0,87 \pm 0,22$, bei IPI 50 ms $0,87 \pm 0,08$, bei IPI 100 ms $1,07 \pm 0,13$, bei IPI 300 ms $1,02 \pm 0,21$, bei IPI 500 ms $0,96 \pm 0,13$, bei IPI 1000 ms $1,00 \pm 0,06$. Im Vergleich zu den vor Statusinduktion in denselben Tieren erhobenen Kontrollwerten ergab sich nach einer Woche ein signifikanter Verlust der Inhibition der zweiten Reizantwort bei den kurzen Interpulsintervallen 20 ms ($p = 0,001$), 25 ms ($p < 0,0001$) und 30 ms ($p < 0,0001$), sowie bei den langen Interpulsintervallen

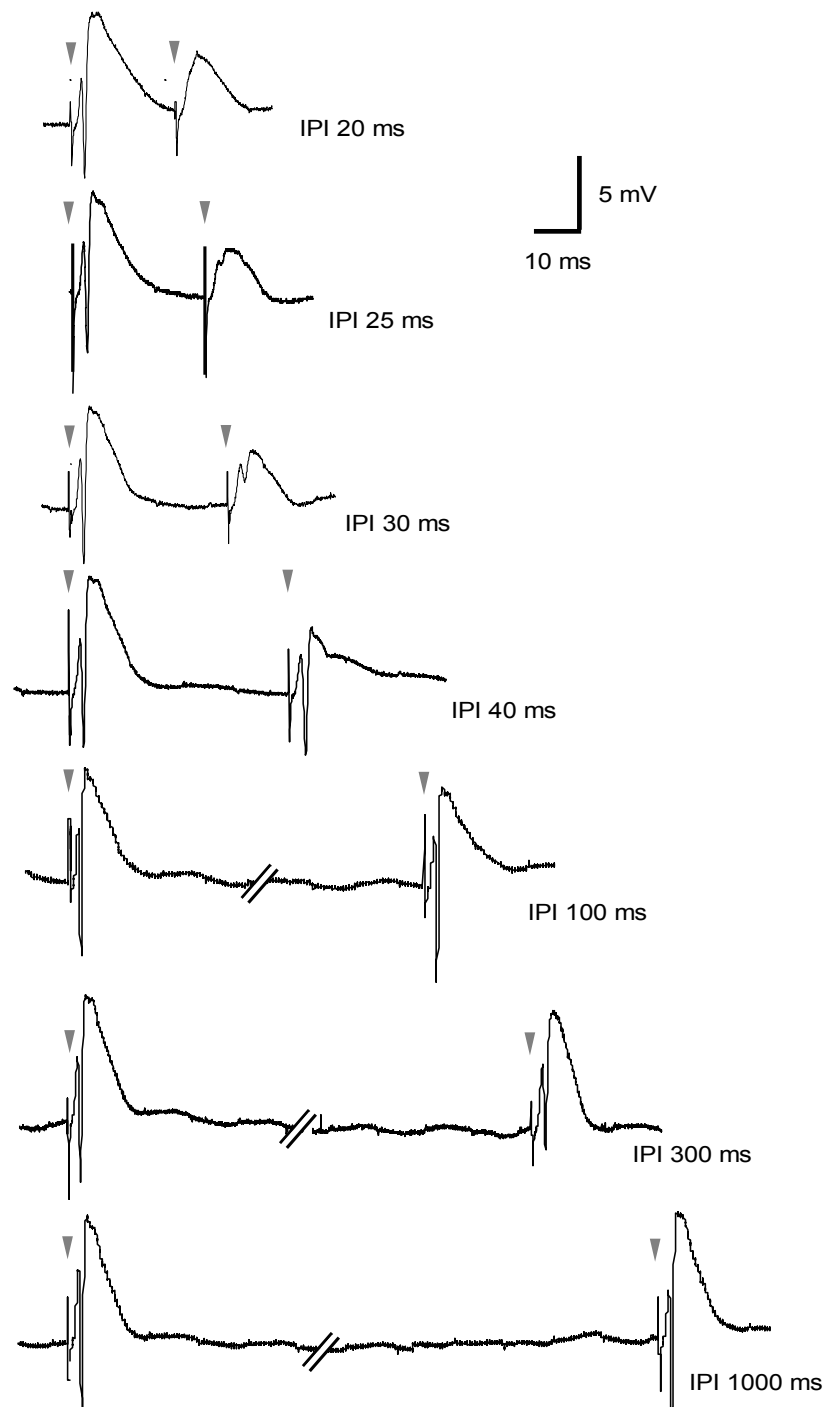


Abb.22: Paired pulse-Inhibition bei 20, 25, 30, 40, 100, 300 und 1000 ms Interpulsintervall (IPI) vor der Stimulation am Beispiel eines Tieres. Beim kürzesten verwendeten Interpulsintervall, 20 ms, kommt es zu einer maximalen Inhibition der zweiten Reizantwort, d.h. ein SAP bleibt völlig aus. Mit zunehmendem IPI nimmt die Inhibition mehr und mehr ab, bis bei 100 ms IPI eine geringe Fazilitierung der zweiten Reizantwort auftritt. Bei Interpulsintervallen größer als 100 ms kommt es erneut zu einer Inhibition, diese ist jedoch deutlich geringer ausgeprägt als bei den kurzen Interpulsintervallen. ▼ kennzeichnet das Stimulationsartefakt (verkürzt dargestellt).

300 ms ($p < 0,05$) und 1000 ms ($p < 0,05$). Ein Inhibitionsverlust bei den genannten Interpulsintervallen trat bei allen gemessenen Tieren auf, lediglich das Ausmaß des Verlustes variierte zwischen den einzelnen Tieren. Das Verhältnis von mit den Reizabständen 40 ms ($p = 0,084$), 50 ms ($p = 0,366$), 100 ms ($p = 0,483$) und 500 ms ($p = 0,613$) evozierten Pulspaaren war nicht signifikant unterschiedlich zu den vor Statusinduktion erhobenen Werten. Abbildung 23 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und eine Woche nach Status epilepticus für die 3 Stunden-SSSE-Gruppe.

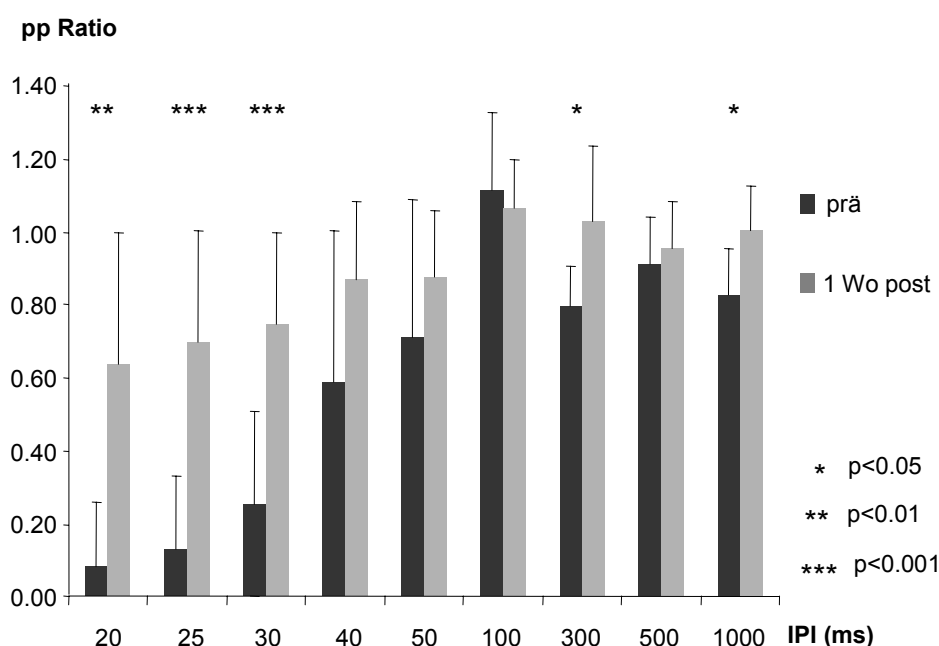


Abb.23: Paired pulse-Inhibition in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und eine Woche nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 20-30 ms Interpulsintervall (IPI) hochsignifikant, bei 300 ms und 1000 ms Interpulsintervall signifikant reduziert.

Vier Wochen nach Status epilepticus konnte eine Paired pulse-Messung bei sechs Tieren aus der 3 Stunden-SSSE-Gruppe durchgeführt werden. Für die Paired pulse-Ratio ergaben sich die folgenden Werte: bei IPI 20 ms $0,43 \pm 0,24$, bei IPI 25 ms $0,48 \pm 0,17$, bei IPI 30 ms $0,56 \pm 0,20$, bei IPI 40 ms $0,67 \pm 0,28$, bei IPI 50ms $0,81 \pm 0,32$, bei IPI 100 ms $0,90 \pm 0,27$, bei IPI 300 ms $0,86 \pm 0,27$, bei IPI 500 ms $0,88 \pm 0,28$, bei IPI 1000 ms $0,88 \pm 0,30$. Die Messwerte zeigten einen bei den

kurzen Interpulsintervallen 20 ms ($p < 0,05$), 25 ms ($p < 0,0001$) und 30 ms ($p < 0,05$) immer noch signifikanten Inhibitionsverlust, im Vergleich zur früheren Messung, eine Woche nach Status, war dieser Inhibitionsverlust leicht rückläufig. Eine Fazilitierung bei IPI 100 ms wurde zu diesem Messzeitpunkt im Durchschnitt nicht erreicht, ebenso wie die zu den übrigen Reizintervallen erhobenen Verhältniswerte war dieser Wert aber nicht signifikant unterschiedlich zu den Kontrollwerten (IPI 40 ms: $p = 0,269$, IPI 50 ms: $p = 0,314$, IPI 100 ms: $p = 0,231$, IPI 300 ms: $p = 0,051$, IPI 500 ms: $p = 0,323$, IPI 1000 ms: $p = 0,155$). Abbildung 24 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und vier Wochen nach Status epilepticus für die 3 Stunden-SSSE-Gruppe.

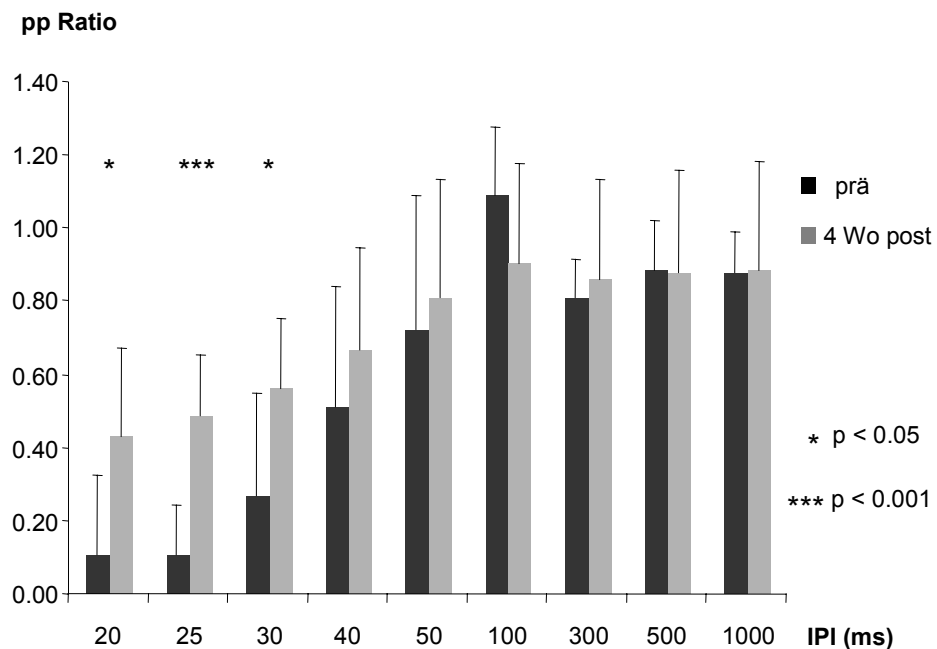


Abb.24: Paired pulse-Inhibition in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und vier Wochen nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 25 ms Interpulsintervall (IPI) hochsignifikant, bei 20 ms und 30 ms Interpulsintervall signifikant reduziert. Es sind nur die Ausgangswerte der 5 Tiere dargestellt, die nach vier Wochen gemessen wurden. Bei den langen Interpulsintervallen ≥ 300 ms war die Inhibition nicht mehr unterschiedlich zu den Ausgangswerten.

Zum dritten Messzeitpunkt, acht Wochen nach Status epilepticus, war eine Paired pulse-Messung bei fünf Tieren aus der 3 Stunden-SSSE-Gruppe möglich. Für die

Paired pulse-Ratio wurden die folgenden Werte ermittelt: bei IPI 20 ms $0,24 \pm 0,19$, bei IPI 25 ms $0,40 \pm 0,18$, bei IPI 30 ms $0,44 \pm 0,21$, bei IPI 40 ms $0,50 \pm 0,14$, bei IPI 50 ms $0,71 \pm 0,29$, bei IPI 100 ms $0,93 \pm 0,28$, bei IPI 300 ms $0,75 \pm 0,24$, bei IPI 500 ms $0,83 \pm 0,24$, bei IPI 1000 ms $0,82 \pm 0,22$. Es ergaben sich keinerlei signifikante Unterschiede zu den vor Statusinduktion erhobenen Kontrollwerten (IPI 20 ms: $p = 0,884$, IPI 25 ms: $p = 0,127$, IPI 30 ms: $p = 0,605$, IPI 40 ms: $p = 0,531$, IPI 50 ms: $p = 0,850$, IPI 100 ms: $p = 0,630$, IPI 300 ms: $p = 0,575$, IPI 500 ms: $p = 0,167$, IPI 1000 ms: $p = 0,627$). Abbildung 25 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und acht Wochen nach Status epilepticus für die 3 Stunden-SSSE-Gruppe.

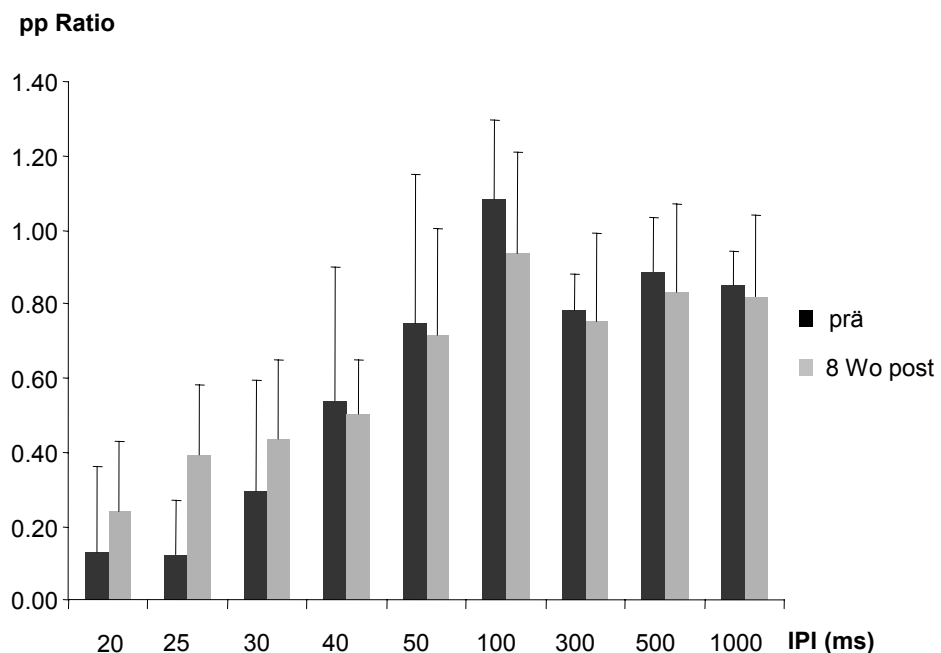


Abb.25: Paired pulse-Inhibition in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und acht Wochen nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war zu keinem der gemessenen Interpulsintervalle (IPI) signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten. Es sind nur die Ausgangswerte der fünf Tiere dargestellt, die nach acht Wochen gemessen wurden.

Fasst man die zeitliche Entwicklung der Inhibition nach dreistündigem SSSE zusammen, so kam es eine Woche nach SSSE zu einem ausgeprägten Inhibitionsverlust vor allem bei den kurzen Interpulsintervallen 20 bis 40 ms. Im weiteren

Verlauf kam es zu einer zunehmenden Wiederherstellung der Inhibition, acht Wochen nach SSSE waren schliesslich annähernd Ausgangswerte erreicht. Bei Betrachtung der Werte einzelner Tiere fand sich dieser reversible Inhibitionsverlust bei vier von fünf Tieren, die zu allen drei Zeitpunkten gemessen werden konnten. In einem Tier war der Inhibitionsverlust zwar vier Wochen nach SSSE rückläufig im Vergleich zu einer Woche nach SSSE, blieb jedoch im weiteren Verlauf konstant. Abbildung 26 zeigt den zeitlichen Verlauf der Paired pulse-Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe, gezeigt sind nur die Daten der zu allen drei Zeitpunkten nach SSSE untersuchten Tiere (n = 5).

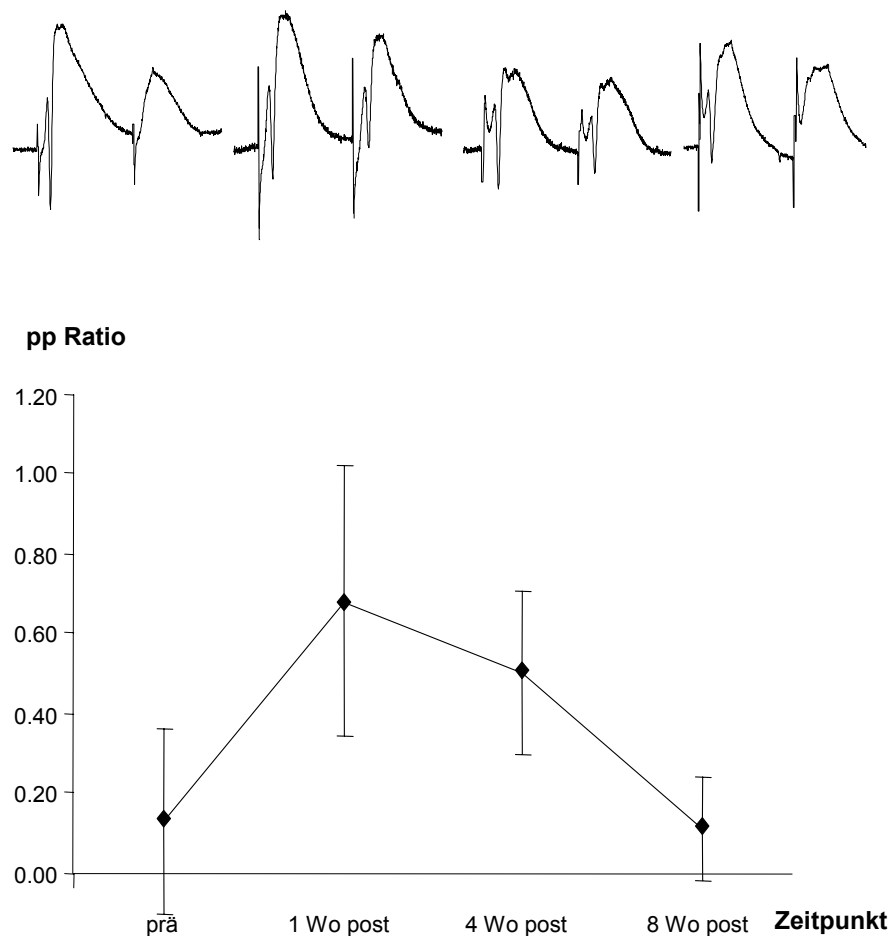


Abb.26: Zeitlicher Verlauf der maximalen Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SD von fünf Tieren, von denen zu allen drei Zeitpunkten nach SSSE Messwerte existieren. Die Paired pulse-Inhibition war eine Woche nach SSSE maximal beeinträchtigt, im weiteren Verlauf zeigte sich eine zunehmende Normalisierung. Der obere Teil der Abbildung zeigt die Messungen eines Tieres aus der 3 Stunden-SSSE-Gruppe zu den vier Zeitpunkten bei 20 ms Interpulsintervall.

3.4.2.2.2 Versuchsgruppe 5 Minuten SSSE

Die Paired pulse-Ratio wurde bei acht Tieren, bei denen ein Status epilepticus fünf Minuten nach Ende der Stimulation beendet worden war, nach einer Woche bestimmt. Es ergaben sich die folgenden Werte: bei IPI 20 ms $0,40 \pm 0,38$, bei IPI 25 ms $0,47 \pm 0,38$, bei IPI 30 ms $0,48 \pm 0,38$, bei IPI 40 ms $0,65 \pm 0,35$, bei IPI 50 ms $0,83 \pm 0,31$, bei IPI 100 ms $1,03 \pm 0,12$, bei IPI 300 ms $1,01 \pm 0,28$, bei IPI 500 ms $0,93 \pm 0,13$, bei IPI 1000 ms $1,02 \pm 0,12$. Im Vergleich zu den Kontrollmessungen in denselben Tieren vor Statusinduktion war ein signifikanter Verlust der Inhibition der zweiten Reizantwort bei den Interpulsintervallen 20 ms ($p < 0,05$) und 30 ms ($p < 0,05$), sowie bei 300 ms ($p < 0,05$) zu verzeichnen. Zu den übrigen Reizabständen erhobene Verhältniswerte zeigten keine signifikanten Unterschiede zu den entsprechenden Kontrollen (IPI 25 ms: $p = 0,134$, IPI 40 ms: $p = 0,538$, IPI 50 ms: $p = 0,456$, IPI 100 ms: $p = 0,421$, IPI 500 ms: $p = 0,067$, IPI 1000 ms: $p = 0,160$).

Abbildung 27 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und eine Woche nach Status epilepticus für die 5 Minuten-SSSE-Gruppe.

Vier Wochen nach SSSE konnte eine Paired pulse-Messung in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe bei sechs Tieren durchgeführt werden, mit den folgenden Ergebnissen für die Ratio: bei IPI 20 ms $0,36 \pm 0,44$, bei IPI 25 ms $0,48 \pm 0,36$, bei IPI 30 ms $0,43 \pm 0,39$, bei IPI 40 ms $0,52 \pm 0,38$, bei IPI 50 ms $0,58 \pm 0,35$, bei IPI 100 ms $0,79 \pm 0,16$, bei IPI 300 ms $0,78 \pm 0,15$, bei IPI 500 ms $0,83 \pm 0,17$, bei IPI 1000 ms $0,87 \pm 0,13$. Im Vergleich zum Messzeitpunkt eine Woche nach Status epilepticus lag bei den kurzen Interpulsintervallen ein leicht rückläufiger Inhibitionsverlust vor, dieser war im Vergleich zu den Ausgangswerten nur noch bei IPI 25 ms signifikant ($p < 0,05$). Außerdem ergab sich ein signifikanter Verlust der unter Kontrollbedingungen vorhandenen Fazilitierung bei 100 ms Interpulsintervall ($p < 0,05$). Die für die übrigen Reizabstände errechneten Verhältniswerte zeigten keine signifikanten Abweichungen von den vor SSSE erhobenen Werten (IPI 20 ms: $p = 0,160$, IPI 30 ms: $p = 0,232$, IPI 40 ms: $p = 0,393$, IPI 50 ms: $p = 0,478$, IPI 300 ms: $p = 0,760$, IPI 500 ms: $p = 0,457$, IPI 1000 ms: $p = 0,777$.) Abbildung 28

zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und vier Wochen nach Status epilepticus für die 5 Minuten-SSSE-Gruppe.

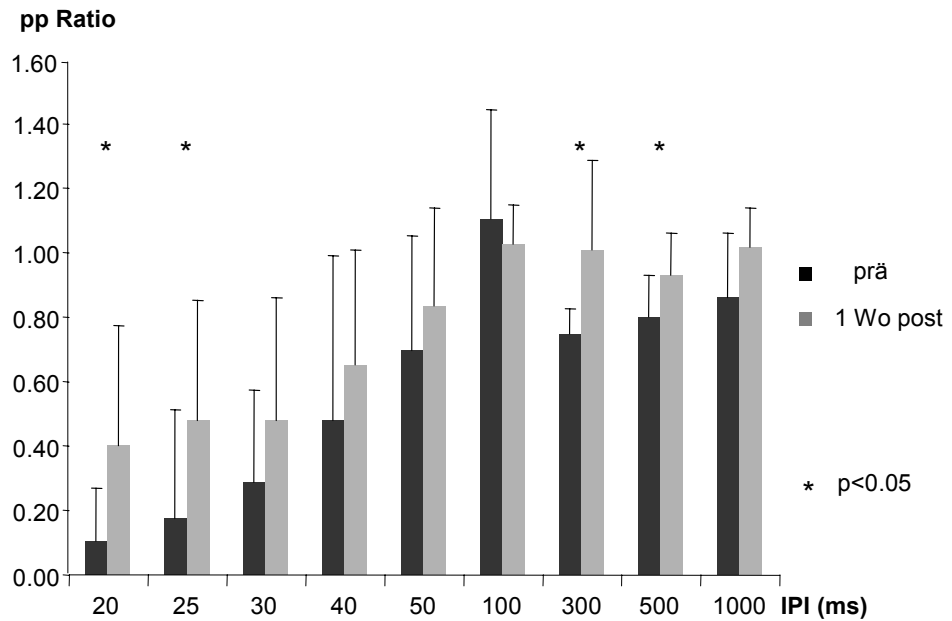


Abb.27: Paired pulse-Inhibition in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und eine Woche nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 20 ms und 25 ms Interpulsintervall (IPI), sowie bei 300 ms und 500 ms Interpulsintervall signifikant reduziert.

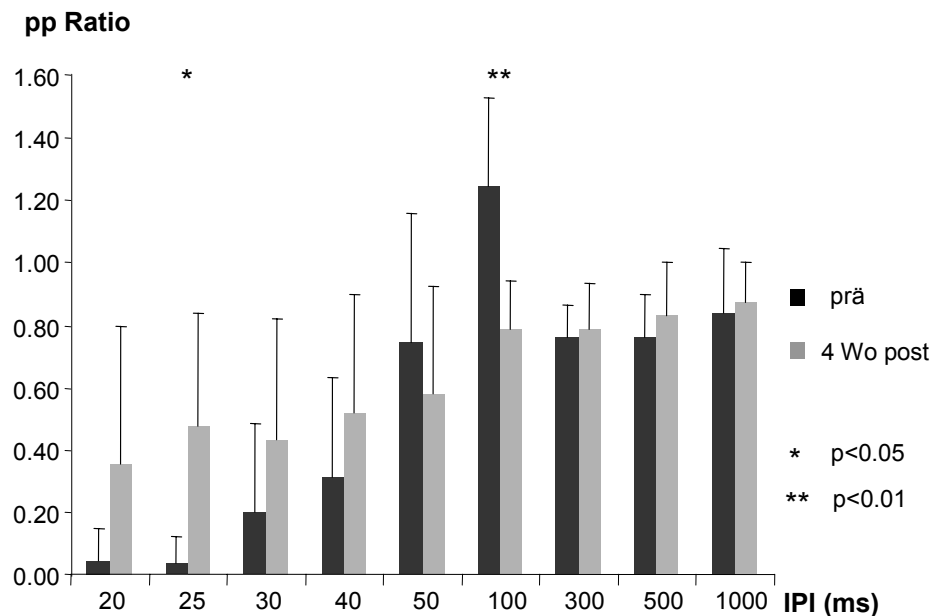


Abb.28: Paired pulse-Inhibition in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und vier Wochen nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 25 ms Interpulsintervall (IPI) signifikant reduziert. Bei 100 ms Interpulsintervall trat statt einer Fazilitierung eine leicht Inhibition des zweiten Reizes auf, der Unterschied war hochsignifikant. Es sind nur die Ausgangswerte der sechs Tiere dargestellt, die nach vier Wochen gemessen wurden. Bei den langen Interpulsintervallen ≥ 300 ms war die Inhibition nicht mehr unterschiedlich zu den Ausgangswerten.

Acht Wochen nach Status epilepticus war eine Paired pulse-Messung bei sieben Tieren aus der 5 Minuten-SSSE-Gruppe möglich. Die Paired pulse-Ratio hatte die folgenden Werte angenommen: bei IPI 20 ms $0,40 \pm 0,26$, bei IPI 25 ms $0,48 \pm 0,33$, bei IPI 30 ms $0,51 \pm 0,33$, bei IPI 40 ms $0,61 \pm 0,33$, bei IPI 50 ms $0,72 \pm 0,33$, bei IPI 100 ms $0,99 \pm 0,10$, bei IPI 300 ms $0,82 \pm 0,18$, bei IPI 500 ms $0,79 \pm 0,11$, bei IPI 1000 ms $0,90 \pm 0,17$. Ein signifikanter Inhibitionsverlust bestand zu diesem Zeitpunkt lediglich bei 20 ms Interpulsintervall ($p < 0,05$), alle anderen Werte waren nicht signifikant unterschiedlich zu den Kontrollwerten (IPI 25 ms: $p = 0,080$, IPI 30 ms: $p = 0,232$, IPI 40 ms: $p = 0,712$, IPI 50 ms: $p = 0,858$, IPI 100 ms: $p = 0,201$, IPI 300 ms: $p = 0,294$, IPI 500 ms: $p = 0,980$, IPI 1000 ms: $p =$

0,551). Abbildung 29 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und acht Wochen nach Status epilepticus für die 5 Minuten-SSSE-Gruppe.

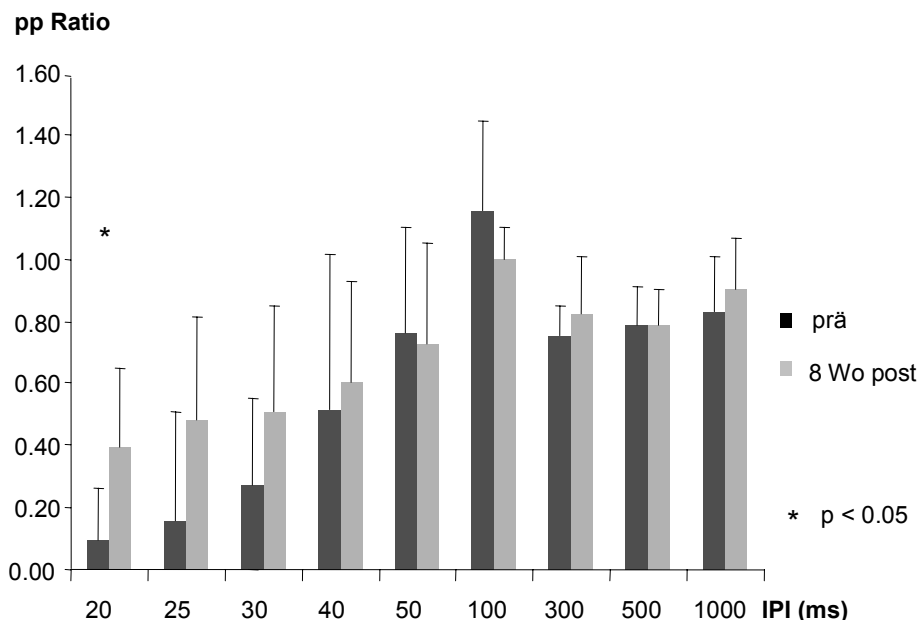


Abb.29: Paired pulse-Inhibition in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe vor (dunkle Balken) und acht Wochen nach SSSE (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 20 ms Interpulsintervall (IPI) signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten. Es sind nur die Ausgangswerte der sieben Tiere dargestellt, die nach acht Wochen gemessen wurden.

Bei Betrachtung der Paired pulse-Inhibition im zeitlichen Verlauf nach fünfminütigem SSSE ergibt sich folgendes Ergebnis: der größte Inhibitionsverlust findet sich eine Woche nach SSSE, vier Wochen nach SSSE hat die Inhibition leicht wieder zugenommen, nähert sich acht Wochen nach SSSE aber nicht weiter den Ausgangswerten an. Der Verlauf der Inhibition in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe war unter den Tieren nicht einheitlich. Von sechs Tieren, für die zu allen drei Zeitpunkten Messwerte vorliegen, zeigten drei einen innerhalb der acht Wochen reversiblen Inhibitionsverlust. Bei zwei Tieren war der Inhibitionsverlust nach acht Wochen größer als nach einer Woche. Bei einem Tier war die Inhibition zu allen drei Zeitpunkten nicht beeinträchtigt. Abbildung 30 zeigt den zeitlichen Verlauf der maximalen Paired pulse-Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall, gezeigt sind die Daten

der Tiere, die zu allen drei Zeitpunkten nach SSSE gemessen werden konnten (n = 6).

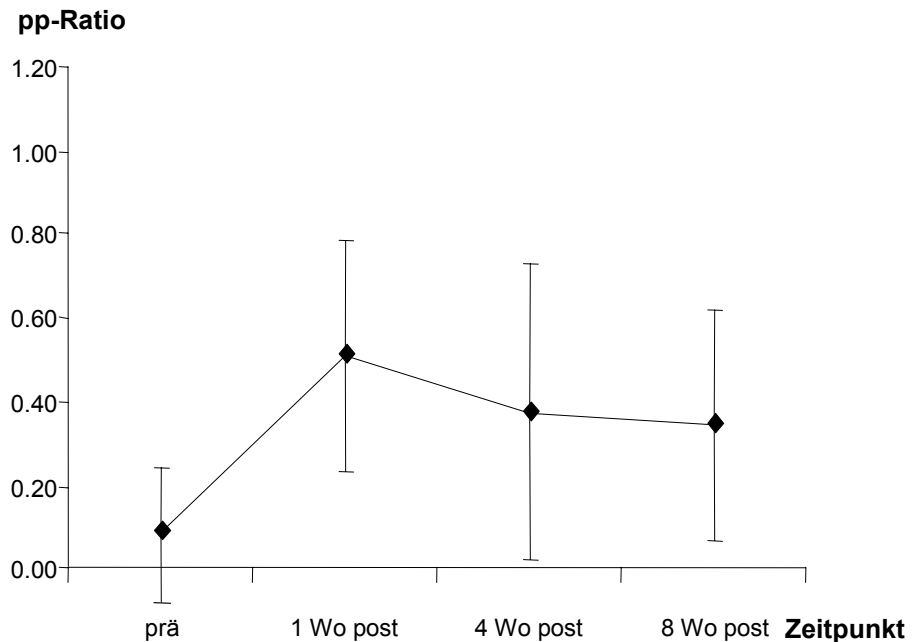


Abb.30: Zeitlicher Verlauf der maximalen Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SD von sechs Tieren, von denen zu allen drei Zeitpunkten nach SSSE Messwerte existieren. Die Paired pulse-Inhibition war eine Woche nach SSSE maximal beeinträchtigt, näherte sich vier Wochen nach SSSE den Ausgangswerten an und blieb danach konstant.

3.4.2.2.3 Stimulationskontrollen

Das Paired pulse-Verhalten wurde bei sechs unter Pentobarbital stimulierten Tieren nach Ablauf von einer Woche gemessen. Die Berechnung der Paired pulse-Ratio ergab die folgenden Werte: bei IPI 20 ms $0,16 \pm 0,25$, bei IPI 25 ms $0,30 \pm 0,35$, bei IPI 30 ms $0,33 \pm 0,35$, bei IPI 40 ms $0,52 \pm 0,34$, bei IPI 50 ms $0,71 \pm 0,31$, bei IPI 100 ms $0,93 \pm 0,28$, bei IPI 300 ms $0,66 \pm 0,18$, bei IPI 500 ms $1,00 \pm 0,37$, bei IPI 1000 ms $0,97 \pm 0,15$. Es fanden sich keine signifikanten Abweichungen von den vor der Stimulation in denselben Tieren erhobenen Werten (IPI 20 ms: $p = 0,671$, IPI 25 ms: $p = 0,656$, IPI 30 ms: $p = 0,676$, IPI 40 ms: $p = 0,324$, IPI 50 ms: $p = 0,266$, IPI 100 ms: $p = 0,138$, IPI 300 ms: $p = 0,218$, IPI 500 ms: $p = 0,377$, IPI 1000 ms: $p = 0,331$). In Abbildung 31 ist die Paired pulse-Ratio

zu den gemessenen Interpulsintervallen vor und eine Woche nach Stimulation unter Pentobarbital dargestellt.

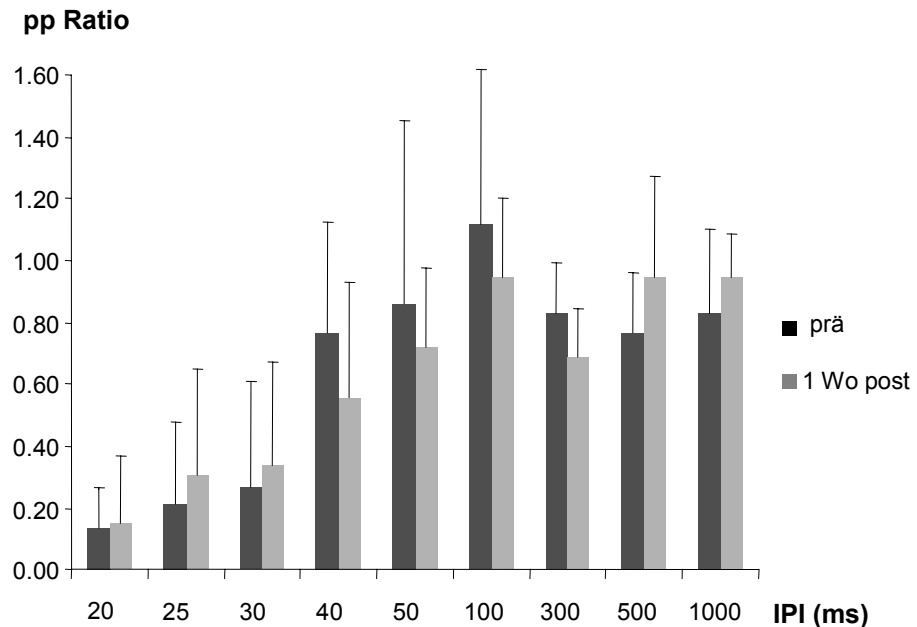


Abb.31: Paired pulse-Inhibition in der Stimulationskontrollgruppe vor (dunkle Balken) und eine Woche nach Stimulation (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei keinem der Interpulsintervalle (IPI) signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten.

Vier Wochen nach Stimulation unter Pentobarbital konnte eine Paired pulse-Messung bei sieben Tieren durchgeführt werden, mit den folgenden Ergebnissen für die Ratio: bei IPI 20 ms $0,15 \pm 0,21$, bei IPI 25 ms $0,23 \pm 0,34$, bei IPI 30 ms $0,36 \pm 0,41$, bei IPI 40 ms $0,45 \pm 0,40$, bei IPI 50 ms $0,86 \pm 0,32$, bei IPI 100 ms $1,11 \pm 0,22$, bei IPI 300 ms $0,72 \pm 0,19$, bei IPI 500 ms $0,71 \pm 0,41$, bei IPI 1000 ms $0,63 \pm 0,22$. Damit ergab sich bei 1000 ms Reizabstand eine im Vergleich zum in derselben Population erhobenen Ausgangswert signifikant größere Inhibition der zweiten Reizantwort ($p < 0,05$). Für alle übrigen Interpulsintervalle bestanden keine signifikanten Unterschiede zu den vor der Stimulation erhobenen Kontrollwerten (IPI 20 ms: $p = 0,574$, IPI 25 ms: $p = 0,597$, IPI 30 ms: $p = 0,339$, IPI 40 ms: $p = 0,393$, IPI 50 ms: $p = 0,221$, IPI 100 ms: $p = 0,831$, IPI 300 ms: $p = 0,278$,

IPI 500 ms: $p = 0,583$). Abbildung 32 zeigt die Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen vor und vier Wochen nach Status epilepticus für die Gruppe der unter Barbiturat stimulierten Tiere.

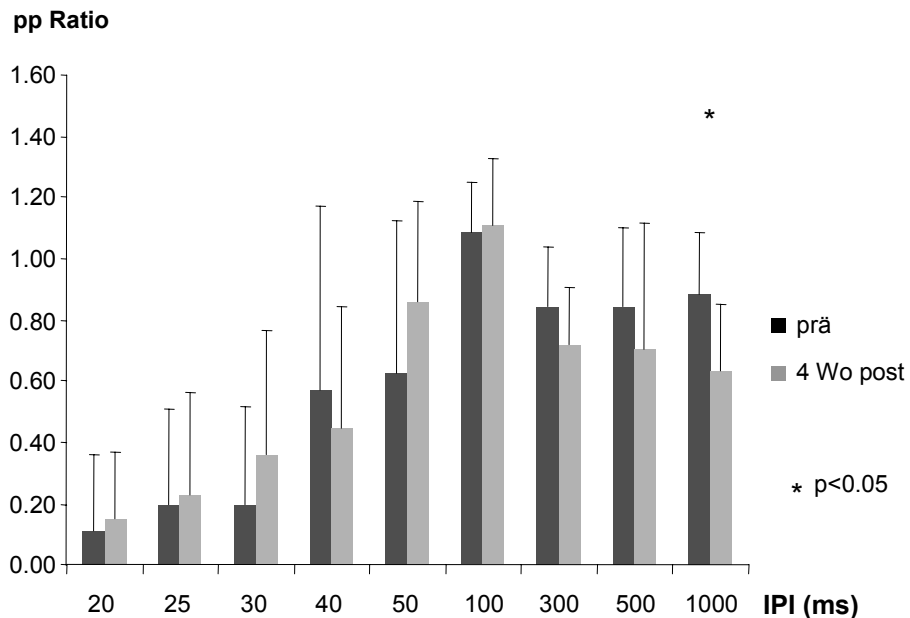


Abb.32: Paired pulse-Inhibition in der Stimulationskontrollgruppe vor (dunkle Balken) und vier Wochen nach Stimulation (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei 1000 ms Interpulsintervall (IPI) im Vergleich zu den Ausgangswerten signifikant vergrößert. Es sind nur die Ausgangswerte der sieben Tiere dargestellt, die nach vier Wochen gemessen wurden.

Acht Wochen nach der Stimulation unter Pentobarbital wurde eine Paired pulse-Messung bei sechs Tieren durchgeführt. Die Paired pulse-Ratio ergab die im Folgenden aufgeführten Werte: bei IPI 20 ms $0,18 \pm 0,24$, bei IPI 25 ms $0,31 \pm 0,36$, bei IPI 30 ms $0,35 \pm 0,40$, bei IPI 40 ms $0,59 \pm 0,46$, bei IPI 50 ms $0,61 \pm 0,35$, bei IPI 100 ms $0,98 \pm 0,29$, bei IPI 300 ms $0,67 \pm 0,12$, bei IPI 500 ms $1,04 \pm 0,29$, bei IPI 1000 ms $0,88 \pm 0,19$. Anstelle der unter Kontrollbedingungen vorhandenen Inhibition bei 500 ms IPI fand sich eine geringe Fazilitierung, der Unterschied war signifikant ($p < 0,05$). Sämtliche anderen Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede zu den entsprechenden vor Stimulation erhobenen Werten (IPI 20 ms: $p = 0,204$, IPI 25 ms: $p = 0,143$, IPI 30 ms: $p = 0,116$, IPI 40 ms: $p = 0,685$, IPI 50 ms:

$p = 0,632$, IPI 100 ms: $p = 0,275$, IPI 300 ms: $p = 0,340$, IPI 1000 ms: $p = 0,313$). In Abbildung 33 ist die Paired pulse-Ratio zu den gemessenen Interpulsintervallen vor und acht Wochen nach Stimulation unter Pentobarbital dargestellt.

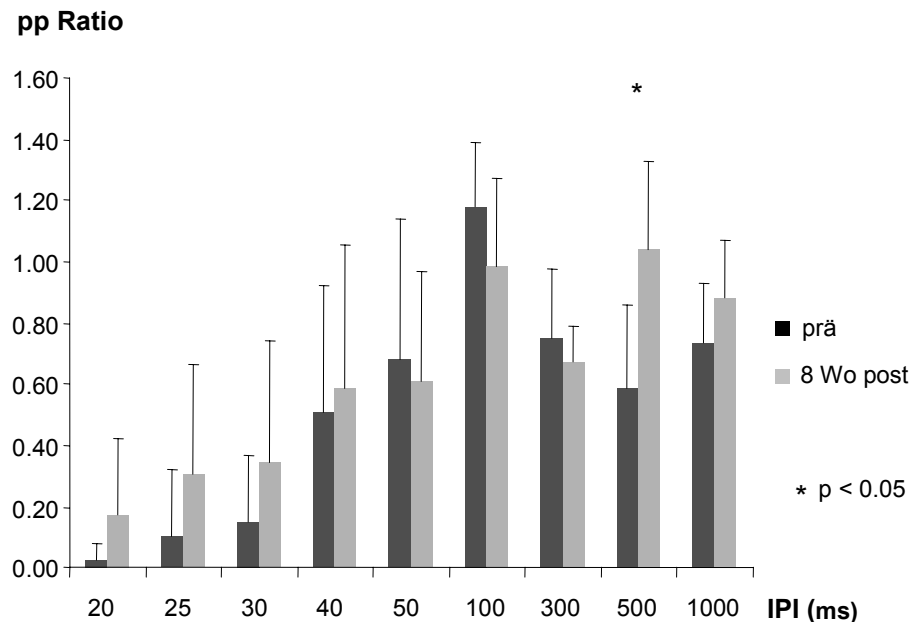


Abb.33: Paired pulse-Inhibition in der Stimulationskontrollgruppe vor (dunkle Balken) und acht Wochen nach Stimulation (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Bei einem IPI von 500 ms trat acht Wochen nach der Stimulation statt einer Inhibition eine leichte Fazilitierung der zweiten Reizantwort auf, der Unterschied war signifikant. Es sind nur die Ausgangswerte der sechs Tiere dargestellt, die nach acht Wochen gemessen wurden.

Bei Betrachtung der Mittelwerte findet sich im zeitlichen Verlauf nach der Stimulation unter Pentobarbital keine nennenswerte Beeinträchtigung der Paired pulse-Inhibition bei den kurzen Interpulsintervallen. Die Inhibition bei den langen Interpulsintervallen zeigte vier und acht Wochen nach der Stimulation teilweise signifikante, jedoch unsystematische Veränderungen. Im Einzelnen war bei vier von sechs Tieren, die zu allen drei Zeitpunkten gemessen wurden, die Inhibition zu keinem Zeitpunkt beeinträchtigt. Bei zwei Tieren bestand vier Wochen nach Stimulation ein mittelgradiger Inhibitionsverlust bei kurzen Interpulsintervallen, dieser war bei einem der Tiere reversibel, bei einem anhaltend. Abbildung 34 zeigt den zeitlichen Verlauf der Paired pulse-Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der

Stimulationskontrollgruppe. Dargestellt ist jeweils der Mittelwert der zu allen drei Zeitpunkten gemessenen Tiere (n = 6).

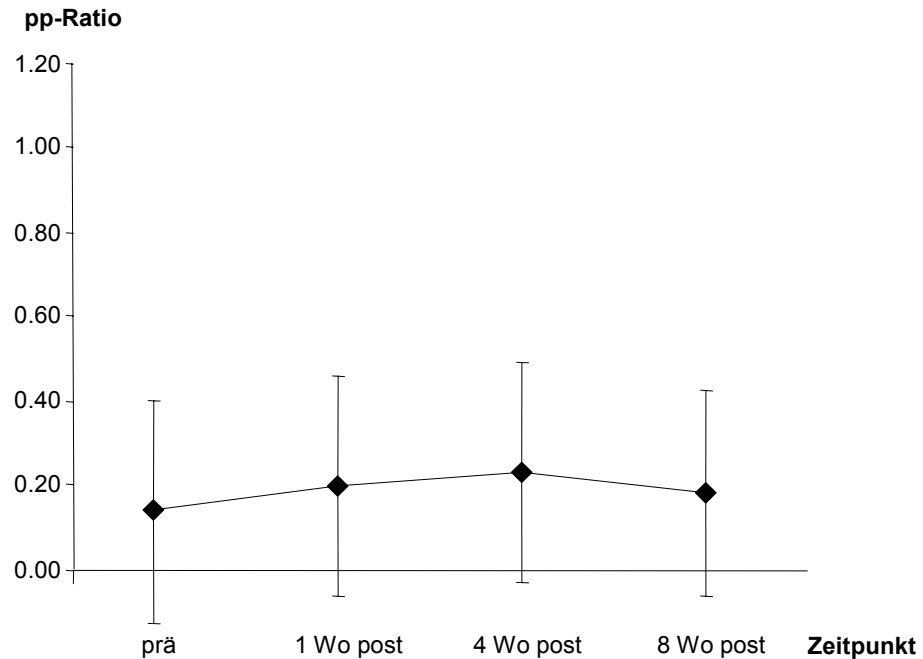


Abb.34: Zeitlicher Verlauf der maximalen Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der Stimulationskontrollgruppe. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SD von sechs Tieren, von denen zu allen drei Zeitpunkten nach Stimulation Messwerte existieren. Die Paired pulse-Inhibition war zu keinem der drei Zeitpunkte nach Stimulation in Barbiturat-Narkose nennenswert beeinträchtigt.

3.4.2.2.4 Elektrodenkontrollen

Eine Paired pulse-Messung wurde bei elf Tieren aus der Gruppe der mit Elektroden implantierten, nicht stimulierten Tiere eine Woche nach Injektion von Pentobarbital durchgeführt. Für die Paired pulse-Ratio ergaben sich die folgenden Werte: bei IPI 20 ms $0,12 \pm 0,20$, bei IPI 25 ms $0,18 \pm 0,18$, bei IPI 30 ms $0,23 \pm 0,23$, bei IPI 40 ms $0,39 \pm 0,21$, bei IPI 50 ms $0,66 \pm 0,21$, bei IPI 100 ms $1,04 \pm 0,18$, bei IPI 300 ms $0,86 \pm 0,09$, bei IPI 500 ms $0,88 \pm 0,12$, bei IPI 1000 ms $0,88 \pm 0,12$. Zu den in denselben Tieren vor der Injektion von Pentobarbital erhobenen Kontrollwerten bestanden keinerlei signifikante Unterschiede (IPI 20 ms: $p = 0,127$, IPI 25 ms: $p = 0,314$, IPI 30 ms: $p = 0,856$, IPI 40 ms: $p = 0,051$, IPI 50 ms: $p = 0,610$, IPI 100 ms: $p = 0,472$, IPI 300 ms: $p = 0,816$, IPI 500 ms: $p = 0,276$, IPI

1000 ms: $p = 0,528$). Abbildung 35 zeigt die Werte der Paired pulse-Ratio zu den verschiedenen Interpulsintervallen für die Tiere der Elektrodenkontrollgruppe vor und eine Woche nach Injektion von Pentobarbital.

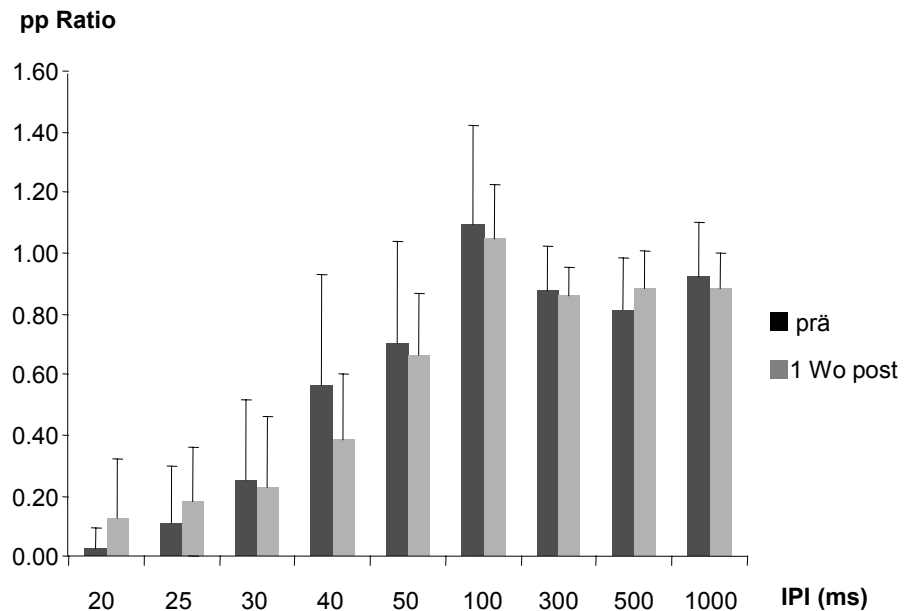


Abb.35: Paired pulse-Inhibition in der Elektrodenkontrollgruppe vor (dunkle Balken) und eine Woche nach Pentobarbitalinjektion (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses war bei keinem der Interpulsintervalle (IPI) signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten.

Zum zweiten Messzeitpunkt, vier Wochen nach Pentobarbitalinjektion, konnte die Paired pulse-Ratio bei acht Tieren mit dem folgenden Ergebnis gemessen werden: bei IPI 20 ms $0,00 \pm 0$, bei IPI 25 ms $0,18 \pm 0,33$, bei IPI 30 ms $0,23 \pm 0,23$, bei IPI 40 ms $0,50 \pm 0,21$, bei IPI 50 ms $0,80 \pm 0,42$, bei IPI 100 ms $1,13 \pm 0,28$, bei IPI 300 ms $0,84 \pm 0,10$, bei IPI 500 ms $0,89 \pm 0,40$, bei IPI 1000 ms $0,84 \pm 0,36$. Keiner der Werte war signifikant unterschiedlich zum jeweiligen Ausgangswert (IPI 20 ms: $p = 0,351$, IPI 25 ms: $p = 0,434$, IPI 30 ms: $p = 0,911$, IPI 40 ms: $p = 0,398$, IPI 50 ms: $p = 0,830$, IPI 100 ms: $p = 0,884$, IPI 300 ms: $p = 0,816$, IPI 500 ms: $p = 0,544$, IPI 1000 ms: $p = 0,701$). Die Paired pulse-Ratio vor und vier Wochen nach Pentobarbitalinjektion in der Elektrodenkontrollgruppe zeigt Abbildung 36.

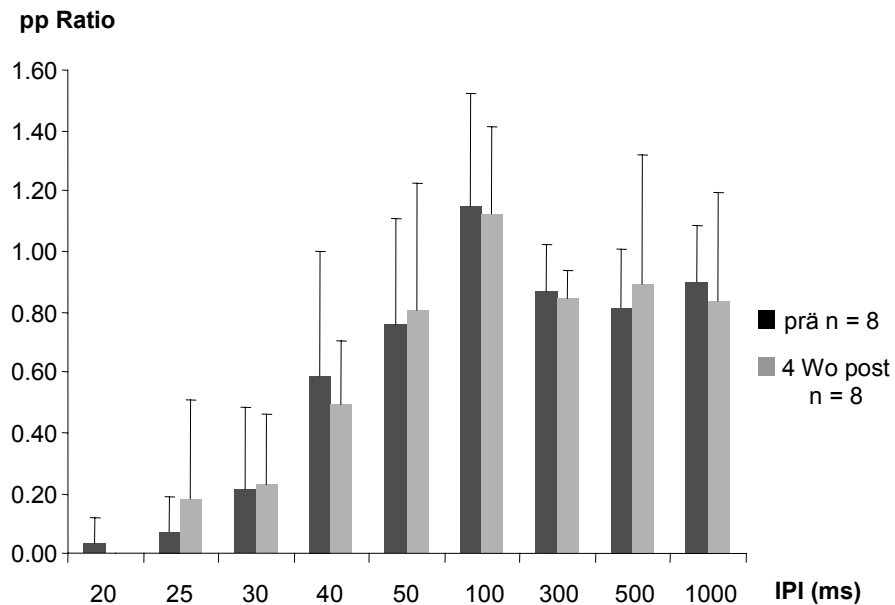


Abb.36: Paired pulse-Inhibition in der Elektrodenkontrollgruppe vor (dunkle Balken) und vier Wochen nach Barbituratinjektion (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition zeigte bei keinem der Interpulsintervalle (IPI) signifikante Unterschiede zu den Ausgangswerten. Es sind nur die Ausgangswerte der acht Tiere dargestellt, die nach vier Wochen gemessen wurden. Ein fehlender Balken bedeutet eine komplette Inhibition der zweiten Reizantwort in allen gemessenen Tieren.

Acht Wochen nach der Injektion von Pentobarbital wurde eine Paired pulse-Messung bei sechs nicht-stimulierten Tieren durchgeführt. Die Paired pulse-Ratio nahm die folgenden Werte an: bei IPI 20 ms $0,15 \pm 0,23$, bei IPI 25 ms $0,22 \pm 0,32$, bei IPI 30 ms $0,28 \pm 0,30$, bei IPI 40 ms $0,51 \pm 0,28$, bei IPI 50 ms $0,79 \pm 0,31$, bei IPI 100 ms $1,08 \pm 0,23$, bei IPI 300 ms $0,88 \pm 0,14$, bei IPI 500 ms $0,86 \pm 0,16$, bei IPI 1000 ms $0,98 \pm 0,07$. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zu den Ausgangswerten (IPI 20 ms: $p = 0,179$, IPI 25 ms: $p = 0,167$, IPI 30 ms: $p = 0,523$, IPI 40 ms: $p = 0,955$, IPI 50 ms: $p = 0,184$, IPI 100 ms: $p = 0,420$, IPI 300 ms: $p = 0,690$, IPI 500 ms: $p = 0,095$, IPI 1000 ms: $p = 0,562$). Abbildung 37 zeigt die Paired pulse-Ratio vor und acht Wochen nach Pentobarbitalinjektion.

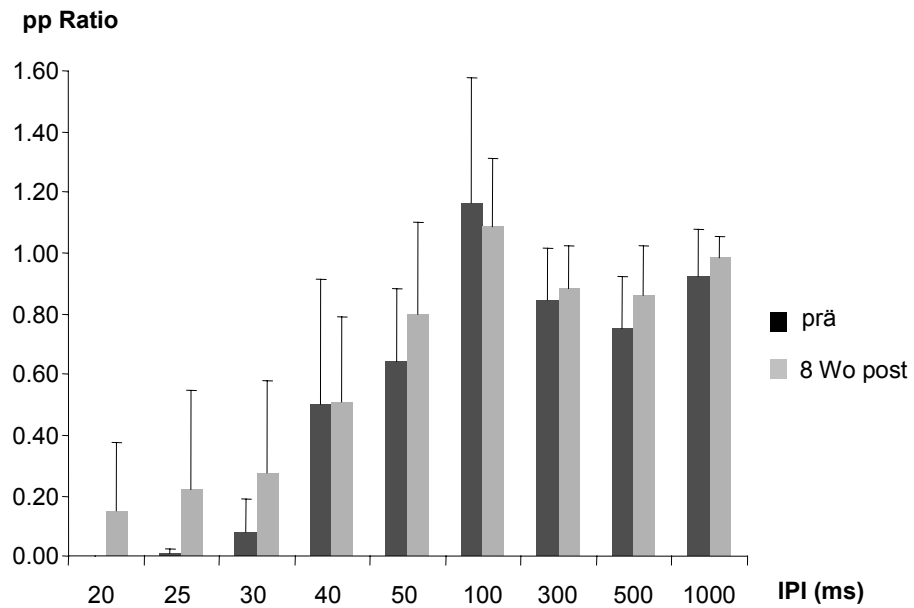


Abb.37: Paired pulse-Inhibition in der Elektrodenkontrollgruppe vor (dunkle Balken) und acht Wochen nach Barbituratinjektion (helle Balken), gezeigt sind die Mittelwerte mit SD. Die Inhibition des zweiten Pulses unterschied sich bei keinem der verwendeten Interpulsintervalle (IPI) in signifikantem Maße von den Ausgangswerten. Es sind nur die Ausgangswerte der sechs Tiere dargestellt, die nach acht Wochen gemessen wurden. Ein fehlender Balken bedeutet eine komplette Inhibition der zweiten Reizantwort in allen gemessenen Tieren.

Im Mittel fand sich nach der Implantation von Elektroden zu keinem Zeitpunkt eine Beeinträchtigung der Paired pulse-Inhibition. Im Einzelnen war die Inhibition bei fünf von sechs zu allen Zeitpunkten gemessenen Tieren unbeeinträchtigt, bei einem Tier trat ein mittelgradiger, anhaltender Inhibitionsverlust auf. Der zeitliche Verlauf der Paired pulse-Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der Elektrodenkontrollgruppe ist in Abbildung 38 dargestellt, gezeigt sind jeweils die Mittelwerte der zu allen drei Zeitpunkten gemessenen Tiere.

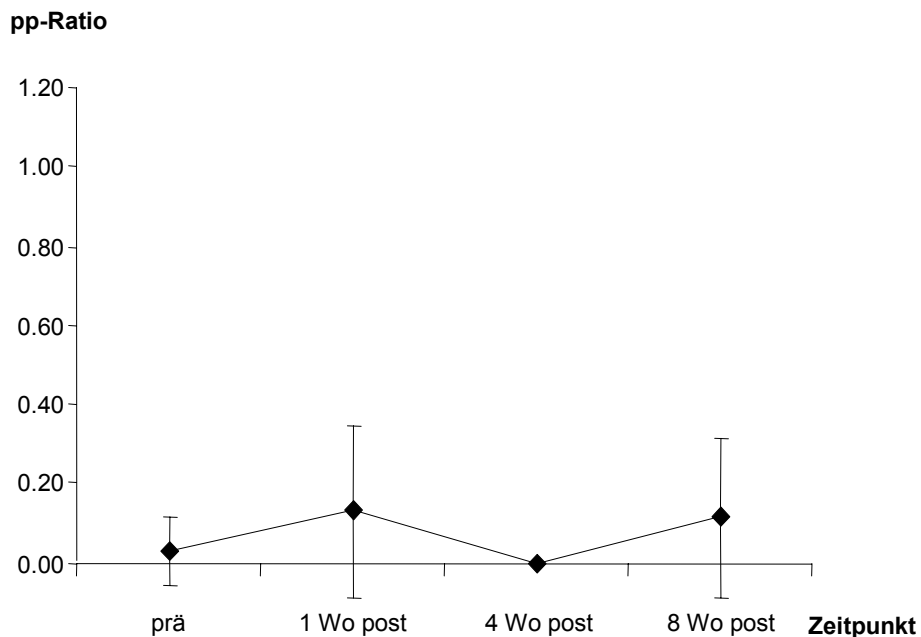


Abb.38: Zeitlicher Verlauf der maximalen Inhibition bei 20 ms Interpulsintervall in der Elektrodenkontrollgruppe. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SD von sechs Tieren, von denen zu allen drei Zeitpunkten nach SSSE Messwerte existieren. Vier Wochen nach SSSE zeigten alle Tiere eine komplette Inhibition der zweiten Reizantwort. Die maximale Paired pulse-Inhibition zeigte über den beobachteten Zeitraum nur geringfügige Veränderungen.

3.4.3 Vergleich der Versuchs- und Kontrollgruppen

Im statistischen Vergleich ergaben sich für die Einzelreizparameter Summenaktionspotenzial-Amplitude und –Latenz keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen ($p > 0,05$). Verglichen wurden die zu jedem der drei Messzeitpunkte erhobenen Werte jeweils zwischen allen vier Gruppen mittels einer Multivarianzanalyse.

Für die Paired pulse-Messung ergab der Vergleich der Gruppen untereinander durch Multivarianzanalyse die folgenden Ergebnisse: Zwischen den beiden Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Dauer des SSSE war die Paired pulse-Inhibition zu keinem der drei Messzeitpunkte signifikant unterschiedlich. Die Paired pulse-Verhältnisswerte in den beiden Kontrollgruppen, der Elektroden- und der Stimulationkontrollgruppe, unterschieden sich nur für das Reizintervall 300 ms eine Woche nach Barbituratinjektion bzw. Stimulation in signifikantem Ausmaß

voneinander ($p < 0,05$), für alle anderen Reizabstände und zu den beiden späteren Messzeitpunkten bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kontrollgruppen.

Die Paired pulse-Inhibition nach einer Woche war in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe bei den kurzen Interpulsintervallen 20 ms, 25 ms, 30 ms und 40 ms sowie bei 300 ms Reizabstand signifikant unterschiedlich zur Elektrodenkontrollgruppe zum selben Messzeitpunkt ($p < 0,01$), die Paired pulse-Ratio zu den übrigen Reizintervallen zeigte keine signifikanten Abweichungen zwischen diesen beiden Gruppen. Der Vergleich der 3 Stunden-SSSE-Gruppe mit der Stimulationskontrollgruppe zu diesem Messzeitpunkt ergab signifikante Unterschiede bei den Reizabständen 20 und 30 ms ($p < 0,05$) sowie bei 300 ms ($p < 0,01$). Die Paired pulse-Ratio in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe eine Woche nach SSSE war für die kurzen Interpulsintervalle 20 bis 30 ms ebenfalls signifikant unterschiedlich zur Elektrodenkontrollgruppe zum selben Zeitpunkt ($p < 0,05$, für IPI 20 ms $p < 0,01$), im Vergleich zur Stimulationskontrollgruppe ergab sich lediglich für die Interpulsintervalle 20 ms und 300 ms ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

Vier Wochen nach Status epilepticus unterschied sich die 3 Stunden-SSSE-Gruppe für die Interpulsintervalle 20 ms und 30 ms in signifikantem Ausmaß von der Elektrodenkontrollgruppe ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,05$), alle weiteren Werte waren nicht signifikant unterschiedlich. Verglichen mit der Stimulationskontrollgruppe ergaben sich signifikant unterschiedliche Ratio-Werte bei 300 ms und 1000 ms Interpulsintervall ($p < 0,05$), alle weiteren Werte waren nicht signifikant unterschiedlich. Zwischen den Ratio-Werten der 5 Minuten-SSSE-Gruppe und der Elektrodenkontrollgruppe bestanden vier Wochen nach Status für die Reizabstände 20 ms und 100 ms signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), zwischen der 5 Minuten-SSSE-Gruppe und der Stimulationskontrollgruppe ergaben sich zum selben Zeitpunkt keine signifikanten Unterschiede.

Acht Wochen nach Status epilepticus bestanden keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen.

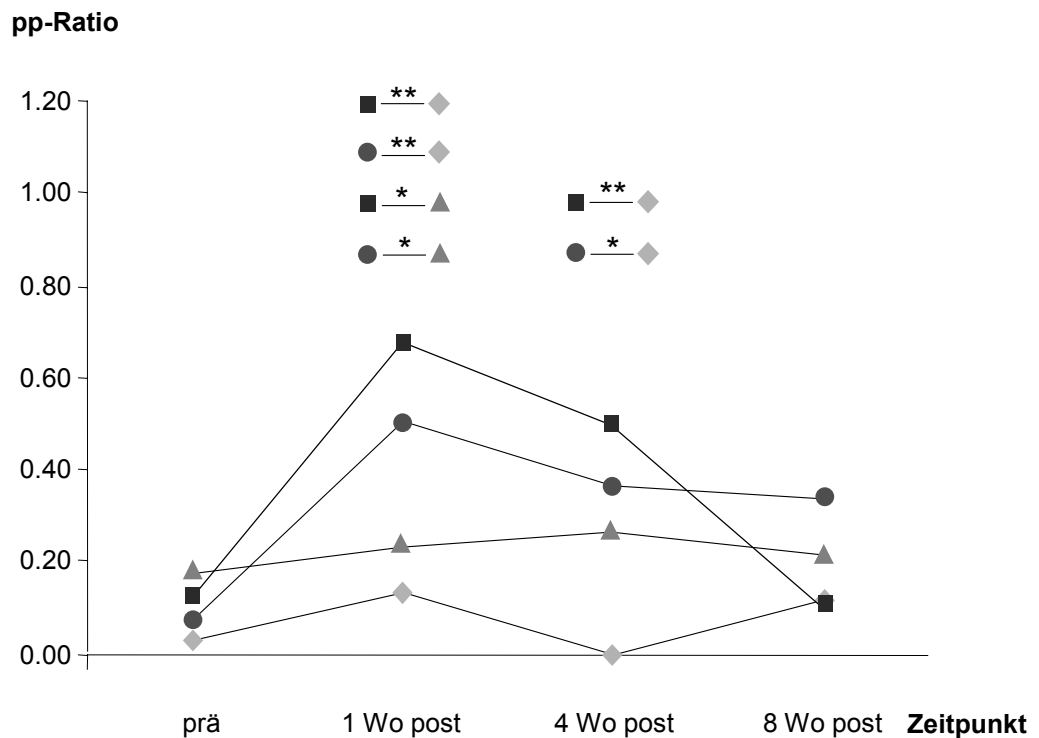


Abb.39: Zeitlicher Verlauf der maximalen Inhibition bei IPI 20 ms in allen vier Gruppen. Dabei bedeuten die Symbole: ■ 3 Stunden-SSSE-Gruppe, ● 5 Minuten-SSSE-Gruppe, ▲ Stimulationskontrollgruppe, ◆ Elektrodenkontrollgruppe. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind dargestellt als * = $p < 0,05$ und ** = $p < 0,01$. Auf die Darstellung der Standardabweichung wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet, diese ist den Darstellungen der einzelnen Gruppen zu entnehmen.

3.5 Korrelation Anfälle/Inhibitionsverlust

Während der Prozentsatz der Tiere mit spontanen Anfällen mit zunehmendem zeitlichen Abstand vom Status epilepticus zunahm, nahm das Ausmaß des Paired pulse-Inhibitionsverlustes bei kurzen Interpulsintervallen ab. Dies war in beiden Versuchsgruppen der Fall. In der 3 Stunden-SSSE-Gruppe ergab sich zwischen dem Prozentsatz epileptischer Tiere und dem Inhibitionsverlust bei IPI 25 ms eine mit $p = 0,014$ signifikante negative Korrelation von $r = -0,999$. In der 5 Minuten Gruppen korrelierten die beiden Parameter mit $r = -0,66$ ebenfalls negativ miteinander, jedoch nicht in signifikantem Ausmaß ($p = 0,27$).

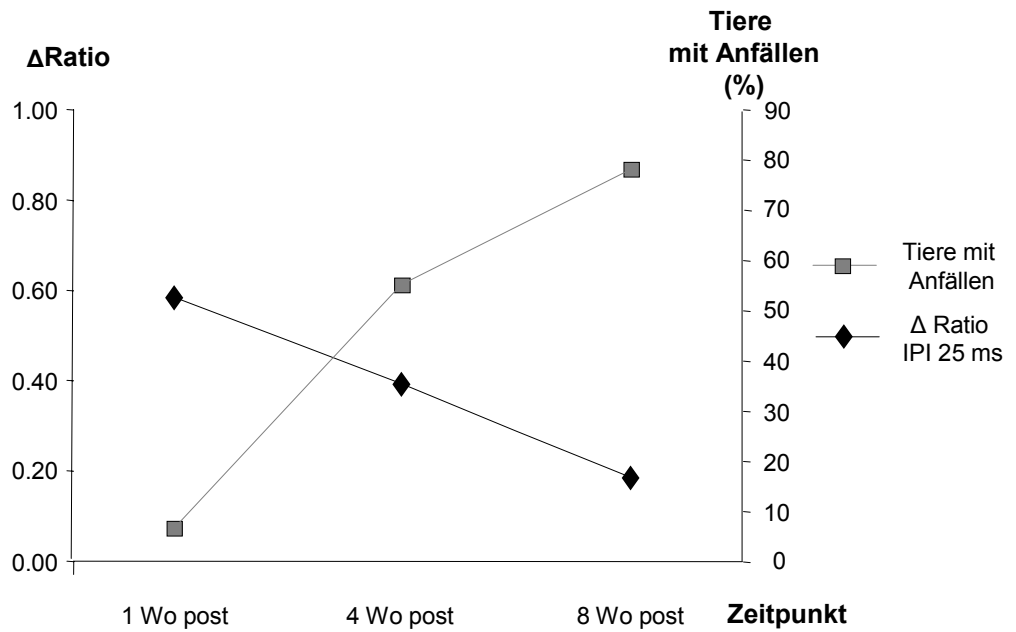


Abb.40: Ausmaß des Inhibitionsverlustes (Δ Ratio) bei IPI 25 ms (linke Ordinate) und des prozentualen Anteils epileptischer Tiere (rechte Ordinate) zu den drei untersuchten Zeitpunkten (Abszisse) in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe. Zur Korrelationsberechnung wurde das Interpulsintervall 25 ms exemplarisch für die kurzen Reizabstände - mit einer ausgeprägten Inhibition vor Induktion des SSSE - ausgewählt. Der Wert Δ Ratio entspricht der Differenz der zu den jeweiligen Zeiträumen erhaltenen Ratiowerte und den vor Statusinduktion erhaltenen Ratiowerten.

4 Diskussion

Der Status epilepticus ist durch eine verlängert anhaltende oder rasch wiederkehrende epileptische Aktivität gekennzeichnet. Im Falle wiederholter generalisiert-konvulsiver oder komplex-fokaler Anfälle ist das Bewusstsein zwischen den Anfällen gestört. Ein Status epilepticus kann, abhängig von seiner Dauer, der Anfallsform und der zugrunde liegenden Ursache, einen lebensbedrohlichen Notfall darstellen (Towne et al., 1994; Waterhouse et al., 1998). Als langfristige Folge des Krankheitsbildes wird unter anderem die Entwicklung einer chronischen Epilepsie diskutiert. Hierbei geht man davon aus, dass durch die massive epileptische Aktivität des Status epilepticus pathophysiologische Prozesse in Gang gesetzt werden, die schließlich in einen chronisch epileptischen Zustand münden. Die Gesamtheit dieser strukturellen und funktionellen Veränderungen wird als Epileptogenese bezeichnet. Prinzipiell geht man davon aus, dass es im Zuge der Epileptogenese zu einer Verschiebung der unter physiologischen Bedingungen gewährleisteten Balance exzitatorischer und inhibitorischer Neurotransmission kommt. Die Untersuchung inhibitorischer Funktionen wurde bei Patienten bislang nur in der Phase der chronischen Epilepsie durchgeführt, hierbei liefern die einzelnen Studien unter Verwendung verschiedener methodischer Ansätze uneinheitliche Ergebnisse: In Untersuchungen an Hirnschnitten von Patienten mit einer Temporallappenepilepsie fand sich in Körnerzellen des Gyrus dentatus eine Beeinträchtigung der Inhibition in Form einer verringerten Leitfähigkeit von IPSPs (Williamson et al., 1999). Eine mittels transkranieller Magnetstimulation durchgeführte Paired pulse-Untersuchung an Patienten mit einem Tumor-assoziierten epileptischen Ereignis zeigte innerhalb des Focus einen Verlust der intrakortikalen Inhibition (Irlbacher et al., 2002). In einer an Patienten mit einer Temporallappenepilepsie durchgeführten Studie war die Paired pulse-Inhibition, die mittels Tiefenelektroden in verschiedenen hippocampalen Strukturen gemessen wurde, hingegen gesteigert (Wilson et al., 1998). Um zu beurteilen, ob Veränderungen der Inhibition bei der Entwicklung einer chronischen Epilepsie eine Rolle spielen, ist es sinnvoll, inhibitorische Funktionen während der Epileptogenese zu untersuchen. Ein besse-

res Verständnis der während der Epileptogenese ablaufenden pathophysiologischen Veränderungen eröffnet die Möglichkeit, neue therapeutische Ansätze zu entwickeln, die direkt in den Krankheitsprozess eingreifen, statt das Symptom, den epileptischen Anfall, zu unterdrücken. Untersuchungen während der Phase der Epileptogenese sind beim Menschen jedoch aus ethischen und praktischen Gründen nur sehr eingeschränkt möglich. Hingegen bieten Tiermodelle des Status epilepticus, in denen Versuchstiere mit großer Zuverlässigkeit nach einer gewissen Latenz eine chronische Epilepsie entwickeln, die Möglichkeit, den Prozess der Epileptogenese unter standardisierten Bedingungen und mit verschiedensten Methoden zu untersuchen. In der vorliegenden Arbeit wurde dieser experimentelle Ansatz genutzt, um während der Phasen der Epileptogenese und der chronischen Epilepsie mittels elektrophysiologischer Methoden Funktionen der Inhibition und der Exzitabilität in einer für die Epileptogenese relevanten Hirnstruktur, dem Gyrus dentatus, zu untersuchen. Ein besonderes Interesse galt hierbei der Frage nach Unterschieden in Abhängigkeit von der Dauer des Status epilepticus. Aus den verschiedenen zur Verfügung stehenden Modellen des Status epilepticus wurde für diese Arbeit das elektrische Stimmulationsmodell ausgewählt. Bei Verwendung von Kainat oder Pilocarpin ist es schlecht möglich, zwischen Effekten, die durch die Neurotoxizität der Substanz bedingt sind und solchen, die durch den Status epilepticus an sich verursacht wurden, zu unterscheiden. Hingegen besteht im elektrischen Stimmulationsmodell die Möglichkeit, Auswirkungen der intrazerebral verweilenden Elektroden, der Stimulation und des Status epilepticus an sich durch Vergleich entsprechender Kontrollgruppen zu untersuchen.

4.1 Induktion eines Status epilepticus durch elektrische Stimulation

In der vorliegenden Arbeit entwickelten 80 Prozent der elektrisch stimulierten Tiere einen Status epilepticus. Eine denkbare Ursache für das Ausbleiben eines SSSE in einem Teil der Tiere wäre eine ungenaue Position der Stimulationselektrode im Tractus perforans, was in einem kleinamplitudigen SAP vor der Stimulation zum Ausdruck käme. In den Tieren, bei denen durch Stimulation kein Status epilepticus induziert werden konnte, war ein SAP im unteren Bereich des Spektrums (2-4 mV) vor der Stimulation aber nicht häufiger als in den mit der Folge eines SSSE stimulierten Tieren. Daher ist anzunehmen, dass bei diesen Tieren

die individuelle Schwelle für die Auslösung epileptischer Aktivität höher liegt. Mit 70 bis 94 Prozent liegt der Anteil erfolgreich stimulierter Tiere bei anderen Autoren in einem vergleichbaren Bereich (Vicedomini und Nadler, 1987; Lothman et al., 1989; Bertram und Cornett, 1993; Gorter et al., 2001). Mit der Ausnahme einer Arbeit von Gruenthal (Gruenthal, 1998), in der iktale Aktivität nur stimulusabhängig auftrat, wird der elektrisch induzierte Status epilepticus übereinstimmend als selbsterhaltend, d.h. über die Dauer der Stimulation hinausgehend, beschrieben. In der vorliegenden Studie zeigten die Tiere während des Status epilepticus ein stereotypes Verhalten im Wechsel mit ausgedehnteren motorischen Anfällen, begleitet von hochamplitudigen spontanen Entladungen im intrazerebral abgeleiteten EEG. Diese klinischen und elektrographischen Eigenschaften des elektrisch induzierten SSSE werden auch von anderen Autoren so oder sehr ähnlich beschrieben, unabhängig davon, ob ein SSSE durch elektrische Stimulation des Tractus perforans (Lothman et al., 1989; Mazarati et al., 1998; Gorter et al., 2001), des ventralen Hippocampus (Bertram und Cornett, 1993) oder der prähippocampal gelegenen Amygdala (Handforth und Ackermann, 1992; Nissinen et al., 2000) induziert wurde. Daraus ergibt sich, dass die elektrische Stimulation afferenter limbischer Strukturen ein zuverlässiges und gut reproduzierbares Modell zur Erzeugung eines Status epilepticus darstellt. Die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Verhaltensauffälligkeiten und das elektrographische Muster können als charakteristisch für dieses Statusmodell angesehen werden.

4.2 Entwicklung einer Epilepsie in Folge des Status epilepticus

In der vorliegenden Studie traten in der Folge eines elektrisch induzierten Status epilepticus bei einem überwiegenden Teil der untersuchten Tiere spontane epileptische Anfälle auf. Diese waren generalisiert-motorisch mit einer durchschnittlichen Dauer unterhalb einer Minute. Das zufällige Auftreten einer spontanen Epilepsie unabhängig vom stattgehabten Status epilepticus in diesen Tieren ist unwahrscheinlich, da Versuchstiere selbst nach Elektrodenimplantation und auch nach Scheinstimulation keine Anfälle zeigten. Da Stimulationskontrolltiere, die unter medikamentöser Unterdrückung der epileptischen Aktivität stimuliert wurden, anfallsfrei waren, wird zudem gezeigt, dass die Aktivität des Status epilepticus, und nicht eine etwaige Schädigung durch die Stimulation den Prozess

der Epileptogenese in Gang setzen. Dies legen bereits die Ergebnisse anderer Studien nahe, in denen Anfälle nach elektrisch induziertem SSSE mit gleicher Häufigkeit von der unstimulierten wie von der stimulierten Hemisphäre generiert wurden (Mazarati et al., 2002), oder Tiere, die nach elektrischer Stimulation keinen SSSE entwickelten, anfallsfrei blieben (Bertram und Cornett, 1993). Letzteres ist jedoch kein klarer Beweis, da in den betreffenden Tieren sowohl die fehlende Auslösbarkeit eines SSSE als auch das Ausbleiben von Anfällen durch eine höhere individuelle Schwelle für die Auslösung epileptischer Aktivität verursacht sein kann. Die Tatsache, dass in der vorliegenden Untersuchung Tiere, die zufällig einer Stimulation in Barbituratnarkose zugeteilt wurden, keine Anfälle entwickelten, liefert einen methodisch einwandfreieren Beweis für die Entwicklung von Anfällen in Folge der epileptischen Aktivität des Status epilepticus und nicht der Stimulation.

Die Entwicklung einer chronischen Epilepsie in Form von spontanen, rekurrenten Anfällen nach einem Status epilepticus wird durch die Ergebnisse anderer tierexperimenteller Studien bestätigt. Lothman et al. fanden spontane Anfälle mittels EEG-Kontrolle in drei von sechs Tieren vier bis acht Wochen nach Status epilepticus (Lothman et al., 1990). Die Anfallshäufigkeit von einem bis zu vier Anfällen innerhalb von 24 Stunden ähnelt der in der vorliegenden Studie beobachteten Frequenz von einem bis zu sieben Anfällen innerhalb von 48 Stunden. In einer Arbeit von Mathern et al. hatten zwei Drittel der Ratten während einer kontinuierlichen elektrographischen Überwachung acht bis zwölf Wochen nach elektrisch induziertem SSSE Anfälle (Mathern et al., 1997). Von den insgesamt acht epileptischen Tieren hatte eine Hälfte maximal acht, die andere Hälfte mindestens 50 Anfälle innerhalb von vier Wochen. Gorter et al. beobachteten, ebenfalls mit Hilfe einer kontinuierlichen EEG-Kontrolle, über drei bis sechs Monate nach SSSE durch elektrische Stimulation sogar in 100 Prozent der Tiere Anfälle (Gorter et al., 2001). Auch hier variierte die Anfallsfrequenz zwischen den Tieren deutlich, es wurden zwei Gruppen benannt mit einer Anfallshäufigkeit von durchschnittlich 4,1 bzw. 0,24 Anfällen pro Tag. Es ist anzunehmen, dass der unterschiedliche Anteil epileptischer Tiere in den einzelnen Arbeiten sich darauf begründet, wie lange und auch wie engmaschig die Tiere überwacht wurden und mit welchem zeitlichen

Abstand nach SSSE die Überwachung stattfand. So wurden die Tiere in der Studie von Lothman et al. in 14 24-Stunden-Perioden überwacht, was etwa jedem zweiten Tag entspricht, zudem relativ früh nach SSSE. Dagegen unterzogen sowohl Mathern et al. als auch Gorter et al. die Tiere einer kontinuierlichen Beobachtung, letztere sogar über insgesamt sechs Monate nach SSSE. Trotz der in der vorliegenden Studie relativ niedrigen Beobachtungsfrequenz von dreimal 48 Stunden innerhalb von acht Wochen nach SSSE stimmt der Anteil epileptischer Tiere mit 50 bzw. 78 Prozent zum spätesten Beobachtungszeitpunkt gut mit den vorangehenden Studien überein. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass der Anteil epileptischer Tiere in Wahrheit etwas höher liegt. Tiere, bei denen Anfälle mit niedriger Frequenz, z.B. nur einmal alle paar Tage, auftraten, wurden eventuell nicht als epileptisch erfasst.

4.2.1 Auswirkung der Dauer des Status epilepticus

Zu der Frage, ob die Dauer eines Status epilepticus die Entwicklung einer chronischen Epilepsie beeinflusst, gibt es bislang nur wenige klinische und experimentelle Daten. Allerdings legen Studien zur Morbidität und Mortalität nach Status epilepticus nahe, dass eine verlängerte Dauer des Status epilepticus mit schwerwiegenderen Folgen assoziiert ist.

Mit dem Zusammenhang zwischen der Dauer eines Status epilepticus und der Mortalität beschäftigten sich Towne et al. in einer retrospektiven Studie an 253 Patienten. In einer einmonatigen Folgeuntersuchung ergab sich nach einem nicht prolongierten Status epilepticus (Dauer 30 bis 59 Minuten) mit 2,7 Prozent eine signifikant niedrigere Sterblichkeitsrate als nach prolongiertem Status epilepticus (Dauer mindestens eine Stunde) mit 32 Prozent (Towne et al., 1994). Unter Verwendung derselben zeitlichen Einteilung fanden auch Sagduyu et al. einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem prolongierten Status epilepticus und einer erhöhten Letalität (Sagduyu et al., 1998). Allerdings kamen Logroscino et al. in einer Untersuchung zur Langzeitmortalität nach Status epilepticus zu einem differenzierteren Ergebnis: Eine erhöhte Dauer eines Status epilepticus war nur in der Gruppe der Patienten mit akut symptomatischem Status epilepticus mit gesteigerter Mortalität assoziiert, nicht jedoch nach einem Status epilepticus ohne akute

Ursache (Logroscino et al., 2002).

Zur Frage des Einflusses der Dauer des Status epilepticus auf die Morbidität fanden Aminoff und Simon in einer Untersuchung an 98 Patienten mit generalisiert-konvulsivem Status epilepticus nach langanhaltendem Status eine tendenziell erhöhte Wahrscheinlichkeit für schwerwiegende Folgekomplikationen (Aminoff und Simon, 1980). Aufgrund insuffizienter Daten in einem Grossteil der Patienten, v.a. bezüglich der exakten Statusdauer, konnte jedoch keine eindeutige Aussage gemacht werden. Claassen et al. identifizierten mehrere Merkmale eines Status epilepticus, die mit einer nachfolgend erhöhten funktionellen Beeinträchtigung, d.h. einem niedrigeren Punktwert im Glasgow-Outcome-Scale, assoziiert waren, darunter auch eine verlängerte Statusdauer. Diese erwies sich nach Schichtung der Daten nach der Statusursache jedoch nicht als unabhängiger Prädiktor (Claassen et al., 2002).

Bei der Untersuchung von Folgen eines Status epilepticus in Abhängigkeit von der Dauer bieten Tiermodelle den uneingeschränkten Vorteil einer einheitlichen Ursache des Status epilepticus. Ausserdem können Beginn und Ende des Status epilepticus sowie die Schwere des Status besser gesteuert bzw. dokumentiert werden. Allerdings sind bezüglich der beiden letztgenannten Punkte auch hier der Standardisierbarkeit Grenzen gesetzt, insofern als ein standardisiertes Stimulationsprotokoll in den einzelnen Tieren ein unterschiedliches Ausmaß an epileptischer Aktivität auslöst. In der vorliegenden Untersuchung ist dieser Umstand jedoch ohne Einfluss auf das Ergebnis, da Tiere mit überwiegend limbischem und solche mit überwiegend motorischem SSSE in beiden SSSE-Gruppen annähernd gleich häufig waren.

In der 3 Stunden-SSSE-Gruppe zeigten 55 Prozent der Tiere nach vier Wochen bzw. 78 Prozent der Tiere nach acht Wochen spontane Anfälle, in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe 31 Prozent bzw. 50 Prozent. Demnach hatte nach einer Dauer des SSSE von 3 Stunden nach Stimulationsende ein höherer Prozentsatz der beobachteten Tiere epileptische Anfälle als nach einer Dauer des SSSE von 5 Minuten nach Stimulationsende. Der Unterschied erreichte jedoch vermutlich aufgrund der niedrigen Anzahl untersuchter Tiere kein signifikantes Niveau. Lemos und Ca-

valheiro fanden im Pilocarpin-Modell der Ratte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Dauer eines Status epilepticus und der nachfolgenden Entwicklung einer Epilepsie. Das Auftreten spontaner Anfälle wurde in dieser Studie mittels kontinuierlicher Videoüberwachung über 60 Tage nach Status epilepticus dokumentiert. Verglichen mit Tieren, bei denen ein Status epilepticus nach sechs Stunden Dauer beendet worden war, bzw. solchen mit spontan nach acht bis zwölf Stunden remittierendem Status epilepticus, hatte von Tieren mit einer Statusdauer von einer und zwei Stunden ein signifikant niedrigerer Anteil spontane Anfälle. Zudem traten die Anfälle in den Tieren mit relativ kurz anhaltendem Status epilepticus mit signifikant längerer Latenz auf als in den Tieren mit lang anhaltendem Status epilepticus. Tiere mit einer Statusdauer von 30 Minuten blieben in dieser Studie anfallsfrei (Lemos und Cavalheiro, 1995). Auch in einer Untersuchung von Klitgaard et al. wurde, ebenfalls im Pilocarpin-Modell der Ratte, das Auftreten von Anfällen in Abhängigkeit von der Dauer des Status epilepticus untersucht. Unter Einsatz einer kombinierten Video- und EEG-Überwachung über jeweils 72 Stunden wurden zwei bzw. sechs von acht Tieren drei bzw. neun Wochen nach 120minütigem Status als epileptisch identifiziert (Klitgaard et al., 2002). Im Gegensatz zur Untersuchung von Lemos und Cavalheiro hatten in dieser Studie nach 30minütiger Statusdauer vier bzw. fünf von acht Tieren nach drei bzw. neun Wochen spontane Anfälle. Die Autoren konnten also keinen Zusammenhang zwischen der Dauer eines Status epilepticus und dem Ausmaß einer nachfolgenden Entwicklung einer Epilepsie nachweisen. Da Tiere mit einer Statusdauer von 7,5 Minuten zu beiden Zeitpunkten anfallsfrei waren, postulierten sie aber, dass für die spätere Entstehung einer Epilepsie eine Mindestdauer des Status epilepticus erforderlich ist. In der vorliegenden Untersuchung hatten auch Tiere mit einer kurzen Statusdauer von fünf Minuten nach Stimulationsende zu einem erheblichen Prozentsatz Anfälle, was zunächst im Widerspruch zum Ergebnis von Klitgaard et al. zu stehen scheint. Es muss jedoch daran erinnert werden, dass die elektrische Stimulationsdauer in der vorliegenden Studie auf zwei Stunden normiert war, unabhängig davon, wann im einzelnen Tier schon während des Stimulationsprozesses Statusaktivität auftrat. Bei einer durchschnittlichen Latenz von 48 Minuten bis zum Erreichen eines Status epilepticus unter der Stimulation waren demnach Tie-

re mit einem SSSE von fünf Minuten insgesamt im Mittel 77 Minuten, Tiere mit einem SSSE von drei Stunden insgesamt im Mittel 252 Minuten im Status epilepticus.

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Parameter ausgewertet, anhand derer sich die Schwere einer Epilepsie beurteilen lässt: Der Schweregrad der Anfälle nach der Einteilung von Racine, die Häufigkeit des Auftretens von Anfällen und die durchschnittliche Dauer der einzelnen Anfälle.

Bezüglich des Schweregrades der aufgetretenen Anfälle bestanden zwischen den beiden Gruppen mit unterschiedlicher Statusdauer keine Unterschiede, mit der Einschränkung, dass es mit Hilfe der angewandten Zeitraffervideomethode nicht möglich war zu beurteilen, ob fokale Anfälle der Schweregrade 1 und 2 nach Racine auftraten. Allerdings zeigte in der Studie von Klitgaard et al., in der das Auftreten von Anfällen anhand der sensitiveren Methode des EEG-Monitoring beurteilt wurde, nur ein Tier von insgesamt 11 epileptischen Tieren in einer von zwei Beobachtungsperioden ausschließlich fokale Anfälle der Schweregrade 1 und 2 nach Racine. Alle übrigen epileptischen Tiere zeigten alle Anfallsschweregrade (Klitgaard et al., 2002). Auch in der Studie von Bertram und Cornett war unter den nach elektrischer Hippocampusstimulation epileptisch gewordenen Tieren keines, das ausschließlich Anfälle des Schweregrades 1-2 zeigte (Bertram und Cornett, 1994). Somit ist es nicht wahrscheinlich, dass in der vorliegenden Studie eine entscheidende Anzahl von Tieren ausschließlich fokale Anfälle hatte und fälschlich als anfallsfrei eingestuft wurde.

Hinsichtlich der Dauer und der Frequenz der Anfälle bestanden zwischen den beiden Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Statusdauer ebenfalls keine erheblichen Unterschiede. Nach acht Wochen hatten Tiere nach dreistündigem SSSE zwar im Durchschnitt häufiger Anfälle als Tiere nach fünfminütigem SSSE, der Unterschied war jedoch nicht von signifikantem Ausmaß. Aus der vorliegenden Arbeit geht somit hervor, dass die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Epilepsie mit zunehmender Statusdauer leicht anstieg. Wenn eine Epilepsie auftrat, war diese nach einem langanhaltenden Status epilepticus jedoch nicht erheblich schwerer als nach einem kurzanhaltenden.

4.2.2 Zeitlicher Verlauf

Ob eine chronische Epilepsie, die sich nach einem Status epilepticus entwickelt, im zeitlichen Verlauf progredient ist, ist eine weitere vieldiskutierte Frage. Lange vor der Einführung von Antiepileptika machte Gowers 1881 die Beobachtung, dass das Auftreten von Anfällen von vermehrten Anfällen gefolgt war („seizures beget seizures“) (Gowers, 1881). Er postulierte somit erstmals einen progredienten Charakter bestimmter menschlicher Epilepsieformen. Die Richtigkeit dieser Hypothese konnte bis dato nicht eindeutig geklärt werden. Heute ist es, angesichts der breiten Verfügbarkeit von Antiepileptika, ethisch nicht mehr vertretbar, den zeitlichen Verlauf einer unbehandelten Epilepsie am Menschen prospektiv zu beobachten. In einer retrospektiven Untersuchung an 183 Patienten mit zwei bis fünf unbehandelten Anfällen fanden Elwes et al., dass in der Mehrzahl der Patienten die Abstände zwischen aufeinanderfolgenden Anfällen mit der Zeit deutlich kürzer wurden, was für einen sich selbst verstärkenden Krankheitsprozess in der frühen Phase der Epilepsie spricht (Elwes et al., 1988). Für die Progredienz einer Epilepsie sprechen auch Studien, die besagen, dass die Langzeitprognose einer chronischen Epilepsie umso schlechter ist, je länger die Krankheit besteht bzw. je mehr Anfälle vor Einsetzen einer medikamentösen Therapie aufgetreten waren (Shorvon, 1984; Di Mascio et al., 1986; Reynolds, 1987; Beghi und Tognoni, 1988).

Andererseits zeigte eine der wenigen Studien, die an einer Population von Patienten mit einer unbehandelten Epilepsie durchgeführt wurde, dass eine Epilepsie trotz ausbleibender medikamentöser Therapie nicht unbedingt progredient verläuft (Placencia et al., 1994). Zudem konnte in dieser Studie, die in einer ländlichen Gegend in Ecuador durchgeführt wurde, in einigen Fällen auch eine seit langem unbehandelt bestehende Epilepsie erfolgreich medikamentös therapiert werden. Demnach kann die Frage, ob eine chronische Epilepsie progredient verläuft, offensichtlich nicht für alle Patienten und alle Epilepsieformen einheitlich beantwortet werden.

Mit den in der vorliegenden Arbeit angewandten Methoden ist eine Aggravation der Epilepsie nach Status epilepticus über den untersuchten Zeitraum allenfalls

tendenziell auszumachen. Tiere der 5 Minuten-SSSE-Gruppe hatten acht Wochen nach Status epilepticus signifikant längere Anfälle als nach vier Wochen. Andere Veränderungen, eine leichte Verlängerung der Anfallsdauer in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe sowie eine geringfügige Zunahme der Schweregrad 5-Anfälle in beiden SSSE-Gruppen, waren nicht von signifikantem Ausmaß. Bei der Betrachtung anderer diesbezüglicher experimenteller Daten in der Literatur überwiegt jedoch der Eindruck eines, zumindest im frühen Stadium, progredienten Verlaufs der Epilepsie nach experimentellem Status epilepticus. Ähnlich den Ergebnissen der 5 Minuten-SSSE-Gruppe in der vorliegenden Arbeit fanden Bertram und Cornett in den ersten zwölf Wochen nach elektrisch induziertem SSSE einen graduellen Anstieg der Anfallsdauer mit zunehmendem zeitlichen Abstand vom Status epilepticus (Bertram und Cornett, 1994). Schweregrad und Frequenz der Anfälle zeigten den gleichen progredienten Verlauf. Nach den ersten zwölf Wochen erreichten jedoch alle drei Anfallsparameter ein Plateau und blieben bis zu sechs Monate nach SSSE stabil. Zu einem sehr ähnlichen Ergebnis kamen Hellier et al. unter Anwendung des Kainat-Modells (Hellier et al., 1998). Im zeitlichen Verlauf nach Status epilepticus stieg die Anfallsfrequenz zunächst an, um nach vier bis sieben Monaten ein stabiles Niveau zu erreichen. Ein ähnlicher zeitlicher Verlauf konnte auch im Pilocarpin-Modell nachvollzogen werden, hier fanden Arida et al. eine Zunahme der Anfallsfrequenz bis zum Eintritt einer Stagnation 60 Tage nach der Pilocarpin-Behandlung (Arida et al., 1999).

4.2.2.1 Latenzperiode

In allen bisherigen experimentellen Untersuchungen traten erste Anfälle nach Status epilepticus nicht sofort, sondern mit einer Verzögerung von einigen Tagen bis Wochen auf. Eine solche als Latenzperiode bezeichnete anfallsfreie Phase im Anschluss an den Status epilepticus fand sich auch in der vorliegenden Arbeit. Dies ist aus der Tatsache abzuleiten, dass der Anteil epileptischer Tiere mit zunehmendem zeitlichem Abstand vom Status epilepticus zunahm. Da die Versuchstiere jedoch nicht kontinuierlich auf das Auftreten von Anfällen überwacht wurden, können zur Länge der Latenzperiode keine detaillierten Angaben gemacht werden. Einzelne Tiere zeigten bereits zum ersten Beobachtungszeitpunkt,

nach einer Woche, Anfälle, nach vier Wochen war die Anzahl epileptischer Tiere deutlich und nach acht Wochen noch einmal leicht angestiegen. Demnach war die Dauer der anfallsfreien Phase zwischen den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich und variierte zwischen wenigen Tagen und mehr als einem Monat. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Studien, in denen die Dauer der Latenzperiode eine ähnlich breite Streuung zeigte. So berichteten andere Autoren von einer Varianz der Länge der Latenzphase zwischen einem und 47 Tagen (Bertram und Cornett, 1994), vier und 44 Tagen (Cavalheiro et al., 1991), oder sogar zwischen sechs und 84 Tagen (Nissinen et al., 2000). Die Länge der Latenzperiode im einzelnen Tier scheint keine Vorhersage auf die Schwere der später entwickelten Epilepsie zu erlauben (Arida et al., 1999).

4.2.3 Tageszeitliche Verteilung der Anfälle

Bei einigen Epilepsieformen des Menschen besteht ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Anfällen und dem Schlaf-Wach-Rhythmus (Meierkord, 1994; Dinner, 2002). Es gibt Epilepsiesyndrome, wie z.B. die benigne fokale Epilepsie des Kindesalters, bei denen Anfälle häufiger aus dem Schlaf heraus auftreten (Beaussart, 1972; Gregory und Wong, 1984). Die chronische Epilepsie, die bei Ratten nach Status epilepticus entsteht, entspricht nach klinischen und histologischen Kriterien am ehesten der menschlichen Temporallappenepilepsie (Lothman et al. 1990, Nissinen et al. 2000, Gorter et al. 2001). Bei dieser häufigen Epilepsieform treten Anfälle vermehrt bei Tage auf (Quigg et al., 1998; Crespel et al., 2000). In ähnlicher Weise traten bei den Versuchstieren der vorliegenden Arbeit Anfälle mit annähernd 90 Prozent hochsignifikant häufiger während des Tages auf. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit anderen diesbezüglichen tierexperimentellen Studien. In einer Untersuchung von Bertram und Cornett traten nach elektrisch induziertem Status epilepticus 67 Prozent aller Anfälle zwischen 7 und 19 Uhr bei Helligkeit auf (Bertram und Cornett, 1994). Arida et al. fanden im Pilocarpin-Modell ebenfalls eine hochsignifikante Häufung der Anfälle während der beleuchteten Tageshälfte (Arida et al., 1999). Das übereinstimmende tageszeitliche Auftreten von Anfällen bei Menschen mit einer Temporallappenepilepsie und Ratten nach Status epilepticus ist insofern überraschend, als der Schlaf-Wach-Zyklus der beiden Spezies genau entgegengesetzt verläuft. Tageszeitliche Schwankungen der

Anfallsfrequenz scheinen daher nicht vom Zustand des Schlafens oder Wachseins abhängig zu sein. Der übergeordnete Schrittmacher für die Regulation circadianer Rhythmen befindet sich bei Säugetieren in den suprachiasmatischen Nuclei im mittleren Hypothalamus (zur Übersicht siehe Murphy und Campbell, 1996). Verschiedene Studien geben Anlass zu der Annahme, dass dieses übergeordnete Zentrum neuroendokrine Signale unabhängig vom Schlaf-Wach-Rhythmus steuern kann (Nadal, 1996; Waldstreicher et al., 1996). Es ist also auch denkbar, dass die neuronale Erregbarkeit durch das suprachiasmatische Kerngebiet oder durch von diesem Zentrum regulierte sekundäre Rhythmen unabhängig vom Schlaf-Wach-Rhythmus beeinflusst wird. Messungen von Feldpotenzialen im Gyrus dentatus der Ratte im halbstündigen Abstand über 24 Stunden zeigten, dass diese eine von der Tageszeit abhängige Amplitudenschwankung aufweisen (Barnes et al., 1977). Die Amplitude des Feldpotenzials zeigte nachts, also während der Wachphase der Ratte, ein Maximum und nahm während des Tages ab. Bislang ist nicht untersucht worden, ob diese circadianen Amplitudenschwankungen in epileptischen Tieren verändert sind.

4.3 Veränderungen der Inhibition und Exzitabilität im Gyrus dentatus

4.3.1 Charakterisierung der verwendeten elektrophysiologischen Parameter

In der vorliegenden Arbeit wurden Feldpotenziale in der Körnerzellschicht des Gyrus dentatus in Antwort auf im Tractus perforans applizierte Einzel- und Doppelstimuli gemessen. Der Tractus perforans, der aus Axonen in der Schicht II des entorhinalen Kortex liegender Neurone besteht, bildet den größten afferenten Eingang zur hippocampalen Formation. Am sogenannten Angular bundle durchlaufen die Fasern des Tractus perforans eine Engstelle. Eine Stimulation an dieser Stelle, wie sie in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde, erregt annähernd alle Körnerzellen des Gyrus dentatus (Lomo, 1971a). Daher ist es wahrscheinlich, dass die an umschriebener Stelle gemessenen Veränderungen für den gesamten Gyrus dentatus repräsentativ sind. Die Exzitation der Körnerzellen durch den Tractus perforans erfolgt monosynaptisch. Das in der Körnerzellschicht abgeleitete Summenaktionspotenzial ist Ausdruck einer nahezu synchronen Entladung einer Population von Körnerzellen, die Amplitude des Potenzials ist hierbei der Anzahl

entladender Neurone proportional (Andersen et al., 1971b). Hieraus ist zu folgern, dass eine Zunahme der gleichzeitig entladenden Neurone zu einer Vergrößerung der Amplitude des Summenaktionspotenzials führt. Daher wurde in dieser Arbeit die SAP-Amplitude als Maß für eine gesteigerte Synchronisation von Körnerzellen verwandt. Zur Beurteilung der Erregbarkeit der Körnerzellen wurde die SAP-Latenz herangezogen. Die Latenz, mit der nach Reizgabe ein Summenaktionspotenzial generiert wird, hängt u.a. von der Erregbarkeitsschwelle der Körnerzellen ab. Eine Erhöhung der Schwelle führt zu einer Verlängerung, eine Erniedrigung zu einer Verkürzung der SAP-Latenz. Sowohl die maximal evozierbare SAP-Amplitude als auch eine beschleunigte oder verlangsamte Entladung der Zellen werden in vielen Studien zur Beurteilung der Exzitabilität im gemessenen Neuro-
nenverband herangezogen (Haas und Ryall, 1980; Lacaille und Harley, 1985; Buckmaster und Wong, 2002; Santhakumar et al., 2003).

Neben einer Erregung der Körnerzellen führt eine Stimulation des Tractus perforans über Axonkollateralen aber auch zu einer Erregung von Interneuronen, die auf die Körnerzellen inhibitorisch wirken (Vorwärtshemmung) (Zipp et al., 1989). Demnach ist das Feldpotenzial im Gyrus dentatus Ausdruck einer Überlagerung inhibitorischer und exzitatorischer synaptischer Einflüsse. Zusätzlich zur Vorwärtshemmung existiert im Gyrus dentatus eine sehr stark ausgeprägte rekurrente Hemmung, indem Körnerzellen exzitatorisch auf Interneurone wirken, die wiederum eine inhibitorische Wirkung auf die Körnerzelle ausüben (Andersen et al., 1963). Da das inhibitorische Interneuron der Körnerzelle nachgeschaltet ist, kommt die rekurrente Hemmung erst bei Applikation eines Doppelreizes zum Ausdruck. Die Paired pulse-Messung ist eine gängige und etablierte Methode zur Einschätzung der Inhibition und Potenzierung von Prinzipalzellen. Das Ausmaß der Inhibition bzw. Fazilitierung wird hierbei als das Verhältnis der Summenaktionspotenzial-Amplitude der zweiten Reizantwort zur Summenaktionspotenzial-Amplitude der ersten Reizantwort ausgedrückt. Paired pulse-Messungen im Gyrus dentatus unter Einfluss des GABA_A-Agonisten Muscimol, des GABA_A-Antagonisten Bicucullin sowie des GABA_B-Agonisten Baclofen haben gezeigt, dass eine Paired pulse-Inhibition, ausgedrückt als ein Verhältnis der zweiten zur ersten Reizantwort kleiner als eins, durch GABA_A-Rezeptoren vermittelt ist (Kapur et al., 1989; Steffen-

sen und Henriksen, 1991; Sloviter, 1991a). Die Fazilitierung bei mittleren Reizabständen ist wahrscheinlich unter anderem der Aktivierung von präsynaptischen GABA_B-Rezeptoren zuzuschreiben (Brucato et al., 1992; Mott et al., 1993). Unter Normalbedingungen ist das Ausmaß der Paired pulse-Inhibition von zwei Parametern abhängig, der Stimulusintensität und dem Interpulsintervall. Bei gleichbleibendem Interpulsintervall verstärkt sich die Paired pulse-Inhibition mit zunehmender Reizintensität und erreicht ab Überschreiten eines Schwellenwertes ein konstantes Maximum. Dieser Schwellenwert entspricht der Reizstärke, die ein Summenaktionspotenzial von 60 Prozent des maximal auslösbaren Summenaktionspotenzials hervorruft (Kapur und Lothman, 1989). Wird die Reizstärke, wie in der vorliegenden Studie, oberhalb dieses Schwellenwertes konstant gehalten, und das Interpulsintervall variiert, so liegt die Paired pulse-Inhibition bei sehr kurzen Interpulsintervallen, wie in der vorliegenden Studie 20 ms, bei Werten nahe Null. Das bedeutet, dass GABAerge Interneurone die Entladung der Prinzipalzellen in Antwort auf den zweiten Stimulus komplett unterdrücken. Mit zunehmendem Interpulsintervall nimmt die Paired pulse-Inhibition kontinuierlich ab, um bei Interpulsintervallen zwischen 80 und 200 ms in eine unterschiedlich stark ausgeprägte Fazilitierung überzugehen. Mit weiter zunehmendem Reizabstand kommt es erneut zu einer Inhibition, diese ist jedoch geringer ausgeprägt als bei kurzen Interpulsintervallen. Bei graphischer Auftragung der Paired pulse-Ratio gegen das Interpulsintervall ergibt sich demnach eine dreiphasige Kurve. Dieser Kurvenverlauf ist sehr gut reproduzierbar, die in dieser Studie unter Kontrollbedingungen erhaltene Kurve stimmt mit den Ergebnissen anderer *in vivo* durchgeführter Untersuchungen überein (Kapur und Lothman, 1989; Steffensen und Henriksen, 1991; Joy und Albertson, 1993).

4.3.2 Einordnung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit kam es nach Status epilepticus zu einem Verlust der Paired pulse-Inhibition im Gyrus dentatus. Das Maximum der Beeinträchtigung fand sich eine Woche nach SSSE. Insgesamt war der Inhibitionsverlust bei der Mehrzahl der Tiere innerhalb des untersuchten Zeitraums von acht Wochen nach Status epilepticus rückläufig. Bei gesonderter Betrachtung der beiden SSSE-Gruppen zeigt sich, dass der zeitliche Verlauf der Inhibition innerhalb der 5 Minu-

ten-SSSE-Gruppe weniger homogen war als innerhalb der 3 Stunden-SSSE-Gruppe. Während in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe -abgesehen von einer Ausnahme- bei allen Tieren ein reversibler Inhibitionsverlust vorlag, zeigte in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe ein Teil der Tiere (zwei von sechs) einen initial vergleichsweise gering ausgeprägten, über die Zeit jedoch zunehmenden Inhibitionsverlust. Bei einem Tier dieser Gruppe blieb die Inhibition nach SSSE völlig unbeeinträchtigt. In den beiden Kontrollgruppen war die Inhibition in der überwiegenden Mehrheit der Tiere unbeeinträchtigt, mit der Ausnahme zweier Tiere in der Stimulationskontrollgruppe und eines Tieres in der Elektrodenkontrollgruppe.

Die Amplitude des Summenaktionspotenzials veränderte sich im zeitlichen Verlauf in keiner der Versuchsgruppen in signifikanter Weise. Es fällt jedoch auf, dass in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe acht Wochen nach Status epilepticus bei über der Hälfte der Tiere eine ausgeprägte Zunahme der SAP-Amplitude vorlag. Im gleichen Zeitraum kam es in dieser Versuchsgruppe zu einer signifikanten Verkürzung der SAP-Latenz, diese betraf mit einer Ausnahme alle Tiere. In der 3 Stunden-SSSE-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Veränderungen der SAP-Latenz und -Amplitude. Im Gegensatz zur 5 Minuten-SSSE-Gruppe kam es jedoch in der Mehrheit der Tiere zu einer Zunahme der Latenz und einer Abnahme der Amplitude des Summenaktionspotenzials. Es ist unwahrscheinlich, dass es in den beiden Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Dauer des SSSE zu gegensätzlichen pathophysiologischen Veränderungen kommt. Vielmehr ist zu vermuten, dass die Reduktion der SAP-Amplitude sowie die verlangsamte Erregung artefaktbedingt sind. Die langanhaltende epileptische Aktivität zusätzlich zu einer durch die Stimulation verursachten Schwellung der Zellen im frühen Stadium und eine Schrumpfung des Hilus im späteren Stadium nach SSSE (Sloviter, 1983) könnte zu einer Verschiebung der Elektroden geführt haben. In den beiden Kontrollgruppen gab es weder bezüglich der SAP-Amplitude noch der -Latenz signifikante Veränderungen. Allerdings waren beide Parameter in der Stimulationskontrollgruppe weniger konstant als in der Elektrodenkontrollgruppe.

Veränderungen der Exzitabilität und Inhibition im Gyrus dentatus nach Status epilepticus wurden auch in anderen Studien gezeigt. Doherty und Dingledine fanden

in Hirnschnitten von Ratten während der Latenzphase nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus einen Verlust der rekurrenten Hemmung im Gyrus dentatus (Doherty und Dingledine, 2001). Einen bis acht Tage nach Status epilepticus trat bei der Paired pulse-Messung von Feldpotenzialen im Gyrus Dentatus bei den kurzen Interpulsintervallen von 10 bis 30 ms eine Fazilitierung statt einer Inhibition auf. Der im Vergleich zu *in vivo* Untersuchungen ausgeprägtere Verlust der Inhibition ist durch den Wegfall großer Anteile inhibitorischer Fasern in der Schnittpräparation zu erklären (Buckmaster und Schwartzkroin, 1995). Verlaufsuntersuchungen wurden in dieser Studie nicht durchgeführt. In einer *in vivo* Untersuchung fand Sloviter unmittelbar nach Stimulation des Tractus perforans über 24 Stunden eine stark reduzierte bis gänzlich aufgehobene Paired pulse-Inhibition bei Interpulsintervallen von 15 bis 80 ms (Sloviter, 1991b). Wiederholte Messungen über eine Dauer von bis zu 466 Tagen nach Stimulation zeigten, dass der Inhibitionsverlust über den gesamten untersuchten Zeitraum unverändert anhielt. Daneben fand sich eine Vergrößerung der Amplitude der ersten Reizantwort, die ebenfalls anhaltend war. Dagegen zeigt eine neuere, ebenfalls *in vivo* durchgeführte Untersuchung nach elektrisch induziertem Status epilepticus einen vorübergehenden Inhibitionsverlust im Gyrus dentatus (Gorter et al., 2002). Eine direkt im Anschluss an einen vier Stunden anhaltenden SSSE durchgeführte Paired pulse-Messung ergab einen kompletten Inhibitionsverlust bei 20 ms Interpulsintervall, bereits einige Tage nach SSSE war jedoch eine Normalisierung der Inhibition eingetreten. Daneben fand sich in dieser Studie eine über sechs Wochen nach SSSE anhaltende Verbreiterung, d.h. eine längere Dauer, des fEPSPs, die sich nach spezifischer Antagonisierung als NMDA-Rezeptor-abhängig erwies. Einen reversiblen Verlust der bei kurzen Reizintervallen auftretenden Paired pulse-Inhibition zeigten auch Untersuchungen an Hirnschnitten von Ratten bzw. *in vivo* nach 24-stündiger Stimulation des Tractus perforans (Shirasaka und Wasterlain, 1994; Wasterlain et al., 1996). Kurz nach der Stimulation war die Inhibition sowohl bei kurzen Reizabständen von 10 bis 60 ms als auch bei langen Reizabständen von 200 bis 1000 ms signifikant reduziert. Vier Wochen später hatte die Inhibition bei den kurzen Intervallen annähernd Ausgangswerte erreicht, wohingegen bei den langen Intervallen immer noch eine signifikante Reduzierung bestand. Aufgrund dieser Ergeb-

nisse zogen die Autoren eine persistierende Beeinträchtigung der langsamen GABA_B-vermittelten Inhibition als Ursache des Auftretens von Anfällen in Betracht. Ein anhaltender Verlust der Paired pulse-Inhibition bei langen Reizabständen konnte in der vorliegenden *in vivo* Studie nicht bestätigt werden. Es kam anfangs, d.h. eine Woche nach SSSE, zu einer signifikanten Reduktion der Paired pulse-Inhibition bei 300 ms und 1000 ms (3 Stunden-SSSE-Gruppe) bzw. 300 ms und 500 ms (5 Minuten-SSSE-Gruppe). Bereits vier Wochen nach SSSE war das Ausgangsniveau für die betreffenden Intervalle jedoch in beiden Gruppen wieder erreicht. Zudem war in einer Untersuchung von Steffensen und Hendriksen die Paired pulse-Inhibition im Gyrus dentatus sowohl bei kurzen, als auch bei langen Interpulsintervallen GABA_A-abhängig (Steffensen und Henriksen, 1991). Der GABA_B-Agonist Baclofen hob die Inhibition bei kurzen und langen Intervallen in gleichem Maße auf wie der GABA_A-Antagonist Bicucullin. Dies ist durch die Hemmung der GABA-Freisetzung durch Aktivierung präsynaptischer GABA_B-Rezeptoren durch Baclofen zu erklären. Dagegen zeigte der GABA_B-Antagonist Phaclofen keinerlei Wirkung auf das Paired pulse-Verhalten. In einer neueren Untersuchung zu dieser Frage war die Paired pulse-Inhibition bei langen Reizabständen nur durch lokale und hochdosierte Applikation des GABA_B-Antagonisten CGP35348 beeinflussbar, niedrigere lokale Dosierungen und auch hochdosierte intraventrikuläre Applikation des Antagonisten zeigten keine Wirkung (Canning und Leung, 2000). Diese Ergebnisse sprechen dagegen, dass postsynaptische GABA_B-Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der Regulation der Erregbarkeit von Körnerzellen im Gyrus dentatus spielen. Es ist denkbar, dass die Paired pulse-Inhibition bei langen Reizabständen von mehr als 200 ms durch eine polysynaptisch übertragene Inhibition der Körnerzellen verursacht wird. Hierfür kommt eine Übertragung durch zwischen Körnerzellen und inhibitorische Korbzellen geschaltete exzitatorische Mooszellen in Frage.

4.3.3 Interpretation der Ergebnisse anhand der Literatur

4.3.3.1 Veränderungen der Exzitabilität der Körnerzellen

Als Ursache für die Veränderungen der Exzitabilität der Körnerzellen in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe kommt sowohl eine durch Moosfasersprossung be-

dingte Zunahme der exzitatorischen Vernetzung der Körnerzellen untereinander als auch eine Zunahme der Anzahl der Körnerzellen in Frage. Desweiteren sind auch Veränderungen auf der Ebene exzitatorischer Glutamatrezeptoren denkbar (zur Übersicht siehe Meldrum et al., 1999). Eine Verbreiterung der Körnerzellschicht aufgrund einer Zunahme der Zellzahl ist ein häufiger histologischer Befund in epileptischen Tieren nach Status epilepticus (Mello et al., 1993; Parent et al., 1997; Ribak und Dashtipour, 2002). Außerdem kann auch eine Beeinträchtigung der Vorwärtshemmung, wie sie von Sloviter nach Tractus perforans-Stimulation gefunden wurde, der beschleunigten Entladung der Körnerzellen zugrunde liegen (Sloviter, 1991a). Unter dem Begriff Moosfasersprossung, englisch „mossy fiber sprouting“, wird das Auswachsen von Kollateralen der Körnerzellaxone, der Moosfasern, in die innere Molekularschicht verstanden. Hier bilden die Moosfaserendigungen exzitatorische Synapsen mit den Dendriten der Körnerzellen, wodurch rekurrente Erregungskreisläufe und eine Zunahme der Erregbarkeit der Körnerzellen entstehen (Okazaki et al., 1999; Lynch und Sutula, 2000; Scharfman et al., 2003). Eine solche aberrante Sprossung von Moosfasern tritt unter normalen Bedingungen bei Menschen (Houser, 1990) und bei Ratten (Lorente de Nó, 1934; Claiborne et al., 1986) nicht oder nur in sehr geringem Maße auf, ist aber ein regelmäßiger Befund im Gyrus dentatus von epileptischen Versuchstieren. Durch die massive und zeitlich ausgedehnte epileptische Aktivität während des Status epilepticus kommt es zu einem Untergang von ursprünglichen Zielzellen der Körnerzellaxone, der Pyramidenzellen in CA3 und der Mooszellen im Hilus des Gyrus dentatus. Der Verlust von Zielzellen ist ein typischer Anreiz für das Aussprossen von Axonen. Es ist jedoch noch ungeklärt, warum die Axone der Körnerzellen im Rahmen des epileptischen Geschehens in eine andere Region einwachsen als unter physiologischen Bedingungen. Eine aberrante Sprossung von Moosfaserkollateralen im Zusammenhang mit einer Epilepsie nach experimentellem Status epilepticus wurde zunächst im Kainat-Modell (Tauck und Nadler, 1985; Cronin und Dudek, 1988; Represa et al., 1993) und im Pilocarpin-Modell (Mello et al., 1993; Okazaki et al., 1995) nachgewiesen. Auch in resezierten Hippocampi von Patienten mit Temporallappenepilepsie wurde das Phänomen der aberranten Moosfasersprossung gezeigt (Sutula et al., 1989; Babb et al., 1991). Wie jüngere Studien

zeigen, kommt es auch nach elektrisch induziertem Status epilepticus zu einer ausgeprägten Sprossung von Moosfaserkollateralen in die innere Molekularschicht (Mathern et al., 1997; Gorter et al., 2001; Holtmaat et al., 2003). Bezüglich des Zeitpunktes des ersten Auftretens und der weiteren Entwicklung der Moosfasersprossung zeigen die Ergebnisse in den verschiedenen Modellen weitgehende Übereinstimmung: Das Aussprossen der Fasern beginnt einige Tage bis wenige Wochen nach dem Status epilepticus und nimmt bis zum Erreichen eines stabilen Niveaus etwa drei Monate nach Status epilepticus stetig zu (Represa et al., 1993; Mello et al., 1993; Okazaki et al., 1995; Mikuni et al., 2000). Eine gesteigerte exzitatorische Vernetzung der Körnerzellen durch Moosfasersprossung kann demnach durchaus die Ursache der in der vorliegenden Untersuchung zwei Monate nach fünfminütigem SSSE aufgetretenen Exzitabilitätssteigerung sein. Trotz des regelhaften Auftretens von Moosfasersprossung in Verbindung mit einer Epilepsie ist unklar, ob die aberrante Sprossung in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Auftreten von Anfällen steht. Zwar überwiegen Studien, in denen Versuchstiere mit einer hohen Anfallsfrequenz einen signifikant höheren Grad an Moosfasersprossung zeigten als Tiere mit einer niedrigen Anfallsfrequenz (Cronin und Dudek, 1988; Mazarati und Wasterlain, 1997; Wenzel et al., 2000; Mazarati et al., 2002), es existieren aber auch widersprüchliche Befunde. Pitkanen et al. fanden weder bei Ratten nach elektrisch induziertem Status epilepticus, noch bei Patienten mit einer Temporallappenepilepsie einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Moosfasersprossung und der Anfallsfrequenz (Pitkanen et al., 2000). In einer weiteren nach elektrisch induziertem Status epilepticus durchgeführten Untersuchung bestand zwar in Tieren mit einer progressiven Zunahme der Anfallshäufigkeit eine Korrelation mit dem Grad der Ausprägung der Moosfasersprossung, andererseits trat eine starke Sprossung auch in einigen Tieren mit wenigen Anfällen auf (Gorter et al., 2001). In Untersuchungen von Longo und Mello im Pilocarpin- und Kainat-Modell hatte eine komplette Unterbindung der Moosfasersprossung durch Gabe des Proteinsyntheseinhibitors Cycloheximid keinen Einfluss auf das Auftreten von Anfällen (Longo und Mello, 1997; Longo und Mello, 1998). Diese Ergebnisse stellen in Zweifel, ob die Ausbildung rekurrenter Erregungskreisläufe eine notwendige Voraussetzung für die Generierung von Anfällen

ist. Möglicherweise handelt es sich bei der Moosfasersprossung um ein Epiphänomen.

4.3.3.2 *Verlust der Inhibition nach Status epilepticus*

Als Ursache einer gestörten Paired pulse-Inhibition nach Status epilepticus kommen verschiedene strukturelle und funktionelle Veränderungen in Frage, die zu einer verminderten GABA-vermittelten Inhibition der Körnerzellen durch Korbzellen führen. Es erscheint zunächst logisch, dass ein Inhibitionsverlust auch durch eine Steigerung exzitatorischer Mechanismen verursacht sein kann. Da jedoch die Paired pulse-Inhibition hauptsächlich auf einer rekurrenten Hemmung der Körnerzellen beruht (Sloviter, 1991a), würde eine gesteigerte Erregbarkeit der Körnerzellen auch zu einer vermehrten Erregung der nachgeschalteten Korbzellen führen, was eine gesteigerte, und nicht verminderte, Paired pulse-Inhibition zur Folge hätte (Chagnac-Amitai und Connors, 1989). Prinzipiell können einem Inhibitionsverlust die folgenden Mechanismen zugrunde liegen: 1) Ein Untergang inhibitorischer Interneurone, 2) Eine Deafferenzierung der inhibitorischen Interneurone, 3) Veränderungen der GABAergen Transmission durch prä- oder postsynaptische Mechanismen.

4.3.3.2.1 Veränderungen auf zellulärer bzw. Netzwerkebene

Nach experimentellem Status epilepticus kommt es in den hippocampalen Regionen CA3 und CA1, vor allem aber im Hilus des Gyrus dentatus zu einem ausgeprägten Zellverlust. Eine verminderte Zellzahl im Hilus, der neben exzitatorischen Mooszellen hauptsächlich inhibitorische Interneurone enthält, wird sowohl in den Chemokonvulsionsmodellen (Mello et al., 1993; Buckmaster und Dudek, 1997) als auch nach elektrischer Stimulation (Sloviter und Damiano, 1981; Mathern et al., 1997) übereinstimmend gefunden. Allerdings liefern immunhistochemische Untersuchungen zur Charakterisierung der zerstörten bzw. erhaltenen Zelltypen uneinheitliche Ergebnisse. Obenaus et al. fanden bis zu acht Wochen nach Pilocarpin-induziertem SSSE eine signifikante Abnahme von Glutamatdecarboxylase-mRNA enthaltenden Neuronen (entsprechend GABAergen Neuronen) im Hilus, inhibitorische Interneurone vom Korbzelltyp waren jedoch weitgehend erhalten geblieben (Obenaus et al., 1993). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Buck-

master und Jongen-Relo nach Kainat-induziertem Status epilepticus: Von der Gesamtheit der zerstörten GABAergen Interneurone im Hilus waren 87 Prozent Somatostatin-positiv, und damit nicht mit Korbzellen identisch (Buckmaster und Jongen-Relo, 1999).

Eine mögliche Erklärung für den offensichtlichen Widerspruch eines Inhibitionsverlustes trotz des Erhalts inhibitorischer Korbzellen liefert die sogenannte „dormant basket cell“ Hypothese. Sloviter beobachtete nach 24stündiger Stimulation des Tractus perforans einen anhaltenden Verlust der Paired pulse-Inhibition im Gyrus dentatus (siehe auch Kapitel 4.3.3.) (Sloviter, 1987; Sloviter, 1991b). Weiterführende Untersuchungen an Hirnschnitten der stimulierten Tiere ergaben, dass GABA-immunreaktive Korbzellen im Hilus des Gyrus dentatus zu einem großen Teil erhalten waren, andere hiläre Zellen hingegen, neben Somatostatin-positiven Interneuronen vor allem Mooszellen, weitestgehend zerstört worden waren. Sloviter postulierte daraufhin, dass der Verlust der Inhibition der Körnerzellen auf einem Untergang der die inhibitorischen Korbzellen erregenden Mooszellen beruhe. Inhibitorische Interneurone wären somit zwar erhalten und funktionell intakt, jedoch aufgrund des Verlustes der sie erregenden Afferenzen „schlafend“. Bekenstein und Lothman kamen durch elektrophysiologische Messungen zu Ergebnissen, die mit der „dormant basket cell“ Hypothese vereinbar sind, allerdings in der CA1-Region des Hippocampus (Bekenstein und Lothman, 1993). In Hirnschnitten von Ratten nach elektrisch induziertem SSSE verglichen sie intrazellulär abgeleitete Potenziale in Pyramidenzellen der CA1 in Antwort auf in direkter Nähe ($\leq 200 \mu\text{m}$) oder weiterer Entfernung ($> 1 \text{ mm}$) von der betreffenden Zelle applizierte Reize. In Schnitten von Kontrolltieren erzeugten nah wie entfernt applizierte Stimuli exzitatorische (EPSPs) und schnelle und langsame inhibitorische Potenziale (IPSPs). Dagegen wurden IPSPs in epileptischen Tieren nur durch nahe, nicht jedoch durch weiter entfernt applizierte Stimuli ausgelöst. Hieraus folgerten die Autoren, dass in den Hirnschnitten der epileptischen Tiere inhibitorische Interneurone, die bei Stimulation nah an der Pyramidenzelle direkt gereizt wurden, vorhanden und funktionsfähig waren. Eine Exzitation der inhibitorischen Interneurone durch Afferenzen, die bei weiter entfernter Reizung erregt werden, war jedoch nicht möglich, was durch einen Verlust dieser Afferenzen erklärbar ist.

Im Gegensatz zu den oben genannten Studien, in denen ähnlich den Ergebnissen von Sloviter ein Erhalt der Parvalbumin-positiven Zellen gefunden wurde, zeigen neuere Untersuchungen einen ausgeprägten Verlust dieses Zelltyps nach experimentellem Status epilepticus. In einer Studie von Gorter et al. zeigte sich drei bis sechs Wochen nach elektrisch induziertem SSSE eine Reduzierung des Gehalts Parvalbumin-positiver Zellen in der Körnerzellschicht und im Hilus auf 8 bis 16 Prozent der Kontrollen (Gorter et al., 2001). Sechs und zwölf Tage nach Pilocarpin-induziertem SSSE fanden Andre et al. eine Reduktion hilärer Zellen um bis zu 87 Prozent verglichen mit Kontrolltieren (Andre et al., 2001). Der Gehalt Parvalbumin-positiver Interneurone war zu diesen Zeitpunkten in der Körnerzellschicht um bis zu 47 Prozent und im Hilus um 60 Prozent verringert. Untersuchungen von Kobayashi und Buckmaster ergaben in Hirnschnitten von epileptischen Tieren vier Wochen nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus eine Reduzierung GAD-mRNA-haltiger Zellen im Gyrus dentatus auf 66 Prozent der Kontrollwerte. Die Anzahl sowohl der Somatostatin- als auch der Parvalbumin-positiven Zellen war im Durchschnitt auf 46-48 Prozent reduziert (Kobayashi und Buckmaster, 2003). Untersuchungen an epileptischen mongolischen Wüstenrennmäusen haben gezeigt, dass Anfallsaktivität eine Verminderung der Darstellbarkeit Parvalbumin-haltiger Interneurone mittels Immunhistochemie bewirken kann (Scotti et al., 1997). Demnach kann eine verminderte Parvalbumin-Immunreaktivität nach Status epilepticus nicht nur auf einem Verlust, sondern auch auf einer verringerten Darstellbarkeit der betreffenden Zellen beruhen. Kobayashi und Buckmaster zeigten jedoch im Zusammenhang mit der Abnahme Parvalbumin-positiver Zellen im Hilus auch eine Reduktion von IPSCs in Körnerzellen in Antwort auf eine somanahe Reizung (Kobayashi und Buckmaster, 2003). Da eine somanahe synaptische Inhibition von Korbzellen ausgeht, spricht dies für einen tatsächlichen Verlust dieses Zelltyps. Gegen die Annahme, dass Parvalbumin-haltige Zellen durch Anfallsaktivität nur scheinbar reduziert sind, spricht auch, dass Andre et al. in chronisch epileptischen Tieren mehr Parvalbumin-positiv Zellen fanden als während der anfallsfreien Latenzperiode (Andre et al., 2001). In Anbetracht dieser neueren Ergebnisse ist es also durchaus möglich, dass ein Verlust, und nicht eine Deafferenzierung von Korbzellen die Ursache der Aufhebung der Paired pulse-Inhibition

nach Status epilepticus ist. Zum anderen ist es sehr fraglich, ob ein Verlust von Mooszellen bei erhaltenen Korbzellen überhaupt zu einer Aufhebung der rekurrenten Inhibition führen kann, da Mooszellen nur einen kleinen Anteil der exzitatorischen Afferenzen auf Korbzellen ausmachen. Die hauptsächlichsten glutamatergen Afferenzen auf Korbzellen stammen von CA3-Pyramidenzellen, aus dem entorhinalen Kortex über den Tractus perforans und von Körnerzellen. Für die mit der Paired pulse-Messung erfasste rekurrente Hemmung der Körnerzellen ist die Exzitation der Korbzellen durch die Körnerzellen selbst, und nicht durch Mooszellen, entscheidend.

Zudem geht die „dormant basket cell“-Hypothese davon aus, dass ein Verlust Somatostatin-positiver Interneurone nicht die Ursache einer beeinträchtigten rekurrenten Inhibition sein kann. Für Korbzellen wurde gezeigt, dass diese die anatomischen Voraussetzungen für eine Vorwärts-, vor allem aber für eine rekurrente Inhibition der Körnerzellen aufweisen (Seress et al., 2001). Diese beiden inhibitorischen Funktionsweisen wurden für diesen Zelltyp auch durch elektrophysiologische Messungen bestätigt (Kneisler und Dingledine, 1995). Für Somatostatin-positiv-interneurone liegen derartige elektrophysiologische Untersuchungen nicht vor. Der Zelltyp der dendritischen inhibitorischen Zellen, der einen Großteil der Somatostatin-immunreaktiven Interneurone ausmacht, zeigt jedoch ebenfalls die anatomischen Voraussetzungen für eine Inhibition sowohl in Vorwärts- als auch in Rückwärtsrichtung (Leranth et al., 1990). Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch ein Verlust Somatostatin-positiver Interneurone eine Beeinträchtigung der rekurrenten Inhibition verursachen kann.

4.3.3.2.2 Veränderungen auf synaptischer Ebene

Theoretisch sind verschiedene Mechanismen denkbar, die auf der Ebene der GABAergen Synapse zu einer gestörten Inhibition der Körnerzellen führen können. Auf präsynaptischer Seite sind hier beispielsweise eine Verminderung der Entladungsrates der Interneurone oder eine verminderte GABA-Freisetzung aus den synaptischen Endigungen zu nennen, auf postsynaptischer Seite kommen Membranveränderungen, die eine verminderte Hyperpolarisation der Körnerzelle bewirken, als Ursache eines Inhibitionsverlustes in Frage. In der Literatur existie-

ren jedoch kaum Arbeiten, in denen die genannten Aspekte während der Latenzphase nach Status epilepticus im Gyrus dentatus untersucht wurden. Cohen et al. führten sechs bis acht Tage nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus, vor dem Auftreten spontaner Anfälle, Einzelzelleitungen an Körnerzellen des Gyrus dentatus durch. Sie zeigten, dass die Amplitude von mIPSCs (miniatureIPSCs) im Vergleich zu Kontrollwerten signifikant kleiner war (Cohen et al., 2003). Diese spontan auftretenden hyperpolarisierenden Ströme sind zwar nicht direkt mit Stimulus-induzierter synaptischer Aktivität, mit der in der vorliegenden Studie gearbeitet wurde, in Verbindung zu bringen, sprechen aber für eine Veränderung postsynaptischer Ionenkanäle während der Latenzphase (Otis et al., 1994).

4.3.3.3 Erholung der Inhibition im weiteren Verlauf

In der vorliegenden Studie kam es nach Status epilepticus zu einem nur vorübergehenden Verlust der rekurrenten Inhibition im Gyrus dentatus. Für eine Wiederherstellung der initial verlorenen Inhibition kommen verschiedene kompensatorische Mechanismen in Frage.

Verschiedene Autoren fanden Hinweise, dass es in der Phase der chronischen Epilepsie zu einem Aussprossen der Axone von GABAergen Interneuronen kommt. So zeigte sich im Gyrus dentatus von epileptischen Ratten 14 bis 120 Tage nach Kainat-induziertem Status epilepticus eine im Vergleich zu Kontrollen signifikant gesteigerte Immunreaktivität des GABA-Syntheseenzym Glutamatdecarboxylase (GAD). Dieser Befund war in der inneren Molekularschicht am ausgeprägtesten (Davenport et al., 1990). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen andere Autoren bei der immunhistochemischen Untersuchung des GAD-Gehalts im Gyrus dentatus chronisch epileptischer Ratten nach elektrisch induziertem und Pilocarpin-induziertem SSSE (Mathern et al., 1997; Esclapez und Houser, 1999). In der letztgenannten Arbeit fand sich eine verstärkte Anfärbung von Axonterminalen in der äußeren Molekular- und in der Körnerzellschicht, wobei letztere Region dem Zielgebiet der Axone von Korbzellen entspricht. Die genannten Daten sprechen entweder für eine Zunahme der Menge des GABA-Syntheseenzym in den Axonterminalen, oder für eine Zunahme der Axonterminalen selbst. Es ist anzunehmen, wenn auch bisher für den Gyrus dentatus nicht dezidiert nachgewiesen, dass mit

der gesteigerten Menge des Synthesenzym auch eine gesteigerte GABA-Freisetzung verbunden ist.

Eine weitere mögliche Ursache für die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Wiederherstellung der Inhibition ist eine Zunahme der Sensitivität der GABA-Rezeptoren von Körnerzellen im Stadium der chronischen Epilepsie. In Körnerzellen des Gyrus dentatus von Ratten nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus wurde eine signifikante Zunahme der Amplitude monosynaptisch übertragener IPSCs gezeigt (Bausch und Chavkin, 1997). Untersucht wurden Hirnschnitte von chronisch epileptischen Ratten 13 Tage bis sechs Wochen nach SSSE. Ähnliche Ergebnisse ergab die Einzelzelleableitung von Körnerzellen unter GABA-Applikation: In den Zellen von chronisch epileptischen Tieren 3 bis 17 Wochen nach Pilocarpin-induziertem SSSE war die Amplitude GABA-evozierter Potenziale bei gleichen GABA-Konzentrationen annähernd 90 Prozent größer als in Zellen von Kontrolltieren (Gibbs, III et al., 1997). Brooks-Kayal et al. verglichen die Eigenschaften isolierter Körnerzellen von Ratten zu verschiedenen Zeitpunkten nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus. Auch in dieser Studie fand sich in Körnerzellen von chronisch epileptischen Tieren einen bis vier Monate nach SSSE eine ausgeprägte Verstärkung GABA-induzierter Antwortpotenziale. Hingegen war in Körnerzellen von Tieren in der anfallsfreien Latenzphase keine verstärkte GABA-Wirkung nachzuweisen (Brooks-Kayal et al., 1998). Diese Ergebnisse sprechen für eine kompensatorische Verstärkung der Sensitivität der GABA-Rezeptoren während der chronisch epileptischen Phase. Wahrscheinlich liegt der gesteigerten Effizienz der GABA-Wirkung eine Umstrukturierung des GABA-Rezeptors zugrunde. Hierfür spricht, dass Brooks-Kayal et al. im Zusammenhang mit der veränderten Antwort auf GABA signifikante Veränderungen der Zusammensetzung der für die GABA-Rezeptoruntereinheiten codierenden mRNA fanden. Aber auch eine Zunahme der Anzahl postsynaptischer GABA-Rezeptoren kommt als Ursache der genannten Veränderungen in Frage (Fritschy et al., 1999).

In der vorliegenden Studie war die Inhibition zu einem Zeitpunkt wieder normalisiert, als bei einem Großteil der Tiere spontane Anfälle auftraten, sich also eine chronische Epilepsie entwickelt hatte. Wenn man davon ausgeht, dass der initiale

Inhibitionsverlust durch einen Untergang inhibitorischer Neurone verursacht war, könnten die geschilderten reaktiven Veränderungen, eine Vermehrung GABA-haltiger Axone, die Zunahme der Sensitivität verbleibender GABA-Rezeptoren bzw. eine Hochregulation der Anzahl von GABA-Rezeptoren, der Wiederherstellung der Inhibition zugrunde liegen. Da die genannten Veränderungen mit großer Übereinstimmung erst während der chronisch epileptischen Phase auftreten, werden sie als reparative Mechanismen für einen initialen Inhibitionsverlust verstanden. Die Restitution der Inhibition ist jedoch nicht ausreichend, um das Auftreten von Anfällen zu verhindern.

4.4 Vergleich der zeitlichen Entwicklung der Epilepsie und der elektro-physiologischen Messdaten

In der vorliegenden Arbeit traten Anfälle nicht zum Zeitpunkt des größten Inhibitionsverlustes im Gyrus dentatus auf. Im Gegenteil, der Inhibitionsverlust war eine Woche nach Status epilepticus, als sich der überwiegende Teil der Tiere noch in der anfallsfreien Latenzphase befand, maximal. Im weiteren Verlauf kam es zu einer zunehmenden Wiederherstellung der Inhibition. Acht Wochen nach Status epilepticus, als der Großteil der Tiere eine chronische Epilepsie entwickelt hatte, waren die Paired pulse-Werte annähernd auf das Ausgangsniveau zurückgekehrt. Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit lässt sich demnach kein direkter Zusammenhang zwischen einem Inhibitionsverlust im Gyrus dentatus und dem Auftreten epileptischer Anfälle ableiten. Eine bessere zeitliche Übereinstimmung fand sich zwischen dem Auftreten von Anfällen und der beschleunigten Entladung von Körnerzellen in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe. Die Latenzverkürzung als Ausdruck einer gesteigerten Erregbarkeit der Körnerzellen hatte acht Wochen nach Status epilepticus ein signifikantes Niveau erreicht.

Für den entgegengerichteten Verlauf der rekurrenten Inhibition im Gyrus dentatus und der Entwicklung einer Epilepsie gibt es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten: 1) In der direkten Folge des Status epilepticus, während der anfallsfreien Latenzphase, kommt es zu einem Inhibitionsverlust, der wahrscheinlich durch den Untergang von Interneuronen verursacht ist. Dieser Inhibitionsverlust per se ist nicht ausreichend, um Anfälle auszulösen. Gleichzeitig führen aber verschiedene

Mechanismen, unter anderem ein Aussprossen von Moosfasern, zu einer Steigerung der Exzitabilität der Körnerzellen. Zum Ausgleich des Inhibitionsverlustes kommt es zu reaktiven Veränderungen (siehe vorangehendes Kapitel), die zwar die rekurrente Inhibition wiederherstellen, jedoch nicht ausreichen, um die gesteigerte Erregbarkeit der Körnerzellen zu kontrollieren, so dass Anfälle entstehen.

2) Ein alternativer Erklärungsansatz beruht auf der Theorie, dass der Gyrus dentatus in seiner Lokalisation am Eingang zur hippocampalen Formation eine Filterfunktion ausübt, die bei einer Aufhebung der GABAergen Inhibition nicht aufrechterhalten werden kann (Heinemann et al., 1992; Lothman et al., 1992). Auf der Basis dieser Theorie ist es denkbar, dass ein vorübergehender Zusammenbruch der Filterfunktion in nachgeschalteten limbischen Kortexarealen, die in dieser Arbeit nicht untersucht wurden, zu epileptogenen Veränderungen geführt hat.

4.5 Zusammenfassende Betrachtung der vier Versuchsgruppen

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit die Dauer eines experimentellen Status epilepticus die Entwicklung von Anfällen und das Ausmaß elektrophysiologischer Veränderungen beeinflusst. Die beiden Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Dauer des SSSE unterschieden sich weder bezüglich des Ausmaßes der Beeinträchtigung der rekurrenten Inhibition, noch bezüglich der Schwere der entwickelten Epilepsie in signifikantem Maße voneinander. Zwar entwickelte nach dreistündigem SSSE ein deutlich höherer Prozentsatz der Tiere eine chronische Epilepsie, auch dieser Unterschied erreichte jedoch kein signifikantes Niveau, vermutlich aufgrund der niedrigen Anzahl untersuchter Tiere.

4.5.1 Einführung einer Stimulationskontrollgruppe

In anderen Studien wurden neben Elektrodenkontrollen meist Tiere, die nach Stimulation im wachen Zustand keinen Status epilepticus entwickelten, als Kontrollen herangezogen (z.B. Bertram und Cornett, 1993; Gorter et al., 2001). Es wurde jedoch bisher noch nicht untersucht, inwieweit die Entwicklung einer Epilepsie und elektrophysiologische Veränderungen nach Status epilepticus durch die Stimulation verursacht sind. Zur Klärung dieses Zusammenhangs wurde daher in der vorliegenden Arbeit neben Elektrodenkontrolltieren zusätzlich Stimulationskontrolltiere untersucht, in denen eine Stimulation unter völliger Unterdrückung sowohl

der elektrographischen als auch der klinischen epileptischen Aktivität durchgeführt wurde. Bei keinem der Tiere kam es in Folge der alleinigen Stimulation zum Auftreten von Anfällen. Bei Betrachtung der elektrophysiologischen Parameter ergibt sich in keiner der beiden Kontrollgruppen Anhalt für eine Erregbarkeitssteigerung, da sich weder die Amplitude, noch die Latenz des Summenaktionspotenzials in signifikanter Weise veränderte. Allerdings war die Paired pulse-Inhibition in der Stimulationskontrollgruppe bei immerhin zwei von sechs Tieren beeinträchtigt, wenn auch in deutlich geringerem Maße als in den beiden SSSE-Gruppen. In der Elektrodenkontrollgruppe trat dagegen nur bei einem von acht Tieren eine leichte Beeinträchtigung der Inhibition auf. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in wenigen, wahrscheinlich vulnerableren, Tieren allein durch Stimulation geringgradige Veränderungen des Hirngewebes ausgelöst werden können. Diese erreichen jedoch nicht den Schweregrad der durch Status epilepticus induzierten Veränderungen und sind in keinem der beobachteten Fälle epileptogen.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Mechanismen der Epileptogenese in der Folge eines experimentell induzierten Status epilepticus. Ein Status epilepticus wurde an erwachsenen Ratten durch kontinuierliche elektrische Stimulation des Tractus perforans ausgelöst. Das Auftreten spontaner epileptischer Anfälle als Ausdruck einer stattgehabten Epileptogenese wurde im Verlauf von acht Wochen nach Status epilepticus mittels Videoüberwachung erfasst. Zur Untersuchung pathophysiologischer Prozesse, die der Epileptogenese zugrunde liegen, wurden ebenfalls in Form einer Verlaufsbeobachtung elektrophysiologische Messungen im Gyrus dentatus durchgeführt. Im Gyrus dentatus erfolgt die erste synaptische Umschaltung der hippocampalen Afferenzen. Die Aktivität der Prinzipalzellen in dieser Struktur unterliegt unter physiologischen Bedingungen einer ausgeprägten inhibitorischen Kontrolle. Durch Analyse von Einzel- und Doppelreizantworten vor und im Verlauf nach Status epilepticus sollten daher Veränderungen der Exzitabilität der Prinzipalzellen und der inhibitorischen Kontrolle in dieser Hirnstruktur beurteilt werden. Zur Beantwortung der Frage, inwieweit die Entwicklung einer Epilepsie und die elektrophysiologisch messbaren Veränderungen von der Dauer des Status epilepticus abhängen, wurden die Untersuchungen an zwei Versuchsgruppen durchgeführt, in denen der Status epilepticus nach einer Dauer von fünf Minuten bzw. drei Stunden medikamentös beendet wurde. Zusätzlich wurden sämtliche Parameter an einer Elektroden- und einer Stimulationskontrollgruppe durchgeführt.

Im Verlauf von acht Wochen nach elektrisch induziertem Status epilepticus entwickelte sich bei einem Großteil der Versuchstiere eine chronische Epilepsie. Zum spätesten Beobachtungszeitpunkt traten rekurrente spontane Anfälle bei 80 Prozent der Tiere nach einem dreistündigen Status epilepticus und bei 50 Prozent der Tiere nach einem fünfminütigen Status epilepticus auf. Der prozentuale Anteil der Tiere mit epileptischen Anfällen war im Verlauf nach Status epilepticus progredient, so dass auf das Vorhandensein einer initialen anfallsfreien Latenzperiode geschlossen werden kann. Tiere beider Kontrollgruppen zeigten zu keinem Zeit-

punkt epileptische Anfälle.

Die Inhibition im Gyrus dentatus war eine Woche nach Status epilepticus massiv beeinträchtigt. Dieser Befund war in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe ausgeprägter als in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe. Im weiteren zeitlichen Verlauf war der Inhibitionsverlust nicht anhaltend: Vier und acht Wochen nach SSSE zeigte sich eine zunehmende Wiederannäherung an die vor dem Status epilepticus erhobenen Messwerte. Dieses Ergebnis war in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe einheitlicher als in der 5 Minuten-SSSE-Gruppe.

Die Analyse der Einzelreizantworten, die Rückschlüsse auf die Erregbarkeit der Prinzipalzellen zulässt, ergab die folgenden Ergebnisse: In der 5-Minuten-SSSE-Gruppe fand sich acht Wochen nach Status epilepticus eine signifikante Beschleunigung der Auslösung des Summenaktionspotenzials. Dieses Ergebnis wiederholte sich in der 3 Stunden-SSSE-Gruppe allerdings nicht. Hier zeigte die SAP-Latenz im Verlauf nach Status epilepticus eher unspezifische Veränderungen. Die Amplitude des Summenaktionspotenzials veränderte sich in keiner der Gruppen in signifikantem Maße. In der 5 Minuten-SSSE-Gruppe zeigte jedoch acht Wochen nach Status epilepticus die Mehrheit der Tiere eine teils massive Amplitudenzunahme. In den beiden Kontrollgruppen zeigte keiner der elektrophysiologischen Parameter erhebliche Veränderungen.

Der initial nach experimentellem Status epilepticus aufgetretene Inhibitionsverlust beruht wahrscheinlich auf einem Untergang inhibitorischer Interneurone in der Folge der massiven zeitlich ausgedehnten epileptischen Aktivität. Im weiteren zeitlichen Verlauf kommt es wahrscheinlich zu kompensatorischen Mechanismen wie einer Axonsprossung verbleibender Interneurone und einer Zunahme der Sensitivität von GABA-Rezeptoren. Offensichtlich reichen diese kompensatorischen Mechanismen jedoch nicht aus, um das Auftreten von Anfällen zu verhindern.

6 Anhang

Literaturverzeichnis

1. Aicardi, J. und Chevrie, J. J. (1970). Convulsive status epilepticus in infants and children. A study of 239 cases. *Epilepsia* **11**(2):187-197.
2. Aminoff, M. J. und Simon, R. P. (1980). Status epilepticus. Causes, clinical features and consequences in 98 patients. *Am. J. Med.* **69**(5):657-666.
3. Andersen, P., Bliss, T. V. und Skrede, K. K. (1971a). Lamellar organization of hippocampal pathways. *Exp. Brain Res.* **13**(2):222-238.
4. Andersen, P., Bliss, T. V. und Skrede, K. K. (1971b). Unit analysis of hippocampal population spikes. *Exp. Brain Res.* **13**(2):208-221.
5. Andersen, P., ECCLES, J. C. und LOYNING, Y. (1963). Recurrent inhibition in the hippocampus with identification of the inhibitory cell and its synapses. *Nature* **198**:540-542.
6. Andre, V., Marescaux, C., Nehlig, A. und Fritschy, J. M. (2001). Alterations of hippocampal GABAergic system contribute to development of spontaneous recurrent seizures in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* **11**(4):452-468.
7. Annegers, J. F., Rocca, W. A. und Hauser, W. A. (1996). Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin. Proc.* **71**(6):570-575.
8. Arida, R. M., Scorza, F. A., Peres, C. A. und Cavalheiro, E. A. (1999). The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res.* **34**(2-3):99-107.
9. Ayala, G. F. (1983). The paroxysmal depolarizing shift. *Prog. Clin. Biol. Res.* **124**:15-21.
10. Babb, T. L., Kupfer, W. R., Pretorius, J. K., Crandall, P. H. und Levesque, M. F. (1991). Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. *Neuroscience* **42**(2):351-363.
11. Bakst, I., Avendano, C., Morrison, J. H. und Amaral, D. G. (1986). An experimental analysis of the origins of somatostatin-like immunoreactivity in the dentate gyrus of the rat. *J Neurosci* **6**(5):1452-1462.
12. Barnes, C. A., McNaughton, B. L., Goddard, G. V., Douglas, R. M. und Adamec, R. (1977). Circadian rhythm of synaptic excitability in rat

and monkey central nervous system. *Science* **197**(4298):91-92.

13. Bausch, S. B. und Chavkin, C. (1997). Changes in hippocampal circuitry after pilocarpine-induced seizures as revealed by opioid receptor distribution and activation. *J Neurosci* **17**(1):477-492.
14. Beaussart, M. (1972). Benign epilepsy of children with Rolandic (centro-temporal) paroxysmal foci. A clinical entity. Study of 221 cases. *Epilepsia* **13**(6):795-811.
15. Beghi, E. und Tognoni, G. (1988). Prognosis of epilepsy in newly referred patients: a multicenter prospective study. Collaborative Group for the Study of Epilepsy. *Epilepsia* **29**(3):236-243.
16. Bekenstein, J. W. und Lothman, E. W. (1993). Dormancy of inhibitory interneurons in a model of temporal lobe epilepsy. *Science* **259**(5091):97-100.
17. Ben Ari, Y. und Cossart, R. (2000). Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. *Trends Neurosci* **23**(11):580-587.
18. Ben Ari, Y. und Lagowska, J. (1978). [Epileptogenic action of intra-amygdaloid injection of kainic acid]. *C. R. Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D.* **287**(8):813-816.
19. Ben Ari, Y., Lagowska, J., Tremblay, E. und Le Gal, L. S. (1979). A new model of focal status epilepticus: intra-amygdaloid application of kainic acid elicits repetitive secondarily generalized convulsive seizures. *Brain Res.* **163**(1):176-179.
20. Bertram, E. H. und Cornett, J. (1993). The ontogeny of seizures in a rat model of limbic epilepsy: evidence for a kindling process in the development of chronic spontaneous seizures. *Brain Res.* **625**(2):295-300.
21. Bertram, E. H. und Cornett, J. F. (1994). The evolution of a rat model of chronic spontaneous limbic seizures. *Brain Res.* **661**(1-2):157-162.
22. Bliss, T. V. und Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* **232**(2):331-356.
23. Bratz, E. (1899). Ammonshornbefunde bei Epileptikern. *Arch Psychiatr Nervenkr* **32**:820-835.
24. Brines, M. L., Dare, A. O. und de Lanerolle, N. C. (1995). The cardiac gly-

coside ouabain potentiates excitotoxic injury of adult neurons in rat hippocampus. *Neurosci Lett.* **191**(3):145-148.

25. Brooks-Kayal, A. R., Shumate, M. D., Jin, H., Rikhter, T. Y. und Coulter, D. A. (1998). Selective changes in single cell GABA(A) receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy. *Nat. Med.* **4**(10):1166-1172.
26. Brucato, F. H., Morrisett, R. A., Wilson, W. A. und Swartzwelder, H. S. (1992). The GABAB receptor antagonist, CGP-35348, inhibits paired-pulse disinhibition in the rat dentate gyrus in vivo. *Brain Res.* **588**(1):150-153.
27. Buckmaster, P. S. und Dudek, F. E. (1997). Network properties of the dentate gyrus in epileptic rats with hilar neuron loss and granule cell axon reorganization. *J. Neurophysiol.* **77**(5):2685-2696.
28. Buckmaster, P. S. und Jongen-Relo, A. L. (1999). Highly specific neuron loss preserves lateral inhibitory circuits in the dentate gyrus of kainate-induced epileptic rats. *J Neurosci* **19**(21):9519-9529.
29. Buckmaster, P. S., Jongen-Relo, A. L., Davari, S. B. und Wong, E. H. (2000). Testing the disinhibition hypothesis of epileptogenesis in vivo and during spontaneous seizures. *J Neurosci* **20**(16):6232-6240.
30. Buckmaster, P. S. und Schwartzkroin, P. A. (1995). Interneurons and inhibition in the dentate gyrus of the rat in vivo. *J. Neurosci.* **15**(1 Pt 2):774-789.
31. Buckmaster, P. S. und Wong, E. H. (2002). Evoked responses of the dentate gyrus during seizures in developing gerbils with inherited epilepsy. *J. Neurophysiol.* **88**(2):783-793.
32. Butcher, S. P., Jacobson, I. und Hamberger, A. (1988). On the epileptogenic effects of kainic acid and dihydrokainic acid in the dentate gyrus of the rat. *Neuropharmacology* **27**(4):375-381.
33. Buzsaki, G. (1984). Feed-forward inhibition in the hippocampal formation. *Prog. Neurobiol.* **22**(2):131-153.
34. Buzsaki, G. (2001). Hippocampal GABAergic interneurons: a physiological perspective. *Neurochem. Res.* **26**(8-9):899-905.
35. Canning, K. J. und Leung, L. S. (2000). Excitability of rat dentate gyrus granule cells in vivo is controlled by tonic and evoked GABA(B) receptor-mediated inhibition. *Brain Res.* **863**(1-2):271-275.

36. Cavalheiro, E. A., Leite, J. P., Bortolotto, Z. A., Turski, W. A., Ikonomidou, C. und Turski, L. (1991). Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* **32**(6):778-782.
37. Cavalheiro, E. A., Riche, D. A. und Le Gal, L. S. (1982). Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: a method for inducing spontaneous recurrent seizures. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **53**(6):581-589.
38. Chagnac-Amitai, Y. und Connors, B. W. (1989). Synchronized excitation and inhibition driven by intrinsically bursting neurons in neocortex. *J Neurophysiol.* **62**(5):1149-1162.
39. Claassen, J., Lokin, J. K., Fitzsimmons, B. F., Mendelsohn, F. A. und Mayer, S. A. (2002). Predictors of functional disability and mortality after status epilepticus. *Neurology* **58**(1):139-142.
40. Claiborne, B. J., Amaral, D. G. und Cowan, W. M. (1986). A light and electron microscopic analysis of the mossy fibers of the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* **246**(4):435-458.
41. Clifford, D. B., Olney, J. W., Maniotis, A., Collins, R. C. und Zorumski, C. F. (1987). The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience* **23**(3):953-968.
42. Coeytaux, A., Jallon, P., Galobardes, B. und Morabia, A. (2000). Incidence of status epilepticus in French-speaking Switzerland: (EPISTAR). *Neurology* **55**(5):693-697.
43. Cohen, A. S., Lin, D. D., Quirk, G. L. und Coulter, D. A. (2003). Dentate granule cell GABA(A) receptors in epileptic hippocampus: enhanced synaptic efficacy and altered pharmacology. *Eur. J. Neurosci.* **17**(8):1607-1616.
44. Cole, A. J., Koh, S. und Zheng, Y. (2002). Are seizures harmful: what can we learn from animal models? *Prog. Brain Res.* **135**:13-23.
45. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy (1981). Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* **22**(4):489-501.
46. Commission on Epidemiology and Prognosis, I. L. A. E. (1993). Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. *Epilepsia* **34**(4):592-596.

47. Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nat. Rev. Neurosci* **3**(2):153-160.
48. Coulter, D. A. und DeLorenzo, R. J. (1999). Basic mechanisms of status epilepticus. *Adv. Neurol.* **79**:725-733.
49. Covolan, L. und Mello, L. E. (2000). Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus. *Epilepsy Res.* **39**(2):133-152.
50. Crespel, A., Coubes, P. und Baldy-Moulinier, M. (2000). Sleep influence on seizures and epilepsy effects on sleep in partial frontal and temporal lobe epilepsies. *Clin. Neurophysiol.* **111 Suppl 2**:S54-S59.
51. Cronin, J. und Dudek, F. E. (1988). Chronic seizures and collateral sprouting of dentate mossy fibers after kainic acid treatment in rats. *Brain Res.* **474**(1):181-184.
52. Davenport, C. J., Brown, W. J. und Babb, T. L. (1990). Sprouting of GABAergic and mossy fiber axons in dentate gyrus following intrahippocampal kainate in the rat. *Exp. Neurol* **109**(2):180-190.
53. de Lanerolle, N. C., Kim, J. H., Robbins, R. J. und Spencer, D. D. (1989). Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* **495**(2):387-395.
54. DeLorenzo, R. J., Pellock, J. M., Towne, A. R. und Boggs, J. G. (1995). Epidemiology of status epilepticus. *J. Clin. Neurophysiol.* **12**(4):316-325.
55. Di Mascio, R., Beghi, E., Sasanelli, F. und Tognoni, G. (1986). Early prognosis of epilepsy. Effects of treatment in the first follow-up year. *Ital. J Neurol. Sci.* **7**(4):421-429.
56. Dinner, D. S. (2002). Effect of sleep on epilepsy. *J. Clin. Neurophysiol.* **19**(6):504-513.
57. Dodrill, C. B. und Wilensky, A. J. (1990). Intellectual impairment as an outcome of status epilepticus. *Neurology* **40**(5 Suppl 2):23-27.
58. Doherty, J. und Dingledine, R. (2001). Reduced excitatory drive onto interneurons in the dentate gyrus after status epilepticus. *J. Neurosci.* **21**(6):2048-2057.
59. Dudek, F. E., Hellier, J. L., Williams, P. A., Ferraro, D. J. und Staley, K. J. (2002). The course of cellular alterations associated with the development of spontaneous seizures after status epilepticus. *Prog.*

Brain Res. **135**:53-65.

60. Dutar, P. und Nicoll, R. A. (1988). A physiological role for GABAB receptors in the central nervous system. *Nature* **332**(6160):156-158.
61. Elwes, R. D., Johnson, A. L. und Reynolds, E. H. (1988). The course of untreated epilepsy. *BMJ* **297**(6654):948-950.
62. Engel, J., Jr., Driver, M. V. und Falconer, M. A. (1975). Electrophysiological correlates of pathology and surgical results in temporal lobe epilepsy. *Brain* **98**(1):129-156.
63. Esclapez, M. und Houser, C. R. (1999). Up-regulation of GAD65 and GAD67 in remaining hippocampal GABA neurons in a model of temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol.* **412**(3):488-505.
64. Ferkany, J. W., Zaczek, R. und Coyle, J. T. (1984). The mechanism of kainic acid neurotoxicity. *Nature* **308**(5959):561-562.
65. Freund, T. F. (2003). Interneuron Diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci* **26**(9):489-495.
66. Freund, T. F. und Buzsaki, G. (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* **6**(4):347-470.
67. Fritschy, J. M., Kiener, T., Boullieret, V. und Loup, F. (1999). GABAergic neurons and GABA(A)-receptors in temporal lobe epilepsy. *Neurochem. Int.* **34**(5):435-445.
68. Gibbs, J. W., III, Shumate, M. D. und Coulter, D. A. (1997). Differential epilepsy-associated alterations in postsynaptic GABA(A) receptor function in dentate granule and CA1 neurons. *J Neurophysiol.* **77**(4):1924-1938.
69. Goodman, J. H. (1998). Experimental models of Status epilepticus. In: Peterson, S. L. & Albertson, T. E. (Hrsg.): *Neuropharmacological Methods in Epilepsy Research*. CRC Press, Boca Raton, pp. 95-124.
70. Gorter, J. A., van Vliet, E. A., Aronica, E. und Lopes da Silva, F. H. (2001). Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatin-immunoreactive neurons. *Eur. J. Neurosci.* **13**(4):657-669.
71. Gorter, J. A., van Vliet, E. A., Aronica, E. und Lopes-da-Silva, F. H. (2002). Long-lasting increased excitability differs in dentate gyrus

vs. CA1 in freely moving chronic epileptic rats after electrically induced status epilepticus. *Hippocampus* **12**(3):311-324.

72. Gowers, W. R. *Epilepsy and Other Chronic Convulsive Diseases: Their Causes, Symptoms and Treatment.*, 1881.
73. GREEN, J. D. (1964). THE HIPPOCAMPUS. *Physiol Rev.* **44**:561-608.
74. Gregory, D. L. und Wong, P. K. (1984). Topographical analysis of the centrotemporal discharges in benign rolandic epilepsy of childhood. *Epilepsia* **25**(6):705-711.
75. Gruenthal, M. (1998). Electroencephalographic and histological characteristics of a model of limbic status epilepticus permitting direct control over seizure duration. *Epilepsy Res.* **29**(3):221-232.
76. Haas, H. L. und Ryall, R. W. (1980). Is excitation by enkephalins of hippocampal neurones in the rat due to presynaptic facilitation or to disinhibition? *J Physiol* **308**:315-330.
77. Handforth, A. und Ackermann, R. F. (1992). Hierarchy of seizure states in the electrogenic limbic status epilepticus model: behavioral and electrographic observations of initial states and temporal progression. *Epilepsia* **33**(4):589-600.
78. Harney, S. C. und Jones, M. V. (2002). Pre- and postsynaptic properties of somatic and dendritic inhibition in dentate gyrus. *Neuropharmacology* **43**(4):584-594.
79. Heinemann, U., Beck, H., Dreier, J. P., Ficker, E., Stabel, J. und Zhang, C. L. (1992). The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity. *Epilepsy Res. Suppl* **7**:273-280.
80. Heinemann, U., Lux, H. D. und Gutnick, M. J. (1977). Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Exp. Brain Res.* **27**(3-4):237-243.
81. Hellier, J. L., Patrylo, P. R., Buckmaster, P. S. und Dudek, F. E. (1998). Recurrent spontaneous motor seizures after repeated low-dose systemic treatment with kainate: assessment of a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* **31**(1):73-84.
82. Herman, S. T. (2002). Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology* **59**(9 Suppl 5):S21-S26.
83. Hesdorffer, D. C., Logroscino, G., Cascino, G., Annegers, J. F. und Hauser, W. A. (1998a). Incidence of status epilepticus in Roches-

ter, Minnesota, 1965-1984. *Neurology* **50**(3):735-741.

84. Hesdorffer, D. C., Logroscino, G., Cascino, G., Annegers, J. F. und Hauser, W. A. (1998b). Risk of unprovoked seizure after acute symptomatic seizure: effect of status epilepticus. *Ann. Neurol.* **44**(6):908-912.
85. Hirsch, J. C., Agassandian, C., Merchan-Perez, A., Ben Ari, Y., DeFelipe, J., Esclapez, M. und Bernard, C. (1999). Deficit of quantal release of GABA in experimental models of temporal lobe epilepsy. *Nat. Neurosci.* **2**(6):499-500.
86. Holtmaat, A. J., Gorter, J. A., De Wit, J., Tolner, E. A., Spijker, S., Giger, R. J., Lopes da Silva, F. H. und Verhaagen, J. (2003). Transient downregulation of Sema3A mRNA in a rat model for temporal lobe epilepsy. A novel molecular event potentially contributing to mossy fiber sprouting. *Exp. Neurol* **182**(1):142-150.
87. Houser, C. R. (1990). Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* **535**(2):195-204.
88. Irlbacher, K., Brandt, S. A. und Meyer, B. U. (2002). In vivo study indicating loss of intracortical inhibition in tumor-associated epilepsy. *Ann. Neurol.* **52**(1):119-122.
89. Janz, D. (1983). Etiology of convulsive status epilepticus. *Adv. Neurol.* **34**:47-54.
90. Jefferys, J. G. (1995). Nonsynaptic modulation of neuronal activity in the brain: electric currents and extracellular ions. *Physiol Rev.* **75**(4):689-723.
91. Johnston, D. und Amaral, D. G. (1998). Hippocampus. In: Shepherd, G. M. (Hrsg.): *The Synaptic Organisation of the Brain*. 4. Oxford University Press, New York, Oxford, pp. 417-458.
92. Jope, R. S., Morrisett, R. A. und Snead, O. C. (1986). Characterization of lithium potentiation of pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Exp. Neurol.* **91**(3):471-480.
93. Kapur, J. und Lothman, E. W. (1989). Loss of inhibition precedes delayed spontaneous seizures in the hippocampus after tetanic electrical stimulation. *J. Neurophysiol.* **61**(2):427-434.
94. Kapur, J., Stringer, J. L. und Lothman, E. W. (1989). Evidence that repetitive seizures in the hippocampus cause a lasting reduction of GABAergic inhibition. *J. Neurophysiol.* **61**(2):417-426.

95. Katsumaru, H., Kosaka, T., Heizmann, C. W. und Hama, K. (1988). Immunocytochemical study of GABAergic neurons containing the calcium-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus. *Exp. Brain Res.* **72**(2):347-362.
96. Klitgaard, H., Matagne, A., Vanneste-Goemaere, J. und Margineanu, D. G. (2002). Pilocarpine-induced epileptogenesis in the rat: impact of initial duration of status epilepticus on electrophysiological and neuropathological alterations. *Epilepsy Res.* **51**(1-2):93-107.
97. Knake, S., Rosenow, F., Vescovi, M., Oertel, W. H., Mueller, H. H., Wirbatz, A., Katsarou, N. und Hamer, H. M. (2001). Incidence of status epilepticus in adults in Germany: a prospective, population-based study. *Epilepsia* **42**(6):714-718.
98. Kneisler, T. B. und Dingledine, R. (1995). Spontaneous and synaptic input from granule cells and the perforant path to dentate basket cells in the rat hippocampus. *Hippocampus* **5**(3):151-164.
99. Kobayashi, M. und Buckmaster, P. S. (2003). Reduced inhibition of dentate granule cells in a model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* **23**(6):2440-2452.
100. Kosaka, T., Katsumaru, H., Hama, K., Wu, J. Y. und Heizmann, C. W. (1987). GABAergic neurons containing the Ca²⁺-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus. *Brain Res.* **419**(1-2):119-130.
101. Krumholz, A., Sung, G. Y., Fisher, R. S., Barry, E., Bergey, G. K. und Grattan, L. M. (1995). Complex partial status epilepticus accompanied by serious morbidity and mortality. *Neurology* **45**(8):1499-1504.
102. Kwan, P., Sills, G. J. und Brodie, M. J. (2001). The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs. *Pharmacol. Ther.* **90**(1):21-34.
103. Labovitz, D. L., Hauser, W. A. und Sacco, R. L. (2001). Prevalence and predictors of early seizure and status epilepticus after first stroke. *Neurology* **57**(2):200-206.
104. Lacaille, J. C. und Harley, C. W. (1985). The action of norepinephrine in the dentate gyrus: beta-mediated facilitation of evoked potentials in vitro. *Brain Res.* **358**(1-2):210-220.
105. Lee, S. T., Lui, T. N., Wong, C. W., Yeh, Y. S. und Tzaan, W. C. (1995). Early seizures after moderate closed head injury. *Acta Neurochir.*

(Wien.) **137**(3-4):151-154.

106. Leite, J. P. und Cavalheiro, E. A. (1995). Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. *Epilepsy Res.* **20**(2):93-104.
107. Lemos, T. und Cavalheiro, E. A. (1995). Suppression of pilocarpine-induced status epilepticus and the late development of epilepsy in rats. *Exp. Brain Res.* **102**(3):423-428.
108. Leranth, C., Malcolm, A. J. und Frotscher, M. (1990). Afferent and efferent synaptic connections of somatostatin-immunoreactive neurons in the rat fascia dentata. *J Comp Neurol* **295**(1):111-122.
109. Logroscino, G., Hesdorffer, D. C., Cascino, G. D., Annegers, J. F., Bagiella, E. und Hauser, W. A. (2002). Long-term mortality after a first episode of status epilepticus. *Neurology* **58**(4):537-541.
110. Lomo, T. (1971a). Patterns of activation in a monosynaptic cortical pathway: the perforant path input to the dentate area of the hippocampal formation. *Exp. Brain Res.* **12**(1):18-45.
111. Lomo, T. (1971b). Potentiation of monosynaptic EPSPs in the perforant path-dentate granule cell synapse. *Exp. Brain Res.* **12**(1):46-63.
112. Longo, B. M. und Mello, L. E. (1997). Blockade of pilocarpine- or kainate-induced mossy fiber sprouting by cycloheximide does not prevent subsequent epileptogenesis in rats. *Neurosci. Lett.* **226**(3):163-166.
113. Longo, B. M. und Mello, L. E. (1998). Supragranular mossy fiber sprouting is not necessary for spontaneous seizures in the intrahippocampal kainate model of epilepsy in the rat. *Epilepsy Res.* **32**(1-2):172-182.
114. Longo, B. M. und Mello, L. E. (1999). Effect of long-term spontaneous recurrent seizures or reinduction of status epilepticus on the development of supragranular mossy fiber sprouting. *Epilepsy Res.* **36**(2-3):233-241.
115. Lorente de Nó, R. (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J Psychol Neurol* **46**:113-177.
116. Loscher, W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* **50**(1-2):105-123.

117. Lothman, E. W. (1994). Seizure circuits in the hippocampus and associated structures. *Hippocampus* **4**(3):286-290.
118. Lothman, E. W., Bertram, E. H., Bekenstein, J. W. und Perlin, J. B. (1989). Self-sustaining limbic status epilepticus induced by 'continuous' hippocampal stimulation: electrographic and behavioral characteristics. *Epilepsy Res.* **3**(2):107-119.
119. Lothman, E. W., Bertram, E. H., Kapur, J. und Stringer, J. L. (1990). Recurrent spontaneous hippocampal seizures in the rat as a chronic sequela to limbic status epilepticus. *Epilepsy Res.* **6**(2):110-118.
120. Lothman, E. W., Stringer, J. L. und Bertram, E. H. (1992). The dentate gyrus as a control point for seizures in the hippocampus and beyond. *Epilepsy Res. Suppl* **7**:301-313.
121. Lowenstein, D. H. und Alldredge, B. K. (1998). Status epilepticus. *N. Engl. J. Med.* **338**(14):970-976.
122. Lowenstein, D. H., Bleck, T. und Macdonald, R. L. (1999). It's time to revise the definition of status epilepticus. *Epilepsia* **40**(1):120-122.
123. Luscher, C., Jan, L. Y., Stoffel, M., Malenka, R. C. und Nicoll, R. A. (1997). G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron* **19**(3):687-695.
124. Lynch, M. und Sutula, T. (2000). Recurrent excitatory connectivity in the dentate gyrus of kindled and kainic acid-treated rats. *J. Neurophysiol.* **83**(2):693-704.
125. Malenka, R. C. und Nicoll, R. A. (1999). Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* **285**(5435):1870-1874.
126. Margerison, J. H. und Corsellis, J. A. (1966). Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain* **89**(3):499-530.
127. Martin, S. J. und Morris, R. G. (2002). New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* **12**(5):609-636.
128. Martinez, A., Lubke, J., Del Rio, J. A., Soriano, E. und Frotscher, M. (1996). Regional variability and postsynaptic targets of chandelier cells in the hippocampal formation of the rat. *J Comp Neurol* **376**(1):28-44.

129. Mathern, G. W., Bertram, E. H., III, Babb, T. L., Pretorius, J. K., Kuhlman, P. A., Spradlin, S. und Mendoza, D. (1997). In contrast to kindled seizures, the frequency of spontaneous epilepsy in the limbic status model correlates with greater aberrant fascia dentata excitatory and inhibitory axon sprouting, and increased staining for N-methyl-D-aspartate, AMPA and GABA(A) receptors. *Neuroscience* **77**(4):1003-1019.
130. Mayer, S. A., Claassen, J., Lokin, J., Mendelsohn, F., Dennis, L. J. und Fitzsimmons, B. F. (2002). Refractory status epilepticus: frequency, risk factors, and impact on outcome. *Arch. Neurol.* **59**(2):205-210.
131. Maytal, J., Shinnar, S., Moshe, S. L. und Alvarez, L. A. (1989). Low morbidity and mortality of status epilepticus in children. *Pediatrics* **83**(3):323-331.
132. Mazarati, A., Bragin, A., Baldwin, R., Shin, D., Wilson, C., Sankar, R., Naylor, D., Engel, J. und Wasterlain, C. G. (2002). Epileptogenesis after self-sustaining status epilepticus. *Epilepsia* **43 Suppl 5**:74-80.
133. Mazarati, A. M. und Wasterlain, C. G. (1997). Blockers of NMDA receptor restore paired-pulse inhibition in the rat dentate gyrus lesioned by perforant path stimulation. *Neurosci. Lett.* **234**(2-3):135-138.
134. Mazarati, A. M., Wasterlain, C. G., Sankar, R. und Shin, D. (1998). Self-sustaining status epilepticus after brief electrical stimulation of the perforant path. *Brain Res.* **801**(1-2):251-253.
135. McBain, C. J. und Fisahn, A. (2001). Interneurons unbound. *Nat. Rev. Neurosci* **2**(1):11-23.
136. McIntyre, D. C., Nathanson, D. und Edson, N. (1982). A new model of partial status epilepticus based on kindling. *Brain Res.* **250**(1):53-63.
137. McIntyre, D. C., Poulter, M. O. und Gilby, K. (2002). Kindling: some old and some new. *Epilepsy Res.* **50**(1-2):79-92.
138. Meierkord, H. (1994). Epilepsy and sleep. *Curr. Opin. Neurol.* **7**(2):107-112.
139. Meldrum, B. S. (1999). The revised operational definition of generalised tonic-clonic (TC) status epilepticus in adults. *Epilepsia* **40**(1):123-124.
140. Meldrum, B. S., Akbar, M. T. und Chapman, A. G. (1999). Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epi-

lepsy. *Epilepsy Res.* **36**(2-3):189-204.

141. Mello, L. E., Cavalheiro, E. A., Tan, A. M., Kupfer, W. R., Pretorius, J. K., Babb, T. L. und Finch, D. M. (1993). Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. *Epilepsia* **34**(6):985-995.
142. Mikuni, N., Babb, T. L., Wylie, C. und Ying, Z. (2000). NMDAR1 receptor proteins and mossy fibers in the fascia dentata during rat kainate hippocampal epileptogenesis. *Exp. Neurol* **163**(1):271-277.
143. Miles, R., Toth, K., Gulyas, A. I., Hajos, N. und Freund, T. F. (1996). Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron* **16**(4):815-823.
144. Milgram, N. W., Green, I., Liberman, M., Riexinger, K. und Petit, T. L. (1985). Establishment of status epilepticus by limbic system stimulation in previously unstimulated rats. *Exp. Neurol.* **88**(2):253-264.
145. Misgeld, U. und Frotscher, M. (1986). Postsynaptic-GABAergic inhibition of non-pyramidal neurons in the guinea-pig hippocampus. *Neuroscience* **19**(1):193-206.
146. Mohler, H. (1992). GABAergic synaptic transmission. Regulation by drugs. *Arzneimittelforschung.* **42**(2A):211-214.
147. Monaghan, D. T. und Cotman, C. W. (1982). The distribution of [3H]kainic acid binding sites in rat CNS as determined by autoradiography. *Brain Res.* **252**(1):91-100.
148. Morrisett, R. A., Jope, R. S. und Snead, O. C., III (1987). Effects of drugs on the initiation and maintenance of status epilepticus induced by administration of pilocarpine to lithium-pretreated rats. *Exp. Neurol.* **97**(1):193-200.
149. Mott, D. D., Xie, C. W., Wilson, W. A., Swartzwelder, H. S. und Lewis, D. V. (1993). GABAB autoreceptors mediate activity-dependent disinhibition and enhance signal transmission in the dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* **69**(3):674-691.
150. Murphy, P. J. und Campbell, S. S. (1996). Physiology of the circadian system in animals and humans. *J Clin. Neurophysiol.* **13**(1):2-16.
151. Nadal, M. (1996). Secretory rhythm of vasopressin in healthy subjects with inversed sleep--wake cycle: evidence for the existence of an intrinsic regulation. *Eur. J Endocrinol.* **134**(2):174-176.

152. Nadler, J. V. (1981). Minireview. Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sci.* **29**(20):2031-2042.
153. Nissinen, J., Halonen, T., Koivisto, E. und Pitkanen, A. (2000). A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. *Epilepsy Res.* **38**(2-3):177-205.
154. Nitsch, R., Soriano, E. und Frotscher, M. (1990). The parvalbumin-containing nonpyramidal neurons in the rat hippocampus. *Anat. Embryol. (Berl)* **181**(5):413-425.
155. Obenaus, A., Esclapez, M. und Houser, C. R. (1993). Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures. *J Neurosci* **13**(10):4470-4485.
156. Okazaki, M. M., Evenson, D. A. und Nadler, J. V. (1995). Hippocampal mossy fiber sprouting and synapse formation after status epilepticus in rats: visualization after retrograde transport of biocytin. *J Comp Neurol* **352**(4):515-534.
157. Okazaki, M. M., Molnar, P. und Nadler, J. V. (1999). Recurrent mossy fiber pathway in rat dentate gyrus: synaptic currents evoked in presence and absence of seizure-induced growth. *J Neurophysiol.* **81**(4):1645-1660.
158. Olsen, R. W. und Avoli, M. (1997). GABA and epileptogenesis. *Epilepsia* **38**(4):399-407.
159. Otis, T. S., De Koninck, Y. und Mody, I. (1994). Lasting potentiation of inhibition is associated with an increased number of gamma-aminobutyric acid type A receptors activated during miniature inhibitory postsynaptic currents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **91**(16):7698-7702.
160. Parent, J. M., Yu, T. W., Leibowitz, R. T., Geschwind, D. H., Sloviter, R. S. und Lowenstein, D. H. (1997). Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* **17**(10):3727-3738.
161. Patton, P. E. und McNaughton, B. (1995). Connection matrix of the hippocampal formation: I. The dentate gyrus. *Hippocampus* **5**(4):245-286.
162. Paxinos, G. & Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.*, 1998.

163. Peterson, G. M., Ribak, C. E. und Oertel, W. H. (1985). A regional increase in the number of hippocampal GABAergic neurons and terminals in the seizure-sensitive gerbil. *Brain Res.* **340**(2):384-389.
164. Pitkanen, A., Nissinen, J., Lukasiuk, K., Jutila, L., Paljarvi, L., Salmenpera, T., Karkola, K., Vapalahti, M. und Ylinen, A. (2000). Association between the density of mossy fiber sprouting and seizure frequency in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **41 Suppl 6**:S24-S29.
165. Placencia, M., Sander, J. W., Roman, M., Madera, A., Crespo, F., Cascante, S. und Shorvon, S. D. (1994). The characteristics of epilepsy in a largely untreated population in rural Ecuador. *J Neurol Neurosurg. Psychiatry* **57**(3):320-325.
166. Pouille, F. und Scanziani, M. (2001). Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science* **293**(5532):1159-1163.
167. Quigg, M., Straume, M., Menaker, M. und Bertram, E. H. (1998). Temporal distribution of partial seizures: comparison of an animal model with human partial epilepsy. *Ann. Neurol.* **43**(6):748-755.
168. Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **32**(3):281-294.
169. Ramón y Cajal, S. (1893). Estructura del asta del Ammon y fascia dentate. *Ann. Soc. Esp. Hist. Nat.* **22**.
170. Represa, A., Jorquera, I., Le Gal, L. S. und Ben Ari, Y. (1993). Epilepsy induced collateral sprouting of hippocampal mossy fibers: does it induce the development of ectopic synapses with granule cell dendrites? *Hippocampus* **3**(3):257-268.
171. Reynolds, E. H. (1987). Early treatment and prognosis of epilepsy. *Epilepsia* **28**(2):97-106.
172. Ribak, C. E. und Dashtipour, K. (2002). Neuroplasticity in the damaged dentate gyrus of the epileptic brain. *Prog. Brain Res.* **136**:319-328.
173. Ribak, C. E., Nitsch, R. und Seress, L. (1990). Proportion of parvalbumin-positive basket cells in the GABAergic innervation of pyramidal and granule cells of the rat hippocampal formation. *J Comp Neurol.* **300**(4):449-461.
174. Ribak, C. E. und Seress, L. (1983). Five types of basket cell in the hippo-

campal dentate gyrus: a combined Golgi and electron microscopic study. *J Neurocytol.* **12**(4):577-597.

175. Roberts, E. (1974). Gamma-aminobutyric acid and nervous system function--a perspective. *Biochem. Pharmacol.* **23**(19):2637-2649.
176. Sagduyu, A., Tarlaci, S. und Sirin, H. (1998). Generalized tonic-clonic status epilepticus: causes, treatment, complications and predictors of case fatality. *J. Neurol.* **245**(10):640-646.
177. Sander, J. W. (2003). The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr. Opin. Neurol* **16**(2):165-170.
178. Santhakumar, V., Voipio, J., Kaila, K. und Soltesz, I. (2003). Post-traumatic hyperexcitability is not caused by impaired buffering of extracellular potassium. *J Neurosci* **23**(13):5865-5876.
179. Savolainen, K., Hirvonen, M. R. und Naarala, J. (1994). Phosphoinositide second messengers in cholinergic excitotoxicity. *Neurotoxicology* **15**(3):493-502.
180. Scharfman, H. E. (1995). Electrophysiological evidence that dentate hilar mossy cells are excitatory and innervate both granule cells and interneurons. *J Neurophysiol.* **74**(1):179-194.
181. Scharfman, H. E. und Schwartzkroin, P. A. (1990). Responses of cells of the rat fascia dentata to prolonged stimulation of the perforant path: sensitivity of hilar cells and changes in granule cell excitability. *Neuroscience* **35**(3):491-504.
182. Scharfman, H. E., Sollas, A. L., Berger, R. E. und Goodman, J. H. (2003). Electrophysiological evidence of monosynaptic excitatory transmission between granule cells after seizure-induced mossy fiber sprouting. *J Neurophysiol.* **90**(4):2536-2547.
183. Scotti, A. L., Bollag, O., Kalt, G. und Nitsch, C. (1997). Loss of perikaryal parvalbumin immunoreactivity from surviving GABAergic neurons in the CA1 field of epileptic gerbils. *Hippocampus* **7**(5):524-535.
184. SCOVILLE, W. B. und MILNER, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurochem.* **20**(1):11-21.
185. Seress, L., Abraham, H., Paleszter, M. und Gallyas, F. (2001). Granule cells are the main source of excitatory input to a subpopulation of GABAergic hippocampal neurons as revealed by electron microscopic double staining for zinc histochemistry and parvalbumin immunocytochemistry. *Exp. Brain Res.* **136**(4):456-462.

186. Seress, L. und Ribak, C. E. (1983). GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Exp. Brain Res.* **50**(2-3):173-182.
187. Shepherd, S. M. (1994). Management of status epilepticus. *Emerg. Med. Clin. North Am.* **12**(4):941-961.
188. Shinnar, S., Berg, A. T., Moshe, S. L. und Shinnar, R. (2001). How long do new-onset seizures in children last? *Ann. Neurol.* **49**(5):659-664.
189. Shirasaka, Y. und Wasterlain, C. G. (1994). Chronic epileptogenicity following focal status epilepticus. *Brain Res.* **655**(1-2):33-44.
190. Shneker, B. F. und Fountain, N. B. (2003). Assessment of acute morbidity and mortality in nonconvulsive status epilepticus. *Neurology* **61**(8):1066-1073.
191. Shorvon, S. D. (1984). The temporal aspects of prognosis in epilepsy. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **47**(11):1157-1165.
192. Siemes, H. und Bourgeois, B. F. D. (2001). Lokalisationsbezogene (fokale, partielle) Epilepsien und Syndrome. Anfälle und Epilepsien bei Kindern und Jugendlichen. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, pp. 94-119.
193. Sloviter, R. S. (1983). "Epileptic" brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I. Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Brain Res. Bull.* **10**(5):675-697.
194. Sloviter, R. S. (1987). Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science* **235**(4784):73-76.
195. Sloviter, R. S. (1989). Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity. *J Comp Neurol* **280**(2):183-196.
196. Sloviter, R. S. (1991a). Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo. *Hippocampus* **1**(1):31-40.
197. Sloviter, R. S. (1991b). Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat:

the "dormant basket cell" hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* **1**(1):41-66.

198. Sloviter, R. S. und Damiano, B. P. (1981). Sustained electrical stimulation of the perforant path duplicates kainate-induced electrophysiological effects and hippocampal damage in rats. *Neurosci. Lett.* **24**(3):279-284.
199. Somogyi, P., Hodgson, A. J., Smith, A. D., Nunzi, M. G., Gorio, A. und Wu, J. Y. (1984). Different populations of GABAergic neurons in the visual cortex and hippocampus of cat contain somatostatin- or cholecystinin-immunoreactive material. *J Neurosci* **4**(10):2590-2603.
200. Soriano, E., Nitsch, R. und Frotscher, M. (1990). Axo-axonic chandelier cells in the rat fascia dentata: Golgi-electron microscopy and immunocytochemical studies. *J Comp Neurol* **293**(1):1-25.
201. Spencer, S. S., Spencer, D. D., Williamson, P. D. und Mattson, R. (1990). Combined depth and subdural electrode investigation in uncontrolled epilepsy. *Neurology* **40**(1):74-79.
202. Spruston, N. und Johnston, D. (1992). Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J Neurophysiol.* **67**(3):508-529.
203. Steffensen, S. C. und Henriksen, S. J. (1991). Effects of baclofen and bicuculline on inhibition in the fascia dentata and hippocampus regio superior. *Brain Res.* **538**(1):46-53.
204. Sutula, T., Cascino, G., Cavazos, J., Parada, I. und Ramirez, L. (1989). Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. *Ann. Neurol* **26**(3):321-330.
205. Tauck, D. L. und Nadler, J. V. (1985). Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *J Neurosci* **5**(4):1016-1022.
206. Theodore, W. H., Porter, R. J., Albert, P., Kelley, K., Bromfield, E., Devinsky, O. und Sato, S. (1994). The secondarily generalized tonic-clonic seizure: a videotape analysis. *Neurology* **44**(8):1403-1407.
207. Thompson, S. M., Capogna, M. und Scanziani, M. (1993). Presynaptic inhibition in the hippocampus. *Trends Neurosci* **16**(6):222-227.
208. Towne, A. R., Pellock, J. M., Ko, D. und DeLorenzo, R. J. (1994). Determinants of mortality in status epilepticus. *Epilepsia* **35**(1):27-34.

209. Tremblay, E. und Ben Ari, Y. (1984). Usefulness of parenteral kainic acid as a model of temporal lobe epilepsy. *Rev. Electroencephalogr. Neurophysiol. Clin.* **14**(3):241-246.
210. Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Ikonomidou, C., Mello, L. E., Bortolotto, Z. A. und Turski, L. (1985). Effects of aminophylline and 2-chloroadenosine on seizures produced by pilocarpine in rats: morphological and electroencephalographic correlates. *Brain Res.* **361**(1-2):309-323.
211. Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z. und Turski, L. (1983a). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav. Brain Res.* **9**(3):315-335.
212. Turski, W. A., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z. und Turski, L. (1983b). Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. *Experientia* **39**(12):1408-1411.
213. Verity, C. M., Ross, E. M. und Golding, J. (1993). Outcome of childhood status epilepticus and lengthy febrile convulsions: findings of national cohort study. *BMJ* **307**(6898):225-228.
214. Vicedomini, J. P. und Nadler, J. V. (1987). A model of status epilepticus based on electrical stimulation of hippocampal afferent pathways. *Exp. Neurol.* **96**(3):681-691.
215. Vignatelli, L., Tonon, C. und D'Alessandro, R. (2003). Incidence and short-term prognosis of status epilepticus in adults in Bologna, Italy. *Epilepsia* **44**(7):964-968.
216. Waldstreicher, J., Duffy, J. F., Brown, E. N., Rogacz, S., Allan, J. S. und Czeisler, C. A. (1996). Gender differences in the temporal organization of prolactin (PRL) secretion: evidence for a sleep-independent circadian rhythm of circulating PRL levels- a clinical research center study. *J Clin. Endocrinol. Metab* **81**(4):1483-1487.
217. Walker, M. C., Perry, H., Scaravilli, F., Patsalos, P. N., Shorvon, S. D. und Jefferys, J. G. (1999). Halothane as a neuroprotectant during constant stimulation of the perforant path. *Epilepsia* **40**(3):359-364.
218. Wasterlain, C. G., Shirasaka, Y., Mazarati, A. M. und Spigelman, I. (1996). Chronic epilepsy with damage restricted to the hippocampus: possible mechanisms. *Epilepsy Res.* **26**(1):255-265.
219. Waterhouse, E. J., Vaughan, J. K., Barnes, T. Y., Boggs, J. G., Towne, A. R., Kopec-Garnett, L. und DeLorenzo, R. J. (1998). Synergistic ef-

fect of status epilepticus and ischemic brain injury on mortality. *Epilepsy Res.* **29**(3):175-183.

220. Wenzel, H. J., Woolley, C. S., Robbins, C. A. und Schwartzkroin, P. A. (2000). Kainic acid-induced mossy fiber sprouting and synapse formation in the dentate gyrus of rats. *Hippocampus* **10**(3):244-260.
221. Westbrook, G. L. (2000). Seizures and Epilepsy. *In*: Kandel, E. R., Schwartz, J. H. und Jessell, T. M. (Hrsg.): Principles of Neural Science. 4. International. McGraw-Hill,
222. Williamson, A., Patrylo, P. R. und Spencer, D. D. (1999). Decrease in inhibition in dentate granule cells from patients with medial temporal lobe epilepsy. *Ann. Neurol.* **45**(1):92-99.
223. Williamson, P. D., French, J. A., Thadani, V. M., Kim, J. H., Novelly, R. A., Spencer, S. S., Spencer, D. D. und Mattson, R. H. (1993). Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: II. Interictal and ictal scalp electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Ann. Neurol.* **34**(6):781-787.
224. Wilson, C. L., Khan, S. U., Engel, J. J., Isokawa, M., Babb, T. L. und Behnke, E. J. (1998). Paired pulse suppression and facilitation in human epileptogenic hippocampal formation. *Epilepsy Res.* **31**(3):211-230.
225. Wu, Y. W., Shek, D. W., Garcia, P. A., Zhao, S. und Johnston, S. C. (2002). Incidence and mortality of generalized convulsive status epilepticus in California. *Neurology* **58**(7):1070-1076.
226. Zipp, F., Nitsch, R., Soriano, E. und Frotscher, M. (1989). Entorhinal fibers form synaptic contacts on parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat fascia dentata. *Brain Res.* **495**(1):161-166.

Abkürzungsverzeichnis

CA	Cornu ammonis
EEG	Elektroenzephalogramm
fEPSP	field excitatory postsynaptic potential (Feldpotenzial)
IPI	Interpulsintervall
IPSC	inhibitory postsynaptic current
IPSP	inhibitory postsynaptic potential
GABA	γ -Aminobuttersäure
NMDA	n-Methyl-d-Aspartat
SAP	Summenaktionspotenzial
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SSSE	self sustaining Status epilepticus

Danksagung

Ich danke Herrn PD Dr. Hartmut Meierkord für die Überlassung des Themas und ihm und Herrn Dr. Martin Holtkamp für die Betreuung während des praktischen und schriftlichen Teils dieser Arbeit. Besonders erwähnen möchte ich die durch beide erwiesene Geduld während der schriftlichen Promotionsphase.

Auch bei Frau Dr. Katharina Buchheim, Herrn Dr. Florian Weissinger, Herrn Dr. Herbert Siegmund und Herrn Dr. Hans-Jürgen Gabriel möchte ich mich für Lob und Kritik, Hilfe bei der Auswertung und Formatierung und die Beratung in technischen Fragen herzlich bedanken.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Uwe Heinemann bedanken, in dessen Institut sämtliche Experimente durchgeführt und das Manuskript verfasst wurde.

Bei meinem Freund Jörg Breustedt bedanke ich mich sehr herzlich für gute Tipps in schwierigen Fragen der Elektrophysiologie und für seine aufmunternden und tröstenden Worte in Phasen der Verzweiflung.

Ebenso herzlich danke ich meinem Freund und Kollegen Mark Elsner, dessen Anwesenheit meinen Arbeitsalltag stets aufgeheitert hat, für die nicht nur in fachlicher Hinsicht bereichernden Gespräche.

Mein ganz besonderer Dank gilt natürlich meinen Eltern, die es mir durch ihr Verständnis und ihre großzügige und geduldige Unterstützung ermöglicht haben, in fortgeschrittenem Ausbildungsstadium noch derart ausgiebig zu promovieren.

Wissenschaftliche Beiträge

M. Holtkamp, J. Matzen, K. Buchheim, M.C. Walker, H.Meierkord
Furosemide Terminates Limbic Status Epilepticus in Freely Moving Rats
Epilepsia 2003 **44**(9):1141-4

M. Holtkamp, K. Buchheim, J. Matzen, H. Meierkord
Furosemid beendet limbischen Status epilepticus
in experimentellem Ratten-Modell
75. Kongress Deutsche Gesellschaft für Neurologie
Mannheim, 25.-29. September 2002, Vortrag
Akt Neurol 2002 **29**(S2):100

J. Matzen, K. Buchheim, H. Meierkord, M. Holtkamp
Epileptogenesis after experimental status epilepticus *in vivo*
13th EUROPEAN Students` Conference 2002
Charité, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin
29. Oktober- 2. November 2002, Vortrag

M. Elsner, J. Matzen, M. Holtkamp, H. Siegmund, H. Meierkord, K. Buchheim
Limbic status epilepticus *in vivo* induces duration-dependent
functional impairment *in vitro*
13th EUROPEAN Students` Conference 2002
Charité, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin
29. Oktober- 2. November 2002, Vortrag

J. Matzen, K. Buchheim, H. Meierkord, M. Holtkamp
Epileptogenese nach experimentellem Status epilepticus *in vivo*
Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen
und Schweizerischen Sektion der Internationalen Liga gegen Epilepsie

Berlin 3.-5. April 2003, Vortrag

Z Epileptol 2003 **16**(1):85

M. Elsner, J. Matzen, M. Holtkamp, H. Siegmund, H. Meierkord, K. Buchheim
Gesteigerte Exzitabilität *in vitro* nach limbischem Status epilepticus *in vivo*

Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen
und Schweizerischen Sektion der Internationalen Liga gegen Epilepsie

Berlin 3.-5. April 2003, Vortrag

Z Epileptol 2003 **16**(1):86

M. Holtkamp, J. Matzen, K. Buchheim, M. Walker, H. Meierkord

Furosemide Terminates Limbic Status Epilepticus in Freely Moving Rats

25th International Epilepsy Congress

Lissabon 12.-16. Oktober 2003, Poster

Epilepsia 2003 **44**(Suppl. 8):146

K. Buchheim, M. Elsner, J. Matzen, M. Holtkamp, H. Siegmund, H. Meierkord

Increased Vulnerability *in vitro* after limbic Status epilepticus *in vivo*

25th International Epilepsy Congress

Lissabon 12.-16. Oktober 2003, Vortrag

Epilepsia 2003 **44**(Suppl. 8):45

Erklärung an Eides statt

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter erarbeitet und verfasst habe und hierfür ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Berlin, den