

Universität  
Rostock



Traditio et Innovatio



Universitätsmedizin  
Rostock

Aus dem Oscar-Langendorff-Institut für Physiologie der  
Universitätsmedizin Rostock  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. R. Köhling

## **Langzeit-Video-EEG-Analysen von epileptischen Ratten unter Mycophenolatmofetil-Therapie**

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)  
der

Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von

Franziska Frenck

geb. am 26.04.1991 in Moers

Rostock, den 02.08.2024



Dieses Werk ist lizenziert unter einer  
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Dekan Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. habil. Timo Kirschstein, Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. Volkmar Leßmann, Universitätsmedizin Magdeburg

3. Gutachter: Prof. Dr. med. Astrid Bertsche, Universitätsmedizin Greifswald

Datum der Einreichung: 11. September 2024

Datum der Verteidigung: 02. Juli 2025

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	TEMPORALLAPPENEPILEPSIE	1
1.2	KLASSIFIZIERUNG VON EPILEPSIE UND ANFALLSTYPEN	2
1.3	ELEKTROENZEPHALOGRAFIE BEI EPILEPSIE	3
1.3.1	<i>Das physiologische EEG</i>	3
1.3.2	<i>Das Anfalls-EEG</i>	4
1.4	EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG DER EPILEPSIE	5
1.4.1	<i>Das Pilocarpin-Tiermodell</i>	5
1.4.2	<i>Video-EEG-Telemetrie</i>	6
1.5	DIE ROLLE DES IMMUNSYSTEMS BEI EPILEPSIE	7
1.5.1	<i>T-Zell-vermittelte Autoimmunität</i>	8
1.5.2	<i>Immunantwort nach Status epilepticus</i>	9
1.5.3	<i>Mycophenolatmofetil</i>	10
1.6	HYPOTHESE	11
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>12</b>
2.1	VERSUCHSABLAUF	12
2.1.1	<i>Das Pilocarpin-Tiermodell</i>	12
2.1.2	<i>Verabreichung von Mycophenolatmofetil</i>	13
2.2	VIDEO-EEG-TELEMETRIE	14
2.2.1	<i>Sender-Implantation</i>	14
2.2.2	<i>Messplatz und Datensicherung</i>	16
2.2.3	<i>Auswertung der EEG-Daten</i>	17
2.3	STATISTIK	20
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>21</b>
3.1	PLACEBOGRUPPE	21
3.1.1	<i>Placebotier 1 (P1)</i>	21
3.1.2	<i>Placebotier 2 (P2)</i>	24
3.1.3	<i>Placebotier 3 (P3)</i>	26
3.2	VERSUCHSGRUPPE	28
3.2.1	<i>Versuchstier 1 (M1)</i>	28
3.2.2	<i>Versuchstier 2 (M2)</i>	30
3.2.3	<i>Versuchstier 3 (M3)</i>	32
3.3	ÜBERSICHT ALLER UNTERSUCHTEN TIERE	34

<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>38</b>
4.1	METHODENKRITIK.....	38
4.1.1	<i>Pilocarpin-Tiermodell</i> .....	38
4.1.2	<i>Video-EEG-Telemetrie</i> .....	38
4.1.3	<i>Placebo- und Versuchstiere</i> .....	39
4.2	ANFALLSHÄUFIGKEIT IM EPILEPSIEMODELL .....	40
4.3	ANTIINFLAMMATION ALS MÖGLICHER THERAPIEANSATZ.....	43
4.3.1	<i>Rolle der Blut-Hirn-Schranke</i> .....	44
4.3.2	<i>Bedeutung der Zytokine</i> .....	46
4.3.3	<i>T-Zell-vermittelte Autoimmunität</i> .....	52
4.4	MYCOPHENOLATMOFETIL ALS THERAPIEMITTEL .....	54
4.5	EFFEKTE DER IMMUNSUPPRESSION AUF DIE ANFÄLLE .....	55
4.6	SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK.....	59
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>60</b>
<b>6</b>	<b>THESEN</b> .....	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>62</b>
<b>8</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>63</b>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>64</b>
	<b>EIGENSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG</b> .....	<b>78</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>79</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AMPA	Aminomethanphosphonsäure
APO-1	Apoptosis Antigen 1
BHS	Blut-Hirn-Schranke
CaM	Calmodulin
CD	Cluster of Differentiation
CK2	Caseinkinase 2
CSF	Cerebrospinalflüssigkeit
DRE	Drug-Resistant Epilepsy
DSI™	Data Sciences International
EEG	Elektroenzephalographie
FIRES	Febriles Infektionsbedingtes Epilepsiesyndrom
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GAD65	Glutamat-Decarboxylase
GluR3	Glutamatrezeptor 3
HCN-Kanal	Hyperpolarisations-aktiviert und zyklisch-Nukleotid-gesteuerter Ionen-Kanal
ICAM-1	Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1
ICE	Interleukin Converting Enzyme
IED	Interiktale Epileptiforme Entladung
IgA	Immunglobulin A
IL	Interleukin
IL-1R1	IL-1-Rezeptor 1
IL-1RA	IL-1-Rezeptorantagonist
ILAE	International League Against Epilepsy
IMPDH	Inosin-5'-Monophosphat-Dehydrogenase
JCV	John Cunningham Virus
LE	Limbische Enzephalitis
LFA-1	Lymphozytenfunktions-assoziiertes Antigen 1
MBP	Myelin Basic Protein
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMF	Mycophenolatmofetil
MPA	Mycophenolsäure
MS	Multiple Sklerose
NaCl	Natriumchlorid
NF-κB	Nuclear Factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat

NO	Stickstoffmonoxid
PML	Progressive Multifokale Leukenzephalopathie
PSGL-1	P-Selektin-Glykoproteinligand 1
qRT-PCR	Quantitative Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaction
RE	Rasmussen-Enzephalitis
SE	Status Epilepticus
TBB	Tetrabromtriazol
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF- $\beta$	Transforming Growth factor
TLE	Temporallappenepilepsie
TLR	Toll-Like-Rezeptor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor
TRM	Tissue-Resident Memory T-cell
VCAM-1	Vaskuläres Adhäsionsmolekül 1
WASP	Wiskott-Aldrich-Syndrom-Protein
ZNS	Zentrales Nervensystem

# 1 Einleitung

Die Epilepsie gehört weltweit zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen. Es wird angenommen, dass die Inzidenz in Industrieländern wie Deutschland etwa 50 pro 100.000 Personen pro Jahr beträgt. In ressourcenarmen Ländern ist sie vermutlich noch höher (Sander, 2003). Ursächlich dafür ist eine Übererregbarkeit von Neuronen im Bereich des zerebralen Cortex. Da bei etwa 40% der Betroffenen pharmakologisch keine Anfallsfreiheit erreicht werden kann, erhöht sich der Forschungsbedarf mit der Frage nach alternativen Therapien und Krankheitsmodifikationen (Krämer & Rüegg, 2021). Ein umfassendes Verständnis über die molekularen Prozesse während der Epileptogenese ist dafür von entscheidender Bedeutung. Die Forschung hat gezeigt, dass Entzündungsprozesse - unter Beteiligung des Immunsystems - zum Tod von Neuronen beitragen. Dieser Fakt scheint, in Kombination mit einer Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke (BHS), eine wichtige Rolle für die Epileptogenese zu spielen (Marchi et al., 2012). Die Entzündung ist dabei sowohl für die Entstehung der Epilepsie als auch für die Anfallshäufigkeit durch eine erhöhte neuronale Erregungswahrscheinlichkeit von Bedeutung (Prinzip „Anfälle durch Anfälle“) (Friedman, 2011).

## 1.1 Temporallappenepilepsie

Die Definition der Epilepsie umfasst die folgenden drei Elemente: „(1) Vorgeschichte von mindestens einem Anfall, (2) Dauerhafte Veränderung im Gehirn, wodurch die Wahrscheinlichkeit künftiger Anfälle erhöht wird und (3) Assoziierte neurobiologische, kognitive, psychologische und soziale Störungen“ (Fisher et al., 2005). Die Temporallappenepilepsie (TLE), die im Fokus dieser Arbeit liegt, macht mit über 60% den Großteil aller Epilepsien bei Erwachsenen aus (Télez-Zenteno & Hernández-Ronquillo, 2012). Die International League Against Epilepsy (ILAE) unterteilt die Temporallappenepilepsie in die mesiale und laterale TLE, wobei die am häufigsten auftretende Form mesialen Ursprungs ist. In diesem Bereich befindet sich der Hippocampus, dessen neuronaler Verlust und die Ausbildung von dichten Gliosen zu einer strukturellen Läsion - der Hippocampussklerose - führen (Wieser et al., 2004). Zu den möglichen strukturellen Ätiologien gehören Traumata, Infektionen, Tumoren oder genetisch bedingte Fehlbildungen. Auch Fieberkrämpfe in der Kindheit lassen sich in der Anamnese von Betroffenen häufig finden (Scheffer et al., 2018).

Durch die epileptogene Neigung des Hippocampus kommt es charakteristischerweise zu fokalkomplexen epileptischen Anfällen. Sie gehen einher mit Bewusstseinsstörungen in Verbindung mit diversen motorischen und sensorischen Begleiterscheinungen, Automatismen und Sprachstörungen (Westmoreland, 1996). Zudem können psychiatrische Komorbiditäten wie kognitive Einschränkungen, Angstzustände und Depressionen, sowie die Unvorhersehbarkeit der Anfälle die Lebensqualität der Betroffenen stark mindern (Gaitatzis et al., 2004). Um eine geeignete Therapie einleiten zu können ist die rechtzeitige Diagnosestellung äußerst wichtig. Bei fokalen Epilepsien empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Neurologie in ihrer aktuellen S2k-Leitlinie „Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter“ (2023) als Mittel der ersten Wahl die Monotherapie mit Lamotrigin, alternativ mit Lacosamid oder Levetiracetam. Lamotrigin inaktiviert spannungsabhängige Natrium- und Calciumkanäle in Neuronen und senkt dadurch die Reizweiterleitung. Bei genetischen generalisierten Epilepsien kann Valproinsäure zum Einsatz kommen. Durch die pharmakologischen Therapieversuche mittels Antikonvulsiva reduzieren sich zwar die Anfälle bei den Betroffenen, eine verbesserte Langzeitprognose kann dadurch allerdings kaum erreicht werden (Thijs et al., 2019).

## **1.2 Klassifizierung von Epilepsie und Anfallstypen**

Im Jahre 2017 wurde eine neue Klassifikation von Epilepsien und Anfallsformen durch die ILAE veröffentlicht. Diese spielt eine wichtige Rolle für die Einschätzung von Symptomen und die Entwicklung neuer antikonvulsiver Therapien. Bei einer dreistufigen Diagnostik werden die Anfallsform, die Art der Epilepsie sowie das Epilepsiesyndrom voneinander unterschieden. Dabei werden sowohl das klinische Bild als auch die EEG-Befunde berücksichtigt (Scheffer et al., 2018). Die erste Stufe differenziert Anfälle mit fokalem, mit generalisiertem oder mit unbekanntem Beginn. Unter der Voraussetzung, dass die Diagnose „Epilepsie“ bereits gestellt wurde, unterteilt sie bei der zweiten Stufe die Art der Epilepsie in „fokale Epilepsie“, generalisierte Epilepsie“, „kombiniert generalisierte und fokale Epilepsie“ sowie „unklassifizierte Epilepsie“ (Fisher, Cross, D’Souza, et al., 2017). Bei den fokalen Formen unterscheidet man unifokale und multifokale Anfälle sowie Anfälle, die eine Hemisphäre betreffen. Es können unter anderem bewusst (einfach fokale) und nicht bewusst erlebte (fokalkomplexe) Anfälle, der fokale nichtmotorische Anfall und der fokale Anfall mit Übergang zu einem bilateral tonisch-klonischem Anfall unterschieden werden. Bei der generalisierten Epilepsie zeigt sich eine bilaterale Hirnbeteiligung, die aber nicht zwingend den gesamten Kortex betreffen muss (Berg et al., 2010). Dabei kommt es grundsätzlich zu einem

Bewusstseinsverlust und verschiedene Anfallsarten wie Absencen, myoklonische, atonische, tonische oder tonisch-klonische Anfälle können auftreten. Eine weitere Form, die „kombinierte generalisierte und fokale Epilepsie“ beschreibt diejenige Gruppe, die sowohl generalisierte als auch fokale Anfälle erleidet. Wenn eine Epilepsie besteht, aber keine ausreichenden Informationen für eine Zuordnung vorhanden sind, wird sie als „unklassifiziert“ eingeordnet. Unter die dritte Stufe fällt die Diagnose des Epilepsiesyndroms. Sie beschreibt ein Cluster von Merkmalen bestehend aus der Anfallsart, der Elektroenzephalografie (EEG) und weiteren klinischen Befunden.

## **1.3 Elektroenzephalografie bei Epilepsie**

### **1.3.1 Das physiologische EEG**

Die Elektroenzephalographie ist ein Funktionsdiagramm, welches die Aktivität der Hirnrinde abbildet. Sie stellt das älteste und wertvollste Instrument in der Epilepsiediagnostik dar (Feyissa & Tatum, 2019). Durch eine räumliche und zeitliche Summation postsynaptischer Potenziale an den Dendriten der Pyramidenzellen entsteht eine Potenzialdifferenz, die über zwei Elektroden abgeleitet werden kann (Hoppe et al., 2007). Negative Potenziale zeigen im EEG nach oben, positive nach unten. Die Elektroden werden beim Menschen für eine oberflächliche Ableitung anhand des internationalen 10-20-Systems nach Jaspers auf dem Kopf platziert (Sinha et al., 2016). Man unterscheidet zwischen bipolaren und unipolaren Ableitungen. Bei der bipolaren Ableitung wird die Spannungsdifferenz zwischen zwei elektrisch aktiven Elektroden abgeleitet. Bei der unipolaren Ableitung befindet sich die zweite, sogenannte Referenzelektrode weiter entfernt vom Ort der Potenzialänderung (Stöhr & Kraus, 2002). Neben der oberflächlichen Ableitung existiert zudem die Möglichkeit der invasiven Ableitung. Diese ist beim Menschen jedoch nur gelegentlich indiziert, beispielsweise bei der Frage nach der Ursprungsregion für die Indikationsstellung und zur Vorbereitung für eine operative Epilepsie-Therapie (Zumsteg & Wieser, 2000).

Die synchrone Aktivierung verschiedener Neuronen erzeugt ein wellenförmiges EEG-Signal. Die entstehenden EEG-Potenziale ergeben über ein längeres zeitliches Intervall eine Frequenz, die man als EEG-Rhythmus bezeichnet (Stöhr & Kraus, 2002). Als Hintergrundrhythmus bezeichnet man dabei diejenige physiologische Aktivität, die in der okzipitoparietalen Hirnregion dominiert. Der Grundrhythmus ist genetisch vorprogrammiert.

Die Grundtätigkeit kann in den unterschiedlichen Hirnregionen variieren und wird differenziert in die folgenden vier Hauptzustände: (1) Alpha-Rhythmus (8-13 Hz), tritt auf im entspannten Wachzustand mit geschlossenen Augen, (2) Beta-Rhythmus (13-30 Hz), liegt bei Aufmerksamkeit und Konzentration vor, (3) Theta-Wellen (4-7 Hz) sind meist mit Schläfrigkeit verbunden und (4) Delta-Wellen (< 4 Hz) kommen hauptsächlich im Tiefschlaf vor (Tatum et al., 2006). Als zusätzliche Beschreibungsmerkmale, neben der Frequenz, können unter anderem die Amplitude (unter 20  $\mu$ V: niedrigamplitudig, über 100  $\mu$ m: hochamplitudig) sowie die Wellenform (monomorph, polymorph, biphasisch, etc.) dienen.

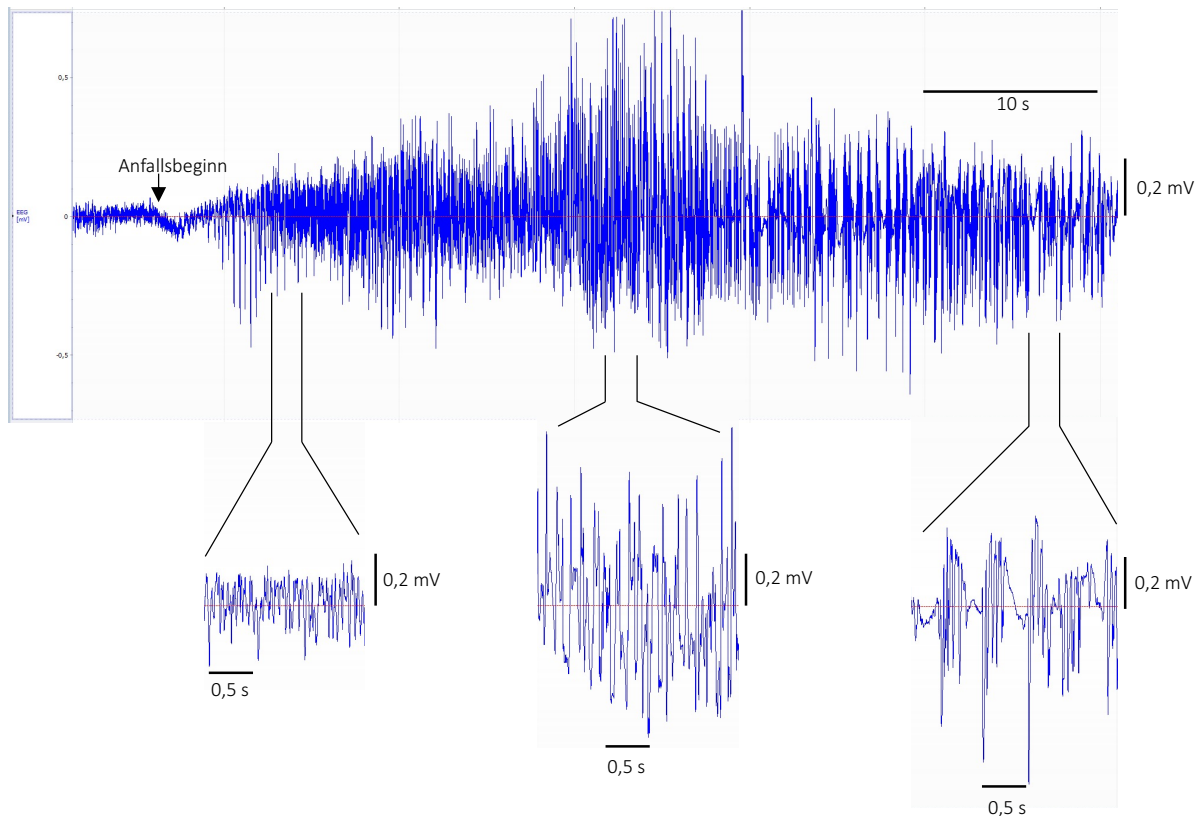
### 1.3.2 Das Anfalls-EEG

Synchron „feuernde“ Neuronen erzeugen abnorme epilepsietypische Potenziale, die ebenfalls im oberflächlichen EEG nachweisbar sind. Man unterscheidet hierbei zwischen interiktalen epileptiformen Entladungen (IED) und iktalen Mustern. Iktal bedeutet im wörtlichen Sinne „im Anfall“, während die IED zwischen den Anfällen auftreten. Sie bewirken keine Funktionsstörung des Gehirns, stehen allerdings im Verdacht, kognitive Einschränkungen bei Betroffenen hervorzurufen (Aldenkamp et al., 1996). Es handelt sich dabei um sogenannte Spikes (Spitzen), Sharp waves (steile Wellen) oder Komplexe aus spitzen oder steilen Wellen mit nachfolgender langsamer Welle, die auf einer langen Nachhyperpolarisation beruht (Hoppe et al., 2007). Spikes sind steil ansteigend, meist hochamplitudig und dauern zwischen 20-70 ms. Sharp waves sind mit 70-200 ms länger anhaltend. Spike-wave-Komplexe bestehen aus einem oder mehreren Spikes mit einer langsamen Welle. Mehr als drei aufeinanderfolgende Spikes werden als Polyspikes bezeichnet (Stöhr & Kraus, 2002). Auf die meisten Spikes oder Wellen folgt in der Regel ein langsamer Ausschlag. Das Fehlen deutet meist auf ein Artefakt hin. Es ist außerdem zu beachten, dass während des Schlafs teilweise auch physiologische Spikes und Wellen auftreten können (Tatum et al., 2013).

Ein epileptischer Anfall wird definiert als „ein vorübergehendes Auftreten von Zeichen und/oder Symptomen die auf eine abnorme übermäßige oder synchrone neuronale Aktivität zurückzuführen sind“ (Fisher et al., 2005). Die iktalen Entladungen können sich wiederholende Spikes und Wellen sein und sind sehr variabel in ihrer Morphologie, Frequenz und Amplitude (Chen & Koubeissi, 2019). Häufig verlangsamt sich die Frequenz, die Amplituden nehmen zu und die Verteilung weitet sich aus (Rosenow et al., 2015). Ein klassisches iktales Anfallsmuster eines Versuchstiers wird in Abbildung 1 gezeigt. Die EEG-Aufzeichnung während eines Anfalls ist von Vorteil, damit eine korrekte Klassifizierung erfolgen kann. Zusätzlich sollte die

Diagnostik mithilfe einer gründlichen Anamnese sowie klinischen Untersuchung komplettiert werden.

Häufig gestaltet sich die Aufzeichnung eines Anfalls-EEG beim Patienten in der Akutversorgung schwierig und kann daher meist nur bei einem Status epilepticus durchgeführt werden.



**Abbildung 1: Ausschnitt eines fokalen Anfalls bei Versuchstier M3**

Der Ausschnitt zeigt einen Anfall über die Dauer von etwa 55 Sekunden. Zu sehen sind epilepsietypische EEG-Veränderungen mit Spitzen, deren Amplitude im Verlauf des Anfalls deutlich zunimmt. Am Ende treten vermehrt Spike-Wave-Komplexe auf.

## 1.4 Experimentelle Untersuchung der Epilepsie

### 1.4.1 Das Pilocarpin-Tiermodell

Tiermodelle für TLE basieren auf der Induktion eines Status epilepticus (SE) durch systemische Injektion von Pilocarpin oder Kainsäure. In dieser Arbeit wurde ausschließlich

Pilocarpin verwendet. Bei Pilocarpin handelt es sich um einen muskarinischen Acetylcholin-Agonisten der, wenn zerebral oder systemisch injiziert, epileptische Anfälle auslösen kann. Dabei bindet er an M1-M3-Rezeptor-Subtypen und hat einen parasympathischen Effekt auf den Organismus (Panarese & Moshirfar, 2023). Ursprünglich wurde Pilocarpin, welches aus den Blättern einer südamerikanischen Pflanze extrahiert wird, in der Medizin zur Therapie des akuten Glaukoms eingesetzt. Turski et al. (1983) beschrieben erstmals seine epileptogene Wirkung auf den Organismus und wiesen in Versuchen mit Ratten besonders im Bereich der Amygdala und des Hippocampus erhebliche neuronale Degenerationen wie die charakteristisch pathologische Sprossung von Moosfasern nach (Shibley und Smith, 2002). Die meisten Tiermodelle benötigen, ähnlich wie beim Menschen, einen Zeitraum von einigen Wochen, um epileptische Anfälle zu entwickeln (Hoffman et al., 1994). Auf den ersten Status epilepticus, der üblicherweise bis zu einigen Stunden anhalten kann, folgt ein symptomfreier Zeitraum von mehreren Wochen (im Tiermodell und beim Menschen). In diesem findet ein struktureller Umbauvorgang statt, den man als Epileptogenese bezeichnet. Des Weiteren kommt es bei den Tieren, die Pilocarpin intraperitoneal verabreicht bekommen zu spontanen Anfällen, ähnlich denen bei Epileptikern. Die genannten Merkmale weisen auf eine besonders hohe Übereinstimmung mit Patienten hin, die unter der häufigsten Form, der Temporallappenepilepsie, leiden. Aus diesen Gründen hat sich das Tiermodell bereits seit einigen Jahrzehnten in der Forschung an den Entstehungsmechanismen und möglichen Therapien für Epilepsie als sehr geeignet und nützlich erwiesen.

#### **1.4.2 Video-EEG-Telemetrie**

Die Video-EEG-Telemetrie ermöglicht eine sehr genaue Diagnostik von Anfällen, insbesondere der Anfallsart und hat sich daher bereits seit langer Zeit als zuverlässige Methode in der Epilepsieforschung bewährt (Benbadis et al., 2004). Mithilfe einer synchronen Registrierung von EEG-Signalen und Videoaufnahmen ist es möglich, zwischen fokalen und generalisierten Anfällen zu unterscheiden. Außerdem können Störartefakte, wie sie zum Beispiel durch Bewegungen des Tieres beim Putzen oder bei der Nahrungsaufnahme entstehen, leicht von richtigen Anfällen unterschieden werden. Damit ist die Diagnostik von epileptischen Anfällen wesentlich sicherer als die alleinige Interpretation der EEG-Ableitungen. Bei den Tieren dieser Studie liegt ein weiterer Vorteil im Implantieren der kabellosen EEG-Elektroden. Sie können weder verrutschen noch bei einem Anfall Verletzungen herbeiführen. Zudem können die Tiere sich ungestört von den EEG-Kabeln in ihren Käfigen bewegen. Auch beim Menschen ist diese Kombination, beispielsweise bei stationären Epilepsie-Patienten,

möglich und sinnvoll, um eine eindeutige Klassifizierung vornehmen zu können. Da bei den Ratten zwei Elektroden implantiert werden, ergibt sich insgesamt nur eine EEG-Ableitung.

## 1.5 Die Rolle des Immunsystems bei Epilepsie

Um einen optimalen Schutz vor Krankheitserregern zu bieten, besteht das Immunsystem aus zwei Teilsystemen: Die angeborene Immunität, die für eine schnelle allgemeine Bekämpfung von fremden Organismen zuständig ist und das erworbene oder adaptive System zu denen die T- und B-Lymphozyten gehören. Es dauert einige Tage, bis sie aktiviert werden um spezifisch auf eine Infektion reagieren und ein immunologisches Gedächtnis ausbilden zu können. Während sie die Oberfläche körpereigener Zellen abtasten, differenzieren die CD8<sup>+</sup>T-Zellen mithilfe von MHC-I-Molekülen in körpereigen und körperfremd und erkennen potenziell pathogene Peptide. CD4<sup>+</sup>T-Helferzellen benötigen die Präsentation des extrazellulären Antigens mithilfe Antigen-präsentierender Zellen durch MHC-Klasse-II-Oberflächenmoleküle (Korn & Kallies, 2017). Nach dieser Antigenerkennung ist zunächst eine Kostimulation durch weitere Faktoren wie CD28 notwendig, damit die T-Zellen aktiviert werden. Anschließend kommt es, vermittelt durch verschiedene Zytokine, zu einer Proliferation von T-Zell-Klonen, die das spezifische Antigen erkannt haben. Abhängig von Zytokinen und anderen Signalen, die während der Aktivierung präsent sind, differenzieren sie sich daraufhin zu Effektor-T-Zellen. Während sich CD4<sup>+</sup>T-Zellen zu verschiedenen Subtypen von Helfer-T-Zellen entwickeln, die andere Immunzellen aktivieren und koordinieren, werden CD8<sup>+</sup>T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen, die Makrophagen aktivieren und infizierte Zellen abtöten können (Murphy & Weaver, 2018).

Basierend auf der Erkenntnis, dass verschiedene epileptische Erkrankungen mit unterschiedlichen Ursachen die Aktivierung von entzündlichen Prozessen ohne ein primär entzündliches Ereignis (Vezzani und Granata, 2005) gemein haben, soll auf die Bedeutung des Immunsystems für die Epilepsie ein besonderer Fokus gelegt werden. Die Entzündungserscheinungen wurden sowohl in experimentellen als auch bei menschlichen Fällen von Temporallappenepilepsie mit einhergehender Hippocampusklerose beschrieben und zeigen, dass spezifische Entzündungswege während der Entstehung einer Epilepsie aktiviert werden und im Gewebe chronisch fortbestehen (Ravizza et al., 2008).

### 1.5.1 T-Zell-vermittelte Autoimmunität

Nur etwa 10% der T-Zellen überleben den Selektionsprozess im Thymus während der Fetalzeit. Das entstehende T-Zell-Repertoire soll fremde Antigene korrekt identifizieren und eine Autoreaktivität vermeiden. Aus noch unbekanntem Gründen werden bei einer Autoimmunerkrankung autoreaktive T-Zellen, die durch Selektionsfehler entstehen und normalerweise durch Suppressorzellen kontrolliert werden, nicht erkannt. Dies hat zur Folge, dass körpereigene Strukturen angegriffen werden und eine chronische Entzündung mit Schäden im betroffenen Gewebe resultiert (Davidson und Diamond, 2001). Durch bestimmte Molekülabschnitte eines Antigens, auch bezeichnet als antigene Determinante bzw. Epitop, wird eine spezifische Immunantwort ausgelöst. Nach einer Ersterkennung eines bestimmten Epitops werden die Antigene durch Phagozytose aufgenommen und auf der Zelloberfläche präsentiert. Jedoch wird lediglich eine kurze Sequenz potenzieller Determinanten eines Antigens vorgestellt, sodass die übrigen Peptide stumm bzw. „kryptisch“ verbleiben. Ihnen gegenüber besteht infolgedessen keine T-Zell-Toleranz (Sercarz et al., 1993). Vermittelt durch B- oder T-Zellen kann es nach einer ersten Aktivierung im chronischen Verlauf zu einer Vermehrung der Autoantigene und damit zu einer sogenannten Epitopausbreitung kommen. Das heißt, es findet eine Ausdehnung der Immunreaktion über das anfängliche Antigen hinaus, also gegen eigentlich unschädliche Autoantigene, statt (Vanderlugt et al., 2000). Die Autoimmunität entsteht wahrscheinlich durch T-Zellen, die durch eine erhöhte Freisetzung von kryptischen Epitopen aktiviert werden. Warum dies passiert, wurde noch nicht vollständig geklärt. Es könnte sein, dass sie durch ein bestimmtes Ereignis, wie beispielsweise einer lokalen Entzündung, „sichtbar“ werden (Lanzavecchia, 1995). Auch zahlreiche Umwelt- und genetische Faktoren spielen eine wesentliche Rolle für die Ätiologie (Chi et al., 2023). Sicher ist, dass das Risiko für die Ausbildung einer Autoimmunerkrankung mit dem Alter zunimmt, ähnlich dem Risiko, im Alter an Epilepsie zu erkranken (de la Court et al., 1996).

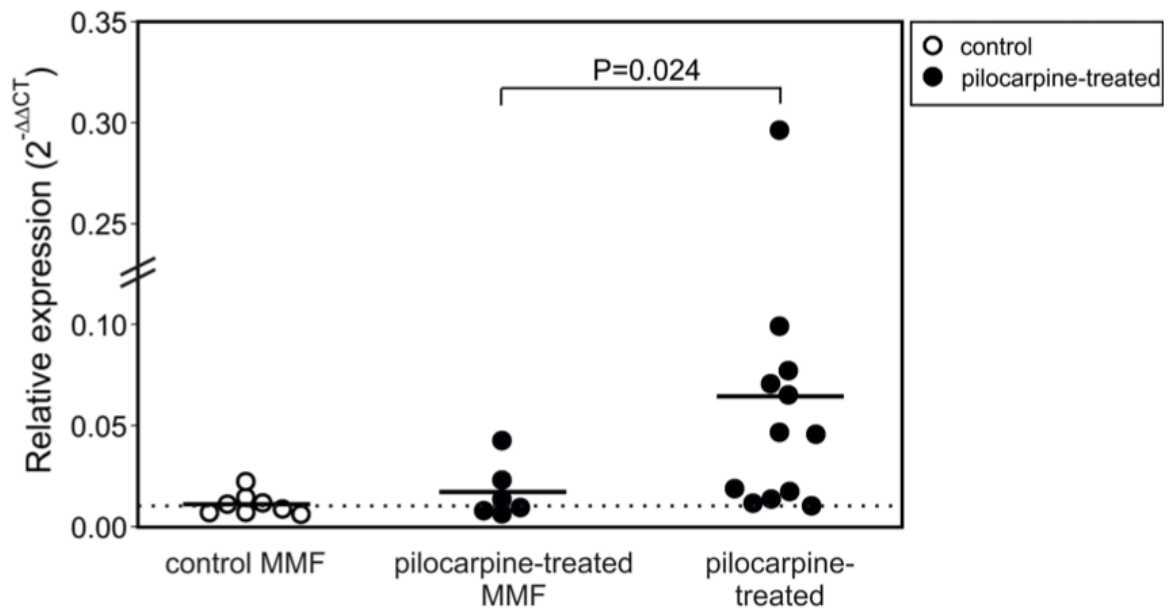
Im Rahmen der Immunüberwachung patrouillieren T-Zellen dauerhaft durch Blut, Lymphe, Gewebe und Organe. Dabei wird das ZNS unter anderem aufgrund der Blut-Hirn-Schranke sowie Liquor-Hirn-Schranke grundsätzlich als immunprivilegiertes System betrachtet (Korn & Kallies, 2017). Kommt es zu einem neurologischen Insult wie einem Krampfanfall, werden zunächst die angeborenen, unspezifischen Immunzellen aktiv. Schon früh wurde gezeigt, dass es nach einem Kainäure-induzierten Status epilepticus zu einer Aktivierung und Proliferation von Mikrogliazellen, den Makrophagen des ZNS, kommt (Niquet et al., 1994). Weiterhin setzt eine Entzündungskaskade ein, die das adaptive Immunsystem aktiviert, die Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  fördert und die Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke erhöht (Vezzani et al., 2011). Ein Zusammenhang zwischen Immunsystem

und Epilepsie konnte bereits bei der Rasmussen-Enzephalitis, einer T-Zell-vermittelten neurologischen Erkrankung mit refraktärer fokaler Epilepsie, beschrieben werden (Bien et al., 2002). Hierbei wurde ein spezifischer Angriff durch zytotoxische CD8<sup>+</sup>T-Lymphozyten auf Astrozyten und Neuronen im ZNS erkannt (Bauer et al., 2007).

### **1.5.2 Immunantwort nach Status epilepticus**

Im Rahmen der Vorarbeiten an epileptischen Ratten konnte beim Pilocarpin-induzierten Status epilepticus ein Einfluss der Leukozytenpräsenz im Hippocampus festgestellt werden (Neumann et al., 2017). Über einen Zeitraum von 28 Tagen wurden die Zellsuspensionen der Tiere mittels durchflusszytometrischer Analysen untersucht und eine biphasische Immunantwort nachgewiesen. Innerhalb der ersten vier Tage zeigte sich ein Anstieg der CD45<sup>+</sup>-Zellen, welche repräsentativ für die angeborene Immunantwort sind. Zudem kam es zu einer vorübergehend erhöhten Anzahl von CD11b<sup>+</sup> und F4/80<sup>+</sup>-Mikrogliazellen im Hippocampus. CD11b<sup>+</sup> wird auf CD8<sup>+</sup>T-Zellen exprimiert und dient als Marker für die Konzentration jüngst aktivierter CD8<sup>+</sup>T-Zellen, da er beim Übergang in die Gedächtnisphase herunterreguliert wird. Zudem können CD8<sup>+</sup>T-Zellen phänotypisch schwierig von kürzlich aktivierten Effektor-T-Zellen und Gedächtnis-T-Zellen unterschieden werden (Zimmermann, 1996; Christensen et al., 2001). Bei F4/80-Glykoprotein handelt es sich um ein Antigen für den F4/80-Rezeptor auf der Zelloberfläche der meisten Gewebemakrophagen und somit auch auf Mikroglia im Gehirn.

Nach etwa 28 Tagen kam es zu einem Anstieg von CD3<sup>+</sup>T-Lymphozyten. Diese Untergruppe von T-Zellen spielt eine wichtige Rolle bei der adaptiven Immunantwort und der Antigenerkennung. Mittels qRT-PCR wurde zwischen CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Zellen differenziert. An Tag 28 war das CD8<sup>+</sup>/ CD4<sup>+</sup>- Verhältnis bei den Pilocarpin-behandelten Tieren signifikant erhöht. Abbildung 2 zeigt, dass eine Gabe des Purin-Antagonisten Mycophenolatmofetil (MMF) diese verzögert einsetzende zytotoxische Immunreaktion nachweislich unterdrücken konnte (Neumann et al., 2017).



**Abbildung 2: Die relative Expression von CD3g nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus**  
Bei den MMF-behandelten Tieren (mittig) ist die T-Zell-Reaktion nach SE im Vergleich zu den unbehandelten Tieren (rechts) signifikant vermindert. (Quelle: Neumann et al., 2017)

### 1.5.3 Mycophenolatmofetil

Das Immunsuppressivum Mycophenolatmofetil ist ein Prodrug der Mycophenolsäure (MPA). Bei oraler Gabe wird MMF im Dünndarm in die aktive Form MPA umgewandelt. MPA ist ein selektiver, nicht kompetitiver und reversibler Inhibitor der Inosin-5'-Monophosphat-Dehydrogenase (IMPDH). Das Enzym katalysiert die Redoxreaktion zwischen Xanthosinmonophosphat und Inosinmonophosphat zu Guanosinmonophosphat (Neuberger et al., 2020). Die damit einhergehende Hemmung der DNA-Synthese zeigt sich spezifisch in T- und B-Lymphozyten, da andere Zellen Purine auf weiteren Wegen synthetisieren können und daher nicht auf diesen Stoffwechselweg angewiesen sind. Bei den Immunzellen hat MMF einen zytostatischen Effekt, indem die Produktion von Antikörpern in B-Zellen, die Proliferation von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>T-Zellen sowie die Adhäsion von Glykoproteinen an Endothelzellen gehemmt werden (Bullingham et al., 1998).

In Deutschland ist MPA bei Erwachsenen zur Prophylaxe akuter Transplantatabstoßungen nach einer allogenen Nierentransplantation in Kombination mit Cyclosporin und Glucocorticoiden zugelassen. Das Prodrug MMF ist auch bei Leber- und Herztransplantationen indiziert (Statz & Tett, 2014). Eine Dosis von 1-1,5 g/ Tag wird

empfohlen (Villarroel et al., 2009). Die Bioverfügbarkeit von MMF beträgt 94%, bei Einnahme mit fettreichem Essen ist sie jedoch stark reduziert, weshalb MMF nur nüchtern eingenommen werden sollte. Zu den möglichen Nebenwirkungen zählen gastrointestinale Beschwerden, Veränderungen des Blutbilds und des Elektrolythaushalts sowie häufigere Infektionen durch Bakterien, Viren oder Pilze (Van Laar, 2017). Auch schwerwiegende Krankheitsbilder wie maligne Lymphome, Malignome der Haut oder Sepsis können auftreten (Staatz & Tett, 2014). In bestimmten Fällen ist die Einnahme kontraindiziert, etwa in der Schwangerschaft und Stillzeit, da es stark teratogen wirkt und das Risiko für kongenitale Missbildungen und Fehlgeburten erhöht ist (Andrade Vila et al., 2008). Auch bei Patienten mit dem Lesch-Nyhan-Syndrom darf es nicht eingesetzt werden (Villarroel et al., 2009).

## **1.6 Hypothese**

Die Vorarbeiten durch Neumann et al. (2017) haben gezeigt, dass die frühe Gabe des Immunsuppressivums MMF die verzögerte zytotoxische T-Zell-Antwort nach einem Pilocarpin-induzierten Status epilepticus signifikant unterdrücken konnte. Es wird spekuliert, dass das Vorhandensein von T-Lymphozyten im ZNS langfristig zur Ausbildung einer Autoimmunerkrankung führt, die mit einer erhöhten Anfallshäufigkeit einhergeht. Durch die Auswertung von Langzeit-Video-EEG-Analysen an Ratten, die kurz nach einem Pilocarpin-induzierten Status epilepticus das Medikament MMF erhielten, soll geklärt werden, ob dadurch ein möglicher sekundär prophylaktischer Ansatz gefunden und die Ausbildung einer chronischen Epilepsie verhindert werden kann. Die Hypothese dieser Arbeit lautet demnach: Die rechtzeitige immunmodulatorische Intervention mit MMF unmittelbar nach einem Status epilepticus bewirkt eine positive Krankheitsmodifikation und verbesserte Prognose bei experimenteller Epilepsie.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchsablauf**

Die folgende Studie wurde am Institut für Physiologie der Universität Rostock unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Untersucht wurden dabei insgesamt sechs männliche Wistar-Ratten (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) unterschiedlichen Alters. Anfangs erhielten sowohl die Placebo- als auch die Versuchstiere das Medikament Pilocarpin bis ein Status epilepticus auftrat. Den Versuchstieren wurde daraufhin Mycophenolatmofetil injiziert. Mit mindestens vier Wochen Abstand zum ersten Status epilepticus wurden die EEG-Elektroden implantiert. Anschließend wurden die Tiere in ihre Käfige gesetzt und über eine Aufnahmeplatte am Boden dauerhaft bis zum Lebensende ein EEG, gekoppelt mit einem synchronem Video, telemetrisch aufgezeichnet. Die gewonnenen Daten wurden anschließend ausgewertet und analysiert. Die Tiere wurden gemäß definierten humanen Endpunkten getötet, bevor sie in einen moribunden Zustand verfallen konnten. Die nationalen und internationalen Richtlinien über die ethische Verwendung von Tieren (Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern, AZ: 7221.3-1.1-013/10 und 7221.3-1.1-019/13) wurden bei allen Verfahren berücksichtigt. Entsprechend der gesetzlichen Bestimmungen wurden die Etablierung der experimentellen Epilepsie (Pilocarpin-Tiermodell), die Applikation von Mycophenolatmofetil sowie die Sender-Implantation von Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts durchgeführt. Dabei wurde alles getan, um das Leiden der Tiere sowie die Anzahl der untersuchten Tiere zu reduzieren.

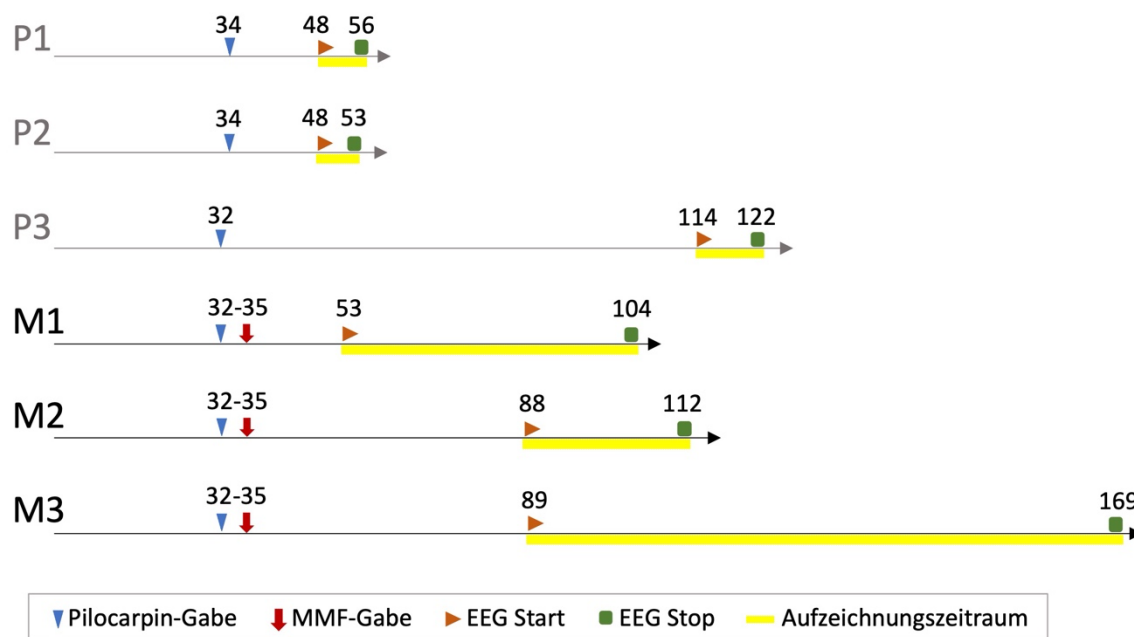
#### **2.1.1 Das Pilocarpin-Tiermodell**

Für die Induktion einer Epileptogenese erfolgte bei allen sechs Tieren der Placebo- und Versuchsgruppe bei einem Alter von 32 bis 34 Tagen die intraperitoneale Injektion von Pilocarpinhydrochlorid (340 mg/kg, gelöst in Aqua dest.). Um periphere cholinerge Wirkungen durch das Pilocarpin zu reduzieren, wurde 30 Minuten vorher der Acetylcholin-Rezeptor-Antagonist N-Methylscopolamin (1 mg/kg i.p., gelöst in NaCl) gegeben. Die Pilocarpin-Gabe wurde so oft vollzogen, bis ein Status epilepticus resultierte. Etwa 40 Minuten nach Beginn des Status epilepticus wurde dieser durch eine Injektion von Diazepam (2-10 mg/kg i.p.) beendet. Die Tiere erhielten eine zweite Injektion (170 mg/kg i.p.), wenn innerhalb von 60

Minuten kein SE folgte. Tiere ohne Pilocarpin wurden hierbei nicht untersucht, da bereits gezeigt werden konnte, dass bei diesen Tieren keine Anfälle zu erwarten waren (Bajorat et al., 2011).

## 2.1.2 Verabreichung von Mycophenolatmofetil

Die Tiere der Placebogruppe (P1, P2 und P3) erhielten ausschließlich Pilocarpin. Die Tiere der Versuchsgruppe (M1, M2 und M3) erhielten sowohl Pilocarpin als auch Mycophenolatmofetil. Dafür wurde ihnen eine Bolusinjektion MMF (20 mg/kg) direkt an Tag 0 nach Pilocarpin-induziertem SE verabreicht. Dieser Vorgang wurde einmal täglich über vier Tage (also bis zum dritten Tag nach SE) wiederholt. Abbildung 3 zeigt schematisch den zeitlichen Ablauf in Tagen ab der Geburt (Tag 0), über die Pilocarpin-Gabe sowie die MMF-Verabreichung bei den Versuchstieren bis zum Beginn und zum Ende der EEG-Aufzeichnung.



**Abbildung 3: Zeitachse des Versuchs**

Dargestellt ist jedes Tier (Placebotiere: P1-P3 und Versuchstiere: M1-M3) ab Zeitpunkt der Geburt (Tag 0) bis zum Lebensende. Die Pilocarpin-Gabe erfolgte bei allen Tieren zwischen dem 32. und 34. Tag. Das Alter bei EEG-Beginn war bei jedem Tier unterschiedlich. Die gelbe Markierung gibt die individuelle Länge der EEG-Aufzeichnungen wieder (P1: 9 Tage; P2: 6 Tage; P3: 10 Tage; M1: 52 Tage; M2: 25 Tage; M3: 81 Tage).

## 2.2 Video-EEG-Telemetrie

In den folgenden Unterkapiteln wird das Verfahren der Video-EEG-Telemetrie detailliert beschrieben. Zunächst wurde den Versuchstieren in einer kurzen Operation ein Transmitter verbunden mit zwei Elektroden unter die Haut implantiert. Nach einiger Zeit konnten die Tiere in ihre Käfige gesetzt werden. Unterhalb jedes Käfigs befand sich ein Receiver, der dauerhaft und kabellos ein EEG aufzeichnete. Eine Kamera nahm parallel dazu die Videospur auf. Im Anschluss an die Aufzeichnung wurden die Daten an einen Computer übermittelt und ausgewertet.

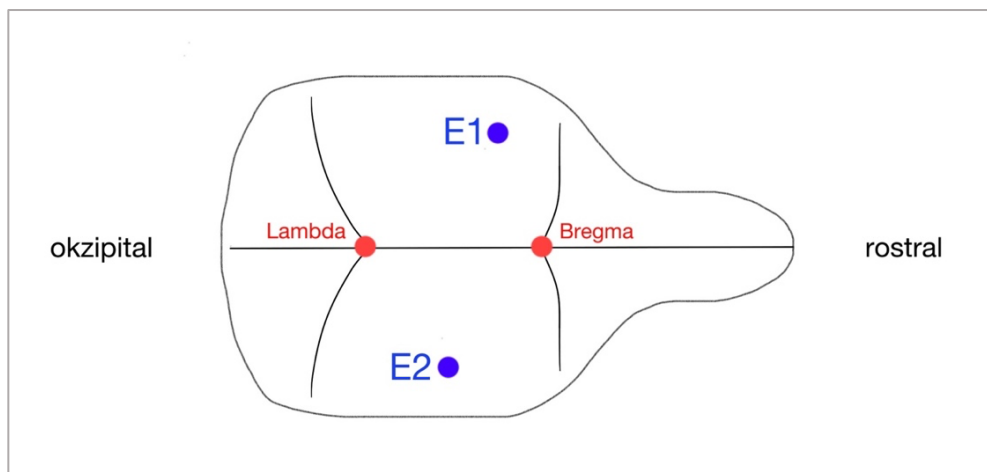
### 2.2.1 Sender-Implantation

Die Sender-Implantation für die EEG-Ableitung erfolgte in einem routinierten und bewährten Verfahren durch Mitarbeiter des Instituts für Physiologie in Rostock. Dafür wurden die Tiere zunächst gewichtsadaptiert (siehe Tabelle 1) intraperitoneal mittels Xylazinhydrochlorid (10mg/ kg Rompun®) und S-Ketaminhydrochlorid (100 mg/ kg Ketanest®) anästhesiert. Daraufhin erfolgte eine Rasur der Haare am Hinterkopf sowie Desinfektion der Haut mit 70% Ethanol und Bacillol®. Fixiert wurde das Tier am Kopf in einem Stereotaxierahmen (Narishige, Tokio, Japan). Sobald Lidschluss- und Rückziehreflex der Hinterpfoten nicht mehr funktionierten, war sicher, dass die Narkose wirkte. Dann begann die Operation mit einem ca. 30 mm langen Schnitt, der vom Kopf bis zum Nacken reichte. Anschließend wurde die Haut mit einem stumpfen Instrument vom Knochen ab präpariert. Subkutan wurde daraufhin eine kleine Tasche gebildet, in der die Transmitter platziert werden konnten. Die Implantation der zwei Elektroden erfolgte gemäß Herstellerangaben. Dafür wurden mittels eines zahnärztlichen Bohrers kleine Löcher in den Schädelknochen gebohrt. Die Position der ersten Elektrode (E1) befand sich 4 mm lateral der Mittellinie und 2-3 mm posterior von Bregma (Schnittpunkt aus Sutura coronalis und Sutura sagittalis). Die Position der zweiten Elektrode (E2) lag etwa 5 mm anterior von Lambda (Schnittpunkt aus Sutura lambdoidea und Sutura sagittalis), ebenfalls 4 mm lateral der Mittellinie (siehe Abbildung 4). Die Elektroden wurden durch leichtes Umbiegen der Spitze vorsichtig fixiert, bevor der lichthärtende Haftvermittler Heliobond des Herstellers Ivoclar vivadent® aufgetragen und mittels UV-Lampe für 20 Sekunden gehärtet wurde. Anschließend wurde ein dünnfließendes Komposit mit dem Namen Compoglass Flow, ebenfalls von Ivoclar vivadent®, aufgebracht und erneut für 20 Sekunden lichtgehärtet. Für die Befestigung der Enden war eine trockene Oberfläche wichtig, da Haftvermittler und Kunststoff ansonsten keine gute Haftkraft besitzen. Anschließend wurde die OP-Wunde mit einem nicht-

resorbierbaren Polyester-S-PET-Faden der Stärke 5-0 (Catgut®) vernäht. Im Rahmen der postoperativen Nachsorge wurde das Schmerzmittel Metamizol 100 mg/ kg für die Dauer von insgesamt drei Tagen verabreicht. Die Sterilisation der Instrumente erfolgte thermisch durch einen FTI-Sterilisator. Alle Transmitter wurden nach Gebrauch mit Actril® gereinigt.

**Tabelle 1: Gewicht der untersuchten Tiere bei Sender-Implantation**  
(n.e. = nicht erhoben).

Tier	P1	P2	P3	M1	M2	M3
Gewicht bei Sender-Implantation	n.e.	n.e.	555 g	285 g	330 g	475 g



**Abbildung 4: Schematische Aufsicht auf den Rattenschädel**

Dargestellt wird Bregma als Schnittpunkt aus Sutura sagittalis und Sutura coronalis sowie Lambda als Schnittpunkt aus Sutura lambdoiea und Sutura sagittalis (rote Punkte). Die Markierungspunkte für die Bohrlochkoordinaten der Elektroden (E1 und E2) sind blau dargestellt.

## 2.2.2 Messplatz und Datensicherung

Die Experimente fanden in einem abgeschlossenen Raum statt, der speziell für die Messungen und die Datensicherung eingerichtet wurde. Die Unterbringung der Tiere erfolgte in Einzelkäfigen, sodass sie während des gesamten Versuchs freie Bewegungsmöglichkeiten besaßen. Es wurde sichergestellt, dass jederzeit Zugang zu Wasser und standardisierten Futterrationen bestand. Die Raumtemperatur wurde konstant zwischen 20 und 24°C gehalten, während die relative Luftfeuchtigkeit etwa zwischen 40% und 60% betrug. Die Experimente wurden mithilfe des Telemetrie-Systems ETA-F20/ Dataquest ART 4.2 von Data Sciences International (DSI™), St. Paul, MN, USA, durchgeführt. Um einen regelmäßigen Tag-Nacht-Rhythmus bei den Tieren zu simulieren, wurde das Licht täglich von 6 bis 18 Uhr eingeschaltet und von 18 bis 6 Uhr ausgeschaltet. Die Videoaufnahmen wurden mithilfe einer speziellen Hell-Dunkel-Netzwerkamera mit Infrarotfilter vom Typ Axis 223M (Axis Communications, Lund, Schweden) durchgeführt. Um die Qualität der nächtlichen Aufnahmen zu verbessern, wurde über jedem Käfig eine kleine Lampe mit blauem Licht angebracht. Ein Beispiel für den Messplatz ist in Abbildung 5 zu sehen.

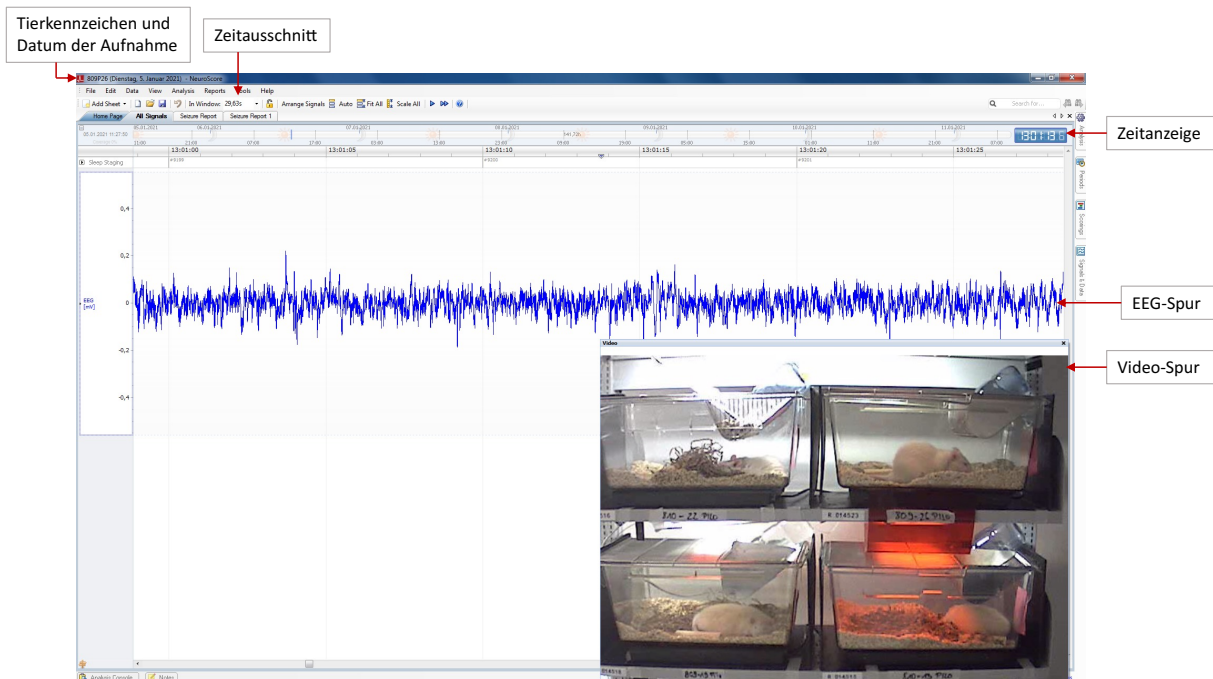


**Abbildung 5: Video-EEG-Überwachung am Messplatz**

Die erhobenen EEG-Daten werden von dem implantierten Transmitter der jeweiligen Ratte an den Receiver unterhalb des Käfigs übertragen und über eine Data Exchange Matrix an den Computer gesendet.

## 2.2.3 Auswertung der EEG-Daten

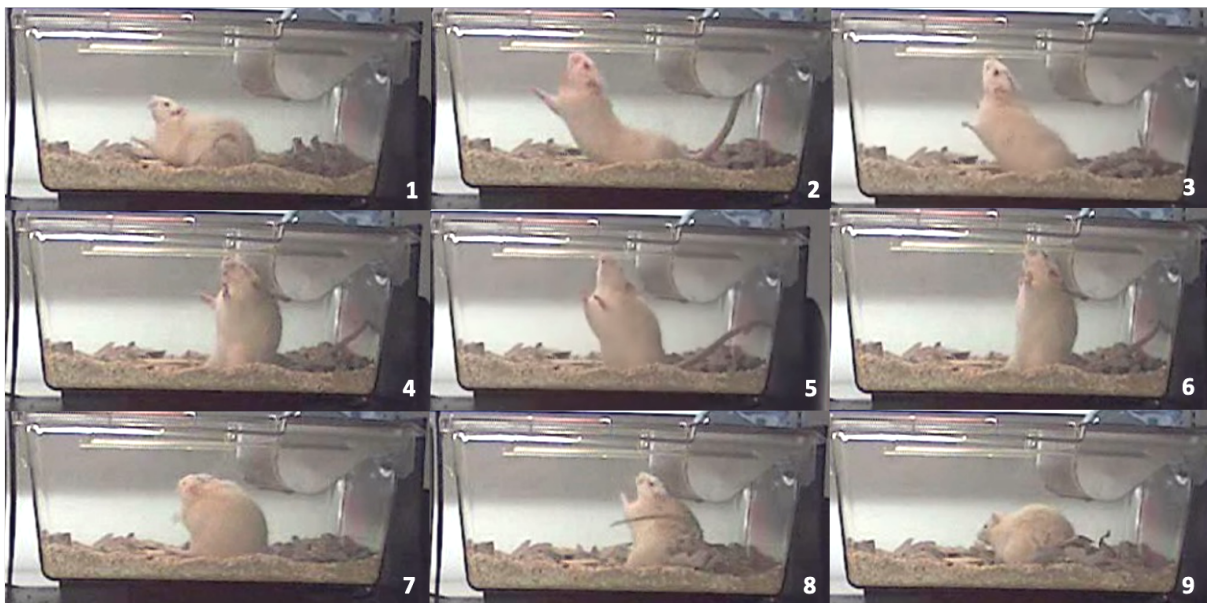
Mittels der DSI Software NeuroScore™ wurden die gewonnenen EEG-Daten ausgelesen und parallel mit der synchron aufgezeichneten Videoaufnahme manuell ausgewertet. Abbildung 6 zeigt ein NeuroScore™-Bildschirmfoto. Die Videospur des Tieres verlief parallel zum EEG. Dieses wurde mit einer variablen Zeit, meist mit 10-30 Sekunden, abgespielt, und konnte bei Anfällen angehalten und in Echtzeit betrachtet werden. Die Abtastrate betrug 500 Hz.



**Abbildung 6: Bildschirmfoto mit EEG-Spur und Video-Spur bei NeuroScore™**

Die Auswertung der EEG-Spur erfolgt zeitgleich mit dem aufgenommenen Video. Der Zeitausschnitt war frei wählbar.

Bei beiden Anfallstypen zeigte sich ein deutliches Anfalls-EEG. Die Unterteilung in die Art des Anfalls (fokal oder generalisiert) wurde über die Videoauswertung vorgenommen. Der fokale Anfall wurde anhand folgender typischer Merkmale differenziert: motorische Anzeichen wie myoklonische oder tonische Aktivität, atonische und klonische sowie epileptische Krämpfe (Fisher, Cross, French et al., 2017). Bei den Tieren zeigte sich dies konkret in einem Verharren in versteifter Körperhaltung verbunden mit einer Überstreckung der Extremitäten (siehe Abbildung 7). Auch Automatismen wie beispielsweise ein Gähnen traten häufiger auf. Hinsichtlich der Dauer der Anfälle wurde eine kumulative Anfallsdauer ermittelt. Diese wurde definiert als die Gesamtdauer der EEG-Aktivität und den ersten klinischen Anzeichen eines Anfalls (je nachdem, was zuerst auftrat) bis zur Beendigung des letzten ictalen Phänomens (klinisch oder elektrografisch, je nachdem was zuletzt auftrat).



**Abbildung 7: Bildfolge eines fokalen Anfalls**

*Die Dauer beträgt etwa 30 Sekunden (ein Bild alle 3 Sekunden). Zunächst kommt es zu einem Verharren in versteifter Haltung, dann zu einer Überstreckung der Vorderpfoten mit Anspannung des gesamten Körpers.*

Der generalisierte Anfall manifestierte sich durch eine Vielzahl motorischer Aktivitäten, darunter tonisch-klonisch, klonisch, tonisch, myoklonisch, myoklonisch-tonisch-klonisch, myoklonisch-atonisch, atonisch und epileptische Krämpfe. Typischerweise verlief dieser Anfall in drei Phasen: Zunächst trat eine tonische Phase auf, die durch eine anfängliche Versteifung, einen Sturz sowie Bewusstlosigkeit, gegebenenfalls begleitet von einem kurzzeitigen Atemstillstand, charakterisiert war. Oft waren dabei große, lichtstarre Pupillen zu beobachten. Anschließend folgte eine klonische Phase, die von heftigen Zuckungen im gesamten Körper geprägt war. Schließlich kehrte das Bewusstsein zurück, und es setzte eine Phase der Erschöpfung ein (Krämer & Rüegg, 2021). Interessanterweise wurde sowohl bei Kontroll- als auch bei Versuchstieren während eines generalisierten Anfalls oft ein regelrechtes "Umherfliegen" innerhalb ihres Käfigs beobachtet, wie in Abbildung 8 dargestellt. Diese Beobachtung unterstreicht die Intensität und Unkontrollierbarkeit der motorischen Manifestationen während eines generalisierten Anfalls, unabhängig von der Behandlungsgruppe.



**Abbildung 8: Bildfolge eines generalisierten Anfalls**

Die Dauer des Anfalls betrug etwa circa 42 Sekunden (ein Bild alle 3 Sekunden). Die drei Phasen sind deutlich zu sehen: 1. Tonische Phase mit einer anfänglichen Versteifung und anschließendem Sturz; 2. Klonische Phase mit heftigen Zuckungen im gesamten Körper; 3. Erschöpfungsphase.

## 2.3 Statistik

Alle Daten wurden mittels Microsoft Excel 2021 und dem Statistik-Programm Graphpad Prism 9 analysiert und ausgewertet. Dabei wurden in einigen Fällen Mittelwerte ( $\bar{X}$ ) und Standardabweichungen ( $\pm$ ) berechnet. Die statistische Signifikanz zweier unabhängiger Stichproben wurde bei Normalverteilung mittels eines ungepaarten Student-t-Tests oder bei nicht normalverteilten Ergebnissen mittels des Mann-Whitney-U-Tests bewertet. Zur Bestimmung der Signifikanz wurde ein 95%-Konfidenzintervall gewählt.

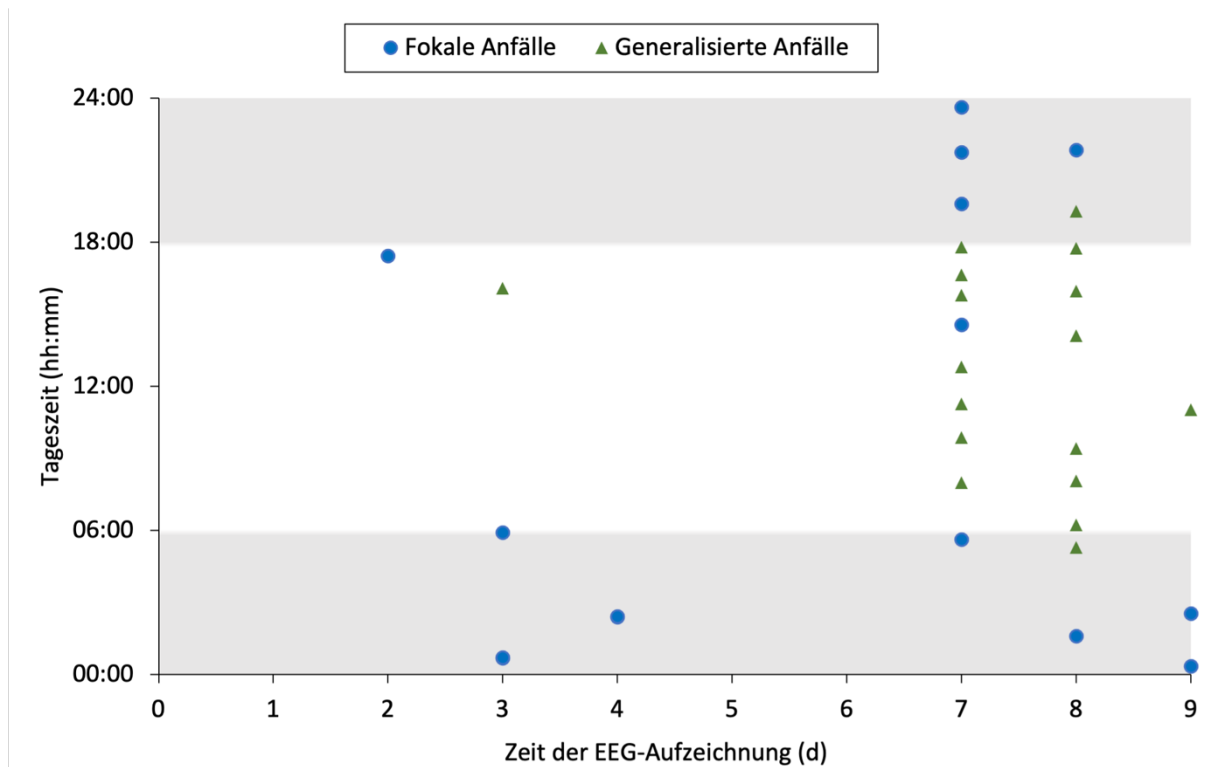
## 3 Ergebnisse

Um eine strukturierte Darstellung zu gewährleisten wird dieses Kapitel in drei Abschnitte unterteilt. Zunächst werden die drei Placebotiere, anschließend die drei Versuchstiere vorgestellt. Dabei visualisiert die erste Abbildung jeweils die zeitliche Abfolge der einzelnen Anfälle und deren Klassifizierung seit Beginn der EEG-Implantation bis zum Ende der Aufzeichnung. Für eine bessere Übersicht werden die Tage weiß und die Nächte grau markiert. Die zweite Abbildung veranschaulicht die variierende Dauer der einzelnen Anfälle im Verlauf der Aufzeichnungsperiode, wobei jeder Balken einen Anfall repräsentiert. Im dritten Abschnitt erfolgt eine Zusammenfassung der Ergebnisse. Hier werden die Placebo- und Versuchsgruppe besonders im Hinblick auf die durchschnittliche Anzahl und die Art der Anfälle verglichen.

### 3.1 Placebogruppe

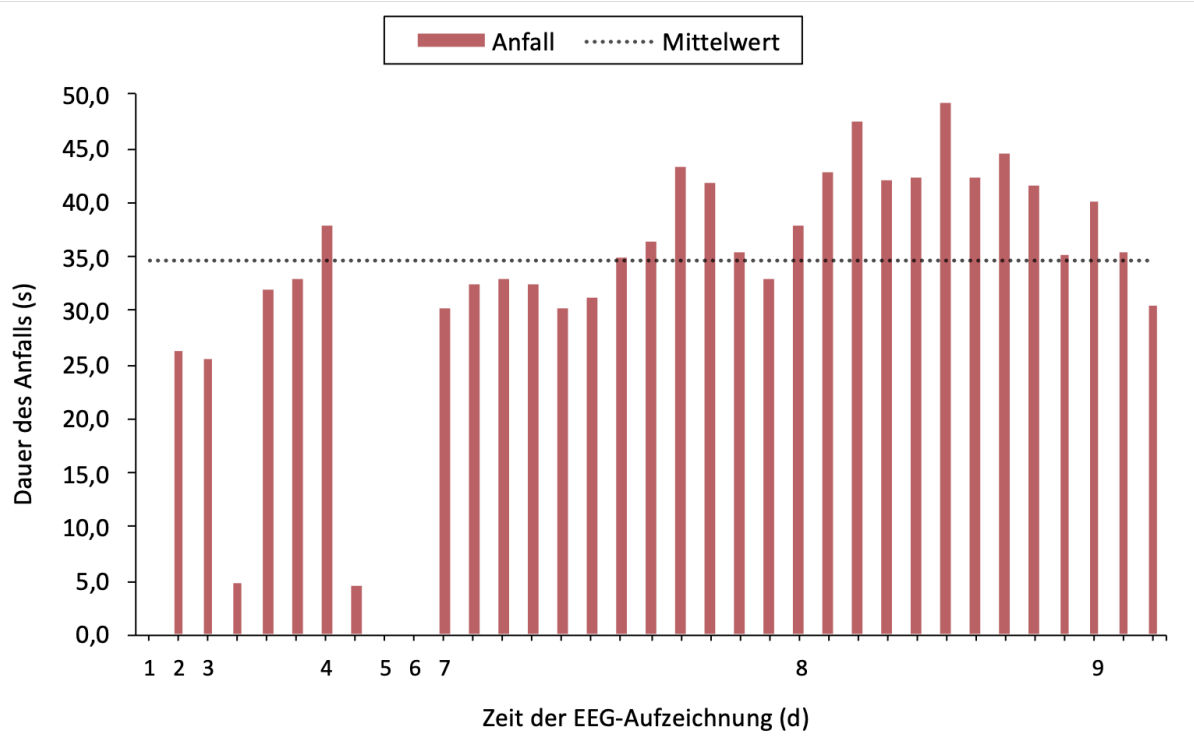
#### 3.1.1 Placebotier 1 (P1)

Während der neuntägigen EEG-Aufzeichnung bei Tier P1 wurden insgesamt 32 Anfälle registriert, wovon sich 17 als fokale und 15 als generalisierte Anfälle darstellten. Die durchschnittliche Häufigkeit von 3,6 Anfällen pro Tag lag unter dem Gesamtdurchschnitt aller Placebotiere ( $\bar{X} = 6,3$ ). Die Art der Anfälle war mit durchschnittlich 1,9 fokalen und 1,7 generalisierten Anfällen pro Tag sehr ausgeglichen. Dennoch offenbarten sich zum Ende der Aufzeichnung tendenziell mehr generalisierte Anfälle (siehe Abbildung 9). Zudem war innerhalb der letzten drei Tage eine Zunahme der Häufigkeit der Anfälle mit Clusterung zu verzeichnen. Die Verteilung der Anfälle im Tag-Nacht-Vergleich stellt sich sehr ausgewogen dar. 17 (53%) der Anfälle fanden tagsüber statt und 15 (47%) ereigneten sich in der Nacht.



**Abbildung 9: Übersicht aller Anfälle bei Tier P1 in Abhängigkeit von der Tageszeit**

Die Dauer der einzelnen Anfälle wird in Abbildung 10 veranschaulicht. Die mittlere Anfallsdauer betrug  $34,66 \pm 9,82$  Sekunden. 91% der Anfälle dauerten unter 30 Sekunden, 9% dauerten zwischen 30 und 60 Sekunden. Der kürzeste Anfall dauerte 4,52 Sekunden, während der längste Anfall 47,67 Sekunden andauerte. Es kam mit zunehmender Krankheitsdauer weder zu einer Verkürzung noch zu einer Verlängerung der Anfallsdauer und sie blieb über den gesamten Aufzeichnungszeitraum hinweg sehr variabel.

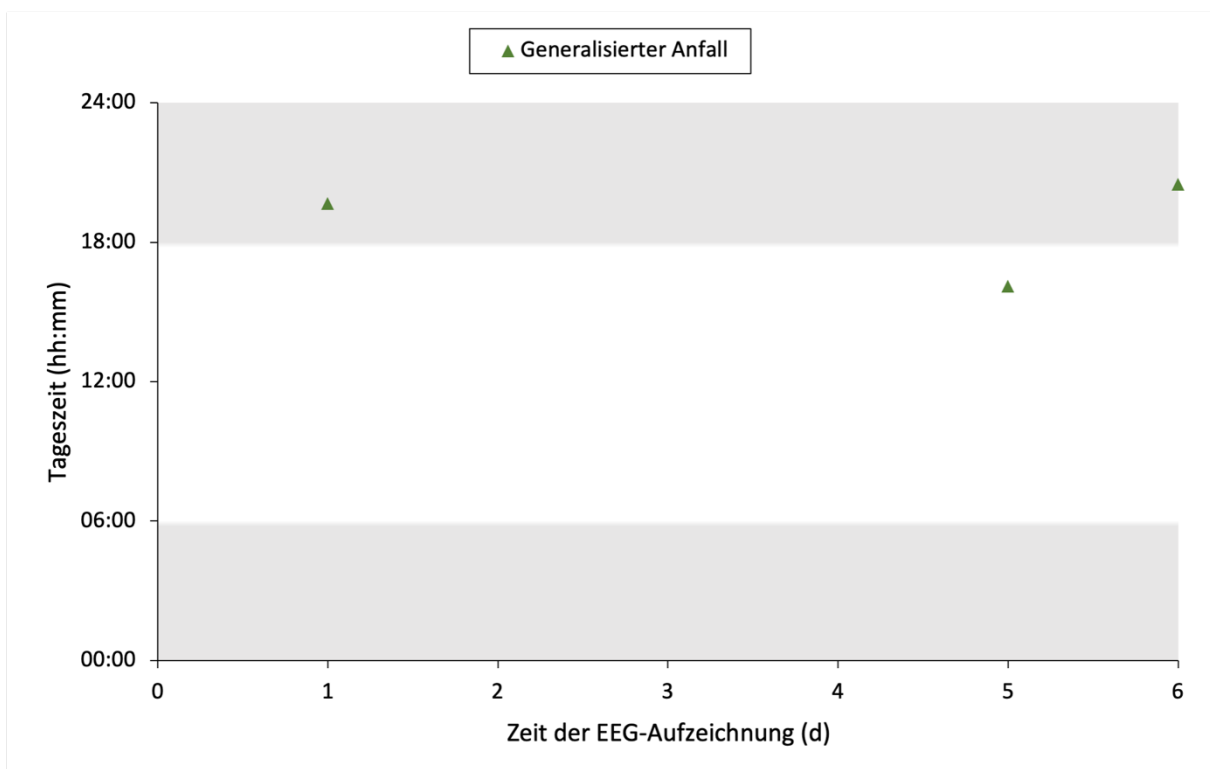


**Abbildung 10: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier P1**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

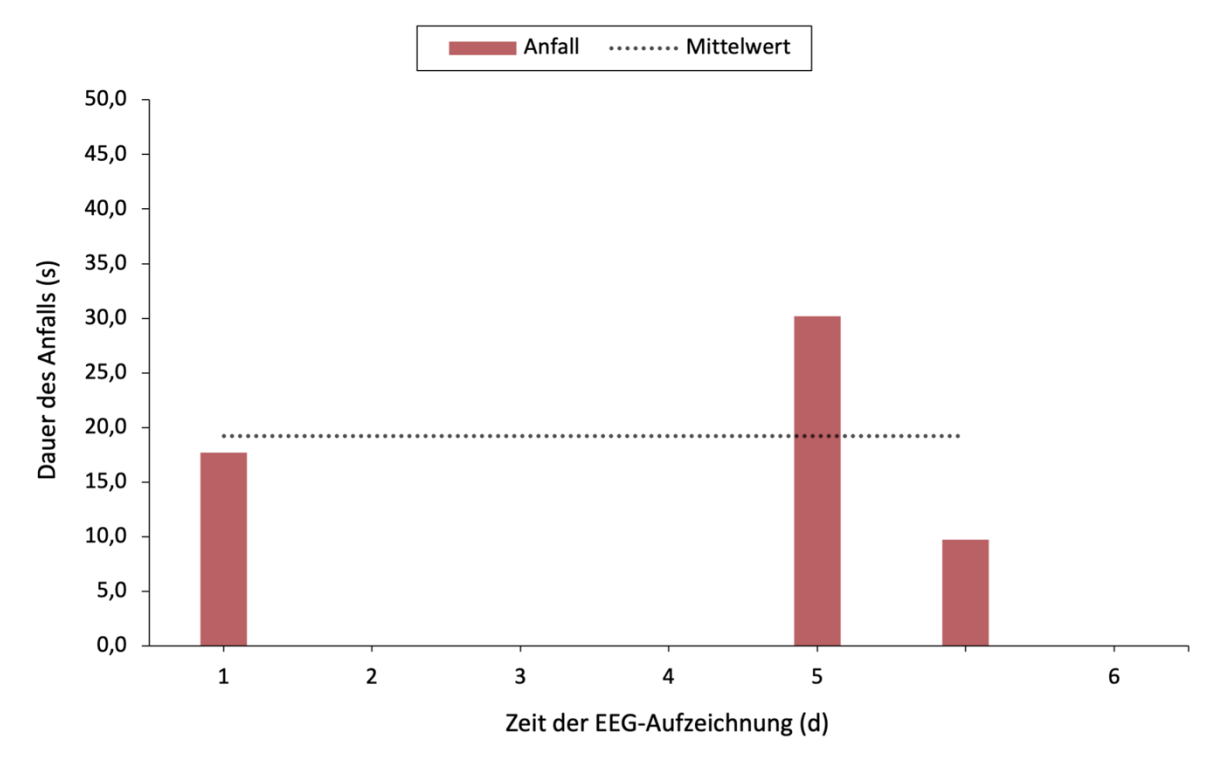
### 3.1.2 Placebotier 2 (P2)

Tier P2 erlitt während der sechstägigen EEG-Aufzeichnung nur drei Anfälle, was eine durchschnittliche Anzahl von 0,5 Anfällen pro Tag ergab. Interessanterweise waren alle diese Anfälle generalisiert und es wurden keine fokalen Anfälle beobachtet. Von den drei Anfällen ereigneten sich zwei (67%) nachts, während einer (33%) tagsüber auftrat. Aufgrund der geringen Anzahl an Anfällen ist es schwierig, eine klare Tendenz oder eine Abhängigkeit von der Tageszeit zu erkennen, insbesondere aufgrund des kurzen Beobachtungszeitraums (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11: Übersicht aller Anfälle bei Tier P2 in Abhängigkeit von der Tageszeit**

Abbildung 12 illustriert die Dauer der drei Anfälle. Der erste Anfall dauerte 17,71 Sekunden, der zweite Anfall 30,27 Sekunden und der dritte Anfall war mit 9,75 Sekunden der kürzeste. Die mittlere Anfallsdauer betrug  $19,20 \pm 10,33$  Sekunden. Diese Ergebnisse zeigen eine gewisse Variation in der Dauer der Anfälle, wobei jedoch keine klare Tendenz erkennbar ist, da der Beobachtungszeitraum begrenzt und die Anzahl der Anfälle sehr gering war.



**Abbildung 12: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier P2**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

### 3.1.3 Placebotier 3 (P3)

In Abbildung 13 werden die Anfallsereignisse von Tier P3 dargestellt. Innerhalb des Aufzeichnungszeitraums von zehn Tagen erlebte es insgesamt 147 Anfälle. Zum Ende der Aufzeichnung, unmittelbar vor Tod des Tieres, war eine deutliche Zunahme der Anfallshäufigkeit zu beobachten, wobei allein am letzten Tag 123 Anfälle verzeichnet wurden. Da die Anfälle ohne Erholungsphase rasch aufeinanderfolgten, handelte es sich um einen Status epilepticus. Im Durchschnitt erlitt das Tier 14,7 Anfälle pro Tag, mehr als doppelt so viele wie der Durchschnitt der Placebogruppe ( $\bar{X} = 6,3$ ). Davon waren im Mittel 11,2 fokale und 3,5 generalisierte Anfälle pro Tag. 77 (52%) der Anfälle ereigneten sich tagsüber, während 70 (48%) nachts auftraten (siehe Abbildung 14).

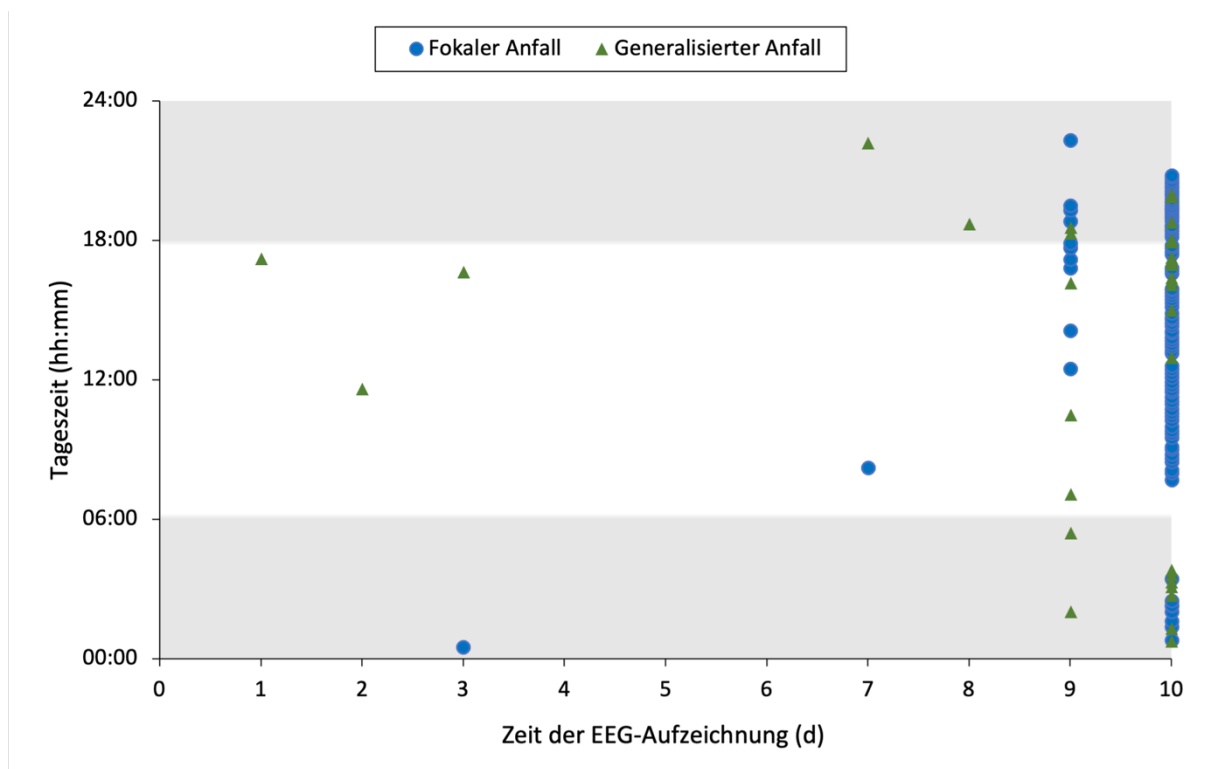
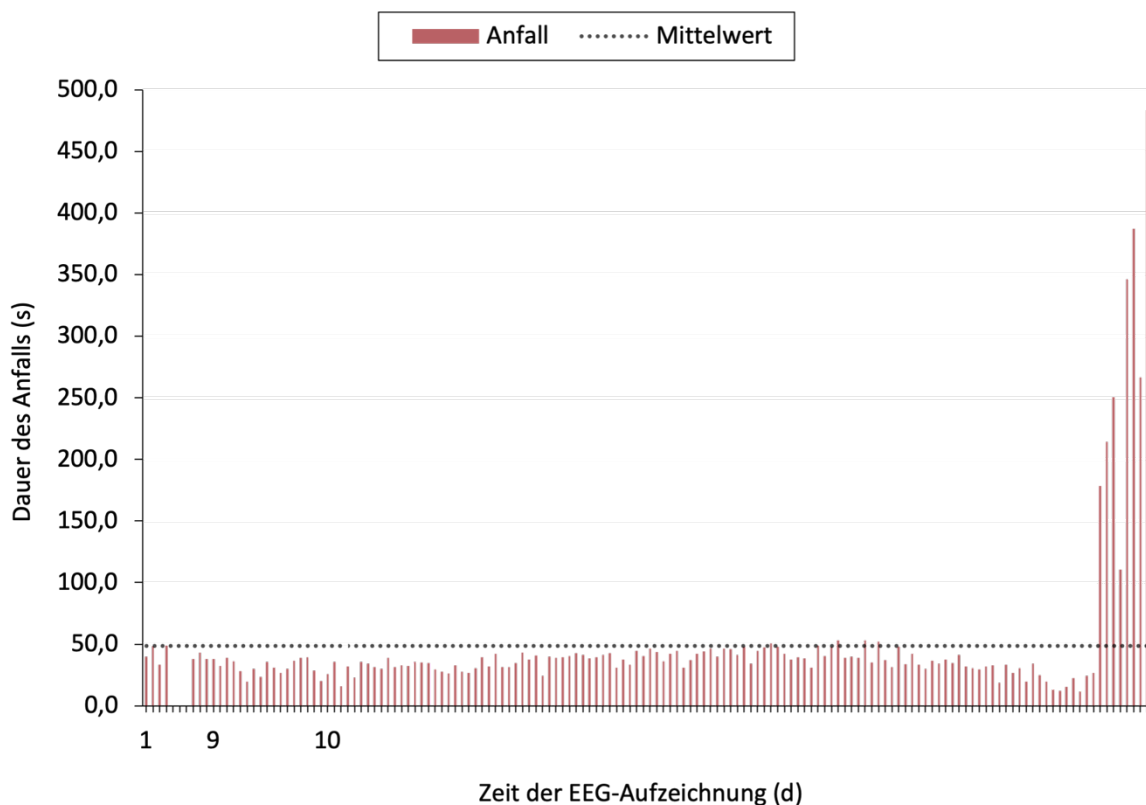


Abbildung 13: Übersicht aller Anfälle bei Tier P3 in Abhängigkeit von der Tageszeit

Abbildung 14 zeigt eine mittlere Anfallsdauer von  $\bar{X} = 48,54 \pm 62,12$  Sekunden. Die kürzeste Anfallsdauer betrug 11,94 Sekunden. Bei 75% der Anfälle lag die Dauer unter 30 Sekunden, bei 20% zwischen 30 und 60 Sekunden, bei 5% war sie länger als 60 Sekunden. Dieses Ergebnis beruht auf einer Zunahme der Anfallsaktivität zum Ende der Aufzeichnungsperiode und damit zum Ende der Lebenszeit. Die Zunahme der Anfallsaktivität entsprach einem Status epilepticus (Anfälle länger als 5 Minuten). Zuvor war die Anfallsdauer über lange Zeit relativ ähnlich lang.



**Abbildung 14: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier P3**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

## 3.2 Versuchsgruppe

### 3.2.1 Versuchstier 1 (M1)

Bei Versuchstier M1 wurden während einer Aufzeichnungszeit von 52 Tagen insgesamt 168 Anfälle verzeichnet. Unter diesen waren 35 fokale und 133 generalisierte Anfälle. Die durchschnittliche Anfallsrate pro Tag belief sich auf 3,2. Dieser Wert ähnelte dem der anderen Versuchstiere ( $\bar{X} = 3,3$ ). Bei genauerer Betrachtung der Anfallstypen ergaben sich im Durchschnitt 2,6 generalisierte Anfälle und 0,7 fokale Anfälle pro Tag. Die höhere Anzahl an generalisierten Anfällen scheint auffällig. Das Versuchstier zeigte eine zunehmende Anfallsaktivität gegen Ende der Aufzeichnung. Die Anfälle traten häufig in Clustern auf. Besonders ausgeprägt war dieses Phänomen zwischen Tag 51 und 52 (siehe Abbildung 15). In einem prozentualen Tag-Nacht-Vergleich stellte sich heraus, dass 70 (42%) der Anfälle tagsüber und 98 (58%) der Anfälle nachts auftraten.

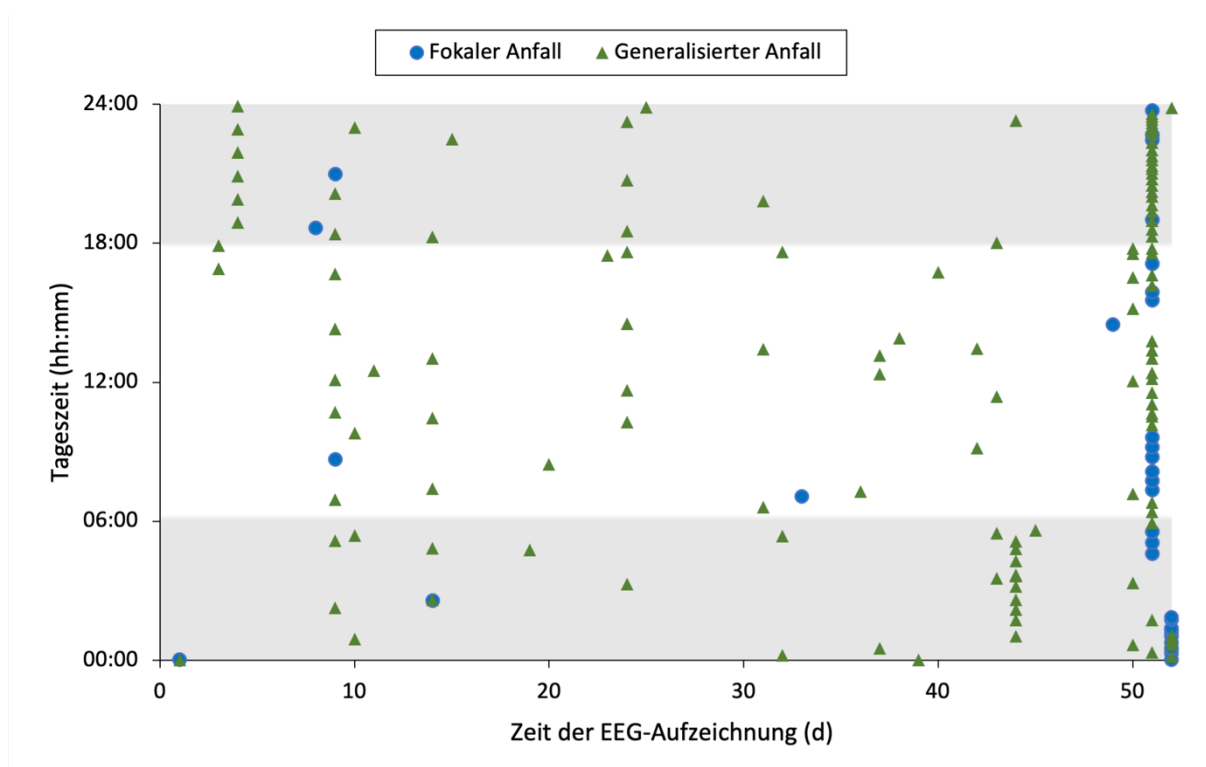
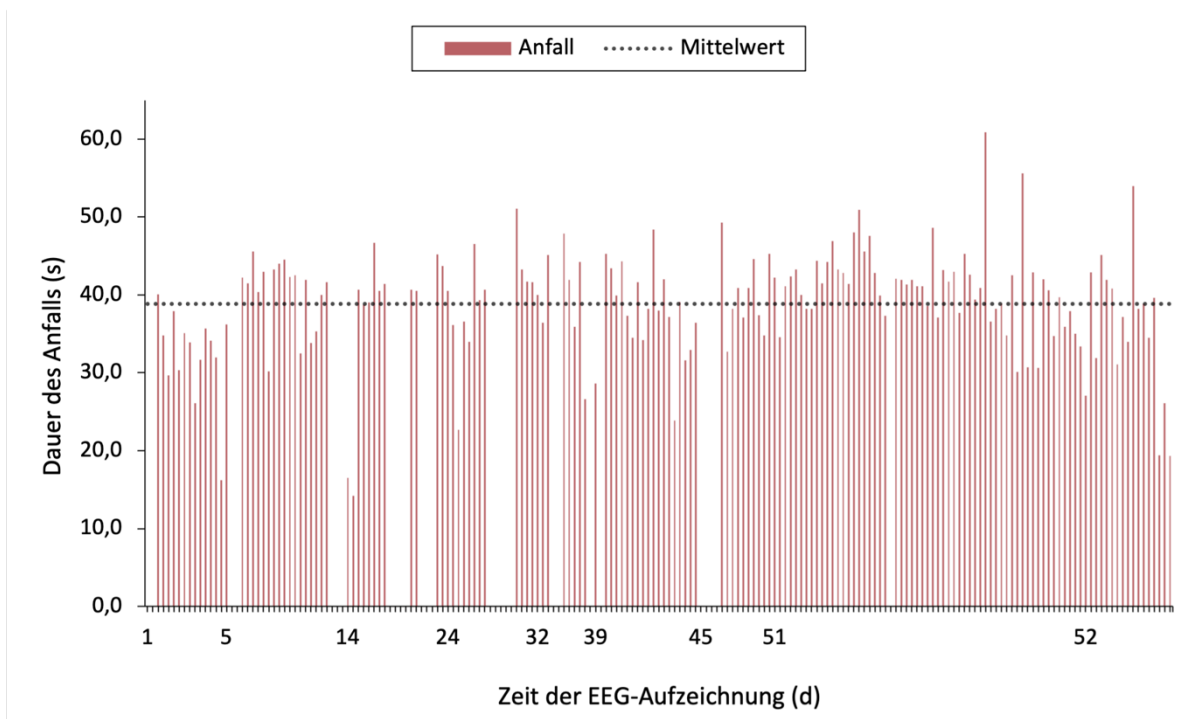


Abbildung 15: Übersicht aller Anfälle bei Tier M1 in Abhängigkeit von der Tageszeit

Abbildung 16 veranschaulicht die mittlere Dauer der Anfälle, die bei  $38,82 \pm 6,90$  Sekunden lag. Die Spanne reichte von der kürzesten Dauer von 14,23 Sekunden bis zum längsten Anfall von 60,93 Sekunden. 92% der Anfälle dauerten unter 30 Sekunden, 8% zwischen 30 und 60 Sekunden. Es ließ sich keine eindeutige lineare Zunahme der Anfallsdauer im Verlauf der Aufzeichnungsperiode feststellen.



**Abbildung 16: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier M1**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

### 3.2.2 Versuchstier 2 (M2)

Die EEG-Aufzeichnungen bei Tier M2 wurden über einen Zeitraum von 25 Tagen durchgeführt. Während dieser Periode traten insgesamt 90 Anfälle auf, wobei davon 50 fokale und 40 generalisierte Anfälle waren. Im Durchschnitt ergab dies 3,6 Anfälle insgesamt, mit 2,0 fokalen und 1,6 generalisierten Anfällen pro Tag. In Abbildung 17 wird deutlich, dass sich eine auffällige Clusterbildung an den Tagen 7/8, 15/16 und 23/24 ereignete. Ein Tag-Nacht-Vergleich zeigte eine ausgewogene Verteilung der Anfälle. 42 Anfälle (47%) fanden am Tag statt und 48 Anfälle (53%) traten nachts auf.

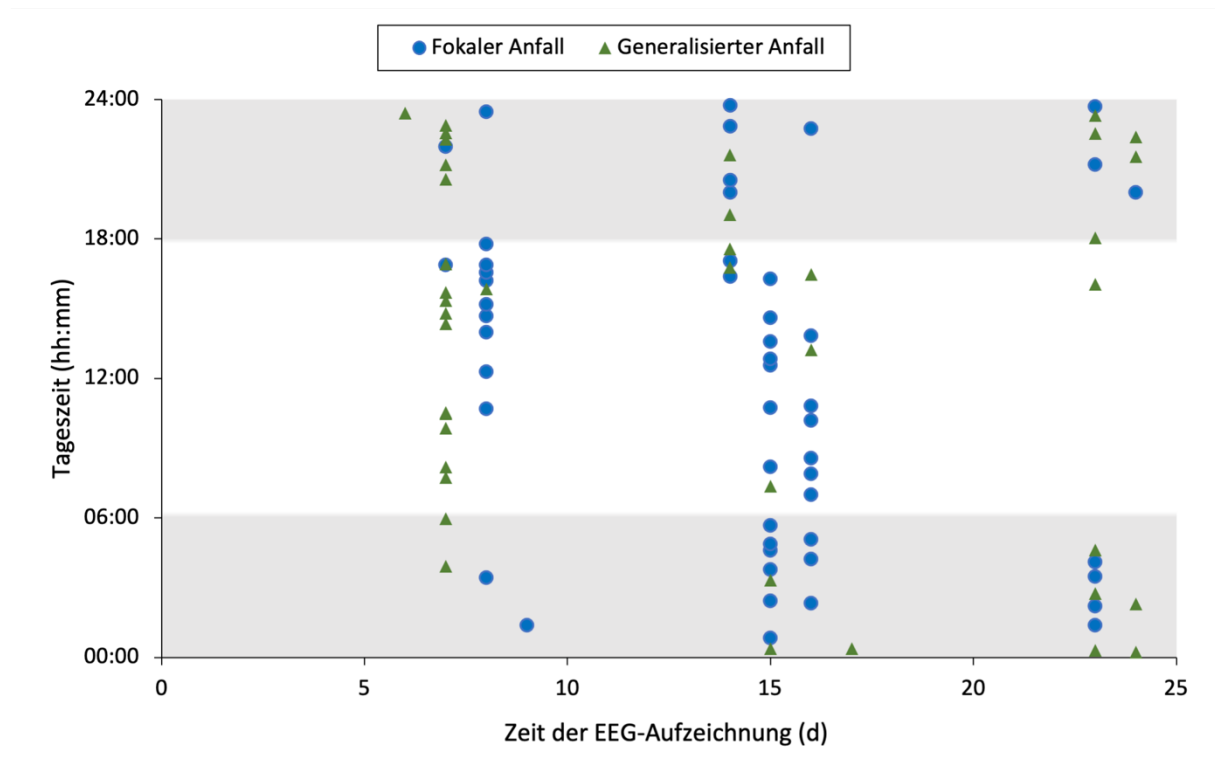
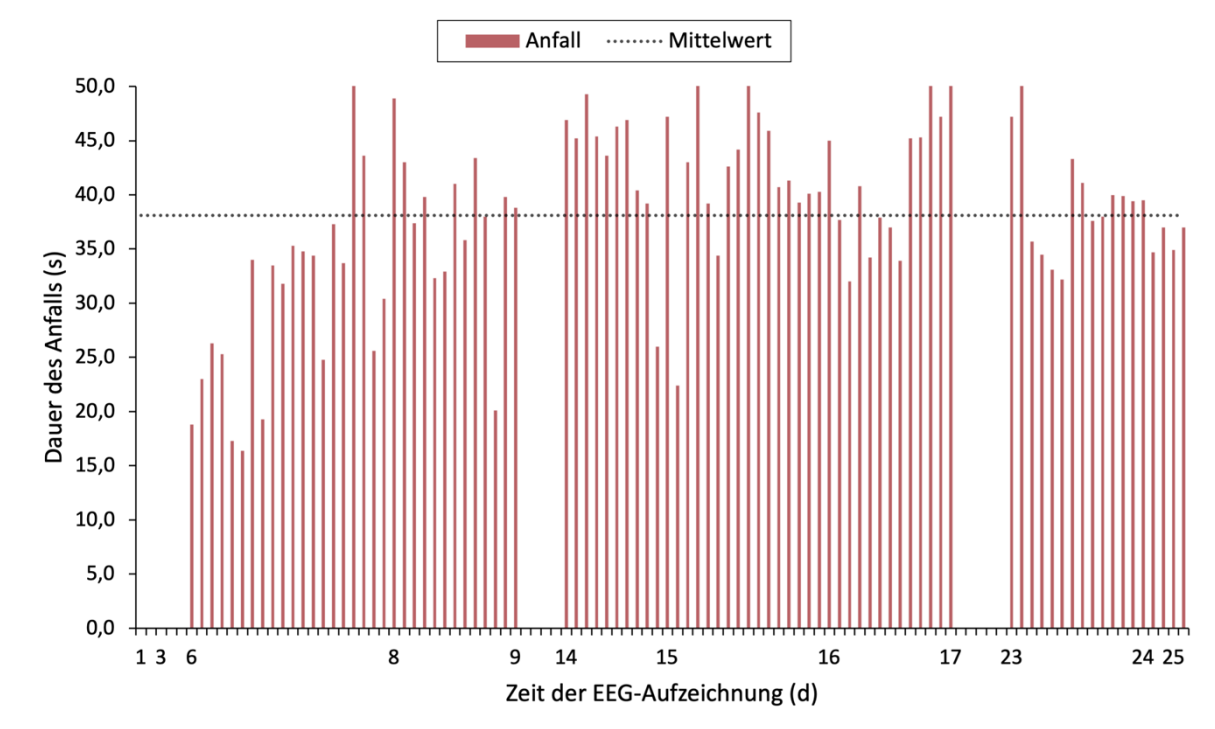


Abbildung 17: Übersicht aller Anfälle bei Tier M2 in Abhängigkeit von der Tageszeit

Abbildung 18 veranschaulicht die durchschnittliche Dauer der Anfälle bei Tier M2. Die kürzeste Anfallsdauer betrug 16,42 Sekunden, während der längste Anfall 53,56 Sekunden andauerte. Die mittlere Dauer aller Anfälle lag bei  $38,11 \pm 8,43$  Sekunden. Die Dauer der Anfälle betrug bei 87% unter 30 Sekunden, bei 13% lag sie zwischen 30 und 60 Sekunden. Es war keine klare Tendenz hinsichtlich der Anfallsdauer erkennbar, da die Werte eine beträchtliche Streuung aufwiesen.

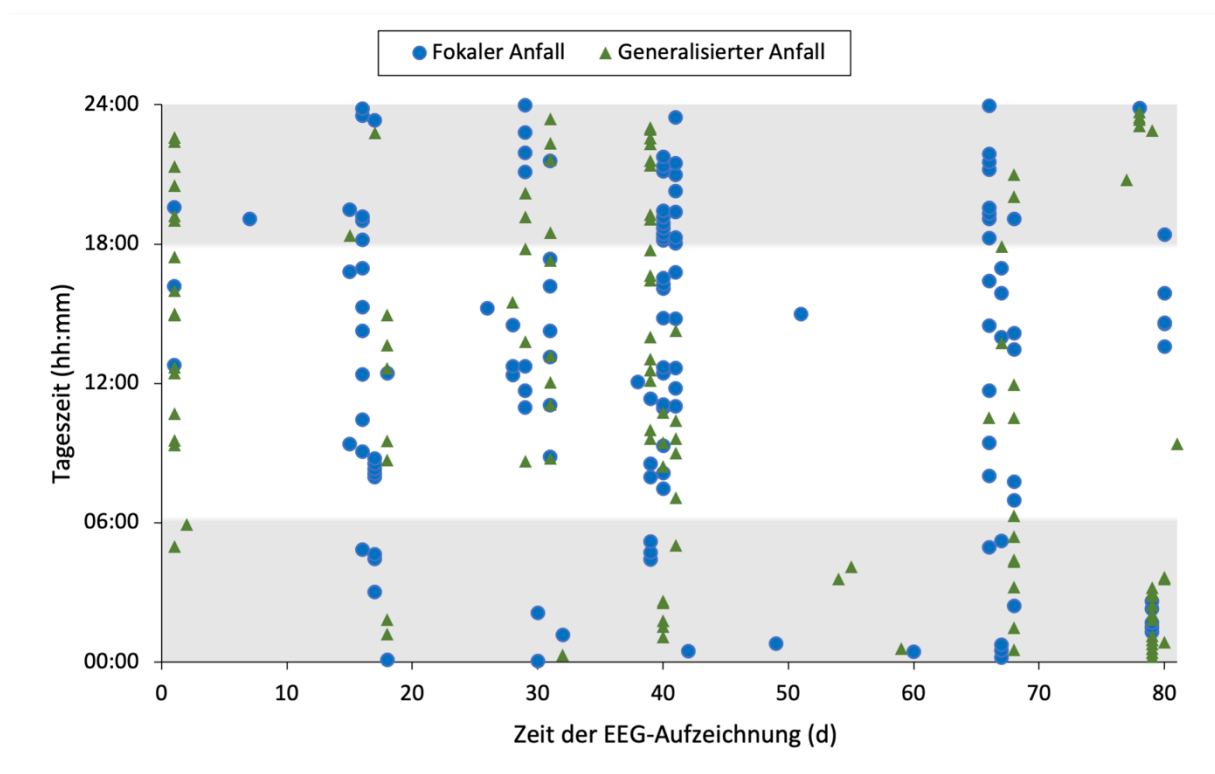


**Abbildung 18: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier M2**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

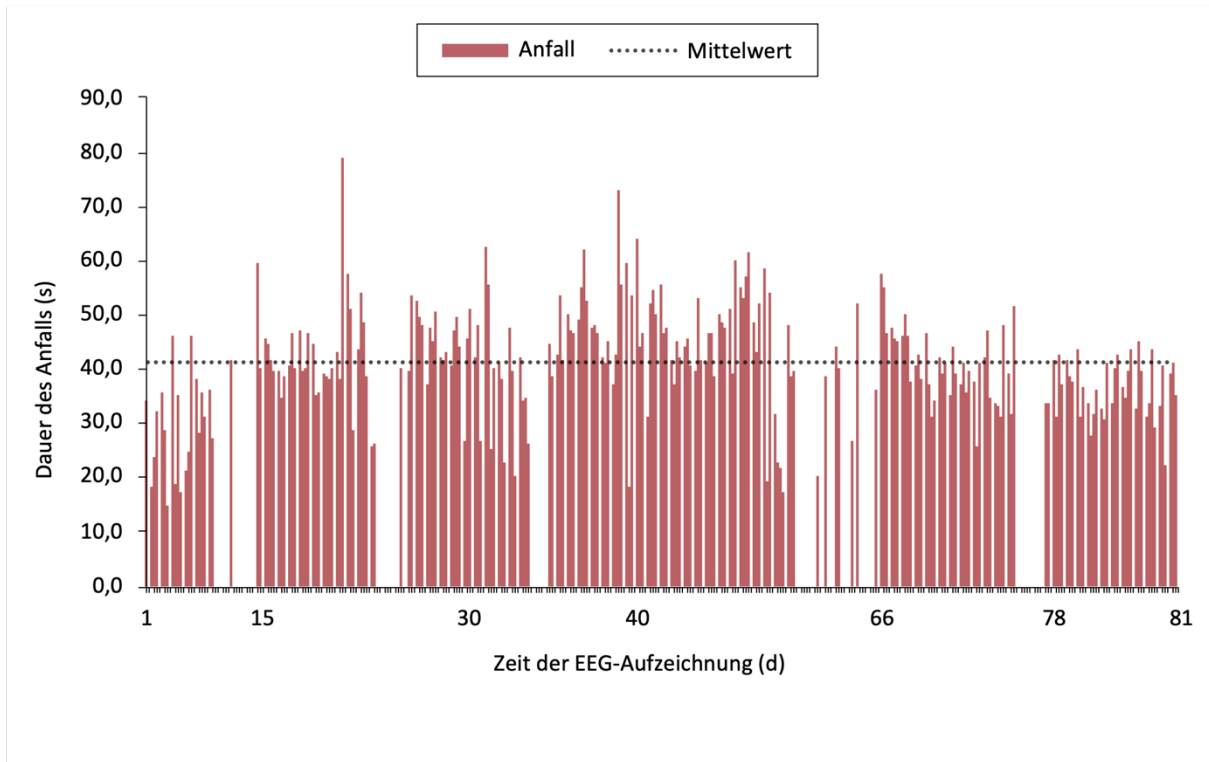
### 3.2.3 Versuchstier 3 (M3)

Über einen Zeitraum von 81 Aufzeichnungstagen erlitt Tier M3 insgesamt 245 Anfälle, was durchschnittlich 3,0 Anfällen pro Tag entsprach. Dabei zeigte sich eine nahezu ausgeglichene Verteilung zwischen fokalen Anfällen mit einer Rate von 1,7 pro Tag und generalisierten Anfällen mit 1,4 pro Tag (siehe Abbildung 19). Interessanterweise ähnelte die Anzahl der täglichen Anfälle trotz des langen Beobachtungszeitraums dem Mittelwert aller Versuchstiere ( $\bar{X} = 3,3$ ). In Abbildung 19 ist eine deutliche Clusterung der Anfälle erkennbar, wobei an manchen Tagen eine signifikante Zunahme der Anfallshäufigkeit zu beobachten war, gefolgt von Phasen ohne Anfälle. Die Tages- und Nachtverteilung der Anfälle zeigt, dass 113 (46%) der Anfälle tagsüber und 132 (54%) nachts auftraten. Zwischen den Tagen 54 und 60 wurde eine kurze Phase mit ausschließlich nächtlichen Anfällen festgestellt.



**Abbildung 19: Übersicht aller Anfälle bei Tier M3 in Abhängigkeit von der Tageszeit**

Abbildung 20 verdeutlicht, dass die Anfallsdauer teilweise recht lang war. Der längste Anfall erstreckte sich über 78,98 Sekunden, während der kürzeste Anfall lediglich 14,79 Sekunden andauerte. Die durchschnittliche Anfallsdauer betrug  $41,14 \pm 10,23$  Sekunden und ähnelte somit den Werten der anderen beiden Tiere in der Versuchsgruppe. 89% der Anfälle dauerten weniger als 30 Sekunden, während 11% der Anfälle zwischen 30 und 60 Sekunden andauerten.



**Abbildung 20: Übersicht über die Dauer der einzelnen Anfälle bei Tier M3**

Zur besseren Kenntlichmachung der einzelnen Anfälle wird die X-Achse modifiziert dargestellt. Jeder Strich stellt einen Anfall dar.

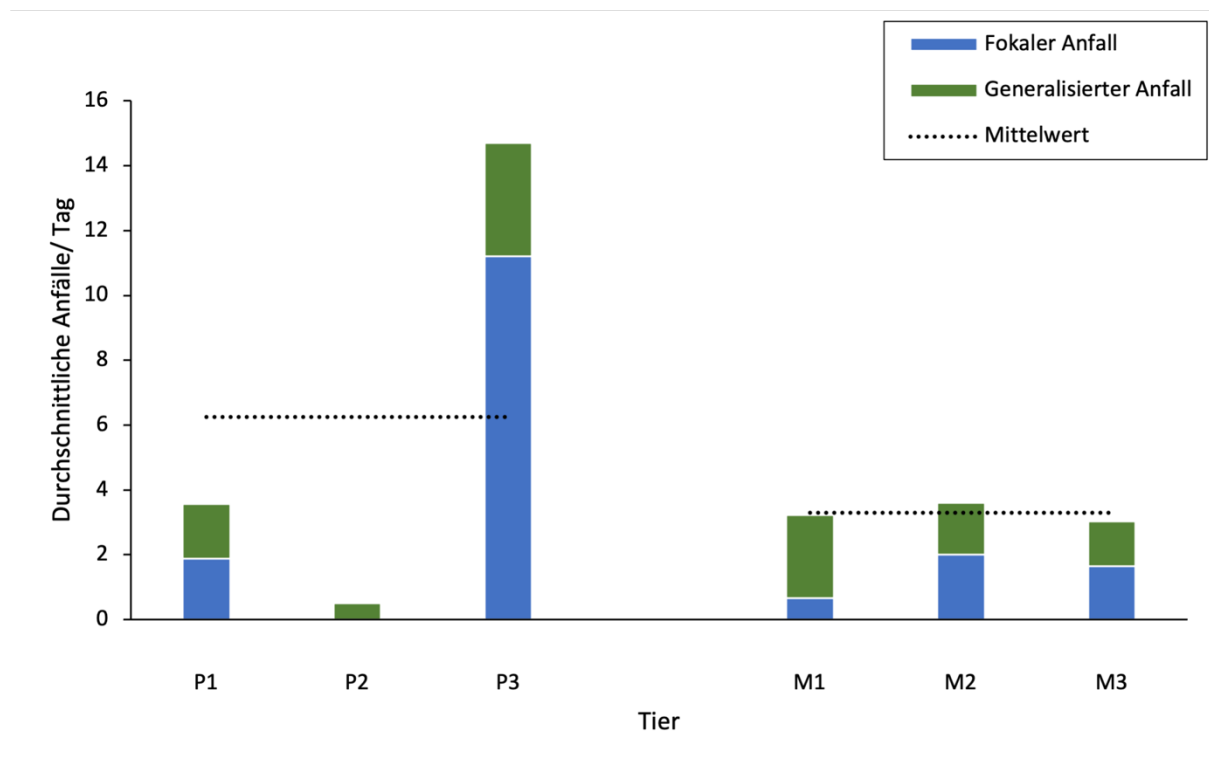
### 3.3 Übersicht aller untersuchten Tiere

Die vorliegenden Werte für alle Tiere, die in dieser Studie mittels Video-EEG-Telemetrie erfasst wurden, sind in Tabelle 2 übersichtlich dargestellt. P1, P2 und P3 bezeichnen die drei Tiere der Placebogruppe, mit M1, M2 und M3 werden die Tiere der Versuchsgruppe gekennzeichnet. Dabei wurden verschiedene Parameter wie der Zeitpunkt, die Art (fokal oder generalisiert) und die Dauer der Anfälle bei der Datenanalyse berücksichtigt. Um eine konsistente Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden die Daten entsprechend der unterschiedlichen Aufzeichnungsdauer bei den einzelnen Tieren ausgewertet. Hierbei wurden Mittelwerte für die Gesamtanzahl der Anfälle, sowohl fokale als auch generalisierte, pro Aufzeichnungstag berechnet. Die Daten zeigen, dass die Aufzeichnungsdauer des EEG bei den Tieren sehr variabel war. In der Placebogruppe betrug sie zwischen 6 und 10 Tagen. In der Versuchsgruppe wies Tier M2 mit 25 Tagen die kürzeste Aufzeichnung auf, bei Tier M3 wurden die EEG-Daten über 81 Tage erhoben. Bei weiterer Betrachtung der Ergebnisse fällt die hohe Variabilität unter den drei Placebotieren auf. Tier P1 verzeichnete während der 9 Aufzeichnungstage 32 Anfälle, während Tier P3 in nur 10 Tagen 147 Anfälle aufwies. Die sich daraus ergebende Anzahl der durchschnittlichen Anfälle pro Tag lag in der Versuchsgruppe nah beieinander und variierte, trotz insgesamt kürzerer Aufzeichnungsdauer, stärker in der Placebogruppe.

**Tabelle 2: Zusammenfassung aller experimentellen Ergebnisse**

<b>Tier</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>
<b>EEG-Dauer (d)</b>	9	6	10	52	25	81
<b>Anfälle gesamt</b>	32	3	147	168	90	245
<b>Fokale Anfälle</b>	17	0	112	35	50	134
<b>Generalisierte Anfälle</b>	52	3	35	133	40	111
<b>Anfälle gesamt/ Tag</b>	3,6	0,5	14,7	3,2	3,6	3,0
<b>Fokale Anfälle/ Tag</b>	1,9	0	11,2	0,7	2,0	1,7
<b>Generalisierte Anfälle/ Tag</b>	1,7	0,5	3,5	2,6	1,6	1,4
<b>∅ Anfallsdauer (s)</b>	34,66	19,20	48,54	38,82	38,11	41,14

Der durchschnittliche Mittelwert der Gesamtanzahl der Anfälle pro Tag bei den Placebotieren betrug  $\bar{X} = 6,3 \pm 7,5$  Anfälle, während er bei den Versuchstieren  $\bar{X} = 3,3 \pm 0,3$  Anfälle betrug (ungepaarter t-Test,  $t = 0,6878$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,5294$ ). Obwohl die Anzahl der Anfallsereignisse insgesamt in der Versuchsgruppe verringert war, war dieser Rückgang nicht signifikant. Auch die durchschnittliche Anzahl von fokalen Anfällen pro Tag war in der Versuchsgruppe ( $\bar{X} = 1,4 \pm 0,7$ ) im Vergleich zur Placebogruppe ( $\bar{X} = 4,4 \pm 6,0$ ) rückläufig. Jedoch zeigte ein ungepaarter t-Test, dass es sich hierbei nicht um ein signifikantes Ergebnis handelte ( $t = 0,8390$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,4487$ ). Zuletzt wurde die Anzahl der generalisierten Anfälle pro Tag untersucht. Die Mittelwertabweichungen zwischen der Placebo- ( $\bar{X} = 1,9 \pm 1,5$ ) und der Versuchsgruppe ( $\bar{X} = 1,8 \pm 0,6$ ) waren vergleichsweise gering und ebenfalls nicht signifikant (ungepaarter t-Test,  $t = 0,0493$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9630$ ). Weiterhin wurde ein Quotient aus den generalisierten Anfällen und den Anfällen insgesamt gebildet, um herauszufinden, wie sich diese Häufigkeit verändert hat. Dieser betrug bei Tier P1 0,5, bei Tier P2 1,0 und bei Tier P3 0,2. Insgesamt ergab dies in der Placebogruppe ein Wert von 0,57 generalisierten Anfällen pro Anfall. In der Versuchsgruppe betrug die Häufigkeit von generalisierten Anfällen pro Anfall 0,6 (Tier M1: 0,8; M2: 0,4; M3: 0,5). Dieser Unterschied war minimal und nicht signifikant (ungepaarter t-Test,  $t < 0,0001$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9999$ ). Abbildung 21 visualisiert die durchschnittliche tägliche Anzahl von Anfällen bei Placebo- und Versuchstieren mit einer Unterscheidung nach der Art des Anfalls.



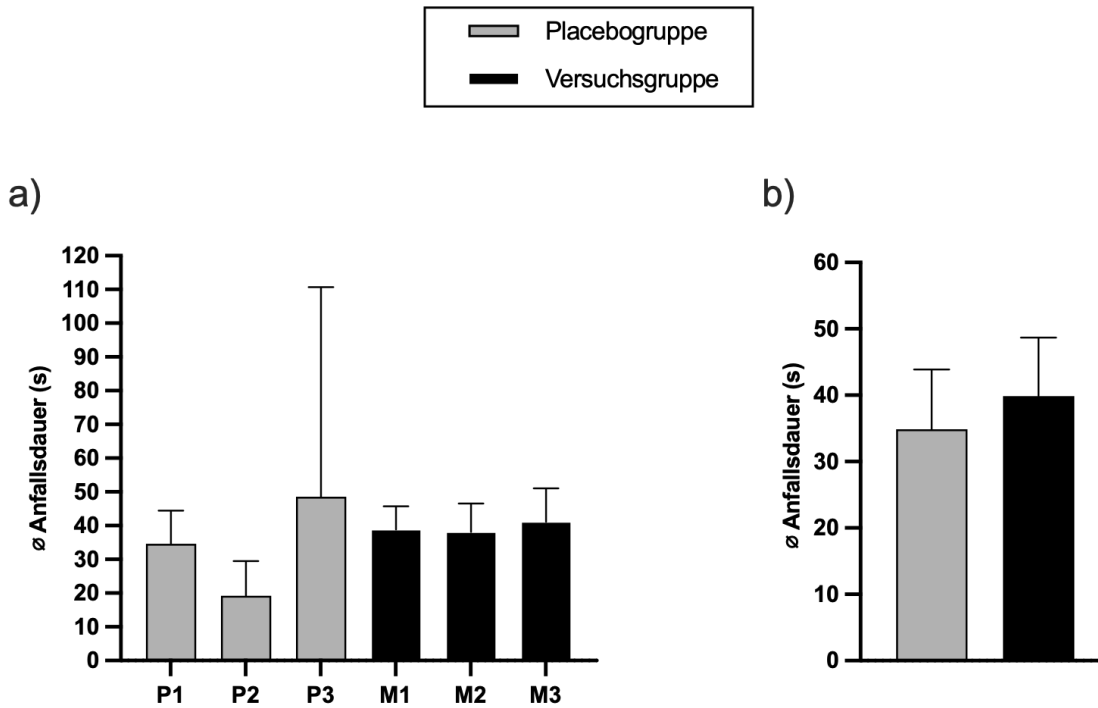
**Abbildung 21: Übersicht über die durchschnittliche Anzahl der Anfälle aller Tiere**

Die Grafik zeigt den Anteil der fokalen Anfälle (in blau) und der generalisierten Anfälle (in grün) sowie den Mittelwert der Gesamtanzahl der Anfälle für jede Gruppe.

Hinsichtlich der Anfallshäufigkeit zeigte die Auswertung des F-Tests auf Varianzunterschiede jedoch ein interessantes Ergebnis. Zwischen der Placebo- und der Versuchsgruppe bestand ein signifikanter Unterschied der Varianzen, sowohl bei der Gesamtanzahl der Anfälle pro Tag ( $p = 0,0031$ ) als auch bei der Anzahl der fokalen Anfälle pro Tag ( $p = 0,0261$ ). Bei den generalisierten Anfällen konnte kein signifikanter Varianzunterschied ( $p = 0,2968$ ) festgestellt werden. Es zeigt, dass es unter Pilocarpin-behandelten Tieren zu einem sehr individuellen Anfallsmuster kommt und eine breite Streuung der Anfallsaktivität vorliegt.

Die durchschnittliche Anfallsdauer der untersuchten Gruppen für jedes Tier wird in Abbildung 22 a) veranschaulicht. Tier P1 wies mit  $19,20 \pm 10,33$  Sekunden die kürzeste durchschnittliche Anfallsdauer auf. Es ist jedoch anzumerken, dass bei diesem Tier lediglich drei Anfälle registriert wurden. Bei Tier P3 hingegen war eine besonders große Streuung bei der Anfallsdauer festzustellen, wobei die durchschnittliche Dauer  $48,54$  Sekunden und die Standardabweichung  $62,12$  Sekunden betrug. Dieser große Wert kam durch den Status epilepticus am Ende der EEG-Aufzeichnung zustande. Insgesamt lag die durchschnittliche Anfallsdauer der mit MMF behandelten Versuchstiere näher am Mittelwert der Gesamtpopulation.

Abbildung 23 b) zeigt die durchschnittliche Länge der Anfälle in beiden Gruppen. Da die Anfallsaktivität bei Tier P3 am Ende der EEG-Aufzeichnung länger als fünf Minuten andauerte, war dies definitionsgemäß als Status epilepticus zu werten. Da es nur einen Status epilepticus in der gesamten Kohorte gab, wurde dieser nicht in die Anfallsdauerberechnung miteinbezogen. Insgesamt wies die Placebogruppe somit eine mittlere Anfallsdauer von  $34,86 \pm 9,02$  Sekunden auf. In der Versuchsgruppe war die Dauer mit  $39,84 \pm 8,85$  Sekunden signifikant höher (ungepaarter t-Test,  $t = 6,383$ ,  $df = 680$ ,  $p < 0,0001$ ).



**Abbildung 22: Übersicht der durchschnittlichen Anfallsdauer in Sekunden**

a) Mittlere Anfallsdauer eines jeden Tieres (P1-P3 = Placebogruppe; M1-M3 = Versuchsgruppe). Angegeben sind die Mittelwerte  $\pm$  SD.

b) Mittlere Anfallsdauer der gesamten Placebogruppe (grauer Balken) sowie der gesamten Versuchsgruppe (schwarzer Balken). Der Status epilepticus von Tier P3 wurde nicht miteinbezogen.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Methodenkritik**

#### **4.1.1 Pilocarpin-Tiermodell**

Das Pilocarpin-Tiermodell hat sich über einen langen Zeitraum hinweg als zuverlässige Methode erwiesen, um die Entstehung einer chronischen Temporallappenepilepsie zu simulieren. Dabei führt die Entwicklung spontan wiederkehrender Anfälle, begleitet von einer Hippocampussklerose und der Aussprossung von Moosfasern, zu einer gut dokumentierten pathophysiologischen Veränderung (Borges et al., 2003). Es ist weitgehend bekannt, dass Tiermodelle nicht direkt auf den Menschen übertragbar sind und einige Unterschiede in der Anatomie von Hirnstrukturen zwischen Menschen und Ratten bestehen. Es sollte berücksichtigt werden, dass der durch die Injektion von Pilocarpin verursachte Schaden im tierischen Temporallappen möglicherweise ausgeprägter ist als im menschlichen Temporallappen, was zu unterschiedlichen Schlussfolgerungen führen könnte.

Dennoch haben neueste Forschungsarbeiten einen bemerkenswerten Befund offenbart: Es besteht eine erhebliche Übereinstimmung in der Expression von Hyperpolarisations-aktivierten und Zyklisch-Nukleotid-gesteuerten (HCN)-Ionenkanälen zwischen epileptischen Ratten und Menschen. Diese Entdeckung zeigt sich besonders deutlich in der Regulierung der Kanalexpression unmittelbar nach einem Status epilepticus, wobei die HCN1-Expression langfristig beeinträchtigt ist, während die Beeinträchtigung der HCN2-Expression nur vorübergehend ist (Concepcion et al., 2021). Diese Parallelität zwischen Tier- und Menschenmodellen legt nahe, dass Nagetiere eine bevorzugte Spezies für die Modellierung von Epilepsie sind und dass die gewonnenen Erkenntnisse auf den Menschen übertragbar sein könnten.

#### **4.1.2 Video-EEG-Telemetrie**

In der gegenwärtigen Zeit bleibt das EEG das vorherrschende Diagnoseinstrument für die Untersuchungen der Epilepsie. Die erhaltenen Daten wurden mittels EEG-Signalen und Videomaterial manuell ausgewertet und analysiert. Die Qualität der EEG-Aufzeichnungen hängt dabei maßgeblich von der Anzahl und Positionierung der Elektroden ab. In der

klinischen Praxis werden Elektroden gemäß des 10-20-Systems nach Jaspers auf der Kopfhaut platziert, wodurch insgesamt 19 Ableitelektroden vorliegen. Im Rahmen dieser Studie wurden bei den Tieren nur zwei epidurale Elektroden implantiert, was dazu führte, dass pro Tier nur ein EEG-Kanal abgeleitet wurde. Durch diese begrenzte Anzahl von Ableitungen war eine präzise Lokalisation der Anfälle nicht möglich. Eine tiefere Implantation der Elektroden wäre mit einem erhöhten Risiko für Verletzungen oder Entzündungen verbunden gewesen. Aus diesem Grund werden solche invasiven Verfahren bei Patienten meist nur vor operativen Resektionen angewendet. Für die vorliegende Studie war das Oberflächen-EEG ausreichend, da der Fokus auf der Auswertung der Anfallsaktivität lag und keine präzise Lokalisierung erforderlich war. Um jedoch zusätzliche Informationen zur genauen Klassifizierung der Anfälle zu erhalten, wurden die EEG-Daten mit den entsprechenden Videoaufnahmen synchronisiert. Dies führt nachweislich auch bei Patienten zu einer genaueren Einordnung der Anfälle und Diagnosestellung (Hui et al., 2007). Alle Videoaufnahmen wurden manuell durchgesehen. Die Klassifizierung der Anfälle in fokal oder generalisiert erfolgte nach nach objektiven Kriterien. Nur wenn das EEG mit der Videoaufnahme übereinstimmte und eindeutig ein Anfall zu erkennen war, wurde dieser als solcher markiert. Es bestand die Möglichkeit, dass die Elektroden trotz Fixierung ihre Position veränderten, was zu einer Diskrepanz zwischen dem Sender und den Videoaufnahmen führte. Falls dadurch oder durch andere technische Probleme keine eindeutige Zuordnung eines Anfalls möglich war, wurde dieser nicht in die Analyse miteinbezogen.

#### **4.1.3 Placebo- und Versuchstiere**

Die Begrenzung der Studie auf eine kleine Stichprobenanzahl wurde bewusst gewählt, da diese sich als ausreichend erwies, um einen klinisch relevanten Unterschied zu erfassen. Zur Verdeutlichung dieser Darstellung wurden kumulative Daten von Bajorat et al. (2011) herangezogen, die sich ebenfalls mit der Untersuchung von Anfallsfrequenzen bei Tiermodellen der Epilepsie befassten. Diese historischen Daten wurden unter denselben Bedingungen erhoben und sind somit repräsentativ. Die mittlere Anfallrate bei neun untersuchten Tieren betrug  $5,9 \pm 8,3$  Anfälle pro Tag, während die Werte der Placebotiere P1-P3 einen ähnlichen Mittelwert von  $\bar{X} = 6,3 \pm 7,5$  aufwiesen. Ein ungepaarter t-Test ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ( $t = 0,0613$ ,  $df = 10$ ,  $p = 0,9923$ ). Zusätzlich zu den drei Placebotieren dieses Versuchs wurde eine neue Placebogruppe, bestehend aus zwölf Tieren, gebildet und erneut ein Mittelwert berechnet. Der neue Mittelwert betrug  $6,0 \pm 7,7$  Anfälle pro Tag. Ein Vergleich mit dem Mittelwert der MMF-behandelten

Gruppe ( $\bar{X} = 3,3 \pm 0,3$ ) ergab erneut keine signifikante Verringerung der Anfallshäufigkeit ( $t = 0,5929$ ,  $df = 13$ ,  $p = 0,5634$ ). Obwohl eine größere Anzahl von Tieren für eine höhere Signifikanz wünschenswert gewesen wäre, bestätigt dieses Ergebnis die Entscheidung, nur eine kleine Stichprobenzahl für den Versuch auszuwählen. Neben der fehlenden Notwendigkeit gibt es tierwohltechnische Gründe, die diese Entscheidung unterstützen. Sowohl die Implantation der Elektroden als auch die Verabreichung der Medikamente und die daraus resultierenden Anfälle stellen für die Tiere eine erhebliche Belastung dar.

Es wurde streng darauf geachtet, dass alle Tiere einen ähnlichen Gesundheitszustand aufwiesen, bevor die EEG-Registrierung begann. Da einige Tiere nach der Verabreichung der Medikamente oder der Implantation des Senders jedoch länger intensiv betreut werden mussten, führte dies dazu, dass die Tiere bei Beginn der EEG-Aufzeichnung unterschiedlich alt waren. Tier P3 wurde beispielsweise zu einem späteren Zeitpunkt aufgezeichnet als die Tiere P1 und P2. Die Aufzeichnung von P3 begann an Tag 114, während P1 und P2 bereits im Alter von 48 Tagen aufgezeichnet wurden. In der Versuchsgruppe war Tier M1 das jüngste Tier, bei dem die Aufzeichnung an Tag 53 begann. Die Tiere M2 und M3 waren bei Beginn der Aufzeichnung 88 und 89 Tage alt. Dies könnte potenziell zu Unterschieden in der Anfallshäufigkeit oder -intensität zwischen den Tieren führen, denn ein höheres Alter geht oft mit einem erhöhten Risiko für Anfälle einher (de la Court et al., 1996). Daher ist es wichtig, diese Altersunterschiede bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen, da sie die Vergleichbarkeit der Tiere einschränken können.

## 4.2 Anfallshäufigkeit im Epilepsiemodell

Das Ziel dieser Studie war es, den Effekt einer frühzeitigen Verabreichung von Mycophenolatmofetil auf die Häufigkeit von Anfällen im Zusammenhang mit Pilocarpin-induziertem Status epilepticus zu untersuchen. Die mittlere Anzahl der Anfälle pro Tag in der Versuchsgruppe war geringer als in der Placebogruppe, allerdings war dieser Unterschied nicht signifikant. Dieses Ergebnis gilt sowohl für die Anfälle insgesamt als auch für die fokalen und die generalisierten Anfälle. Die anfängliche Hypothese, dass eine Behandlung mit MMF unmittelbar nach dem Status epilepticus zu einer verbesserten Prognose bei den Tieren führt, wurde daher nicht bestätigt. Die Entwicklung einer chronischen Epilepsie mit wiederkehrenden Anfällen konnte nicht verhindert werden. Diese Studie zeigt jedoch eine erhebliche Variabilität der Anfallsaktivität innerhalb der Placebogruppe. Diese war in der Versuchsgruppe nicht zu verzeichnen. Interessanterweise erfolgte die EEG-Aufzeichnung bei den Versuchstieren über einen längeren Zeitraum als bei den Placebotieren. Dabei hätte dieser Fakt eine wesentlich

größere Varianz erwarten lassen. Die Häufigkeit der Anfälle bei den Placebotieren schwankte durchschnittlich zwischen 0,5 und 14,7 Anfällen pro Tag. Insbesondere bei Tier P3 wurde eine deutliche Zunahme der Anfallshäufigkeit am Ende der Aufzeichnung festgestellt. Allerdings ist zu erwähnen, dass dieses Tier zu Beginn der EEG-Aufzeichnung im Vergleich zu den anderen Tieren am ältesten war (114 Tage). Ein Einfluss des Alters auf die hohe Anfallsaktivität kann daher nicht vollständig ausgeschlossen werden. Auch bei Tier P1 war eine leichte Zunahme der Anfälle in den letzten Lebenstagen zu beobachten. Tier P2 zeigte hingegen nur sehr wenige Anfälle, was die Beurteilung der Anfallsaktivität erschwerte. Die mittlere Anfallshäufigkeit betrug 6,3 Anfälle, während die Tiere der Versuchsgruppe im Durchschnitt 3,3 Anfälle pro Tag erlitten.

Vergleiche mit früheren Studien spiegeln ähnliche Ergebnisse wider. An dieser Stelle erfolgt erneut der Verweis auf Bajorat et al. (2011). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen eine breite Variabilität in der Anfallsfrequenz und -charakteristik. Die Anfallsaktivität der neun Pilocarpin-behandelten Tiere wurde mit den drei Tieren (P1-P3) dieser Studie zu einer neuen Placebogruppe (n = 12) zusammengefasst und mit der MMF-behandelten Kohorte verglichen. Die Durchführung eines F-Tests konnte belegen, dass auch hier ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Varianzen zwischen Placebo- und Versuchstieren ( $p = 0,0029$ ) bestand. So wird die beträchtliche Variation der Anfallsaktivität innerhalb der Placebogruppe erneut deutlich und hebt die konsistente Homogenität innerhalb der Versuchsgruppe hervor. Die Relevanz, nicht nur die durchschnittliche Anfallsfrequenz zu berücksichtigen, sondern auch die Variabilität innerhalb der untersuchten Kohorten zu analysieren, wird mehr und mehr offensichtlich.

Die Einteilung der Anfälle in fokal und generalisiert erfolgte anhand klinischer Merkmale. Eine weitere Differenzierung der Anfallsarten wurde aufgrund fehlender Informationen (nur eine EEG-Ableitung) und für eine bessere Übersicht vermieden. Auch Absenzen wurden bei der Auswertung nicht mitberücksichtigt. Aufgrund der deutlicheren Auswirkungen und des Bewusstseinsverlustes während eines generalisierten Anfalls war es für uns von Interesse zu untersuchen, ob die Anzahl solcher Anfälle bei den mit MMF behandelten Tieren abnahm. Es ergab sich, dass das Verhältnis von fokalen zu generalisierten Anfällen in der Behandlungsgruppe im Vergleich zur Placebogruppe keine signifikante Veränderung aufwies. Zusätzlich zeigte sich sowohl in der Placebogruppe als auch in der Versuchsgruppe eine Clusterbildung der Anfälle, das heißt, es traten mehr als zwei Anfälle innerhalb von 24 Stunden auf. Eine einheitliche Tendenz war dabei nicht erkennbar. Auch bei Patienten mit Epilepsie wird dieses Phänomen häufig beobachtet. Es ist nach wie vor umstritten, warum es dazu kommt. Einige Studien gehen von einer hormonellen Veränderung aus (de Nys et al., 2024). Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit kann ein Einfluss des Immunsystems weitgehend ausgeschlossen werden.

Weder in der Placebogruppe noch in der Versuchsgruppe war ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Anfällen und der Tageszeit zu verzeichnen. Im Durchschnitt wurden in der Placebogruppe 46% der Anfälle während heller Phasen und 54% während dunkler Phasen verzeichnet. In der Versuchsgruppe war das Verhältnis mit 45% tagsüber und 55% nachts beinahe identisch. Die Studie von Bajorat et al. (2011) kommt zu einer ähnlichen Schlussfolgerung. Untersucht wurde die Anfallsaktivität von Tieren zu verschiedenen Tageszeiten mit dem Ergebnis, dass keine zirkadiane Abhängigkeit besteht. Dennoch kann eine zeitliche Verteilung der Anfälle im Zusammenhang mit einem Hell-/Dunkel-Zyklus nicht vollständig ausgeschlossen werden. Es existieren weitere Studien, die von zirkadianen Mustern der Anfälle ausgehen und es konnte gezeigt werden, dass Anfälle, sowohl bei Menschen, als auch bei Ratten häufiger bei Helligkeit auftreten als in Dunkelphasen (Quigg et al., 1998). Dabei scheint es eine Rolle zu spielen, ob sich die Tiere in einem entspannten oder aktiven Zustand befinden. Dies erfordert jedoch weitere Untersuchungen. Eine Veränderung der Anfallsdauer in Abhängigkeit der Tageszeit konnte in dieser Arbeit und auch von anderen Autoren nicht festgestellt werden (Jenssen et al., 2006).

Interessanterweise zeigte sich, dass die mittlere Anfallsdauer nach Behandlung mit MMF tendenziell leicht zunahm, anstatt sich zu verkürzen. Durchschnittlich dauerte ein Anfall in der Placebogruppe 35 Sekunden und in der Versuchsgruppe 40 Sekunden. Statistisch stellt dies einen signifikanten Unterschied dar ( $p < 0,0001$ ). Welche Faktoren die Länge der Anfälle beeinflussen, lässt sich schwer sagen. Die mittlere Anfallsdauer war in anderen Studien etwas höher, so betrug sie bei Goffin et al. (2007) beispielsweise 47 Sekunden. Weitere Autoren, die die Anfallsdauer bei Epilepsie-Patienten untersucht haben, konnten feststellen, dass die Dauer von fokalen Anfällen im Vergleich zu generalisierten Anfällen deutlich kürzer war. Einfach fokale Anfälle waren ebenfalls von geringerer Dauer als komplex fokale Anfälle (Dobesberger et al., 2015). Wir haben bei der Analyse der Anfallsdauer nicht nach der spezifischen Anfallsart unterschieden. Diese Differenzierung könnte jedoch in zukünftigen Forschungen von Bedeutung sein und sollte daher in Erwägung gezogen werden. Bei Tier P3 der Placebogruppe waren zum Aufzeichnungsende immer länger andauernde Anfälle zu beobachten, die schließlich in einen Status epilepticus mündeten. In der Versuchsgruppe kam es nicht zu einem solchen Ereignis oder einer auffällig verlängerten Anfallsdauer bei Fortschreiten der Epilepsie. Die Dauer der Anfälle blieb bei den MMF-behandelten Tieren während der gesamten Aufzeichnungsperiode ähnlich lang.

Es lässt sich zusammenfassen, dass sich die Anfallsaktivität insgesamt nicht signifikant verringert hat, die Dauer der Anfälle hat sich sogar verlängert. Jedoch hat die Homogenität innerhalb der mit MMF behandelten Population signifikant zugenommen. Dies ist besonders hervorzuheben, da die EEG-Aufzeichnungen der Versuchstiere über einen deutlich längeren Zeitraum erfolgten und eine breitere Streuung zu erwarten gewesen wäre. Es drängt sich die

Frage auf, welche Faktoren zu den individuellen Anfallsmustern in der Placebogruppe beigetragen haben. Das Immunsystem scheint darauf einen bedeutenden Einfluss zu haben, weshalb dieses Thema im weiteren Verlauf genauer untersucht wird.

### **4.3 Antiinflammation als möglicher Therapieansatz**

Das zentrale Nervensystem (ZNS) wird oft als immunprivilegiertes Ort betrachtet. Dieser Begriff meint das Fehlen lokaler Immunreaktionen in besonderen Gewebearten wie dem ZNS, aber auch der vorderen Augenkammer oder den Hoden. Die Entzündungsreaktion im zentralen Nervensystem unterscheidet sich von der in anderen Körperregionen. Zunächst ist das ZNS begrenzt durch einen harten Schädelknochen und unelastische Hirnhäute. Eine Zunahme an Volumen wie bei einer entzündlichen Schwellung würde den Druck auf das Gewebe und die Gefäße lebensgefährlich erhöhen. Weiterhin sind Neuronen hauptsächlich postmitotisch und daher nicht regenerierungsfähig (Galea et al., 2007). Die Aktivität während eines epileptischen Anfalls kann dazu führen, dass verschiedene Zellen im Gehirn wie Mikroglia, Astrozyten, Neuronen und Endothelzellen, Entzündungsmediatoren freisetzen (DiSabato et al., 2016). Dies wiederum kann die Eigenschaften der Blut-Hirn-Schranke verändern und bewirken, dass normalerweise vom Hirngewebe ausgeschlossene Moleküle und Bestandteile des adaptiven Immunsystems eindringen können. Diese Veränderungen verstärken die Entzündungsreaktionen im Gehirn und tragen negativ zu einem Anstieg der epileptischen Aktivität bei (Engelhardt, 2008). Der Nachweis von zytotoxischen CD8<sup>+</sup>T-Zellen im Hippocampus nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus deutet auf eine solche Neuroinflammation hin. Die Entzündung kann dabei entweder nur vorübergehend sein, oder aber, was vermutet wird, in eine chronische Form übergehen und zu einem neuronalen Verlust führen (Liblau et al., 2013).

Es wird verständlich, warum aktivierte T-Zellen, die bei einer Entzündung in das ZNS eindringen, ein großes Problem darstellen können und die Immunreaktion im Gehirn eine andere sein muss, als in der Peripherie. Ob ein Immunprivileg wirklich existiert, wurde in den vergangenen Jahren häufig diskutiert. Für ein Immunprivileg sprechen zum einen schwer überwindbare Barrieren, über die Zellen des adaptiven Immunsystems in das ZNS gelangen können (Blut-Hirn-Schranke, Blut-Liquor-Schranke und Liquor-Hirn-Schranke) (Dunn & Isaacs, 2021). Zum anderen ist die Expression von MHC-Molekülen im Parenchym des ZNS sehr begrenzt (Williams et al., 1980). Das Fehlen eines konventionellen Lymphdrainagesystems diente anfänglich als weiteres Argument (Head et al., 1985). Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass es tatsächlich Lymphgefäße in den Hirnhäuten

gibt, die mit den tiefen Halslymphknoten in Verbindung stehen (Louveau et al., 2015). Eine direkte Verbindung mit dem ZNS-Parenchym wird zwar durch zwei Gewebebarrieren (Glia limitans und Blut-Liquor-Schranke) unterbunden, dennoch könnte die Entdeckung des lymphatischen Systems im ZNS Hinweise darauf liefern, dass das Gehirn nicht, wie angenommen, von Immunreaktionen isoliert ist, sondern neuroinflammatorische Erkrankungen mit einer gestörten Immunfunktion in Verbindung stehen.

### **4.3.1 Rolle der Blut-Hirn-Schranke**

Für eine stabile Umgebung und die Schadensbegrenzung bei Krankheiten oder Entzündungen ist eine intakte Blut-Hirn-Schranke immens wichtig. Im Wesentlichen wird sie aus nicht gefensterten Endothelzellen mit interendothelialen Tight Junctions, den Perizyten sowie der Basalmembran gebildet (Abbott et al., 2010). Die Perizyten können durch Kontraktion den Durchmesser der Kapillare verändern (Peppiatt-Wildman et al., 2006) und bei der Infiltration von Immunzellen eine Rolle spielen (Armulik et al., 2011). Das „Patrouillieren“ von T-Zellen durch die Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) im Bereich der spezialisierten perivaskulären (Virchow-Robbins-) Räume gehört zu einer physiologischen Immunüberwachung. Es wurde bisher ausschließlich für CD4<sup>+</sup>T-Zellen beschrieben (Svenningsson et al., 1993), für CD8<sup>+</sup>T-Zellen gilt dies wahrscheinlich nicht. Zudem können CD4<sup>+</sup>T-Zellen effizienter an das Endothel binden als CD8<sup>+</sup>T-Zellen (Male et al., 1994).

Kommt es im ZNS zu einer Infektion oder einem Anfall, werden, vermittelt durch Chemokine und Zytokine, zirkulierende Leukozyten aktiviert. Diese können in das ZNS eindringen, indem sie an den Gefäßwänden entlangrollen und zunächst adhäsiv an das Endothel binden. Für die Migration in das ZNS existieren drei mögliche Routen: 1. vom Blut zum Liquor über den Plexus choroideus, 2. vom Blut zum Subarachnoidalraum und 3. vom Blut direkt in das Parenchym über die Blut-Hirn-Schranke (Kivisäkk et al., 2003). Auf der luminalen Seite des Endothels der postkapillären Venole werden Integrin-Liganden wie ICAM-1 (interzelluläres Adhäsionsmolekül 1), VCAM-1 (vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1) Selektine (P-Selektin) und Chemokine exprimiert. Lymphozyten besitzen auf ihrer Oberfläche Chemokinrezeptoren, Selektinliganden wie P-Selektin-Glykoproteinligand-1 (PSGL-1) und Integrine wie Lymphozytenfunktions-assoziiertes Antigen 1 (LFA-1, auch bekannt als  $\beta$ 2-Integrin). Durch Wechselwirkungen zwischen P-Selektin und P-Selektin-Ligand sowie ICAM-1 und LFA-1 können die T-Zellen transmigrieren, allerdings ist darüber bisher wenig bekannt. Die Diapedese kann direkt durch (transzellulär) oder zwischen (parazellulär) den Endothelzellen erfolgen. Man weiß inzwischen, dass die Lymphozyten dazu in der Lage sind, mithilfe von Podosomen transzelluläre Poren durch das Endothel zu bilden. Dieser Vorgang ist abhängig

von der Src-Kinase und dem Aktin-regulatorischen Protein WASP (Wiskott-Aldrich-Syndrom-Protein) (Carman et al., 2007). Es ist belegt, dass es bei Anfällen zu einem vermehrten Entlangrollen von Leukozyten sowie zu einer vermehrten Expression von Zelladhäsionsmolekülen wie ICAM-1 und VCAM-1 kommt (Fabene et al., 2008). Es wäre also denkbar, dass eine Immunmodifikation der Leukozyten-Endothel-Interaktion einen weiteren möglichen Therapieansatz bei Epilepsie darstellt.

Die Veränderungen in der Permeabilität konnten sowohl bei der experimentellen als auch bei der menschlichen Temporallappenepilepsie festgestellt werden. Durch die lokal immunstimulierende Wirkung von T-Lymphozyten, Zytokinen und Chemokinen entsteht ein Zustand bei dem Entzündungszellen leichter die Blut-Hirn-Schranke durchdringen können. Dies äußert sich in der Anhäufung von Serumproteinen im Gewebe des ZNS und einem positiven Zusammenhang zwischen einer verminderten BHS-Funktion und dem Auftreten von Anfällen bei Ratten mit chronischer Epilepsie (van Vliet et al., 2007). Der Zusammenbruch der BHS könnte daher wesentlich zu einer Epileptogenese beitragen. Die Struktur der Tight Junction-Proteine Claudin und Occludin, die die Endothelzellen eng zusammenhalten, wird wesentlich durch das von CD8<sup>+</sup>T-Zellen freigesetzte Perforin verändert (Johnson et al., 2014). Wenn das Plasmaprotein Albumin in das Hirnparenchym eindringt, wird in Nervenzellen eine Apoptose ausgelöst (Seiffert et al., 2004). Infolgedesse wird ungehindert Glutamat freigesetzt, was zu weiteren Schäden des Gewebes führt (Zhang und Bhavnani, 2006). Zudem bindet Albumin an die TGF- $\beta$ -Rezeptoren auf Astrozyten und aktiviert dadurch die SMAD2/3-Signalkaskade (Cacheaux et al., 2009). Astrozyten sind die am häufigsten vorkommenden Gliazellen und besitzen neben ihrer Stützfunktion weitere wichtige modulierende Eigenschaften. Innerhalb von Stunden bis Tagen nach einem Status epilepticus kommt es zu einer sogenannten astrozytischen Transformation (Friedman et al., 2009), die diverse transkriptionelle Veränderungen mit sich bringt. Beispielsweise resultiert eine reduzierte Expression von nach innen gerichteten Kaliumkanälen (Kir 4.1), sodass der extrazelluläre Kaliumspiegel ansteigt und NMDA-Rezeptoren übererregt werden (David et al., 2009). Zudem kommt es zu einer verminderten Anzahl an zellverbindenden Gap Junctions sowie einer beeinträchtigen Glutamat-Homöostase. All diese Effekte haben einen erheblichen Einfluss auf die neuronale Übererregbarkeit und begünstigen (weitere) epileptiforme Aktivität (Boer et al., 2008). Auch jüngste Studien belegen, dass sowohl bei experimenteller als auch bei menschlicher TLE vor und während der Anfälle die astrozytäre Gutamatfreisetzung erhöht ist (Vezzani et al., 2023). Es ist unumstritten, dass dies zu mehr Anfällen führt. Es wäre jedoch auch möglich, dass es sich dabei nicht um die Ursache, sondern lediglich um ein Nebensymptom der erniedrigten Anfallsschwelle handelt. Denn obwohl die Aktivierung von Mikrogliazellen und die Rekrutierung von Lymphozyten repräsentativ für eine Schädigung des ZNS stehen, handelt es sich nicht um die alleinigen Auslöser für die Neurodegeneration. Es

existieren Studien, die besagen, dass die zelluläre Infiltration von Immunzellen und eine Funktionsstörung der BHS nicht zwingend miteinander zusammenhängen müssen (Galea et al., 2007). Die Dichte der Tight Junctions ist im Kapillarendothel am größten, aber aktivierte T-Lymphozyten können auch ohne eine Neuroinflammation (Zamvil und Steinman, 1990) und bei intakter Blut-Hirn-Schranke (Perry et al., 1997) in das ZNS gelangen. Dabei infiltrieren sie hauptsächlich im Bereich der postkapillären Venolen (Cross et al., 1990) und auf transzelluläre Weise, sodass die Tight Junctions keine hinderliche Barriere darstellen (Ge et al., 2005). Zudem ist zu betonen, dass die Rekrutierung der T-Lymphozyten durch Mikroglia selektiv in die von Anfällen betroffenen Bereiche erfolgt (Silverberg et al., 2010). Wenn Mikroglia früh nach einer Infektion - beispielsweise durch einen Inhibitor - fehlten, hat sich die Schädigung im Bereich des Hippocampus verschlimmert (Walzl et al., 2018). In Versuchen mit Knockout-Mäusen konnte zudem gezeigt werden, dass sich bei einem Mangel von CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>T-Zellen die latente Phase der Epileptogenese sogar verkürzt hat (Silverberg et al., 2010). Dies bestätigt die Relevanz eines intakten Immunsystems für die Anfallsaktivität und insbesondere die Rolle von T-Zellen, einen wirksamen Schutz gegen weitere Anfälle aufzubauen. Die Frage lautet jedoch, ob diese Reaktion unzureichend abläuft, von welchen weiteren Elementen sie abhängig ist und ob sie sich im Sinne einer Autoimmunerkrankung womöglich gezielt gegen körpereigene Strukturen richten könnte.

### **4.3.2 Bedeutung der Zytokine**

Bei der Beantwortung der Frage nach einer entzündlich bedingten Epileptogenese spielen die Zytokine eine wesentliche Rolle. Sie stellen mit den TLRs (Toll-Like-Rezeptoren) den Übergang zwischen angeborenem und adaptivem Immunsystem dar. Unter den TLRs wird eine Familie von Transmembranproteinen zusammengefasst, deren Aktivierung eine intrazelluläre Signalübertragung bewirkt. Sie stehen im Zusammenhang mit den IL-1 $\beta$ -Rezeptoren. Ihre Stimulation aktiviert Transkriptionsfaktoren wie beispielsweise NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells), der Gene für proinflammatorische Zytokine, Chemokine, Proteine des Komplementsystems, Cyclooxygenase-2 und Stickoxide kodiert (Vezzani und Granata, 2005). Die TLRs werden unter anderem auch durch Hitzeschockproteine, die bei Fieberkrämpfen freigesetzt werden oder durch Komponenten der Extrazellulärmatrix, die bei Gewebeschädigung entstehen, aktiviert (Allan und Rothwell, 2001).

Im Hippocampus von Mäusen, wahrscheinlich auf den Dendriten der Körnerzellen, befinden sich zahlreiche Rezeptoren für das Zytokin IL-1 $\beta$  (Takao et al., 1990). Weitere Studien haben belegt, dass auch bei Menschen mit TLE das Zytokin IL-1 $\beta$  erhöht ist (Sheng et al., 1994). Es

wird hauptsächlich in aktivierten Astrozyten und Mikroglia, weiterhin in Endothelzellen, Neuronen und Lymphozyten, entweder nach Hirnverletzungen oder bei wiederholten Anfällen produziert (Hopkins und Rothwell, 1995) und bindet hochaffin an den IL-1 $\beta$ -Rezeptor vom Typ 1 (IL-1R1) in Hippocampus-Neuronen. Es bewirkt die Rekrutierung von Makrophagen, die Anlockung von T-Zellen und die Induktion des Zelladhäsionsmoleküls ICAM-1, welches auf Endothelzellen exprimiert wird. Dieses kann das Integrin LFA-1 auf Leukozyten binden und eine Lymphozytendiapedese durch die BHS ermöglichen (Zattoni et al., 2011).

Die proepileptogenen Effekte nach Aktivierung des Rezeptors äußern sich zum einen durch das schnelle Einwirken auf die neuronale Übertragung, zum anderen langfristig auf die Gentranskription (Vezzani und Baram, 2007). Über den schnellen, nicht-transkriptionsabhängigen Weg werden im vorderen Hypothalamus Kinasen der Src-Familie aktiviert (phosphoryliert) und dadurch N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) und spannungsgesteuerte Ionenkanäle verändert. Dies bewirkt eine erhöhte Calciumkonzentration und damit verbunden eine verminderte Anfallsschwelle sowie eine neuronale Übererregbarkeit. In Endothelzellen bewirkt die Src-Aktivierung zudem einen Zerfall der Blut-Hirn-Schranke (Vezzani et al., 2011). Bemerkenswertenswerterweise konnte eine Blockade von IL-1 $\beta$  die Leckage der BHS reduzieren (Marchi et al., 2009). Während es bei einer peripheren Entzündung parallel zu einer gesteigerten Synthese von IL-1R-Antagonisten (IL-1RA) kommt, wird bei einer zentralen Entzündung IL-1RA jedoch nur sehr verzögert gebildet. Die Konzentration von IL-1 $\beta$  ist demnach im Gehirn länger anhaltend als in der Peripherie und entzündungshemmende Mechanismen scheinen unzureichender (Vezzani et al., 2013).

Es wird immer offensichtlicher, dass der finale Verlauf einer Entzündung maßgeblich von der Produktion der Zytokine, der Dauer der Exposition im betroffenen Gewebe und ihrem Gleichgewicht zwischen neurotrophen und neurotoxischen Faktoren zusammenhängt (Vezzani und Granata, 2005). Im physiologischen Zustand fungieren antiinflammatorische Zytokine als Kontrollelemente, um die potenziell schädlichen Folgen einer übermäßigen Entzündungsreaktion einzudämmen. Dabei herrscht ein kontinuierlich im Fluss befindliches Gleichgewicht zwischen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Zytokinen. Es kann jedoch auch dazu kommen, dass der jeweilige Effekt entweder nicht ausreichend oder aber zu übermäßig eintritt (Opal & DePalo, 2000). Zudem besitzen beinahe alle Zytokine eine Mehrfachwirkung und können gleichzeitig sowohl entzündungshemmende als auch entzündungsfördernde Effekte aufweisen (siehe Tabelle 3). IL-6 gilt beispielsweise als hauptsächlich proinflammatorisches Interleukin, welches die Expression von Akute-Phase-Proteinen induziert, andererseits kann es andere proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF- $\alpha$  hemmen und hat somit auch antiinflammatorische Eigenschaften (Xing et al., 1998).

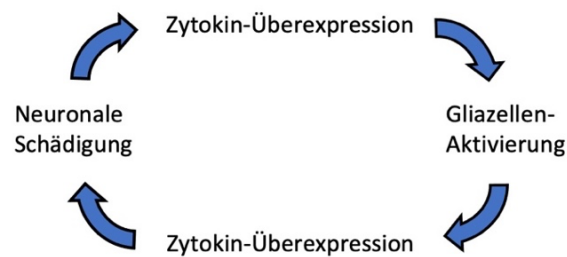
**Tabelle 3: Die wichtigsten Zytokine und ihre Effekte im Überblick**

<b>Zytokin</b>	<b>Produzierende Zellen</b>	<b>Proinflammatorische Effekte</b>	<b>Antiinflammatorische Effekte</b>	<b>Referenzen</b>
<b>IL-1</b>	T-Zellen (Th1), Mikroglia, Astrozyten, Neuronen, Endothelzellen	Neurotoxisch; aktiviert natürliche Killerzellen; Fieber; stimuliert weitere Zytokinproduktion durch Makrophagen; bewirkt Mikroglia-Proliferation	Kann Nervenwachstumsfaktor sowie ziliären neurotrophen Faktor und Wachstumsfaktor aus Astrozyten synthetisieren	Ganter et al., 1992 Rothwell, 1999 Vezzani et al., 2007
<b>IL-1- RA</b>	Mikroglia, Astrozyten, Neuronen, Endothelzellen		Hemmt spezifisch IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$	Friedlander et al., 1996 Vezzani et al., 2000
<b>IL-2</b>	T-Zellen (Th1), Mikroglia, Astrozyten	Aktiviert adaptive Immunzellen; Störung der BHS; neurodegenerative Eigenschaften	Kann neuronales Überleben fördern; stimuliert u.a. Proliferation von Oligodendrozyten	Jiang & Lu, 1998; Nemni et al., 1992
<b>IL-4</b>	T-Zellen (Th2), Mastzellen, Stromazellen		Fördert Zellwachstum; hemmt u.a. IL-1, IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$ und IL-6-Produktion; hemmt Th1-/ fördert Th2-Differenzierung; hemmt Tumorbildung	Brown & Hural, 1997 Toi et al., 1991 Tepper et al., 1992
<b>IL-6</b>	T-Zellen (Th2) Mikroglia, Astrozyten, Endothelzellen	Induziert Akute-Phase-Proteine; Astroglie, Störung der BHS	Hemmt IL-1, TNF- $\alpha$ und IFN $\gamma$ -Produktion; induziert IL-1-RA sowie Glukokortikoidsynthese	Barton, 1997 Ruzek et al., 1997 Xing et al., 1998

<b>IL-10</b>	Makrophagen, Monozyten, T-Zellen (Th2)		Hemmt u.a. IL-2 und IFN $\gamma$ sowie Th1- Lymphozytenreaktion	Howard et al. 1992 Lalani et al., 1997
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	T-Zellen (Th1), Astrozyten, Mikroglia	Aktiviert Makrophagen; induziert Akute-Phase-Proteine; Fieber; Astrogliose		Jonakait, 1997 Muchamuel et al., 1997
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Makrophagen, Mastzellen, T-Zellen (Th1), Endothelzellen, Neuronen	Induziert Akute-Phase-Proteine; fördert Produktion von ICAM-1/ VCAM-1 sowie NO- Synthese; erhöht MHC-I/II Expression; Astrogliose	Hemmende Wirkung auf aktivierte T- Zellen	Cope et al., 1997; Kassiotis et al., 2001 Wilson et al., 1998 18.07.25 16:50:00
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	T-Zellen (Th2), Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Epithelzellen	Durch SMAD2/3-Signalweg auch neuronale Übererregbarkeit und Induktion proinflammatorischer Zytokine (IL-1, IL-6)	Neuroprotektiv: fördert Wundheilung und Zellwachstum; hemmt proinflammatorische Zytokinsynthese (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6)	Kingsley, 1994 Letterio et al., 1997 18.07.25 16:50:00

Es wird vermutet, dass die Ausprägung des neuronalen Schadens durch die Konzentration der Zytokine moduliert wird. Im Gehirn bewirken Zytokine zudem gravierende Veränderungen des neuroendokrinen Systems und von verschiedenen Neurotransmittern wie Noradrenalin, GABA, Acetylcholin und Glutamat. Glutamat ist durch die Wechselwirkung mit Zytokinen wahrscheinlich auch an neurodegenerativen Prozessen beteiligt (De Simoni und Imeri, 1998). Untersuchungen an Hippocampusschnitten von Ratten konnten eine erhöhte Konzentration proinflammatorischer Zytokine (IL-6 und TNF- $\alpha$ ) nach einem Kainat-induzierten Status epilepticus nachweisen (de Bock et al., 1996). Es kommt außerdem zu neuromodulatorischen Effekten, die unter anderem die Erregbarkeitsschwelle von Neuronen herabsetzen (Vezzani et al., 2013). Bereits geringe Konzentrationen von IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  können die Langzeitpotenzierung im ZNS hemmen und die synaptische Übertragung beeinflussen (Cunningham et al., 1996; Coogan und O'Connor, 1997). Studien zeigen, dass der Gewebespiegel der Zytokine, insbesondere IL-1, im Alter außerdem signifikant zunimmt (Sheng et al., 1998). Auch ein genetischer Einfluss auf die Zytokinproduktion konnte belegt werden (Westendorp et al., 1997). So hatten Probanden mit einem hohen Verhältnis von IL-10 zu TNF- $\alpha$  ein erhöhtes Risiko, an einer Meningokokken-Infektion zu versterben. Dieses erblich bedingte Zytokinprofil könnte eine mögliche Erklärung für die hohe Varianz der Anfälle innerhalb der Placebogruppe sein. Scheinbar senkt eine T-Zell-Unterdrückung die Variabilität der Anfälle, indem infolgedessen auch weitere Steuerungselemente wie Zytokine unterdrückt werden. Da es sich dabei nicht um die Ursache für die Anfälle, sondern lediglich um einen modulierenden Faktor handelt, wird die Anfallsaktivität dabei jedoch nicht vollständig unterdrückt. Ähnlich zu weiteren neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit könnte es also auch bei der Temporallappenepilepsie Zytokin-vermittelt zu einer Art „Teufelskreis der Entzündung“ kommen. Dabei existiert ein Zusammenhang zwischen dem Expressionsniveau von Zytokinen und dem Ausmaß der Schädigung im Hirngewebe (Griffin et al., 1994). Die Hirne von Patienten mit Epilepsie weisen neuronale Schäden mit Neuritenbildung sowie eine beeinträchtigte Calciumhomöostase auf (Margerison & Corsellis, 1966). Dadurch werden Zytokine freigesetzt, die eine verstärkte Aktivierung von Gliazellen bewirken. Diese produzieren wieder vermehrt Zytokine und lösen einen Rückkopplungseffekt aus (Lieberman et al., 1989). So exprimieren bei Epilepsiepatienten aktivierte Astrozyten beispielsweise vermehrt das Zytokin S100b. Dabei handelt es sich um einen neurotrophen Faktor, der das Neuritenwachstum fördert (Marshak et al., 1992). Diese biochemischen und zellulären Vorgänge können zunächst entscheidend sein, um das Überleben von Nervenzellen zu sichern und die Regeneration von synaptischen Verbindungen, beispielsweise bei Fieber oder einer Kopfverletzung, zu unterstützen. Gleichzeitig könnten sie jedoch auch die Basis für ein erhöhtes Risiko späterer neurodegenerativer Erkrankungen schaffen. Eine Überexpression, womöglich ausgelöst durch die verstärkten Rückkopplungsmechanismen,

kann sich toxisch auf Neuronen auswirken (Griffin et al., 1995). Dies geschieht beispielsweise durch die Erhöhung der intrazellulären Calcium-Konzentration, eine vermehrte NO- Produktion sowie durch freiwerdende und sich ablagernde Amyloidpeptidfragmente (Hu et al., 1996; Müller et al., 2017). Durch die neuronalen Schäden werden wiederum vermehrt Zytokine wie das proinflammatorische IL-1 ausgeschüttet und ein „Zytokin-Zyklus“ entsteht (siehe Abbildung 23).



**Abbildung 23: Der "Zytokin-Zyklus"**

*Aus einer neuronalen Schädigung resultiert eine Zytokin-Überexpression, die Gliazellen aktiviert, was wiederum eine Zytokinausschüttung bewirkt, die erneut zu einer neuronalen Schädigung führt.*

Es ist interessant, dass bestimmte Zellen des Immunsystems, wie Zytokine, im Laufe von Autoimmunerkrankungen unterschiedliche Effekte aufzeigen können. So ist beispielsweise TGF- $\beta$  bei Multipler Sklerose (MS) zu Beginn der Erkrankung dazu imstande die Autoreaktivität zu hemmen (Prud'homme und Piccirillo, 2000), im Verlauf allerdings kann es - durch einen fibrotischen Umbau - auch einen Schaden im betroffenen Gewebe bewirken (McCartney-Francis et al., 1998).

### 4.3.3 T-Zell-vermittelte Autoimmunität

Dass die CD8<sup>+</sup>T-Zellen die Hauptpopulation im Gehirn von Patienten mit MS darstellen und dabei eine schwere ZNS-Autoimmunität auslösen, wurde hinreichend belegt (Babbe et al., 2000; Huseby et al., 2001). Die zytotoxischen Zellen sind dazu in der Lage, an MHC-I, welches auf Gehirnzellen exprimiert wird, zu binden und die Zellen abzutöten. Dabei können alle Subtypen von ZNS-Zellen, wie Neuronen, Astrozyten und Mikroglia mögliche Angriffsziele darstellen (H. Neumann et al., 2002). Es wurde gezeigt, dass CD8<sup>+</sup>T-Zellen in vitro sogar dazu in der Lage sind, Axone direkt zu durchtrennen (Bitsch et al., 2000). Dass sich, beispielsweise nach einer Virus-Infektion, geweberesidente CD8<sup>+</sup>T-Zellen (Tissue Resident Memory T-cells, oder TRM-Zellen) im ZNS-Parenchym befinden, die nach Eliminierung der Infektion dort verweilen, ist ein Fakt, der ebenfalls immer mehr an Bedeutung zu gewinnen scheint (Wakim et al., 2010). Dabei sind die TRM-Zellen für den Schutz des ZNS bei einer erneuten Infektion mit dem Erreger von Bedeutung. Möglicherweise verbleiben sie dort auch nach einer sterilen Hirnverletzung oder bei einem Fieberkrampf und werden an Orten wie dem Plexus choroideus, den Meningen oder in perivaskulären Räumen reaktiviert. Sie wären dann schneller dazu imstande, Zytokine wie beispielsweise IFN $\gamma$  zu produzieren, die dann wiederum weitere Zellen des adaptiven Immunsystems aktivieren können. Der „Nachteil“ der TRM-Zellen besteht darin, dass die Empfindlichkeit für autoreaktive T-Zell-Reaktionen im Gewebe herabgesetzt wird. Auch neuere Studien belegen einen Zusammenhang zwischen T-Gedächtniszellen und Autoimmunerkrankungen. In Biopsien von Patienten mit Glomerulonephritis, einer autoimmun bedingten Gewebeerstörung der Niere, zeigte sich, nach lokalen Harnwegsinfekten oder einer systemischen Infektion wie einer Sepsis, eine erhöhte Anzahl von TRM-Zellen (Krebs et al., 2020). Dabei ist bisher jedoch nicht bekannt, ob die TRM-Zellen die Entzündung auslösen oder sie nur modulieren.

Golombeck et al. (2016) konnten nachweisen, dass CD8<sup>+</sup>T-Zellen im Gehirn in engem Kontakt mit Neuronen stehen und eine immunvermittelte Neuropathie bis hin zu einem neuronalen Verlust bewirken. Insbesondere ist dies bei der Hippocampussklerose, eine der häufigsten Ursache der Temporallappenepilepsie, der Fall (Lu et al., 2017). Antikörper gegen Oberflächenantigen-Ziele wie NMDA-, AMPA- und GABA-Rezeptoren sowie spannungsgesteuerte Kaliumkanäle sind bereits belegt worden (Kirschstein und Köhling, 2023). Bei der Autoimmunenzephalitis kommt es zu einer signifikanten Autoimmunreaktion gegen das Myelin-Basisprotein (MBP) durch autoreaktive Th17-Zellen (Reboldi et al., 2009). Die Folge der anhaltenden Neuroinflammation ist eine fortschreitende Gewebeschädigung mit parallelem Verlust und erhöhter Erregbarkeit von Neuronen. In welchem Maße die Antikörper dafür ursächlich sind, wird zurzeit noch diskutiert. Gegebenenfalls sind es die direkten Folgen

auf die Neurotransmitterrezeptoren oder sogar die Koexistenz weiterer Antikörper (Kirschstein und Köhling, 2023). Auch bei Patienten mit einer speziellen Form der Autoimmunenkephalitis, der GAD65-limbischen Enkephalitis (LE), konnte die Pathogenität von CD8<sup>+</sup>-Zellen erneut bestätigt werden. Man hat im Hippocampusparenchym von GAD65-LE-Patienten eine signifikant erhöhte Anzahl an Perforin-exprimierender CD8<sup>+</sup>-Zellen nachgewiesen, woraus sich ein neuronaler Verlust in der Pyramidenzellschicht und Granulatzellschicht des Gyrus dentatus ergab. Durch das folglich geringere Hippocampusvolumen war auch die Gedächtnisleistung bei diesen Patienten vermindert (Dik et al., 2021).

Ein weiteres wichtiges Beispiel für eine T-Zell-vermittelte Autoimmunerkrankung ist die seltene Rasmussen-Enkephalitis (RE). Sie führt zu einer chronisch-progressiven Entzündung einer Hirnhemisphäre mit chronisch fokalen und sekundär generalisierten Anfällen. Unbehandelt entwickelt sich eine Hirnatrophie der betroffenen Hemisphäre und entsprechend der Lokalisation kann es neben den Anfällen zu einer Hemiparese, Hemianopsie und kognitiven Defiziten kommen. Der vorherrschende pathogene Prozess ist ein Antigen-gesteuerter MHC-I-beschränkter und CD8<sup>+</sup> T-Zell-vermittelter Angriff gegen Antigene, die auf Neuronen und Astrozyten im ZNS präsentiert werden (Schwab et al., 2009). Ein Autoantikörper gegen die Glutamatrezeptor-Untereinheit GluR3 konnte bei einigen, jedoch nicht bei allen Patienten identifiziert werden (Mantegazza et al., 2002). Auch Autoantikörper gegen das Munc18-Protein mit Infiltration von B- und Plasmazellen sind bereits nachgewiesen worden (Alvarez-Barón et al., 2008). Zudem sind T-Zellen dazu in der Lage, das Protein Granzym B zu sezernieren, welches in den Zielzellen der zytotoxischen Zellen eine Caspase-vermittelte Apoptose induziert (Gahring et al., 2001). Der resultierende Untergang von Neuronen und Astrozyten führt zu zahlreichen neurologischen Defiziten und der Ausbildung einer refraktären fokalen Epilepsie (Rogers et al., 1994). Forschungen konnten zeigen, dass bei Betroffenen eine CD8<sup>+</sup> T-Zell-Expansion vorliegt, die bis zu 15 Monate anhält. Es zeigen sich sogenannte CD8<sup>+</sup> T-Zellklone sowohl im ZNS (perivaskulär und parenchymal) als auch in der Peripherie. Mittels T-Zell-Rezeptorsequenzierung wurde die klonale T-Zell-Rezeptor (TCR)-Diversität ermittelt, die allerdings nur eine begrenzte Vielfalt zeigte. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass sich CD8<sup>+</sup> T-Zellen nur aus einer geringen Anzahl an Vorläufern entwickelt haben müssen, die auf noch nicht identifizierte Antigene reagieren. Eine chronische Virusinfektion wird ebenfalls als Ursache diskutiert. Auch ein erster Anfall oder eine Kopfverletzung sind denkbar. Eine frühe Diagnosestellung und der rechtzeitige Beginn einer Immuntherapie kann die Prognose für Erkrankte verbessern. Bei Patienten mit schwer kontrollierbaren epileptischen Anfällen ist die Immuntherapie oft weniger wirksam und die Durchführung einer Hemisphärektomie meist die einzige Chance auf eine dauerhafte Anfallsfreiheit.

Es wurde gezeigt, dass zwischen Patienten mit TLE und RE kein Unterschied hinsichtlich des CD8<sup>+</sup>T-Zell-Rezeptor-Repertoires besteht (Schneider-Hohendorf et al., 2016). Folglich könnten die Erkenntnisse der CD8<sup>+</sup> T-Zell-Pathogenität also auch auf TLE-Patienten übertragen werden. Die Frage, ob es bei Epilepsie zur Ausprägung einer Autoimmunerkrankung kommt, können wir nicht abschließend beantworten. Es existieren Studien, die besagen, dass autoreaktive T-Zellen gegen Myelinantigene ein Bestandteil des physiologischen Zellrepertoires beim gesunden Menschen sein können (Correale und Villa, 2004). Auch wird autoimmunem T-Zellen durch die Freisetzung des Signalstoffs Neurotrophin, welcher das Überleben von Neuronen fördert, eine neuroprotektive Wirkung zugesprochen (Moalem et al., 2000). Es ist anzunehmen, dass die T-Zell-vermittelte Neuroprotektion zwar eine physiologische Reaktion des Körpers darstellt, sie sich jedoch meist nicht als wirksam genug erweist. Die zytotoxische T-Zell-Antwort spricht für die Ausbildung einer Autoimmunerkrankung, die im Laufe der Zeit zu funktionellen Veränderungen und einer weiteren Verstärkung der Neuroinflammation führt. Die Multikausalität und Vielschichtigkeit der Epilepsie lässt jedoch weiterhin viele Fragen dazu offen.

#### **4.4 Mycophenolatmofetil als Therapiemittel**

Die Vordaten durch Neumann et al. (2017) belegen, dass es auch nach Pilocarpin-induziertem SE zu einem erhöhten CD8<sup>+</sup>/ CD4<sup>+</sup>Verhältnis und damit zu einer zytotoxischen CD8<sup>+</sup>T-Zell-Antwort im Hippocampus kommt. In einer anderen Studie (Silverberg et al., 2010) wurden die Gehirne von Mäusen nach einem elektrisch stimulierten generalisierten tonisch-klonischen Anfall untersucht und es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass es verzögert, ab 24 bis maximal 72 Stunden, nach Anfall zu einer Infiltration von CD4<sup>+</sup> T-Zellen, CD8<sup>+</sup> T-Zellen und CD4R5<sup>+</sup> B-Zellen in das ZNS kam. Die CD4<sup>+</sup>T-Zellen und CD4R5<sup>+</sup>B-Zellen wanderten dabei in den Neokortex, die CD8<sup>+</sup> T-Zellen in den Hippocampus. Insgesamt befanden sich nach dem Anfall mehr CD8<sup>+</sup>- als CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Gehirn. MMF konnte die verzögerte zytotoxische CD8<sup>+</sup>T-Zell-Reaktion nach einem Pilocarpin-induzierten Status epilepticus unterbinden (Neumann et al., 2017). Das Medikament wirkt, indem die Purinsynthese in Lymphozyten unterdrückt, damit die Zahl der aktivierten Lymphozyten gesenkt und die Anzahl an neu rekrutierten Lymphozyten verringert wird (Lagarde et al., 2022). Der Einsatz von MMF an Nagetieren mit Epilepsie stellt eine neuartige Vorgehensweise dar, die bisher in diesem spezifischen Anwendungskontext nicht durchgeführt wurde. Folglich existieren keine vergleichbaren Studien, auf die zurückgegriffen werden könnte. Dennoch wurde ein ähnlicher Ansatz erfolgreich bei anderen Erkrankungen mit vergleichbaren klinischen Merkmalen, wie

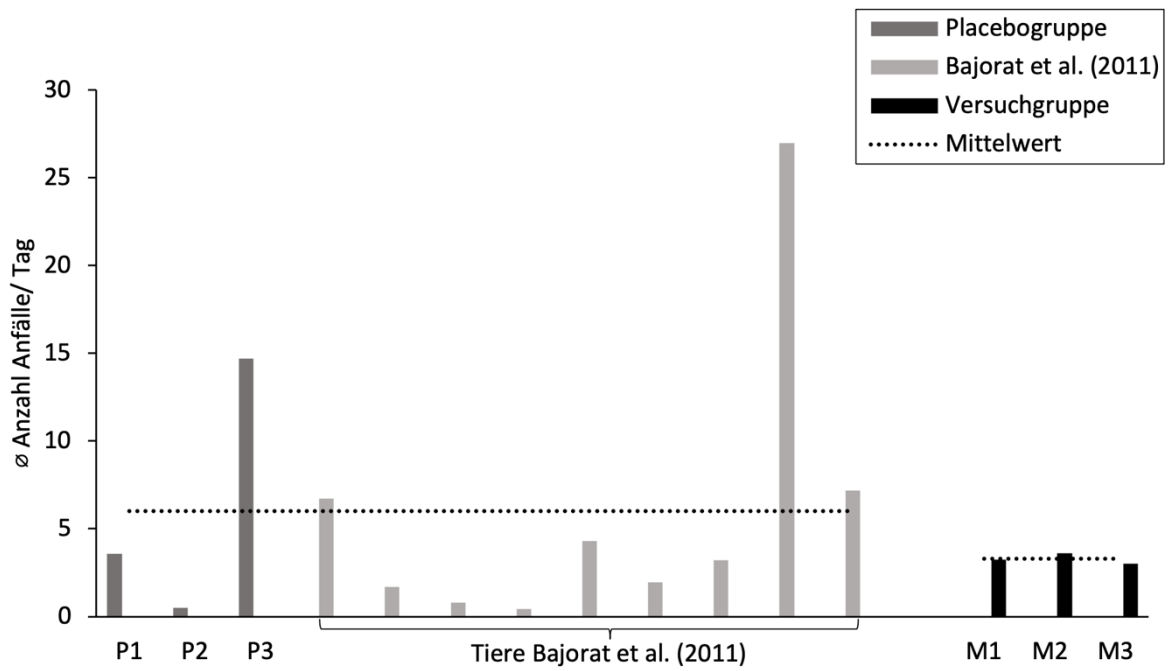
sie bereits beschrieben wurden, angewendet. Die Rasmussen-Enzephalitis, bei der MMF bereits erfolgreich eingesetzt wurde, ist ein Beispiel hierfür (Orsini et al., 2020). Die behandelte Patientin war 6,5 Jahre alt und erlitt im Rahmen der chronischen Enzephalopathie mehrere therapierefraktäre fokale klonische Anfälle. Sie erhielt 750 mg/m<sup>2</sup> in Kombination mit Carbamazepin und war zum Zeitpunkt der Studie 10 Monate anfallsfrei. Kognitive Rückgänge konnten ebenfalls unterdrückt werden. Ein weiterer Fallbericht (Liba et al., 2015) bei einem Patienten mit Rasmussen-Enzephalitis zeigte folgendes Ergebnis: Nach einer Vorbehandlung mit Methylprednisolon 30 mg/kg sowie sieben monatlichen Zyklen von Cyclophosphamid (750 mg/ m<sup>2</sup>) wurde 3 Tage lang 600 mg/ m<sup>2</sup> MMF verabreicht. Nach einem Jahr zeigte sich ein Rückgang der entzündlichen Veränderungen und eine Anfallsfreiheit. Schwerwiegende Nebenwirkungen konnten ebenfalls nicht beobachtet werden. Bei weiterer Einnahme von MMF und Levetiracetam kam es nach Absetzen der Steroide allerdings zu erneuten Anfällen. Auch bei Erkrankungen mit potenziell autoimmuner Auslösung zeigte MMF Erfolge. So belegen jüngste Forschungsergebnisse, dass bei 29 von 36 Patienten mit IgA-Nephritis während einer dreimonatigen Induktionstherapie mittels hochdosiertem Prednison und MMF eine vollständige Remission erreicht werden konnte (El-Reshaid et al., 2023). Es ist von Vorteil, dass das Medikament bereits seit über zwei Jahrzehnten auf dem Markt und im Einsatz am Menschen erprobt ist. So hat sich MMF bei der Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen als zuverlässiges Therapeutikum bewährt (Kahan, 2008). Dennoch stellt der Versuch, immunmodulatorisch mittels MMF auf die Epilepsie einzuwirken, einen neuen Anwendungsbereich dieses Medikaments dar. Obwohl es besser verträglich zu sein scheint als andere Immunsuppressiva wie beispielsweise Azathioprin (Lagarde et al., 2022), existieren zahlreiche Nebenwirkungen. Eine ausführliche Risiko-Nutzen-Abwägung sollte daher zwingend erfolgen.

#### **4.5 Effekte der Immunsuppression auf die Anfälle**

Die Anwendung von MMF zur Immunsuppression hat in dieser Studie keine signifikante Reduktion der Anfallshäufigkeit bewirkt. Obwohl eine Durchschnittszahl von Anfällen nicht signifikant vermindert wurde, fiel auf, dass die Varianz der Anfallsraten in der MMF-behandelten Gruppe deutlich abnahm. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die variable Ausprägung der Erkrankung möglicherweise immunologischen Faktoren unterliegt. Es wäre denkbar, dass MMF an falscher Stelle im Immunsystem interveniert und daher nicht die erwünschten Ergebnisse bei der Behandlung der Epilepsie erzielen konnte. Obwohl es bereits als Therapeutikum in der Transplantationsmedizin eingesetzt wird, ist es bekannt für seine

Nebenwirkungen. Diese könnten die Anwendung von MMF in der Behandlung von Epilepsie einschränken. Zukünftige Perspektiven für die Behandlung von Epilepsie sollten eine weiterführende Erforschung alternativer immunologischer Ansätze umfassen, die gezielter und effektiver sind. Die experimentelle und klinische Suche nach neuen immunmodulatorischen Therapieansätzen bei entzündlich bedingten Epilepsien hat in den letzten zwanzig Jahren stark zugenommen (Vezzani und Rüegg, 2017). Besonders der humane rekombinante Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1-RA) **Anakinra** (KINERET®) zeigt eine vielversprechende Wirkung bei autoimmunen Epilepsieformen (Vezzani et al., 2000; Kenney-Jung et al., 2016). Das Methionin-Analogon zum natürlichen IL-1R-Antagonisten blockiert das bei Entzündungen hochregulierte IL-1 $\beta$ . Erst jüngste Studien an insgesamt 38 Patienten mit febrilem infektionsbedingtem Epilepsiesyndrom (FIRES) sowie medikamentenrestistenter Epilepsie (DRE) belegen, dass Anakinra, zumindest kurzzeitig, zu einer Anfallskontrolle und sogar zu verbesserten kognitiven Fähigkeiten geführt hat und somit einen möglichen Therapieansatz bei schweren Epilepsieformen darstellt (Yamanaka et al., 2021). Auch das an der Bildung von IL-1 $\beta$  beteiligte Enzym Interleukin Converting Enzyme (ICE)/ Caspase-1, welches vermehrt bei intrazellulären Ionenveränderungen (also bei Anfällen) von Neuronen und Gliazellen gebildet wird, kann durch selektive Interleukin-Converting-Enzym/ Caspase-1-Inhibitoren, wie **VX-09-765-401** (BELNACASAN®), gehemmt und die Bildung von IL-1 $\beta$  aus Pro-IL-1 $\beta$  somit unterbunden werden (Vezzani et al., 2011). Insgesamt zeigte sich eine gute Prognose des Medikaments bei entzündlichen Epilepsien, besonders bei autoimmun bedingten, aber auch weiteren Formen. In der Phase-IIa-Studie konnte bei 12,5% der Probanden eine Anfallsfreiheit in den letzten zwei Behandlungswochen erzielt werden. Das Medikament ist bisher nicht für die Therapie der Epilepsie zugelassen worden, die Suche nach neuen Anwendungsbereichen ist anhaltend. Der monoklonale Antikörper **Natalizumab** (TYSABRI®) ist ein Arzneimittel, das bereits zur Behandlung von Erwachsenen mit schubförmig remittierender Multipler Sklerose eingesetzt wird. Er verringert den Grad der Expression von  $\alpha$ 4-Integrin auf CD4-Gedächtnis-T-Zellen, welches an VCAM-1 auf Endothelzellen binden kann und somit den Lymphozyten die Transmigration in das ZNS ermöglicht. Ziel ist es, die Blut-Hirn-Schranke zu schließen und damit einer Schädigung der Neuronen vorzubeugen. Eine Studie zeigte bisher noch keine signifikante Reduzierung der Anfälle bei den Versuchspersonen, allerdings besteht weiterhin großer Forschungsbedarf (French et al., 2021). Vielversprechend scheint auch **Rituximab**, ebenfalls ein monoklonaler Antikörper, der unter anderem bei Autoimmunerkrankungen eingesetzt wird. Er bindet selektiv an das CD20-Antigen, welches auf reifen B-Lymphozyten vorkommt und somit eine Apoptose dieser Zellen auslöst. Unglücklicherweise kann es bei Behandlung mit monoklonalen Antikörpern wie Natalizumab und Rituximab bei Patienten zur Entwicklung einer progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) kommen, einer lebensbedrohlichen Hirnentzündung

ausgelöst durch eine opportunistische Infektion mit dem John Cunningham (JC)-Virus (JCV, woraufhin die Therapie sofort abgebrochen werden muss. Der monoklonale IgG1-Antikörper und TNF- $\alpha$ -Blocker **Adalimumab** (HUMIRA®) scheint ebenfalls ein geeignetes Medikament bei autoimmunen Epilepsieformen zu sein. Das Zytokin TNF- $\alpha$  wird durch aktivierte Gliazellen freigesetzt und erhöht das Risiko für weitere Anfälle durch mikrogliale Glutamatfreisetzung, die Verstärkung von AMPA-Rezeptoren sowie Endozytose von GABA-Rezeptoren. Der Einsatz ist bisher beschränkt auf die Rasmussen-Enzephalitis. Hierbei zeigte sich im Rahmen einer Zweitlinienbehandlung mit einer Datenmenge von  $n = 11$  eine Anfallswirksamkeit von beinahe 50% (Lagarde et al., 2022). **Tocilizumab**, ein monoklonaler Antikörper gegen den Interleukin-6-Rezeptor (IL-6R), ist ein Therapeutikum, welches unter anderem für die Behandlung der rheumatoiden Arthritis zugelassen ist. Auch IL-6 ist, wie IL-1, an dem Erhalt und der Verstärkung einer Entzündungsreaktion beteiligt, fördert die Expansion von CD8<sup>+</sup> T-Zellen und hemmt die Proliferation regulatorischer T-Zellen (Tanaka et al., 2014). Studien belegen, dass IL-6 eine ähnlich neurotoxische und prokonvulsive Wirkung wie IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  besitzt (Li et al., 2011). Bemerkenswerterweise konnte es bei einem refraktären rezidivierenden Status epilepticus ausgelöst durch COVID-19 bereits wirksam eingesetzt werden (Kizilkilic et al., 2022). Interessant sind ebenfalls die Studien an **4,5,6,7-Tetrabromtriazol (TBB)**. Es blockiert die Caseinkinase 2 (CK2), ein Enzym, welches unter anderem Calmodulin (CaM) phosphoryliert, was wiederum zu einer verminderten Aktivität von K<sub>Ca</sub> 2.2-Kanälen führt (Allen et al., 2007). K<sub>Ca</sub> 2.2 ist die Hauptisofom spannungsunabhängiger Ca<sup>2+</sup>-aktivierter K<sup>+</sup>-Kanäle mit einer geringen Leitfähigkeit im Hippocampus und seine Aktivierung senkt die neuronale Überregbarkeit (Anderson et al., 2006). In gesunden Tieren konnte TBB die K<sub>Ca</sub> 2.2-Transkription erhöhen, jedoch nicht in epileptischen Tieren (Bajorat et al., 2018). Daher wurde eine Vorbehandlung der Tiere vor SE durchgeführt und es konnte gezeigt werden, dass es zu einer verminderten Epileptogenese und zur Veränderung der Genexpression von K<sub>Ca</sub> 2.2 kam. Dies hatte einen positiven Effekt auf das nachhyperpolarisierende Potenzial und eine Spike-Frequenzanpassung der Kanäle zur Folge (Schulze et al., 2020). Die Möglichkeit eines sekundärprophylaktischen Eingriffs vor einem Status epilepticus erscheint demnach ein vielversprechender Ansatz zu sein. Es wurde deutlich gezeigt, dass MMF eine immunmodulatorische Funktion übernimmt und den Schweregrad der Erkrankung beeinflusst, indem es die Variabilität der Anfälle reduziert. Dies wird auch durch die kumulativen Daten von Bajorat et al. (2011) unterstützt und in Abbildung 24 noch einmal veranschaulicht.



**Abbildung 24: Anfallshäufigkeit bei Pilocarpin-behandelten Ratten**

Durchschnittliche Anzahl der Anfälle pro Tag eines jeden Tieres mit Angabe des Mittelwertes der jeweiligen Gruppe. Einbezogen wurden, neben Tieren aus dieser Arbeit (P1-P3) kumulative Daten von Bajorat et al. (2011) als Beleg für die historisch breite Streuung unter Pilocarpin-Behandlung. Im Vergleich dazu sind rechts die mit Mycophenolatmofetil-behandelten Tiere M1-M3 mit aufgeführt.

## 4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Basierend auf experimentellen und klinischen Erkenntnissen wird der Einfluss entzündlicher Prozesse auf die Pathogenese von Epilepsie zunehmend anerkannt. Eine Unterdrückung der zytotoxischen CD8<sup>+</sup> T-Zell-Antwort kurz nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus durch das Immunsuppressivum Mycophenolatmofetil wurde durch die Vorarbeiten von Neumann et al. (2017) gezeigt. Es führte jedoch nicht zu einer sekundär prophylaktischen Senkung der Anfallshäufigkeit oder Vermeidung der Ausbildung einer progressiven Epilepsieform. Bemerkenswerterweise war der Effekt einer verminderten Variabilität der Anfallsaktivität signifikant. Der Schweregrad der Erkrankung scheint also immunbedingt zu sein. Denkbar wäre eine genetische Disposition mit individuellen Zytokinprofilen als Auslöser für die erhöhte Varianz der Anfälle in der Placebogruppe. Weiterhin erfolgt der Verweis auf die Rasmussen-Enzephalitis als klassisches Beispiel für ein MHC-I-beschränktes CD8<sup>+</sup>T-Zell-vermitteltes Epilepsiesyndrom. Diese Autoimmunerkrankung geht ebenfalls mit einem erheblichen neuronalen Verlust einher. Obwohl Fortschritte in der antiinflammatorischen Therapie zu verzeichnen sind, ist entscheidend, dass weitere Mechanismen, die zur Entstehung von Epilepsie beitragen, gründlich untersucht werden. Nur durch ein umfassendes Verständnis aller relevanten Mechanismen kann eine Therapieform entwickelt werden, die alle Aspekte der Erkrankung adressiert. Einige Medikamente versprechen Hoffnung auf neue Behandlungsmöglichkeiten, die nicht nur eine Anfallskontrolle begünstigen, sondern auch den Krankheitsverlauf positiv beeinflussen können. Dies könnte erreicht werden, indem das pathologische Entzündungssubstrat, welches die Erregungsschwelle senkt und die neuronale Erregbarkeit fördert, reduziert oder gar eliminiert wird. Weiterhin bedarf der Aspekt, inwieweit die pathologischen Interaktionen zwischen Neuronen und T-Zellen unterbunden werden können, Klärung. Neue Therapien könnten darauf abzielen, spezifische immunologische Mechanismen zu modulieren, die mit der Entstehung und dem Schweregrad der Erkrankung in Verbindung stehen. Es besteht ein Bedarf an klinischen Studien, um die Wirksamkeit und Sicherheit dieser neuartigen Therapieansätze zu untersuchen und die optimale Behandlungsstrategie für Patienten mit Epilepsie zu entwickeln.

## 5 Zusammenfassung

Die Temporallappenepilepsie macht einen Großteil der Epilepsiefälle bei Erwachsenen aus. Häufige und unvorhersehbare Anfälle sowie psychiatrische Komorbiditäten beeinträchtigen die Lebensqualität der Betroffenen erheblich. Dabei bleibt die Epilepsie pharmakologisch bisher weitgehend unkontrolliert. Tiermodelle wie das Pilocarpin-Modell ermöglichen in Kombination mit der Video-EEG-Telemetrie zuverlässige Untersuchungen der Erkrankung. Die intraperitoneale Injektion von Pilocarpin löste bei Ratten einen Status epilepticus aus und führte zur Ausprägung einer chronischen Epilepsie. Das Immunsystem spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Chronifizierung der Erkrankung. Vorangegangene Studien wie die durch Neumann et al. (2017) konnten eine CD8<sup>+</sup>T-Zell-Antwort nach Pilocarpin-induziertem Status epilepticus nachweisen, die mittels des Immunsuppressivums Mycophenolatmofetil nachweislich unterdrückt werden konnte. Es handelt sich dabei um einen Purinantagonisten, der die Synthese und Proliferation von B- und T-Lymphozyten hemmt. In dieser Arbeit wurden die Daten der Video-EEG-Telemetrie von drei Placebotieren, die ausschließlich Pilocarpin erhielten, und drei Versuchstieren, die zusätzlich 0-3 Tage nach einem Status epilepticus Mycophenolatmofetil erhielten, ausgewertet. Die Hypothese dieser Arbeit lautet, dass eine rechtzeitige immunmodulatorische Intervention mit Mycophenolatmofetil kurz nach einem Status epilepticus eine positive Krankheitsmodifikation und verbesserte Prognose der Epilepsie bewirkt. Die Auswertung der mit Mycophenolatmofetil behandelten Versuchsgruppe ergab dass es nicht zu einer signifikanten Reduktion der Anfallshäufigkeit im Vergleich zur Placebogruppe kam. Der Ausbildung einer progressiven Epilepsieform konnte nicht vorgebeugt und die Hypothese somit nicht bestätigt werden. Allerdings war bemerkenswert, dass Mycophenolatmofetil zu einer signifikant geringeren Variabilität der Anfallsaktivität geführt hat. Die Anfallsrate bei den Tieren der Placebogruppe dagegen variierte sehr stark. Es deutet sich an, dass der Schweregrad der Temporallappenepilepsie durch immunologische Faktoren beeinflusst wird. Zusätzlich spielt ein Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke eine wichtige Rolle bei der Entzündungsreaktion und neurodegenerativen Prozessen. Ein Ungleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen könnte die Anfallsaktivität auf individuelle Weise modulieren. Auch eine T-Zell-vermittelte Autoimmunität scheint eine Bedeutung zuzukommen. Bei Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise der Multiplen Sklerose werden durch eine Fehlsteuerung des Immunsystems CD8<sup>+</sup>T-Zell-vermittelt körpereigene Strukturen angegriffen. Studien zeigen, dass immunmodulierende Medikamente bereits bei der Behandlung von autoimmunen Epilepsieformen wirksam sind. Eine gründliche Untersuchung der molekularen Prozesse während der Epileptogenese ist daher entscheidend für die Suche nach alternativen Therapieansätzen und sollte weiterhin im Fokus der Forschung stehen.

## 6 Thesen

1. Die intraperitoneale Injektion von Pilocarpin löst bei Ratten einen Status epilepticus (SE) aus und führt zur Ausprägung einer chronischen Epilepsie.
2. Das Pilocarpin-Modell dient der Untersuchung der Temporallappenepilepsie, da die Epilepsie-bedingten Veränderungen primär im Hippocampus auftreten.
3. Die Vorarbeiten durch Neumann et al. (2017) belegen eine zytotoxische CD8<sup>+</sup> T-Zell-Antwort um den 28. Tag nach Pilocarpin-induziertem SE.
4. Das Immunsuppressivum Mycophenolatmofetil (MMF) ist ein Purinantagonist, der die Synthese und Proliferation von B- und T-Lymphozyten hemmt. Die Gabe von MMF unmittelbar (0-3 Tage) nach SE kann die zytotoxische T-Zell-Reaktion nachweislich unterdrücken.
5. Die drei Tiere der Placebogruppe erhielten ausschließlich Pilocarpin, die drei Tiere der Versuchsgruppe erhielten neben Pilocarpin zusätzlich MMF.
6. Bei allen Tieren wurde über epidural platzierte Elektroden ein EEG-Kanal abgeleitet, der mit einer synchronen Videoaufnahme kontinuierlich aufgezeichnet wurde. Die Daten der Video-EEG-Telemetrie wurden anschließend ausgewertet und analysiert.
7. Die Hypothese der Arbeit lautet, dass MMF eine sekundär prophylaktische Krankheitsmodifikation und verbesserte Prognose der Epilepsie bewirkt.
8. In der Versuchsgruppe konnte MMF die Zahl der Anfälle im Mittel nicht signifikant senken. Die Hypothese wurde nicht bestätigt. Allerdings wurde eine starke Reduktion der Variabilität beobachtet.
9. Da innerhalb der Placebogruppe eine ausgeprägte Varianz der Anfallsaktivität erkennbar war, könnte die Beteiligung des Immunsystems bei Epilepsie für die variable Ausprägung der Erkrankung eine wichtige Rolle spielen.

## 7 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: AUSSCHNITT EINES FOKALEN ANFALLS BEI VERSUCHSTIER M3.....	5
ABBILDUNG 2: DIE RELATIVE EXPRESSION VON CD3G NACH PILOCARPIN-INDUZIERTEM STATUS EPILEPTICUS .....	10
ABBILDUNG 3: ZEITACHSE DES VERSUCHS.....	13
ABBILDUNG 4: SCHEMATISCHE AUFSICHT AUF DEN RATTENSCHÄDEL.....	15
ABBILDUNG 5: VIDEO-EEG-ÜBERWACHUNG AM MESSPLATZ .....	16
ABBILDUNG 6: BILDSCHIRMFOTO MIT EEG-SPUR UND VIDEO-SPUR BEI NEUROSCORE™ .....	17
ABBILDUNG 7: BILDFOLGE EINES FOKALEN ANFALLS.....	18
ABBILDUNG 8: BILDFOLGE EINES GENERALISIERTEN ANFALLS.....	19
ABBILDUNG 9: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER P1 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT..	22
ABBILDUNG 10: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER P1 .....	23
ABBILDUNG 11: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER P2 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT	24
ABBILDUNG 12: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER P2 .....	25
ABBILDUNG 13: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER P3 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT	26
ABBILDUNG 14: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER P3 .....	27
ABBILDUNG 15: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER M1 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT	28
ABBILDUNG 16: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER M1 .....	29
ABBILDUNG 17: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER M2 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT	30
ABBILDUNG 18: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER M2 .....	31
ABBILDUNG 19: ÜBERSICHT ALLER ANFÄLLE BEI TIER M3 IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TAGESZEIT	32
ABBILDUNG 20: ÜBERSICHT ÜBER DIE DAUER DER EINZELNEN ANFÄLLE BEI TIER M3 .....	33
ABBILDUNG 21: ÜBERSICHT ÜBER DIE DURCHSCHNITTLICHE ANZAHL DER ANFÄLLE ALLER TIERE	35
ABBILDUNG 22: ÜBERSICHT DER DURCHSCHNITTLICHEN ANFALLSDAUER IN SEKUNDEN.....	37
ABBILDUNG 23: DER "ZYTOKIN-ZYKLUS" .....	51
ABBILDUNG 24: ANFALLSHÄUFIGKEIT BEI PILOCARPIN-BEHANDELTEN RATTEN .....	58

## 8 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: GEWICHT DER UNTERSUCHTEN TIERE BEI SENDER-IMPLANTATION.....	15
TABELLE 2: ZUSAMMENFASSUNG ALLER EXPERIMENTELLEN ERGEBNISSE .....	34
TABELLE 3: DIE WICHTIGSTEN ZYTOKINE UND IHRE EFFEKTE IM ÜBERBLICK .....	48

## 9 Literaturverzeichnis

- Abbott, N. J., Patabendige, A. A. K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R., & Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood–brain barrier. *Neurobiology of Disease*, 37(1), 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>
- Aldenkamp, A. P., Overweg, J., Gutter, Th., Beun, A. M., Diepman, L., & Mulder, O. G. (1996). Effect of epilepsy, seizures and epileptiform EEG discharges on cognitive function. *Acta Neurologica Scandinavica*, 93(4), 253–259. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1996.tb00516.x>
- Allan, S. M., & Rothwell, N. J. (2001). Cytokines and acute neurodegeneration. *Nature Reviews. Neuroscience*, 2(10), 734–744. <https://doi.org/10.1038/35094583>
- Allen, D., Fakler, B., Maylie, J., & Adelman, J. P. (2007). Organization and Regulation of Small Conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> Channel Multiprotein Complexes. *Journal of Neuroscience*, 27(9), 2369–2376. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3565-06.2007>
- Alvarez-Barón, E., Bien, C. G., Schramm, J., Elger, C. E., Becker, A. J., & Schoch, S. (2008). Autoantibodies to Munc18, cerebral plasma cells and B-lymphocytes in Rasmussen encephalitis. *Epilepsy Research*, 80(1), 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2008.03.007>
- Anderson, N. J., Slough, S., & Watson, W. P. (2006). In vivo characterisation of the small-conductance KCa (SK) channel activator 1-ethyl-2-benzimidazolinone (1-EBIO) as a potential anticonvulsant. *European Journal of Pharmacology*, 546(1), 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.07.007>
- Andrade Vila, J. H., da Silva, J. P., Guilhen, C. J., Baumgratz, J. F., & da Fonseca, L. (2008). Even low dose of mycophenolate mofetil in a mother recipient of heart transplant can seriously damage the fetus. *Transplantation*, 86(2), 369–370. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31817cf28a>
- Armulik, A., Genové, G., & Betsholtz, C. (2011). Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises. *Developmental Cell*, 21(2), 193–215. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.07.001>
- Babbe, H., Roers, A., Waisman, A., Lassmann, H., Goebels, N., Hohlfeld, R., Friese, M., Schröder, R., Deckert, M., Schmidt, S., Ravid, R., & Rajewsky, K. (2000). Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *The Journal of Experimental Medicine*, 192(3), 393–404. <https://doi.org/10.1084/jem.192.3.393>
- Bajorat, R., Porath, K., Kuhn, J., Goßla, E., Goerss, D., Sellmann, T., Köhling, R., & Kirschstein, T. (2018). Oral administration of the casein kinase 2 inhibitor TBB leads to persistent KCa<sub>2.2</sub> channel up-regulation in the epileptic CA1 area and cortex, but lacks anti-seizure efficacy in the pilocarpine epilepsy model. *Epilepsy Research*, 147, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.08.012>
- Bajorat, R., Wilde, M., Sellmann, T., Kirschstein, T., & Köhling, R. (2011). Seizure frequency in pilocarpine-treated rats is independent of circadian rhythm: Temporal Distribution of Seizures. *Epilepsia*, 52(9), e118–e122. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03200.x>

- Barton, B. E. (1997). IL-6: Insights into novel biological activities. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 85(1), 16–20. <https://doi.org/10.1006/clin.1997.4420>
- Bauer, J., Elger, C. E., Hans, V. H., Schramm, J., Urbach, H., Lassmann, H., & Bien, C. G. (2007). Astrocytes are a specific immunological target in Rasmussen's encephalitis. *Annals of Neurology*, 62(1), 67–80. <https://doi.org/10.1002/ana.21148>
- Benbadis, S. R., O'Neill, E., Tatum, W.O., & Heriaud, L. (2004). Outcome of Prolonged Video-EEG Monitoring at a Typical Referral Epilepsy Center. *Epilepsia*, 45(9), 1150–1153. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.14504.x>
- Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T. A., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D., Plouin, P., & Scheffer, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676–685. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>
- Bien, C. G., Bauer, J., Deckwerth, T. L., Wiendl, H., Deckert, M., Wiestler, O. D., Schramm, J., Elger, C. E., & Lassmann, H. (2002). Destruction of neurons by cytotoxic T cells: A new pathogenic mechanism in Rasmussen's encephalitis. *Annals of Neurology*, 51(3), 311–318. <https://doi.org/10.1002/ana.10100>
- Bitsch, A., Schuchardt, J., Bunkowski, S., Kuhlmann, T., & Brück, W. (2000). Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain: A Journal of Neurology*, 123 ( Pt 6), 1174–1183. <https://doi.org/10.1093/brain/123.6.1174>
- Boer, K., Jansen, F., Nellist, M., Redeker, S., van den Ouweland, A. M. W., Spliet, W. G. M., van Nieuwenhuizen, O., Troost, D., Crino, P. B., & Aronica, E. (2008). Inflammatory processes in cortical tubers and subependymal giant cell tumors of tuberous sclerosis complex. *Epilepsy Research*, 78(1), 7–21. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2007.10.002>
- Borges, K., Gearing, M., McDermott, D., Smith, A., Almonte, A., Wainer, B., Dingledine, R. (2003). Neuronal and glial pathological changes during epileptogenesis in the mouse pilocarpine model, *Experimental Neurology*, Volume 182, Issue 1, Pages 21-34, ISSN 0014-4886. [https://doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00086-4](https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00086-4)
- Bullingham, R. E. S., Nicholls, A. J., & Kamm, B. R. (1998). Clinical Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil. *Clinical Pharmacokinetics*, 34(6), 429–455. <https://doi.org/10.2165/00003088-199834060-00002>
- Cacheaux, L. P., Ivens, S., David, Y., Lakhter, A. J., Bar-Klein, G., Shapira, M., Heinemann, U., Friedman, A., & Kaufer, D. (2009). Transcriptome Profiling Reveals TGF- $\beta$  Signaling Involvement in Epileptogenesis. *Journal of Neuroscience*, 29(28), 8927–8935. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0430-09.2009>
- Carman, C. V., Sage, P. T., Sciuto, T. E., de la Fuente, M. A., Geha, R. S., Ochs, H. D., Dvorak, H. F., Dvorak, A. M., & Springer, T. A. (2007). Transcellular Diapedesis Is Initiated by Invasive Podosomes. *Immunity*, 26(6), 784–797. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.04.015>
- Chen, H., & Koubeissi, M. Z. (2019). Electroencephalography in Epilepsy Evaluation. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 25(2), 431–453. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000705>
- Chi, X., Huang, M., Tu, H., Zhang, B., Lin, X., Xu, H., Dong, C., & Hu, X. (2023). Innate and adaptive immune abnormalities underlying autoimmune diseases: The genetic connections. *Science China. Life Sciences*, 66(7), 1482–1517. <https://doi.org/10.1007/s11427-021-2187-3>

Christensen, J. E., Andreasen, S. Ø., Christensen, J. P., & Thomsen, A. R. (2001). CD11b expression as a marker to distinguish between recently activated effector CD8+ T cells and memory cells. *International Immunology*, 13(4), 593–600. <https://doi.org/10.1093/intimm/13.4.593>

Concepcion FA, Khan MN, Ju Wang JD, Wei AD, Ojemann JG, Ko AL, Shi Y, Eng JK, Ramirez JM, Poolos NP. (2021) HCN Channel Phosphorylation Sites Mapped by Mass Spectrometry in Human Epilepsy Patients and in an Animal Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Neuroscience*. 2021 Apr 15;460:13-30. doi: 10.1016/j.neuroscience.2021.01.038. Epub 2021 Feb 9. PMID: 33571596; PMCID: PMC8009864.

Coogan, A., & O'Connor, J. J. (1997). Inhibition of NMDA receptor-mediated synaptic transmission in the rat dentate gyrus in vitro by IL-1 beta. *Neuroreport*, 8(9–10), 2107–2110. <https://doi.org/10.1097/00001756-199707070-00004>

Cope, A. P., Liblau, R. S., Yang, X. D., Congia, M., Laudanna, C., Schreiber, R. D., Probert, L., Kollias, G., & McDevitt, H. O. (1997). Chronic tumor necrosis factor alters T cell responses by attenuating T cell receptor signaling. *The Journal of Experimental Medicine*, 185(9), 1573–1584. <https://doi.org/10.1084/jem.185.9.1573>

Correale, J., & Villa, A. (2004). The neuroprotective role of inflammation in nervous system Injuries. *Journal of Neurology*, 251(11), 1304–1316. <https://doi.org/10.1007/s00415-004-0649-z>

Cross, A. H., Cannella, B., Brosnan, C. F., & Raine, C. S. (1990). Homing to central nervous system vasculature by antigen-specific lymphocytes. I. Localization of 14C-labeled cells during acute, chronic, and relapsing experimental allergic encephalomyelitis. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 63(2), 162–170.

Cunningham, A. J., Murray, C. A., O'Neill, L. A., Lynch, M. A., & O'Connor, J. J. (1996). Interleukin-1 beta (IL-1 beta) and tumour necrosis factor (TNF) inhibit long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vitro. *Neuroscience Letters*, 203(1), 17–20. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)12252-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)12252-4)

David, Y., Cacheaux, L. P., Ivens, S., Lapilover, E., Heinemann, U., Kaufer, D., & Friedman, A. (2009). Astrocytic Dysfunction in Epileptogenesis: Consequence of Altered Potassium and Glutamate Homeostasis? *The Journal of Neuroscience*, 29(34), 10588–10599. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2323-09.2009>

Davidson, A., & Diamond, B. (2001). Autoimmune Diseases. *New England Journal of Medicine*, 345(5), 340–350. <https://doi.org/10.1056/NEJM200108023450506>

de Bock, F., Dornand, J., & Rondouin, G. (1996). Release of TNF alpha in the rat hippocampus following epileptic seizures and excitotoxic neuronal damage. *Neuroreport*, 7(6), 1125–1129. <https://doi.org/10.1097/00001756-199604260-00004>

de la Court, A., Breteler, M. M., Meinardi, H., Hauser, W. A., & Hofman, A. (1996). Prevalence of epilepsy in the elderly: The Rotterdam Study. *Epilepsia*, 37(2), 141–147. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1996.tb00005.x>

de Nys, R., van Eyk, C. L., Ritchie, T., Møller, R. S., Scheffer, I. E., Marini, C., Bhattacharjee, R., Kumar, R., & Gecz, J. (2024). Multiomic analysis implicates nuclear hormone receptor signalling in clustering epilepsy. *Translational Psychiatry*, 14(1), 65. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-02783-5>

De Simoni, MG & Imeri, L. (1998). Cytokine-neurotransmitter interactions in the brain. *Biological Signals*, 7(1), 33–44.

Dik, A., Widman, G., Schulte-Mecklenbeck, A., Witt, J.-A., Pitsch, J., Golombeck, K. S., Wagner, J., Gallus, M., Strippel, C., Hansen, N., Mönig, C., Räuber, S., Wiendl, H., Elger, C. E., Surges, R., Meuth, S. G., Helmstaedter, C., Gross, C. C., Becker, A. J., & Melzer, N. (2021). Impact of T cells on neurodegeneration in anti-GAD65 limbic encephalitis. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 8(12), 2289–2301. <https://doi.org/10.1002/acn3.51486>

DiSabato, D. J., Quan, N., & Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: The devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*, 139(S2), 136–153. <https://doi.org/10.1111/jnc.13607>

Dobesberger, J., Ristić, A. J., Walser, G., Kuchukhidze, G., Unterberger, I., Höfler, J., Amann, E., & Trinka, E. (2015). Duration of focal complex, secondarily generalized tonic-clonic, and primarily generalized tonic-clonic seizures—A video-EEG analysis. *Epilepsy & Behavior: E&B*, 49, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.03.023>

Dunn, J. F., & Isaacs, A. M. (2021). The impact of hypoxia on blood-brain, blood-CSF, and CSF-brain barriers. *Journal of Applied Physiology*, 131(3), 977–985. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00108.2020>

El-Reshaid, K., Al-Bader, S., & Madaa, J. (2023). The Beneficial Effect of Three-month Induction Therapy with High-dose Prednisone and Mycophenolate Mofetil Followed by Maintenance Therapy in Acute Non-crescentic Nephritis Associated with Immunoglobulin A Deposition Disease in Adults. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 34(2), 161. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.391895>

Engelhardt, B. (2008). Immune cell entry into the central nervous system: Involvement of adhesion molecules and chemokines. *Journal of the Neurological Sciences*, 274(1–2), 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.05.019>

Fabene, P. F., Mora, G. N., Martinello, M., Rossi, B., Merigo, F., Ottoboni, L., Bach, S., Angiari, S., Benati, D., Chakir, A., Zanetti, L., Schio, F., Osculati, A., Marzola, P., Nicolato, E., Homeister, J. W., Xia, L., Lowe, J. B., McEver, R. P., ... Constantin, G. (2008). A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nature medicine*, 14(12), 1377–1383. <https://doi.org/10.1038/nm.1878>

Feyissa, A. M., & Tatum, W.O. (2019). Chapter 7—Adult EEG. In K. H. Levin & P. Chauvel (Hrsg.), *Handbook of Clinical Neurology* (Bd. 160, S. 103–124). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00007-2>

Fisher, R. S., Boas, W. van E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel Jr., J. (2005). Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470–472. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>

Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., Schulze-Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Yacubian, E. M., & Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 58(4), 531–542. <https://doi.org/10.1111/epi.13671>

- Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., & Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, *58*(4), 522–530. <https://doi.org/10.1111/epi.13670>
- French, J. A., Cole, A. J., Faught, E., Theodore, W. H., Vezzani, A., Liow, K., Halford, J. J., Armstrong, R., Szaflarski, J. P., Hubbard, S., Patel, J., Chen, K., Feng, W., Rizzo, M., Elkins, J., Knafler, G., Parkerson, K. A., & OPUS Study Group. (2021). Safety and Efficacy of Natalizumab as Adjunctive Therapy for People with Drug-Resistant Epilepsy: A Phase 2 Study. *Neurology*, *97*(18), e1757–e1767. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000012766>
- Friedlander, R. M., Gagliardini, V., Rotello, R. J., & Yuan, J. (1996). Functional role of interleukin 1 beta (IL-1 beta) in IL-1 beta-converting enzyme-mediated apoptosis. *The Journal of Experimental Medicine*, *184*(2), 717–724. <https://doi.org/10.1084/jem.184.2.717>
- Friedman, A. (2011). Blood–brain barrier dysfunction, status epilepticus, seizures, and epilepsy: A puzzle of a chicken and egg? *Epilepsia*, *52*(s8), 19–20. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03227.x>
- Friedman, A., Kaufer, D., & Heinemann, U. (2009). Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: Novel targets for the prevention of epilepsy. *Epilepsy Research*, *85*(2–3), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2009.03.005>
- Gahring, L., Carlson, N. G., Meyer, E. L., & Rogers, S. W. (2001). Granzyme B proteolysis of a neuronal glutamate receptor generates an autoantigen and is modulated by glycosylation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, *166*(3), 1433–1438. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.3.1433>
- Gaitatzis, A., Trimble, M. R., & Sander, J. W. (2004). The psychiatric comorbidity of epilepsy. *Acta Neurologica Scandinavica*, *110*(4), 207–220. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2004.00324.x>
- Galea, I., Bechmann, I., & Perry, V. H. (2007). What is immune privilege (not)? *Trends in Immunology*, *28*(1), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.it.2006.11.004>
- Ganter, S., Northoff, H., Männel, D., & Gebicke-Härter, P. J. (1992). Growth control of cultured microglia. *Journal of Neuroscience Research*, *33*(2), 218–230. <https://doi.org/10.1002/jnr.490330205>
- Ge, S., Song, L., & Pachter, J. S. (2005). Where is the blood-brain barrier ... Really? *Journal of Neuroscience Research*, *79*(4), 421–427. <https://doi.org/10.1002/jnr.20313>
- Goffin, K., Nissinen, J., Van Laere, K., & Pitkänen, A. (2007). Cyclicality of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. *Experimental Neurology*, *205*(2), 501–505. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.03.008>
- Golombek, K. S., Bönte, K., Mönig, C., Loo, K. M. van, Hartwig, M., Schwindt, W., Widman, G., Lindenau, M., Becker, A. J., Glatzel, M., Elger, C. E., Wiendl, H., Meuth, S. G., Lohmann, H., Gross, C. C., & Melzer, N. (2016). Evidence of a pathogenic role for CD8+ T cells in anti-GABAB receptor limbic encephalitis. *Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation*, *3*(3). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000232>

- Griffin, W. S. T., Shenga, J. G., Gentleman, S. M., Graham, D. I., Mrak, R. E., & Roberts, G. W. (1994). Microglial interleukin-1 $\alpha$  expression in human head injury: Correlations with neuronal and neuritic  $\beta$ -amyloid precursor protein expression. *Neuroscience Letters*, *176*(2), 133–136.
- Griffin, W. S. T., Yeralan, O., Sheng, J. G., Boop, F. A., Mrak, R. E., Rovnaghi, C. R., Burnett, B. A., Feoktistova, A., & Van Eldik, L. J. (1995). Overexpression of the Neurotrophic Cytokine S100 $\beta$  in Human Temporal Lobe Epilepsy. *Journal of neurochemistry*, *65*(1), 228–233.
- Hoffman, S. N., Salin, P. A., & Prince, D. A. (1994). Chronic neocortical epileptogenesis in vitro. *Journal of Neurophysiology*, *71*(5), 1762–1773. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.71.5.1762>
- Hopkins, S. J., & Rothwell, N. J. (1995). Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends in Neurosciences*, *18*(2), 83–88.
- Hoppe, M., Schulz, R., & Ebner, A. (2007). Bedeutung und Wert epilepsietypischer Aktivität im Routine-EEG in Praxis und Klinik. *Das Neurophysiologie-Labor*, *29*(2), 79–93. <https://doi.org/10.1016/j.neulab.2007.07.001>
- Howard, M., & O'Garra, A. (1992). Biological properties of interleukin 10. *Immunology Today*, *13*(6), 198–200. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(92\)90153-X](https://doi.org/10.1016/0167-5699(92)90153-X)
- Hu, J., Castets, F., Guevara, J. L., & Van Eldik, L. J. (1996). S100 beta stimulates inducible nitric oxide synthase activity and mRNA levels in rat cortical astrocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, *271*(5), 2543–2547. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.5.2543>
- Hui, A. C. F., Kwan, P., Leung, T. W., Soo, Y., Mok, V. C. T., & Wong, L. K. S. (2007). Diagnostic value and safety of long-term video-EEG monitoring. *Hong Kong Medical Journal = Xianggang Yi Xue Za Zhi*, *13*(3), 228–230.
- Huseby, E. S., Liggitt, D., Brabb, T., Schnabel, B., Ohlén, C., & Goverman, J. (2001). A pathogenic role for myelin-specific CD8(+) T cells in a model for multiple sclerosis. *The Journal of Experimental Medicine*, *194*(5), 669–676. <https://doi.org/10.1084/jem.194.5.669>
- Jenssen, S., Gracely, E. J., & Sperling, M. R. (2006). How long do most seizures last? A systematic comparison of seizures recorded in the epilepsy monitoring unit. *Epilepsia*, *47*(9), 1499–1503. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00622.x>
- Jiang, C. L., & Lu, C. L. (1998). Interleukin-2 and its effects in the central nervous system. *Biological Signals and Receptors*, *7*(3), 148–156. <https://doi.org/10.1159/000014541>
- Johnson, H. L., Willenbring, R. C., Jin, F., Manhart, W. A., LaFrance, S. J., Pirko, I., & Johnson, A. J. (2014). Perforin Competent CD8 T Cells Are Sufficient to Cause Immune-Mediated Blood-Brain Barrier Disruption. *PLoS ONE*, *9*(10), e111401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111401>
- Jonakait, G. M. (1997). Cytokines in neuronal development. *Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.)*, *37*, 35–67. [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(08\)60947-3](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(08)60947-3)
- Kahan, B. D. (2008). Chapter 18—Mycophenolate Mofetil. In P. J. Morris & S. J. Knechtle (Hrsg.), *Kidney Transplantation (Sixth Edition)* (S. 277–292). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3343-1.50022-0>
- Kassiotis, G., & Kollias, G. (2001). Uncoupling the Proinflammatory from the Immunosuppressive Properties of Tumor Necrosis Factor (Tnf) at the P55 TNF Receptor Level. *The Journal of Experimental Medicine*, *193*(4), 427–434.

- Kenney-Jung, D. L., Vezzani, A., Kahoud, R. J., LaFrance-Corey, R. G., Ho, M.-L., Muskardin, T. W., Wirrell, E. C., Howe, C. L., & Payne, E. T. (2016). Febrile infection-related epilepsy syndrome treated with anakinra. *Annals of Neurology*, 80(6), 939–945. <https://doi.org/10.1002/ana.24806>
- Kingsley, D. M. (1994). The TGF-beta superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes & Development*, 8(2), 133–146. <https://doi.org/10.1101/gad.8.2.133>
- Kirschstein, T., & Köhling, R. (2023). Functional changes in neuronal circuits due to antibody-driven autoimmune response. *Neurobiology of Disease*, 184, 106221. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106221>
- Kizilkilic, E. K., Unkun, R., Uygunoglu, U., Delil, S., & Ozkara, C. (2022). Treatment of COVID-19-induced refractory status epilepticus by tocilizumab. *European Journal of Neurology*, 29(9), 2861–2863. <https://doi.org/10.1111/ene.15440>
- Korn, T., & Kallies, A. (2017). T cell responses in the central nervous system. *Nature Reviews Immunology*, 17(3), 179–194. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.144>
- Krämer, Günter; Rüegg, Stephan. (2021). *Schweizerische Epilepsie-Liga*. <https://www.epi.ch/ueber-epilepsie/einstieg/anfallsformen/> (abgerufen am 15. Januar 2024).
- Krebs, C. F., Reimers, D., Zhao, Y., Paust, H.-J., Bartsch, P., Nuñez, S., Roseblatt, M. V., Hellmig, M., Kilian, C., Borchers, A., Enk, L. U. B., Zinke, M., Becker, M., Schmid, J., Klinge, S., Wong, M. N., Puelles, V. G., Schmidt, C., Bertram, T., ... Mittrücker, H.-W. (2020). Pathogen-induced tissue-resident memory TH17 (TRM17) cells amplify autoimmune kidney disease. *Science Immunology*, 5(50), eaba4163. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aba4163>
- Lagarde, S., Boucraut, J., & Bartolomei, F. (2022). Medical treatment of Rasmussen's Encephalitis: A systematic review. *Revue Neurologique*, 178(7), 675–691. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2022.01.007>
- Lalani, I., Bhol, K., & Ahmed, A. R. (1997). Interleukin-10: Biology, role in inflammation and autoimmunity. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 79(6), 469–483. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63052-9](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63052-9)
- Lanzavecchia, A. (1995). How can cryptic epitopes trigger autoimmunity? *The Journal of Experimental Medicine*, 181(6), 1945–1948. <https://doi.org/10.1084/jem.181.6.1945>
- Letterio, J. J., & Roberts, A. B. (1997). TGF-beta: A critical modulator of immune cell function. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 84(3), 244–250. <https://doi.org/10.1006/clin.1997.4409>
- Li, G., Bauer, S., Nowak, M., Norwood, B., Tackenberg, B., Rosenow, F., Knake, S., Oertel, W. H., & Hamer, H. M. (2011). Cytokines and epilepsy. *Seizure*, 20(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.12.005>
- Liba, Z., Muthaffar, O., Tang, J., Minassian, B., Halliday, W., Branson, H., & Ann Yeh, E. (2015). Rasmussen encephalitis: Response to early immunotherapy in a case of immune-mediated encephalitis. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 2(2), e69. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000069>
- Liblau, R. S., Gonzalez-Dunia, D., Wiendl, H., & Zipp, F. (2013). Neurons as targets for T cells in the nervous system. *Trends in Neurosciences*, 36(6), 315–324. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.01.008>

Lieberman, A. P., Pitha, P. M., Shin, H. S., & Shin, M. L. (1989). Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neurotropic virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *86*(16), 6348–6352.

Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, Harris TH, Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015 Jul 16;523(7560):337-41. doi: 10.1038/nature14432. Epub 2015 Jun 1. Erratum in: *Nature*. 2016 Feb 24;533(7602):278. doi: 10.1038/nature16999. PMID: 26030524; PMCID: PMC4506234.

Lu, J.-Q., Steve, T. A., Wheatley, M., & Gross, D. W. (2017). Immune Cell Infiltrates in Hippocampal Sclerosis: Correlation With Neuronal Loss. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *76*(3), 206–215. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlx001>

Male, D., Rahman, J., Pryce, G., Tamatani, T., & Miyasaka, M. (1994). Lymphocyte migration into the CNS modelled in vitro: Roles of LFA-1, ICAM-1 and VLA-4. *Immunology*, *81*(3), 366–372.

Mantegazza, R., Bernasconi, P., Baggi, F., Spreafico, R., Ragona, F., Antozzi, C., Bernardi, G., & Granata, T. (2002). Antibodies against GluR3 peptides are not specific for Rasmussen's encephalitis but are also present in epilepsy patients with severe, early onset disease and intractable seizures. *Journal of Neuroimmunology*, *131*(1–2), 179–185. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(02\)00261-8](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(02)00261-8)

Marchi, N., Fan, Q., Ghosh, C., Fazio, V., Bertolini, F., Betto, G., Batra, A., Carlton, E., Najm, I., Granata, T., & Janigro, D. (2009). Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiology of disease*, *33*(2), 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.002>

Marchi, N., Granata, T., Ghosh, C., & Janigro, D. (2012). Blood-brain barrier dysfunction and epilepsy: Pathophysiologic role and therapeutic approaches. *Epilepsia*, *53*(11), 1877–1886. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03637.x>

Margerison, J. H., & Corsellis, J. A. (1966). Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain: A Journal of Neurology*, *89*(3), 499–530. <https://doi.org/10.1093/brain/89.3.499>

Marshak, D. R., Pesce, S. A., Stanley, L. C., & Griffin, W. S. (1992). Increased S100 beta neurotrophic activity in Alzheimer's disease temporal lobe. *Neurobiology of Aging*, *13*(1), 1–7. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(92\)90002-f](https://doi.org/10.1016/0197-4580(92)90002-f)

McCartney-Francis, N. L., Frazier-Jessen, M., & Wahl, S. M. (1998). TGF-beta: A balancing act. *International Reviews of Immunology*, *16*(5–6), 553–580. <https://doi.org/10.3109/08830189809043009>

Moalem, G., Gdalyahu, A., Shani, Y., Otten, U., Lazarovici, P., Cohen, I. R., & Schwartz, M. (2000). Production of Neurotrophins by Activated T Cells: Implications for Neuroprotective Autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, *15*(3), 331–345. <https://doi.org/10.1006/jaut.2000.0441>

Muchamuel, T., Menon, S., Pisacane, P., Howard, M. C., & Cockayne, D. A. (1997). IL-13 protects mice from lipopolysaccharide-induced lethal endotoxemia: Correlation with down-modulation of TNF-alpha, IFN-gamma, and IL-12 production. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, *158*(6), 2898–2903.

- Müller, U. C., Deller, T., & Korte, M. (2017). Not just amyloid: Physiological functions of the amyloid precursor protein family. *Nature Reviews. Neuroscience*, *18*(5), 281–298. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.29>
- Murphy, K., & Weaver, C. (2018). Die T-Zell-vermittelte Immunität. *Janeway Immunologie*, 443–515. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-56004-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-662-56004-4_9)
- Nadal, A., Fuentes, E., Pastor, J., & McNaughton, P. A. (1995). Plasma albumin is a potent trigger of calcium signals and DNA synthesis in astrocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(5), 1426–1430.
- Nemni, R., Iannaccone, S., Quattrini, A., Smirne, S., Sessa, M., Lodi, M., Erminio, C., & Canal, N. (1992). Effect of chronic treatment with recombinant interleukin-2 on the central nervous system of adult and old mice. *Brain Research*, *591*(2), 248–252. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91704-i](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91704-i)
- Neuberger, M., Sommerer, C., Böhnisch, S., Metzendorf, N., Mehrabi, A., Stremmel, W., Gotthardt, D., Zeier, M., Weiss, K. H., & Rupp, C. (2020). Effect of mycophenolic acid on inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) activity in liver transplant patients. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, *44*(4), 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2019.12.001>
- Neumann, A.-M., Abele, J., Kirschstein, T., Engelmann, R., Sellmann, T., Köhling, R., & Müller-Hilke, B. (2017). Mycophenolate mofetil prevents the delayed T cell response after pilocarpine-induced status epilepticus in mice. *PloS One*, *12*(11), e0187330. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187330>
- Neumann, H., Medana, I. M., Bauer, J., & Lassmann, H. (2002). Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends in Neurosciences*, *25*(6), 313–319. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02154-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02154-9)
- Niquet, J., Ben-Ari, Y., & Represa, A. (1994). Glial reaction after seizure induced hippocampal lesion: Immunohistochemical characterization of proliferating glial cells. *Journal of Neurocytology*, *23*(10), 641–656. <https://doi.org/10.1007/BF01191558>
- Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, *117*(4), 1162–1172. <https://doi.org/10.1378/chest.117.4.1162>
- Orsini, A., Costagliola, G., Perna, D., Esposito, M. G., Bonfiglio, L., Striano, P., Peroni, D., Consolini, R., & Bonuccelli, A. (2020). Efficacy and tolerability of mycophenolate mofetil in a pediatric Rasmussen syndrome. *Epilepsy & Behavior Reports*, *13*, 100334. <https://doi.org/10.1016/j.ebr.2019.100334>
- Panarese, V., & Moshirfar, M. (2023). Pilocarpine. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556128/>
- Peppiatt-Wildman, C., Howarth, C., Mobbs, P., & Attwell, D. (2006). Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, *443*, 700–704. <https://doi.org/10.1038/nature05193>
- Perry, V. H., Anthony, D. C., Bolton, S. J., & Brown, H. C. (1997). The blood-brain barrier and the inflammatory response. *Molecular Medicine Today*, *3*(8), 335–341. [https://doi.org/10.1016/S1357-4310\(97\)01077-0](https://doi.org/10.1016/S1357-4310(97)01077-0)

- Prud'homme, G. J., & Piccirillo, C. A. (2000). The inhibitory effects of transforming growth factor-beta-1 (TGF-beta1) in autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*, *14*(1), 23–42. <https://doi.org/10.1006/jaut.1999.0339>
- Raine, C. S. (2000). Inflammation in Alzheimer's disease: A view from the periphery. *Neurobiology of Aging*, *21*(3), 437–440; discussion 451–453. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(00\)00138-x](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(00)00138-x)
- Ravizza, T., Gagliardi, B., Noé, F., Boer, K., Aronica, E., & Vezzani, A. (2008). Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: Evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease*, *29*(1), 142–160. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.08.012>
- Reboldi, A., Coisne, C., Baumjohann, D., Benvenuto, F., Bottinelli, D., Lira, S., Uccelli, A., Lanzavecchia, A., Engelhardt, B., & Sallusto, F. (2009). C-C chemokine receptor 6–regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nature Immunology*, *10*(5), 514–523. <https://doi.org/10.1038/ni.1716>
- Rogers, S. W., Andrews, P. I., Gahring, L. C., Whisenand, T., Cauley, K., Crain, B., Hughes, T. E., Heinemann, S. F., & McNamara, J. O. (1994). Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science (New York, N.Y.)*, *265*(5172), 648–651. <https://doi.org/10.1126/science.8036512>
- Rosenow, F., Klein, K. M., & Hamer, H. M. (2015). Non-invasive EEG evaluation in epilepsy diagnosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *15*(4), 425–444. <https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1025382>
- Rothwell, N. J. (1999). Cytokines – killers in the brain? *The Journal of Physiology*, *514*(Pt 1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.003af.x>
- Ruzek, M. C., Miller, A. H., Opal, S. M., Pearce, B. D., & Biron, C. A. (1997). Characterization of Early Cytokine Responses and an Interleukin (IL)-6–dependent Pathway of Endogenous Glucocorticoid Induction during Murine Cytomegalovirus Infection. *The Journal of Experimental Medicine*, *185*(7), 1185–1192.
- Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol.* (2003 Apr;16) (2):165-70. doi: 10.1097/01.wco.0000063766.15877.8e. PMID: 12644744.
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y.-H., & Zuberi, S. M. (2018). ILAE-Klassifikation der Epilepsien: Positionspapier der ILAE-Kommission für Klassifikation und Terminologie. *Zeitschrift für Epileptologie*, *31*(4), 296–306. <https://doi.org/10.1007/s10309-018-0218-6>
- Schneider-Hohendorf, T., Mohan, H., Bien, C. G., Breuer, J., Becker, A., Görlich, D., Kuhlmann, T., Widman, G., Herich, S., Elpers, C., Melzer, N., Dornmair, K., Kurlemann, G., Wiendl, H., & Schwab, N. (2016). CD8+ T-cell pathogenicity in Rasmussen encephalitis elucidated by large-scale T-cell receptor sequencing. *Nature Communications*, *7*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/ncomms11153>
- Schulze, F., Müller, S., Guli, X., Schumann, L., Brehme, H., Riffert, T., Rohde, M., Goerss, D., Rackow, S., Einsle, A., Kirschstein, T., & Köhling, R. (2020). CK2 Inhibition Prior to Status Epilepticus Persistently Enhances KCa2 Function in CA1 Which Slows Down Disease Progression. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *14*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2020.00033>

- Schwab, N., Bien, C. G., Waschbisch, A., Becker, A., Vince, G. H., Dornmair, K., & Wiendl, H. (2009). CD8+ T-cell clones dominate brain infiltrates in Rasmussen encephalitis and persist in the periphery. *Brain*, *132*(5), 1236–1246. <https://doi.org/10.1093/brain/awp003>
- Seiffert, E., Dreier, J. P., Ivens, S., Bechmann, I., Tomkins, O., Heinemann, U., & Friedman, A. (2004). Lasting blood-brain barrier disruption induces epileptic focus in the rat somatosensory cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *24*(36), 7829–7836. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1751-04.2004>
- Sercarz, E. E., Lehmann, P. V., Ametani, A., Benichou, G., Miller, A., & Moudgil, K. (1993). Dominance and crypticity of T cell antigenic determinants. *Annual Review of Immunology*, *11*, 729–766. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.11.040193.003501>
- Sheng, J. G., Boop, F. A., Mrak, R. E., & Griffin, W. S. (1994). Increased neuronal beta-amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: Association with interleukin-1 alpha immunoreactivity. *Journal of Neurochemistry*, *63*(5), 1872–1879. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.63051872.x>
- Sheng, J. G., Mrak, R. E., & Griffin, W. S. (1998). Enlarged and phagocytic, but not primed, interleukin-1 alpha-immunoreactive microglia increase with age in normal human brain. *Acta Neuropathologica*, *95*(3), 229–234. <https://doi.org/10.1007/s004010050792>
- Shibley, H., & Smith, B. N. (2002). Pilocarpine-induced status epilepticus results in mossy fiber sprouting and spontaneous seizures in C57BL/6 and CD-1 mice. *Epilepsy Research*, *49*(2), 109–120. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(02\)00012-8](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(02)00012-8)
- Silverberg, J., Ginsburg, D., Orman, R., Amassian, V., Durkin, H. G., & Stewart, M. (2010). Lymphocyte infiltration of neocortex and hippocampus after a single brief seizure in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, *24*(2), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.10.006>
- Sinha, S. R., Sullivan, L., Sabau, D., San-Juan, D., Dombrowski, K. E., Halford, J. J., Hani, A. J., Drislane, F. W., & Stecker, M. M. (2016). American Clinical Neurophysiology Society Guideline 1: Minimum Technical Requirements for Performing Clinical Electroencephalography. *Journal of Clinical Neurophysiology*, *33*(4), 303. <https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000308>
- Statz, C. E., & Tett, S. E. (2014). Pharmacology and toxicology of mycophenolate in organ transplant recipients: An update. *Archives of Toxicology*, *88*(7), 1351–1389. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1247-1>
- Stöhr, M., & Kraus, R. (2002). Klinische Elektroenzephalographie (EEG). In M. Stöhr & R. Kraus (Hrsg.), *Einführung in die klinische Neurophysiologie: EMG — EEG — Evozierte Potenziale* (S. 47–131). Steinkopff. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-57543-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-57543-3_2)
- Svenningsson, A., Hansson, G. K., Andersen, O., Andersson, R., Patarroyo, M., & Stemme, S. (1993). Adhesion molecule expression on cerebrospinal fluid T lymphocytes: Evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls. *Annals of Neurology*, *34*(2), 155–161. <https://doi.org/10.1002/ana.410340210>
- Takao, T., Tracey, D. E., Mitchell, W. M., & De Souza, E. B. (1990). Interleukin-1 receptors in mouse brain: Characterization and neuronal localization. *Endocrinology*, *127*(6), 3070–3078. <https://doi.org/10.1210/endo-127-6-3070>
- Tatum, W.O., (2013). Normal “suspicious” EEG. *Neurology*, *80*(1\_supplement\_1), S4–S11. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31827974df>

- Tatum, W.O., Husain, A. M., Benbadis, S. R., & Kaplan, P. W. (2006). Normal Adult EEG and Patterns of Uncertain Significance. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 23(3), 194. <https://doi.org/10.1097/01.wnp.0000220110.92126.a6>
- Téllez-Zenteno, J. F., & Hernández-Ronquillo, L. (2012). A review of the epidemiology of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment*, 2012, 630853. <https://doi.org/10.1155/2012/630853>
- Tepper, R. I., Coffman, R. L., & Leder, P. (1992). An eosinophil-dependent mechanism for the antitumor effect of interleukin-4. *Science (New York, N.Y.)*, 257(5069), 548–551. <https://doi.org/10.1126/science.1636093>
- Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J., & Sander, J. W. (2019). Epilepsy in adults. *Lancet (London, England)*, 393(10172), 689–701. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32596-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32596-0)
- Turski, W. A., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Czuczwar, S. J., Kleinrok, Z., & Turski, L. (1983). Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: Behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behavioural Brain Research*, 9(3), 315–335. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(83\)90136-5](https://doi.org/10.1016/0166-4328(83)90136-5)
- Van Laar, J. M. (2017). Chapter 62—Immunosuppressive Drugs. In G. S. Firestein, R. C. Budd, S. E. Gabriel, I. B. McInnes, & J. R. O'Dell (Hrsg.), *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology (Tenth Edition)* (S. 983-998.e4). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-31696-5.00062-0>
- van Vliet, E. A., da Costa Araújo, S., Redeker, S., van Schaik, R., Aronica, E., & Gorter, J. A. (2007). Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain: A Journal of Neurology*, 130(Pt 2), 521–534. <https://doi.org/10.1093/brain/awl318>
- Vanderlugt, C. L., Neville, K. L., Nikceвич, K. M., Eagar, T. N., Bluestone, J. A., & Miller, S. D. (2000). Pathologic role and temporal appearance of newly emerging autoepitopes in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 164(2), 670–678. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.2.670>
- Vezzani, A., Aronica, E., Mazarati, A., & Pittman, Q. J. (2013). Epilepsy and brain inflammation. *Experimental Neurology*, 244, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.09.033>
- Vezzani, A., & Baram, T. Z. (2007). New Roles for Interleukin-1 Beta in the Mechanisms of Epilepsy. *Epilepsy Currents*, 7(2), 45–50. <https://doi.org/10.1111/j.1535-7511.2007.00165.x>
- Vezzani, A., Bartfai, T., Bianchi, M., Rossetti, C., & French, J. (2011). Therapeutic potential of new antiinflammatory drugs. *Epilepsia*, 52(s8), 67–69. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03242.x>
- Vezzani, A., Di Sapia, R., Kebede, V., Balosso, S., & Ravizza, T. (2023). Neuroimmunology of status epilepticus. *Epilepsy & Behavior*, 140, 109095. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109095>
- Vezzani, A., French, J., Bartfai, T., & Baram, T. Z. (2011). The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 7(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.178>
- Vezzani, A., & Granata, T. (2005). Brain Inflammation in Epilepsy: Experimental and Clinical Evidence. *Epilepsia*, 46(11), 1724–1743. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00298.x>

- Vezzani, A., Moneta, D., Conti, M., Richichi, C., Ravizza, T., De Luigi, A., De Simoni, M. G., Sperk, G., Andell-Jonsson, S., Lundkvist, J., Iverfeldt, K., & Bartfai, T. (2000). Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(21), 11534–11539.
- Vezzani, A., & Rüegg, S. (2017). Introduction to the 2nd Meeting on Immunity and Inflammation in Epilepsy (IIE2016). *Epilepsia*, 58(S3), 7–10. <https://doi.org/10.1111/epi.13780>
- Villarroel, M. C., Hidalgo, M., & Jimeno, A. (2009). Mycophenolate mofetil: An update. *Drugs of Today (Barcelona, Spain: 1998)*, 45(7), 521–532. <https://doi.org/10.1358/dot.2009.45.7.1384878>
- Wakim, L. M., Woodward-Davis, A., & Bevan, M. J. (2010). Memory T cells persisting within the brain after local infection show functional adaptations to their tissue of residence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(42), 17872–17879. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010201107>
- Waltl, I., Käufer, C., Gerhauser, I., Chhatbar, C., Ghita, L., Kalinke, U., & Löscher, W. (2018). Microglia have a protective role in viral encephalitis-induced seizure development and hippocampal damage. *Brain, Behavior, and Immunity*, 74, 186–204. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.09.006>
- Westendorp, R. G., Langermans, J. A., Huizinga, T. W., Elouali, A. H., Verweij, C. L., Boomsma, D. I., & Vandenbroucke, J. P. (1997). Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet (London, England)*, 349(9046), 170–173. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)06413-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)06413-6)
- Westmoreland, B. F. (1996). Epileptiform electroencephalographic patterns. *Mayo Clinic Proceedings*, 71(5), 501–511. <https://doi.org/10.4065/71.5.501>
- Wieser, HG., ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia*. 2004 Jun;45(6):695-714. doi: 10.1111/j.0013-9580.2004.09004.x. PMID: 15144438.
- Williams, K. A., Hart, D. N. J., Fabre, J. W., & Morris, P. J. (1980). DISTRIBUTION AND QUANTITATION OF HLA-ABC AND DR (Ia) ANTIGENS ON HUMAN KIDNEY AND OTHER TISSUES: *Transplantation*, 29(4), 274–279. <https://doi.org/10.1097/00007890-198004000-00002>
- Wilson, S. B., Kent, S. C., Patton, K. T., Orban, T., Jackson, R. A., Exley, M., Porcelli, S., Schatz, D. A., Atkinson, M. A., Balk, S. P., Strominger, J. L., & Hafler, D. A. (1998). Extreme Th1 bias of invariant Valpha24JalphaQ T cells in type 1 diabetes. *Nature*, 391(6663), 177–181. <https://doi.org/10.1038/34419>
- Xing, Z., Gauldie, J., Cox, G., Baumann, H., Jordana, M., Lei, X. F., & Achong, M. K. (1998). IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *The Journal of Clinical Investigation*, 101(2), 311–320. <https://doi.org/10.1172/JCI1368>
- Yamanaka, G., Ishida, Y., Kanou, K., Suzuki, S., Watanabe, Y., Takamatsu, T., Morichi, S., Go, S., Oana, S., Yamazaki, T., & Kawashima, H. (2021). Towards a Treatment for Neuroinflammation in Epilepsy: Interleukin-1 Receptor Antagonist, Anakinra, as a Potential Treatment in Intractable Epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6282. <https://doi.org/10.3390/ijms22126282>

Zamvil, S. S., & Steinman, L. (1990). The T Lymphocyte in Experimental Allergic Encephalomyelitis. *Annual Review of Immunology*, 8(1), 579–621. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.08.040190.003051>

Zattoni, M., Mura, M. L., Deprez, F., Schwendener, R. A., Engelhardt, B., Frei, K., & Fritschy, J.-M. (2011). Brain Infiltration of Leukocytes Contributes to the Pathophysiology of Temporal Lobe Epilepsy. *Journal of Neuroscience*, 31(11), 4037–4050. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6210-10.2011>

Zhang, Y., & Bhavnani, B. R. (2006). Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. *BMC Neuroscience*, 7, 49. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-49>

Zimmermann, C. (1996). Visualization, characterization, and turnover of CD8+ memory T cells in virus-infected hosts. *The Journal of Experimental Medicine*, 183(4), 1367–1375.

Zumsteg, D., & Wieser, H. G. (2000). Presurgical Evaluation: Current Role of Invasive EEG. *Epilepsia*, 41(s3), S55–S60. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.2000.tb01535.x>

## **Eigenständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Alle sinngemäß und wörtlich übernommenen Textstellen aus fremden Quellen wurden kenntlich gemacht.

Düsseldorf im Juli 2025

Franziska Frenck

## Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Rüdiger Köhling, Leiter des Instituts für Physiologie der Universität Rostock, für die Möglichkeit, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Herrn Prof. Dr. Timo Kirschstein danke ich aufrichtig für die spannende Themenstellung und die hervorragende Betreuung. Seine Geduld und kontinuierliche Unterstützung bei allen sich ergebenden Problemen, kombiniert mit wertvollen Ratschlägen und einem konstruktiven wissenschaftlichen Austausch, haben mich stets auf dem richtigen Kurs gehalten.

Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Physiologie in Rostock bedanke ich mich für die Hilfsbereitschaft und Beantwortung zahlreicher Fragen. Insbesondere danke ich Frau Dipl. Chem. Katrin Porath.

Ebenso danke ich Frau Dr. Sophia Annas für das Korrekturlesen und ihre wertvolle Kritik, sowie Herrn Dr. Fabio Sarais für seine Unterstützung bei den statistischen Auswertungen.

Mein tief empfundener Dank gilt meiner Familie. Besonders danke ich meinen Eltern, Oma Anni und meiner Schwester Kathi für ihre Unterstützung während meines gesamten Studiums und der Arbeit an dieser Dissertation. Ihr habt mir immer den Rücken gestärkt, selbst wenn die Herausforderungen groß waren. Danke, dass ihr mir nicht nur die notwendigen Mittel, sondern auch den Mut gegeben habt, meine Ziele zu verfolgen.

Von ganzem Herzen möchte ich all meinen Freundinnen und Freunden danken. Eure Freundschaft und unermüdliche Unterstützung haben es mir ermöglicht, die Hürden des Studiums und der Doktorarbeit so erfolgreich zu meistern.

Ein besonderer Dank gilt meiner Freundin Michi. Sie hat nicht nur ihr Zuhause mit mir geteilt, sondern mich stets in jeder Hinsicht ermutigt. Unsere Ausflüge, die gemeinsamen Kochabende und Yogastunden haben mir immer wieder die nötige Kraft zum Weitermachen gegeben.

Zuletzt, doch eigentlich an erster Stelle, möchte ich meinem Partner Jonathan danken. Deine Bereitschaft, mich in den verschiedenen Phasen dieser Arbeit zu unterstützen und dein Verständnis für die Herausforderungen, die mit der Dissertation verbunden sind, haben maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen. Danke für deine Liebe, deine Zuversicht sowie all die kleinen und großen Dinge, die du für mich getan hast.