

Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus bei der Temporallappenepilepsie

HABILITATIONSSCHRIFT

**zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach
PHYSIOLOGIE**

**vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät der Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin**

von

Herrn Dr. med. Joachim Behr
geboren am 26. Juni 1965 in Köln

Präsident: Prof. Dr. rer. nat. J. Mlynek

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

eingereicht am: 17. April 2002

Datum des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrages: 28. Januar 2003

Gutachter: 1. Prof. Dr. Luhmann, Mainz

2. Prof. Dr. med. Witte, Jena

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, daß

1. keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
2. weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
3. die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
4. der Bewerberin oder dem Bewerber die geltende Habilitationsordnung bekannt ist,

Datum

Unterschrift

Erklärung

Die vorliegende Habilitationsschrift wurde selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt. Neben der von mir zitierten Literatur ist die vorliegende Schrift auf der Grundlage von neun publizierten und zwei eingereichten Publikationen verfaßt. An diesen Publikationen waren stets mehrere Autoren beteiligt. Der eigene Anteil war jeweils unterschiedlich groß: Die im Jahr 1996 publizierten Arbeiten wurden hinsichtlich der Konzeption in Kooperation mit den Mitautoren verfaßt. Die Experimente wurden allerdings vollständig von mir durchgeführt (Behr et al., 1996a-c). Alle weiteren, von mir als Erstautor publizierten Arbeiten, wurden vollständig von mir konzipiert, abgefaßt und bis auf wenige Experimente (maximal 10-20% der Experimente) durchgeführt (Behr et al. 1998a,b; Behr et al. 2000a-c; Behr et al. 2001; Behr et al. 2002, eingereicht). In der von mir als Mitautor publizierten Arbeit war ich wesentlich an der Konzeption der Arbeit beteiligt, der experimentelle Anteil betrug ca. 20% (Gloveli et al., eingereicht). Mit allen von mir angegebenen Mitautoren fand stets eine rege Diskussion statt, die wesentlich zu dem Gelingen der Arbeiten beigetragen hat.

Danksagung

Die Arbeit der zurückliegenden Jahre im Institut für Physiologie der Charité, an der University of California in Los Angeles und schließlich im Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum der Charité habe ich an keinem Tag als einen Beruf mit all seinen üblichen Abhängigkeiten und Verpflichtungen empfunden. Vielmehr war es eine Zeit in der ich das Privileg besaß meinem Interesse und meiner Neugier an den Neurowissenschaften ungezwungen nachgehen zu können. Diese Freude an der Arbeit beruht jedoch nicht alleine auf dem Thema Neurowissenschaften. Ein wesentlicher Grund liegt in dem wissenschaftlich ambitionierten und zugleich menschlichen Umfeld, in dem ich dieser Arbeit nachgehen durfte. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Uwe Heinemann, der dieses Umfeld maßgeblich geprägt hat. Mit seiner wissenschaftlichen Kompetenz und gleichzeitig zur Selbständigkeit anleitenden Art schafft er ein kreatives Umfeld, das auf eine außerordentlich angenehme Weise motiviert und somit das Zustandekommen einer Arbeit wie der vorliegenden erst ermöglicht. Dieser kompetente und gleichzeitig informelle Stil hat nachhaltig viele seiner jetzigen und ehemaligen Mitarbeiter geprägt.

So auch seinen ehemaligen post-doc Prof. Istvan Mody, dem ich dafür danken möchte, daß ich über ein Jahr in seinem Labor an der UCLA unabhängig forschen konnte. Des weiteren möchte ich Prof. Heitmann, Köln, und Prof. Elger, Bonn, danken: Über die klinisch orientierte Arbeit mit kortikalen Syndromen und Erkrankungen wie der Aphasie und der Epilepsie wurde im Rahmen meiner Promotionsarbeit sowie meiner ersten klinischen Tätigkeit mein Interesse an den zellulären Grundlagen kortikaler Erkrankungen wesentlich gebahnt. Erst die theoretische Einbindung der auf zellulärer Ebene erhobenen Daten in komplexe höhere Systeme macht zelluläre Elektrophysiologie zu einem Erlebnis.

Die vorliegende Habilitationsschrift ist selbstverständlich nicht das Werk eines Einzelautors, sondern vielmehr das Produkt einer mehrjährigen wissenschaftlichen Arbeit in einer Gruppe von Kollegen und Freunden. An dieser Stelle möchte ich insbesondere Dr. Tengis Gloveli, Dr. Dietmar Schmitz, PD Dr. Andreas Draguhn, Dr. Christine Gebhardt, Dr. Siegrun Gabriel und Dr. Rolf Klee für die Zusammenarbeit, Anregungen und Hilfestellungen herzlich danken. Vielfältige Unterstützung in technischen Problemen erfuhr ich von Dr. Hans-Jürgen Gabriel und Dr. Herbert Siegmund. Ohne sie hätten unsere Meßplätze an so manchen Tagen stillgestanden. Bei Astrid Düerkop möchte ich mich für ihre außerordentlich engagierte Hilfe in der Literaturrecherche und Dokumentation bedanken. In der Präparation unserer

Epilepsiemodelle haben wir sehr viel Unterstützung von Dr. Katrin Schulze erhalten, vielen Dank. Dr. Thomas Nicolas Lehmann möchte ich schließlich für die Bereitstellung des von ihm resezierten humanen epileptischen Gewebes herzlich danken. Der Vergleich der Befunde des Tiermodells mit denen des humanen Gewebes hat uns die Tür zu einer neuen Form der Epilepsieforschung geöffnet.

Des weiteren möchte ich ausdrücklich den Mitgliedern meiner eigenen Arbeitsgruppe für ihren nicht selbstverständlichen Einsatz und Rückhalt danken. Insbesondere in den Zeiten, in denen ich in der Klinik gearbeitet habe, habe ich ihre Selbständigkeit, Kreativität und eigenen wissenschaftliche Beiträge zu schätzen gelernt: Dies sind Christian Wozny, Jörg Solger, Anatol Kivi, Dr. Andreas Knopp, Susanne Walden und Nadine Buck. Ich hoffe, daß es aufgrund der zeitweisen Doppelbelastung und der vielfältigen organisatorischen und administrativen Aufgaben der wissenschaftliche Austausch und die Betreuung nicht allzusehr gelitten haben.

Abschließend möchte ich meiner Familie, Katja, Linus und Clara sowie meinen Eltern dafür danken, mir stets das Gefühl gegeben zu haben, daß es bei aller Freude an der Arbeit noch etwas Wichtigeres gibt. Danke.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Zusammenfassung	8
1.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus	8
1.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie	9
2. Einleitung	10
2.1. Die Temporallappenepilepsie	10
2.2. Die hippocampale Formation	11
2.3. Der entorhinale Kortex	14
2.4. Die Area dentata	15
2.5. Das Subikulum	16
2.6. Pathophysiologie der Epilepsien	17
2.7. Kindling: Ein <i>in vivo</i> Modell der Temporallappenepilepsie	18
2.8. <i>In vitro</i> Epilepsiemodelle	19
2.9. Fragestellungen	20
2.10. Methoden	21
2.10.1. <i>Hirnschnittpräparation und elektrophysiologische Ableittechniken</i>	21
2.10.2. <i>Pharmaka</i>	21
2.10.3. <i>In vitro Epilepsiemodelle</i>	22
2.10.4. <i>Kindling-Modell</i>	22
3. Eigene Arbeiten	23
3.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus	23
3.1.1. <i>Ausbreitungsverhalten epileptiformer Aktivität</i>	23
3.1.2. <i>Die Rolle des NMDA-Rezeptors in der Fortleitung epileptiformer Aktivität</i>	24
3.1.3. <i>Die Rolle der Kainat-Rezeptoren in der Area dentata</i>	26
3.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie	28
3.2.1. <i>Das Subikulum im Epilepsiemodell</i>	29
3.2.2. <i>Die temporoammonische Projektion des EC zum Subikulum</i>	30
3.2.3. <i>Pharmakologische Untersuchungen</i>	31
4. Diskussion und Ausblick	33
4.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus	33
4.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie	35
4.3. Die Wirkung von Dopamin im Subikulum	37

5. Literaturverzeichnis	39
6. Eigene Veröffentlichungen im Original	57
6.1. Behr et al., <i>Neurosci. Lett.</i> 216: 41-44, 1996. (Ref. 1)	
6.2 Behr et al., <i>J. Neurophysiol.</i> 79: 1726-1732, 1998. (Ref. 2)	
6.3. Behr et al., <i>J. Neurophysiol.</i> , 85(5): 2195-202, 2001. (Ref. 3)	
6.4. Behr et al., <i>Eur. J. Neurosci.</i> , eingereicht. (Ref. 4)	
6.5. Behr et al., <i>Neurosci. Lett.</i> 220: 41-44, 1996. (Ref. 5)	
6.6. Behr et al., <i>Neurosci. Lett.</i> 205: 25-28, 1996. (Ref. 6)	
6.7. Behr et al., <i>Brain Res.</i> , 867:259-64, 2000. (Ref. 7)	
6.8. Behr et al., <i>Eur. J. Neurosci.</i> 10: 1011-1018, 1998. (Ref. 8)	
6.9. Gloveli et al., <i>J. Neurophysiol.</i> , eingereicht. (Ref. 9)	
6.10. Behr et al., <i>J. Neurophysiol.</i> , 84(1):112-119, 2000. (Ref. 10)	
6.11. Behr et al., <i>Brain Res.</i> , 861:160-164, 2000. (Ref. 11)	

1. Zusammenfassung

1.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus

Lernen und Gedächtnis sind auf das engste mit dem Hippokampus und dem entorhinalen Kortex (EC) verbunden. Allerdings sind diese Hirnstrukturen auch an einer der häufigsten und medikamentös oftmals nur schwer therapierbaren fokalen Epilepsien beteiligt: der mesialen Temporallappenepilepsie (TLE).

Der EC scheint eine wesentliche Bedeutung in der Generierung extrahippokampaler Temporallappenanfälle zu besitzen. Unsere bisherigen Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem EC und dem Hippokampus haben gezeigt, daß unter physiologischen Bedingungen die Area dentata eine Filterfunktion übernimmt und die Übertragung epileptiformer Aktivität vom EC zum Hippokampus unterbindet. Im chronisch epileptischen Tier (Kindling-Modell) kommt es allerdings zu einer Aufhebung dieser Filterfunktion und somit zu einer ungehinderten Ausbreitung epileptiformer Aktivität in den Hippokampus.

Da der glutamaterge NMDA-Rezeptor eine zentrale Rolle in der Induktion nutzungsabhängiger Plastizität spielt, ist er von wesentlicher Bedeutung in der Epileptogenese. Untersuchungen an Körnerzellen der Area dentata zeigten wenige Stunden nach dem letzten epileptischen Anfall eine Zunahme der über NMDA-Rezeptoren vermittelten Ströme. Diese führte zu einer Faszilitierung hochfrequenter reizevozierter Potentiale. Dieser Befund zeigt, daß im epileptischen Gewebe hochfrequente Entladungen die Area dentata überwinden können und in den Hippokampus weitergeleitet werden. Vier Wochen nach dem letzten Anfallsereignis waren die beschriebenen Veränderungen allerdings nicht mehr nachweisbar. Diese kurzzeitig veränderte synaptische Transmission der NMDA-Rezeptorkanäle scheint demzufolge eher für die Epileptogenese als für die Ictogenese verantwortlich zu sein.

Die Bedeutung der Kainat-Rezeptoren im chronisch epileptischen Gewebe ist aufgrund der bis vor wenigen Jahren fehlenden selektiven Agonisten und Antagonisten kaum untersucht worden. Wir haben gezeigt, daß in der Area dentata des chronisch epileptischen Tieres (Kindling-Modell) die Aktivierung von präsynaptischen Kainat-Rezeptoren inhibitorischer Interneurone sowohl die spontane als auch die reizevozierte GABA-Freisetzung reduziert. Über diesen Mechanismus scheint der während eines epileptischen Anfalls vermehrt freigesetzte exzitatorische Neurotransmitter Glutamat die GABAerge Inhibition zu vermindern und somit die Erregbarkeit der Area dentata zu steigern.

1.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie

Eine wesentliche Aufgabe des Subikulums ist es, hippokampale Informationen zu verarbeiten und in verschiedene kortikale und subkortikale Hirnregionen weiterzuleiten. Zudem scheint es von besonderer Bedeutung für die Generierung und Ausbreitung hippokampaler Anfälle zu sein. Gestützt wird diese Annahme durch folgende Befunde: Zunächst besitzt das Subikulum Netzwerkeigenschaften, die es ihm im *in vitro* Epilepsiemodell ermöglichen, spontane epileptiforme Aktivität zu generieren. Darüber hinaus verfügt es über einen hohen Anteil sogenannter „burst-spiking“ Zellen. Deren intrinsische Eigenschaften tragen erheblich zu dem epileptogenen Verhalten des Subikulums bei. Weiterhin erhalten subikuläre Pyramidenzellen exzitatorische Eingänge sowohl aus der Area CA1 als auch aus dem EC, welche bereits bei Ruhemembranpotential aktivierbare NMDA-Rezeptorströme zeigen. Schließlich zeigen burst-spiking Zellen im Vergleich zu regular-spiking Zellen eine ausgeprägte über NMDA-Rezeptoren vermittelte synaptische Plastizität (Langzeit-Potenzierung; LTP).

Untersuchungen am chronisch epileptischen Tier (Kindling-Modell) ergaben einen unverändert hohen Anteil an burst-spiking Zellen im Subikulum. Wenige Stunden nach dem letzten epileptischen Anfall fällt bei diesen Neuronen eine fehlende, durch Aktionspotentiale induzierte Nachhyperpolarisation auf. Diese supprimierte intrinsische Hemmung ist jedoch 28 Tage nach dem letzten epileptischen Anfall nicht mehr nachzuweisen und spielt demzufolge insbesondere in der Genese, weniger im chronischen Verlauf der Erkrankung eine Rolle.

Neben den exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmittern Glutamat und GABA bestimmen auch körpereigene Amine wie Serotonin und Dopamin über subkortikale Afferenzen das funktionelle Gleichgewicht aus Erregung und Hemmung wesentlich mit. Da die TLE nicht selten mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen einhergeht, die mit in das Dopamin- und Serotoninsystem eingreifenden Pharmaka therapiert werden, haben wir uns in einigen Arbeiten mit deren modulatorischen Wirkungen auf die Membraneigenschaften und die synaptische Transmission befaßt.

Die Wirkungen von Dopamin auf die Neurotransmission sind vielfältig, abhängig von den beteiligten Rezeptoren in der entsprechenden Hirnregion. Das Subikulum, das eine ausgeprägte mesenzephal, dopaminerge Projektion vom ventralen Tegmentum erhält, exprimiert sowohl D1- als auch D2-Rezeptoren. Wir konnten zeigen, daß Dopamin primär die glutamaterge synaptische Transmission über einen präsynaptisch lokalisierten D1-Dopaminrezeptor unterdrückt und sekundär über die verminderte Erregung inhibitorischer Interneurone die polysynaptische GABAerge Hemmung reduziert.

2. Einleitung

2.1. Die Temporallappenepilepsie

Die Epilepsien gehören mit einer Prävalenz von 0,5 bis 1% nach den zerebrovaskulären Erkrankungen zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen (Annegers, 1997; Hauser, 1997; Olafsson und Hauser, 1999). Sie stellen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen unterschiedlicher Ätiologie dar, deren gemeinsames Merkmal wiederholte, nicht provozierte epileptische Anfälle sind. Der epileptische Anfall ist die klinische Manifestation einer pathologisch synchronisierten, exzessiven Entladung von Nervenzellen. Die Semiologie eines epileptischen Anfalls wird durch die gestörte Funktion der beteiligten neuronalen Zellverbände bestimmt. Die Ursachen der paroxysmal auftretenden, exzessiven neuronalen Entladungen sind vielfältig: In Abhängigkeit vom Epilepsietyp treten Veränderungen sowohl auf Einzelzellebene als auch auf Netzwerkebene auf. Während auf zellulärer Ebene Veränderungen der Membraneigenschaften sowie der synaptischen Neurotransmission auftreten, wird im neuronalen Zellverband die Bildung pathologischer aberranter Konnektivitäten beobachtet. Zudem scheinen gliale Zellen durch eine veränderte Kontrolle des extrazellulären ionalen Mileaus an der Iktogenese beteiligt zu sein. Gemäß der internationalen Klassifikation epileptischer Anfälle werden diese hinsichtlich ihrer Pathogenese sowie klinischen und elektroenzephalographischen Befunden in fokale und primär generalisierte Anfälle unterschieden. Die Temporallappenepilepsie (TLE) ist mit 60-70% die häufigste Form der fokalen Epilepsien und repräsentiert mit ca. 40% die häufigste Epilepsie des Erwachsenenalters (Engel, Jr., 2001). Zwischen 80-90% der TLE haben im mesialen Anteil, d.h. in der Amygdala und der hippocampalen Formation ihren Ursprung. Das pathologisch-anatomische Substrat der mesialen TLE ist der selektive Zelluntergang in der hippocampalen Formation. Die pathogenetische Bedeutung dieser als Ammonshornsklerose bezeichneten morphologischen Veränderung ist allerdings unklar. Während zwei Drittel aller Patienten mit TLE gut bis befriedigend medikamentös behandelt werden können, zeigt sich bei ca. einem Drittel der Patienten eine Pharmakoresistenz (Wieser et al., 1993; Engel, Jr., 1996, 1997). Wenngleich diese Patienten derzeit mit teilweise sehr gutem Erfolg epilepsiechirurgisch behandelt werden können, konzentriert sich die experimentelle Epilepsieforschung insbesondere auf diese Epilepsieform, um die Grundlagen für alternative Behandlungsstrategien zu schaffen.

2.2. Die hippocampale Formation

Neuroanatomisch wird die mesiale TLE der Amygdala, der hippocampalen Formation sowie dem entorhinalen Kortex (EC) zugeordnet. Eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der mesialen TLE spielt eine pathologisch veränderte Neurotransmission innerhalb der hippocampalen Formation. Die hippocampale Formation wird in vier größere Regionen unterteilt: die Area dentata, die Area CA3, die Area CA1 sowie das Subikulum (Amaral und Witter, 1989; Amaral und Witter, 1995). Jede dieser Regionen ist durch ihre spezifischen synaptischen Ein- und Ausgänge sowie durch die intrinsischen Eigenschaften ihrer Neurone charakterisiert. Ein wesentliches Merkmal der hippocampalen Formation ist die im Vergleich zum Neokortex einfache synaptische Verschaltung (Abb. 1): Die Körnerzellen der Area dentata projizieren über die Moosfasern auf Area CA3 Pyramidenzellen, Axonverzweigungen dieser Zellen gehen über die Schaffer Kollateralen synaptische Verbindungen mit den Pyramidenzellen der Area CA1 Region ein, welche ihrerseits ihre Axone in das Subikulum senden. Das Subikulum schließlich projiziert hippocampale Information zu verschiedenen kortikalen und subkortikalen Hirnarealen (Andersen et al., 1971). Neben dieser trisynaptischen hippocampalen Schleife existieren weitere Verbindungen von den Pyramidenzellen der Area CA3 zum kontralateralen Hippokampus (Ishizuka et al., 1990), innerhalb der Area dentata (Ribak et al., 1985) sowie ein regionales Netz von inhibitorischen Interneuronen (Seress und Ribak, 1983).

Den wesentlichen kortikalen Eingang erhält die hippocampale Formation über neuronale Zellen der Schicht II des EC, welcher eine Schlüsselposition zwischen kortikalen Strukturen und der hippocampalen Formation einnimmt. Diese Zellen projizieren über den Tractus perforans zu den Körnerzellen und den inhibitorischen Interneuronen der Area dentata. Der entorhinale Eingang wird in zwei Anteile unterteilt: Ein Faserbündel nimmt im medialen Anteil des EC seinen Ausgang und projiziert in das mittlere Drittel des Stratum moleculare (Dendritenschicht der Körnerzellen), ein weiteres Faserbündel entspringt im lateralen Anteil des EC und projiziert in das äußere Drittel des Stratum moleculare. Neben dieser Projektion vom EC zum Hippokampus existiert ein weiterer entorhinaler Eingang, welcher monosynaptische Kontakte mit Pyramidenzellen der Area CA1 und des Subikulums sowie regionalen Subpopulationen von inhibitorischen Interneuronen eingeht (Witter, 1993; Lacaille und Schwartzkroin, 1988). Dieses, als temporoammonische Projektion bezeichnetes Faserbündel entspringt in der Schicht III des EC und stellt somit einen der trisynaptischen

Schleife entgegengesetzten Eingang dar (Wyss, 1981; Tamamaki und Nojyo, 1995). Dessen physiologische und pathophysiologische Bedeutung ist bislang unklar.

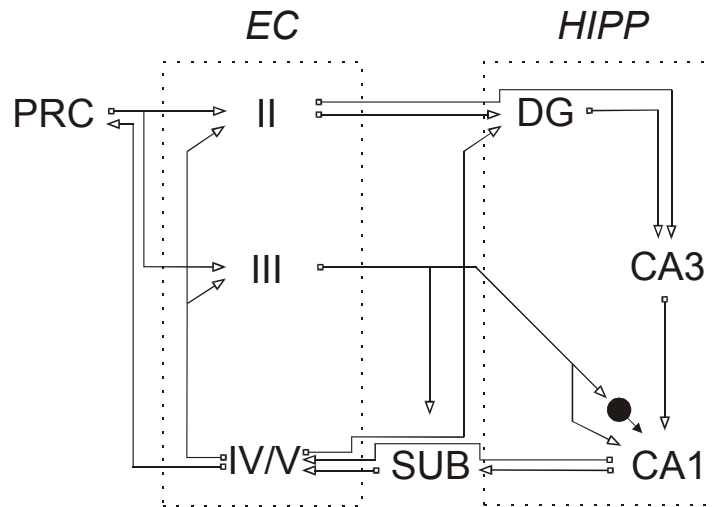


Abb. 1: Schematische Darstellung der wichtigsten Verbindungen im neuronalen Schaltkreis der entorhinal-hippokampalen Formation.

Efferenzen aus der Schicht II des EC erregen einerseits die Körnerzellen der Area Dentata (AD), andererseits projizieren Zellen der Schicht III in das Subikulum (SUB) und die Area CA1, wo sie vorwiegend auf inhibitorische Interneurone verschaltet sind. Die Projektionszellen der tiefen Schichten des EC (IV/ V) bilden eine zusätzliche Projektion zur AD. Aus der AD wird die Erregung über die Moosfasern zu den Pyramidenzellen der Area CA3 und von dort über die Schaffer Kollaterale zur Area CA1 geleitet. Die Pyramidenzellen der Area CA1 projizieren über das Subikulum in die tiefen Schichten des EC, womit sich der Schaltkreis schließt. Der EC steht über den perirhinalen Kortex (PRC) mit kortikalen Neuronen in Verbindung.

Neben diesen kortikalen Eingängen erhält die hippocampale Formation verschiedenste subkortikale Afferenzen: Von wesentlicher Bedeutung ist neben dem cholinergen septalen Eingang (Wyss et al., 1979; Lewis und Shute, 1967) die monoaminerge Projektion des Hirnstamms mit noradrenergen Fasern aus dem Locus coeruleus (Lindvall und Bjorklund, 1974), serotonergen Fasern aus dem Raphe Kern (Moore und Halaris, 1975) sowie dopaminergen Fasern aus verschiedenen Hirnstammkernen (Descarries et al., 1987; Gasbarri et al., 1994; Verney et al., 1985). Diese aminergen Projektionen haben einen bedeutenden modulatorischen Einfluß auf die Neurotransmission hippocampaler Neurone und somit auch auf die Iktogenese und das Ausbreitungsverhalten mesialer Temporallappenanfälle.

Die wesentliche kortikale Efferenz der hippocampalen Formation geht von der Area CA1 sowie von dem Subikulum aus und projiziert in die tiefen Schichten des EC (Witter et al., 1989). Über die Verschaltung der tiefen Schichten des EC mit dessen oberflächlichen Schichten (Amaral, 1993; Gloveli et al., 1999), welche ihrerseits über die Area dentata in den Hippokampus projizieren, wird die entorhinal-hippocampale Schleife geschlossen. Darüber hinaus entsenden die Area CA1 und das Subikulum Fasern in verschiedene Areale des präfrontalen Kortex (White et al., 1990; Jay und Witter, 1991). Die subkortikalen Efferenzen der hippocampalen Formation umfassen Projektion der Area CA1 und des Subikulums zu septalen Kernen (Witter et al., 1989) sowie Fasern des Subikulums zum Nucleus accumbens, zum Thalamus, zur Amygdala sowie zum Hypothalamus (Canteras und Swanson, 1992; Herman et al., 1992).

Die hippocampale Formation ist somit auf vielfältige Weise in kortikale und subkortikale Schaltkreise eingebunden. Zudem existiert eine enge reziproke Verschaltung zwischen EC und hippocampaler Formation. Da diese Hirnregionen als die wesentlichen anfallsauslösende Strukturen der mesialen TLE angesehen werden, ist deren Interaktion von wesentlicher Bedeutung sowohl für die Generierung als auch die Ausbreitung mesialer Temporallappenanfälle. Insbesondere dem Subikulum kommt aufgrund seiner vielfältigen kortikalen und subkortikalen Efferenzen eine wesentliche Rolle in der Ausbreitung hippocampaler Anfälle zu.

2.3. Der entorhinale Kortex

Der EC besetzt eine Schlüsselposition im limbischen System. Er spielt eine wesentliche Rolle in der Verarbeitung neokortikaler Informationen und deren Weiterleitung zum Hippokampus, aber auch zum frontalen Kortex. Es wird angenommen, dass der EC eine wichtige Funktion für das Kurzzeitgedächtnis sowie die Übertragung von Informationen in das Langzeitgedächtnis besitzt (Suzuki, 1999; Eichenbaum et al., 1994). Im Rahmen der TLE kommt dem EC eine wesentliche Bedeutung zu. Diese Region zeigt sowohl beim Patienten mit TLE als auch in verschiedenen TLE-Modellen des Tieres eine erhöhte Anfallsbereitschaft (Spencer und Spencer, 1994; Rutecki et al., 1989; Collins et al., 1983; Dasheiff und McNamara, 1982). Neuroradiologische und neuropathologische Untersuchungen bei Patienten mit TLE haben Atrophien sowie Zelluntergänge im Bereich des EC beschrieben (Bernasconi et al., 1999; Bernasconi et al., 2001; Du et al., 1993). Des Weiteren wurde gezeigt, dass raumfordernde Prozesse in der extrahippokampalen Region bei Patienten ohne Ammonshornsklerose ebenfalls Temporallappenanfälle verursachen können (Spencer, 1994; Lévesque et al., 1991; Kim et al., 1990). Darüber hinaus haben klinische Untersuchungen eine Beteiligung des EC am Anfallsleiden ergeben (Rutecki et al., 1989; Wilson et al., 1990).

Der EC besteht im Gegensatz zum Hippokampus aus sechs Schichten, die vereinfacht in oberflächliche und tiefe Schichten unterteilt werden. Zum einen projizieren die tiefen Schichten des EC zu dessen oberflächlichen Schichten. Zum anderen existieren in der Schicht V rekurrente erregende Verbindungen, welche mit der erhöhten Anfallsneigung des EC in Verbindung gebracht werden. Sowohl die oberflächlichen als auch die tiefen Schichten des EC besitzen Glutamatrezeptoren vom NMDA- und non-NMDA-Typ, wobei eine hochfrequente, repetitive synaptische Stimulation zur Aktivierung NMDA-Rezeptoren führt, welche zu einer gesteigerten Erregbarkeit führt (Heinemann et al., 1993). Elektrophysiologische *in vitro* Untersuchungen haben die Beteiligung des EC an epileptiformen Anfallsereignissen (Jones und Heinemann, 1988; Jones und Lambert, 1990a; Paré et al., 1992; Behr et al., 1996a; Bertram et al., 1998; Scharfman, 1996) unterstrichen. Sie zeigen, dass die epileptiforme Aktivität vorwiegend in den tiefen Schichten des EC generiert wird (Walther et al., 1986; Jones und Heinemann, 1988; Jones et al., 1992) und synchronisierte Entladungen in den oberflächlichen Schichten induziert (Jones und Lambert, 1990a; Jones und Lambert, 1990b).

2.4. Die Area dentata

Bisherige Untersuchungen zur Interaktion zwischen EC und hippocampaler Formation haben sich vornehmlich mit der Projektion des EC zur Area dentata sowie mit intrinsischen Veränderungen der Area dentata befaßt (Schwartzkroin, Ribak et al. 1993, 1992). Die Area dentata besteht aus drei Schichten: Die äußere Schicht, das Stratum moleculare, wird von den apikalen Dendriten der Körnerzellen gebildet. In den äußeren zwei Drittel dieser Schicht enden die Axone der oberflächlichen Zellen des EC (Amaral und Witter, 1995). Das innere Drittel des Stratum moleculare wird vorwiegend von kommissuralen, assoziativen und septalen Fasern innerviert und erhält zudem Eingänge der tiefen Schichten des EC (Deller et al., 1996; Gloveli et al., 2001). Die mittlere Schicht, das Stratum granulosum, wird von den Somata der Körnerzellen gebildet. Das Stratum granulosum umgibt die innere Schicht der Area dentata, welche als Hilus bezeichnet wird und eine Vielzahl polymorpher exzitatorischer und inhibitorischer Zellen enthält. Aufgrund einer hohen Erregungsschwelle wird der Area dentata eine Filterfunktion zugesprochen, welche die Ausbreitung hochfrequenter bzw. epileptischer Aktivität vom EC zum Hippokampus unterbindet (Alger und Teyler, 1976; McNaughton et al., 1981; Heinemann et al., 1992; Lothman et al., 1992; Finnerty et al., 2001). Neben den spezifischen Membraneigenschaften der Körnerzellen scheint insbesondere die Aktivierung inhibitorischer Regelkreise für die geringe Erregbarkeit verantwortlich zu sein (Lothman, 1994). Im Rahmen der Ammonshornsklerose ist die Area dentata nur wenig von Zelluntergängen betroffen (Sloviter, 1994). Sowohl bei der TLE des Menschen (Babb et al., 1991; De Lanerolle et al., 1989; Houser et al., 1990; Sutula et al., 1989) als auch in verschiedenen TLE-Tiermodellen (Nadler et al., 1980; Cronin und Dudek, 1988; Mathern et al., 1992; Mathern et al., 1993; Okazaki et al., 1995; Isokawa et al., 1993) bilden die von den Körnerzellen der Area dentata ausgehenden Moosfasern Axonkollaterale, welche neue synaptische Kontakte in der inneren Molekularschicht der Area dentata bilden. Tauck und Nadler (Tauck und Nadler, 1985) konnten durch den Nachweis einer Doppelpuls Potenzierung erstmals zeigen, daß das Sprossen von Moosfasern mit einer erhöhten Erregbarkeit der Area dentata einhergeht. Seitdem wurden verschiedenste *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen durchgeführt, welche ebenfalls einen pathophysiologischen Zusammenhang zwischen dem Moosfasersprossen (MFS) und der erhöhten Erregbarkeit der Area dentata bzw. der erhöhten Bereitschaft zu spontanen limbischen Anfällen zeigen (McNamara, 1994; Dudek und Spitz, 1997; Cronin und Dudek, 1988; Wuarin und Dudek, 1996; Golarai und Sutula, 1996; Patrylo und Dudek, 1998; Lynch und Sutula, 2000; Molnar und Nadler, 1999). Diese Daten sind von besonderer klinischer Bedeutung, da auch in humanen Hippokampi von

Patienten mit TLE vergleichbare morphologische Befunde und eine gesteigerte Erregbarkeit der Area dentata gefunden wurden (Isokawa et al., 1991; Masukawa et al., 1992). Die Hypothese, daß MFS limbische Anfälle fördert wird allerdings von einigen Autoren in Frage gestellt (Ribak und Peterson, 1991; Sloviter, 1992). So konnte in TLE-Tiermodellen gezeigt werden, daß eine anfänglich verminderte GABAerge Inhibition im Bereich der Area dentata mit Bildung von MFS kontinuierlich wieder zunimmt und schließlich sogar verstärkt sein kann (Nusser et al., 1998; Buhl et al., 1996; Buckmaster und Dudek, 1997). Zudem ist bekannt, daß bei mit Pilokarpin bzw. Kainat behandelten Tieren spontane Anfälle bereits vor der MFS auftreten, nicht jedes Tier mit MFS Anfälle zeigt und schließlich selbst bei Tieren, bei denen MFS mit Hilfe eines Proteinsynthesehemmers unterdrückt wurde epileptische Anfälle auftreten (Longo und Mello, 1997; Longo und Mello, 1998). Diese Befunde sprechen dafür, daß MFS eher einen kompensatorischen Mechanismus darstellt.

Neben den beschriebenen Veränderungen auf Netzwerkebene treten Veränderungen auf zellulärer Ebene auf (McNamara, 1994; McNamara, 1995). Diese betreffen insbesondere die Rezeptoreigenschaften des exzitatorischen glutamatergen und des inhibitorischen GABAergen Systems. Einen besonderen Stellenwert nehmen Veränderungen der NMDA-Rezeptoren ein. So konnte in der Area dentata des TLE-Tiermodells eine deutliche Hochregulation und erhöhte Sensitivität des NMDA-Rezeptors gezeigt werden (Mody und Heinemann, 1987; Köhr und Mody, 1994; Mody et al., 1988; Köhr et al., 1993; Mody und Lieberman, 1998). Diese Befunde tragen erheblich zu der gesteigerten Erregbarkeit im epileptischen Gewebe bei.

2.5. Das Subikulum

Das Subikulum ist die wesentliche Ausgangsstruktur der hippocampalen Formation und leitet neuronale Information der Area CA1 in verschiedene kortikale und subkortikale Hirnregionen (Hampson et al., 2000). Darüber hinaus erhält es temporoammonische Afferenzen aus der Schicht III des EC (Witter et al., 1989). Das Subikulum besteht aus drei Schichten: Die Molekularschicht, welche aus den Dendriten der subikulären Pyramidenzellen besteht, entspricht dem Stratum lacunosum moleculare sowie dem Stratum radiatum der Area CA1. Das Stratum pyramidale besteht aus einem breiten Zellband von Pyramidenzellen. Die oberflächliche Schicht, dem Alveus angrenzend, besteht schließlich aus polymorphen Zellen. Darüber hinaus liegen, zwischen den Pyramidenzellen verteilt, kleinere Zellen, welche als Interneurone angesehen werden. Die Rolle des Subikulums in der TLE ist bislang unklar. Allerdings konnte gezeigt werden, daß im Rahmen der Ammonshornsclerose im Subikulum

nur wenig Zelltod auftritt (Babb et al., 1984; Babb und Pretorius, 1993; Pitkänen et al., 1995; Sloviter, 1994) während die Area CA1 aufgrund der Zelluntergänge teilweise nicht mehr nachweisbar ist. Da die hippocampale Formation eine wesentliche Struktur in der Ictogenese ist, scheint das Subikulum somit als verbleibende Struktur eine Schlüsselposition in der Anfallsgenerierung zu besitzen.

2.6. Pathophysiologie der Epilepsien

In einer vereinfachten Betrachtungsweise ist die Entstehung fokaler epileptischer Aktivität auf eine Störung des Gleichgewicht zwischen neuronaler Erregung und Hemmung zurückzuführen. Dieses Gleichgewicht kann auf zwei verschiedenen Ebenen betroffen sein: zum einen auf der intrinsischen Ebene, zum anderen auf der synaptischen Ebene (Heinemann und Eder, 1997). Die intrinsische Erregbarkeit der Zelle wird durch hemmende K^+ - und Cl^- -Kanäle sowie erregende Na^+ - und Ca^{2+} -Kanäle bestimmt. Veränderungen der Leitfähigkeit dieser Kanäle wie auch Veränderungen des extrazellulären Ionenmilieus können deswegen zu einer Erregbarkeitssteigerung der Zelle führen.

Die synaptische Erregbarkeit der Zelle wird durch die Aktivierung hemmender und erregender Rezeptoren bestimmt. Der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter des Gehirns ist Gamma-Amino-Buttersäure (GABA). Derzeit werden zwei GABA Rezeptoren unterschieden, der $GABA_A$ - und der $GABA_B$ -Rezeptor. Zudem wird eine Isoform des $GABA_A$ -Rezeptors als $GABA_C$ -Rezeptor bezeichnet (Cutting et al., 1991). Der $GABA_A$ -Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal, der vorwiegend für Cl^- Anionen, in geringerem Umfang allerdings auch für HCO_3^- -Ionen durchlässig ist. Der $GABA_B$ -Rezeptor gehört zu der Klasse der metabotropen Rezeptoren. Neben einer postsynaptischen Erhöhung der K^+ -Leitfähigkeit vermittelt er präsynaptisch eine Autoinhibition durch eine Verminderung der Freisetzungswahrscheinlichkeit GABAerger Vesikel (Misgeld et al., 1995).

Der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter des Gehirns ist Glutamat. Glutamat Rezeptoren lassen sich in vier Klassen unterteilen: die ligandengesteuerten ionotropen NMDA-, AMPA- und Kainat-Kanäle sowie die metabotropen Glutamat-Rezeptoren. Der NMDA-Rezeptor läßt sich aufgrund seiner besonderen Eigenschaften von den anderen Rezeptorklassen abgrenzen (Collingridge und Watkins, 1994; McBain und Mayer, 1994): Zum einen ist der Rezeptorkanal bei Membranpotentialen nahe dem Ruhemembranpotential durch Mg^{2+} blockiert. Durch Depolarisierung wird der Kanal geöffnet und für Ca^{2+} durchlässig. Die sekundäre Aktivierung biochemischer Kaskaden führt zu lang andauernden Veränderungen der Erregbarkeit der Zelle. Zudem scheint der Rezeptor an der Induktion

synaptischer Plastizität beteiligt zu sein. Aufgrund dieser Eigenschaften wird diesem Rezeptor eine bedeutende Rolle in der Epileptogenese zugeschrieben.

Auf der Netzwerkebene scheint eine nach Zelluntergängen induzierte Synaptogenese zu einer veränderten Erregbarkeit neuronaler Strukturen zu führen. Sowohl im Gewebe von Patienten mit chronischer TLE (Du et al., 1993; Babb und Brown, 1987; Babb et al., 1984) als auch in verschiedenen TLE-Modellen des Tieres (Ben-Ari et al., 1986; Du et al., 1995; Nadler et al., 1978) kommt es zu erheblichen Zellverlusten in der Hilusregion, der Area CA3 und CA1 sowie der Schicht III des EC. Diese Zelluntergänge gehen teilweise mit axonalem Sprossen einher, welches besonders auffällig im Bereich der Area dentata ist und für eine erhöhte Erregbarkeit der Struktur verantwortlich gemacht wird.

Die Entstehung und Ausbreitung epileptischer Aktivität ist somit die Folge einer Kombination von Veränderungen auf zellulärer Ebene und auf Netzwerkebene. Während die Erregbarkeit einer Zelle wesentlich durch ihre Membraneigenschaften sowie ihre exzitatorischen und inhibitorischen Rezeptoren bestimmt wird, ist für die Integration einer Zelle in ein synchronisiertes epileptiformes Entladungsmuster eine rekurrente Verschaltung wesentlich. Darüber hinaus spielen ephaptische Verbindungen zwischen den Zellen sowie die gliale Pufferung des extrazellulären K^+ -Konzentration eine bedeutende Rolle in der Synchronisierung neuronaler Aktivität.

2.7. Kindling: Ein *in vivo* Modell der Temporallappenepilepsie

Kindling ist ein Phänomen, bei dem die wiederholte Elektrostimulation einer umschriebenen Hirnregion zu einer zunehmenden Erregbarkeit des Gehirns mit nachfolgenden fokalen und sekundär generalisierten epileptischen Anfällen führt. Auch nach einjähriger Pause der Elektrostimulation führt eine erneute Stimulation zu einem erneuten Anfallsereignis. Dieser Effekt wurde erstmals von Delgado (Delgado und Sevillano, 1961) beobachtet und schließlich von Goddard (Goddard et al., 1969; Goddard, 1967) systematisch beschrieben. Kindling ist heute ein etabliertes Tiermodell für die Untersuchung neuronaler Plastizität. Die in diesem Modell zu beobachtende Plastizität ist nicht nur in der Epileptogenese von Relevanz, sondern gibt Auskunft über basale Mechanismen des Lernens und des Gedächtnisses. Wenngleich Kindling in verschiedenen Hirnregionen möglich ist (mit wenigen Ausnahme wie z.B. des Kleinhirns) sind das Amygdala- und Kommissurenfasern-Kindling die am häufigsten eingesetzten Methoden. In die Amygdala lassen sich aufgrund ihrer Größe die Stimulationselektroden leicht stereotaktisch implantieren. Zudem zeigt diese Struktur eine niedrige Erregungsschwelle und führt somit aufgrund ihrer anatomischen Lage schnell zu

standardisierten Temporallappenanfällen. Das Kindling der Kommissurenfasern bietet den Vorteil, daß das limbische System beidseitig stimuliert wird. Die *in vitro* Untersuchungen der entorhinal-hippokampalen Hirnschnitte gekindelter Tiere bieten einen Einblick in die zellulären Mechanismen der Generierung und Ausbreitung limbischer Anfälle.

2.8. *In vitro* Epilepsiemodelle

Durch Veränderung des extrazellulären Ionenmilieus lassen sich in Hirnschnittpräparaten epileptiforme Entladungen induzieren. Sowohl die Erhöhung der K^+ -Konzentration als auch die Erniedrigung der Ca^{2+} - oder Mg^{2+} -Konzentration führt zu epileptiformer Aktivität, welche elektrographisch den EEG-Aufzeichnungen eines epileptischen Anfalls beim Menschen ähnelt. Die Erhöhung der K^+ -Konzentration führt über eine Veränderung des K^+ -Gleichgewichtspotentials und Reduktion von K^+ -Auswärtsströmen zu einer Verschiebung des Ruhemembranpotentials in depolarisierende Richtung, was eine erhöhte Erregbarkeit der Neurone bedingt. Die Abnahme der extrazellulären Mg^{2+} -Konzentration führt zu einer Negativierung des zellulären Oberflächenpotentials. Dadurch wird das transmembranöse Potential in depolarisierende Richtung verschoben. Zudem wird der Mg^{2+} -Block des NMDA Rezeptors aufgehoben und es tritt eine erleichterte Aktivierung von Ca^{2+} -Strömen sowie eine Zunahme der Transmitterfreisetzung auf (Hamon et al., 1987; Heinemann und Jones, 1990). Die im Niedrig- Mg^{2+} -Epilepsiemodell ausgelöste epileptiforme Aktivität zeigt sowohl hinsichtlich der Region als auch im zeitlichen Verlauf unterschiedliche Formen: Während in der Area CA3 und Area CA1 des adulten Hippokampus kurze rekurrente Entladungen auftreten, zeigen sich im Subikulum sowie im EC bis zu 60 Sekunden andauernde tonisch-klonische Entladungen (Walther et al., 1986; Jones und Heinemann, 1988; Dreier und Heinemann, 1991). Diese epileptiforme Aktivität geht nach ca. 30-60 min in kurze rekurrente Entladungen über, welche mit derzeit gebräuchlichen Antikonvulsiva nicht beeinflussbar sind (Dreier und Heinemann, 1990; Zhang et al., 1995). Neben den beschriebenen Veränderungen der extrazellulären Ionenkonzentrationen führt die Applikation von $GABA_A$ -Rezeptorantagonisten ebenfalls zu einer Steigerung der Erregbarkeit mit nachfolgenden epileptiformen Entladungen.

2.9. Fragestellungen

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, ob im chronisch epileptischen Gewebe Veränderungen der funktionellen Interaktion zwischen EC und Hippokampus auftreten, die für die Pathogenese der TLE wesentlich sind. Folgende konkrete Fragestellungen ergeben sich daraus:

- a) Breiten sich epileptiforme Anfallsereignisse des EC im chronisch epileptischen Gewebe (Kindling-Modell) über die Area dentata leichter in den Hippokampus aus als im Gewebe des gesunden Tieres.
- b) Wenn ja, welche Rolle spielen die exzitatorischen Glutamat-Rezeptoren (NMDA-R, AMPA-R, Kainat-R) in dem veränderten Ausbreitungsverhalten epileptiformer Aktivität.

Aufgrund funktionell anatomischer Gesichtspunkte ist das Subikulum als „Exit“ der hippocampalen Formation von wesentlicher Bedeutung für das Ausbreitungsverhalten hippocampaler Temporallappenanfälle. Folgende Fragestellungen wurden diesbezüglich behandelt:

- a) Verfügt das Subikulum über Membran- und Netzwerkeigenschaften, welche zu der Generierung epileptiformer Aktivität prädisponieren? Welche Veränderungen der Membraneigenschaften zeigen subikuläre Neurone im chronisch epileptischen Gewebe (Kindling-Modell)?
- b) Wie ist das Subikulum synaptisch in den entorhinal-hippocampalen Komplex eingebunden? Welche synaptischen Eigenschaften besitzt die temporoammonische Projektion des EC zum Subikulum? Ist der Informationstransfer vom EC zum Hippokampus über diese Projektion im chronisch epileptischen Tier verändert?
- c) Welchen modulatorischen Einfluß hat Dopamin auf die Membraneigenschaften sowie die synaptische Transmission subikulärer Zellen?

2.10. Methoden

2.10.1. *Hirnschnittpräparation und elektrophysiologische Ableitetechniken*

Die Experimente wurden an kombinierten entorhinal-hippokampalen Hirnschnitten der Wistar-Ratte durchgeführt. Die 400 μM dicken Hirnschnitte enthielten den Hippokampus einschließlich Subikulum, Prä- und Parasubiculum, den entorhinalen und perirhinalen Kortex sowie Anteile des temporalen Kortex. Die elektrophysiologischen Untersuchungen der Hirnschnitte wurden in einer Interface-Kammer durchgeführt, welche kontinuierlich begast (95% O_2 – 5% CO_2) und mit einer vorgewärmte (34°C) artifiziellen zerebrospinalen Flüssigkeit (ACSF) perfundiert wurde. Als Ableitungstechniken wurden Feldpotentialmessungen, intrazelluläre Einzelzelleitungen mit scharfen Mikroelektroden sowie Patch-clamp-Ableitungen eingesetzt. Die Feldpotentialmessungen dienten der Aufzeichnung epileptiformer Aktivität sowie durch Elektrostimulation ausgelöster transientser Feldpotentialänderungen. Intrazelluläre und Patch-clamp Ableitungen wurden zur Erfassung der intrinsischen Membraneigenschaften sowie der evozierten exzitatorischen und inhibitorischen postsynaptischen Potentiale (EPSP bzw. IPSP) und Ströme (EPSC bzw. IPSC) einzelner Neurone eingesetzt. Während die intrazellulären Ableitungen sowohl im Brücken- und Strommklemm-Modus als auch im Spannungsklemm-Modus durchgeführt wurden, wurde die Patch-clamp Technik ausschließlich in der Spannungsklemme eingesetzt. Die Patch-clamp Technik wurde zudem für die Aufzeichnung spontaner Ca^{2+} -abhängiger und Ca^{2+} -unabhängiger (sog. Miniatur-EPSCs bzw. -IPSCs) postsynaptischer Ströme genutzt. Die Stimulation mittels Doppelreizung bzw. repetitiver Reizung diente der Erfassung des Potenzierungs- oder Habituerungsverhalten der synaptischen Potentiale.

2.10.2. *Pharmaka*

Die pharmakologische Isolierung inhibitorischer und exzitatorischer postsynaptischer Potentiale erfolgte durch Einsatz folgender Antagonisten: Applikation des GABA_A -Rezeptorantagonisten Bicuculline (BCM) (5-10 μM) und des GABA_B -Rezeptorantagonisten CGP-55845A (2 μM) in Kombination mit dem NMDA-Rezeptorantagonisten 2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV) (30-60 μM) oder dem Non-NMDA-Rezeptorantagonisten 6-nitro-7-sulphamoylbenzo(f)quinoxaline-2,3-dione (NBQX) (10 μM) ermöglichte die Charakterisierung der isolierten exzitatorischen AMPA- bzw. NMDA-Rezeptor-EPSPs/Cs. Stimulation in weniger als 0.2 mm Abstand von der abzuleitenden Zelle unter Perfusion des Hirnschnittes mit APV und NBQX diente der Isolierung monosynaptischer inhibitorischer Antworten. Zur isolierten Aktivierung der Kainat-Rezeptoren wurde statt des nicht selektiven

Non-NMDA-Rezeptorantagonisten NBQX der selektive AMPA-Rezeptorantagonist SYM2206 (100 μM) eingesetzt. Die Aufzeichnungen der spontanen postsynaptischen Potentiale erfolgte unter Applikation des Na^+ -Kanalblockers Tetrodotoxin (TTX, 1 μM).

2.10.3. *In vitro* Epilepsiemodelle

Die Versuche zur Untersuchung der Induktion und des Ausbreitungsverhaltens epileptiformer Aktivität wurden zum einen im Niedrig- Mg^{2+} Epilepsiemodell durchgeführt, welches nach einer Auswaschzeit von ca. 30 Minuten die Generierung elektrographischer Anfallsereignisse im Hirnschnittpräparat erlaubt. Zum anderen wurde mit Hilfe einer lokalen Perfusionseinrichtung ein epileptiformer Fokus im EC induziert. Diese Methode ermöglichte uns die elektrophysiologische Untersuchung von Projektionsarealen des EC ohne diese mit dem epileptogenen Agens zu perfundieren. Die Perfusion erfolgte mit Hilfe eines Thetaglases, über welches das disinhibierende Medium (50 μM BCM, 10 mM KCl gelöst in ACSF) lokal appliziert und gleichzeitig abgesogen wurde, so daß es zu keiner Ausschwemmung des Mediums in angrenzende Areale kam. Die Ausschwemmung wurde durch eine jedem Experiment vorausgehende lokale Perfusion des Glutamat-Rezeptorantagonisten Kynurinsäure (5 mM) ausgeschlossen. Kam es nach Applikation von Kynurinsäure nicht zu einer Veränderung der Feldpotentiale im Projektionsareal, so konnte eine Ausbreitung des applizierten Mediums ausgeschlossen werden.

2.10.4. *Kindling-Modell*

Bipolare Elektroden wurden unter Barbituratnarkose in die linke Amygdala oder in die Kommissurenfasern implantiert. Nach einer postchirurgischen Erholungsphase von sieben bis acht Tagen wurden die Tiere täglich hochfrequent (60 Hz) über die Elektroden für eine Sekunde mit einem biphasischen Strompuls (150 μA) stimuliert. Die im Verlauf des Kindlings auftretenden Änderungen der Anfallssemiologie wurden gemäß der Skala nach Racine eingestuft (Racine, 1972). Die Tiere wurden täglich stimuliert bis mindestens 15 aufeinanderfolgende Anfälle des Stadiums 5 ausgelöst werden konnten.

3. Eigene Arbeiten

3.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus

3.1.1. Ausbreitungsverhalten epileptiformer Aktivität

Der entorhinal-hippokampale Hirnschnitt bietet aufgrund der teilweise gut erhaltenen Konnektivitäten die Möglichkeit, das Ausbreitungsverhalten epileptiformer Aktivität zu untersuchen (Boulton et al., 1992). Bisherige Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem EC und dem Hippokampus ließen vermuten, daß unter physiologischen Bedingungen die Area dentata eine Filterfunktion übernimmt und die Übertragung epileptiformer Aktivität vom EC zum Hippokampus unterbindet. Im EC des *in vitro* Hirnschnittpräparates können durch Erniedrigung der extrazellulären Mg^{2+} -Konzentration spontane epileptiforme Entladungen induziert werden (Walther et al., 1986; Jones und Heinemann, 1988; Stanton et al., 1987). Mit Hilfe dieses Epilepsiemodells haben wir zunächst das Ausbreitungsverhalten epileptiformer Aktivität vom EC zur Area dentata und Area CA3 in Kontrolltieren sowie in chronisch epileptischen Tieren nach Amygdala-Kindling untersucht (Ref. 1). Während im Kontrolltier keine Ausbreitung entorhinaler epileptiformer Aktivität in den Hippokampus stattfand, kam es in der Area dentata und der Area CA3 des chronisch epileptischen Tieres zu einer Beteiligung elektrographischer Anfallsereignisse. Demzufolge scheint im gekindelten Tier die beschriebene Filterfunktion der Area dentata (Alger und Teyler, 1976; McNaughton et al., 1981; Heinemann et al., 1992; Lothman et al., 1992) aufgehoben zu sein. Da mit dieser Methode im gesamten Hirnschnitt die extrazelluläre Mg^{2+} -Konzentration erniedrigt wird, trifft die sich ausbreitende epileptiforme Aktivität immer auf ein bereits entladungsbereites neuronales Netzwerk. Um diesen methodischen Nachteil zu umgehen, haben wir eine Methode zur lokalen Perfusion eines disinhibierenden Mediums eingesetzt (s. Methodenteil). Diese Methode erlaubt es uns, einen eng umschriebenen epileptiformen Herd im Hirnschnitt zu induzieren (Ref. 2). Wir konnten zeigen, daß unter tonischer Disinhibition des EC die Area dentata gekindelter Tiere ein deutlich erhöhte Erregbarkeit aufweist. Zudem breiteten sich die im EC dieser Tiere induzierten epileptiformen Anfallsereignisse mit kurzer Latenz in die Area dentata aus (Abb. 2). Auch diese Experimente zeigen, daß im chronisch epileptischen Tier die der Area dentata zugeschriebene Filterfunktion aufgehoben ist und die ungehinderte Ausbreitung entorhinaler epileptiformer Aktivität in den Hippokampus ermöglicht. Neben den eingangs beschriebenen morphologischen Veränderungen (MFS) scheinen insbesondere Veränderungen der glutamatergen Neurotransmission für die Aufhebung der Filterfunktion verantwortlich zu sein (Ribak et al., 1992; Schwartzkroin, 1993).

3.1.2. Die Rolle des NMDA-Rezeptors in der Fortleitung epileptiformer Aktivität

Da der glutamaterge NMDA-Rezeptor eine zentrale Rolle in der Induktion verschiedener Formen nutzungsabhängiger Plastizität besitzt, ist er von wesentlichem Interesse in der Epileptogenese. Unsere Untersuchungen an Körnerzellen der Area dentata ergaben 48 Stunden nach dem letzten epileptischen Anfall eine Zunahme der NMDA-EPSCs (Ref. 3).

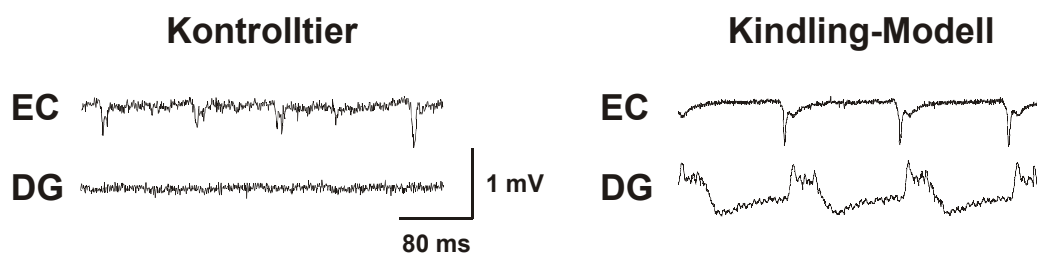


Abb. 2: Ausbreitung epileptiformer Aktivität vom EC zur Area dentata (DG)

Nach fokaler Applikation eines disinhibierenden Mediums (50 μ M Bicuculline, 10 mM KCl) wird spontane epileptiforme Aktivität im EC des Kontrolltieres sowie des gekindelten Tieres induziert. Während im Kontrolltier keine Ausbreitung der Aktivität in die Area dentata stattfindet, treten im Kindling-Modell nach kurzer Latenz synchrone Entladungen in der Area dentata auf.

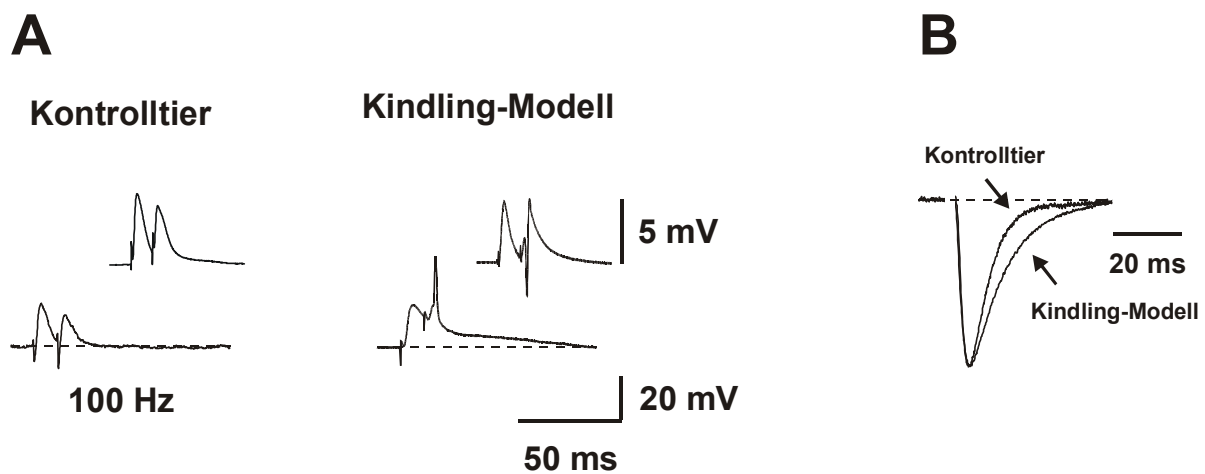


Abb. 3: Simultane Feldpotential- und Einzelzellaufzeichnungen in der Area dentata des Kontrolltieres und des Kindling-Modells während hochfrequenter Doppelreizung

Im Kontrolltier führt Doppelreizung mit 100 Hz zu einer Depression der zweiten evozierten Antwort. Demgegenüber zeigt sich in Tieren des Kindling-Modells (24 h nach dem letzten Anfall) eine deutliche Potenzierung der Antworten in Form eines Populations-Spikes (extrazelluläre Ableitung, oben) bzw. eines Aktionspotentials (intrazelluläre Ableitung, Aktionspotential abgeschnitten, unten) (A). Normalisierte Aufzeichnungen von evozierten EPSCs in beiden Untersuchungsgruppen zeigen eine deutlich verlängerte Kinetik der exzitatorischen Einwärtsströme (in Gegenwart von GABA_A- und GABA_B-Antagonisten) im Kindling-Modell (B).

Der relative Anteil der AMPA-EPSCs nahm im epileptischen Tier zeitgleich ab, ein Befund der am ehesten durch den Zuwachs der NMDA-EPSCs zu erklären ist. Funktionelle postsynaptische Kainat-Rezeptoren konnten wir weder im Kontrolltier noch im epileptischen Tier nachweisen. Die Veränderungen der NMDA-Rezeptorleitfähigkeit führte zu einer verlängerten Kinetik der exzitatorischen Antworten und somit zu einer initialen Faszilitierung hochfrequenter reizevozierter EPSPs (20-100 Hz) in den Körnerzellen der Area dentata (Abb. 3). Die Depression der während einer tonischen Stimulation nachfolgenden EPSPs war insensitiv gegenüber GABA_A- und GABA_B-Rezeptorantagonisten und ist somit am ehesten durch eine Entleerung der präsynaptischen Glutamat-Vesikel zu erklären (Galarreta und Hestrin, 1998; Zucker, 1989; Liu und Tsien, 1995; Ryan und Smith, 1995; Silver et al., 1998). Elektrographische Anfallsereignisse des EC zeigen in der initialen tonischen Phase ebenfalls

hochfrequente Entladungen mit einem vergleichbarem Frequenzspektrum. Diese Ergebnisse legen nahe, daß aufgrund der im epileptischen Tier veränderten glutamatergen Neurotransmission, entorhinale Anfälle während eines kurzen Zeitfensters ($\leq 50\text{ms}$) die Area dentata überwinden können und in den Hippokampus weitergeleitet werden. Vier Wochen nach dem letzten Anfallsereignis waren die beschriebenen Veränderungen der NMDA-Rezeptorkanäle allerdings nicht mehr nachweisbar. Die Anteile der NMDA- und AMPA-EPSCs entsprachen denen der Kontrolltiere. Dieser Befund legt nahe, daß die postiktual auftretenden Veränderungen der NMDA-Rezeptoren eher in der Epileptogenese als in der Iktogenese eine Rolle spielen.

3.1.3. Die Rolle der Kainat-Rezeptoren in der Area dentata

Weder in Kontrolltieren noch in chronisch epileptischen Tieren (Kindling-Modell) konnten wir aktivierbare Kainat-Rezeptoren in Körnerzellen der Area dentata nachweisen (Ref. 3). Diesen, primär exzitatorischen Rezeptoren, wird allerdings seit kurzer Zeit eine wesentliche Rolle in der Regulation inhibitorischer Interneurone zugesprochen. Der zugrundeliegende Mechanismus wird derzeit kontrovers diskutiert (Lerma et al., 2001). Eine reduzierte GABA-Freisetzung inhibitorischer Interneurone würde zu einer Disinhibition der Körnerzellen führen. Wir konnten zeigen, daß in gekindelten Tieren die Aktivierung interneuroner Kainat-Rezeptoren zu einer deutlich stärkeren Verminderung der eIPSCs in Körnerzellen führt als in Kontrolltieren (Ref. 4, Abb. 4). Da auch spontane Ca^{2+} -unabhängiger Miniatur-IPSCs eine Reduzierung ihrer Frequenz, nicht aber ihrer Amplitude zeigten, ist von einem präsynaptischen, die Terminale modulierenden Mechanismus auszugehen. Die Aktivierung von Kainat-Rezeptoren, welche sich auf den Terminalen inhibitorischer Interneurone befinden, scheinen über einen metabotropen, bislang nicht gänzlich geklärten Mechanismus die GABA-Freisetzung zu reduzieren. Über diesen Mechanismus kann der während eines epileptischen Anfalls vermehrt freigesetzte exzitatorische Neurotransmitter Glutamat die GABAerge Inhibition vermindern und somit die Erregbarkeit der Area dentata steigern.

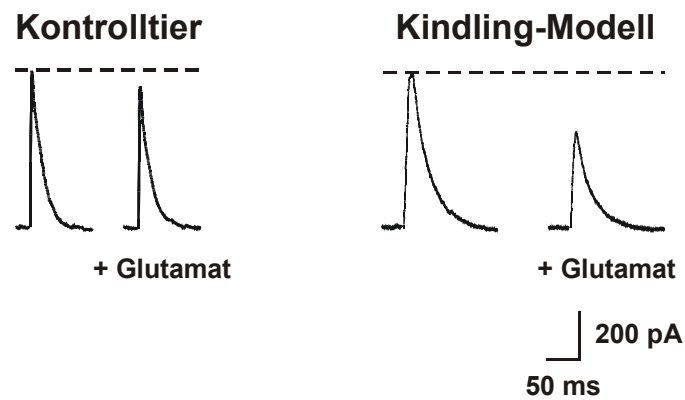


Abb. 4: Kindling verstärkt die über Kainat-Rezeptoren vermittelte Depression GABAerger Inhibition in Körnerzellen der Area dentata

Badapplikation von Glutamat (100 μ M) in der Gegenwart von NMDA- und AMPA-Rezeptorantagonisten (APV, NBQX) führt in Tieren des Kindling-Modells zu einer signifikant stärkeren Depression monosynaptisch evozierter GABA_A-Rezeptorströme (auf ~50% der Ausgangswerte) als in Kontrolltieren (auf ~80% der Ausgangswerte).

3.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie

Die Semiologie limbischer Anfälle ist nicht ausschließlich durch die Anfallsgenerierung eines epileptogenen Fokus, sondern vielmehr durch die Ausbreitung der epileptischen Aktivität charakterisiert. Sekundär generalisierende Temporallappenanfälle durchlaufen die hippocampale Schleife, um schließlich über das Subikulum in andere kortikale und subkortikale Hirnareale weitergeleitet zu werden. Unter funktionell anatomischen Gesichtspunkten ist diese Struktur somit von besonderer Bedeutung für die Generierung und Weiterleitung hippocampaler Anfälle. Zudem verfügen subikuläre Zellen über intrinsische Eigenschaften, welche epileptiforme Entladungen begünstigen.

Während ca. 2/3 aller Zellen auf depolarisierende Pulse (20 ms) mit einem burst von 3-5 Aktionspotentialen antworten (sog. burst-spiking Zellen), antworten die übrigen Zellen mit nur einem Aktionspotential (sog. regular-spiking Zellen) (Abb. 5).

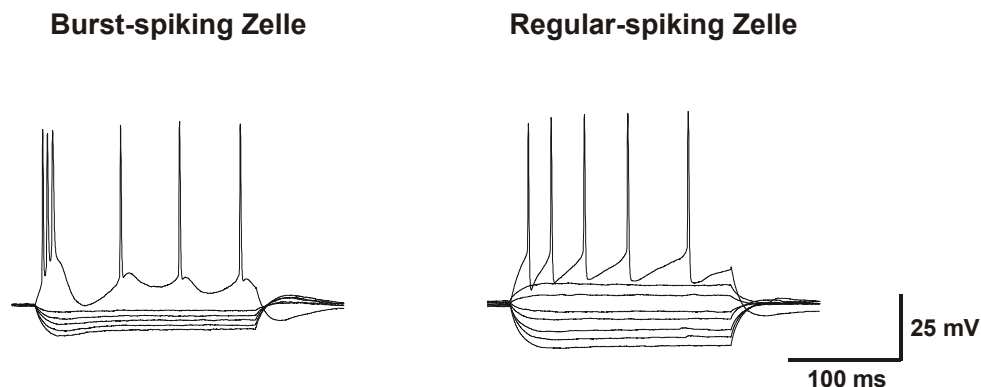


Abb. 4: Membraneigenschaften subikulärer Neurone

Spannungskurven und Entladungsverhalten von burst-spiking (links) und regular-spiking (rechts) Zellen bei hyper- und depolarisierenden Strompulsen. Burst-spiking Zellen zeigen initial einen Burst von 3-5 Aktionspotentialen mit nachfolgenden einzelnen Aktionspotentialen, welche im Gegensatz zu regular-spiking Zellen keine Akkomodation aufweisen.

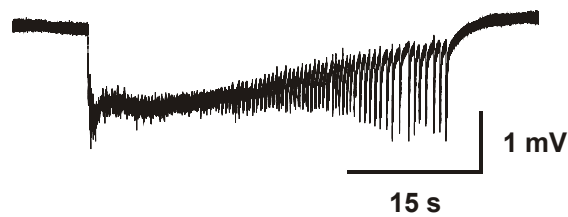


Abb. 5: Epileptiforme Aktivität im Subikulum

Nach ca. 30 Minuten Auswaschzeit der Mg^{2+} -Ionen treten im isolierten Subikulum der Ratte epileptiforme Anfallsereignisse auf, welche aus einer initialen tonischen und nachfolgenden klonischen Phase bestehen und bis zu 60 Sekunden andauern können.

Ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal beider Zelltypen ist die fehlende Aktionspotential-Akkommodation und langsame Nachhyperpolarisation der burst-spiking Zellen während bzw. nach einer längeren Depolarisation (z.B. 500-1000 ms) (Ref. 5). Regular-spiking Zellen zeigen dem entgegen eine deutliche Akkommodation ihrer Aktionspotentiale sowie eine am ehesten Ca^{2+} -abhängige langsame Nachhyperpolarisation. Beide Zelltypen zeichnen sich während hyperpolarisierender Ströme durch einen gleichrichtenden Einwärtsstrom aus. Nach Beendigung hyperpolarisierender Ströme kommt es bei beiden Zelltypen zu einer Nachdepolarisation, die zur Auslösung einzelner Aktionspotentiale oder Bursts von Aktionspotentialen führen kann.

3.2.1. Das Subikulum im Epilepsiemodell

Wir haben gezeigt, daß das Subikulum im *in vitro* Epilepsiemodell (Niedrig Mg^{2+} -Modell) eine Bereitschaft zur Generierung spontaner bis zu 60 Sekunden lang andauernder epileptiformer Entladungen besitzt (Ref. 6, Abb. 6). Diese elektrographischen Anfallsereignisse sind denen des EC in Dauer und Anfallsmuster vergleichbar und gehen nach einer Auswaschzeit des Mg^{2+} von 60-90 Minuten in rekurrente Entladungen von 1-3 Sekunden Dauer über. Sowohl die frühe als auch die späte epileptiforme Aktivität persistiert nach Durchtrennen der alveolären und entorhinalen Afferenzen und bedarf somit keiner externen Generatoren wie der Area CA1 oder dem EC. Diese Eigenschaft ist nach allgemeiner Auffassung auf den hohen Anteil von burst-spiking Zellen zurückzuführen (Heinemann, 1987; Jensen und Yaari, 1997). Chronisch epileptische Tiere (Kindling-Modell) besaßen einen unverändert hohen Anteil an burst-spiking Zellen (Ref. 7). Die durch eine Serie von Aktionspotentialen induzierte schnelle und langsame (nur burst-spiking Zellen)

Nachhyperpolarisation war zwei Tage nach dem letzten epileptischen Anfall in beiden Zelltypen deutlich vermindert. Diese Zunahme der intrinsischen Erregbarkeit konnten wir jedoch 28 Tage nach dem letzten Anfall in beiden Zelltypen nicht mehr nachweisen. Demzufolge spielen diese transienten Veränderung der Membraneigenschaften insbesondere in der Epileptogenese, weniger in der Ictogenese eine Rolle.

3.2.2. *Die temporoammonische Projektion des EC zum Subikulum*

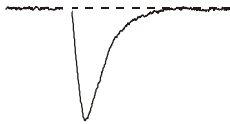
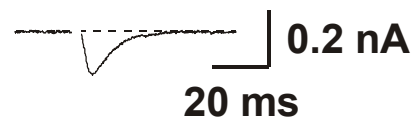
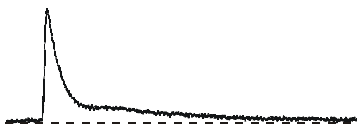
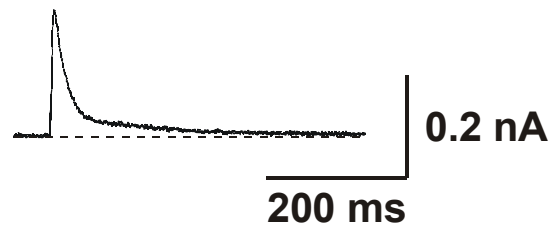
Neben dem bekannten alveolären Eingang der Area CA1 zum Subikulum haben wir mit intrazellulären Ableitungen erstmals die temporoammonische Projektion ausgehend von Schicht III-Zellen des EC in Kontrolltieren charakterisiert (Ref. 8). Nach Stimulation der Schicht III des medialen EC zeigten subikuläre Neurone nach einer kurzen Latenz von 2,4 bis 6,6 ms sowohl exzitatorische (AMPA/NMDA) als auch inhibitorische ($GABA_A$ / $GABA_B$) postsynaptische Potentiale. NMDA-EPSPs konnten bereits bei Ruhemembranpotential und einer extrazellulären Mg^{2+} -Konzentration von 1,8 mM ausgelöst werden. Allerdings zeigte sich eine projektionsspezifisch kleinere NMDA-Komponente nach Stimulation des Tractus perforans im Vergleich zum alveolären Eingang. Simultane Aktivierung der alveolären und entorhinalen Afferenzen führte zu einer Potenzierung der exzitatorischen Potentiale. Stimulation des alveolären Eingangs nach einer kurzen Latenz, welche der synaptischen Neurotransmission entlang der trisynaptischen hippocampalen Schleife entspricht, führte hingegen zu einer Depression der subikulären Antworten.

Die über die temporoammonische Projektion vermittelte Modulation des subikulären Informationstransfers zeigte in chronisch epileptischen Tieren (Kindling-Modell) veränderte synaptische Entladungsmuster: In Kontrolltieren konnten wir zeigen, daß hochfrequente Reizung entorhinaler Neurone der Schicht III zu schnell akkomodierenden Aktionspotentialen und einer langandauernden synaptischen Nachhyperpolarisation führt. Die Dauer dieser Nachhyperpolarisation beträgt bis zu 20 s und ist in ihrem ersten Anteil sensitiv gegenüber dem $GABA_B$ Rezeptorantagonisten CGP-55845A, in ihrem zweiten Anteil gegenüber Atropin und in ihrem letzten Anteil gegenüber Naloxon (Gloveli et al., 1997). In chronisch epileptischen Tieren waren hingegen sowohl die Akkomodation der Aktionspotentiale als auch die über $GABA_B$ -Rezeptoren vermittelte Nachhyperpolarisation deutlich reduziert (Ref. 9). Als Ursache konnten wir eine verstärkte Autoinhibition der präsynaptischen $GABA_B$ Rezeptoren der inhibitorischen Interneurone zeigen. Diese Ergebnisse deuten daraufhin, daß im Rahmen der TLE eine Veränderung der frequenzabhängigen Neurotransmission vom EC zur Area CA1 und zum Subikulum stattfindet.

3.2.3. *Pharmakologische Untersuchungen*

Neben den exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmittern Glutamat und GABA modulieren auch körpereigene Amine wie Serotonin (Behr und Heinemann, 1996; Behr et al., 1997) und Dopamin (Ref. 10, 11) über subkortikale Afferenzen das funktionelle Gleichgewicht aus Erregung und Hemmung im Subikulum.

Die Wirkungen von Dopamin auf die Neurotransmission sind vielfältig, abhängig von den beteiligten Rezeptoren in der entsprechenden Hirnregion. Das Subikulum, das eine ausgeprägte mesenzephal, dopaminerge Projektion vom ventralen Tegmentum erhält (Descarries et al., 1987; Gasbarri et al., 1994; Verney et al., 1985), exprimiert sowohl D1- als auch D2-Rezeptoren (Martres et al., 1985; Freneau, Jr. et al., 1991; Meador-Woodruff et al., 1994; Bruinink und Bischoff, 1993). Dopamin (200 μM) führte in subikulären Pyramidenzellen zu einer Abnahme des Eingangswiderstandes sowie zu einer geringen Hyperpolarisation des Membranpotentials der Zellen (Ref. 10). Ähnliche Effekte wurden bereits für Pyramidenzellen der Area CA1 (Benardo und Prince, 1982; Berretta et al., 1990; Gribkoff und Ashe, 1984) sowie Neurone der Schicht II des EC (Pralong und Jones, 1993) beschrieben und scheinen durch die Öffnung von K^+ -Kanälen bedingt zu sein. Wir konnten zudem zeigen, daß Dopamin (100 μM) die glutamaterge synaptische Transmission über die Aktivierung eines präsynaptisch lokalisierten D1-Dopaminrezeptor unterdrückt (Ref. 11, Abb. 7A). Für einen ausschließlich präsynaptischen Mechanismus sprechen die modulierende Wirkung von Dopamin auf durch Doppelreize evozierte EPSCs sowie Miniatur EPSCs, der verbleibende Effekt nach Auswaschen der postsynaptischen G-Proteine, die unveränderte Kinetik der reizevozierten Ströme sowie der fehlende Effekt auf EPSCs nach Druckapplikation des Glutamat-Rezeptoragonisten AMPA. Die NMDA- und AMPA-EPSPs waren in gleichem Maße vermindert. Die alveoläre Projektion der Area CA1 war signifikant stärker supprimiert als die Projektion der Schicht III des EC (Reduktion auf 56% bzw. 76% der Kontrollwerte). Auch polysynaptisch evozierte GABA_A - und GABA_B -IPSPs wurden unter Dopamin (200 μM) auf ca. 64% reduziert (Ref. 10). Allerdings zeigte Dopamin in der Gegenwart der Glutamat-Rezeptorantagonisten APV und NBQX keinen Effekt auf monosynaptisch evozierte IPSPs/Cs (Abb. 7B). Diese Ergebnisse sprechen gegen eine direkte Hemmung der präsynaptischen GABA Freisetzung. Die Abnahme der polysynaptisch evozierten Potentiale ist vielmehr auf eine verminderte glutamaterge Erregung inhibitorischer Interneurone zurückzuführen.

A**Kontrolle****Dopamin****B****Kontrolle****Dopamin****Abb. 7: Effekt von Dopamin auf eEPSCs und eIPSCs in subikulären Neuronen**

Dopamin (100 μ M) unterdrückt evozierte AMPA-EPSCs (in der Gegenwart von APV, Bicuculline und CGP55845A) auf $56 \pm 8\%$ der Kontrollwerte (A), während Dopamin keinen Effekt auf monosynaptisch evozierte GABA_A- und GABA_B-IPSCs (in der Gegenwart von APV und NBQX) hat (B).

4. Diskussion und Ausblick

4.1. Interaktion zwischen entorhinalem Kortex und Hippokampus

Eine im chronisch epileptischen Tier veränderte Interaktion zwischen EC und Hippokampus scheint eine wesentliche Rolle in der Epileptogenese der TLE zu spielen. Die Area dentata besitzt eine Schlüsselstellung in der Ausbreitung epileptischer Aktivität vom EC zum Hippokampus. Wir haben zeigen können, daß im Kindling-Modell der TLE die Filterfunktion der Area dentata aufgehoben ist und somit die ungehinderte Ausbreitung spontaner epileptiformer Aktivität des EC in den Hippokampus zuläßt. Im EC von mit Kainat behandelten Ratten sowie von Patienten mit pharmakoresistenter TLE treten hochfrequente Oszillationen (100-500 Hz) auf, die den synaptischen Eingang der Körnerzellen der Area dentata (Bragin et al., 1999a; Bragin et al., 1999b) bilden. Die Area dentata der mit Kainat behandelten Ratten zeigen synchronisierte EPSPs mit aufgelagerten tonischen und klonischen Clustern von Aktionspotentialen mit Frequenzen zwischen 1-100 Hz (Wuarin und Dudek, 1996). In *in vitro* Modellen der TLE konnten schließlich spontane und reizevozierte Feldpotentiale mit Frequenzen bis zu 300 Hz aufgezeichnet werden (Schweitzer et al., 1992). Die von uns gewählte tetanische Stimulation von 10-100 Hz simuliert somit die synaptische Aktivierung der Area dentata während eines tonisch-klonischen Anfallsereignisses. In gekindelten Tieren führte die tetanische Reizung innerhalb der ersten 50 ms zu einer Durchschaltung der hochfrequenten Aktivierung. Wir konnten zeigen, daß die Faszilitierung der EPSPs auf einer deutlichen Zunahme der Abfallzeit der NMDA-EPSCs beruht. Die Rolle der NMDA-Rezeptoren in der Area dentata der gekindelten Ratte ist bereits ausführlich untersucht worden (Mody und Heinemann, 1987; Mody et al., 1988; McNamara, 1994; McNamara, 1995; Lynch et al., 2000). Auf Einzelkanalebene konnte eine verlängerte Öffnungswahrscheinlichkeit sowie ein erhöhter Phosphorylierungsgrad des Rezeptors gezeigt werden (Köhr et al., 1993). Die Aktivierung der Phosphatase Calcineurin führt zu einer Desensitisierung des NMDA-Rezeptors und einer Abnahme nachfolgender reizevozierter EPSCs (Tong et al., 1995). Eine verminderte calcineurinvermittelte Rückkopplung, wie sie in der Area dentata von Patienten mit TLE und gekindelter Ratten beschrieben wurde (Lieberman und Mody, 2000; Mody und Lieberman, 1998), kann somit zu einer Faszilitierung hochfrequenter NMDA-EPSCs führen. Sowohl die Faszilitierung der evozierten EPSPs als auch die Zunahme der NMDA-EPSCs waren 48 Stunden, aber nicht 28 Tage nach dem letzten epileptischen Anfall nachweisbar. Diese Befunde sind vereinbar mit einer transient erhöhten mRNA Expression des NMDA-Rezeptor Subtyps 2B nach Kindling (Kamphuis et al., 1995).

Sowohl die Kindling-Epilepsie als auch das damit einhergehende MFS der Area dentata ist von der Aktivierung des NMDA-Rezeptors abhängig (Sutula et al., 1996). Aufgrund der transienten Erhöhung der NMDA-R Aktivierung scheint die wesentliche Funktion dieses Rezeptors eher in der Induktion struktureller und funktioneller Veränderungen (Cantalupo und Routtenberg, 1996; McNamara und Routtenberg, 1995; Sprengel et al., 1998; Bengzon et al., 1999) als in der Persistenz der erhöhten Erregbarkeit zu liegen. Diese Befunde verdeutlichen die enge Wechselbeziehung zwischen transienten Veränderungen auf Zellebene und persistierenden auf Netzwerkebene.

Einige Studien haben sich mit Veränderungen der Expression von non-NMDA-Rezeptoren in der Area dentata von Patienten mit pharmakoresistenter TLE (Babb et al., 1996) als auch verschiedener Epilepsiemodelle (Pollard et al., 1993; Kamphuis et al., 1994; Babb et al., 1996) befaßt. Kamphuis et al. (Kamphuis et al., 1994) konnten zeigen, daß 24 Stunden nach Kindling eine vermehrte Expression der flip-Variante der Glutamat-Rezeptoren-A, -B und -C mRNA in Körnerzellen der Area dentata auftritt. Langfristig war allerdings lediglich die Expression der Glutamat-Rezeptor-A flip mRNA erhöht. Dennoch konnten wir im Kindling-Modell der TLE auf funktioneller Ebene keine dauerhafte Veränderung der vorwiegend dendritischen AMPA-EPSCs nachweisen. Dieses Ergebnis schließt allerdings eine Hochregulation der somatischen AMPA-Rezeptoren nicht aus.

Obwohl Kainat im Tiermodell als ein Konvulsivum eingesetzt wird (Ben-Ari, 1985; Sperk, 1994) und der Beitrag von Kainat-Rezeptoren in der Epileptogenese zunehmend deutlich wird (Mulle et al., 1998; Vissel et al., 2001; Bernard et al., 1999), konnten wir weder im Kontrolltier noch im gekindelten Tier funktionelle Kainat-Rezeptoren in Körnerzellen der Area dentata nachweisen. Dieser Befund überrascht, da mRNA für Kainat-Rezeptoren in der Area dentata der Ratte bereits nachgewiesen worden sind (Wisden und Seeburg, 1993; Kamphuis et al., 1995). Funktionell aktivierbare Kainat-Rezeptoren konnten wir allerdings auf den Terminalen inhibitorischer Interneurone der Area dentata nachweisen. Deren Aktivierung führte sowohl in Kontrolltieren als auch in gekindelten Tieren zu einer Hemmung der GABA-Freisetzung. In gekindelten Tieren viel diese Hemmung im Vergleich zu Kontrolltieren allerdings deutlich stärker aus. Während eines epileptischen Anfalls führt die tonische Erregung der Körnerzellen zu einer transienten Erhöhung der extrazellulären Glutamatkonzentration. Die Aktivierung von Kainat-Rezeptoren benachbarter inhibitorischer Synapsen führt daraufhin zu einer verstärkten Depression der GABAergen Inhibition. Die durch Kindling induzierte Sensibilität der Kainat-Rezeptoren die GABA-Freisetzung zu

reduzieren führt zu einer aktivitätsabhängigen Erhöhung der Erregbarkeit der Körnerzellen, welche die Ausbreitung limbischer Anfälle in der entorhinal-hippokampalen Formation erleichtert.

Eine Beteiligung des GABAergen Systems im Sinne einer verminderten Hemmung konnten wir nicht nachweisen, da die Blockade der schnellen und langsamen Inhibition in Kontrolltieren nicht zu der im gekindelten Tier zu beobachtenden Faszilitierung der EPSPs führte. Zudem scheint das GABAerge System nach Kindling eher verstärkt zu sein (Oliver und Miller, 1985; Kamphuis et al., 1992; Tuff et al., 1983a; Titulaer et al., 1995). Dieser Befund ist auf eine Hochregulation postsynaptischer GABA-Rezeptoren (Valdes et al., 1982; Tuff et al., 1983a; Tuff et al., 1983b; Shin et al., 1985; Otis et al., 1994; Nusser et al., 1998), eine verstärkte über GABA_B-Rezeptoren vermittelte Autoinhibition oder eine verstärkte Erregung inhibitorischer Interneurone zurückzuführen (Buhl et al., 1996; Otis und Mody, 1993).

Neben den zellulären Veränderungen gibt es einige Hinweise dafür, daß das durch Kindling induzierte MFS über die Ausbildung rekurrenter Kollaterale eine erhöhte Erregbarkeit der Area dentata verursacht (McNamara, 1994; Dudek und Spitz, 1997; Cronin und Dudek, 1988; Wuarin und Dudek, 1996; Golarai und Sutula, 1996; Patrylo und Dudek, 1998). Allerdings konnte gezeigt werden, daß der Proteinsynthesehemmer Cycloheximid die Bildung aberranter Moosfasern in verschiedenen TLE-Modellen unterdrückt, jedoch das Auftreten der epileptischen Anfälle nicht verhindert (Ribak und Peterson, 1991; Sloviter, 1992). Die funktionelle Bedeutung des MFS in der Epileptogenese bleibt somit weiterhin unklar.

4.2. Die Rolle des Subikulums in der Temporallappenepilepsie

In den letzten Jahren wurden umfangreiche Untersuchungen zu synaptischen und intrinsischen Eigenschaften subikulärer Zellen durchgeführt (O'Mara et al., 2001; Jung et al., 2001). Das Subikulum scheint eine wesentliche Rolle in der Verstärkung hippokampaler Information und deren Weiterleitung zu kortikalen und subkortikalen Hirnregionen zu spielen. Für diese Annahme sprechen der hohe Anteil der burst-spiking Zellen, deren speziellen Membraneigenschaften sowie die eingangs beschriebene anatomische Schlüsselposition des Subikulums am Ende der hippokampalen Schleife. Im chronisch epileptischen Tier scheinen diese Membraneigenschaften wesentlich an der Generierung epileptischer Aktivität beteiligt zu sein (Heinemann, 1987; Jensen und Yaari, 1997). Eine rekurrente Verschaltung dieser Schrittmacherzellen scheint von wesentlicher Bedeutung für die autonome Bereitschaft des Subikulums zur Generierung epileptiformer Aktivität im *in vitro* Epilepsiemodell zu sein.

Subikuläre Zellen besitzen zudem die Eigenschaft unterschwellige Membranpotentialoszillationen zu generieren, welche einen Beitrag zur Anfallsbereitschaft leisten können. Vergleichbar den von uns in den tiefen Schichten des EC (Schmitz et al., 1998) beschriebenen Membranpotentialoszillationen unterliegen auch die Oszillationen des Subikulums einer Na^+ -Abhängigkeit (Mattia et al., 1997). Auf Einzelzellebene zeigen subikuläre Pyramidenzellen nach Kindling eine verminderte schnelle und langsame Ca^{2+} -abhängigen Nachhyperpolarisation. Eine mögliche Ursache scheinen die für epileptisches Gewebe typischen Veränderungen der intrazellulären Ca^{2+} Regulation zu sein (Mody, 1998). Welche Veränderungen auf synaptischer Ebene nach Kindling auftreten ist für das Subikulum bislang unklar. Neben der neuronalen Plastizität auf Membranebene und synaptischer Ebene treten im sklerotischen Hippokampus des Menschen wie des Tieres Veränderungen auf Netzwerkebene auf: Die im Pilokarpin-Modell der TLE nachgewiesene Rückprojektion subikulärer Fasern zur Area CA1 (Lehmann et al., 2001) könnte eine erhöhte funktionelle Konnektivität von Pyramidenzellen zur Folge haben und somit zu einer erhöhten neuronalen Erregbarkeit im Bereich Area CA1-Subikulum führen. Aufgrund der epileptogenen Eigenschaften des Subikulums werden zukünftige Untersuchungen zeigen müssen, welche Bedeutung das Subikulum des chronisch epileptischen Gewebes in der Generierung hippokampaler Anfälle besitzt. Diese Frage ist insbesondere vor dem Hintergrund der im Rahmen der Ammonshornsklerose auftretenden Zelluntergänge der hippokampalen Areae CA1 und CA3 von großem Interesse. Diese Zellverluste dekonnectieren das Subikulum vom Hippokampus. Aufgrund dessen scheint bei vielen Patienten mit TLE das Subikulum die einzige, potentiell anfallsgenerierende Struktur im Bereich der hippokampalen Formation zu sein.

Anatomische und physiologische Untersuchungen haben gezeigt, daß der EC die wesentliche kortikale Eingangsstruktur zur hippokampalen Formation darstellt und somit eine Schlüsselrolle in der Informationsverarbeitung zwischen den verschiedensten neokortikalen Regionen und der hippokampalen Formation einnimmt (Van Groen et al., 1987; Köhler, 1986; Köhler, 1988; Witter et al., 1989). Die Zellen der Schicht III des EC üben einen vorwiegend hemmenden Einfluß auf die Pyramidenzellen der Area CA1 aus (Empson und Heinemann, 1995). Der entorhinale Eingang auf subikuläre Zellen besitzt hingegen sowohl hemmende als auch erregende synaptische Anteile. Demnach interagiert der EC über zwei funktionell unterschiedlichen Projektion mit der Area CA1 und dem Subikulum. Da über die Hemmung der Area CA1 sekundär die Neurotransmission zum Subikulum unterdrückt wird, scheint die entorhinale Projektion zum Subikulum eine wesentliche Rolle in der Verstärkung des

hippokampalen Informationstransfers zu spielen. Welche Bedeutung der bei der TLE zu beobachtende Untergang der Schicht III Zellen des EC (Du et al., 1995; Du et al., 1993) für die Neurotransmission und Anfallsbereitschaft des Subikulums hat, ist nicht bekannt. Zudem ist unklar, ob der Zelltod vorwiegend lokale Interneurone bzw. Pyramidenzellen oder eher Projektionszellen betrifft. Abhängig vom untergegangenen Zelltyp resultieren unterschiedliche Veränderungen hinsichtlich der Erregungsfortleitung zum Subikulum. Der Untergang der Projektionsneurone hätte den Ausfall sowohl exzitatorischer als auch inhibitorischer Einflüsse auf die Neurotransmission des Subikulums zur Folge. Der Untergang lokaler inhibitorischer Interneurone würde hingegen zu einer verstärkten Exzitation des Subikulums führen. Eine funktionelle Veränderung des entorhinalen Eingangs kann somit sowohl die Erregungsfortleitung als auch die Epilepsiebereitschaft des Subikulums vielfältig modifizieren.

Wir konnten kürzlich zeigen, daß regular- und burst-spiking Zellen ein unterschiedlich ausgeprägtes „Lernverhalten“ (Langzeit-Potenzierung; LTP) aufweisen (Wozny et al., 2001): so zeigen burst-spiking Zellen eine deutlich stärkere LTP als regular-spiking Zellen. Während die LTP der burst-spiking Zellen präsynaptisch über zyklisches AMP (cAMP) und postsynaptisch über NMDA-Rezeptoren vermittelt ist, ist die LTP der regular-spiking Zellen über einen bislang nicht geklärten postsynaptischen Mechanismus bedingt. Die Korrelation von zellspezifischen Projektionen der Area CA1 und des EC und zellspezifischer LTP ist deswegen von außerordentlich großem Interesse für das Verständnis sowohl physiologischer (Lernen und Gedächtnis) als auch pathogener neuronaler Plastizität wie sie in der Epileptogenese auftritt.

4.3. Die Wirkung von Dopamin im Subikulum

Die antikonvulsive Wirkung von Dopamin ist seit langem bekannt. Nach Einführung von selektiven D1- und D2-Agonisten wurde zunächst vermutet, daß die antikonvulsive Wirkung insbesondere über die Aktivierung von D2-Rezeptoren im Bereich des Frontalhirns erzielt wird. Hingegen scheint die Aktivierung von D1 Rezeptoren im Bereich des Mittelhirns eher einen prokonvulsiven Effekt zu haben (Starr, 1996). Aufgrund der zur Verfügung stehenden nebenwirkungsärmeren und potenteren Antikonvulsiva werden D1-Agonisten in der Epilepsitherapie nicht eingesetzt. Unter Einsatz von D2-Antagonisten und D1-Agonisten bei anderen neurologisch-psychiatrischen Erkrankungen wie dem idiopathischen Parkinsonsyndrom und der Schizophrenie können allerdings epileptische Anfälle als Nebenwirkungen auftreten. Die von uns im Subikulum nachgewiesene Reduktion der

Glutamatfreisetzung nach Aktivierung von D1-Rezeptoren wurde auch für andere Hirnregionen wie den Nucleus accumbens (Nicola et al., 1996; Pennartz et al., 1992), den EC (Pralong und Jones, 1993), den präfrontalen Kortex (Law-Tho et al., 1994; Williams und Goldman-Rakic, 1995; Gao et al., 2001) sowie die frontobasale Hirnregion (Momiya et al., 1996) gezeigt. Der D1-Rezeptor reguliert die Aktivität der zyklischen AMP (cAMP) – abhängigen Proteinkinase A (PKA) (Kebabian und Calne, 1979) und reduziert N-Typ Ca^{2+} Ströme (Surmeier et al., 1995). Dopamin zeigte keinen Effekt auf die GABA-Freisetzung inhibitorischer Interneurone des Subikulums. Allerdings wurde über die verminderte Erregung inhibitorischer Interneurone sekundär die polysynaptische GABAerge Hemmung reduziert. Smialowski et al. konnten zeigen daß in der Area CA1 Dopamin sowohl exzitatorische (D2-Rezeptor) als auch inhibitorische (D1-Rezeptor) Effekte auf Pyramidenzellen ausübt. Im *in vitro* Epilepsiemodell (Niedrig- Ca^{2+}) konnten sie zudem spontane epileptiforme Aktivität mit einem D1 Agonisten reduzieren. Somit scheint der Einsatz von D1-Agonisten in der hippocampalen Formation eher einen antikonvulsive als prokonvulsive Wirkung auf Pyramidenzellen zu haben. Allerdings wurde für die Area CA1 (Hsu, 1996; Otmakhova und Lisman, 1999) sowie den EC (Stenkamp et al., 1998) gezeigt, daß die Glutamatfreisetzung auch über D2-Rezeptoren unterdrückt werden kann. Somit kann die traditionelle These eines D1-exzitatorischen und D2-inhibitorischen Systems zumindest für die hippocampale Formation nicht aufrechtgehalten werden. In Abhängigkeit von der Hirnregion entfalten Dopamin-Rezeptoren unterschiedliche Wirkungen. Da Dopamin sowohl die Membraneigenschaften als auch die mono- und polysynaptische Transmission moduliert, ist der Gesamteffekt und somit der Einfluß auf Veränderungen der Anfallsschwelle nur eingeschränkt zu beurteilen.

5. Literaturverzeichnis

- ALGER BE, TEYLER TJ (1976) Long-term and short-term plasticity in CA1, CA3 and dentate region of the rat hippocampal slice. *Brain Res* **110**: 463-480.
- AMARAL DG (1993) Emerging principles of intrinsic hippocampal organization. *Curr Opin Neurobiol* **3**: 225-229.
- AMARAL DG, WITTER MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience* **31**: 571-591.
- AMARAL DG, WITTER MP (1995) The hippocampal formation. In: *The rat nervous system* (Paxinos G, ed), pp 443-494. New York: Academic Press.
- ANDERSEN P, BLISS TVP, SKREDE KK (1971) Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Exp Brain Res* **13**: 222-238.
- ANNEGERS JF (1997) The epidemiology of epilepsy. In: *The Treatment of Epilepsy: Principles and Practice, Second Edition* (Wyllie E, ed), pp 165-172. Baltimore: Williams & Wilkins.
- BABB TL, BROWN WJ (1987) Pathological findings in epilepsy. In: *Surgical Treatment of the Epilepsies* (Engel J, Jr., ed), pp 511-540. New York: Raven Press.
- BABB TL, BROWN WJ, PRETORIUS JK, DAVENPORT CJ, LIEB JP, CRANDALL PH (1984) Temporal lobe volumetric cell densities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **25(6)**: 729-740.
- BABB TL, KUPFER WR, PRETORIUS JK, CRANDALL PH, LÉVESQUE MF (1991) Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. *Neuroscience* **42**: 351-363.
- BABB TL, MATHERN GW, LEITE JP, PRETORIUS JK, YEOMAN KM, KUHLMAN PA (1996) Glutamate AMPA receptors in the fascia dentata of human and kainate rat hippocampal epilepsy. *Epilepsy Res* **26**: 193-205.
- BABB TL, PRETORIUS JK (1993) Pathologic substrates of epilepsy. In: *The treatment of epilepsy: principles and practice* (Wyllie E, ed), pp 55-70. Philadelphia: Lea and Wibiger.

- BEHR J, EMPSON RM, SCHMITZ D, GLOVELI T, HEINEMANN U (1997) Effects of serotonin on synaptic and intrinsic properties of rat subicular neurons in vitro. *Brain Res* **773**: 217-222.
- BEHR J, HEINEMANN U (1996) Effects of serotonin on different patterns of low Mg²⁺-induced epileptiform activity in the subiculum of rats studied in vitro. *Brain Res* **737**: 331-334.
- BEN-ARI Y (1985) Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* **14**: 375-403.
- BEN-ARI Y, REPRESA A, TREMBLAY E, NITECKA L (1986) Selective and non-selective seizure related brain damage produced by kainic acid. In: *Excitatory amino acids and epilepsy* (Schwarcz R, Ben-Ari Y, eds), pp 647-657. New York and London: Plenum Press.
- BENARDO LS, PRINCE DA (1982) Dopamine action on hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* **2**: 415-423.
- BENGZON J, OKABE S, LINDVALL O, MCKAY RD (1999) Suppression of epileptogenesis by modification of N-methyl-D-aspartate receptor subunit composition. *Eur J Neurosci* **11**: 916-922.
- BERNARD A, FERHAT L, DESSI F, CHARTON G, REPRESA A, BEN ARI Y, KHRESTCHATISKY M (1999) Q/R editing of the rat GluR5 and GluR6 kainate receptors in vivo and in vitro: evidence for independent developmental, pathological and cellular regulation. *Eur J Neurosci* **11**: 604-616.
- BERNASCONI N, BERNASCONI A, ANDERMANN F, DUBEAU F, FEINDEL W, REUTENS DC (1999) Entorhinal cortex in temporal lobe epilepsy: a quantitative MRI study. *Neurology* **52**: 1870-1876.
- BERNASCONI N, BERNASCONI A, CARAMANOS Z, DUBEAU F, RICHARDSON J, ANDERMANN F, ARNOLD DL (2001) Entorhinal cortex atrophy in epilepsy patients exhibiting normal hippocampal volumes. *Neurology* **56**: 1335-1339.
- BERRETTA N, BERTON F, BIANCHI R, CAPOGNA M, FRANCESCONI W, BRUNELLI M (1990) Effects of dopamine, D-1 and D-2 dopaminergic agonists on the excitability of hippocampal CA1 pyramidal cells in guinea pig. *Exp Brain Res* **83**: 124-130.

- BERTRAM EH, ZHANG DX, MANGAN P, FOUNTAIN N, REMPE D (1998) Functional anatomy of limbic epilepsy: a proposal for central synchronization of a diffusely hyperexcitable network. *Epilepsy Res* **32**: 194-205.
- BOULTON CL, VON HAEBLER D, HEINEMANN U (1992) Tracing of axonal connections by rhodamine-dextran-amine in the rat hippocampal-entorhinal cortex slice preparation. *Hippocampus* **2**: 99-106.
- BRAGIN A, ENGEL J, JR., WILSON CL, FRIED I, BUZSAKI G (1999b) High-frequency oscillations in human brain. *Hippocampus* **9**: 137-142.
- BRAGIN A, ENGEL J, JR., WILSON CL, FRIED I, MATHERN GW (1999a) Hippocampal and entorhinal cortex high-frequency oscillations (100--500 Hz) in human epileptic brain and in kainic acid-treated rats with chronic seizures. *Epilepsia* **40**: 127-137.
- BRUININK A, BISCHOFF S (1993) Dopamine D2 receptors are unevenly distributed in the rat hippocampus and are modulated differently than in striatum. *Eur J Pharmacol* **245**: 157-164.
- BUCKMASTER PS, DUDEK FE (1997) Neuron loss, granule cell axon reorganization, and functional changes in the dentate gyrus of epileptic kainate-treated rats. *J Comp Neurol* **385**: 385-404.
- BUHL EH, OTIS TS, MODY I (1996) Zinc-induced collapse of augmented inhibition by GABA in a temporal lobe epilepsy model. *Science* **271**: 369-373.
- CANTALLOPS I, ROTTENBERG A (1996) Rapid induction by kainic acid of both axonal growth and F1/GAP-43 protein in the adult rat hippocampal granule cells. *J Comp Neurol* **366**: 303-319.
- CANTERAS NS, SWANSON LW (1992) Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol* **324**: 180-194.
- COLLINGRIDGE GL, WATKINS JC (1994) *The NMDA Receptor*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- COLLINS RC, TEARSE RG, LOTHMAN EW (1983) Functional anatomy of limbic seizures: focal discharges from medial entorhinal cortex in rat. *Brain Res* **280**: 25-40.
- CRONIN J, DUDEK FE (1988) Chronic seizures and collateral sprouting of dentate mossy fibers after kainic acid treatment in rats. *Brain Res* **474**: 181-184.

- CUTTING GR, LU L, O'HARA BF, KASCH LM, MONTROSE-RAFIZADEH C, DONOVAN DM, SHIMADA S, ANTONARAKIS SE, GUGGINO WB, UHL GR, KAZAZIAN HH, JR. (1991) Cloning of the gamma-aminobutyric acid (GABA) rho 1 cDNA: a GABA receptor subunit highly expressed in the retina. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**: 2673-2677.
- DASHEIFF RM, MCNAMARA JO (1982) Electrolytic entorhinal lesions cause seizures. *Brain Res* **231**: 444-450.
- DE LANEROLLE NC, KIM JH, ROBBINS RJ, SPENCER DD (1989) Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res* **495**: 387-395.
- DELGADO JMR, SEVILLANO M (1961) Evolution of repeated hippocampal seizures in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **13**: 722-727.
- DELLER T, MARTÍNEZ A, NITSCH R, FROTSCHER M (1996) A novel entorhinal projection to the rat dentate gyrus: Direct innervation of proximal dendrites and cell bodies of granule cells and GABAergic neurons. *J Neurosci* **16**: 3322-3333.
- DESCARRIES L, LEMAY B, DOUCET G, BERGER B (1987) Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neuroscience* **21**: 807-824.
- DREIER JP, HEINEMANN U (1990) Late low magnesium-induced epileptiform activity in rat entorhinal cortex slices becomes insensitive to the anticonvulsant valproic acid. *Neurosci Lett* **119**: 68-70.
- DREIER JP, HEINEMANN U (1991) Regional and time dependent variations of low magnesium induced epileptiform activity in rat temporal cortex. *Exp Brain Res* **87**: 581-596.
- DU F, EID T, LOTHMAN EW, KÖHLER C, SCHWARCZ R (1995) Preferential neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* **15**: 6301-6313.
- DU F, WHETSELL WO, JR., ABOU-KHALIL B, BLUMENKOPF B, LOTHMAN EW, SCHWARCZ R (1993) Preferential neuronal loss in layer III of the entorhinal cortex in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* **16**: 223-233.

- DUDEK FE, SPITZ M (1997) Hypothetical mechanisms for the cellular and neurophysiologic basis of secondary epileptogenesis: proposed role of synaptic reorganization. *J Clin Neurophysiol* **14**: 90-101.
- EICHENBAUM H, OTTO T, COHEN NJ (1994) Two functional components of the hippocampal memory system. *Behav Brain Sci* **17**: 449-518.
- EMPSON RM, HEINEMANN U (1995) The perforant path projection to hippocampal area CA1 in the rat hippocampal-entorhinal cortex combined slice. *J Physiol (Lond)* **484**: 707-729.
- ENGEL J, JR. (1996) Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* **26**: 141-150.
- ENGEL J, JR., PEDLEY TA (1997) *Epilepsy: a comprehensive textbook*. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publishers.
- ENGEL J, JR. (2001) Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned? *Neuroscientist* **7**: 340-352.
- FINNERTY GT, WHITTINGTON MA, JEFFERYS JG (2001) Altered dentate filtering during the transition to seizure in the rat tetanus toxin model of epilepsy. *J Neurophysiol* **86**: 2748-2753.
- FREMEAU RT, JR., DUNCAN GE, FORNARETTO MG, DEARRY A, GINGRICH JA, BREESE GR, CARON MG (1991) Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**: 3772-3776.
- GALARRETA M, HESTRIN S (1998) Frequency-dependent synaptic depression and the balance of excitation and inhibition in the neocortex. *Nature Neurosci* **1**: 587-594.
- GAO WJ, KRIMER LS, GOLDMAN-RAKIC PS (2001) Presynaptic regulation of recurrent excitation by D1 receptors in prefrontal circuits. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**: 295-300.
- GASBARRI A, VERNEY C, INNOCENZI R, CAMPANA E, PACITTI C (1994) Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Res* **668**: 71-79.
- GLOVELI T, DUGLADZE T, SCHMITZ D, HEINEMANN U (2001) Properties of entorhinal cortex deep layer neurons projecting to the rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* **13**: 413-420.

- GLOVELI T, EGOROV AV, SCHMITZ D, HEINEMANN U, MÜLLER W (1999) Carbachol-induced changes in excitability and $[Ca^{2+}]_i$ signalling in projection cells of medial entorhinal cortex layers II and III. *Eur J Neurosci* **11**: 3626-3636.
- GLOVELI T, SCHMITZ D, HEINEMANN U (1997) Prolonged inhibitory potentials in layer III projection cells of the rat medial entorhinal cortex induced by synaptic stimulation in vitro. *Neuroscience* **80**: 119-131.
- GODDARD GV (1967) Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature* **214**: 1020-1021.
- GODDARD GV, MCINTYRE DC, LEECH CK (1969) A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp Neurol* **25**: 295-330.
- GOLARAI G, SUTULA TP (1996) Functional alterations in the dentate gyrus after induction of long-term potentiation, kindling, and mossy fiber sprouting. *J Neurophysiol* **75**: 343-353.
- GRIBKOFF VK, ASHE JH (1984) Modulation by dopamine of population responses and cell membrane properties of hippocampal CA1 neurons in vitro. *Brain Res* **292**: 327-338.
- HAMON B, STANTON PK, HEINEMANN U (1987) An N-methyl-D-aspartate receptor-independent excitatory action of partial reduction of extracellular $[Mg^{2+}]$ in CA1-region of rat hippocampal slices. *Neurosci Lett* **75**: 240-245.
- HAMPSON RE, HEDBERG T, DEADWYLER SA (2000) Differential information processing by hippocampal and subicular neurons. *Ann N Y Acad Sci* **911**: 151-165.
- HAUSER WA (1997) Incidence and prevalence. In: *Epilepsy: A Comprehensive Textbook* (Engel J, Jr., Pedley TA, eds), pp 47-57. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
- HEINEMANN U (1987) Basic mechanisms of the epilepsies. In: *A textbook of clinical neurophysiology* (Halliday AM, Butler SR, Paul R, eds), pp 497-534. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons.
- HEINEMANN U, BECK H, DREIER JP, FICKER E, STABEL J, ZHANG CL (1992) The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity. In: *The dentate gyrus and its role in seizures* (Ribak CE, Gall CM, Mody I, eds), pp 273-280. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV.

- HEINEMANN U, EDER C (1997) Control of neuronal excitability. In: *Epilepsy: A Comprehensive Textbook* (Engel J, Jr., Pedley TA, eds), pp 237-250. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven.
- HEINEMANN U, JONES RSG (1990) Neurophysiology. In: *Comprehensive Epileptology* (Dam M, Gram L, eds), pp 17-42. New York: Raven Press.
- HEINEMANN U, ZHANG CL, EDER C (1993) Entorhinal cortex-hippocampal interactions in normal and epileptic temporal lobe. *Hippocampus* 3 Suppl.: 89-98.
- HERMAN JP, CULLINAN WE, YOUNG EA, AKIL H, WATSON SJ (1992) Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. *Brain Res* **592**: 228-238.
- HOUSER CR, MIYASHIRO JE, SWARTZ BE, WALSH GO, RICH JR, DELGADO-ESCUETA AV (1990) Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. *J Neurosci* **10**: 267-282.
- HSU KS (1996) Characterization of dopamine receptors mediating inhibition of excitatory synaptic transmission in the rat hippocampal slice. *J Neurophysiol* **76**: 1887-1895.
- ISHIZUKA N, WEBER J, AMARAL DG (1990) Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *J Comp Neurol* **295**: 580-623.
- ISOKAWA M, AVANZINI G, FINCH DM, BABB TL, LÉVESQUE MF (1991) Physiologic properties of human dentate granule cells in slices prepared from epileptic patients. *Epilepsy Res* **9**: 242-250.
- ISOKAWA M, LÉVESQUE MF, BABB TL, ENGEL J, JR. (1993) Single mossy fiber axonal systems of human dentate granule cells studied in hippocampal slices from patients with temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* **13**: 1511-1522.
- JAY TM, WITTER MP (1991) Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol* **313**: 574-586.
- JENSEN MS, YAARI Y (1997) Role of intrinsic burst firing, potassium accumulation, and electrical coupling in the elevated potassium model of hippocampal epilepsy. *J Neurophysiol* **77**: 1224-1233.

- JONES RSG, HEINEMANN U (1988) Synaptic and intrinsic responses of medial entorhinal cortical cells in normal and magnesium-free medium in vitro. *J Neurophysiol* **59**: 1476-1497.
- JONES RSG, HEINEMANN U, LAMBERT JDC (1992) The entorhinal cortex and generation of seizures activity: studies of normal synaptic transmission and epileptogenesis in vitro. In: *Neurotransmitters in Epilepsy* (Avanzini G, Engel J, Fariello R, Heinemann U, eds), pp 173-180. Amsterdam: Elsevier.
- JONES RSG, LAMBERT JDC (1990b) Synchronous discharges in the rat entorhinal cortex in vitro: Site of initiation and the role of excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* **34**: 657-670.
- JONES RSG, LAMBERT JDC (1990a) The role of excitatory amino acid receptors in the propagation of epileptiform discharges from the entorhinal cortex to the dentate gyrus in vitro. *Exp Brain Res* **80**: 310-322.
- JUNG HY, STAFF NP, SPRUSTON N (2001) Action potential bursting in subicular pyramidal neurons is driven by a calcium tail current. *J Neurosci* **21**: 3312-3321.
- KAMPHUIS W, DE RIJK TC, TALAMINI LM, LOPES DA SILVA FH (1994) Rat hippocampal kindling induces changes in the glutamate receptor mRNA expression patterns in dentate granule neurons. *Eur J Neurosci* **6**: 1119-1127.
- KAMPHUIS W, GORTER JA, WADMAN WJ, LOPES DA SILVA FH (1992) Hippocampal kindling leads to different changes in paired-pulse depression of local evoked field potentials in CA1 area and in fascia dentata. *Neurosci Lett* **141**: 101-105.
- KAMPHUIS W, HENDRIKSEN H, DIEGENBACH PC, LOPES DA SILVA FH (1995) N-methyl-D-aspartate and kainate receptor gene expression in hippocampal pyramidal and granular neurons in the kindling model of epileptogenesis. *Neuroscience* **67**: 551-559.
- KEBABIAN JW, CALNE DB (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* **277**: 93-96.
- KIM JH, GUIMARAES PO, SHEN MY, MASUKAWA LM, SPENCER DD (1990) Hippocampal neuronal density in temporal lobe epilepsy with and without gliomas. *Acta Neuropathol Berl* **80**: 41-45.
- KÖHLER C (1986) Intrinsic connections of the retrohippocampal region in the rat brain. II. The medial entorhinal area. *J Comp Neurol* **246**: 149-169.

- KÖHLER C (1988) Intrinsic connections of the retrohippocampal region in the rat brain: III. The lateral entorhinal area. *J Comp Neurol* **271**: 208-228.
- KÖHR G, DE KONINCK Y, MODY I (1993) Properties of NMDA receptor channels in neurons acutely isolated from epileptic (kindled) rats. *J Neurosci* **13**: 3612-3627.
- KÖHR G, MODY I (1994) Kindling increases N-methyl-D-aspartate potency at single N-methyl-D-aspartate channels in dentate gyrus granule cells. *Neuroscience* **62**: 975-981.
- LACAILLE J-C, SCHWARTZKROIN PA (1988) Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. I. intracellular response characteristics, synaptic responses, and morphology. *J Neurosci* **8**: 1400-1410.
- LAW-THO D, HIRSCH JC, CREPEL F (1994) Dopamine modulation of synaptic transmission in rat prefrontal cortex: an in vitro electrophysiological study. *Neurosci Res* **21**: 151-160.
- LEHMANN T-N, GABRIEL S, EILERS A, NJUNTING M, KOVACS R, SCHULZE K, LANKSCH WR, HEINEMANN U (2001) Fluorescent tracer in pilocarpine-treated rats shows widespread aberrant hippocampal neuronal activity. *Eur J Neurosci* **14**: 83-95.
- LERMA J, PATERNAIN AV, RODRIGUEZ-MORENO A, LOPEZ-GARCIA JC (2001) Molecular physiology of kainate receptors. *Physiol Rev* **81**: 971-998.
- LEWIS PR, SHUTE CCD (1967) The cholinergic limbic system: projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system, and the subfornical organ and supra-optic crest. *Brain* **90**: 521-540.
- LÉVESQUE MF, NAKASATO N, VINTERS HV, BABB TL (1991) Surgical treatment of limbic epilepsy associated with extrahippocampal lesions: the problem of dual pathology. *J Neurosurg* **75**: 364-370.
- LIEBERMAN DN, MODY I (2000) Properties of single NMDA receptor channels in human dentate gyrus granule cells. *J Physiol (Lond)* **518**: 55-70.
- LINDVALL O, BJORKLUND A (1974) The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta Physiol Scand Suppl* **412**: 1-48.
- LIU G, TSIEN RW (1995) Properties of synaptic transmission at single hippocampal synaptic boutons. *Nature* **375**: 404-408.

- LONGO BM, MELLO LE (1998) Supragranular mossy fiber sprouting is not necessary for spontaneous seizures in the intrahippocampal kainate model of epilepsy in the rat. *Epilepsy Res* **32**: 172-182.
- LONGO BM, MELLO LEAM (1997) Blockade of pilocarpine- or kainate-induced mossy fiber sprouting by cycloheximide does not prevent subsequent epileptogenesis in rats. *Neurosci Lett* **226**: 163-166.
- LOTHMAN EW (1994) Seizure circuits in the hippocampus and associated structures. *Hippocampus* **4**: 286-290.
- LOTHMAN EW, STRINGER JL, BERTRAM EH (1992) The dentate gyrus as a control point for seizures in the hippocampus and beyond. In: *The dentate gyrus and its role in seizures* (Ribak CE, Gall CM, Mody I, eds), pp 273-280. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV.
- LYNCH M, SAYIN U, GOLARAI G, SUTULA T (2000) NMDA receptor-dependent plasticity of granule cell spiking in the dentate gyrus of normal and epileptic rats. *J Neurophysiol* **84**: 2868-2879.
- LYNCH M, SUTULA T (2000) Recurrent excitatory connectivity in the dentate gyrus of kindled and kainic acid-treated rats. *J Neurophysiol* **83**: 693-704.
- MARTRES MP, BOUTHENET ML, SALES N, SOKOLOFF P, SCHWARTZ J-C (1985) Widespread distribution of brain dopamine receptors evidenced with [¹²⁵I]iodosulpride, a highly selective ligand. *Science* **228**: 752-755.
- MASUKAWA LM, URUNO K, SPERLING MR, O'CONNOR MJ, BURDETTE LJ (1992) The functional relationship between antidromically evoked field responses of the dentate gyrus and mossy fiber reorganization in temporal lobe epileptic patients. *Brain Res* **579**: 119-127.
- MATHERN GW, CIFUENTES F, LEITE JP, PRETORIUS JK, BABB TL (1993) Hippocampal EEG excitability and chronic spontaneous seizures are associated with aberrant synaptic reorganization in the rat intrahippocampal kainate model. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **87**: 326-339.
- MATHERN GW, KUPFER WR, PRETORIUS JK, BABB TL, LÉVESQUE MF (1992) Onset and patterns of hippocampal sprouting in the rat kainate seizure model: evidence

- for progressive cell loss and neo- innervation in regio inferior and superior. *Dendron* **1**: 69-84.
- MATTIA D, KAWASAKI H, AVOLI M (1997) Repetitive firing and oscillatory activity of pyramidal-like bursting neurons in the rat subiculum. *Exp Brain Res* **114**: 507-517.
- MCBAIN CJ, MAYER ML (1994) N-methyl-D-aspartic acid receptor structure and function. *Physiol Rev* **74**: 723-760.
- MCNAMARA JO (1994) Cellular and molecular basis of epilepsy. *J Neurosci* **14**: 3413-3425.
- MCNAMARA JO (1995) Analyses of the molecular basis of kindling development. *Psychiatry Clin Neurosci* **49**: S175-S178.
- MCNAMARA RK, ROUTTENBERG A (1995) NMDA receptor blockade prevents kainate induction of protein F1/GAP-43 mRNA in hippocampal granule cells and subsequent mossy fiber sprouting in the rat. *Mol Brain Res* **33**: 22-28.
- MCNAUGHTON BL, BARNES CA, ANDERSEN P (1981) Synaptic efficacy and EPSP summation in granule cells of rat fascia dentata studied in vitro. *J Neurophysiol* **46**: 952-966.
- MEADOR-WOODRUFF JH, GRANDY DK, VAN-TOL HH, DAMASK SP, LITTLE KY, CIVELLI O, WATSON SJ (1994) Dopamine receptor gene expression in the human medial temporal lobe. *Neuropsychopharmacology* **10**: 239-248.
- MISGELD U, BIJAK M, JAROLIMEK W (1995) A physiological role for GABAB receptors and the effects of baclofen in the mammalian central nervous system. *Prog Neurobiol* **46**: 423-462.
- MODY I (1998) Ion channels in epilepsy. *Int Rev Neurobiol* **42**: 199-226.
- MODY I, HEINEMANN U (1987) NMDA receptors of dentate gyrus granule cells participate in synaptic transmission following kindling. *Nature* **326**: 701-704.
- MODY I, LIEBERMAN DN (1998) Lasting prolongation of NMDA channel openings after kindling. In: *Kindling 5* (Corcoran ME, Moshé SL, eds), pp 65-73. New York: Plenum Press.
- MODY I, STANTON PK, HEINEMANN U (1988) Activation of N-methyl-D-aspartate receptors parallels changes in cellular and synaptic properties of dentate gyrus granule cells after kindling. *J Neurophysiol* **59**: 1033-1054.

- MOLNAR P, NADLER JV (1999) Mossy fiber-granule cell synapses in the normal and epileptic rat dentate gyrus studied with minimal laser photostimulation. *J Neurophysiol* **82**: 1883-1894.
- MOMIYAMA T, SIM JA, BROWN DA (1996) Dopamine D1-like receptor-mediated presynaptic inhibition of excitatory transmission onto rat magnocellular basal forebrain neurones. *J Physiol (Lond)* **495**: 97-106.
- MOORE RY, HALARIS AE (1975) Hippocampal innervation by serotonin neurons of the midbrain raphe in the rat. *J Comp Neurol* **164**: 171-183.
- MULLE C, SAILER A, PEREZ-OTANO I, DICKINSON-ANSON H, CASTILLO PE, BUREAU I, MARON C, GAGE FH, MANN JR, BETTLER B, HEINEMANN SF (1998) Altered synaptic physiology and reduced susceptibility to kainate-induced seizures in GluR6-deficient mice. *Nature* **392**: 601-605.
- NADLER JV, PERRY BW, COTMAN CW (1978) Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature* **271**: 676-677.
- NADLER JV, PERRY BW, COTMAN CW (1980) Selective reinnervation of hippocampal area CA1 and the fascia dentata after destruction of CA3-CA4 afferents with kainic acid. *Brain Res* **182**: 1-9.
- NICOLA SM, KOMBIAN SB, MALENKA RC (1996) Psychostimulants depress excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens via presynaptic D1-like dopamine receptors. *J Neurosci* **16**: 1591-1604.
- NUSSER Z, HÁJOS N, SOMOGYI P, MODY I (1998) Increased number of synaptic GABA(A) receptors underlies potentiation at hippocampal inhibitory synapses. *Nature* **395**: 172-177.
- O'MARA SM, COMMINS S, ANDERSON M, GIGG J (2001) The subiculum: a review of form, physiology and function. *Prog Neurobiol* **64**: 129-155.
- OKAZAKI MM, EVENSON DA, NADLER JV (1995) Hippocampal mossy fiber sprouting and synapse formation after status epilepticus in rats: Visualization after retrograde transport of biocytin. *J Comp Neurol* **352**: 515-534.
- OLAFSSON E, HAUSER WA (1999) Prevalence of epilepsy in rural Iceland: a population-based study. *Epilepsia* **40**: 1529-1534.

- OLIVER MW, MILLER JJ (1985) Alterations of inhibitory processes in the dentate gyrus following kindling-induced epilepsy. *Exp Brain Res* **57**: 443-447.
- OTIS TS, DE KONINCK Y, MODY I (1994) Lasting potentiation of inhibition is associated with an increased number of γ -aminobutyric acid type A receptors activated during miniature inhibitory postsynaptic currents. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 7698-7702.
- OTIS TS, MODY I (1993) Three mechanisms for increased GABAergic inhibition after kindling-induced epilepsy. *Soc Neurosci Abstr* **19**: 1267-1267.
- OTMAKHOVA NA, LISMAN JE (1999) Dopamine selectively inhibits the direct cortical pathway to the CA1 hippocampal region. *J Neurosci* **19**: 1437-1445.
- PARÉ D, DECURTIS M, LLINÁS RR (1992) Role of the hippocampal-entorhinal loop in temporal lobe epilepsy: Extra- and intracellular study in the isolated guinea pig brain in vitro. *J Neurosci* **12**: 1867-1881.
- PATRYLO PR, DUDEK FE (1998) Physiological unmasking of new glutamatergic pathways in the dentate gyrus of hippocampal slices from kainate-induced epileptic rats. *J Neurophysiol* **79**: 418-429.
- PENNARTZ CM, DOLLEMAN-VAN DER WEEL MJ, KITAI ST, LOPES DA SILVA FH (1992) Presynaptic dopamine D1 receptors attenuate excitatory and inhibitory limbic inputs to the shell region of the rat nucleus accumbens studied in vitro. *J Neurophysiol* **67**: 1325-1334.
- PITKÄNEN A, TUUNANEN J, HALONEN T (1995) Subiculum, presubiculum and parasubiculum have different sensitivities to seizure-induced neuronal damage in the rat. *Neurosci Lett* **192**: 65-68.
- POLLARD H, HÉRON A, MOREAU J, BEN-ARI Y, KHRESTCHATISKY M (1993) Alterations of the GluR-B AMPA receptor subunit flip/flop expression in kainate-induced epilepsy and ischemia. *Neuroscience* **57**: 545-554.
- PRALONG E, JONES RSG (1993) Interactions of dopamine with glutamate- and GABA-mediated synaptic transmission in the rat entorhinal cortex in vitro. *Eur J Neurosci* **5**: 760-767.
- RACINE R (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **32**: 281-294.

- RIBAK CE, PETERSON GM (1991) Intragranular mossy fibers in rats and gerbils form synapses with the somata and proximal dendrites of basket cells in the dentate gyrus. *Hippocampus* **1**: 355-364.
- RIBAK CE, SERESS L, AMARAL DG (1985) The development, ultrastructure and synaptic connections of the mossy cells of the dentate gyrus. *J Neurocytol* **14**: 835-857.
- RUTECKI PA, GROSSMAN RG, ARMSTRONG D, IRISH-LOEWEN S (1989) Electrophysiological connections between the hippocampus and entorhinal cortex in patients with complex partial seizures. *J Neurosurg* **70**: 667-675.
- RIBAK CE, GALL CM, MODY I (1992) The dentate gyrus and its role in seizures. Amsterdam, London, New York, Tokyo: Elsevier.
- RYAN TA, SMITH SJ (1995) Vesicle pool mobilization during action potential firing at hippocampal synapses. *Neuron* **14**: 983-989.
- SCHARFMAN HE (1996) Hyperexcitability of entorhinal cortex and hippocampus after application of aminooxyacetic acid (AOAA) to layer III of the rat medial entorhinal cortex in vitro. *J Neurophysiol* **76**: 2986-3001.
- SCHMITZ D, GLOVELI T, BEHR J, DUGLADZE T, HEINEMANN U (1998) Subthreshold membrane potential oscillations in neurones of deep layers of the entorhinal cortex. *Neuroscience* **85**: 999-1004.
- SCHWARTZKROIN PA (1993) *Epilepsy: models, mechanisms, and concepts*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- SCHWEITZER JS, PATRYLO PR, DUDEK FE (1992) Prolonged field bursts in the dentate gyrus: Dependence on low calcium, high potassium, and nonsynaptic mechanisms. *J Neurophysiol* **68**: 2016-2025.
- SERESS L, RIBAK CE (1983) GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Exp Brain Res* **50**: 173-182.
- SHIN C, PEDERSEN HB, MCNAMARA JO (1985) gamma-aminobutyric acid and benzodiazepine receptors in the kindling model of epilepsy: a quantitative radiohistochemical study. *J Neurosci* **5**: 2696-2701.
- SILVER RA, MOMIYAMA A, CULL-CANDY SG (1998) Locus of frequency-dependent depression identified with multiple-probability fluctuation analysis at rat climbing fibre-Purkinje cell synapses. *J Physiol (Lond)* **510**: 881-902.

- SLOVITER RS (1992) Possible functional consequences of synaptic reorganization in the dentate gyrus of kainate-treated rats. *Neurosci Lett* **137**: 91-96.
- SLOVITER RS (1994) On the relationship between neuropathology and pathophysiology in the epileptic hippocampus of humans and experimental animals. *Hippocampus* **4**: 250-253.
- SPENCER DD (1994) Classifying the epilepsies by substrate. *Clin Neurosci* **2**: 104-109.
- SPENCER DD, SPENCER SS (1994) Hippocampal resections and the use of human tissue in defining temporal lobe epilepsy syndromes. *Hippocampus* **4**: 243-249.
- SPERK G (1994) Kainic acid seizures in the rat. *Prog Neurobiol* **42**: 1-32.
- SPRENGEL R, SUCHANEK B, AMICO C, BRUSA R, BURNASHEV N, ROZOV A, HVALBY O, JENSEN V, PAULSEN O, ANDERSEN P, KIM JJ, THOMPSON RF, SUN W, WEBSTER LC, GRANT SGN, EILERS J, KONNERTH A, LI J, MCNAMARA JO, SEEBURG PH (1998) Importance of the intracellular domain of NR2 subunits for NMDA receptor function in vivo. *Cell* **92**: 279-289.
- STANTON PK, JONES RSG, MODY I, HEINEMANN U (1987) Epileptiform activity induced by lowering extracellular [Mg²⁺] in combined hippocampal-entorhinal cortex slices: modulation by receptors for norepinephrine and N-methyl-D-aspartate. *Epilepsy Res* **1**: 53-62.
- STARR MS (1996) The role of dopamine in epilepsy. *Synapse* **22**: 159-194.
- STENKAMP K, HEINEMANN U, SCHMITZ D (1998) Dopamine suppresses stimulus-induced field potentials in layer III of rat medial entorhinal cortex. *Neurosci Lett* **255**: 119-121.
- SURMEIER DJ, BARGAS J, HEMMINGS HC, JR., NAIRN AC, GREENGARD P (1995) Modulation of calcium currents by a D1 dopaminergic protein kinase/phosphatase cascade in rat neostriatal neurons. *Neuron* **14**: 385-397.
- SUTULA T, KOCH J, GOLARAI G, WATANABE Y, MCNAMARA JO (1996) NMDA receptor dependence of kindling and mossy fiber sprouting: Evidence that the NMDA receptor regulates patterning of hippocampal circuits in the adult brain. *J Neurosci* **16**: 7398-7406.

- SUTULA TP, CASCINO G, CAVAZOS JE, PARADA I, RAMIREZ L (1989) Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. *Ann Neurol* **26**: 321-330.
- SUZUKI WA (1999) The long and the short of it: memory signals in the medial temporal lobe. *Neuron* **24**: 295-298.
- TAMAMAKI N, NOJYO Y (1995) Preservation of topography in the connections between the subiculum, field CA1, and the entorhinal cortex in rats. *J Comp Neurol* **353**: 379-390.
- TAUCK DL, NADLER JV (1985) Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *J Neurosci* **5**, No.4: 1016-1022.
- TITULAER MNG, GHIJSEN WEJM, KAMPHUIS W, DE RIJK TC, LOPES DA SILVA FH (1995) Opposite changes in GABAA receptor function in the CA1- 3 area and fascia dentata of kindled rat hippocampus. *J Neurochem* **64**: 2615-2621.
- TONG G, SHEPHERD D, JAHR CE (1995) Synaptic desensitization of NMDA receptors by calcineurin. *Science* **267**: 1510-1512.
- TUFF LP, RACINE RJ, ADAMEC R (1983a) The effects of kindling on GABA-mediated inhibition in the dentate gyrus of the rat - I. paired-pulse depression. *Brain Res* **277**: 79-90.
- TUFF LP, RACINE RJ, MISHRA RK (1983b) The effects of kindling on GABA-mediated inhibition in the dentate gyrus of the rat - II. receptor binding. *Brain Res* **277**: 91-98.
- VALDES F, DASHEIFF RM, BIRMINGHAM F, CRUTCHER KA, MCNAMARA JO (1982) Benzodiazepine receptor increases after repeated seizures: evidence for localization to dentate granule cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **79**: 193-197.
- VAN GROEN T, LOPES DA SILVA FH, WADMAN WJ (1987) Synaptic organization of olfactory inputs and local circuits in the entorhinal cortex: a current source density analysis in the cat. *Exp Brain Res* **67**: 615-622.
- VERNEY C, BAULAC M, BERGER B, ALVAREZ C, VIGNY A, HELLE KB (1985) Morphological evidence for a dopaminergic terminal field in the hippocampal formation of young and adult rat. *Neuroscience* **14**: 1039-1052.
- VISSEL B, ROYLE GA, CHRISTIE BR, SCHIFFER HH, GHETTI A, TRITTO T, PEREZ-OTANO I, RADCLIFFE RA, SEAMANS J, SEJNOWSKI T, WEHNER JM,

- COLLINS AC, O'GORMAN S, HEINEMANN SF (2001) The role of RNA editing of kainate receptors in synaptic plasticity and seizures. *Neuron* **29**: 217-227.
- WALTHER H, LAMBERT JDC, JONES RSG, HEINEMANN U, HAMON B (1986) Epileptiform activity in combined slices of the hippocampus, subiculum and entorhinal cortex during perfusion with low magnesium medium. *Neurosci Lett* **69**: 156-161.
- WHITE TD, TAN AM, FINCH DM (1990) Functional reciprocal connections of the rat entorhinal cortex and subicular complex with the medial frontal cortex: An in vivo intracellular study. *Brain Res* **533**: 95-106.
- WIESER H-G, ENGEL J, JR., WILLIAMSON PD, BABB TL, GLOOR P (1993) Surgically remediable temporal lobe syndrome. In: *Surgical Treatment of the Epilepsies, Second Edition* (Engel J, Jr., ed), pp 49-63. New York: Raven Press.
- WILLIAMS GV, GOLDMAN-RAKIC PS (1995) Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature* **376**: 572-575.
- WILSON CL, ISOKAWA M, BABB TL, CRANDALL PH (1990) Functional connections in the human temporal lobe I. Analysis of limbic system pathways using neuronal responses evoked by electrical stimulation. *Exp Brain Res* **82**: 279-292.
- WISDEN W, SEEBURG PH (1993) A complex mosaic of high-affinity kainate receptors in rat brain. *J Neurosci* **13**: 3582-3598.
- WITTER MP (1993) Organization of the entorhinal-hippocampal system: A review of current anatomical data. *Hippocampus* 3 Suppl.: 33-44.
- WITTER MP, GROENEWEGEN HJ, DA SILVA FHL, LOHMAN AHM (1989) Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog Neurobiol* **33**: 161-253.
- WOZNY, C., HEINEMANN, U., AND BEHR, J. Cell-specific synaptic plasticity in the rat subiculum in vitro. *Proceedings of the 28th Göttingen Neurobiology Conference 2001*, 630. 2001.
- WUARIN J-P, DUDEK FE (1996) Electrographic seizures and new recurrent excitatory circuits in the dentate gyrus of hippocampal slices from kainate- treated epileptic rats. *J Neurosci* **16**: 4438-4448.

- WYSS JM (1981) An autoradiographic study of the efferent connections of the entorhinal cortex in the rat. *J Comp Neurol* **199**: 495-512.
- WYSS JM, SWANSON LW, COWAN WM (1979) A study of subcortical afferents to the hippocampal formation in the rat. *Neuroscience* **4**: 463-476.
- ZHANG CL, DREIER JP, HEINEMANN U (1995) Paroxysmal epileptiform discharges in temporal lobe slices after prolonged exposure to low magnesium are resistant to clinically used anticonvulsants. *Epilepsy Res* **20**: 105-111.
- ZUCKER RS (1989) Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* **12**: 13-31.

6. Eigene Veröffentlichungen im Original

- Ref. 1 Behr, J., Gloveli, T., Gutiérrez, R., and Heinemann, U. Spread of low Mg^{2+} -induced epileptiform activity from the rat entorhinal cortex to the hippocampus after kindling studied in vitro. *Neurosci. Lett.* 216: 41-44, 1996a.
- Ref. 2 Behr, J., Lyson, K. J., and Mody, I. Enhanced propagation of epileptiform activity through the kindled dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* 79: 1726-1732, 1998a.
- Ref. 3 Behr, J., Heinemann, U., and Mody, I. Kindling induces transient NMDA receptor-mediated facilitation of high frequency input in the rat dentate gyrus. *J. Neurophysiol.*, 85(5): 2195-202, 2001.
- Ref. 4 Behr, J., Gebhardt, C., Heinemann, U., and Mody, I. Kindling enhances kainate receptor-mediated depression of GABAergic inhibition in rat granule cells, *Eur. J. Neurosci.*, submitted.
- Ref. 5 Behr, J., Empson, R. M., Schmitz, D., Gloveli, T., and Heinemann, U. Electrophysiological properties of rat subicular neurons in vitro. *Neurosci. Lett.* 220: 41-44, 1996b.
- Ref. 6 Behr, J. and Heinemann, U. Low Mg^{2+} -induced epileptiform activity in the subiculum before and after disconnection from rat hippocampal and entorhinal cortex slices. *Neurosci. Lett.* 205: 25-28, 1996c.
- Ref. 7 Behr, J., Gloveli, T., and Heinemann, U. Kindling induces a transient suppression of afterhyperpolarization in rat subicular neurons. *Brain Res.*, 867:259-64, 2000a.
- Ref. 8 Behr, J., Gloveli, T., and Heinemann, U. The perforant path projection from the medial entorhinal cortex layer III to the subiculum in the rat combined hippocampal-entorhinal cortex slice. *Eur. J. Neurosci.* 10: 1011-1018, 1998b.
- Ref. 9 Gloveli, T., Behr, J., Dugladze, T., Kokaia, Z., Kokaia, M., and Heinemann, U. Kindling alters entorhinal cortex-hippocampal interaction by increased efficacy of presynaptic GABAB autoreceptors in layer III of the entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.*, submitted.
- Ref. 10 Behr, J., Gloveli, T., Schmitz, D., and Heinemann, U. Dopamine depresses excitatory synaptic transmission onto rat subicular neurons via presynaptic D1-like dopamine receptors. *J. Neurophysiol.*, 84(1):112-119, 2000b.
- Ref. 11 Behr, J., Gloveli, T., Schmitz, D., and Heinemann, U. Dopamine depresses polysynaptic inhibition in rat subicular neurons. *Brain Res.*, 861:160-164, 2000c.