

**Pathologische Veränderungen in der Balance zwischen Inhibition und
Exzitation im Hippocampus chronisch epileptischer Ratten.**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

d o c t o r r e r u m n a t u r a l i u m

(Dr. rer. nat.)

Eingereicht

im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie

an der

Der Freien Universität Berlin

von

Dipl.-Biologe Frank Stief

Geboren am 05.03.1968 in Stuttgart Bad Cannstatt

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. R. Menzel
 2. Prof. Dr. A. Draguhn

Tag der Einreichung:

Disputationstermin: 03.05.2006

1. Einleitung	1
1.1. Der Hippocampus	2
1.2. Das Pilocarpin-Modell der Epilepsie	4
1.3. GABAerge Inhibition	6
1.4. Zielsetzung	7
2. Material und Methoden	9
2.1. "Patch-clamp"-Technik	9
2.2. Induktion des Status epilepticus	11
2.3. Versuchstiere und Präparation	12
2.4. Versuchsausrüstung	13
2.4.1. Datenverarbeitung	14
2.5. Nissl-Färbung	14
2.6. Dreidimensionale Rekonstruktion der elektrophysiologisch charakterisierten Neurone	16
2.7. Messung der Effektivität der GAT-1 vermittelten GABA-Transportfunktion	16
2.7.1. Messung der tonischen GABAergen Hemmung	16
2.7.2. Messung der phasischen GABAergen Hemmung	18
2.8. Charakterisierung von hippocampalen CA1-Interneuronen	19
2.8.1. Untersuchung zum Verhältnis zwischen Inhibition und Exzitation in SRL-Interneuronen	20
2.8.2. Erstellung eines Auswerteprogramms	22
2.8.3. Morphologische Untersuchungen an SRL-Interneuronen mittels Sholl-Analyse	23
2.9. Chemikalien / Pharmaka	25
3. Ergebnisse	26
3.1. Kontrolle der Pilocarpin-Behandlung	26
3.2. Tonische GABAerge Inhibition im epileptischen Gewebe	28
3.3. Phasische GABAerge Inhibition im epileptischen Gewebe	32
3.4. Inhibitorische Innervation von SRL-Interneuronen Pilocarpin behandelte Ratten in der CA1-Region des Hippocampus	34
3.4.1. Aktionspotential-Frequenz.	35
3.4.2. Eingangs-, Serienwiderstand und Rauschanalyse	36
3.4.3. Frequenz der postsynaptischen Potentiale	37
3.4.3.1. Verhältnis zwischen mIPSP / mEPSP-Frequenz	38

3.4.3.2. Kumulative Betrachtung der Frequenz	39
3.4.4. Amplituden der postsynaptischen Potentiale	40
3.4.4.1. Kumulative Betrachtung der Amplituden	41
3.4.5. Kinetische Eigenschaften der postsynaptischen Stromkomponenten	42
3.4.6. Morphologische Charakterisierung der SRL-Interneurone	44
3.4.7. Korrelation der elektrophysiologischen Daten mit den morphologischen Daten	50
4. Diskussion	53
4.1. Pathologie der GABA-Transportproteine	53
4.1.1. Tonische GABAerge Inhibition	56
4.1.1.1. Wirkung von Tiagabin auf die extrasynaptische Hemmung	58
4.1.1.2. Unspezifische Tiagabin-Wirkung auf die tonische und phasische Komponente der GABAergen Inhibition	59
4.1.1.3. Maskierung pathologischer Veränderungen im GABA-Transport durch kompensatorische Effekte	61
4.1.2. Effizienz der Kontrolle der phasischen GABAergen Inhibition	62
4.1.2.1. Beurteilung der sIPSP-Kinetik	63
4.1.3. Vergleich mit anderen Untersuchungen	65
4.1.4. GABA-Transport Funktion und heterosynaptische Transmission	67
4.1.5. Umkehr der GAT vermittelten GABA-Transportfunktion	68
4.1.6. Pro- oder antikonvulsive Wirkung der GAT-Inhibition	70
4.2. Persistierende Pathologie in nicht-rekurrenten neuronalen Verbindungen	71
4.2.1. Verminderte inhibitorische Innervation in SRL-Interneuronen im epileptischen Gewebe	73
4.2.2. Prä- oder postsynaptischer Effekt?	74
4.2.3. Präsynaptische Ursachen verminderter inhibitorischer Innervation	75
4.2.4. „Sprouting“-Prozesse in CA1 Stratum radiatum / Stratum lacunosum moleculare	77
4.2.5. Interneuronen-spezifischer Zelltod im epileptischem Gewebe	81

4.2.6. Hypothese der verminderten Inhibition durch selektives Absterben von Interneuronen	86
4.2.7. Konnektivität der SRL-Interneurone	88
4.2.8. Rekurrente und nicht rekurrente Verbindungen zwischen Interneuronen und Pyramidenzellen	93
4.2.9. Alternativen zur Balance-Hypothese	95
4.3. Pathophysiologische Ursachen der Epilepsie	98
5. Publikationen	103
6. Zusammenfassung / Summary	104
7. Literaturverzeichnis	108
Erklärung	135
Lebenslauf	136