

Oscar Langendorff Institut für Physiologie
der medizinischen Fakultät
der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. R. Köhling

Epilepsie, Lernen und Gedächtnis:

Modulierende Effekte komplex-partieller epileptischer Anfälle auf die
synaptische Plastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Volkmann, Claas-Edzard

Rostock 2011

Ort und Tag der Verteidigung: Rostock, den 29.05.2012

Dekan: Prof. Dr. E. C. Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. R. Köhling, Universität Rostock, Institut f. Physiologie
2. Gutachter: Prof. Dr. A. Draguhn, Universität Heidelberg, Institut f. Physiologie
3. Gutachter: Prof. Dr. Dr. J. Thome, Universität Rostock, Klinik f. Psychiatrie

Inhalt

	Abkürzungsverzeichnis.....	vi
1	Einleitung.....	1
1.1	Vorwort.....	1
1.2	Lernen und Gedächtnis.....	1
1.3	Eigenschaften der LTP in der CA1-Region des Hippocampus.....	4
1.4	Mechanismen der LTP in der CA1-Region des Hippocampus.....	4
1.5	Molekulare Basis des Langzeitgedächtnisses.....	5
1.6	LTD in der CA1-Region des Hippocampus.....	6
1.7	LTP und Lernen.....	7
1.8	Das Striatum.....	9
1.8.1	Zelluläre Organisation.....	9
1.8.2	Regionen.....	12
1.9	Synaptische Langzeitplastizität.....	13
1.9.1	Mechanismen der LTP an der cortikostriatalen Synapse.....	13
1.9.2	Mechanismen der LTD an der cortikostriatalen Synapse.....	16
1.10	Synaptische Kurzzeitplastizität.....	18
1.11	Die Basalganglien.....	19
1.12	Epilepsie als neurologische Erkrankung des Menschen.....	22
1.12.1	Die Temporallappenepilepsie.....	23
1.13	Fragestellung.....	23
2	Material und Methoden.....	25
2.1	Material.....	25
2.2	Methoden.....	28
2.2.1	Pilocarpinbehandlung.....	28
2.2.2	Untersuchungsgruppen.....	29

2.2.3	Anfertigung der Hirnschnitte	29
2.2.4	Herstellung der Ableitelektrode	30
2.2.5	Herstellung der Stimulationselektrode	30
2.2.6	Versuchsaufbau	31
2.2.7	Elektrophysiologische Messung	32
2.2.8	Durchführung der Experimente	33
2.2.9	Stimulationsprotokolle	33
2.2.10	Auswertung der Versuchsergebnisse	34
2.2.11	Das Pilocarpinmodell der Temporallappenepilepsie	35
2.2.11.1	Pathophysiologische Aspekte	35
2.2.11.2	Sonstiges	35
3	Ergebnisse	37
3.1	Synaptische Kurzzeitplastizität	37
3.2	Synaptische Langzeitplastizität	38
3.2.1	Protokoll 1	39
3.2.1.1	Latenzzeit	39
3.2.1.2	Chronische Phase	40
3.2.2	Protokoll 2	42
3.2.2.1	Latenzzeit	42
3.2.2.2	Chronische Phase	44
3.2.3	Protokoll 3	45
3.2.3.1	Latenzzeit	45
3.2.3.2	Chronische Phase	47
3.3	Weitere statistische Analysen und abschließende Bemerkung	49
4	Diskussion	51
5	Zusammenfassung	57
6	Anhang	ix

6.1	Abbildungsverzeichnis	ix
6.2	Tabellenverzeichnis	x
6.3	Literaturverzeichnis.....	xi
7	Lebenslauf	xxvi
8	Danksagung.....	xxviii

Abkürzungsverzeichnis

A2A	Adenosinrezeptor 2A
Abb.	Abbildung
ACSF	Artificial Cerebrospinal Fluid
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
bzw.	beziehungsweise
CA	Cornu ammonis
Ca ²⁺	Calcium
CaCl ₂	Calciumchlorid
CaMKII	Ca ²⁺ /Calmodulin-abhängige Proteinkinase II
chr.	Chronische Phase
Cl ⁻	Chlorid
CREB	cAMP response element-binding protein
D/DA	Dopamin
d.h.	das heißt
D-AP5	D-2-Amino-5-Phosphonopentansäure
EPI	pilocarpinbehandelte Gruppe
EPSP	Exzitatorisches Postsynaptische Potential
fEPSP	Exzitatorisches Postsynaptisches Feldpotential
FS	fast-spiking
GABA	Gammaaminobuttersäure
ggf.	gegebenenfalls
GP _e	Globus pallidus externus
GP _i	Globus pallidus internus
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
HCl	Salzsäure

HZ	Hertz
IP ₃	Inositoltriphosphat
IPHYS	Institut für Physiologie der Universität Rostock
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KTR	Kontrollgruppe
lat.	Latenzzeit
l	Liter
LTD	Langzeitdepression
LTP	Langzeitpotenzierung
LTS	low-threshold-spiking
M	Molare Masse
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mGluR	metabotrope Glutamatrezeptoren
M	Muskarin
m	Meter
min.	Minute
MSN	striatales Projektionsneuron (engl.: medium spiny neuron)
n	Anzahl
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NaOH	Natriumhydroxid
Ncl.	Nukleus
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat

NO	Stickstoffmonoxid
Ω	Ohm
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PP1	Proteinphosphatase 1
s	Sekunde
SE	Status epilepticus
S.E.M.	Standardfehler in Bezug auf den Mittelwert
Sn _c	Substantia nigra, Pars compacta
Sn _r	Substantia nigra, Pars reticulata
SP	Substanz-P
STN	Nucleus subthalamicus
TLE	Temporallappenepilepsie
u.a.	unter anderem
V	Volt
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Vorwort

Die im Nachfolgenden beschriebenen Untersuchungen wurden durchgeführt, um die modulierenden Effekte, die die im Zuge epileptischer Anfälle auftretende, stark erhöhte, synchrone neuronale Aktivität auf die plastischen Prozesse an der corticostriatalen Synapse ausübt, qualitativ und quantitativ zu erfassen. Die aktivitätsinduzierten Veränderungen der Signalübertragung in diesem Bereich des Endhirns werden mit spezifischen Lern- und Gedächtnisleistungen in Verbindung gebracht. Unter einer Epilepsie versteht man eine paroxysmale Funktionsstörung des Gehirns infolge exzessiver Entladung von Neuronen, unter Lernen einen auf Erfahrung basierenden Prozess, der zur Vermehrung individuellen Wissens sowie individueller Fähigkeiten führt und mit positiven oder negativen Verhaltensänderungen einhergehen kann. Beim Gedächtnis handelt es sich um die Fähigkeit Erlerntes zu erinnern (Pschyrembel Klinisches Wörterbuch, 259. Aufl., 2002).

1.2 Lernen und Gedächtnis

In einem 1949 publizierten Aufsatz „The Organization of Behavior“ präsentierte Donald Hebb (Hebb, 1949) ein Modell zur Erklärung menschlicher Lern- und Gedächtnisprozesse.

Er postulierte zunächst, dass die neuronale Repräsentation eines über die Sinne wahrgenommenen Objektes aus all den cortikalen Neuronen bestünde, die durch den äußeren Reiz aktiviert werden. Diese Gruppe gleichzeitig aktiver Neurone bezeichnete er als Neuronenverband (engl. cell assembly). Von diesem Neuronenverband nahm Hebb an, dass alle ihn konstituierenden Zellen reziprok miteinander verschaltet seien. Hebb vertrat die Auffassung, dass die kreisende Aktivität innerhalb des Neuronenverbandes für das Kurzzeitgedächtnis verantwortlich sei. Die neuronale Repräsentation des Objektes, so seine Vorstellung, würde solange im Kurzzeitgedächtnis erhalten bleiben wie die Aktivität durch die miteinander verschalteten Zellen des Neuronenverbandes zirkuliert. Weiterhin stellte er die Hypothese auf, dass es, sofern die Aktivierung des Neuronenverbandes nur lang genug andauere, zu

einer Konsolidierung durch „Wachstumsprozesse“ komme, durch die die reziproken Verschaltungen effektiver würden.

Wenn nun zu einem späteren Zeitpunkt einige wenige Zellen dieses Neuronenverbandes wieder aktiviert würden, bewirkten die verstärkten reziproken Verschaltungen, dass der gesamte Verband wieder aktiv würde und so die neuronale Repräsentation des äußeren Reizes als ganze wieder abgerufen oder erinnert werden könne. In der Konsolidierung der Verschaltungen des Neuronenverbandes vermutete er die Grundlage des Langzeitgedächtnisses.

Hebbs Modell zur Erklärung von Lern- und Gedächtnisvorgängen erwies sich als äußerst fruchtbar und inspirierte andere Forscher, Experimente durchzuführen, die seine Vorhersagen in wesentlichen Punkten zu bestätigen scheinen.

Als Ort der von Hebb postulierten „Wachstumsprozesse“ identifizierte man die Synapsen über die die einzelnen Zellen des Neuronenverbandes miteinander verknüpft sind. Zuerst an den in den Abdominalganglien befindlichen Synapsen der Meereshelme *Aplysia* (Kandel, et al., 1965), später auch an den Synapsen zwischen Tractus perforans und den Körnerzellen des Gyrus dentatus im Hippocampus von Kaninchen (Bliss, et al., 1973), konnten aktivitätsinduzierte Veränderungen der synaptischen Übertragung beobachtet werden. Die von Timothy Bliss und Terje Lømo 1973 beschriebene dauerhafte Verstärkung der synaptischen Signalübertragung als Antwort auf eine kurze hochfrequente elektrische Stimulation der präsynaptischen Axone ist heute unter der Bezeichnung Langzeitpotenzierung (LTP, Long-Term Potentiation) bekannt. Eine Ergänzung fand die von Hebb 1949 aufgestellte Theorie zur Erklärung von Lern- und Gedächtnisprozessen auf neuronaler Ebene durch eine 1982 veröffentlichte Arbeit von Elie Bienenstock, Leon Cooper und Paul Munro. Die nach ihren Autoren benannte BCM-Theorie erweiterte Hebbs Ansatz zur Erklärung bidirektionaler Veränderungen der synaptischen Effizienz (Bienenstock, et al., 1982). Während Hebbs Theorie besagte, dass es an einer Synapse zur Verstärkung (= Potenzierung) ihrer Effizienz kommt, wenn ihre Aktivität mit der starken Aktivierung des postsynaptischen Neurons durch weitere sich aufsummierende Eingänge zusammenfällt, so besagt die BCM-

Theorie, dass Synapsen, die aktiv sind, während die postsynaptische Nervenzelle durch andere Eingänge nur schwach aktiviert wird, an Effizienz verlieren.

Durch diese neue Theorie angeregt, wurden Untersuchungen unter Verwendung von Reizen durchgeführt, die lediglich eine schwache postsynaptische Reaktion erwarten ließen. Wie sich im weiteren Verlauf zeigte ließ sich durch eine langanhaltende tetanische Reizung der Schaffer-Kollateralen mit niedrigen Frequenzen (1-5Hz) eine Reduktion der synaptischen Effizienz an den Synapsen zwischen Schaffer-Kollateralen und den Pyramidenzellen der CA1-Region des Hippocampus, seitdem bekannt als Long-Term Depression (LTD), hervorrufen (Dudeck, et al., 1992). Zusammen bilden Langzeitpotenzierung und Langzeitdepression seither das am besten untersuchte Modell für Lern- und Gedächtnisprozesse im Gehirn von Säugetieren (Malenka, et al., 2004).

Der überwiegende Teil der Experimente zu den Mechanismen von LTP und LTD wurde bisher in Hirnschnittpräparaten durchgeführt (Skrede, et al., 1971). Bei diesen handelt es sich um 400-500µm dicke Schnitte, die über Stunden in einer künstlichen, sauerstoffgesättigten Nährlösung am Leben gehalten werden können. Sie dienen als Untersuchungsobjekt für Experimente, in denen präsynaptische Axone mit extrazellulären Elektroden hoch- bzw. niederfrequent gereizt und exzitatorische postsynaptische Potentiale (EPSP) von postsynaptischen Neuronen abgeleitet werden. Die Versuchsanordnung bedingt stabile Ableitungsbedingungen und ermöglicht es, während der Experimente, verschiedene pharmakologisch wirksame Substanzen ein und auszuwaschen.

Auch wenn die LTP für Säugetiere zum ersten Mal an den Synapsen des Tractus perforans mit den Neuronen des Gyrus dentatus nachgewiesen wurde, werden heute die meisten Experimente zu LTP und LTD an den Synapsen der Schaffer-Kollateralen mit den Pyramidenzellen der CA1-Region des Hippocampus durchgeführt. Da die Eigenschaften und Mechanismen von LTP und LTD an dieser Synapse zum heutigen Zeitpunkt am besten verstanden sind, soll im Folgenden kurz auf sie eingegangen werden.

1.3 Eigenschaften der LTP in der CA1-Region des Hippocampus

Abgesehen von ihrer Langlebigkeit (Bliss, et al., 1973) besitzt die LTP noch andere Eigenschaften, die sie zu einem interessanten Erklärungsmodell für die Informationsspeicherung im menschlichen Gehirn macht und die lange vor ihrer Entdeckung ebenfalls von Donald Hebb (Hebb, 1949) vorhergesagt wurden. Zum einen ist LTP ein eingangsspezifischer Prozess, d.h., dass eine einzelne Synapse verstärkt werden kann, ohne dass sich die Signalübertragung in benachbarten Synapsen ändert (Barrinuevo, et al., 1983). Da jedes Neuron des Cortex über viele tausend Synapsen mit anderen Neuronen in Verbindung steht, ist die Eingangsspezifität von LTP eine Eigenschaft, die die Fähigkeit des Gehirns Informationen zu speichern erheblich erweitert. Ein weiteres wichtiges Charakteristikum von LTP bezeichnet man als deren Assoziativität. Unter Assoziativität versteht man den Umstand, dass ein schwacher Reiz, der selber nicht ausreichen würde, eine LTP zu induzieren, durch einen weiteren stärkeren Reiz potenziert wird (Levy, et al., 1979). Diese Eigenschaft ist in Bezug auf Gedächtnisprozesse vor allem insofern interessant, als dass sie die Möglichkeit bietet, unterschiedliche Aspekte von über die Sinne wahrgenommenen Objekten oder Vorgängen miteinander zu verknüpfen. Dies ist ein entscheidendes Merkmal von Lernprozessen wie der klassischen oder der operanten Konditionierung sowie weiteren höheren kognitiven Leistungen.

1.4 Mechanismen der LTP in der CA1-Region des Hippocampus

Die exzitatorische synaptische Übertragung zwischen Schaffer-Kollateralen und den Pyramidenzellen der CA1 Region wird durch Glutamat-Rezeptoren vom AMPA-Typ vermittelt. Nach Bindung von Glutamat öffnet sich der rezeptorgekoppelte Ionenkanal, Na^+ strömt in die postsynaptische Zelle und ein EPSP entsteht. Neben den AMPA-Rezeptoren exprimieren CA1-Neurone auch postsynaptische NMDA-Rezeptoren. Diese Rezeptoren verfügen über die wichtige Eigenschaft, für Ca^{2+} -Ionen permeabel zu sein, dies allerdings nur, wenn Glutamat an sie bindet und die postsynaptische Membran soweit depolarisiert ist, dass das Mg^{2+} -Ion, das den Kanal unter Ruhebedingungen blockiert, ausgestoßen wird (Nowak, et al., 1984). Der Einstrom von Ca^{2+} durch den NMDA-Rezeptor signalisiert also spezifisch, dass sowohl das präsynaptische als auch das postsynaptische Neuron gleichzeitig aktiv sind; er

wirkt also als Koinzidenzdetektor prä- und postsynaptischer Aktivität (Collingridge, et al., 1983). Wie sich gezeigt hat, ist der Anstieg der postsynaptischen Ca^{2+} -Konzentration der für die Induktion von LTP wesentliche Schritt (Malenka, et al., 1988). Die Blockade von NMDA-Rezeptoren oder die Bindung des postsynaptischen Ca^{2+} durch Chelatbildner blockiert die LTP-Induktion (Morris, et al., 1986; Lynch, et al., 1983). Im weiteren Verlauf kommt es durch den Anstieg des intrazellulären Ca^{2+} zu einer Aktivierung zweier Proteinkinasen, der Proteinkinase C und der Calcium-Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II (CaMKII) (Lisman, et al., 2002). Die pharmakologische Hemmung einer der beiden Kinasen blockiert die Expression der LTP. Zu den molekularen Ereignissen, die zu einer Potenzierung der Synapse führen, gehört die Phosphorylierung der AMPA-Rezeptoren durch eine der beiden Kinasen. Durch diese Modifikation wird die Ionenleitfähigkeit des Kanals erhöht, was nach Bindung von Glutamat zu einem verstärkten Na^+ -Einstrom in die postsynaptische Zelle führt und diese entsprechend stärker depolarisiert (Derkach, et al., 1999). Parallel dazu kommt es zu einer Einlagerung zusätzlicher AMPA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran (Bredt, et al., 2003). Man nimmt heute an, dass diese zusätzlichen Rezeptoren in den Membranen postsynaptisch bereitstehender Vesikel zwischengelagert werden und bei Bedarf, d.h. nach Aktivierung der CaMKII, in die postsynaptische Membran eingefügt werden können.

1.5 Molekulare Basis des Langzeitgedächtnisses

Die für die LTP in der CA1-Region des Hippocampus beschriebenen Mechanismen bilden die Basis des Kurzzeitgedächtnisses und stellen den Anfang einer Kette molekularer Prozesse dar, die für die Konsolidierung von Gedächtnisinhalten verantwortlich ist. Als Mechanismus für das Langzeitgedächtnis erscheint die Phosphorylierung von Proteinen alleine jedoch kaum vorstellbar. Zum einen beträgt die Lebensdauer der meisten Proteine im Gehirn weniger als zwei Wochen. Nach Ablauf dieser Zeit werden sie durch neu gebildete ersetzt. Zum anderen ist die Phosphorylierung eines Proteins auch nicht von Dauer, d.h. die Phosphatgruppen werden irgendwann wieder abgespalten. Daher war es ein wesentlicher Fortschritt, zeigen zu können, dass es sich bei der CaMKII um eine Proteinkinase handelt, die auch

nach Abklingen des anfänglichen Ca^{2+} -Signals durch Autophosphorylierung dauerhaft aktiv bleiben kann. Sie ist dadurch in der Lage, die während der Frühphase der LTP abgelaufene Phosphorylierung von postsynaptischen AMPA-Rezeptoren über längere Zeiträume aufrecht zu erhalten (Miller, et al., 1986; Lisman, et al., 2002). Darüber hinaus erscheint es heute als erwiesen, dass dem Langzeitgedächtnis aktivitätsinduzierte Veränderungen der Genregulation bzw. der Proteinsynthese zugrunde liegen. Zunächst an der Taufliege *Drosophila melanogaster*, später auch an der Meerschnecke *Aplysia* sowie an Mäusen konnte mit dem cyclic AMP response element binding protein (CREB) ein Transkriptionsfaktor identifiziert werden, der die Transkription von für die Synapsenneubildung wichtigen Genen reguliert und einen wesentlichen Einfluss auf die Konsolidierung von Gedächtnisspuren ausübt (Bailey, et al., 1993; Yin, et al., 1996).

1.6 LTD in der CA1-Region des Hippocampus

Erstaunlicherweise wird die LTD in der CA1-Region des Hippocampus genauso wie die LTP in dieser Region durch einen NMDA-Rezeptor gesteuerten Einstrom von Ca^{2+} -Ionen in die postsynaptische Zelle vermittelt (Mulkey, et al., 1992). Die Blockade des NMDA-Rezeptors mit entsprechenden Antagonisten oder die Pufferung des Anstiegs der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration verhindert die Induktion einer LTD (Mulkey, et al., 1992; Dudeck, et al., 1992). Welche Form der Langzeitplastizität durch den Ca^{2+} -Einstrom induziert wird hängt so nimmt man an entscheidend von der Stärke des Ca^{2+} -Signals und damit von der Stärke der NMDA-Rezeptor-Aktivierung ab. Wird das postsynaptische Neuron nur schwach aktiviert, führt die weitgehende Blockade der NMDA-Rezeptoren durch Mg^{2+} -Ionen dazu, dass nur sehr geringe Mengen an Ca^{2+} -Ionen in die Zelle strömen. Dieser relativ geringe Anstieg der postsynaptischen Ca^{2+} -Konzentration führt zu einer selektiven Aktivierung von Enzymsystemen, die für die Expression der LTD von entscheidender Bedeutung sind. Anstelle von Kinasen, die durch eine starke Zunahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration aktiviert werden, führt die schwache Zunahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration zu einer Aktivierung von Proteinphosphatasen wie Calcineurin oder der Proteinphosphatase 1 (PP1) (Mulkey, et al., 1993; Kameyama, et al., 1998). Phosphatasen sind Enzyme, die

Phosphatgruppen von Proteinen abspalten. Während für eine LTP also verschiedene Proteine phosphoryliert werden, kommt es im Rahmen einer LTD zu einer Dephosphorylierung von Proteinen wie zum Beispiel dem AMPA-Rezeptor oder der CaMKII (Lee, et al., 2000; Banke, et al., 2000). Darüber hinaus lässt sich zeigen, dass die Expression von LTD im Hippocampus mit einer Internalisierung von AMPA-Rezeptoren aus der postsynaptischen Membran einhergeht (Beattie, et al., 2000; Lee, et al., 2002). LTP und LTD in der CA1-Region des Hippocampus stellen folglich einen in zwei Richtungen verlaufenden Prozess von Phosphorylierung und Regulation der Zahl postsynaptischer AMPA-Rezeptoren dar.

Während die LTP über die Verstärkung synaptischer Verbindungen für die Speicherung neuer Informationen zuständig zu sein scheint, nimmt man an, dass der LTD eher eine homöostatische Funktion zukommt, indem sie verhindert, dass einzelne Synapsen infolge von Lernprozessen saturieren. Alternativ könnte die LTD aber auch einen Lernprozess an sich darstellen oder dem Vergessen von Erlerntem dienen.

1.7 LTP und Lernen

Die Hypothese, dass Lern- und Gedächtnisprozesse auf plastischen Veränderungen im Bereich einzelner Synapsen beruhen, lässt sich nicht direkt beweisen. Vieles deutet jedoch darauf hin, dass die molekularen Mechanismen die der LTP sowie Lern- und Gedächtnisprozessen zugrunde liegen, dieselben sind. So lässt sich zeigen, dass Tiere, die mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten D-2-Amino-5-Phosphonopentansäure (D-AP5) behandelt werden, in bestimmten Lern- und Gedächtnistests signifikant schlechter abschneiden als die Tiere einer Kontrollgruppe. Parallel dazu verhindert die im Rahmen elektrophysiologischer Experimente in vitro durchgeführte Applikation von AP5 die Induktion von LTP im Hippocampus (Morris, et al., 1986). Untersuchungen an Knockout-Mäusen, bei denen das Gen für die Bildung der NR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors selektiv für den Bereich des Hippocampus abgeschaltet wurde, und die infolge dieses Defektes nicht in der Lage waren, funktionierende NMDA-Rezeptoren zu bilden, führten zu ähnlichen Ergebnissen. In der CA1-Region des Hippocampus dieser Tiere ließ sich keine LTP induzieren, darüber hinaus ließen sich spezifische für eine hippocampale Dysfunktion sprechende

Defizite im Bereich des räumlichen Lernens und Gedächtnisses nachweisen (Tsien, et al., 1996). Korrelationen wie diese lassen vermuten, dass die NMDA-Rezeptor-vermittelte LTP von grundlegender Bedeutung für hippocampusbasierte Lern- und Gedächtnisleistungen ist. Ein weiteres Indiz für eine kausale Beziehung zwischen den beschriebenen molekularen Mechanismen synaptischer Plastizität und Lern- und Gedächtnisprozessen liefern Untersuchungen, die sich auf die intrazellulären Signalkaskaden konzentrieren. So ließ sich zeigen, dass Mäuse deren die CaMKII kodierendes Gen durch eine Punktmutation so verändert wurde, dass das Enzym seine Fähigkeit zur Autophosphorylierung verliert, tiefgreifende Defizite in Bezug auf hippocampusabhängige Lern- und Gedächtnisleistungen zeigen. Darüber hinaus ließ sich bei diesen Tieren unter Standardbedingungen keine LTP in der CA1-Region des Hippocampus induzieren (Giese, et al., 1998). Ähnliches ergaben Untersuchungen an Mäusen mit einem funktionsuntüchtigen CREB-Gen sowie Untersuchungen an transgenen Mäusen, die neben einem intakten CREB-Protein einen CREB-Repressor exprimieren. Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei CREB um einen Transkriptionsfaktor, der die Expression einer Reihe an Lern- und Gedächtnisprozessen beteiligter Proteine (u.a. Proteine die in die Bildung neuer Synapsen involviert sind) reguliert und damit insbesondere für das Langzeitgedächtnis von Bedeutung ist. Transgene Mäuse, die zusätzlich zum CREB-Protein einen CREB-Repressor exprimieren und Mäuse mit einem funktionsuntüchtigen CREB-Gen zeigen deutliche Defizite bei der Expression einer stabilen LTP sowie in Bezug auf das hippocampusabhängige Langzeitgedächtnis (Bourtchuladze, et al., 1994; Bozon, et al., 2003). Ein weiteres starkes Indiz für die grundlegende Bedeutung von LTP für Lern- und Gedächtnisprozesse lieferten außerdem in jüngerer Zeit durchgeführte *in vivo* Untersuchungen an Ratten. In diesen Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Langzeitpotenzierung der synaptischen Signalübertragung nicht nur *in vitro*, nach elektrischer Stimulation präsynaptischer Axone, zu beobachten ist, sondern auch *in vivo* durch Lernen selbst direkt ausgelöst werden kann (Whitlock, et al., 2006).

Während der Hippocampus vor allem mit dem deklarativen Gedächtnis, also dem Gedächtnis für Fakten, Orte, Ereignisse und ähnliche bewußtseinsfähige

Inhalte in Verbindung gebracht wird, spielt das Striatum für das prozedurale Gedächtnis eine wichtige Rolle. Unter dem prozeduralen Gedächtnis versteht man das Gedächtnis für Fähigkeiten, Gewohnheiten und Verhaltensweisen.

1.8 Das Striatum

Das Striatum ist Teil der Basalganglien, geht entwicklungsgeschichtlich aus dem Endhirnbläschen hervor (O'Rahilly, et al., 1994) und befindet sich im Bereich des basalen Vorderhirns. In ihm konvergieren ein Teil der glutamatergen Efferenzen des Cortex sowie des Thalamus, außerdem dopaminerge Efferenzen von Seiten des Mittelhirns (Bolam, et al., 2000; Kincaid, et al., 1998; Smith, et al., 1994b). Das Striatum ist der Ausgangspunkt des direkten und des indirekten Weges zweier parallel durch die Basalganglien führender neuronaler Schaltkreise, die eine wichtige Rolle für Motorik, das prozedurale Gedächtnis und den diesem zugrunde liegenden Lernprozessen spielen (Albin, et al., 1989; DeLong, 1990; Smith, et al., 1998). Die Bedeutung des Striatums für diese Funktionen veranschaulichen neurologische Erkrankungen, denen Funktionsstörungen des Striatums zugrunde liegen (Graybiel, 2000).

1.8.1 Zelluläre Organisation

Die Neuronen des Striatums wurden bereits in früheren Untersuchungen anatomisch, histochemisch und physiologisch charakterisiert (Kawaguchi, et al., 1995; Wilson, 1993). Unter rein anatomischen Gesichtspunkten lassen sich die Neuronen des Striatums in zwei Klassen einteilen. Zum einen in die mit Dornfortsätzen an ihren Dendriten ausgestatteten Projektionsneurone, zum anderen in die dornfortsatzfreien Interneurone. Die mit Dornfortsätzen ausgestatteten Projektionsneurone stellen den überwiegenden Teil der striatalen Zellpopulation. Sie sind GABAerg und können nach ihrem Projektionsort in striatonigrale (Projektionsort: SNr, direkter Pfad) und striatopallidale (Projektionsort: GPe, indirekter Pfad) Neurone unterschieden werden (Smith, et al., 1998). Die Projektionsneurone erhalten ihre glutamatergen Afferenzen, die fast ausschließlich an den Köpfen der Dornfortsätze enden, vor allem aus dem Cortex und dem Thalamus (Kemp, et al., 1971b).

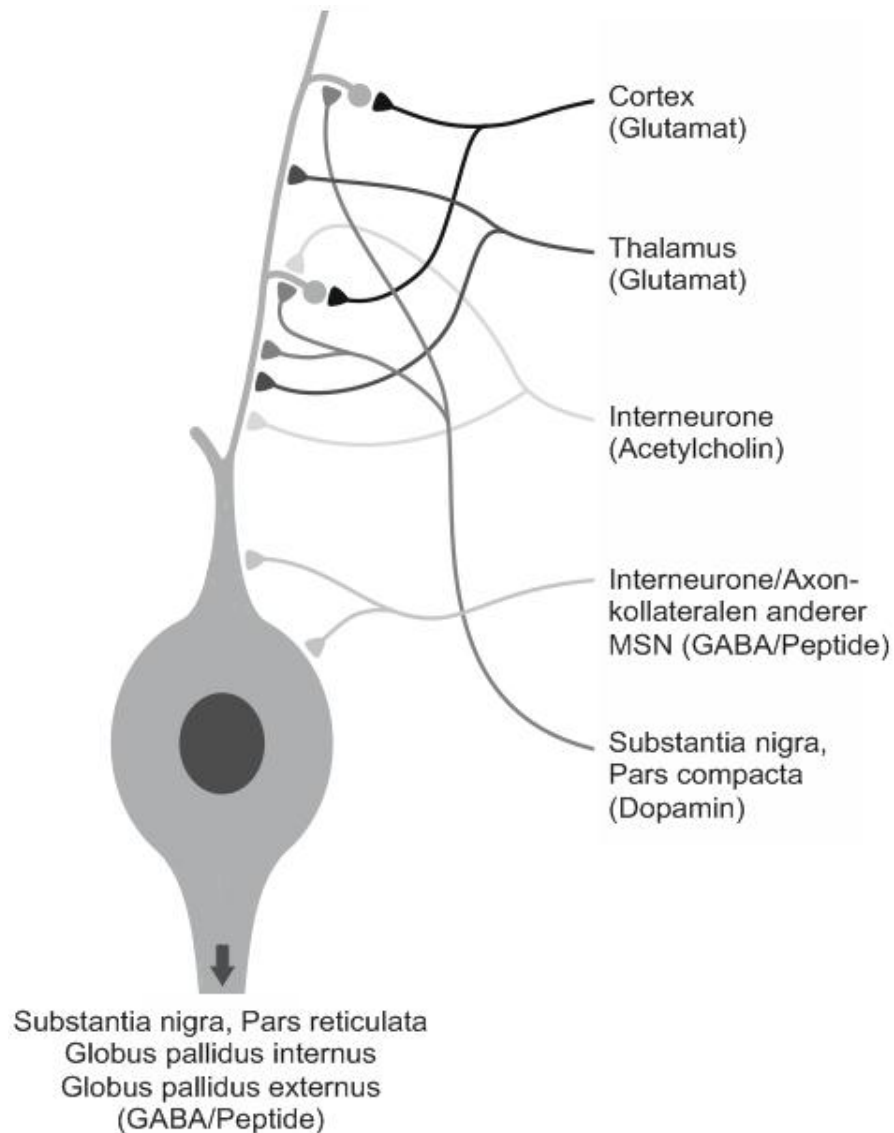


Abb.1: Striatales Projektionsneuron mit Afferenzen. Die Axone corticalen Ursprungs enden vornehmlich an den Köpfen der Dornfortsätze (= cortikostriatale Synapse). Der Thalamus projiziert zu den distalen Dendriten. Dopaminerge und cholinerge Afferenzen bilden Synapsen an den Halsen der Dornfortsätze und können so modulierend auf die Signalübertragung an der cortikostriatalen Synapse einwirken. GABA-erge Interneurone und Axonkollateralen anderer striataler Projektionsneurone bilden Synapsen mit den proximalen Dendriten und dem Soma des Projektionsneurons und beeinflussen so die Gesamtaktivität des Neurons maßgeblich mit (Bolam, et al., 2000). Abbildung modifiziert nach (Asan, 2004).

Darüber hinaus sind die Projektionsneurone noch Ziel dopaminerger Afferenzen aus dem Mittelhirn, die entweder direkt an den Dendriten oder an den Halsen der Dornfortsätze der Projektionsneurone enden (Smith, et al., 1994b). Histochemisch lassen sich bei den striatonigralen Projektionsneuronen große Mengen von D1 und muskarinergen M4-Rezeptoren nachweisen, darüber hinaus die Substanzen Dynorphin und Substanz P (Gerfen, 1992; Ince, et al.,

1997). Im Gegensatz dazu lassen sich die striatopallidalen Projektionsneurone durch große Mengen an D2 und A2A Rezeptoren, sowie anhand ihrer Immunoreaktivität für Enkephalin identifizieren (Gerfen, 1992; Schiffmann, et al., 1991). Unter physiologischen Gesichtspunkten unterscheiden sich die striatonigralen und striatopallidalen Projektionsneurone nicht wesentlich (Kreitzer, et al., 2007).

Die dornfortsatzfreien Interneurone kommen im Striatum vergleichsweise selten vor und können nach anatomischen Gesichtspunkten in mittelgroße GABAerge Zellen und große cholinerge Zellen unterteilt werden (Kawaguchi, et al., 1995). Die mittelgroßen GABAergen Interneurone können histochemisch weiter klassifiziert und drei Untergruppen zugeordnet werden: (a) Parvalbumin-positive; (b) Somatostatin-, Neuropeptid Y-, und NO-Synthase-positive und (c) Calretinin-positive Zellen (Bennett, et al., 1993; Chesselet, et al., 1986; Cowan, et al., 1990; Smith, et al., 1986; Vincent, et al., 1983). Nach physiologischen Kriterien, in diesem Fall heißt das nach ihrem Aktivitätsmuster, kann man diese drei Gruppen GABA-erger Interneurone weiter unterteilen (Kawaguchi, et al., 1995; Tepper, et al., 2004a). Die Parvalbumin-positiven Zellen reagieren auf eine Strominjektion mit hochfrequenten anhaltenden Entladungsserien. Man nennt sie deshalb auch fast-spiking (FS) (engl.: schnell feuern) Interneurone. Die Somatostatin-positiven Interneurone zeichnen sich durch ein niedrigfrequenteres Aktivitätsmuster und Plateau-Potentiale aus und werden auch als low-threshold (engl.: niedrige Reizschwelle) spiking (engl.: Feuern) Interneurone (LTS) bezeichnet. Die Calretinin-positiven Interneurone sind bisher nicht weiter physiologisch charakterisiert worden (Tepper, et al., 2004a). Schlussendlich können die cholinergen Interneurone nach physiologischen Kriterien charakterisiert werden. Charakteristisch für sie sind durch Hyperpolarisation hervorgerufene transmembranale Ströme sowie eine hohe Spontanaktivität in vivo (Wilson, et al., 1990). Wie die striatalen Projektionsneurone erhalten auch die Interneurone glutamaterge Afferenzen von Cortex und Thalamus.

Auch wenn die Axone der Interneurone überwiegend an den Projektionsneuronen enden, lassen sich darüber hinaus kleine Mikroschaltkreise zwischen mehreren Interneuronen nachweisen, von denen

man annehmen muss, dass sie das striatale Output modulieren (Tepper, et al., 2004b). In Abb.1 ist die synaptische Organisation des Striatums schematisch dargestellt. In Tab.1 sind die unterschiedlichen Zelltypen des Striatums zusammengefasst.

Tab.1: Zelltypen des Striatums

Zell-Typ	Häufigkeit ¹	Projektionsorte	Metabotrope Rezeptoren	Quellen
Striatonigrale MSN	49%	GPi, SNr	D1, M1, M4, mGluR 1/5	Cepeda et al., 2008; Hersch et al., 1994; Ince et al., 1997; Kreitzer und Malenka, 2007
Striatopallidale MSN	49%	GPe	D2, A2A, M1, mGluR 1/5	Cepeda et al., 2008; Hersch et al., 1994; Kreitzer und Malenka, 2007; Pollack et al. 1993
FS Interneurone	0.5%	MSN's	D5	Centonze et al. 2003b; Kawaguchi, 1993
LTS Interneurone	1.5%	MSN's	D1-like	Centonze et al. 2002; Kawaguchi, 1993
Cholinerge Interneurone	0.5%	MSN's, FS Interneurone	D2, D5, M2, M4	Kawaguchi, 1993; Koos und Tepper, 2002; Wilson et al. 1990; Yan und Surmeier, 1996

1.8.2 Regionen

Entsprechend den gängigen anatomischen Lage- und Richtungsbezeichnungen unterscheidet man ein dorsales und ein ventrales Striatum. Das dorsale Striatum wird darüber hinaus noch in ein dorsomediales und dorsolaterales Striatum unterteilt. Während bei Primaten das dorsale Striatum durch die Capsula interna in einen medialen Teil (Ncl. caudatus) und einen lateralen Teil (Putamen) separiert wird, wird das Striatum von Nagetieren relativ gleichmäßig von im Cortex entspringenden Motoraxonbündeln durchzogen. Eine klare Trennung zwischen dorsomedialem und dorsolateralem Striatum besteht hier also nicht. Trotzdem unterscheiden sich diese beiden Teile des Striatums

sowohl beim Menschen als auch bei Nagetieren in Bezug auf die Verschaltung der dort ansässigen Neuronenpopulationen sowie in ihrer Funktion (Joel, et al., 1994; Parent, et al., 1995; Yin, et al., 2006b). Das dorsomediale Striatum erhält seine Afferenzen vor allem aus den Assoziationscortices (Goldman, et al., 1977; McGeorge, et al., 1989; Ragsdale Jr., et al., 1981), das dorsolaterale Striatum bezieht seine Afferenzen vor allem aus dem sensomotorischen Cortex (Kunzle, 1975; Liles, et al., 1985; McGeorge, et al., 1989). Das ventrale Striatum wird auch als Ncl. accumbens bezeichnet und vereint in sich viele Eigenschaften von dorsomedialem und dorsolateralem Striatum (Nicola, 2007). Es kann weiterhin in eine „Core“ und eine „Shell“ Region unterteilt werden. Die „Core“ Region ähnelt in vielerlei Hinsicht dem dorsalen Striatum, die „Shell“ Region hingegen ähnelt eher der Amygdala (Zahm, 2000). Das ventrale Striatum erhält seine Afferenzen vor allem von Seiten des frontalen und limbischen Cortex (Brog, et al., 1993). Wie sich gezeigt hat, kommen den verschiedenen Regionen des Striatums in Abhängigkeit von ihren afferenten und efferenten Verbindungen unterschiedliche Funktionen zu (Voorn, et al., 2004). Während das dorsale Striatum vor allem für das Erlernen, Planen und Ausführen von Bewegungsabläufen von Bedeutung ist (Joel, et al., 1994; Yin, et al., 2006b), sind die ventralen Anteile des Striatums (= Ncl. accumbens) vor allem an Prozessen wie Motivation, Belohnungslernen, bewusstem und unbewusstem Verhalten beteiligt (Berridge, 2007; Hyman, et al., 2006; Kenny, 2007; Nicola, 2007).

1.9 Synaptische Langzeitplastizität

1.9.1 Mechanismen der LTP an der cortikostriatalen Synapse

Die Untersuchungen zahlreicher Arbeitsgruppen weltweit haben in den vergangenen 15-20 Jahren analog zum Hippocampus zur Beschreibung zweier Formen synaptischer Langzeitplastizität an der glutamatergen cortikostriatalen Synapse geführt: Long-Term Potentiation (LTP) und Long-Term Depression (LTD) (Kreitzer, et al., 2008; Wickens, 2009). Unter synaptischer Langzeitpotenzierung versteht man wie bereits für den Hippocampus beschrieben die langanhaltende Zunahme der Effektivität der synaptischen Signalübertragung (Charpier, et al., 1997; Calabresi, et al., 1992a; Bliss, et al., 1973). Obwohl man seit Langem davon ausgeht, dass der

Langzeitpotenzierung eine wichtige Rolle im Rahmen von striatumbasierten Lernprozessen zukommt (Mahon, et al., 2005; Reynolds, et al., 2002), gestaltete sich ihr direkter Nachweis sowohl in vitro als auch in vivo zunächst schwierig (Calabresi, et al., 1992a; Calabresi, et al., 1992b; Lovinger, et al., 1993; Partridge, et al., 2000).

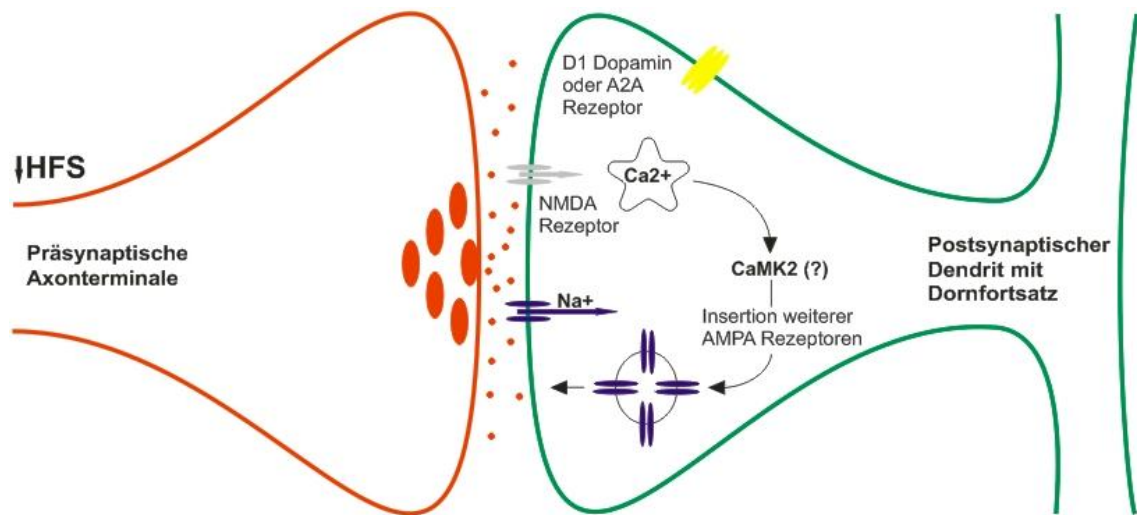


Abb.2: Zelluläre Mechanismen der Langzeitpotenzierung an der cortikostriatalen Synapse. Beteiligte Rezeptoren: NMDA, D1/A2A, mACh. Induziert wird die LTP durch Aktivierung von NMDA- und D1- oder A2A-Rezeptoren, je nachdem ob es sich um ein Projektionsneuron des direkten oder des indirekten Pfades handelt. Die daraufhin zunehmende intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration führt, so vermutet man, zur Aktivierung de CaMKII und im Anschluss daran zur Insertion weiterer AMPA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran. Die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren aktivieren die Adenylatzyklase und auf diesem Wege die Phosphorylierung von DARP-32. In welchem Zusammenhang diese Veränderungen mit Induktion und Expression von LTP an der cortikostriatalen Synapse stehen ist nicht genau bekannt. Pfeile bedeuten Aktivierung. Abbildung modifiziert nach (Lovinger, 2010). Einzelheiten siehe Text.

Wie an vielen anderen glutamatergen Synapsen des ZNS, spielen Glutamat und seine Rezeptoren auch im Striatum eine wichtige Rolle, sowohl für die Induktion, als auch für die Expression, der LTP. Wichtig für die Induktion der LTP sind vor allem die bereits erwähnten NMDA-Rezeptoren (Calabresi, et al., 1992a; Dang, et al., 2006; Kerr, et al., 2001; Popescu, et al., 2007; Shen, et al., 2008). Darüber hinaus nimmt man an, dass auch den AMPA-Typ Glutamat-Rezeptoren eine wichtige Funktion für die Expression der LTP zukommt. Neuere Arbeiten von Shen et al. konnten zeigen, dass die LTP an der cortikostriatalen Synapse mit einer erhöhten Empfänglichkeit der striatalen Projektionsneurone für glutamaterge Reize einhergeht (Shen, et al., 2008). In anderen Regionen des Gehirns (wie zum Beispiel dem Hippocampus), führt die

NMDA-abhängig induzierte LTP CaMKII-abhängig zur Insertion zusätzlicher AMPA-Typ Glutamatrezeptoren in die postsynaptische Membran der Projektionsneurone (Kerchner, et al., 2008). Bisher gibt es allerdings keine eindeutigen Hinweise darauf, dass diese Mechanismen auch für die LTP des Striatums von grundlegender Bedeutung sind.

Neben den Glutamat-Rezeptoren kommt auch den Dopamin-Rezeptoren ein wichtige Funktion für die striatale LTP zu. Verschiedene Forschungsgruppen konnten zeigen, dass sich in Gegenwart selektiver D1-Rezeptor-Antagonisten und in D1-Rezeptor Knock-out Mäusen keine LTP induzieren lässt (Calabresi, et al., 2000b; Kerr, et al., 2001; Lovinger, et al., 2003). Bisher ist allerdings nicht klar welche Rolle der D1-Rezeptor für die striatale LTP spielt. Man weiß von diesem G-Protein gekoppeltem Rezeptor aber, dass er über die Aktivierung der Adenylatzyklase zu einem Anstieg des cyclischen AMP (cAMP) führt.

Ähnliches wie für D1 Rezeptoren gilt für die Aktivierung des A2A-Rezeptors. Er ist ebenfalls G-Protein gekoppelt und seine Aktivierung führt wie die des D1-Rezeptors zu eine Aktivierung der Adenylatzyklase mit konsekutiver Erhöhung des intrazellulären cAMP. Die sich an die Aktivierung der Adenylatcyclase anschließenden Schritte dieses Signalweges umfassen die Aktivierung der Proteinkinase A durch cAMP und im Anschluß daran die Phosphorylierung und damit Aktivierung von DARPP-32, einem Phosphatase-Inhibitor (Calabresi, et al., 2000b). Die Inhibition von Phosphatasen, die häufig im Zusammenhang mit dem AMPA-Rezeptor-Traficking genannt wird, könnte darauf hindeuten, dass das Rezeptor-Traficking und postsynaptische Mechanismen der LTP Expression auch im Striatum eine wichtige Rolle spielen. Darüber ist aber bisher wenig bekannt. Der gezielte Knock-out des DARPP-32 kodierenden Proteins verhindert die Induktion von LTP (Calabresi, et al., 2000b). Das DARPP-32 Protein ist, wie gezeigt werden konnte, auch an der D1-vermittelten Potenzierung der NMDA-Rezeptor Funktion beteiligt (Flores-Hernandez, et al., 2002).

Zusammenfassend läßt sich sagen, dass es sich bei der LTP an der glutamatergen cortikostriatalen Synapse um eine Art synaptischer Potenzierung handelt, die sowohl postsynaptisch induziert, als auch postsynaptisch exprimiert wird. Bei den an der Induktion beteiligten Rezeptoren handelt es sich

maßgeblich um Glutamatatrezeptoren vom AMPA- und NMDA-Typ, um Dopamin D1-Rezeptoren und Adenosin A2A-Rezeptoren. Die Mechanismen, die der Expression von LTP im Striatum zugrunde liegen sind bei weitem noch nicht so gut erforscht, wie die im Bereich des Hippocampus und werden noch für eine beträchtliche Zeit Gegenstand intensiver Forschung bleiben.

1.9.2 Mechanismen der LTD an der cortikostriatalen Synapse

Über die Mechanismen, die der Langzeitdepression an der cortikostriatalen Synapse zugrunde liegen, ist zum heutigen Zeitpunkt wesentlich mehr bekannt als über die, die bei der Langzeitpotenzierung in dieser Region des ZNS eine Rolle spielen. Im Gegensatz zu den glutamatergen Synapsen des Hippocampus wird auch die LTD der cortikostriatalen Synapse durch eine hochfrequente Reizung der afferenten Fasern hervorgerufen (Calabresi, et al., 1992b; Lovinger, et al., 1993). Während bei der LTP sowohl die Mechanismen der Induktion als auch die der Expression postsynaptisch lokalisiert zu sein scheinen, wird die LTD nach heutigem Kenntnisstand zwar postsynaptisch induziert aber präsynaptisch exprimiert. Am Ende der LTD-Expression steht die Reduktion der vom corticalen Neuron pro Aktionspotential freigesetzten Glutamat-Menge (Choi, et al., 1997a; Choi, et al., 1997b; Gerdeman, et al., 2002). Verantwortlich für die Induktion der striatalen LTD ist das Zusammenspiel von postsynaptisch lokalisierten metabotropen Glutamatrezeptoren der Gruppe I (Sung, et al., 2001), postsynaptisch lokalisierten D2 Dopamin-Rezeptoren (Calabresi, et al., 1997; Kreitzer, et al., 2005; Shen, et al., 2008), postsynaptisch lokalisierten spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanälen vom L-Typ (Adermark, et al., 2007a) und dem präsynaptisch lokalisierten CB1-Cannabinoidrezeptor (Gerdeman, et al., 2002; Ronesi, et al., 2004). Die Verbindung zwischen postsynaptischer Induktion und präsynaptischer Expression der striatalen LTD wird durch postsynaptisch freigesetzte Endocannabinoide, die in diesem Zusammenhang als retrograde Messenger fungieren, hergestellt (Gerdeman, et al., 2002; Ronesi, et al., 2004). Die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren ist für die Induktion einer striatalen LTD nicht erforderlich (Calabresi, et al., 1992b).

Es ist anzunehmen, dass der HFS in den Hirnschnittpräparationen, in denen der überwiegende Teil der Experimente zur striatalen synaptischen Plastizität

bisher durchgeführt wurde, neben den cortikalen Fasern auch dopaminerge Axone aktiviert, die aus dem Mittelhirn in das Striatum projizieren. Infolge des elektrischen Reizes kommt es daher aller Wahrscheinlichkeit nach zu einer simultanen Freisetzung von Glutamat aus den Terminalen cortikaler Axone und Dopamin aus den dopaminergen Fasern.

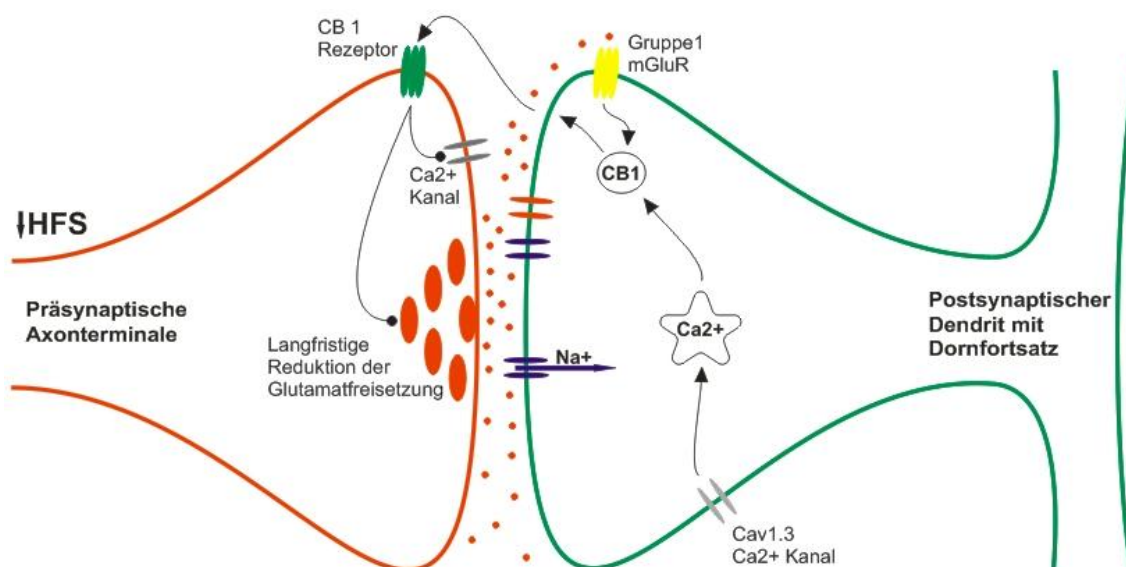


Abb.3: Zelluläre Mechanismen der Langzeitdepression an der cortikostriatalen Synapse. Beteiligte Rezeptoren: mGluR 1/5, D2, nACh, mACh. Das präsynaptisch freigesetzte Glutamat bindet an ionotrope AMPA- und an metabotrope Rezeptoren der Gruppe 1 (mGluRI). Die postsynaptische Aktivierung führt zur Öffnung von spannungsabhängigen Calciumkanälen (Cav1.3-Typ). Dies fördert die Synthese und Freisetzung von Endocannabinoiden aus dem postsynaptischen Neuron. Die Endocannabinoide binden an präsynaptisch lokalisierte CB1-Rezeptoren und aktivieren diese. Das führt in Verbindung mit der präsynaptischen Aktivität zu einer langfristigen Abnahme der Glutamatfreisetzung, möglicherweise durch Reduktion der präsynaptischen Ca^{2+} -Kanal Funktion oder durch direkte Hemmung der Vesikelfusion. Pfeile bedeuten Aktivierung, Punkte Hemmung. Abbildung modifiziert nach (Lovinger, 2010). Einzelheiten siehe Text.

Das etablierte Modell zu den Mechanismen von LTD im dorsalen Striatum basiert auf der Annahme, dass durch das präsynaptisch ausgeschüttete Glutamat neben den postsynaptischen AMPA-Rezeptoren, die die basale synaptische Signalübertragung an der cortikostriatalen Synapse vermitteln (Herrling, 1985; Kita, 1996), auch postsynaptisch lokalisierte, G-Protein gekoppelte metabotrope Glutamatrezeptoren der Gruppe I aktiviert werden (Gubellini, et al., 2001; Sung, et al., 2001). Darüber hinaus werden postsynaptische D2-Rezeptoren durch das aus den dopaminergen Fasern des Mittelhirns freigesetzte Dopamin aktiviert (Shen, et al., 2008). Die AMPA-Rezeptor-vermittelte Depolarisation des Projektionsneurons führt weiterhin zu

einer Öffnung spannungsabhängiger Ca²⁺-Kanäle vom L-Typ (Adermark, et al., 2007a), was einen Anstieg der postsynaptischen Ca²⁺-Konzentration zur Folge hat. Die Aktivierung von postsynaptischen Gruppe I mGluR, Dopamin D2-Rezeptoren und spannungsabhängigen L-Typ Ca²⁺-Kanälen zieht eine verstärkte Bildung und Freisetzung von Endocannabinoiden aus dem postsynaptischen Neuron nach sich. Dieser Schritt wird vermutlich durch die Aktivierung der Phospholipase C vermittelt (Hashimoto, et al., 2005). Die Phospholipase C ist, wie seit langem bekannt ist, ein durch G-Protein gekoppelte Rezeptoren aktiviertes Enzym, das darüber hinaus auch durch die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration gesteuert wird. Es wurde daher schon die Hypothese aufgestellt, dass die Phospholipase C für die LTD im Striatum eine ähnliche Rolle spielt, wie der NMDA-Rezeptor für die LTP im Hippocampus – nämlich die des Koinzidenzdetektors für das gleichzeitige Auftreten präsynaptischer Glutamatausschüttung und Depolarisation des postsynaptischen Neurons (Hashimoto, et al., 2005). Die Endocannabinoide entfalten ihre Wirkung an präsynaptischen CB1 Rezeptoren und initiieren auf diesem Wege die Expression der LTD, die, wie bereits erwähnt, in einer reduzierten Transmitterfreisetzung resultiert (Ronesi, et al., 2004).

Die o.g. Untersuchungen haben gezeigt, dass die bereits erwähnten Transmitter und Signalmoleküle einschließlich ihrer Rezeptoren lediglich an der Induktion der striatalen LTD beteiligt sind. Über die Mechanismen die nach Aktivierung des präsynaptischen CB1-Rezeptors zu einer dauerhaften Reduktion der Transmitterfreisetzung führen, ist bisher wenig bekannt. Man kann allerdings davon ausgehen, dass auch hierfür Mechanismen wie die Phosphorylierung bestimmter Proteine oder die Modifikation der Genexpression des präsynaptischen Neurons von grundlegender Bedeutung sind (Calabresi, et al., 1994; Yin, et al., 2006a).

1.10 Synaptische Kurzzeitplastizität

Neben den langanhaltenden Modifikationen der synaptischen Signalübertragung, wie sie in den vorangehenden Abschnitten ausführlich beschrieben wurden, gibt es auch Veränderungen, die sich aktivitätsabhängig innerhalb einiger Millisekunden manifestieren, um sich, nach Einstellen der

Aktivität, wieder zurückzubilden. Zwei in diesem Zusammenhang beschriebene Phänomene sind zum einen die Doppelpulsbahnung (engl.: paired pulse facilitation), zum anderen die Doppelpulshemmung (engl.: paired pulse depression). Die beobachtete, kurzzeitige Zu- bzw. Abnahme der Stärke der synaptischen Übertragung erklärt sich durch eine infolge vorausgegangener Aktivität erhöhte bzw. erniedrigte Transmitterfreisetzung aus der präsynaptischen Axonterminale (Charlton, et al., 1982; Zucker, 1999). Ursächlich hierfür ist im Falle der Doppelpulsbahnung eine während des zweiten Reizes erhöhte Freisetzungswahrscheinlichkeit von in präsynaptischen Vesikeln gespeicherten Neurotransmittermolekülen aufgrund einer anhaltend hohen Ca^{2+} -Konzentration in der präsynaptischen Axonterminale bedingt durch den vorausgegangenen Reiz. Im Falle der Doppelpulshemmung kommt es im Anschluss an den zweiten Reiz zu einer geringeren Transmitterausschüttung deren Ursache in durch den ersten Reiz erschöpften Transmitterreserven vermutet wird (Mori, et al., 1994; Zucker, 1999). Doppelpulsbahnung und Doppelpulshemmung sind ein Maß für die Kurzzeitplastizität von Synapsen, als solche für das Striatum beschrieben und neben den langanhaltenden aktivitätsinduzierten plastischen Prozessen wie LTP und LTD Gegenstand dieser Untersuchung. Sie modulieren kurzfristig und in Reaktion auf einzelne Aktionspotentiale die Stärke der synaptischen Signalübertragung und steuern dadurch die Erregbarkeit neuronaler Schaltkreise in erheblichem Maße mit.

1.11 Die Basalganglien

Unter „den Basalganglien“ versteht man eine Gruppe miteinander vernetzter subcortikaler Kerngebiete bestehend aus Corpus Striatum und Globus Pallidus. Das Globus Pallidus wird durch die Lamina medullaris medialis in einen externen (GPe) und einen internen (GPi) Anteil unterteilt. Als assoziierte Kerne hinzugerechnet werden den Basalganglien der diencephale Ncl. subthalamicus und die mesencephale Substantia nigra bestehend aus Pars compacta (SNc) und Pars reticulata (SNr). Zusammen spielen sie eine Schlüsselrolle innerhalb des extrapyramidalmotorischen Systems und zeichnen in dieser Funktion für verschiedene Leistungen des Gehirns verantwortlich.

Zu diesen Leistungen gehört u.a. das Erlernen und Erinnern sowie die Koordination von Bewegungsabläufen; außerdem motivationale Aspekte des

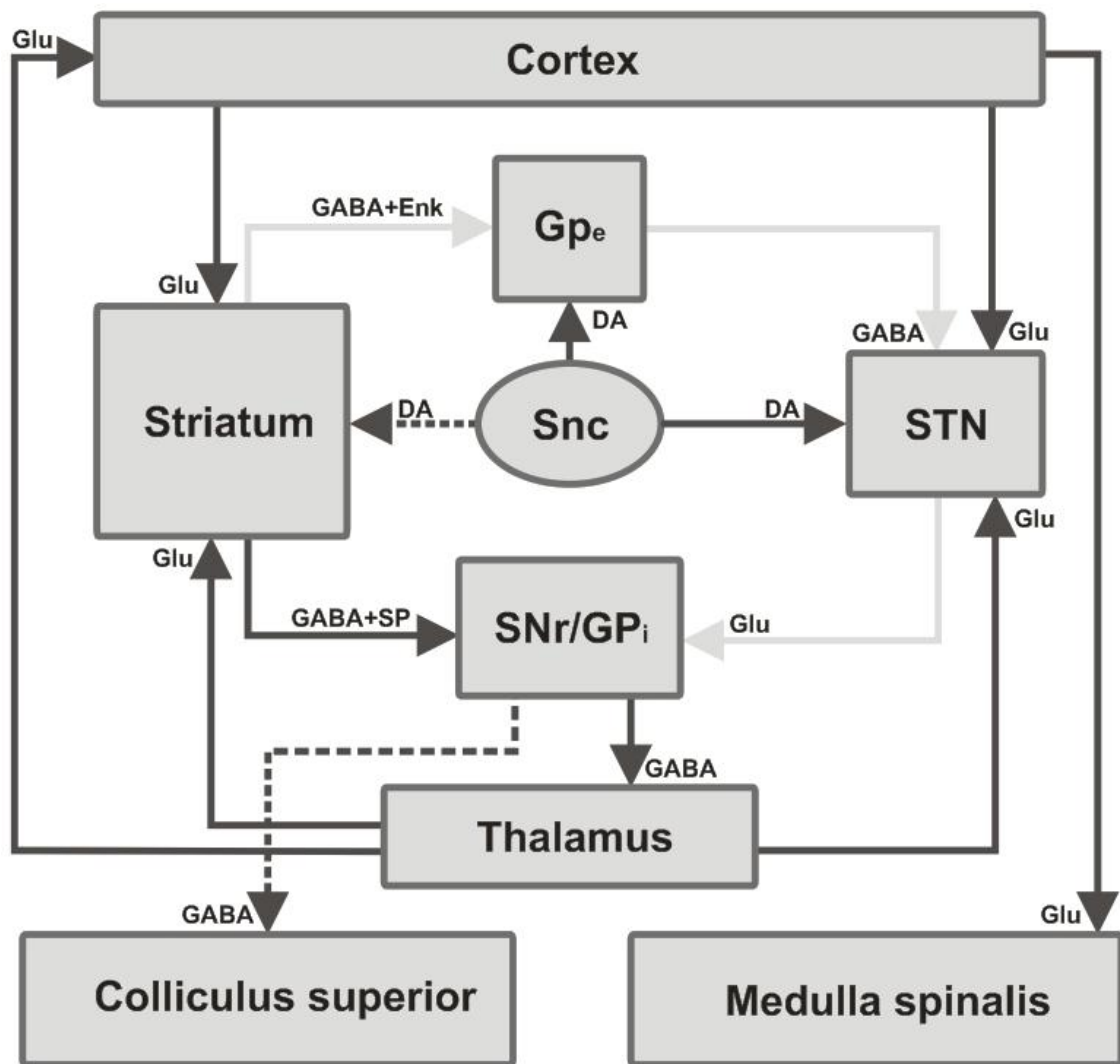


Abb.4: Schematische Darstellung der Basalganglien, den wichtigsten Projektionsorten und der an den unterschiedlichen Synapsen verwendeten Transmitter. GPe=Globus Pallidus externus; GPi=Globus pallidus internus; SNr=Substantia nigra, Pars reticulata; Snc=Substantia nigra, Pars compacta; STN=Ncl. Subthalamicus; Glu=Glutamat; DA=Dopamin; SP=Substanz P; Enk=Enkephalin; GABA= γ -Aminobuttersäure. Schwarze Pfeile bezeichnen den direkten, graue Pfeile den indirekten Weg der Informationsverarbeitung innerhalb der Basalganglien. Einzelheiten siehe Text.

menschlichen Verhaltens, Suchtverhalten und emotionales Erleben (Graybiel, et al., 1994; Hikosaka, et al., 2000; Nicola, 2007; Packard, et al., 2002; Yin, et al., 2006b; Gerdeman, et al., 2003). Die zentrale Bedeutung, die den Basalganglien an dieser Stelle zukommt, wird besonders augenfällig, wenn einzelne Teile dieses Netzwerkes im Rahmen von neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen wie dem M. Parkinson, der Chorea Huntington (Albin, et al., 1989; DeLong, 1990; Graybiel, 2000) oder Zwangsstörungen (Aouizerate, et al., 2004; Graybiel, et al., 2000) in ihrer Funktion beeinträchtigt sind.

Den Zugang zu den Basalganglien bildet das Striatum, das seine Afferenzen vor allem von Seiten des Cortex und des Thalamus erhält. Neben diesen glutamatergen exzitatorischen Afferenzen erhält das Striatum dopaminerge Afferenzen aus dem Mittelhirn, insbesondere der Substantia nigra, Pars compacta und der Area tegmentalis ventralis (Bolam, et al., 2000). Als Kerngebiet, dessen Signalverarbeitung ausgedehnten plastischen Veränderungen unterliegt, und aufgrund seiner Stellung innerhalb der Basalganglien, spielt das Striatum eine zentrale Rolle für die Funktion des gesamten Netzwerkes (Bolam, et al., 2000; Wilson, 1998)

Das bisher einflussreichste Modell zur Erklärung der Funktionsweise der Basalganglien basiert auf der Unterscheidung eines direkten und eines indirekten Weges der Signalverarbeitung, wobei die beiden Wege das Ergebnis, d.h. unter anderem die cortikale Aktivität, in gegensätzlicher Weise beeinflussen (Albin, et al., 1989; Alexander, et al., 1990; DeLong, 1990). In seiner einfachsten Form beschreibt das Modell zwei parallele voneinander weitgehend unabhängige Schaltkreise, die vom Cortex über die Basalganglien zum Thalamus und von dort wieder zurück zum Cortex führen. Die Aufzweigung geschieht im Striatum. Beide Wege werden dort durch Dopamin gegensätzlich moduliert. Für eine ausführlichere Darstellung dieses Sachverhaltes ist auf Übersichtsarbeiten zu verweisen (Joel, et al., 1994; Parent, et al., 1995).

Der direkte Weg der Signalverarbeitung (siehe Abb.4, schwarze Pfeile) beginnt an den Dendritenbäumen der striatonigralen Projektionsneurone, die mit Axonen aus dem Cortex und dem Thalamus exzitatorische glutamaterge Synapsen unterhalten. Die Axone der GABAergen Projektionsneurone enden an den ebenfalls GABAergen Neuronen des GPi und der SNr und hemmen deren Aktivität. Diese projizieren ihrerseits zu den motorischen Kernen des Thalamus und hemmen diese, sofern sie nicht selber zuvor durch die striatalen Projektionsneurone in ihrer Aktivität gebremst wurden. Diese Form der doppelten Hemmung, auch Disinhibition genannt, führt zu einer Aktivitätssteigerung der auf die Großhirnrinde exzitatorisch wirkenden motorischen Thalamuskern.

Der indirekte Weg (siehe Abb.4, graue Pfeile) beginnt an den Dendritenbäumen der striatopallidalen Projektionsneurone. Werden diese durch ihre cortikalen

und thalamischen Afferenzen aktiviert, hemmen sie mittels des von ihnen verwendeten inhibitorischen Transmitters GABA die ebenfalls GABAergen Neurone des GPe, die ihrerseits zu den glutamatergen Neuronen des Ncl. subthalamicus projizieren und diese hemmen. Der Ncl. subthalamicus projiziert glutamaterg zu den Ausgangskernen der Basalganglien (GPi und SNr) und bildet mit deren GABAergen Neuronen exzitatorische Synapsen. In der Summe führt der indirekte Weg also über die Hemmung thalamocortikaler Projektionsneurone zu einer Reduktion der cortikalen Aktivität.

Die Modulation cortikaler Aktivität durch die Basalganglien spielt für die Ausbreitung und Kontrolle epileptischer Anfälle eine wichtige Rolle (Depaulis, et al., 1994; Deransart, et al., 1998).

1.12 Epilepsie als neurologische Erkrankung des Menschen

Die Krankheitsbezeichnung Epilepsie leitet sich von dem altgriechischen Wort ἐπίληψις, epilēpsis „der Anfall, der Übergriff“ ab und ist als solche ab dem 16. Jahrhundert für den deutschen Sprachraum belegt (Kluge, et al., 2002). Unter einer Epilepsie versteht man eine Anfallskrankheit, die durch paroxysmale Spontanentladungen zentralnervöser Neurone gekennzeichnet ist und Menschen aller Altersklassen, unabhängig von ihrem sozioökonomischen Status und ihrer ethnischen Zugehörigkeit betrifft. Die Inzidenz der Epilepsien liegt mit regionalen Unterschieden bei im Durchschnitt 60/100000, die Prävalenz in Europa und Nordamerika bei 650/100000 (Annegers, 1994). Nach klinisch-phänomenologischen, elektroenzephalographischen und ätiologischen Kriterien unterscheidet man zwischen generalisierten und partiellen oder fokalen Epilepsien, wobei generalisierte Epilepsien durch ein generalisiertes Anfalls- und EEG-Muster bei herabgesetzter Vigilanz gekennzeichnet sind, während für fokale Epilepsien ein einseitiges Anfalls- und EEG-Muster bei in der Regel erhaltener Vigilanz typisch ist (ILAE, 1981; ILAE, 1989). Initial fokale Anfälle können sekundär generalisieren, in diesem Fall spricht man von komplexpartiellen Anfällen zu denen auch die Temporallappen-Epilepsie gerechnet wird. Mehr als die Hälfte aller Epilepsien bleiben ätiologisch ungeklärt (Hauser, et al., 1993). In den übrigen Fällen spielen als auslösende Faktoren vor allem Infektionen, cerebrovaskuläre Erkrankungen, Traumata, Tumoren, regelmäßiger Drogenkonsum oder neurodegenerative Erkrankungen eine

wichtige Rolle (Hauser, et al., 1993; So, et al., 1996; Wijdicks, et al., 1993; Annergers, et al., 1980). Pathophysiologisch wird eine gesteigerte Erregbarkeit zentraler Neurone mit Tendenz zu spontanen Entladungen angenommen. Als Ursachen hierfür kommen pathologische Veränderungen intrinsischer Zelleigenschaften, der synaptischen Übertragung oder der Funktion neuronaler Netzwerke in Frage. Eine Übersicht hierzu findet sich in dem von John H. Noseworthy herausgegebenen Grundlagenwerk „Neurological Therapeutics - Principles and Practice“.

1.12.1 Die Temporallappenepilepsie

Die Temporallappen-Epilepsie (TLE) ist die häufigste Form einer komplex-partiellen Epilepsie im Erwachsenenalter (Hauser, et al., 1996) (Wieser, 2004). Zu den wesentlichen Charakteristika der TLE gehören (a) ein iktogener Fokus innerhalb des limbischen Systems, vorzugsweise im Hippocampus, dem entorhinalen Cortex oder der Amygdala (Bartolomei, et al., 2005), (b) eine häufig in der Krankheitsgeschichte zu eruiierende initiale Hirnschädigung (Mathern, et al., 2002), (c) eine Latenzphase zwischen verursachender Schädigung und Manifestation der chronischen Epilepsie sowie (d), die hohe Inzidenz einer sich im Verlauf der Erkrankung einstellenden hippocampalen Sklerose (Mathern, et al., 1997). Bisher kann diese Epilepsie-Form mit antiepileptischen Medikamenten nur unzureichend kontrolliert werden.

1.13 Fragestellung

Wie bereits erwähnt, spielt die Modulation cortikaler Aktivität durch die Basalganglien für die Ausbreitung und Kontrolle epileptischer Anfälle eine wichtige Rolle (Depaulis, et al., 1994; Deransart, et al., 1998). So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass bestimmte pharmakologisch wirksame Substanzen, die die Aktivität der Zellen der Substantia nigra, Pars reticulata reduzieren in verschiedenen Tiermodellen die Ausbreitung bzw. Generalisierung von Anfällen verhindern können (Depaulis, et al., 1994). Das gleiche gilt für die pharmakologische Aktivierung striataler Projektionsneurone durch Glutamat-Agonisten (Cavalheiro, et al., 1986) oder GABA-Antagonisten (Turski, et al., 1989). In beiden Fällen wird die Generalisierung von Anfällen in verschiedenen Tiermodellen der Epilepsie unterbunden.

Neben diesen modulatorischen Aufgaben der Basalganglien, die eine Untersuchung wie die hier vorliegende an sich schon rechtfertigen würden, mehren sich in jüngerer Vergangenheit die Hinweise darauf, dass auch Veränderungen des Stoffwechsels im Bereich der Basalganglien selbst kausal an der Iktogenese beteiligt sein könnten. So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass sich bei Patienten, die, wie die Ratten des hier verwendeten Tiermodells, an einer Temporallappenepilepsie leiden ein gestörter Dopamin-Stoffwechsel innerhalb des Striatums nachweisen lässt (Bouilleret, et al., 2008). Hinzukommt, dass es im Rahmen von epileptischen Erkrankungen wie Untersuchungen aus jüngerer Zeit zeigen zu messbaren Veränderungen der synaptischen Plastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse kommt (Ghiglieri, et al., 2009). Diese und andere Beobachtungen legen nahe, dass es nicht nur zwischen dem epileptischen Krankheitsgeschehen und den Basalganglien als solchen zu Wechselwirkungen und gegenseitigen Beeinflussungen kommt. Es lässt sich konkret vermuten, dass den beschriebenen Veränderungen an sich eine aktive Rolle für die Entwicklung des Anfallsgeschehens und der Erkrankung im Allgemeinen zukommt (Deransart, et al., 2000). Dies und die Tatsache, dass, wie man seit einigen Jahren weiß, dem Dopamin-Stoffwechsel im Rahmen von plastischen Prozessen im Bereich der cortikostriatalen Synapse von Ratten eine wichtige Funktion zukommt (Centonze, et al., 2001) motivierte den Verfasser auf dem in den nächsten Kapiteln beschriebenen Weg folgenden Fragen nachzugehen:

1. Welchen Einfluss hat der durch die Pilocarpininjektion hervorgerufene initiale Status epilepticus auf die Kurz- und Langzeitplastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse ?
2. Inwiefern beeinflussen die in der chronischen Phase der Temporallappenepilepsie rezidivierenden generalisierten epileptischen Anfälle die Kurz- und Langzeitplastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse ?

2 Material und Methoden

2.1 Material

Tab.2: Materialien für die elektrophysiologische Ableitung

Material	Typenbezeichnung und Hersteller
Ableitelektrode	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Ableitungskammer	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Absaugvorrichtung	ALA VWK ALA, Scientific Instruments, Westbury, USA
Analog-Digital-Wandler	Power 1401, CED, Cambridge, England
Aquisitionsoftware	Signal, Version 2.16, CED, Cambridge, England
Bad	Haake 5P, Thermo, Karlsruhe, Deutschland
Badthermostat	Haake C10, Thermo, Karlsruhe, Deutschland
Borosilikat-Glaskapillaren	GB150-8P, Science Products, Hofheim, Deutschland
Elektrodenziehgerät	PIP5, HEKA Elektronik, Lambrecht, Deutschland
Feldpotentialverstärker	EXT-08,DPA-2F, npi electronic, Tamm, Deutschland
Faraday-Käfig	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Frequenzgeber	Master-8, A.M.P.I., Jerusalem, Israel
Kaltlichtquelle	KL 1500 LCD, Schott, Mainz, Deutschland
Mikromanipulator	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Personalcomputer	Intel Pentium 4, Betriebssystem: Windows 2000
Platindraht,teflonbeschichtet	WPI, Sarasota, USA
Pulsstimulator	A365, WPI, Sarasota, USA
Rollenklemme	4063000, Braun, Melsungen, Deutschland
Schwingungsgedämpfter	53-534, TMC, Peabody, USA
Silberdraht 0,005 Zoll	Science Products, Hofheim, Deutschland
Stahlklingen	Campden Instruments, Campden, England
Stereomikroskop	Leica MZ 6, Leica, Wetzlar, Deutschland
Stimulationselektrode	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Vibrator	Integraslice 7550 MM , Campden Instruments, Campden, England

Tab.3: Materialien zur Datenanalyse

Material	Typenbezeichnung und Hersteller
Personalcomputer	Intel Pentium 4, Dell, Round Rock, USA
Betriebssystem	Windows XP, Microsoft, Redmond, USA
Microsoft Office	Version 2007, Microsoft, Redmond, USA
SigmaStat	Version 3.5, Systat Software, Chicago, USA
Signal	Version 2.16, CED, Cambridge, England

Tab.4: Verwendete Tiere

Tiere	Lieferant
Wistar-Ratten	Charles River, Sulzfeld, Deutschland

Tab.5: Begasung während der elektrophysiologischen Ableitung

Gas	Lieferant
Carbogen (95% O ₂ , 5% CO ₂)	Air Liquide, Stelle, Deutschland

Tab.6: Chemikalien zur Herstellung der Lösungen

Substanz	Produktkennung	Hersteller
CaCl ₂	C-5080	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
D-(+)-Glucose	G-7528	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
HCl 37%	100317	Merck, Darmstadt, Deutschland
KCl	P-9333	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
MgCl ₂	M-8266	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
NaHCO ₃	S-6297	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
NaCl	S-7653	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
NaH ₂ PO ₄	S-8282	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
NaOH, 1M	1091371000	Merck, Darmstadt, Deutschland
Sucrose	S-7903	Sigma, Taufkirchen, Deutschland

Tab.7: Verwendete Medikamente

Substanz	Produktkennung	Hersteller
Diethylether	8254	Mallinckrodt Baker, Deventer, Holland
Pilocarpin	P-6503	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
Scopolamin	S-2250	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
Diazepam 10mg/2ml		Ratiopharm, Ulm, Deutschland

Tab.8: Sonstiges

Gerät	Typenbezeichnung und Hersteller
Inkubationsgefäß	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Guillotine	Small Animal Decapitator, Stoelting, Wood Dale, USA
Kühl- und Gefrierschrank	Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland
Magnetrührer	RH basic 2, IKA, Staufen, Deutschland
Narkosekammer	Eigenbau, IPHYS, Univ.-Rostock, Deutschland
Osmometer	Automatic, Knauer, Berlin, Deutschland
pH-Meter	CG840, Schott, Mainz, Deutschland
Sekundenkleber	UHU, Bühl, Deutschland
Silikonschläuche	VWR international, West Chester, USA
Waage	MC1 analytic AC 1205, Sartorius, Göttingen, Deutschland

Tab.9: Zusammensetzung der verwendeten Lösungen

Substanz	Konzentration (mmol/l)		
	Präparationslösung	Versuchslösung (ACSF)	Ringerlösung
NaCl	125	125	154
NaHCO ₃	26	26	1
KCl	3	3	2.7
CaCl ₂	0.2	2.5	1.4
MgCl ₂	5	1.3	-
NaH ₂ PO ₄	1.25	1.25	-
Glukose	13	13	-

Die Osmolalität der Versuchs- und der Präparationslösung wurde mit Hilfe von Sucrose auf 306 bis 314 mosmol/kg, der pH mit Hilfe von HCl auf 7.4 eingestellt.

2.2 Methoden

Bei den Ratten, an denen die im Nachfolgenden beschriebenen Experimente durchgeführt wurden, handelt es sich um männliche Wistar-Ratten im Alter von 35 bis 120 Tagen. Die Tiere wurden alle unter den gleichen kontrollierten Bedingungen, d.h. in Einzelkäfigen, bei Temperaturen von 22-24°C und einem 12/12 Stunden hell/dunkel Rhythmus gehalten. Nahrung und Flüssigkeit standen jederzeit in unbegrenzter Menge zur Verfügung. Bei Eintreffen im Labor waren die Ratten ca. 30 Tage alt. Nach einer Eingewöhnungsphase von zwei bis drei Tagen wurden sie nach dem Zufallsprinzip entweder der Pilocarpin- oder der Kontrollgruppe zugeteilt.

2.2.1 Pilocarpinbehandlung

Im Alter von 32-35 Tagen wurden die Ratten der Pilocarpingruppe einer von Turski et al. 1983 beschriebenen Prozedur zur Induktion der Epilepsie unterzogen (Turski, et al., 1983). Hierzu wurde den Tieren zunächst Scopolamin (1mg/kg KG) intraperitoneal verabreicht. Scopolamin ist ein mACh-Rezeptor Antagonist, der die Blut-Hirn-Schranke nicht überwindet und somit die peripheren toxischen Effekte des 30min später applizierten Pilocarpins (340mg/kg KG) reduzieren hilft, ohne seine zentralnervöse Wirkung zu beeinträchtigen. Den Tieren, die im Anschluss an die erste Pilocarpininjektion nicht in einen Status epilepticus (SE), definiert als eine Periode ununterbrochenen Krampfens für die Dauer von mindestens 40 Minuten, verfielen, wurde nach einer Stunde noch einmal die Hälfte der initialen Pilocarpindosis (170mg/kg KG) nachinjiziert. Tiere, die weder nach der ersten noch nach der zweiten Pilocarpininjektion einen SE zeigten, wurden aus der Pilocarpingruppe aussortiert. An diesen Tieren wurden in der Folgezeit keine Experimente durchgeführt. Nach einer Dauer von 40 min wurde der SE zur Reduktion der Letalität durch intraperitoneale Applikation von 4mg Diazepam/kg KG beendet. Die Tiere wurden dann mit 5%iger Glucose-Lösung per os rehydriert und zur Erholung in ihren Käfig zurückgesetzt. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten sowohl die initiale Scopolamin-Injektion als auch das etwa 60-90 Minuten nach Beginn des Prozederes verabreichte Diazepam injiziert. An Stelle des Pilocarpins erhielten sie jedoch eine vor Ort hergestellte 1%-ige Ringer-Lösung. Wenn im Folgenden also von der Pilocarpingruppe die

Rede ist, so handelt es sich ausschließlich um die mit Pilocarpin behandelten Tiere, die einen Status epilepticus entwickelt haben.

2.2.2 Untersuchungsgruppen

Ein Teil der der Kontrollgruppe bzw. der Pilocarpingruppe zugehörigen Ratten wurde in den zwei auf die Pilocarpinbehandlung folgenden Wochen für Experimente verwendet. Diese Tiere befanden sich zum Zeitpunkt des Experiments noch innerhalb der Latenzphase zwischen verursachender Hirnschädigung (Pilocarpinapplikation und SE) und Chronifizierung des Anfallsgeschehens (siehe Abschnitt 2.2.11.2). Bei den verbleibenden Tieren wurde der Eintritt in die chronische Phase des Anfallsgeschehens abgewartet, bevor an ihnen Experimente durchgeführt wurden. Auf diese Weise entstanden, wie in Tab.10 zu sehen ist, vier Untersuchungsgruppen.

Tab.10: Die Untersuchungsgruppen

Alter	Gruppe mit Pilocarpin behandelte Tiere	Kontrollgruppe ohne Pilocarpinbehandlung
Junge Tiere (35-50 Tage)	„EPI lat.“	„KTR lat.“
Alte Tiere (60-120 Tage)	„EPI chr.“	„KTR chr.“

2.2.3 Anfertigung der Hirnschnitte

Die Anfertigung der Hirnschnitte erfolgte nach der von Arbuthnott 1985 beschriebenen Methode (Arbuthnott, et al., 1985). Die Versuchstiere wurden zunächst mit Hilfe von Diethylether betäubt und mit einer Guillotine dekapitiert. Im Anschluss wurde die Kopfhaut in Längsrichtung eröffnet und die Schädeldecke mitsamt Dura und Pia Mater mittels zweier seitlicher Schnitte durch die Hinterhauptbeine sowie eines medianen Schnittes entlang der Hirnlängsfurche mobilisiert und entfernt. Im nächsten Schritt wurde das Gehirn mitsamt dem Kleinhirn und dem Hirnstamm (Abb.5) entnommen und zur Vermeidung hypoxischer Schäden für 2-3 min in einer etwa 3°C kalten mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begasten Präparationslösung inkubiert. Zwischen Enthauptung und Überführung des Gehirns in das gekühlte Medium vergingen nicht mehr als 30 sec.

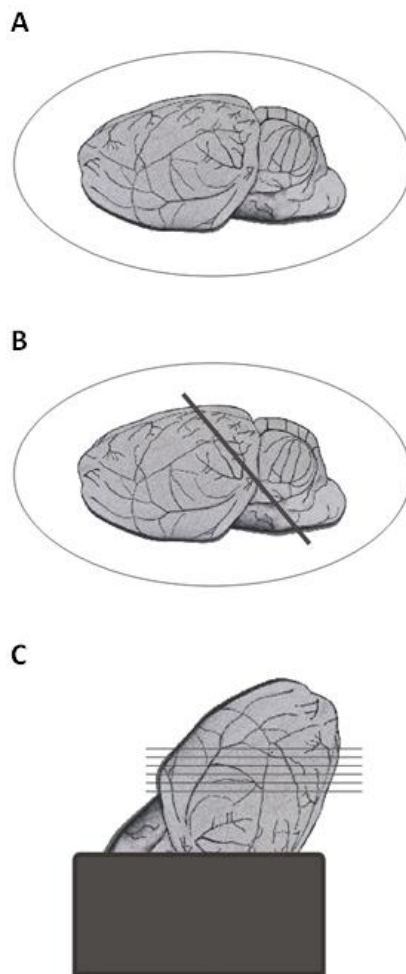


Abb.5: Anfertigung angulierter Hirnschnitte. Einzelheiten siehe Text.

Nach Ablauf der 2-3 min wurde das Gehirn der Präparationslösung wieder entnommen, um das Kleinhirn sowie den Hirnstamm wie in Abb.5 gezeigt in einem Winkel von etwa 40° zur Vertikalen abzutrennen. Danach wurde das Gehirn mit der so entstandenen Schnittfläche mit Hilfe von Sekundenkleber auf dem Schnittblock der Schneidekammer befestigt (Abb. 5).

Zur weiteren Kühlung wurde die Schnittkammer mit der Präparationslösung aufgefüllt und die Lösung, um den pH-Wert in ihr konstant zu halten, weiter mit Carbogen begast. Nun konnten mit Hilfe eines Vibratoms etwa 500µm dicke Hirnschnitte angefertigt werden (Abb.5). In diesen blieben wie Abb.7 illustriert Motorcortex, das Striatum sowie die cortikostriatalen Fasern intakt (Arbuthnott, et al., 1985); siehe dazu auch Kawaguchi et al. 1989. Die fertigen Hirnschnitte

wurden dann unter Verwendung einer stumpfen Pipette aus der Schnittkammer des Vibratoms in ein mit künstlichem CSF gefülltes Inkubationsgefäß überführt, in diesem unter permanenter Carbogenbegasung für mindestens 60 min bei Raumtemperatur aufbewahrt und dann in die Untersuchungskammer transferiert.

2.2.4 Herstellung der Ableitelektrode

Die Ableitelektrode bestand aus einer mit künstlichem CSF gefüllten, an der Spitze offenen Glasmikropipette, in die ein mit dem Verstärker verbundener Silberdraht eingeführt wurde. Die Glasmikropipette wurde mit Hilfe eines vertikalen Pipettenziehgerätes (PIP5) aus Borosilikat-Röhrchen so gezogen, dass der Elektrodenwiderstand 2-3 Ω betrug.

2.2.5 Herstellung der Stimulationselektrode

Die Stimulationselektrode bestand aus zwei miteinander verdrehten und mit Sekundenkleber aneinander gehefteten teflonbeschichteten Platindrähten,

wobei die Drähte an einem Ende der Elektrode abisoliert wurden, um sie über ein Kabel an den Stimulator anschließen zu können.

2.2.6 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau ist in Abb.6 dargestellt. Die Messkammer, in der der Hirnschnitt (B) während der Zeit der elektrophysiologischen Ableitung lag, stand auf einem schwingungsgedämpften Tisch und wurde durch einen geerdeten Faradaykäfig gegen elektromagnetische Wellen von außen abgeschirmt. Die Kammer diente dazu, das Versuchspräparat stabil zu lagern, mittels der Carbogenbegasung eine kontinuierliche Sauerstoffversorgung sicher zu stellen, über den durchströmenden künstlichen CSF die wichtigsten Nährstoffe

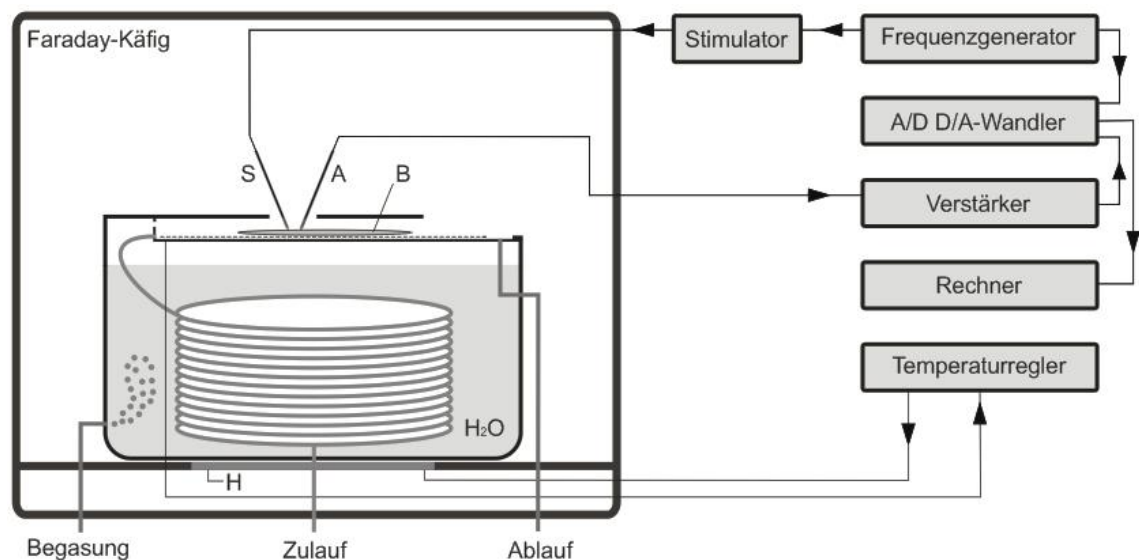


Abb.6: Der Versuchsaufbau mit Stimulationselektrode (S), Ableitelektrode (A), Hirnschnitt (B) und Heizelement (H).

zuzuführen sowie die Temperatur konstant zu halten. Die kontinuierliche Befeuchtung des Schnittes erfolgte durch einen sauerstoffgesättigten künstlichen CSF, der über den Zulauf mit einer konstanten Geschwindigkeit von etwa 2ml/min in die Kammer strömte und über den Ablauf die Kammer wieder verließ (siehe Abb.6). Reguliert wurde die Fließgeschwindigkeit über eine sog. Rollenklemme. Die Temperatur innerhalb der Kammer wurde mit Hilfe des Temperaturreglers und eines mit diesem verbundenen Heizelementes (H) konstant bei 32°C gehalten. Die kontinuierliche Temperaturmessung in der Kammer erfolgte über einen dort installierten Sensor.

2.2.7 Elektrophysiologische Messung

Zur Untersuchung der synaptischen Übertragung wurden durch den Frequenzgenerator im Abstand von 30 Sekunden Doppelpulse generiert. Der Abstand zwischen den beiden Einzelpulsen betrug 50ms. Durch den Stimulator wurden diese Doppelpulse in Strompulse von 10-50 mA Intensität gewandelt und über die Stimulationselektrode in den Schnitt appliziert. Die Stimulation

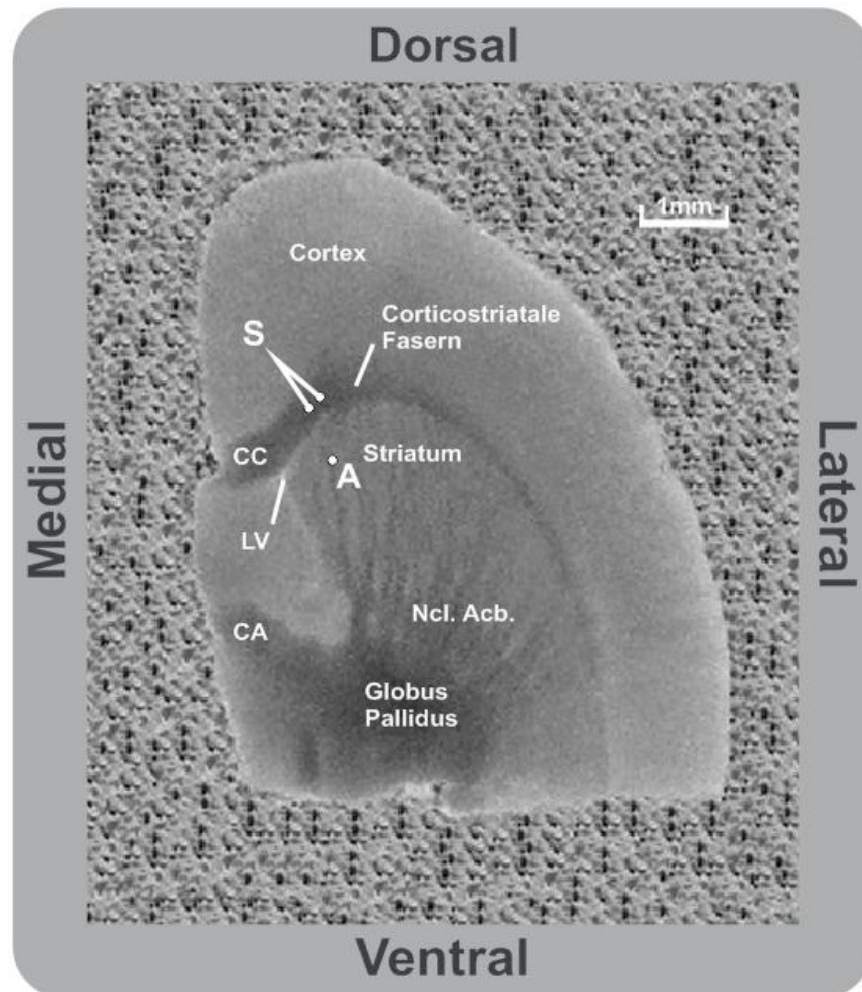


Abb.7: Photographische Darstellung eines Hirnschnittes mit: Cortex, corticostriatalem Faserbündel, Striatum mit Ncl. Accumbens (Ncl. Acb.), Globus Pallidus, Commissura anterior (CA), lateralem Ventrikel (LV), Corpus Callosum, (CC), Stimulationsort (S), Ableitungsort der postsynaptischen Potentiale (A).

erfolgte, wie Abb.7 zu entnehmen ist, im dorsomedialen Bereich der weißen Substanz zwischen Cortex und Striatum, wo sich die Axone der vom Cortex zum Striatum projizierenden Nervenzellen befinden. Die Ableitung der postsynaptischen Summenaktionspotentiale erfolgte ca. 0,8mm entfernt davon, innerhalb des Striatums. Die abgeleiteten Potentiale wurden im Anschluss zunächst verstärkt, mittels eines Analog-Digital (A/D) – Wandlers digitalisiert, in

einen PC eingespeist und dann, mit Hilfe des Programmes Signal (Version 2.03), aufgezeichnet. Die Darstellung erfolgte in einem zweidimensionalen Graphen wobei die Potentialgröße in mV über die Zeit aufgetragen wurde.

2.2.8 Durchführung der Experimente

Nach dem Transfer der Hirnschnitte aus dem Aufbewahrungsgefäß in die Untersuchungskammer wurden die Schnitte zur Stabilisierung zunächst weitere 30 min bei 32°C und ausreichender Flüssigkeits-, Sauerstoff- und Nährstoffversorgung inkubiert. Um im Anschluss an diese Inkubationszeit die Stimulationsstärke zur Erfassung der basalen synaptischen Übertragung festzulegen, wurde zunächst die Beziehung zwischen Reizstärke und Amplitude der synaptisch vermittelten Antwort (Input/Output-Kurve) ermittelt. Nach Positionierung der Elektroden wurde zu diesem Zweck die Stärke des über die Stimulationselektrode applizierten Reizes schrittweise von 0mA bis zu dem Wert erhöht, ab dem eine weitere Erhöhung zu keiner weiteren Verstärkung der über die Ableitelektrode abgegriffenen postsynaptischen Potentiale geführt hat. Ausgehend von diesem Sättigungswert wurde die Stimulus-Intensität halbiert und über mindestens 20 min die synaptischen Antworten aufgezeichnet. Diese Werte ergaben den Kontrollwert der synaptisch vermittelten Feldpotentiale vor Applikation des Hochfrequenzstimulus. Bei den zur Induktion der synaptischen Langzeitplastizität eingesetzten Stimulations-Protokollen handelte es sich um drei unterschiedliche Hochfrequenzprotokolle. Nach erfolgter HFS-Applikation wurde die synaptische Übertragung für weitere 50 min aufgezeichnet.

2.2.9 Stimulationsprotokolle

Tab.11: Stimulationsprotokolle zur Induktion synaptischer Plastizität

Protokoll	Richtung der Induzierten Plastizität
1:100Hz, 3x1s, Abstand 20s, halbe Sättigungsintensität	LTP/LTD
2:100Hz, 4x1s, Abstand 10s, halbe Sättigungsintensität	LTP/LTD
3:100Hz, 3x3s, Abstand 20s, doppelte Sättigungsintensität	LTD

2.2.10 Auswertung der Versuchsergebnisse

Für die Analyse und graphische Darstellung der Versuchsergebnisse wurden die Daten eines jeden Experimentes in Relativwerte umgewandelt. Hierfür wurde die Steigung als Maß für die Größe eines jeden abgeleiteten Summenaktionspotentials in Relation gesetzt zur durchschnittlichen Steigung der entsprechenden Summenaktionspotentiale (S_1 bzw. S_2 , siehe Abb.8) während der letzten zehn Minuten vor Applikation des HFS. Die der statistischen Auswertung und graphischen Darstellung der Ergebnisse zugrundeliegenden Daten sind also innerhalb eines jeden Experimentes auf die Stärke der mittleren synaptische Übertragung vor Applikation des HFS genormte Relativwerte, die Veränderungen prozentual in Bezug auf diesen Ausgangswert beschreiben.

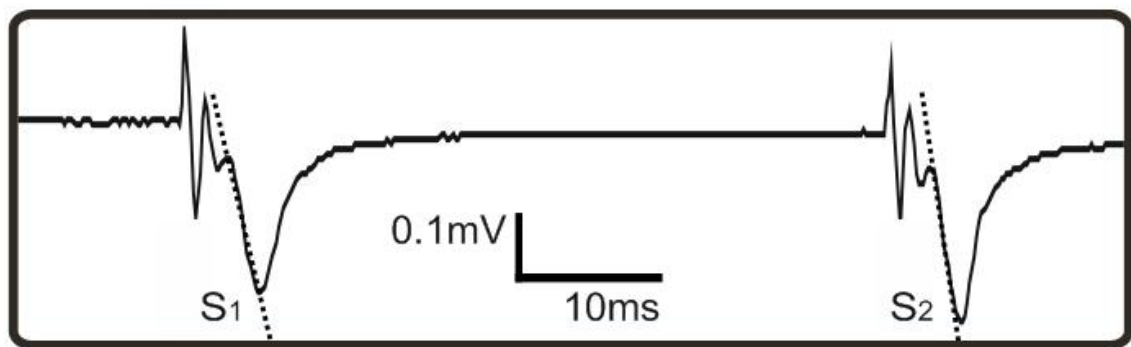


Abb.8: Doppelpuls mit konsekutiven Summenaktionspotentialen. Zu erkennen ist eine moderate Doppelpulsbahnung ($S_2 > S_1$). S_1 u. S_2 , dargestellt als gestrichelte Linien kennzeichnen die Steigung des absteigenden Schenkels des Summenaktionspotentials und stellen damit ein Maß für dessen Größe dar.

Auf dieser Grundlage wurden zur Auswertung der cortikostriatalen Langzeitplastizität innerhalb einer jeden Untersuchungsgruppe für jeden Messzeitpunkt vor und nach Applikation des HFS Mittelwerte aus den zu den jeweiligen Messzeitpunkten gehörenden Werten der einzelnen ($=n$) Experimente gebildet. Die so erhaltenen Mittelwerte waren Grundlage der weiteren statistischen Analyse und graphischen Darstellung.

Zur Untersuchung der Kurzzeitplastizität (Doppelpulsbahnung) wurden die relativen Steigungen des ersten Doppelpuls-induzierten Summenaktionspotentials (S_1) zu denen des zweiten (S_2) ins Verhältnis gesetzt und anschließend Mittelwerte gebildet. Diese so für jede Untersuchungsgruppe errechneten Mittelwerte wurden dann miteinander verglichen und auf Unterschiede hin statistisch analysiert.

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte mit den Programmen Signal, Version 2.16, MS Excel 2007 und SigmaStat, Version 3.5. Um die statistische Signifikanz von Unterschieden und Veränderungen zwischen und innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen zu prüfen, fanden t-Test, U-Test nach Mann und Whitney sowie die univariate Varianzanalyse (ANOVA) Verwendung. Signifikante Unterschiede wurden ab einem p-Wert von $<0,05$ angenommen.

2.2.11 Das Pilocarpinmodell der Temporallappenepilepsie

Das Pilocarpinmodell der Temporallappenepilepsie (TLE) ist ein weitverbreitetes Modell zur Erforschung der pathophysiologischen Grundlagen und der Möglichkeiten therapeutischer Interventionen bei komplex-partiellen epileptischen Anfällen, deren ictogener Focus sich im Temporallappen befindet. Zuerst beschrieben wurde das Pilocarpinmodell der TLE 1983 von Turski et al. (Turski, et al., 1983).

2.2.11.1 Pathophysiologische Aspekte

Das Vermögen des Pilocarpins, einen Status epilepticus und damit die initiale Hirnschädigung zu verursachen, wird seiner aktivierenden Wirkung auf muskarinerge M1-Rezeptoren zugeschrieben (Hamilton, et al., 1997). Experimente, die an in vitro gezüchteten hippocampalen Neuronen durchgeführt wurden, konnten zeigen, dass die Aktivierung dieser Rezeptoren zu einem Ungleichgewicht von exzitatorischer und inhibitorischer neuronaler Aktivität führt, die in vivo der Induktion des Status Epilepticus zugrunde liegt (Priel, et al., 2002). Mikrodialyse-Untersuchungen konnten darüber hinaus zeigen, dass es im Verlauf des durch Pilocarpingabe hervorgerufenen SE zu einer vermehrten Ausschüttung von Glutamat innerhalb des Hippocampus kommt (Smolders, et al., 1997), das über eine verstärkte Aktivierung von NMDA-Rezeptoren zu Veränderungen innerhalb des Hippocampus führt, die für die Chronifizierung der epileptischen Anfälle eine wichtige Rolle spielen (Smolders, et al., 1997).

2.2.11.2 Sonstiges

Nach der initialen Hirnschädigung durch den Status epilepticus im Rahmen der bereits beschriebene Pilocarpinbehandlung durchlaufen die Ratten eine etwa 14 Tage währende Latenzzeit, während der sie sich weitgehend normal

verhalten (Cavalheiro, et al., 1991). Im Anschluss an diese Latenzzeit beginnt die Phase der Chronifizierung mit wiederkehrenden spontanen i.d.R. sekundär generalisierten Anfällen, siehe dafür auch Abb.9.

Ein wesentlicher Grund für die weite Verbreitung des Pilocarpinmodells der Temporallappenepilepsie als Modell zur Erforschung der humanen TLE liegt in der guten Abbildung von Ätiologie, zeitlichem Verlauf und Pathohistologie. So lassen sich die wesentlichen Charakteristika der TLE (a) ein iktogener Fokus

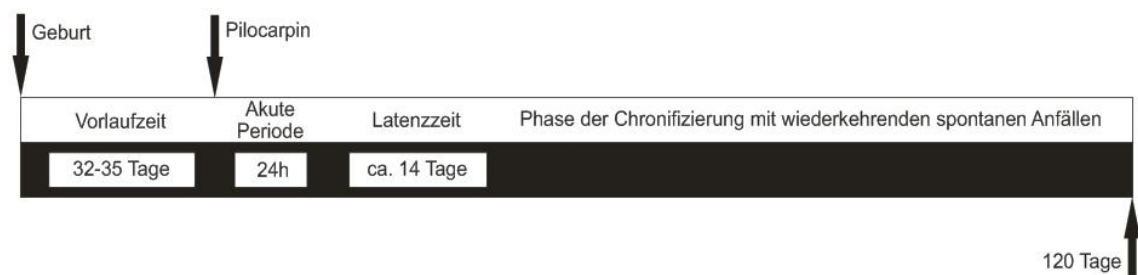


Abb.9: Phasen der TLE in dem hier verwendeten Tiermodell: Akute Phase, Latenzzeit und Chronische Phase der Temporallappenepilepsie hervorgerufen durch eine oder mehrere intraperitoneale Pilocarpininjektionen im Alter von 32-35 Tagen. Einzelheiten siehe Text.

innerhalb des limbischen Systems, vorzugsweise im Hippocampus, dem entorhinalen Cortex oder der Amygdala (Bartolomei, et al., 2005), (b) die häufig zu eruiende verursachende Hirnschädigung zu einem früheren Zeitpunkt (Mathern, et al., 2002), (c) die Latenz zwischen verursachender Schädigung und der Entwicklung der chronischen Epilepsie und schließlich (d), die hohe Inzidenz einer hippocampalen Sklerose, auch im Pilocarpinmodell der TLE beobachten.

3 Ergebnisse

Um zu untersuchen, welchen Einfluss der durch die Pilocarpin-Injektion hervorgerufene initiale Status epilepticus und die durch diesen induzierten im weiteren Krankheitsverlauf rezidivierend auftretenden generalisierten epileptischen Anfälle auf die Kurz- und Langzeitplastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse ausüben, wurden Doppelpulsverhalten sowie die durch afferente Hochfrequenzstimulation induzierte Langzeitpotenzierung (LTP) und Langzeitdepression (LTD) analysiert.

3.1 Synaptische Kurzzeitplastizität

In einem ersten Schritt erfolgte die Auswertung der Daten auf die Frage hin, ob sich in Bezug auf das Doppelpulsverhalten als Maß für kurzzeitige Veränderungen der synaptischen Übertragung Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen nachweisen ließen.

Zunächst wurde das Doppelpulsverhalten von pilocarpinbehandelten Tieren mit dem von Tieren aus der Kontrollgruppe während der Latenzzeit verglichen. Wie in Abb.10A dargestellt, ließ sich für die Gruppe der pilocarpinbehandelten Tiere eine moderat stärkere Doppelpulsbahnung nachweisen ($113,29 \pm 6,67$, $n=23$ vs. $127,95 \pm 5,68$, $n=23$; Mittelwert \pm Standardfehler) ein Unterschied, der sich statistisch aber als nicht signifikant erwies (t-Test, $p=0,1$). Der Vergleich des Doppelpulsverhaltens von pilocarpinbehandelten Tieren mit dem der Tiere aus der Kontrollgruppe während der chronischen Phase der Temporallappenepilepsie (Abb.10C) führte zu einem ähnlichen Ergebnis: Auch hier zeigte sich eine moderat stärkere Doppelpulsbahnung bei den pilocarpinbehandelten Tieren ($101,28 \pm 3,61$, $n=21$ vs. $119,1 \pm 6,92$, $n=24$; Mittelwert \pm Standardfehler) ein Unterschied, der sich jedoch statistisch ebenfalls als nicht signifikant erwies (t-Test, $p=0,19$).

Weitere statistische Analysen ergaben auch für den Vergleich von jungen und alten Kontrolltieren ($113,29 \pm 6,67$, $n=23$ vs. $101,28 \pm 3,61$, $n=21$, $p=0,52$) sowie den Vergleich von jungen und alten Tieren der pilocarpinbehandelten Gruppe ($127,95 \pm 5,68$, $n=23$ vs. $119,1 \pm 6,92$, $n=24$, $p=0,33$) keine statistisch signifikanten Unterschiede (t-Test).

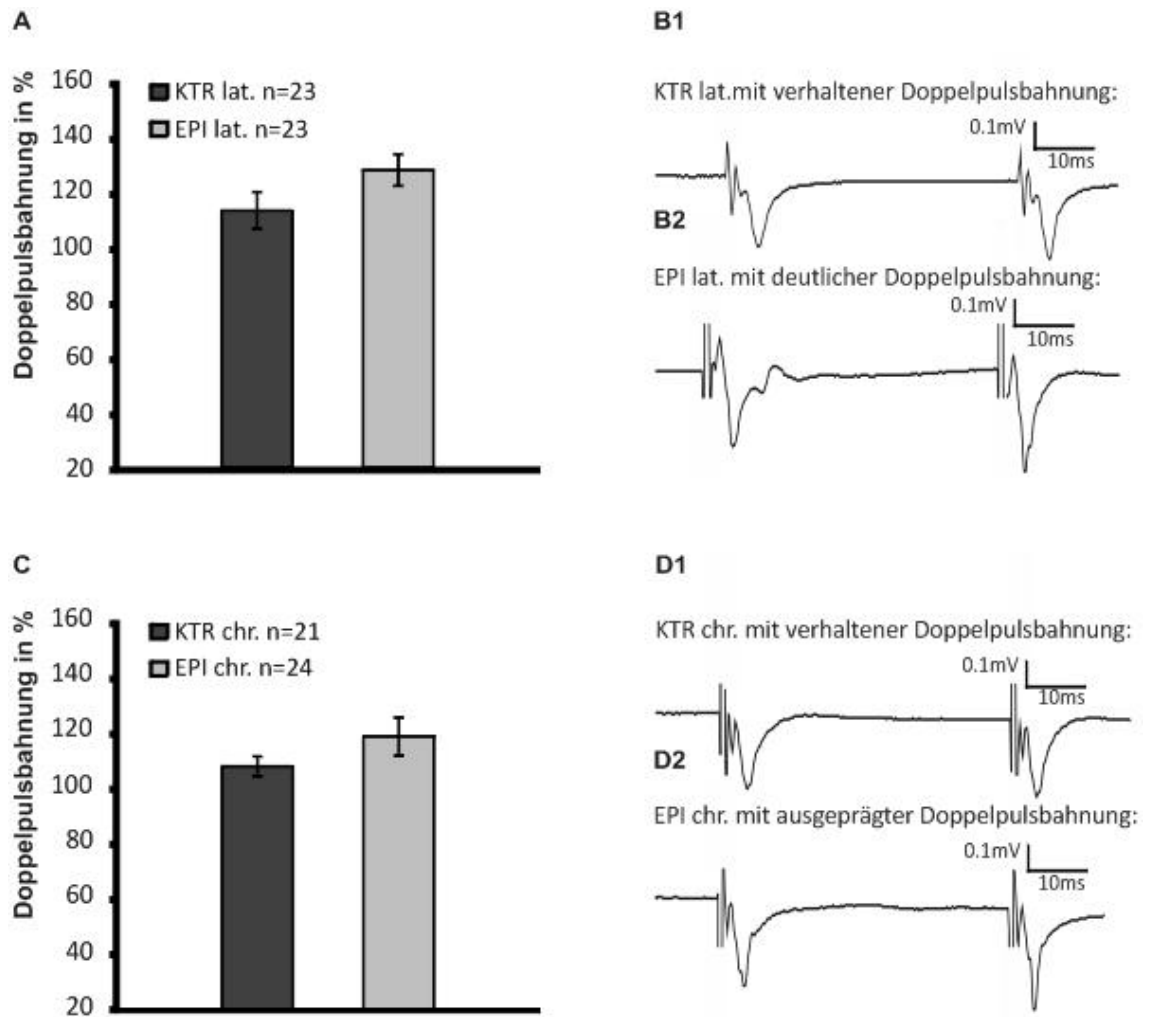


Abb.10: Graphische Darstellung des Doppelpulsverhaltens als Maß für die cortikostriatale Kurzzeitplastizität. A. Das Balkendiagramm zeigt eine Gegenüberstellung der Doppelpulsbahnung pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit (Mittelwerte \pm Standardfehler). B1u.B2. Originalspuren evozierter Summenaktionspotentiale mit Doppelpuls und einem Interstimulusintervall von 50ms. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (KTR lat.) zeigen die pilocarpinbehandelten (EPI lat.) Tiere eine ausgeprägtere Doppelpulsbahnung. C. Das Balkendiagramm zeigt eine Gegenüberstellung der Doppelpulsbahnung pilocarpinbehandelter (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.) in der chronischen Phase der Epilepsie (Mittelwerte \pm Standardfehler). D1u.D2. Wie B1u.B2. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (KTR chr.) zeigen die pilocarpinbehandelten (EPI chr.) Tiere eine ausgeprägtere Doppelpulsbahnung.

3.2 Synaptische Langzeitplastizität

Im Anschluss an die Untersuchungen zur synaptischen Kurzzeitplastizität erfolgte die Analyse der gewonnenen Daten in Hinblick auf Pilocarpin- bzw. epilepsieassoziierte Veränderungen der synaptischen Langzeitplastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse. Wie bereits beschrieben, kamen zur

Induktion der langzeitplastischen Veränderungen drei verschiedene HFS-Protokolle zum Einsatz.

3.2.1 Protokoll 1

Bei Stimulationsprotokoll 1 wurde dreimalig mit einer Frequenz von 100Hz für die Dauer von einer Sekunde stimuliert. Die Pause zwischen den drei Stimuli betrug 20 Sekunden, die Stimulationsstärke lag bei der Hälfte der Sättigungsintensität.

3.2.1.1 Latenzzeit

In Abb.11A sind die auf diese Weise induzierten langanhaltenden Veränderungen der synaptischen Übertragung pilocarpinbehandelter Ratten (EPI lat.) im Vergleich zu denen gesunder Tiere aus der Kontrollgruppe (KTR lat.) während der Latenzzeit dargestellt. Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). Bei den angegebenen Mittelwerten handelt es sich um relative Werte, die sich auf die Stärke der synaptischen Übertragung vor Applikation der HFS beziehen (=100%). Wie der Abbildung zu entnehmen ist, kommt es im Anschluss an die HFS zu einer passageren Verstärkung der synaptischen Übertragung, die sich im weiteren Verlauf aber weitgehend zurückbildet. Während sich bei den pilocarpinbehandelten Ratten (EPI lat.) über die letzten zehn Minuten vor Ende des Experimentes noch eine Erhöhung der synaptischen Stärke (LTP) von etwa 10% im Vergleich zum Ausgangswert feststellen ließ ($110,03 \pm 9,65$, $n=7$) (Abb.11B) fiel die Stärke der synaptischen Übertragung bei den Tieren der Kontrollgruppe (KTR lat.) im gleichen Zeitraum auf den Ausgangswert zurück ($99,55 \pm 4,71$, $n=8$). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen erwiesen sich jedoch als nicht signifikant (t-Test, $p=0,328$; U-Test, $p=0,336$). Abb. 11C1 und 11C2 zeigen beispielhaft Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale. Übereinander projiziert wurden für jede der beiden Abbildungen zwei Originalregistrierungen, die im Rahmen eines Experimentes aufgezeichnet worden waren, wobei eine Spur aus dem Zeitraum vor, die andere aus dem Zeitraum nach Applikation des HFS stammte.

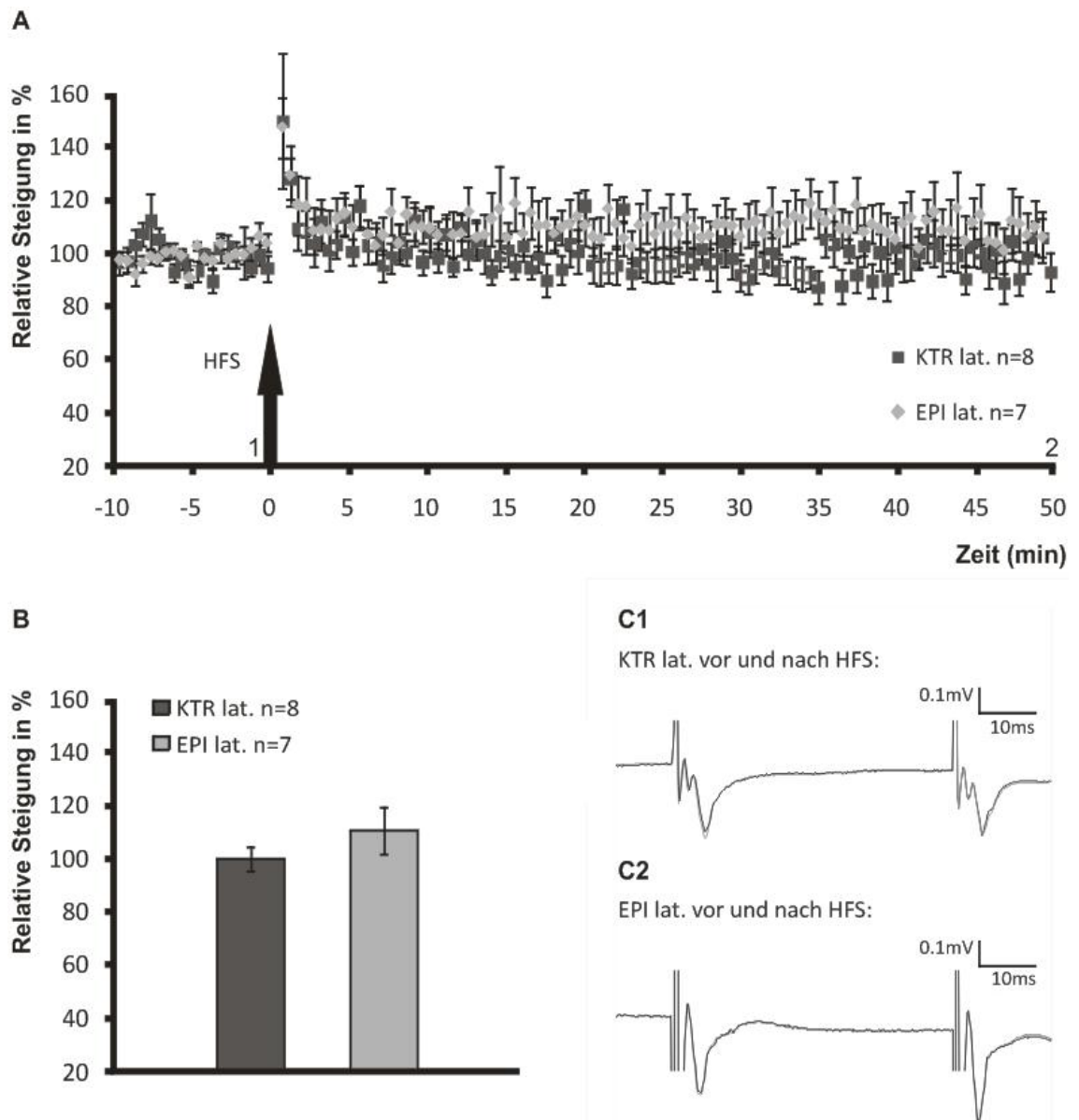


Abb.11: Protokoll 1, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit. Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (3x1s 100Hz, 20s Intervall). A. Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). B. Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). C. Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten (1) und (2); C1. Kontrollgewebe un behandelter, gesunder Ratten. C2. Epileptisches Gewebe.

3.2.1.2 Chronische Phase

Abb.12A zeigt die langanhaltenden Veränderungen der synaptischen Übertragung pilocarpinbehandelter Ratten (EPI chr.) im Vergleich zu denen gesunder Tiere aus der Kontrollgruppe (KTR chr.) während der Zeit der

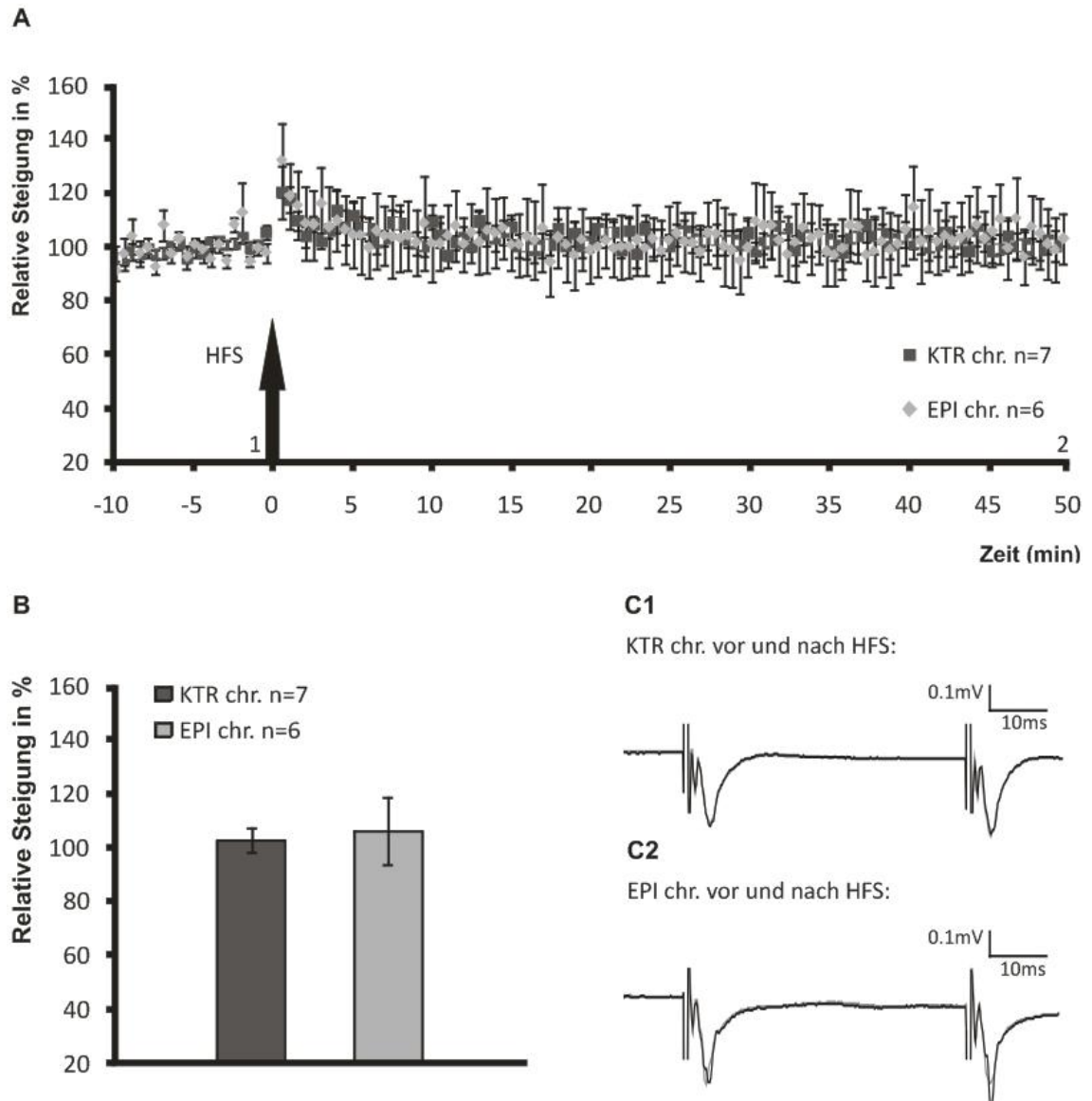


Abb.12: Protokoll 1, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunden Ratten (KTR chr.). Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (3x1s 100Hz, 20s Intervall). **A.** Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **B.** Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **C.** Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten 1 und 2; **C1.** Kontrollgewebe unbehandelter, gesunder Ratten. **C2.** Epileptisches Gewebe.

chronischen Phase der Epilepsie. Das Punktdiagramm zeigt analog zu Abb. 11A die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). Wie auf den ersten Blick zu erkennen ist sind insgesamt nur leichte Veränderungen der synaptischen Übertragung festzustellen. Über die letzten zehn Minuten der

Experimente lässt sich im Mittel eine Zunahme der synaptischen Stärke von 1,7% ($101,73 \pm 4,38$, $n=7$) für Ratten der Kontrollgruppe und von 4,9% ($104,87 \pm 13,67$, $n=6$) für Ratten aus der pilocarpinbehandelten Gruppe verzeichnen (Abb. 12B). Statistisch (t-Test/U-Test) sind die beobachteten Unterschiede im Verhalten der Hirnschnitte auf den applizierten HFS nicht signifikant ($p=0,82/p=0,73$). Abb. 12C1 und 12C2 zeigen analog zu Abb. 11C1 und 11C2 übereinandergelegte beispielhafte Originalregistrierungen.

Graphisch nicht dargestellt ist der Vergleich von Veränderungen der synaptischen Übertragung zwischen jungen (KTR lat.) und alten Tieren der Kontrollgruppe (KTR chr.) sowie zwischen jungen (EPI lat.) und alten Tieren der pilocarpinbehandelten Gruppe (EPI chr.). In beiden Fällen ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen (t-Test; $p=0,75$ vs. $p=0,76$). Ein ebenfalls durchgeführter U-Test bestätigte diesen Befund ($p=0,53$ vs. $p=0,53$).

3.2.2 Protokoll 2

Bei Einsatz von Stimulationsprotokoll 2 wurde viermalig mit einer Frequenz von 100Hz für die Dauer von einer Sekunde stimuliert. Das Interstimulusintervall betrug zehn Sekunden. Die Stimulationsstärke betrug 50% der zuvor ermittelten Sättigungsintensität.

3.2.2.1 Latenzzeit

Während es nach Applikation des ersten Stimulationsprotokolls tendenziell zu einer Verstärkung der synaptischen Übertragung (LTP) im Bereich der cortikostriatalen Synapse, kam zeigte sich bei Verwendung des zweiten Stimulationsprotokolls in der Kontrollgruppe eine Schwächung der synaptischen Signaltransmission (LTD; Abb. 13A). Während die Stärke der Signalübertragung zwischen Cortex und Striatum zum Ende der Ableitung in der Gruppe der pilocarpinbehandelten Tiere (EPI lat.) auf dem Niveau vor Applikation des HFS rangierte ($101,97 \pm 9,0$, $n=10$) zeigte sich in der Kontrollgruppe (KTR lat.) eine leichte Abnahme der synaptischen Stärke ($86,11 \pm 6,58$, $n=9$). Das Balkendiagramm in Abb.13B verdeutlicht diesen Sachverhalt, indem es die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Versuchsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS gegenüberstellt (Mittelwerte \pm

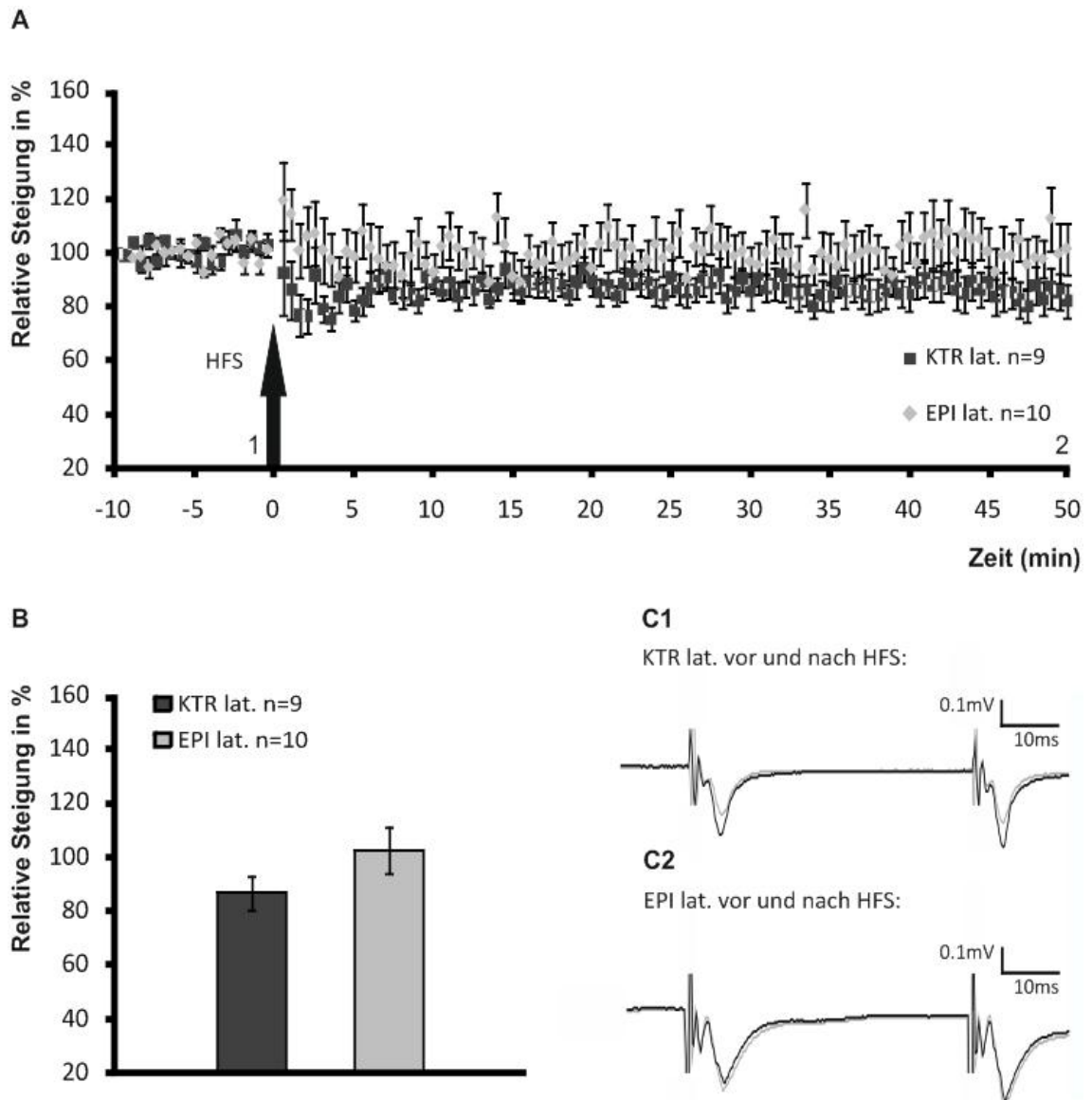


Abb.13: Protokoll 2, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit. Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (4x1s 100Hz, 10s Intervall). A. Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). B. Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). C. Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten 1 und 2; C1. Kontrollgewebe unbehandelter, gesunder Ratten. C2. Epileptisches Gewebe.

Standardfehler). Wie sich nach statistischer Analyse der Daten zeigte, sind die augenscheinlichen Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsgruppen jedoch nicht signifikant (t-Test, $p=0,18$; U-Test, $p=0,24$). Bei Abb. 13C1 und C2 handelt es sich, wie weiter oben bereits beschrieben, um übereinandergelegte beispielhafte Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale, die

die in Abb.13A bereits erkennbare Modifikation der synaptischen Übertragung am Einzelfall veranschaulichen.

3.2.2.2 Chronische Phase

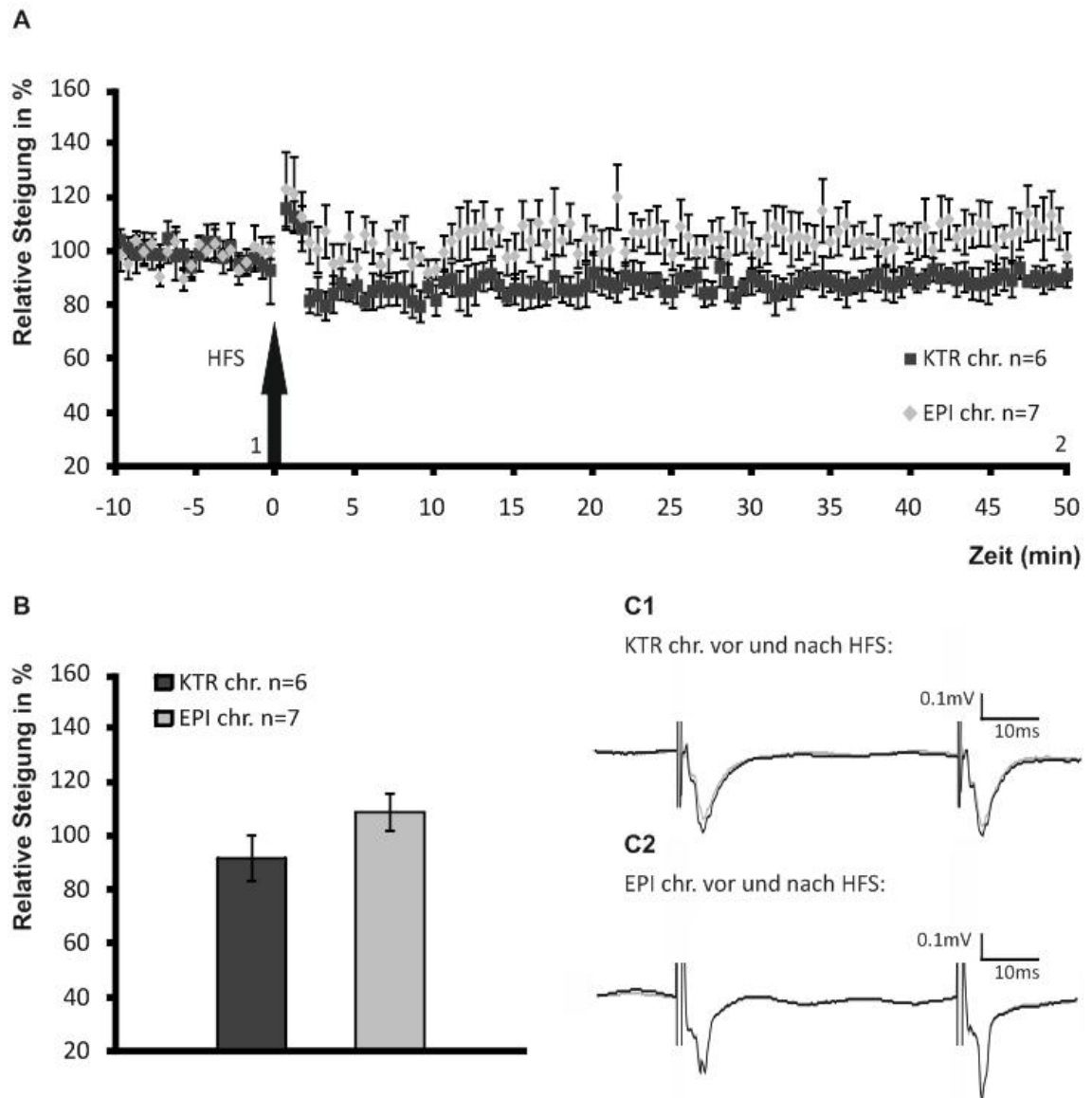


Abb.14: Protokoll 2, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.). Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (4x1s 100Hz, 10s Intervall). **A.** Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **B.** Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **C.** Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten 1 und 2; C1. Kontrollgewebe unbehandelter, gesunder Ratten. C2. Epileptisches Gewebe.

Die Anwendung des zweiten Stimulationsprotokolls während der chronischen Phase der pilocarpininduzierten Temporallappenepilepsie (TLE) führte zu einer

Betonung der schon in der Latenzphase mit diesem Protokoll festgestellten Unterschiede zwischen kranken und gesunden Tieren. Wie aus Abb.14.A ersichtlich, neigten Hirnschnitte von epileptischen Tieren (EPI chr.) in Folge des applizierten Stimulus zu einer Verstärkung der synaptischen Übertragung (LTP). Während der letzten zehn Minuten der Experimente belief sich diese Zunahme der synaptischen Stärke im Mittel noch auf etwa 12% ($108,6 \pm 6,94$, $n=7$). Im Gegensatz dazu zeigte sich in den Hirnschnitten der Kontrolltiere (KTR chr.) weiterhin eine tendenzielle Abnahme der synaptischen Stärke um etwa 9% ($90,95 \pm 9,09$, $n=6$). Abbildung 14B verdeutlicht diesen Sachverhalt. Da die Variabilität der Versuchsergebnisse innerhalb beider Gruppen, wie auch die angegebenen Standardfehler zeigen, anhaltend groß war, ergaben weder t-Test noch U-Test signifikante Unterschiede zwischen den beiden hier untersuchten Gruppen (t-Test, $p=0,16$; U-Test, $p=0,23$).

Auf eine graphische Darstellung von Unterschieden zwischen jungen (KTR lat.) und alten (KTR chr.) Kontrolltieren sowie zwischen jungen (EPI lat.) und alten (EPI chr.) pilocarpinbehandelten Tieren wurde verzichtet, zum einen weil altersbedingte Veränderungen der corticostriatalen synaptischen Plastizität nicht im Fokus dieser Untersuchung standen, zum anderen aber auch weil sich hier ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen ausmachen ließen (t-Test, $p=0,66$ vs. $p=0,4$ / U-Test, $p=0,6$ vs. $p=0,54$).

3.2.3 Protokoll 3

Im Unterschied zu den ersten beiden Protokollen wurde für Protokoll 3 die Stimulationsintensität während des HFS - ausgehend von der mit Hilfe der Input/Output-Kurve ermittelten Sättigungsintensität - nicht halbiert, sondern verdoppelt. Gereizt wurde während der HFS also mit doppelter Sättigungsintensität, dreimal hintereinander, über eine Dauer von drei Sekunden. Das Interstimulusintervall betrug 20 Sekunden.

3.2.3.1 Latenzzeit

Wie in Abb.15A dargestellt führte diese im Vergleich zu den beiden zuvor beschriebenen Stimulationsprotokollen ungleich intensivere Aktivierung synaptischer Prozesse zu deutlichen und langanhaltenden Veränderungen der

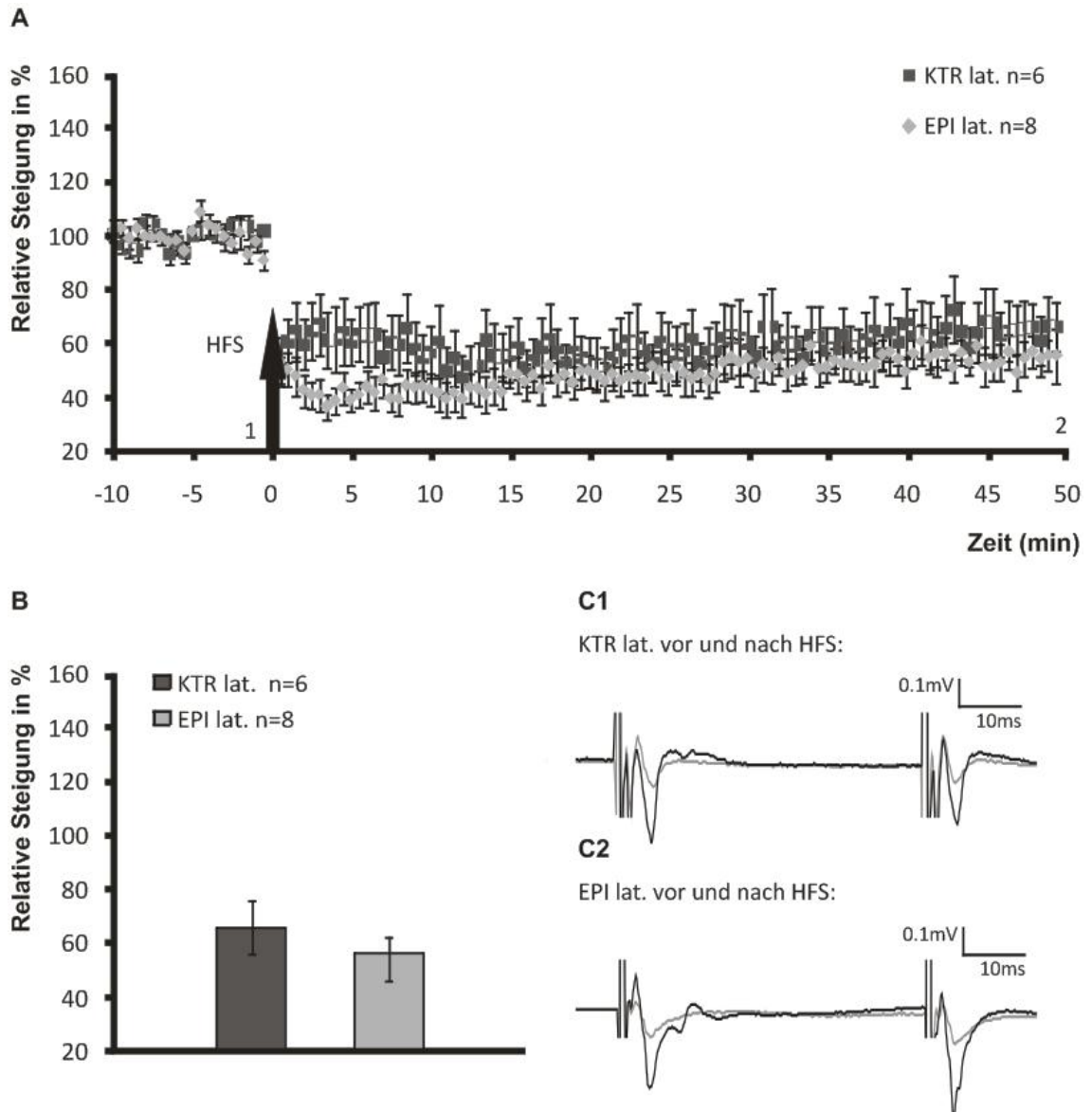


Abb. 15: Protokoll 3, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpin-behandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit. Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (3x3s 100Hz, 20s Intervall). A. Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). B. Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). C. Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten 1 und 2; C1. Kontrollgewebe unbehandelter, gesunder Ratten. C2. Epileptisches Gewebe.

Signalübertragung. Sowohl die Tiere der Kontrollgruppe (KTR lat.) als auch die der pilocarpin-behandelten Gruppe (EPI lat.) zeigten im Anschluss an die HFS im Vergleich zum Ausgangswert eine deutliche Abschwächung der synaptischen Signaltransmission (LTD). Veranschaulichen tut dies auch Abb.15B, die zeigt, dass sich die Stärke der synaptischen Signalübertragung

während der letzten zehn Minuten der Ableitung in der Gruppe der Kontrolltiere (KTR lat.) im Mittel um etwa 35% ($64,93 \pm 10,02$, $n=6$) reduzierte. Bei den Hirnschnitten der Tiere aus der pilocarinbehandelten Gruppe (EPI lat.) wurde eine noch ausgeprägtere Reaktion beobachtet. Die Stärke der synaptischen Übertragung verringerte sich bei ihnen im Anschluss an den HFS im Mittel um etwa 45% ($55,18 \pm 5,87$, $n=8$). Im Vergleich zu den beiden bereits besprochenen Stimulationsprotokollen führte die Anwendung von Protokoll 3 zu einer wesentlich stärkeren Modifikation der synaptischen Signalübertragung. Unabhängig davon führte die statistische Analyse der Unterschiede zwischen den beiden hier gegeneinander getesteten Gruppen jedoch zu keinen signifikanten Ergebnissen. Die in Abb.15A u. B auffallend ausgeprägte Reaktion der pilocarpinbehandelten Tiere auf den HFS erweist sich aufgrund der hohen Variabilität der Ergebnisse in beiden Untersuchungsgruppen als statistisch nicht signifikant (t-Test, $p=0,43$; U-Test, $p=0,57$).

3.2.3.2 Chronische Phase

Wie in den Experimenten, die an Tieren im Alter von 35-50 Tagen durchgeführt wurden reagierten auch die Hirnschnitte von Tieren aus der älteren Versuchsgruppe mit einer deutlichen Reduktion der synaptischen Signalübertragung auf den HFS entsprechend Protokoll 3. Während sich die synaptische Signalübertragung in der Gruppe der Kontrolltiere in der Latenzzeit (KTR lat.) um etwa 35% ($64,93 \pm 10,02$, $n=6$) verringerte, wurde in der älteren Vergleichsgruppe (KTR chr.) eine noch ausgeprägtere Reaktion beobachtet. Die Stärke der synaptischen Übertragung verringerte sich bei diesen Tieren zum Ende der Ableitungen hin (siehe Abb.16 B) im Durchschnitt um über 54% ($45,67 \pm 6,3$, $n=8$). Im Gegensatz dazu bewegte sich die Abnahme der synaptischen Stärke innerhalb der älteren Gruppe pilocarpinbehandelter Tiere (EPI chr.) mit ungefähr 45% ($54,38 \pm 6,49$, $n=9$) in etwa auf dem Niveau der der jüngeren Untersuchungsgruppe (EPI lat.) mit ebenfalls 45% ($55,18 \pm 6,27$, $n=8$). Untersucht man die Unterschiede in den Reaktionen auf den HFS zwischen alten pilocarpinbehandelten Tieren (EPI chr.) und den entsprechenden Tieren aus der Kontrollgruppe (KTR chr.) auf ihre statistische Signifikanz, so kommt man auch hier zu einem negativen Ergebnis (t-Test, $p=0,35$; U-Test, $p=0,37$). Wie schon für andere Fälle beschrieben, führt die hohe Variabilität der

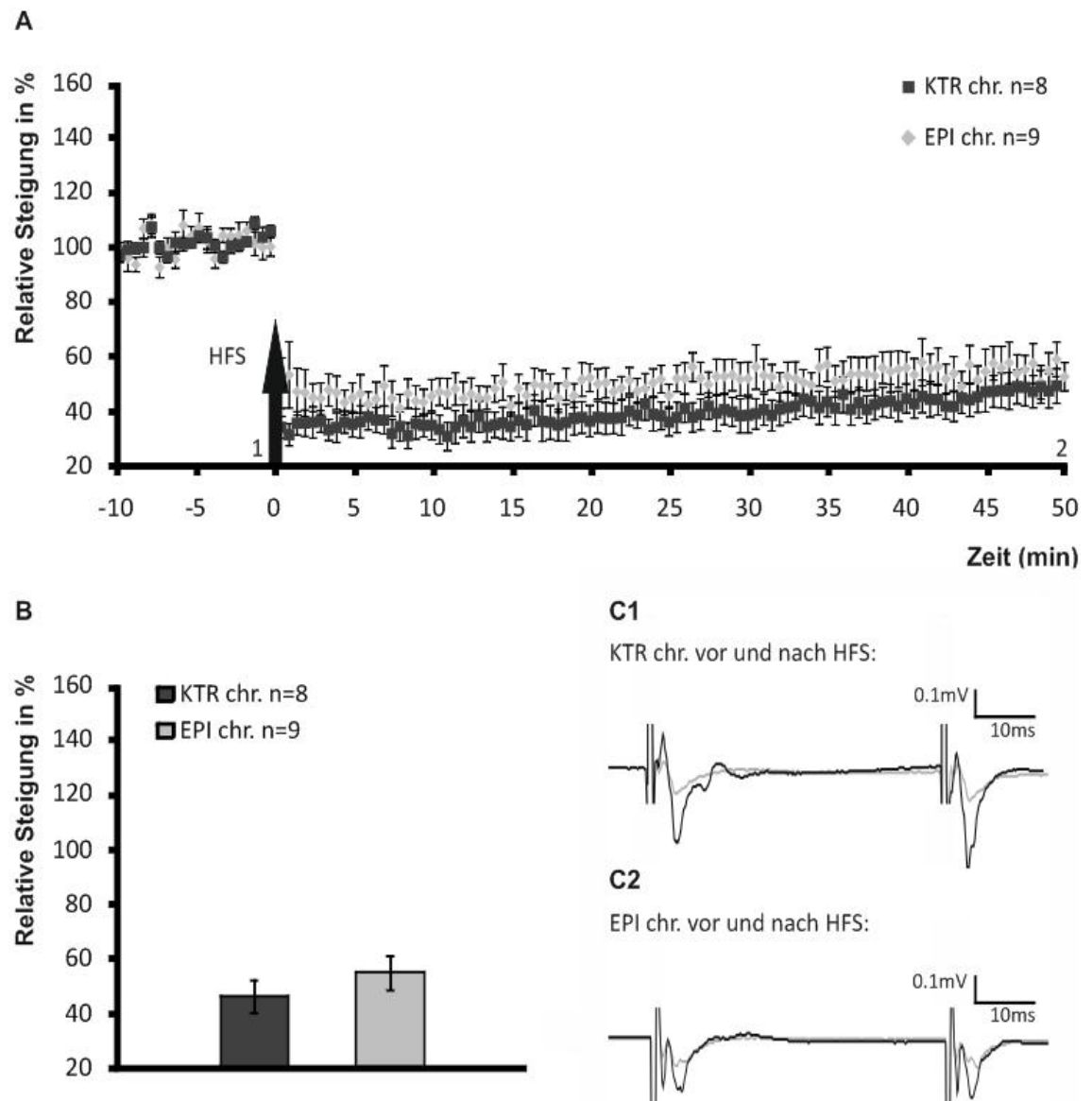


Abb. 16: Protokoll 3, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.). Zur Induktion synaptischer Plastizität wurde zum Zeitpunkt 0 eine afferente Hochfrequenzstimulation (HFS) vorgenommen (3x3s 100Hz, 20s Intervall). **A.** Das Punktdiagramm zeigt die relativen Veränderungen der Steigung der Summenaktionspotentiale vor und nach HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **B.** Das Balkendiagramm zeigt die gemittelte Steigung der Summenaktionspotentiale beider Untersuchungsgruppen während der letzten zehn Minuten der Ableitung relativ zum Ausgangswert vor Applikation des HFS (Mittelwerte \pm Standardfehler). **C.** Originalregistrierungen evozierter Summenaktionspotentiale zu Zeitpunkten 1 und 2; C1. Kontrollgewebe unbehandelter, gesunder Ratten. C2. Epileptisches Gewebe.

Untersuchungsergebnisse innerhalb beider Gruppen zu relativ ausgeprägten Standardfehlern. Das gleiche gilt für die augenscheinlich ausgeprägten Unterschiede zwischen Tieren der alten (KTR chr.) und jungen (KTR lat.) Kontrollgruppe (t-Test, $p=0,13$; U-Test, $p=0,081$).

Auch unter Verwendung des 3. Stimulationsprotokolls ließen sich also keine statistisch signifikanten Unterschiede in Bezug auf Veränderungen der synaptischen Signalübertragung an der cortikostriatalen Synapse zwischen jungen (KTR lat.) und alten (KTR chr.) Kontrolltieren zum einen und jungen (EPI lat.) und alten (EPI chr.) pilocarpinbehandelten Tieren zum anderen nachweisen (t-Test, $p=0,13$ vs. $p=0,93$; U-Test, $p=0,081$ vs. $p=0,96$).

3.3 Weitere statistische Analysen und abschließende Bemerkung

In einem weiteren Schritt wurde geprüft, inwieweit die Anwendung der drei Stimulationsprotokolle zu statistisch signifikanten Veränderungen der synaptischen Signalübertragung geführt hat; das heißt, inwieweit sie generell geeignet sind plastische Prozesse an der cortikostriatalen Synapse der von uns verwendeten Tiere zu induzieren. Um dieser Frage nachzugehen, wurde in jeder Gruppe die relative Stärke der synaptischen Übertragung während der letzten zehn Minuten vor Applikation eines der drei HFS mit der Stärke der synaptischen Übertragung während der letzten zehn Minuten vor Ende der Ableitung verglichen. Wie sich zeigte, führte die Anwendung der Stimulationsprotokolle in zehn der zwölf Untersuchungsgruppen (je Stimulationsprotokoll vier Untersuchungsgruppen) zu signifikanten Veränderungen der synaptischen Transmission. Ausnahmen bildeten die Anwendung von Protokoll 1 in der jungen Kontrollgruppe (KTR lat.) und die Anwendung von Protokoll 2 in der Gruppe der jungen pilocarpinbehandelten Tiere (EPI lat.). Protokoll 1 führte in der jungen Kontrollgruppe zu einer Abnahme der synaptischen Übertragung von im Mittel $0,45\pm 4,4\%$ ($n=8$). Protokoll 2 führte in der Gruppe der jungen pilocarpinbehandelten Tiere zu einer Zunahme der synaptischen Übertragung von im Mittel $2,0\pm 8,5\%$ ($n=10$). Unterzieht man diese Veränderungen einer statistischen Analyse indem man sie zu der basalen synaptischen Übertragung vor Applikation des HFS in Beziehung setzt, so zeigt sich, dass die synaptische Übertragung nach Anwendung des HFS sich in diesen beiden Gruppen nicht signifikant von der vor Anwendung des HFS unterscheidet (U-Test, $p=0,71$ für Protokoll 1 in der jungen Kontrollgruppe und $p=0,97$ für Protokoll 2 in der jungen pilocarpinbehandelten Gruppe).

Allgemein lässt sich also sagen, dass die hier verwendeten Stimulationsprotokolle geeignet sind signifikante Veränderungen der synaptischen Signalübertragung im Sinne von LTP bzw. LTD an der cortikostriatalen Synapse zu induzieren.

Abschließend wurde untersucht, inwieweit sich die durch Anwendung der drei Stimulationsprotokolle induzierten plastischen Prozesse in jeder einzelnen der vier untersuchten Gruppen (KTR lat./KTR chr. sowie EPI lat./EPI chr.) voneinander unterscheiden (ANOVA). Dies geschah vor allem im Hinblick auf sich an diese Arbeit anschließende weiterführende Untersuchungen. Ohne auf Einzelheiten eingehen zu wollen zeigte sich, dass die Anwendung von Protokoll 1 und Protokoll 2 qualitativ und quantitativ zu ähnlichen Veränderungen der synaptischen Signalübertragung in dem von uns untersuchten Bereich führte. Der Effekt von Stimulationsprotokoll 3 unterschied sich signifikant von dem der beiden vorgenannten Protokolle. Es sollte daher in Erwägung gezogen werden, für weiterführende Untersuchungen, entweder Protokoll 1 oder Protokoll 2 durch ein weiteres, qualitativ verschiedenes, Stimulationsprotokoll zu ersetzen.

4 Diskussion

Die ersten Hinweise darauf, dass die Basalganglien an der Kontrolle von Ausbreitung und Termination epileptischer Anfälle beteiligt sein könnten, stammen aus den Jahren 1952 und 1953. Damals konnte gezeigt werden, dass durch das gezielte Setzen von Läsionen im Bereich der Substantia nigra die Ausbreitung von Anfällen hervorgerufen durch die Applikation chemischer Konvulsiva unterbunden werden kann (Hayashi, 1952; Hayashi, 1953). In späteren Jahren konnte nachgewiesen werden, dass bilaterale Läsionen der SN einen dämpfenden Effekt auf das Anfallsgeschehen bei Epilepsien hervorgerufen durch elektrische Stimulation oder Gabe von Bicucullin ausüben (Garant, et al., 1983). Seither sind eine Vielzahl von Untersuchungen durchgeführt worden, die diese zunächst vermutete Funktion der Basalganglien im Rahmen von epileptischen Erkrankungen zu belegen scheinen (Depaulis, et al., 1994). So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass die pharmakologische Inhibition der Aktivität von Neuronen, deren Zellkörper im Bereich der Substantia nigra Pars reticulata (SNr) liegen, durch Injektion von GABA oder GABA-Agonisten wie Muscimol, die Generalisierung epileptischer Anfälle in verschiedenen Tiermodellen unterbindet (Iadarola, et al., 1982). Weitere Hinweise lieferte die Beobachtung, dass die Inhibition des Ncl. Subthalamicus, dessen Axone die größte exzitatorische Afferenz der SNr bilden, eine vergleichbare antiepileptische Wirkung entfaltet (Deransart, et al., 1996). Hinzu kommt, dass die Aktivierung striataler GABAerger Projektionsneurone durch Glutamat-Agonisten, GABA-Antagonisten oder Dopamin-Agonisten in verschiedenen Tiermodellen einen dämpfenden Effekt auf die Ausbreitung generalisierter epileptischer Anfälle ausübt (Cavalheiro, et al., 1986; Turski, et al., 1989; Deransart, et al., 2000). Im Gegensatz dazu führt die Blockade striataler Dopamin-Rezeptoren mit den entsprechenden Antagonisten zu einer Verschärfung der Symptomatik bei Ratten, die genetisch bedingt an Absencen leiden, einer nicht konvulsiven Form der Epilepsie (Deransart, et al., 2000). Auch wenn noch nicht ganz klar ist, wie die Basalganglien ihre antikonvulsive Wirkung entfalten, deutet vieles darauf hin, dass die Integrität der GABAergen Verbindung zwischen SNr und Colliculus superior in diesem Kontext eine wichtige Rolle spielt (Garant, et al., 1987).

Das der Zusammenhang von Funktion der Basalganglien und Aktivität des Anfallsgeschehens nicht nur im Tiermodell besteht, legen Beobachtungen nahe wie die, dass zum Beispiel Neuroleptika über die Blockade von Dopamin D2-Rezeptoren zu einer Verschärfung der Symptomatik bei von einer Epilepsie betroffenen Patienten führt (Torta, et al., 2002), während die Applikation von Dopamin-Agonisten zu einer Reduktion der Anfallshäufigkeit führt (Starr, 1996). Unterstrichen wird die Bedeutung dieser Beobachtung durch Untersuchungen, die zeigen konnten, dass bei Patienten die an einer Ringchromosom 20 Epilepsie leiden, eine verminderte Aufnahme von L-Dopa, einer Dopaminvorstufe, innerhalb des Striatums stattfindet (Biraben, et al., 2004). Untersuchungen, die an Patienten mit Temporallappenepilepsie durchgeführt wurden, weisen ebenfalls auf einen veränderten Dopamin-Stoffwechsel innerhalb des Striatums hin (Bouilleret, et al., 2008).

Die GABAergen Projektionsneurone des Striatums bilden die wichtigste Afferenz der SN (Bolam, et al., 1990). Im Experiment konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung dieser Neurone durch Injektion von GABA-Antagonisten oder exzitatorisch wirkenden Aminosäuren wie NMDA, zur Unterdrückung epileptischer Anfälle, hervorgerufen durch zum Beispiel (wie in dem hier verwendeten Tiermodell) die systemische Applikation von Pilocarpin, führt (Cavalheiro, et al., 1986; Turski, et al., 1989). Es ist anzunehmen, dass diese antikonvulsive Wirkung striataler Aktivität auch in vivo bei der Kontrolle von Ausbreitung und Beendigung epileptischer Anfälle eine wichtige Rolle spielt; zumal die exzitatorischen kortikalen glutamatergen Afferenzen einen wesentlichen Teil des striatalen Inputs ausmachen und dessen Aktivität gerade während eines epileptischen Anfalles erheblich intensiver ausfällt als unter Ruhebedingungen.

Als Schnittstelle zwischen Cortex und SN, dem Ort vermehrter neuronaler Aktivität während des generalisierten epileptischen Anfalls zum einen und dem der Kontrolle bzw. Modulation des Anfallsgeschehens zum anderen kommt dem Striatum eine wichtige Funktion innerhalb des Krankheitsgeschehens zu. In den Fokus rückt an dieser Stelle vor allem die synaptische Übertragung und die mit ihr verbundenen plastischen Prozesse im Bereich der cortikostriatalen Synapse. An dieser Stelle entscheidet sich, ob und wenn ja in welchem Maße cortikale

Aktivität zum Beispiel während eines epileptischen Anfalles in striatale und damit antikonvulsive Aktivität umgesetzt wird. Dass diese Übertragung krankheitsbedingten plastischen Veränderungen unterliegen kann, zeigen kürzlich veröffentlichte Untersuchungen an Bassoon-mutanten Mäusen (Ghiglieri, et al., 2009).

Vor dem Hintergrund dieser Beobachtungen wurde zum einen der Frage nachgegangen, welchen Einfluss der durch die Pilocarpininjektion hervorgerufene initiale Status epilepticus auf die kurz- und langzeitplastischen Prozesse im Bereich der cortikostriatalen Synapse ausübt, zum anderen, inwiefern die in der sich anschließenden chronischen Phase der Temporallappenepilepsie rezidivierend auftretenden generalisierten epileptischen Anfälle mit diesen Prozessen interferieren.

Wider Erwarten deuten die Ergebnisse der hier vorgestellten Experimente darauf hin, dass weder das eine, also der initiale pilocarpininduzierte Status epilepticus noch das andere, also die im weiteren Krankheitsverlauf ab einem Lebensalter von 50 Tagen rezidivierend auftretenden komplex-partiellen epileptischen Anfälle zu wesentlichen Veränderungen der synaptischen Plastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse führen. Zumindest lassen diese, sofern sie doch vorhanden sein sollten, sich in dem hier gewählten Tiermodell mit den hier verwendeten Stimulationsprotokollen nicht nachweisen. Das Gesagte gilt sowohl für den Teil der Experimente, der sich mit der Untersuchung der doppelimpulsinduzierten synaptischen Kurzzeitplastizität befasst, als auch für den Teil, in dem es um die durch Applikation eines Hochfrequenzstimulus induzierten langanhaltenden Veränderungen der synaptischen Signalübertragung geht.

Mit Stimulationsprotokoll 3 wurde eine HFS starker Intensität angewandt, deren Applikation an der cortikostriatalen Synapse zuverlässig, d.h. in allen durchgeführten Experimenten, zu einer deutlichen Reduktion der synaptischen Stärke (LTD) führte. Die so induzierte LTD war nicht in allen Experimenten gleich stark ausgeprägt, bewegte sich aber in einem Bereich von 24% bis 82% der ursprünglichen synaptischen Übertragung. Signifikante Unterschiede zwischen den vier Untersuchungsgruppen insbesondere zwischen den

pilocarpinbehandelten Tieren und den entsprechenden Kontrollgruppen konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Anwendung von Stimulationsprotokoll 2 führte zu wesentlich inhomogeneren Ergebnissen. Beispielhaft hierfür seien die Ergebnisse aus der Gruppe mit den jungen pilocarpinbehandelten Tieren genannt. In den zehn durchgeführten Experimenten ließ sich fünfmal eine LTP, viermal eine LTD und in einem Fall keine Veränderung der synaptischen Stärke konstatieren. Neben einer LTD mit einer Reduktion der synaptischen Stärke um 17% zeigten sich in anderen Hirnschnitten Zunahmen der synaptischen Stärke von über 50%. Die Ergebnisse in den anderen drei mit diesem Protokoll untersuchten Gruppen variierten ähnlich stark. Allein deswegen verwundert es nicht, dass im Rahmen der statistischen Analyse der Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede zwischen den aus den vier Untersuchungsgruppen gewonnenen Daten festgestellt werden konnten.

Zu ähnlich heterogenen Ergebnissen führten die Experimente, in denen das Stimulationsprotokoll 1 zum Einsatz kam. Wie ein Blick auf die Abbildungen 11 und 12 A erkennen lässt, bewegten sich die Veränderungen der synaptischen Signalübertragung nach Applikation des HFS ohnehin in engen Grenzen. Zieht man darüber hinaus noch die hohe Variabilität der Untersuchungsergebnisse innerhalb der vier Untersuchungsgruppen in Betracht, überrascht es nicht, dass statistisch signifikante Unterschiede auch hier nicht nachzuweisen waren.

Vergleicht man die in den Kontrollgruppen gewonnenen Ergebnisse mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, so bestätigen sie diese in den wesentlichen Punkten. Die intensive Aktivierung cortikaler Fasern, wie sie durch die Applikation von Protokoll 3 hervorgerufen wird, führte an der cortikostriatalen Synapse zuverlässig zur Induktion einer LTD (Calabresi, et al., 1992b). Im Gegensatz dazu ist für weniger intensive Stimulationsprotokolle, wie sie hier in Form von Protokoll 1 und 2 zum Einsatz kamen, die Induktion unterschiedlicher Formen synaptischer Plastizität beschrieben (Calabresi, et al., 1992a; Lovinger, et al., 1993; Villar, et al., 1999). Dieses Phänomen spiegelt sich im Wesentlichen in der hohen Variabilität der Untersuchungsergebnisse in den mit diesen Protokollen behandelten Gruppen.

Eine Erklärung für die nach Anwendung weniger intensiver Stimulationsprotokolle auftretende Heterogenität der Untersuchungsergebnisse liegt vermutlich in der zellulären Architektur des Striatums (Voorn, et al., 2004; Gerfen, 1992) und seinen verschiedenen an den plastischen Prozessen beteiligten Transmittersystemen (Lovinger, 2010) begründet. Neben dem aus den cortikalen Axonterminalen freigesetzten Glutamat kommt es zu einer in Abhängigkeit von der Intensität des Stimulationsprotokolls und dem Ort der Stimulation variierenden Ausschüttung weiterer Transmitter wie zum Beispiel Dopamin, GABA oder Acetylcholin. Wie in Abschnitt 3.9 beschrieben, spielen diese Transmitter für die verschiedenen Formen synaptischer Plastizität innerhalb des Striatums eine wichtige Rolle (Lovinger, 2010; Villar, et al., 1999). Beispielhaft für eine solche Interferenz verschiedener Transmittersysteme sei an dieser Stelle die Wechselwirkung zwischen dem Transmitter Glutamat und dem Transmitter GABA kurz skizziert.

Während das aus dem cortikalen Axonterminalen freigesetzte Glutamat vornehmlich über AMPA-Rezeptoren zu einer Aktivierung der striatalen Projektionsneurone führt (Herrling, 1985; Kita, 1996), wirkt die durch den HFS simultan hervorgerufene Ausschüttung von GABA aus benachbarten Projektions- oder Interneuronen, in dem sie das Membranpotential des striatalen Projektionsneurons auf Höhe des Gleichgewichtspotentials für Cl^- hält, der Aktivierung dieser Zellen entgegen (Evans, et al., 1996). Dies hat zur Folge, dass das postsynaptische Membranpotential stabilisiert wird und nicht abnimmt, wie es zum Beispiel eine notwendige Voraussetzung für die Aufhebung der membranpotentialabhängigen Mg^{2+} -Blockade postsynaptischer NMDA-Rezeptoren wäre (Nowak, et al., 1984). Je nachdem, wie ausgeprägt also die Aktivierung der benachbarten GABAergen Neurone und Interneurone im Vergleich zu den anderen Transmittersystemen ausfällt, entscheidet sich, wenn ja in welche Richtung und ob überhaupt Modifikationen der synaptischen Signalübertragung in Reaktion auf einen afferenten Reiz vorgenommen werden. Während die Verwendung intensiver Stimulationsprotokolle zu einem Überwiegen der glutamat- bzw. dopaminergen Systeme führt, deren Zusammenspiel einen wesentlichen Faktor für die Induktion einer Langzeitdepression an der cortikostriatalen Synapse darstellt (Calabresi, et al.,

1997) scheint sich bei Anwendung der weniger intensiven Stimulationsprotokolle die Zahl der beteiligten modulatorisch wirksamen Transmitter zu erhöhen, was zwischen den Experimenten zu einer hohen Variabilität in Bezug auf die Richtung der synaptoplastischen Prozesse führt (Calabresi, et al., 1992b; Calabresi, et al., 1997; Lovinger, et al., 2003).

Um dieser etwas unbefriedigenden Situation zu begegnen und neben der gut reproduzierbaren Langzeitdepression noch ein oder mehrere Protokolle zur zuverlässigen langanhaltenden Potenzierung der Signalübertragung an der cortikostriatalen Synapse zu etablieren, wurde Verschiedenes versucht (Calabresi, et al., 1992a; Partridge, et al., 2000; Smith, et al., 2001). So entschloss sich die Arbeitsgruppe um Paolo Calabresi für ihre Experimente zur cortikostriatalen LTP Mg^{2+} -freie Nährlösungen zu verwenden. Die Überlegung, die diesem Vorgehen zugrunde lag war die, dass auf diesem Weg der bei Ruhemembranpotentialbedingungen bestehende Mg^{2+} -Block der für die LTP-Induktion wichtigen postsynaptischen NMDA-Rezeptoren aufgehoben werden könnte (Calabresi, et al., 1992a). Eine solche Vorgehensweise wurde in der vorliegenden Arbeit nicht angewandt, weil der Mg^{2+} -Entzug in den Hirnschnitten epileptiforme Entladungen hervorgerufen hätte. Partridge et al. untersuchten u.a. altersabhängige Veränderungen synaptoplastischer Prozesse innerhalb des Striatums, um herauszufinden, inwieweit die starken Unterschiede in den Reaktionen der Hirnschnitte auf den gleichen afferenten Stimulus auf Reifungsprozesse im Bereich der cortikostriatalen Synapse zurückzuführen sein könnten (Partridge, et al., 2000). In die gleiche Richtung weisen Untersuchungen zu regionalen Unterschieden im Antwortverhalten zwischen den medialen und lateralen Bereichen des dorsalen Striatums (Partridge, et al., 2000; Smith, et al., 2001). Trotz vielversprechender Ergebnisse im Einzelnen haben diese Untersuchungen nicht dazu geführt, dass sich ein einheitlicher Standard zur zuverlässigen Induktion von Langzeitpotenzierung an der cortikostriatalen Synapse etabliert hat..

Für die hier intendierte qualitative und quantitative Untersuchung von Unterschieden zwischen kranken und gesunden Tieren in Hinblick auf die durch einen afferenten Hochfrequenzreiz induzierten Veränderungen der synaptischen Übertragung ist dies jedoch auch keine notwendige

Voraussetzung. Schließlich wäre es durchaus denkbar, dass es im Gefolge des initialen pilocarpininduzierten Status epilepticus auch im Bereich der cortikostriatalen Synapse zu Modifikationen mit Auswirkung auf später stattfindende plastische Prozesse in diesem Bereich kommt. Modifikationen, die sich nach Applikation von Protokoll 1 und 2 in Hirnschnitten der pilocarpinbehandelten Tiere durch eine Verschiebung der in den Kontrollgruppen recht heterogenen Ergebnisse hin zu *einer* Form synaptischer Plastizität also zu entweder LTD oder LTP hätten manifestieren können. Das Vorhandensein von Wechselwirkungen in diesem Sinne erscheint vor allem vor dem Hintergrund der bereits zitierten Arbeiten zu Veränderungen des Dopaminstoffwechsels im Bereich der Basalganglien von Patienten, die an einer Temporallappenepilepsie erkrankt sind (Biraben, et al., 2004; Bouillere, et al., 2008) und zu das Krankheitsbild der Epilepsie begleitenden Veränderungen der synaptischen Plastizität im Bereich der cortikostriatalen Synapse in einem weiteren Tiermodell (Ghiglieri, et al., 2009), als durchaus wahrscheinlich. In dieser Arbeit konnte jedoch kein Nachweis für ihre Existenz erbracht werden.

5 Zusammenfassung

Die Untersuchungsergebnisse liefern keinen Hinweis darauf, dass in dem verwendeten Tiermodell der TLE entweder der initiale pilocarpin-induzierte Status epilepticus und/oder die nachfolgend rezidivierend auftretenden komplex-partiellen epileptischen Anfälle die plastischen Prozesse im Bereich der cortikostriatalen Synapse wesentlich beeinflussen. Dies gilt sowohl für die Untersuchungen zur synaptischen Kurzzeit- als auch für die Untersuchungen zur synaptischen Langzeitplastizität. Ein Beweis dafür, dass es in dieser Beziehung zu keinerlei Wechselwirkungen kommt ist dies nicht. Im Gegenteil würde es sich lohnen der dieser Arbeit zugrundeliegenden Fragestellung mit einem erweiterten Ansatz, d.h. unter Verwendung weiterer, qualitativ verschiedener Stimulationsprotokolle, unter Einsatz einer Auswahl von Rezeptoragonisten und -antagonisten zur Analyse der beteiligten Transmittersysteme und evtl. unter Verwendung intrazellulärer Messmethoden, weiter nachzugehen. Nach wie vor handelt es sich bei der Temporallappenepilepsie um ein medikamentös nur unbefriedigend zu

kontrollierendes Krankheitsbild. Synaptoplastische Prozesse im Bereich der Basalganglien im Hinblick auf den Formenkreis epileptischer Erkrankungen beginnen erst in den Fokus neurophysiologischer Untersuchungen zu rücken. Inwieweit sich an dieser Stelle Möglichkeiten zur therapeutischen Intervention eröffnen werden, wird die Zukunft zeigen müssen.

6 Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb.1	Striatales Neuron mit Afferenzen	10
Abb.2	Zelluläre Mechanismen der Langzeitpotenzierung	14
Abb.3	Zelluläre Mechanismen der Langzeitdepression	17
Abb.4	Schematische Darstellung der Basalganglien	20
Abb.5	Anfertigung angulierter Hirnschnitte	30
Abb.6	Der Versuchsaufbau	31
Abb.7	Photographische Darstellung eines Hirnschnittes	32
Abb.8	Doppelpuls mit konsekutiven Summenaktionspotentialen	34
Abb.9	Phasen der TLE in dem hier verwendeten Tiermodell	36
Abb.10	Graphische Darstellung des Doppelpulsverhaltens	38
Abb.11	Protokoll 1, Cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit	40
Abb.12	Protokoll 1, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.)	42
Abb.13	Protokoll 2, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit	44
Abb.14	Protokoll 2, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.)	46
Abb.15	Protokoll 3, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter (EPI lat.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR lat.) in der Latenzzeit	48

Abb.16	Protokoll 3, cortikostriatale synaptische Langzeitplastizität pilocarpinbehandelter chronisch epileptischer (EPI chr.) im Vergleich zu der gesunder Ratten (KTR chr.)	50
--------	---	----

6.2 Tabellenverzeichnis

Tab.1	Zelltypen des Striatums	12
Tab.2	Materialien für die elektrophysiologische Ableitung	25
Tab.3	Materialien zur Datenanalyse	26
Tab. 4	Verwendete Tiere	26
Tab.5	Begasung während der elektrophysiologischen Ableitung	26
Tab.6	Chemikalien zur Herstellung der Lösungen	26
Tab.7	Verwendete Medikamente	27
Tab.8	Sonstiges	27
Tab.9	Zusammensetzung der verwendeten Lösungen	27
Tab.10	Die Untersuchungsgruppen	29
Tab.11	Stimulationsprotokolle zur Induktion synaptischer Plastizität	34

6.3 Literaturverzeichnis

- Adermark, L. and Lovinger, D.M. 2007a.** Combined activation of L-type Ca²⁺ channels and synaptic transmission is sufficient to induce striatal long-term depression. *J. Neurosci.* 27, 2007a, pp. 6781-6787.
- Alam, A.M. and Starr, M.S. 1996.** Regional changes in brain dopamine utilization during status epilepticus in the rat induced by systemic pilocarpine and intrahippocampal carbachol. *Neuropharmacology.* 1996, 35, pp. 159-167.
- Albin, R.L., Young, A.B. and Penney, J.B. 1989.** The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12, 1989, pp. 366-375.
- Alexander, G.E. and Crutcher, M.D. 1990.** Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci.* 13, 1990.
- Annegers, J.F. 1994.** Epidemiology and genetics of epilepsy. *Neurol. Clin.* 1994, 12, pp. 15-29.
- Annerggers, J.F., Grabow, J.D. and Groover, R.V. 1980.** Seizures after head trauma: a population study. *Neurology.* 1980, 30, pp. 683-689.
- Aouizerate, B., et al. 2004.** Pathophysiology of obsessive-compulsive disorder: a necessary link between phenomenology, neuropsychology, imagery and physiology. *Prog. Neurobiol.* 72, 2004.
- Arbuthnott, G.W., MacLeod, N.K. and Rutherford, A. 1985.** The rat cortico-striatal pathway in vitro (Abstract). *J. Physiol. Lond.* 1985, 367, p. 102.
- Asan, E. 2004.** Paläokortex, subkortikale Kerne mit Basalganglien. [ed.] D. Drenckhahn. *Anatomie.* s.l. : Elsevier ehemals Urban & Fischer, 2004, p. 522.
- Bailey, C.H. and Kandel, E.R. 1993.** Structural changes accompanying memory storage. *Ann. Rev. Neurosci.* 1993, 55, pp. 397-426.
- Banke, T.G., et al. 2000.** Control of GluR1 AMPA receptor function by cAMP-dependent protein kinase. *J. Neurosci.* 2000, 20, pp. 89-102.
- Barrinuevo, G. and Brown, T.H. 1983.** Associative long-term potentiation in hippocampal slices. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983, 80, pp. 7347-51.

- Bartolomei, F., et al. 2005.** Entorhinal cortex involvement in human mesial temporal lobe epilepsy: an electrophysiologic and volumetric study. *Epilepsia*. 2005, 46, pp. 677-687.
- Beattie, E.C., et al. 2000.** Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signalling mechanism shared with LTD. *Nat. Neurosci.* 2000, 3, pp. 1291-1300.
- Bennett, B.D. and Bolam, J.P. 1993.** Characterization of calretinin-immunoreactive structures in the striatum of the rat. *Brain Res.* 609, 1993, pp. 137-148.
- Berridge, K.C. 2007.** The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology.* 191, 2007, pp. 391-431.
- Bienenstock, E.L., Cooper, L.N. and Munro, P.W. 1982.** Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *Journal of Neuroscience.* 1982, 2, pp. 32-48.
- Biraben, A., et al. 2004.** PET evidence for a role of basal ganglia in patients with ring chromosome 20 epilepsy. *Neurology.* 2004, 63, pp. 73-77.
- Bliss, T. and Lømo, T. 1973.** Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 1973, 232 (2), pp. 331-356.
- Bolam, J.P. and Smith, Y. 1990.** The GABA and substance P input to the dopaminergic neurons in the substantia nigra of the rat. *Brain Res.* 1990, 529, pp. 57-78.
- Bolam, J.P., et al. 2000.** Synaptic organisation of the basal ganglia. *J. Anat.* 196, 2000.
- Bolam, J.P., et al. 2000.** Synaptic organisation of the basal ganglia. *J. Anat.* 196, 2000, pp. 527-542.
- Bouilleret, V., et al. 2008.** Basal ganglia involvement in temporal lobe epilepsy: A functional and morphologic study. *Neurology.* 2008, 71(22), pp. 177-184.
- Bourtchuladze, R., et al. 1994.** Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell.* 1994, 79, pp. 59-68.

Bozon, B., et al. 2003. MAPK, CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* 2003, 358, pp. 805-814.

Bredt, D.S. and Nicoll, R.A. 2003. AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron.* 2003, 40, pp. 361-379.

Brog, J.S., Salyapongse, A. and Deutch, A.Y., et al. 1993. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely fluoro-gold. *J. Comp. Neurol.* 338, 1993, pp. 255-278.

Calabresi, P., et al. 1997. Abnormal synaptic plasticity in the striatum of mice lacking dopamine D2 receptors. *J. Neurosci.* 1997, 17, pp. 4536-4544.

Calabresi, P., et al. 2000b. Dopamine and cyclic adenosine 3',5' monophosphate-regulated phosphoprotein 32kDa controls both striatal long-term depression and long-term potentiation, opposing forms of synaptic plasticity. *J. Neurosci.* 20, 2000b, pp. 8443-8451.

Calabresi, P., et al. 1992a. Long-term potentiation in the striatum is unmasked by removing the voltage-dependent magnesium block of NMDA receptor channels. *Eur. J. Neurosci.* 4, 1992a, pp. 929-935.

Calabresi, P., et al. 1992b. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J. Neurosci.* 12, 1992b, pp. 4224-4233.

Calabresi, P., et al. 1994. Post-receptor mechanisms underlying striatal long-term depression. *J. Neurosci.* 14 (8), 1994, pp. 4871-4881.

Cavalheiro, E.A. and Turski, L. 1986. Intra-striatal N-methyl-D-aspartate prevents amygdala kindled seizures in rats. *Brain Res.* 1986, 377, pp. 173-176.

Cavalheiro, E.A., et al. 1991. Long-term effects of structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia.* 1991, 32, pp. 778-782.

Centonze, D., et al. 2001. Dopaminergic control of synaptic plasticity in the dorsal striatum. *Eur. J. Neurosci.* 2001, 13(6), pp. 1071-1077.

- Charlton, M.P., Smith, S.J. and Zucker, R.S. 1982.** Role of presynaptic calcium ions and channels in synaptic facilitation and depression at the squid giant synapse. *J. Physiol.* 1982, pp. 173-193.
- Charpier, S. and Deniau, J.-M. 1997.** In vivo activity-dependent plasticity at corticostriatal connections: evidence for physiological long-term potentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 1997, pp. 7036-7040.
- Chesselet, M.F. and Graybiel, A.M. 1986.** Striatal neurons expressing somatostatin-like immunoreactivity: evidence for a peptidergic interneuronal system in the cat. *Neuroscience.* 17, 1986, pp. 547-571.
- Choi, S. and Lovinger, D.M. 1997a.** Decreased frequency but not amplitude of quantal synaptic responses associated with expression of corticostriatal long-term depression. *J. Neurosci.* 17, 1997a, pp. 8613-8620.
- **1997b.** Decreased probability of neurotransmitter release underlies striatal long-term depression and postnatal development of corticostriatal synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 1997b, pp. 2665-2670.
- Collingridge, G.L., Kehl, S.J. and McLennan, H. 1983.** Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J. Physiol.* 1983, 334, pp. 33-46.
- Cowan, R.L., et al. 1990.** Parvalbumin-containing GABAergic interneurons in the rat neostriatum. *J. Comp. Neurol.* 302, 1990, pp. 197-205.
- Dang, M., et al. 2006.** Disrupted motor learning and long-term synaptic plasticity in mice lacking NMDAR1 in the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103 (41), 2006, pp. 15254-15259.
- DeLong, M.R. 1990.** Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 13, 1990, pp. 281-285.
- Depaulis, A., Vergnes, M. and Marescaux, C. 1994.** Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system. *Prog. Neurobiol.* 1994, 42, pp. 33-52.
- Deransart, C., et al. 1998.** The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizures. *Epilepsy Res.* 1998, 32, pp. 213-223.

Deransart, C., Marescaux, C. and Depaulis, A. 1996. Involvement of nigral glutamatergic inputs in the control of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience*. 1996, 71, pp. 721-728.

Deransart, C., Riban, V. and Le, B. 2000. Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience*. 2000, 100, pp. 335-344.

Derkach, V., Barria, A. and Soderling, T.R. 1999. Ca²⁺/Calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999, 96, pp. 3269-3274.

Dudeck, S.M. and Bear, M.F. 1992. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992, 89, pp. 4363-4367.

Evans, M.S. and Viola-McCabe, K.E. 1996. Midazolam inhibits long-term potentiation through modulation of GABA-A receptors. *Neuropharmacology*. 1996, 35, pp. 347-357.

Flores-Hernandez, J., et al. 2002. Dopamine enhancement of NMDA currents in dissociated medium-sized striatal neurons: role of D1 receptors and DARPP-32. *J. Neurophysiol.* 30, 2002, pp. 10-20.

Garant, D.S. and Gale, K. 1983. Lesions of the substantia nigra protect against experimentally induced seizures. *Brain Res.* 1983, 273, pp. 156-161.

—. **1987.** Substantia nigra-mediated anticonvulsant actions: role of nigral output pathways. *Exp. Neurol.* 1987, 97, pp. 143-159.

Gerdeman, G.L., et al. 2003. It could be habit forming: drugs of abuse and striatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci.* 26, 2003, pp. 184-192.

Gerdeman, G.L., Ronesi, J. and Lovinger, D.M. 2002. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat. Neurosci.* 5, 2002, pp. 446-451.

Gerfen, C.R. 2000. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci.* 2000, 23, pp. 64-70.

- . **1992.** The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organisation in the basal ganglia. *Annu. Rev. Neurosci.* 15, 1992, pp. 285-320.
- Ghiglieri, V., et al. 2009.** Epilepsy-induced abnormal striatal plasticity in Bassoon mutant mice. *Eur. J. Neurosci.* 2009, 29, pp. 1979-1993.
- Giese, K.P., et al. 1998.** Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science.* 1998, 279, pp. 870-873.
- Goldman, P.S. and Nauta, W.J.H. 1977.** An intricately patterned prefronto-caudate projection in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 171, 1977, pp. 369-386.
- Graybiel, A.M. and Rauch, S.L. 2000.** Toward a neurobiology of obsessive-compulsive disorder. *Neuron.* 28, 2000.
- Graybiel, A.M. 2000.** The basal ganglia. *Curr. Biol.* 10, 2000.
- Graybiel, A.M., Aosaki, T. and Flaherty, A.W., Kimura, M. 1994.** The basal ganglia and adaptive motor control. *Science.* 265, 1994, pp. 1826-1831.
- Gubellini, P., et al. 2001.** Selective involvement of mGlu1 receptors in corticostriatal LTD. *Neuropharmacology.* 40, 2001, pp. 839-846.
- Hamilton, S.E., et al. 1997.** Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94, pp. 13311-13316.
- Hashimotodani, Y., et al. 2005.** Phospholipase Cbeta serves as a coincidence detector through its Ca²⁺ dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal. *Neuron.* 2005, 45, pp. 257-268.
- Hauser, W.A., Annegers, J.F. and Kurland, L.T. 1993.** Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia.* 1993, 34, pp. 453-468.
- Hauser, W.A., Annegers, J.F. and Rocca, W.A. 1996.** Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. *Mayo. Clin. Proc.* 1996, 71, pp. 576-586.

Hayashi, T. 1952. A physiological study of epileptic seizures following cortical stimulation in animals and its application to human clinics. *Jap. J. Pharmac.* 1952, 3, pp. 46-64.

— **1953.** The efferent pathway of epileptic seizures following cortical stimulation differs from that for limbs. *Jap. J. Pharmac.* 1953, 4, pp. 306-321.

Hebb, D.O. 1949. *The Organisation of Behavior. A Neuropsychological Theory.* New York : Wiley, 1949.

Herrling, P.L. 1985. Pharmacology of the corticocaudate excitatory postsynaptic potential in the cat: Evidence for its mediation by quisqualate or kainate-receptors. *Neuroscience.* 1985, 14, pp. 417-426.

Hikosaka, O., Takikawa, Y. and Kawagoe, R. 2000. Role of basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiol. Rev.* 2000, 80, pp. 953-978.

Hyman, S.E., Malenka, R.C. and Nestler, E.J. 2006. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 2006, pp. 565-598.

Iadarola, M.J. and Gale, K. 1982. Substantia nigra: site of anti-convulsant activity mediated by gamma-aminobutyric acid. *Science.* 1982, 218, pp. 1237-1240.

ILAE. 1981. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia.* 1981, 22, pp. 489-501.

— **1989.** Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia.* 1989, 30, pp. 389-399.

Ince, E., Ciliax, B.J. and Levey, A.I. 1997. Differential expression of D1 and D2 dopamine and m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in identified striatonigral neurons. *Synapse.* 27, 1997, pp. 357-366.

Joel, D. and Weiner, I. 1994. The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience.* 63, 1994, pp. 363-379.

—. **1994.** The organization of the basal ganglia-thalamocortical circuits: open interconnected rather than closed segregated. *Neuroscience*. 63, 1994.

Kameyama, K., et al. 1998. Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic long-term depression. *Neuron*. 1998, 21, pp. 1163-1175.

Kandel, E.R. and Tauc, L. 1965. Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *J. Physiol.* 1965, 181(1), pp. 1-27.

Kawaguchi, Y, et al. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterisation. *Trends Neurosci.* 18, 1995, pp. 527-535.

Kawaguchi, Y., Wilson, C.J. and Emson, P.C. et al. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci.* 18, 1995, pp. 527-535.

Kemp, J.M. and Powell, T.P. 1971b. The termination of fibres from the cerebral cortex and thalamus upon dendritic spines in the caudate nucleus: a study with the Golgi method. *Phil. Trans. R. Soc. London B. Biol. Sci.* 262, 1971b, pp. 429-439.

Kenny, P.J. 2007. Brain reward systems and compulsive drug use. *Trends Pharmacol. Sci.* 28, 2007, pp. 135-141.

Kerchner, G.A. and Nicoll, R.A. 2008. Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP. *Nat. Rev. Neurosci.* 9 (11), 2008, pp. 813-825.

Kerr, J.N. and Wickens, J.R. 2001. Dopamine D-1/D-5 receptor activation is required for long-term potentiation in the rat neostriatum in vitro. *J. Neurophysiol.* 85, 2001, pp. 117-124.

Kincaid, A.E., Zengh, T. and Wilson, C.J. 1998. Connectivity and convergence of single corticostriatal axons. *J. Neuroscience.* 18, 1998, pp. 4722-4731.

Kita, H. 1996. Glutamatergic and GABAergic postsynaptic responses of striatal spiny neurons to intrastriatal and cortical stimulation recorded in slice preparations. *Neuroscience.* 1996, 70, pp. 925-940.

Kluge, F. and Seebold, E. 2002. *Etymologisches Wörterbuch der deutschen Sprache*. Berlin : Gruyter, 2002.

Köhling, R., et al. 2004. Increased excitability in cortico-striatal synaptic pathway in a model of paroxysmal dystonia. *Neurobiology of Disease*. 2004, 16, pp. 236-245.

Kreitzer, A.C. and Malenka, R. C. 2007. Endocannabinoid-mediated rescue of striatal LTD and motor deficits in Parkinson's disease models. *Nature*. 445, 2007, pp. 643-647.

— **2005.** Dopamine modulation of state-dependent endocannabinoid release and long-term depression in the striatum. *J. Neurosci*. 25, 2005, pp. 10537-10545.

— **2008.** Striatal plasticity and basal ganglia circuit function. *Neuron*. 60 (4), 2008, pp. 543-554.

Kunzle, H. 1975. Bilateral projections from precentral motor cortex to putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in *Macaca fascicularis*. *Brain Res*. 88, 1975, pp. 195-209.

Lee, H.K., et al. 2000. Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature*. 2000, 405, pp. 955-959.

Lee, S.H., et al. 2002. Clathrin adaptor AP2 and NSF interact with overlapping sites of GluR2 and play distinct roles in AMPA receptor trafficking and hippocampal LTD. *Neuron*. 2002, 36, pp. 661-674.

Levy, W.B. and Steward, O. 1979. Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. *Brain Res*. 1979, 175, pp. 233-45.

Liles, S.L. and Updyke, B.V. 1985. Projection of the digit and wrist area of precentral gyrus to the putamen: relation between topography and physiological properties of neurons in the putamen. *Brain Res*. 339, 1985, pp. 245-255.

Lisman, J., Schulman, H. and Cline, H. 2002. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat. Rev. Neurosci*. 2002, 3, pp. 175-190.

- Lovinger, D.M. 2010.** Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology*. 2010, 58, pp. 951-961.
- Lovinger, D.M., Partridge, J.G. and Tang, K.C. 2003.** Plastic control of striatal glutamatergic transmission by ensemble actions of several neurotransmitters and targets for drugs of abuse. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1003, 2003, pp. 226-240.
- Lovinger, D.M., Tyler, E.C. and Merritt, A. 1993.** Short- and long-term synaptic depression in rat neostriatum. *J. Neurophysiol.* 70, 1993, pp. 1937-1949.
- Lynch, G., et al. 1983.** Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*. 1983, 305, pp. 719-721.
- Mahon, S., Deniau, J.M. and Charpier, S. 2005.** Corticostriatal plasticity: life after the depression. *Trends Neurosci.* 27 (8), 2005, pp. 460-467.
- Malenka, R.C. and Bear, M.F. 2004.** LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*. 2004, 30;44(1), pp. 5-21.
- Malenka, R.C., et al. 1988.** Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science*. 1988, 242, pp. 81-84.
- Mathern, G.W., et al. 2002.** Hippocampal neuron damage in human epilepsy: Meyer's hypothesis revisited. *Prog. Brain. Res.* 2002, 135, pp. 237-251.
- Mathern, G.W., et al. 1997.** Human fascia dentata anatomy and hippocampal neuron densities differ depending on the epileptic syndrome and age at first seizure. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1997, 56, pp. 199-212.
- McGeorge, A.J. and Faull, R.L. 1989.** The organisation of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience*. 29, 1989, pp. 503-537.
- Miller, S.G. and Kennedy, M.B. 1986.** Regulation of brain type II Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase by autophosphorylation: a Ca²⁺-triggered molecular switch. *Cell*. 1986, 44, pp. 861-870.
- Mori, A., et al. 1994.** Two distinct glutamatergic synaptic inputs to striatal medium spiny neurones of neonatal rats and paired-pulse depression. *J. Physiol.* 1994, 476, pp. 217– 218.

Morris, R.G.M., et al. 1986. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*. 1986, 319, pp. 774-776.

Mulkey, R.M. and Malenka, R.C. 1992. Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*. 1992, 9, pp. 967-975.

Mulkey, R.M., Herron, C.E. and Malenka, R.C. 1993. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science*. 1993, 261, pp. 1051-1055.

Nicola, S.M. 2007. The nucleus accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. *Psychopharmacology (Berl.)*. 191, 2007, pp. 521-550.

Nowak, L., et al. 1984. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*. 1984, 307, pp. 462-5.

O'Rahilly, R. and Muller, F. 1994. *The Embryonic Human Brain*. New York : Wiley-Liss, 1994.

Packard, M.G. and Knowlton, B.J. 2002. Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annu. Rev. Neurosci.* 2002, 25, pp. 563-593.

Parent, A. and Hazrati, L.N. 1995. Functional anatomy of the basal ganglia. The cortico-basal ganglia-thalamocortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20, 1995, pp. 91-127.

Partridge, J.G., Tang, K.C. and Lovinger, D.M. 2000. Regional and postnatal heterogeneity of activity-dependent long-term changes in synaptic efficacy in the dorsal striatum. *J. Neurophysiol.* 84, 2000, pp. 1422-1429.

Popescu, A.T., Saghyan, A.A. and Paré, D. 2007. NMDA-dependent facilitation of corticostriatal plasticity by the amygdala. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 104, 2007, pp. 341-346.

Priel, M.R. and Albuquerque, E.X. 2002. Short-term effect of pilocarpine on rat hippocampal neurons in culture. *Epilepsia*. 2002, 43(Suppl.5), pp. 40-46.

Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch. 2002. Berlin : de Gruyter, 259. Aufl.

Ragsdale Jr., C.W. and Graybiel, A.M. 1981. The fronto-striatal projection in the cat and monkey and its relationship to inhomogeneities established by acetylcholinesterase histochemistry. *Brain Res.* 208, 1981, pp. 259-266.

Reynolds, J.N. and Wickens, J.R. 2002. Dopamine-dependent plasticity of corticostriatal synapses. *Neural Netw.* 15, 2002, pp. 507-521.

Ronesi, J., Gerdeman, G.L. and Lovinger, D.M. 2004. Disruption of endocannabinoid release and striatal long-term depression by postsynaptic blockade of endocannabinoid membrane transport. *J. Neurosci.* 24, 2004, pp. 1673-1679.

Schiffmann, S.N., Jacobs, O. and Vanderhaeghen, J.J. 1991. Striatal restricted adenosine A2 receptor (RDC8) is expressed by enkephalin but not by substance P neurons: an in situ hybridisation histochemistry study. *J. Neurochem.* 57, 1991, pp. 1062-1067.

Shen, W., et al. 2008. Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity. *Science.* 321, 2008, pp. 848-851.

Skrede, K.K.R. and Westgaard, R.H. 1971. The transverse hippocampal slice: a well-defined cortical structure maintained in vitro. *Brain Res.* 1971, 35, pp. 589-93.

Smith, R., et al. 2001. Regional differences in the expression of corticostriatal synaptic plasticity. *Neuroscience.* 2001, 106, pp. 95-101.

Smith, Y. and Parent, A. 1986. Neuropeptide-Y immunoreactive neurons in the striatum of cat and monkey: morphological characteristics, intrinsic organisation and co-localization with somatostatin. *Brain Res.* 372, 1986, pp. 241-252.

Smith, Y., et al. 1998. Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience.* 86, 1998, pp. 353-387.

Smith, Y., et al. 1994b. Synaptic relationship between dopaminergic afferents and cortical or thalamic input in the sensorimotor territory of the striatum in monkey. *J. Comp. Neurol.* 344, 1994b, pp. 1-19.

Smolders, I., et al. 1997. NMDA receptor-mediated pilocarpine-induced seizures: characterization in freely moving rats by microdialysis. *Br. J. Pharmacol.* 1997, 121, pp. 1171-1179.

- So, E.L., Annegers, J.F. and Hauser, W.A. 1996.** Population-based study of seizure disorders after cerebral infarction. *Neurology*. 1996, 46, pp. 350-355.
- Spencer, J.P. and Murphy, K.P. 2000.** Bi-directional changes in synaptic plasticity induced at corticostriatal synapses in vitro. *Exp. Brain Res.* 135, 2000, pp. 497-503.
- Starr, M.S. 1996.** The role of dopamine in epilepsy. *Synapse*. 1996, 22, pp. 159-194.
- Sung, K.W., Choi, S. and Lovinger, D.M. 2001.** Activation of group I mGluRs is necessary for induction of long-term depression at striatal synapses. *J. Neurophysiol.* 86, 2001, pp. 2405-2412.
- Tepper, J.M. and Bolam, J.P. 2004a.** Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 2004a, pp. 685-692.
- Tepper, J.M., Koos, T. and Wilson, C.J. 2004b.** GABAergic microcircuits in the neostriatum. *Trend Neurosci.* 27, 2004b, pp. 662-669.
- Torta, R. and Monaco, F. 2002.** Atypical antipsychotics and serotonergic antidepressants in patients with epilepsy: pharmacodynamic considerations. *Epilepsia*. 2002, 43(suppl. 2), pp. 8-13.
- Tsien, J.Z., Huerta, P.T. and Tonegawa, S. 1996.** The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*. 1996, 87, pp. 1327-1338.
- Turski, L., Cavalheiro, E.A. and Calderazzo-Filho, L.S. 1989.** The basal ganglia, the deep prepyriform cortex, and seizure spread: bicuculline is anticonvulsant in the rat striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989, 86, pp. 1694-1697.
- Turski, W.A., et al. 1983.** Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav. Brain Res.* 1983, 9, pp. 315-335.
- Villar, F.A.S. and Walsh, J.P. 1999.** Modulation of long-term synaptic plasticity at corticostriatal synapses. *Neuroscience*. 1999, 90, pp. 1031-1041.

- Vincent, S.R., et al. 1983.** NADPH-diaphorase: a selective histochemical marker for striatal neurons containing both somatostatin- and avian pancreatic polypeptide (APP)-like immunoreactivities. *J. Comp. Neurol.* 217, 1983, pp. 252-263.
- Voorn, P., et al. 2004.** Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends in Neurosci.* 27, 2004, pp. 468-474.
- Whitlock, J.R., et al. 2006.** Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science.* 2006, 313, pp. 1093-1097.
- Wickens, J.R. 2009.** Synaptic plasticity in the basal ganglia. *Behav. Brain Res.* 199, 2009, pp. 119-128.
- Wieser, H.G. 2004.** Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia.* 2004, 45, pp. 695-714.
- Wijdicks, E.F. and Sharbrough, F.W. 1993.** New-onset seizures in critically ill patients. *Neurology.* 1993, 43, pp. 1042-1044.
- Wilson, C.J. 1998.** Basal Ganglia. [ed.] G.M. Shepherd. *The Synaptic Organisation of the Brain.* New York : Oxford University Press, 1998, pp. 329-375.
- **1993.** The generation of natural firing patterns in neostriatal neurons. *Prog. Brain Res.* 99, 1993, pp. 277-297.
- Wilson, C.J., Chang, H.T. and Kitai, S.T. 1990.** Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J. Neurosci.* 10, 1990, pp. 508-519.
- Yin, H.H. and Knowlton, B.J. 2006b.** The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 2006b, pp. 464-476.
- Yin, H.H., et al. 2006a.** The role of protein synthesis in striatal long-term depression. *J. Neurosci.* 26, 2006a, pp. 11811-11820.
- Yin, J.C. and Tully, T. 1996.** CREB and the formation of long-term memory. *Current Opinion in Neurobiology.* 1996, 6, pp. 264-268.

Zahm, D.S. 2000. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24, 2000, pp. 85-105.

Zucker, R.S. 1999. Calcium- and activity-dependent synaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1999, pp. 305-313.

7 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Volkmann, Claas-Edzard, geboren am 03.01.1979 in Kiel, evangelisch, ledig, keine Kinder

Schulbildung:

1985 bis 1989 Grundschule Kirchbarkau bei Kiel

1989 bis 1999 Ernestinenschule zu Lübeck

1999 Abitur

Jan. bis Okt. 2000 Zivildienst Jugendherberge Garmisch-Partenkirchen

Okt. 2000 Beginn des Medizinstudiums in Rostock

Juli bis Okt. 2001 3 Monate Pflegepraktikum Notaufnahme Teramo, Italien

Aug. 2002 Physikum; Note: 2,0

Aug. 2003 1. Staatsexamen; Note: 4,0

Okt. 2003 bis März 2004 Fam. Anästhesie u. Intensivmedizin Vicenza, Italien

Juli 2004 Famulatur Gynäkologie (6 Wo.) Klinikum Südstadt, Rostock

Juli 2005 Famulatur Radiologie (4 Wo.), Tesdorpfhaus, Lübeck

April 2006 2. Staatsexamen; Note: 2,66

Mai 2006 bis März 2007 Forschungsarbeit am Institut für Physiologie der Universität Rostock

Mai 2006 bis März 2007 PJ an der Universität Rostock und der Heliosklinik Schwerin (Wahlfach Orthopädie)

Mai 2008 3. Staatsexamen; Note: 2,0

Sept. 2008 bis Juli 2011 Ärztliche Tätigkeit für die Plasma Service Europe GmbH in Rostock, Halle, Magdeburg, Merseburg und Nordhausen

Aug. 2011 bis heute Assistenzarzt der medizinischen Klinik 1 des St. Ansgar Krankenhauses in Höxter, Nordrhein-Westfalen

Sonstiges:

1997 und 1998 Mitglied der Landesauswahl der Schleswig-Holsteinischen Triathlon Union

Aug. bis Dez. 1999 Sprachaufenthalt in Italien

September 2001 Gemeinnütziger Arbeitseinsatz zur Erhaltung der Bergwälder in der Schweiz (Bergwald Projekt e.V.)

Okt. 2002 bis Jul. 2003 Teilnahme an zwei Theaterprojekten in Rostock

Seit Mai 2007 Bootsführer auf der SY Campus des ASV Warnemünde

2007 und 2008 Teilnahme am Baltic Sprint Cup an Bord der SY „Universitas“ des ASV zu Rostock

2000 bis 2008 Regelmäßiger Besuch fachfremder Vorlesungen und Seminare (Geschichte, Theologie, Philosophie) über die gesamte Zeit des Medizinstudiums

8 Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde am Institut für Physiologie der medizinischen Fakultät der Universität Rostock erstellt.

Mein Dank gilt an erster Stelle dem Direktor des Instituts Herrn Prof. Dr. Rüdiger Köhling für die Bereitstellung von Arbeitsplatz und Thema, für die ausdauernde Unterstützung und das angenehme Miteinander.

Desgleichen bedanke ich mich bei PD Dr. Timo Kirschstein für die hervorragende theoretische und praktische Unterstützung über den gesamten Entstehungsprozess der Arbeit hinweg.

Mein Dank gilt darüber hinaus Dr. Josef Avshalomov an dessen Arbeitsplatz ich zeitweise Messungen durchführen konnte und der mir bei der Literaturrecherche immer wieder behilflich war.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Frau Dipl.-Chem. Katrin Porath, Frau Dipl.-Biol. Ulrike Mikkat, Herrn Dipl.-Biol. Marco Rohde, Frau Mandy Riedel sowie bei allen anderen Angestellten des Institutes für die gute Zusammenarbeit und die wertvollen Anregungen die sie mir gaben.

Mein besonderer Dank gilt darüber hinaus meinen Eltern Irmtraut und Peter Hansen Volkmann, die mich in der Zeit meines Studiums großzügig finanziert haben sowie meinen Freunden, an erster Stelle Frau Petra Müller, deren Gesellschaft mir stets Motivation und moralische Stütze war.