

Aus dem Institut für Physiologie
Medizinische Fakultät der
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Wirkung von mikroiontophoretisch appliziertem Ethosuximid auf
thalamische und kortikale Neurone in einem Tiermodell der Absence
Epilepsie in vivo**

**Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
Dr. med.
(doctor medicinae)**

an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von: Boris Heinrich Schmidt

aus: Kassel

Magdeburg, 2002

Dokumentationsblatt

Schmidt, Boris Heinrich:

Wirkung von mikroiontophoretisch appliziertem Ethosuximid auf thalamische und kortikale Neurone in einem Tiermodell der Absence Epilepsie in vivo.-2001. 67 Bl.: 19 Abb., 10 Tab.

Kurzreferat:

In Ratten des WAG/Rij-Stammes, einem Tiermodell der Absence Epilepsie, wurden unter Neuroleptanalgesie mikroiontophoretische Applikationen des klinisch etablierten Antiepileptikums Ethosuximid in thalamischen und kortikalen Kerngebieten vorgenommen.

Während spontaner Anfälle wurde dessen Wirkung auf die anfallsbezogene Nervenzellaktivität untersucht. Somit konnte ein Wirkprofil der Substanz in unterschiedlichen Hirnarealen erstellt werden.

Die Ergebnisse geben Grund zur Annahme, dass die Neuronen des Nucleus ventralis basalis thalami und die des Repräsentationsareals des Kiefers im somatosensorischen Kortex Zielstrukturen der klinisch beobachteten antiepileptischen Wirkung des Ethosuximids sind.

Schlüsselwörter

Absence Epilepsie – WAG/Rij-Tiermodell – Spike-and-Wave-Entladung – SWD-bezogene Nervenzellaktivität – Thalamus- Kortex-Ethosuximid - Mikroiontophorese

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
1.1. Epilepsie – Definition und Nosologie	1
1.2. Absence Epilepsie	1
1.3. Die Pharmakotherapie der Absence Epilepsie	2
1.4. Die Tiermodelle der Absence Epilepsie	3
1.5. Stand der Forschung zur Ätiopathogenese der Absence Epilepsie	5
2. Material und Methoden	9
2.1. Versuchstiere	9
2.2. Operation	9
2.3. Versuchsablauf	11
2.3.1. Neuroleptanalgesie	11
2.3.2. Herstellung der Ableitelektroden	12
2.3.3. Ableitung von EEG und Nervenzellaktivität	14
2.3.4. Mikroiontophoretische Applikation von Ethosuximid	15
2.3.5. Histologische Aufarbeitung	17
2.4. Rechnergestützte Datenanalyse	18
2.4.1. Rauschanalyse	18
2.4.2. Erfassung SWD-bezogener Nervenzellaktivität	19
2.4.3. Erfassung der Wirkung von Ethosuximid auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität	22
2.5. Statistik und Grafik	25
3. Resultate	26
3.1. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus ventralis basalis thalami	26
3.2. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus reticularis thalami	31
3.3. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus ventralis lateralis thalami	33
3.4. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex	36
3.5. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex	39

3.6. Zusammenfassende Darstellung der Resultate	42
4. Diskussion	44
4.1. Methodentechnische Betrachtungen	44
4.2. Auswahl der thalamischen und kortikalen Hirnregionen	47
4.3. Modell der pathophysiologischen Grundlage der Generierung von SWD	49
4.4. Wirkmechanismus von Ethosuximid	51
4.5. Ausblick	55
5. Zusammenfassung	56
6. Literaturverzeichnis	57
Danksagung	64
Erklärung	65
Bildungsweg	66
Publikationsliste	67
Tabellarischer Anhang	A-F

Abkürzungsverzeichnis

- DHB: Dehydrobenzperidol
- dis/SWD: Neuronale Entladungen pro Spike-and-Wave-Entladung
- EEG: Elektroenzephalogramm
- EPSP: Exzitatorisches postsynaptisches Potenzial
- ESM: Ethosuximid
- GABA: Gamma-Amino-Buttersäure
- GABA_A: Subtyp A des GABA-Rezeptors
- GABA_B: Subtyp B des GABA-Rezeptors
- GAERS: Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
- GLU: Glutamat
- IPSP: Inhibitorisches postsynaptisches Potenzial
- I_H: Ein durch Hyperpolarisation aktivierter Kationenstrom
- I_T: T-Kalziumstrom
- LTS: Low-Threshold-Spike
- NLA: Neuroleptanalgesie
- NMDA: N-Methyl-D-Aspartat, ein Subtyp des Glutamatrezeptors
- NRT: Nucleus reticularis thalami
- OP: Operation
- PBS: Phosphat-gepufferte Lösung
- PETH: Peri-Event-Zeit-Histogramm
- S1: Primärer somatosensorischer Kortex
- S1-HL: Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex
- S1-J: Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex
- SE: Standardfehler des Mittelwertes
- SWD: Spike-and-Wave-Discharge
- VB: Nucleus ventralis basalis thalami
- VL: Nucleus ventralis lateralis thalami
- VPM: Nucleus ventralis posteromedialis thalami
- VPL: Nucleus ventralis posterolateralis thalami
- WAG/Rij: Wistar albino Glaxo rat of Rijswijk

1. Einleitung

1.1. Epilepsie- Definition und Nosologie

Die Epilepsie ist definiert als paroxysmale Funktionsstörung des Gehirns infolge exzessiver neuronaler Entladungen [2]. Es wird geschätzt, dass weltweit 50 Millionen Menschen an dieser Erkrankung leiden bzw. fünf Prozent der Bevölkerung einmal in ihrem Leben einen epileptischen Anfall erleben. Damit handelt es sich bei diesem Krankheitsbild um die zweithäufigste neurologische Erkrankung. Die große Anzahl unterschiedlicher Anfallsmuster hat dazu geführt, dass die Internationale Liga gegen Epilepsie eine generelle Einteilung vorgeschlagen hat. Diese gestaltet sich folgendermaßen: 1. Lokalisationsbezogene Anfälle, 2. Generalisierte Epilepsien und Syndrome, 3. Epilepsien und Syndrome unklarer Zuordnung und 4. Spezielle Syndrome [1]. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einer Anfallsform aus der Gruppe der generalisierten Epilepsien, der sogenannten **Absence Epilepsie** oder auch Petit mal.

1.2. Absence Epilepsie

Die Absence Epilepsie zählt zur Untergruppe der Generalisierten Epilepsien und wird wiederum in vier Syndrome differenziert: die kindliche Form (engl.: childhood absence epilepsy), die juvenile Form (engl.: juvenile absence epilepsy), die juvenile myoklonische Epilepsie und die Epilepsie mit myoklonischen Absencen [46]. Diese Unterscheidung beeinflusst zwar nicht die therapeutische Strategie, doch finden sich deutliche Unterschiede bezüglich der Prognose [59].

Die Absence Epilepsie ist durch ein pathognomonisches elektroenzephalografisches Muster charakterisiert. Es finden sich sogenannte Spike-and-Wave Entladungen (SWD), die mit einer Frequenz von zwei bis vier Hertz bilateral synchron auftreten. Semiologisch imponiert diese Anfallsart durch plötzlich einsetzenden Bewusstseinsverlust, der mit milden tonischen, atonischen und/oder klonischen Komponenten sowie autonomen Symptomen kombiniert sein kann [41;76;86;102]. Eigenanamnestisch werden die Anfälle als „mentale Pause“ oder „...den Faden verlieren“ von den Patienten beschrieben. Begleitend können repulsive Bulbusbewegungen und orale Automatismen auftreten [46]. Die Anfallsfrequenz ist abhängig vom Manifestationsalter. Während die Patienten mit juvenilen Absencen weniger als täglich Anfälle haben, können diese bei der kindlichen Form mehrere hundert Mal pro Tag auftreten [59].

Das Manifestationsalter der Absencen liegt zwischen sechs und acht Jahren für den kindlichen Typ, demgegenüber tritt die juvenile Form in der Regel im Alter zwischen 10 und 16 Jahren erstmals auf. Über die Geschlechtspräferenz gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben. Während einige Autoren diesbezüglich eine identische Prävalenz angeben, beschreiben andere ein Überwiegen des weiblichen Geschlechts in einem Verhältnis von zirka 2:1 [46;75]. Aus epidemiologischen Studien ist bekannt, dass die Inzidenz für Anfallsleiden bei Kindern und Jugendlichen bei zirka 50-100 pro 100.000 Einwohnern liegt. Bei einem Anteil der Absence Epilepsie von 10-15 % wird eine Inzidenz von zirka 7 Fällen pro 100.000 Einwohnern geschätzt [37;38;74;75].

Aufgrund des guten Ansprechens auf Pharmakotherapie mit Erfolgsraten von bis zu 90 % und des in der Regel benignen Verlaufs mit Spontanremissionen von 24 % anfallsfreien Patienten nach 25 Jahren wird diese Anfallsform auch als Petit mal bezeichnet [45;74;75].

1.3. Die Pharmakotherapie der Absence Epilepsie

Ethosuximid (ESM) wurde 1958 als Nachfolger von Trimethadion für die Behandlung von Absence Epilepsien zugelassen [11]. In mehreren klinischen Studien konnte die Wirksamkeit von ESM und die Überlegenheit gegenüber anderen Antikonvulsiva in der Behandlung reiner Absencen nachgewiesen werden [15;79]. Browne und Mitarbeiter berichteten von einer 50-100 %igen Anfallskontrolle in 95 v. H. Fällen [12]. Zur Behandlung reiner Absencen ist es daher Mittel der Wahl [73]. Bei Unverträglichkeit kann auf das Antiepileptikum Valproat ausgewichen werden, das eine etwa gleich gute Wirksamkeit bei größerer Nebenwirkungsrate zeigt [15;66;92]. Die primäre Behandlungsstrategie bei der Absence Epilepsie besteht in der pharmakologischen Monotherapie, wobei sowohl ESM als auch Valproat zur Anwendung kommen. Bei unzureichender Anfallskontrolle ist die Kombinationstherapie aus ESM und Valproat eine zusätzliche Therapieoption. Außerdem besteht die Möglichkeit, Valproat mit geringen Mengen Lamotrigin, einem Antiepileptikum der neuen Generation, zu kombinieren [13;34;76;77]. In den sehr wenigen Fällen, in denen die Patienten auch auf diese Therapie nicht ansprechen, können Therapieversuche mit dem Karboanhydrasehemmer Acetazolamid oder Benzodiazepinen, speziell Clonazepam, unternommen werden.

ESM ist ein Derivat aus der Familie der Succinimide mit einem Molekulargewicht von 141.2. Der pK_a Wert der Substanz liegt bei 9.3. Die Wasserlöslichkeit ist schlecht. Die Angaben bezüglich der therapeutischen Serumspiegel variieren sehr stark und liegen zwischen 175-900 $\mu\text{mol/l}$, wobei in Einzelfällen bis zu 1250 $\mu\text{mol/l}$ zur Anfallskontrolle

benötigt wurden [96;119]. ESM wird rasch intestinal resorbiert und verteilt sich fast im gesamten Körperwasser. Eliminiert wird es vorwiegend durch Oxidation, zirka 20 % werden unverändert renal ausgeschieden.

Das Spektrum der Nebenwirkungen umfasst milde gastrointestinale Symptome wie Übelkeit, Erbrechen und Singultus. In wenigen Fällen wurde das Auftreten antinukleärer Antikörper mit der Folge eines systemischen Lupus erythematodes beobachtet. Potenziell lebensbedrohlich ist das sehr seltene Vorkommen einer Myelosuppression mit schwerer Leukopenie [9;17;58;97].

Die Wirkweise von ESM war lange Zeit unbekannt. Mittlerweile gibt es widersprüchliche experimentelle Befunde, die im Abschnitt 1.5. dargestellt werden.

1.4. Tiermodelle der Absence Epilepsie

Mit dem Ziel, die Ätiopathogenese der Absence Epilepsie weiter zu untersuchen, wurden in der Vergangenheit verschiedene Tiermodelle etabliert. Eine komplette Darstellung der unterschiedlichen Modelle würde den Rahmen sprengen, daher sollen an dieser Stelle nur jene zwei Modelle beschrieben werden, in denen die vorliegenden elektrophysiologischen Untersuchungen stattgefunden haben.

Es handelt sich hierbei um zwei ingezüchtete Wistar-Rattenstämme: die Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) und die Wistar albino Glaxo rat of Rijswijk (WAG/Rij), die sich durch das spontane Generieren von SWD, dem typischen elektroenzephalografischen Kennzeichen der humanen Petit mal, auszeichnen [109;116]. Im Verlauf der Ontogenese treten bei den Ratten spontan Anfälle auf, die von SWD in einer Frequenz von 7-11 Hz begleitet sind. Bei GAERS werden ab einem Alter von zirka vier Monaten bei allen Tieren Anfälle beobachtet, während die WAG/Rij-Tiere erst im Alter zwischen vier bis acht Monaten zu 100 % Absencen ausbilden. Hierbei gibt es keine Unterschiede im Geschlecht [19;114]. Im Rahmen eines Anfalls zeigen die Tiere Pendelbewegungen des Kopfes, eine gesteigerte Atemfrequenz und ein rhythmisches Zucken der Vibrissen [65]. Typischerweise gehen der Synchronisation des EEG rhythmische, gruppierte Nervenzellentladungen im somatosensorischen Kortex voraus (s. Abbildung 1). Erwähnenswert ist, dass im WAG/Rij-Modell zwei unterschiedliche Arten von SWD beobachtet werden, die sich in Frequenz und begleitenden Symptomen unterscheiden [109]. Außerdem wurden in Experimenten an WAG/Rij unter Neuroleptanalgesie SWD-Frequenzen zwischen fünf und sechs Hertz beobachtet [43]. Im Gegensatz zu anderen Modellen können weder bei GAERS- noch bei WAG/Rij-Tieren

neurologische Defizite oder Verhaltensauffälligkeiten beobachtet werden [113]. Eine weitere Parallele zur humanen Absence ist die situative Abhängigkeit der Anfälle. So wird eine Häufung im Rahmen von Zuständen entspannter Ruhe, beim Übergang vom Wach- zum Schlafzustand und umgekehrt sowie während Schlafperioden mit synchronisiertem EEG beobachtet [33;53].

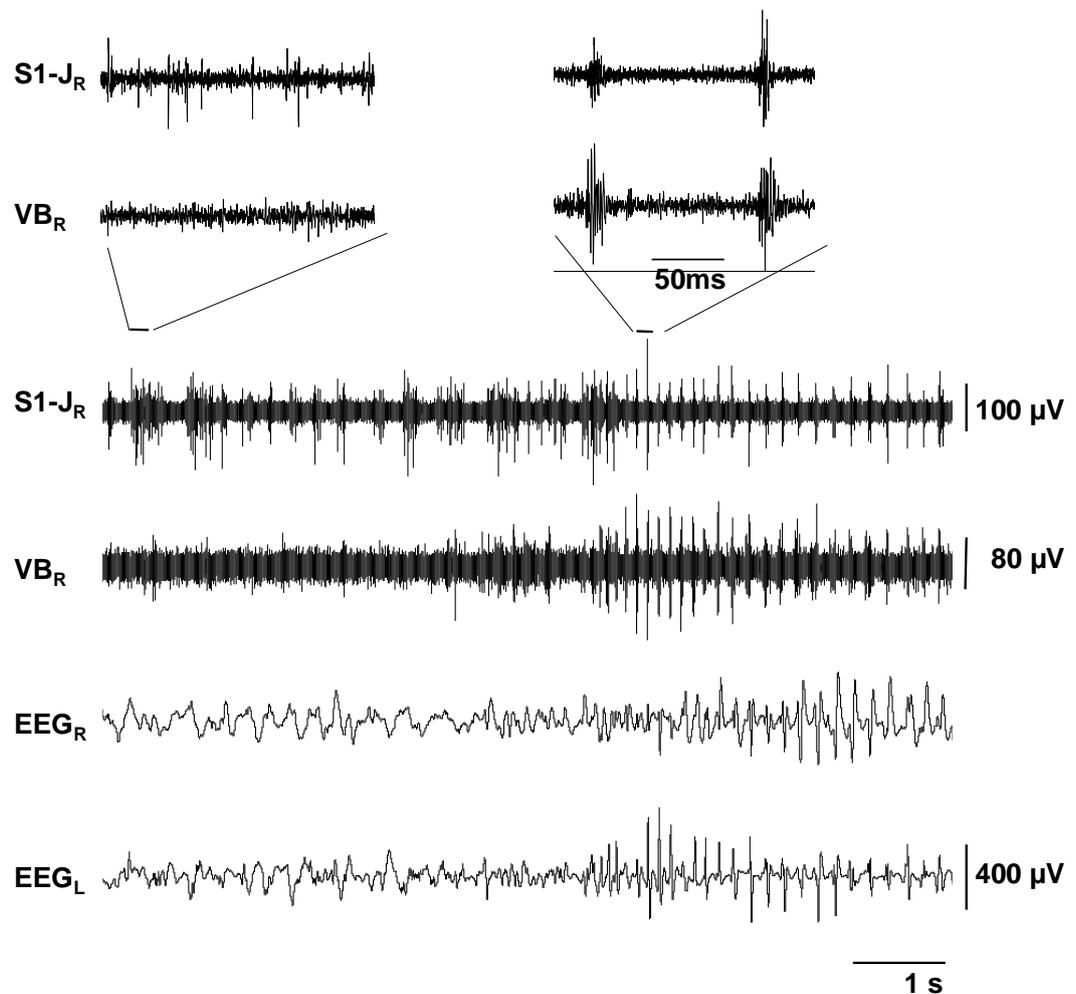


Abb. 1: Darstellung der spontanen Entstehung eines Anfalls in GAERS bei simultaner Aufzeichnung von EEG und neuronaler Aktivität im Nucleus ventrobasis (VB) und im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex (S1-J). Untere Spuren: EEG bilateral. Mittlere Spuren: Extrazelluläre Nervenzellaktivität aus VB und S1-J. Obere Spuren: Ausschnittsvergrößerungen der Neurogramme. Die vertikale Achsenskalierungen entsprechen denen der mittleren Spur.

Es wird deutlich, dass in S1-J rhythmische, gruppierte Entladungen auftreten, die der Synchronisation des EEG in Form von SWD vorausgehen. Während des Anfalls zeigt auch der VB SWD-korreliert Burstentladungen. Die Ableitung des Neurogramms aus S1-J erfolgte mit einer hochohmigen bipolaren Wolframelektrode.

Bei der Untersuchung der pharmakologischen Charakteristika der Absence Epilepsie im Tiermodell wurde evident, dass die klinisch etablierten Antiepileptika hier ähnliche Wirkungen zeigten wie aus der klinischen Erfahrung bekannt: ESM, Valproat und das Benzodiazepin Diazepam verminderten die Anfallsfrequenz, wohingegen Carbamazepin zu einer Häufung der Absenzen führte [71;83]. Eine Ausnahme stellt hierbei Lamotrigin dar. Während es bei Patienten erfolgreich eingesetzt wird, hat es in WAG/Rij keinen Einfluß auf die Häufigkeit der Absenzen [110].

Genetische Untersuchungen an WAG/Rij konnten zeigen, dass 100% der Tiere der F1-Generation von Kreuzungen zwischen WAG/Rij und nicht-epileptischen Ratten epileptische Anfälle ausprägten. Bezüglich der Häufigkeit der Anfälle wurden allerdings große Unterschiede beobachtet. Daher wird davon ausgegangen, dass bei Dominanz des Merkmals „epileptisches Tier“ einzelne Gene für das Auftreten verantwortlich sind, während andere den Grad der Ausprägung kontrollieren [65;81;82].

Durch die Vielzahl der Ähnlichkeiten zwischen GAERS bzw. WAG/Rij und der humanen Absence Epilepsie sind die beiden erwähnten Rattenstämme zu etablierten Tiermodellen für die Erforschung dieser Erkrankung geworden.

1.5. Stand der Forschung zur Ätiopathogenese der Absence Epilepsie

Im Folgenden sollen die für diese Arbeit relevanten Ergebnisse von Studien anderer Arbeitsgruppen dargestellt werden.

Erste elektrophysiologische Studien an einem Tiermodell der Absence Epilepsie wurden mit dem Ziel durchgeführt, die am Anfallsgeschehen beteiligten Hirnregionen zu identifizieren. In Experimenten mit chronisch implantierten Tiefenelektroden konnten Vergnes und Mitarbeiter zeigen, dass im Rahmen von Anfällen SWD-ähnliche Feldpotenziale in thalamischen Kernen auftreten. Hierbei blieben die Potenziale auf die lateralen thalamischen Nuklei beschränkt, während sie in den medialen fehlten. Außerdem konnte eine Beteiligung des Hippocampus weitgehend ausgeschlossen werden [48;115].

In folgenden Studien wurde die Auswirkung der funktionellen Inaktivierung einzelner Hirnregionen auf das Anfallsgeschehen untersucht. In GAERS wurden durch eine Kallosotomie beide Hemisphären getrennt. Von beiden Hirnhälften konnten weiterhin SWD aufgezeichnet werden, die weitgehend unabhängig voneinander auftraten. Anschließend wurden in verschiedenen Kerngebieten unilateral Läsionen erzeugt und deren Folgen analysiert. Die Experimente führten zu dem Resultat, dass ohne den Kortex

oder die Kerne des lateralen Thalamus die Generierung von SWD unmöglich waren. Die Ausschaltung der medialen thalamischen Nuklei hingegen blieb ohne Konsequenz für die Anfallsaktivität. Es wurde geschlussfolgert, dass sowohl Kortex als auch die lateralen thalamischen Kerne essenziell für die Entstehung der pathologischen neuronalen Aktivität sind [112].

Eine spätere Untersuchung, in der räumlich umschriebene funktionelle Inaktivierungen mittels des anorganischen Kalziumkanalblockers Kadmium im NRT und VB gesetzt wurden, zeigte, dass der Injektion in den NRT eine vollständige Suppression der SWD folgte, während bei Injektion in den VB lediglich eine Abnahme der SWD verzeichnet wurde. Diese Resultate verdeutlichen die Wichtigkeit von Kalzium-abhängigen oszillatorischen Eigenschaften des NRT, aber auch die Bedeutung des VB, der offensichtlich einen verstärkenden Einfluß auf diese Oszillationen ausübt [4].

Weitere elektrophysiologische Studien an Tieren des WAG/Rij Modells wurden durchgeführt, um die Unterschiede in der zeitlichen Kopplung der neuronalen Aktivität thalamischer Kerne mit den SWD zu charakterisieren. Inoue und Mitarbeiter zeichneten unter Neuroleptanalgesie (NLA) die extrazellulären Aktivitäten benachbarter Neurone (multi-unit Aktivität) nacheinander in unterschiedlichen thalamischen Strukturen auf. Es zeigte sich, dass die Neuronen der spezifischen Relaiskerne Nucleus ventralis posteromedialis (VPM), Nucleus ventralis posterolateralis (VPL) und Nucleus ventralis lateralis (VL) in enger zeitlicher Kopplung vor der Spitzenkomponente (Spike) der SWD im EEG in Form gruppierter Aktionspotenziale entladen, wohingegen der Nucleus reticularis (NRT) sein Aktivitätsmaximum kurz nach der Spitze der SWD aufweist. Demgegenüber zeichneten sich die unspezifischen Kerngebiete (intralaminäre Kerne) durch ein tonisches Entladungsverhalten aus [44].

Simultane Aufzeichnungen neuronaler Aktivität in verschiedenen Kerngebieten in GAERS zeigten, dass den SWD im EEG rhythmische, gruppierte Entladungen kortikaler Neuronen vorausgehen (s. Abbildung 1). Verzögert erfolgt eine Synchronisation thalamischer Strukturen (VB, NRT, VL), die in enger zeitlich Kopplung mit der Spitzenkomponente der SWD eine schnelle Folge gruppierter Aktionspotenziale (Bursts) generieren. Hierbei entladen die Neurone des VPM und VPL in Bezug auf den Spike der SWD zeitlich vor dem NRT [95]. Das Entladungsverhalten der intralaminären Kerne, das in einer Studie an GAERS untersucht wurde, ist durch ein Maximum der neuronalen Potenziale zeitlich nach der Spitze der SWD charakterisiert [94].

Die zahlreichen Untersuchungen zur Ätiopathogenese der Absence Epilepsie konnten bisher nicht nachweisen, dass nur ein einzelner Nervenzellverband als Fokus oder

Entstehungsort der SWD verantwortlich ist. Vielmehr wird die Existenz eines neuronalen Kreises aus Kortex und Thalamus postuliert, in dem die pathologische neuronale Aktivität entstehen soll (s. Abbildung 2) [28].

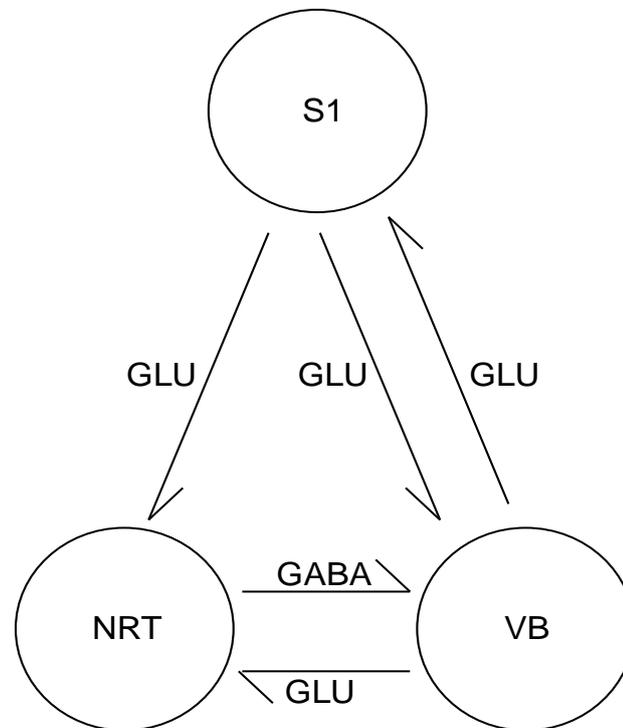


Abb.2: Schematische Darstellung des neuronalen Kreises aus Nucleus ventrobasis thalami (VB), Nucleus reticularis thalami (NRT) und somatosensorischem Kortex (S1). Die Pfeile symbolisieren die synaptischen Verbindungen. Der VB und S1 stehen über glutamaterge (GLU) Neurone in reziproker monosynaptischer Verbindung. Das Kerngebiet des NRT erhält exzitatorische Afferenzen aus dem S1 und VB und sendet GABAerge (GABA) Efferenzen zum VB. Die elektrophysiologische Interaktion der dargestellten Kerne wird als essenziell für die Entstehung der Absence Epilepsie angenommen. Nicht dargestellt sind die Kerngebiete motorischer Systeme, die auch an der Entstehung der pathologisch gesteigerten Nervenzellaktivität beteiligt sind.

Dabei werden reziproke Interaktionen zwischen VB, NRT und S1 angenommen [28;117]: Die Zellen des NRT, der ein GABAerges Netzwerk im lateralen Thalamus bildet, vermitteln über GABA_B-Rezeptoren eine lang anhaltende Hyperpolarisation der VB-Neurone [60;99]. Dadurch wird ein spezieller Kalziumkanal deaktiviert, der den T-Kalziumstrom (I_T) leitet. Im Rahmen der Repolarisation der Membran wird I_T aktiviert und führt zur Entstehung Kalzium-abhängiger Potenziale (engl.: Low-Threshold-Spike; LTS). Diese triggern eine schnelle Abfolge Natrium-abhängiger Aktionspotenziale (Burstentladung). Die Burstentladungen aktivieren über exzitatorische Efferenzen wieder

die NRT-Neurone und starten damit den Zyklus erneut. Die resultierende rhythmische Burstaktivität rekrutiert unter Vermittlung durch S1 weitere Neurone und kann sich als propagierende Welle über das thalamokortikale Netzwerk ausbreiten [20;67].

Daneben scheint auch der Nucleus ventralis lateralis (VL), ein thalamischer Relaiskern, der dem motorischen System zugerechnet wird und die Hauptverbindung zerebellärer Nuklei zum motorischen Kortex herstellt, in diese Prozesse involviert zu sein [44;49;89;95;122].

Aufgrund der Ergebnisse unterschiedlicher *in vitro*-Studien, die zeigen konnten, dass ESM den I_T thalamischer Relaisneurone blockiert und zu einer Verminderung der Aktionspotenziale innerhalb eines Bursts in thalamischen Schnittpräparaten führt, wurde die I_T -Blockade als zentraler Mechanismus der klinisch beobachteten antiepileptischen Wirkung von ESM angenommen [22-24;42;123]. Durch neuere Studien wird die Beteiligung des I_T an der Entstehung der Absencen und die Blockade desselben durch ESM allerdings in Frage gestellt (s. Diskussion) [55;88].

Ziel der vorliegenden Experimente war es, in einem etablierten Tiermodell der Absence Epilepsie, den WAG/Rij-Ratten, die Wirkungen des klinisch etablierten Antikonvulsivums Ethosuximid auf die anfallsbezogene Aktivität thalamischer und kortikaler Neurone *in vivo* zu untersuchen. Hierzu erfolgten in einer flachen Neuroleptanalgesie lokale Wirkstoffapplikationen unter Verwendung der Mikroiontophorese.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

In den Experimenten der vorliegenden Arbeit wurden Wistar-Ratten zweier unterschiedlicher genetischer Absence Epilepsie Modelle verwendet: 1. Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS), 2. Wistar albino Glaxo rats of Rijswijk (WAG/Rij).

Die GAERS entstammen dem Département de Neurophysiologie et Biologie des Comportements, Centre de Neurochimie Strasbourg und wurden im Institut für Physiologie der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg weiter ingezüchtet und gehalten. Die WAG/Rij Ratten wurden kommerziell erworben (Harlan-Winckelmann, Borchon, Deutschland) und im Zentralen Tierstall der Medizinischen Fakultät gehalten.

Die Haltungsbedingungen waren für beide Tierstämme identisch: Hell-Dunkel-Zyklen von jeweils zwölf Stunden Dauer, konstante Raumtemperatur (22°C) und freier Zugang zu Futter und Wasser.

Zum Versuchszeitpunkt waren die Ratten zwischen 140 und 238 Tagen alt, und das durchschnittliche Gewicht betrug 309 ± 12 g (Mittel \pm SE). Diese Charakteristika entsprechen jenen einer jüngst publizierten Studie [101]. Es wurden nur solche Tiere in die Studie eingeschlossen, die spontan Anfälle generierten. Die Genehmigung zur Durchführung dieser Tierversuche erteilte das Regierungspräsidium Dessau (AZ 53a-42502/2-028/5MD).

2.2. Operation

Zu Beginn des Versuches wurden die Tiere durch eine intraperitoneale Injektion von im Mittel 42.8 ± 2.29 mg/kg Pentobarbital (Sigma Chemical Co., St. Louis MO, USA), gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, in eine tiefe Narkose versetzt. Hierdurch wurde eine Operationstoleranz für mindestens zwei Stunden erreicht. Zur weiteren OP-Vorbereitung wurden die Tiere in einen stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, Tujunga CA, USA) eingespannt. Zuvor wurde in den äußeren Gehörgang Xylocain-Creme 2 % (ASTRA GmbH, Wedel, Deutschland) eingebracht, um eine lokale Anästhesie zu erzielen. Danach erfolgte die Freilegung der Kalotte, indem per Scherenschlag die Galea entfernt wurde. Eine selten erforderliche Blutstillung wurde gegebenenfalls mit 5%iger Wasserstoffperoxid Lösung durchgeführt.

Um die Reproduzierbarkeit des operativen Eingriffs zu erhöhen, wurde in allen Experimenten der Schädel des Versuchstieres derartig in einem stereotaktischen Rahmen fixiert, dass sich Lambda und Bregma, zwei anatomische Landmarken am knöchernen Schädel, stets in gleicher horizontaler Ebene befanden.

Dann wurden anhand eines anatomischen Atlas [80] die Trepanationsorte festgelegt. Für das Einsetzen der EEG-Elektroden wurden bilateral frontoparietal je zwei und zerebellar eine Bohrung vorgenommen. Die Trepanation erfolgte mit einem konventionellen Handbohrer mit einem Außendurchmesser des Bohrkopfes von 0,8 mm. Hierbei blieb die Dura intakt, um ein Austrocknen des Nervengewebes im Verlauf des Experiments zu vermeiden.

Präoperativ wurden EEG-Elektroden angefertigt, indem ein Silberdraht von 0,25 mm Durchmesser über einem Bunsenbrenner geschmolzen wurde, bis sich einseitig eine zirka 0,8 mm dicke Kugel formte. Anschließend wurden die EEG-Elektroden über die vorbereiteten frontoparietalen Bohrlöcher auf die Dura mater aufgesetzt und mit Zahnzement (Paladur, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim/Ts, Deutschland) an der Schädeloberfläche befestigt. Eine Referenzelektrode wurde zerebellär gleichartig platziert.

Zur Ableitung neuronaler Aktivität in den thalamischen Kernen des Nucleus ventralis basalis (VB), des Nucleus ventralis lateralis (VL) und des Nucleus reticularis thalami (NRT) sowie den Repräsentationsarealen des Kiefers und des Hinterlaufes des somatosensorischen Kortex (S1-J, S1-HL) waren Trepanationen an unterschiedlichen Stellen des Schädels erforderlich. Die hierzu verwendeten Koordinaten können der Tabelle 1 entnommen werden.

Ableitort	anterior/posterior	medial/lateral	dorsal/ventral
VB	-3,0	3,3	5,5
VL	-1,8	1,8	6,0
NRT	-1,3	1,9	5,8
S1-J	1,0	4,3	1,6
S1-HL	-1,3	1,9	1,6

Tab. 1: Koordinaten für das Vorbringen der Ableitkapillare an die jeweiligen Ableitorte.

Angaben in mm mit Bezug auf Bregma, Mittellinie und Gehirnoberfläche.

Die Inzision der Dura mater erfolgte unter Benutzung eines spitzen Häkchens jeweils unmittelbar bevor die Glaskapillare zur Ableitung abgesenkt wurde. Die Operationsdauer betrug in der Regel weniger als eine Stunde.

Während des gesamten Experiments wurde die Körpertemperatur des Tieres rektal gemessen und unter Verwendung einer Regeleinrichtung (Temperature Constanter L/M-60, List Electronic, Darmstadt, Deutschland) im Bereich zwischen 36,3° C und 38,3° C geführt.

2.3. Versuchsablauf

2.3.1. Neuroleptanalgesie

Wie bereits ausgeführt, erfolgten alle operativen Maßnahmen in einer tiefen Pentobarbitalnarkose, unter der eine ausreichende Anaesthetose und Analgesie erzielt werden konnte. In dieser tiefen Barbituratnarkose entwickelten die Tiere aber keine Absenzen, so dass für den weiteren Verlauf des Experiments die Neuroleptanalgesie (NLA) als Narkoseform gewählt wurde.

Für das Erreichen eines ausreichenden Wirkspiegels der NLA wurden gegen Ende der operativen Maßnahmen unter dem Abklingen der Barbituratnarkose insgesamt fünf- bis sechsmal in konstanten Zeitintervallen von 15 Minuten intraperitoneale Injektionen von 0.01 mg Fentanyl (1ml enthält 0.05 mg Fentanyl; Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland und CuraMed, Karlsruhe, Deutschland) sowie 0.75 mg Droperidol (DHB; 1ml enthält 2.5mg Droperidol; Dehydrobenzperidol, Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland) vorgenommen.

Anschließend wurde die Dosis um die Hälfte reduziert, ohne dabei die Zeitintervalle zu verlängern, um den Status einer flachen Anästhetose bei sicherer Analgesie zu erreichen. Die Menge der applizierten Neuroleptika und Anaesthetika wurde insofern variiert, als dass das Tier einerseits die invasive Prozedur und die Immobilisierung tolerierte, andererseits die Krampfschwelle nicht so weit heraufgesetzt wurde, dass keine Anfälle generiert wurden. Anhand des Synchronisationsgrades des EEG sowie der Reaktionen des Tieres auf schmerzhafte Stimuli geringer Intensität an den Hinterläufen war zu jeder Zeit eine gute Beurteilung der Narkosetiefe gewährleistet. Die Dosierungen mussten individuell gestaltet werden, um einen stabilen Zustand für die Ableitung der Nervenzellaktivität bei ausreichender Narkosetiefe herzustellen.

Für die Tiere des WAG/Rij Stammes ergab sich eine mittlere Dosierung von 0.05 ± 0.006 mg/kg*h Fentanyl und 5.36 ± 0.30 mg/kg*h DHB (Mittelwert \pm SE). Die Menge des

applizierten DHB ist vergleichbar mit den Dosierungen in anderen mikroiontophoretischen Studien in WAG/Rij, während die Fentanyl-Dosierung um den Faktor 2 geringer ist [101].

2.3.2. Herstellung der Ableitelektroden

Die Ableitung von extrazellulärer Nervenzellaktivität und die Applikation des Wirkstoffes wurde mittels mehrlumiger Borosilikat-Glaskapillaren vorgenommen (5-lumige Kapillaren: Hilgenberg, Malsfeld, Deutschland; 7-lumige-Kapillaren: World Precision Instruments Inc., Sarasota, FL, USA). Die Herstellung der Kapillaren aus den Rohlingen erfolgte in mehreren Fertigungsschritten (s. Abbildung 3).

Zunächst wurden die Rohlinge in einen Vertikalpuller (Narishige puller, Narishige Scientific Instruments Lab., Tokyo, Japan) eingespannt und unter hoher lokaler Hitzeeinwirkung (Heizspirale) durch Gewichte in Längsrichtung ausgezogen. In einem anschließenden zweiten Durchgang mit noch höherer Heiztemperatur wurde der untere Teil der Kapillare vom oberen durch den Schmelzvorgang und die vertikale Gewichtseinwirkung abgerissen, so dass am oberen Teil eine lang ausgezogene, sich rasch verjüngende Spitze entstand. Um die ideale Konfiguration dieser Spitze zu erhalten, wurde sie unter binokularer mikroskopischer Kontrolle (Mikroskop Modell 102; Nikon, Tokyo, Japan) unter Zuhilfenahme eines Mikromanipulators (Narishige Scientific Instrument Lab., Tokyo, Japan) gegen einen Glasstab zurückgebrochen. Schließlich betrug der äußere Durchmesser an der Spitze der Kapillaren zwischen 10 und 15 μm .

Die charakteristische Form der lang ausgezogenen Spitze mit geringem Außendurchmesser gewährleistete die geringstmögliche Verletzung von Nervengewebe bei der Penetration des Rattengehirns.

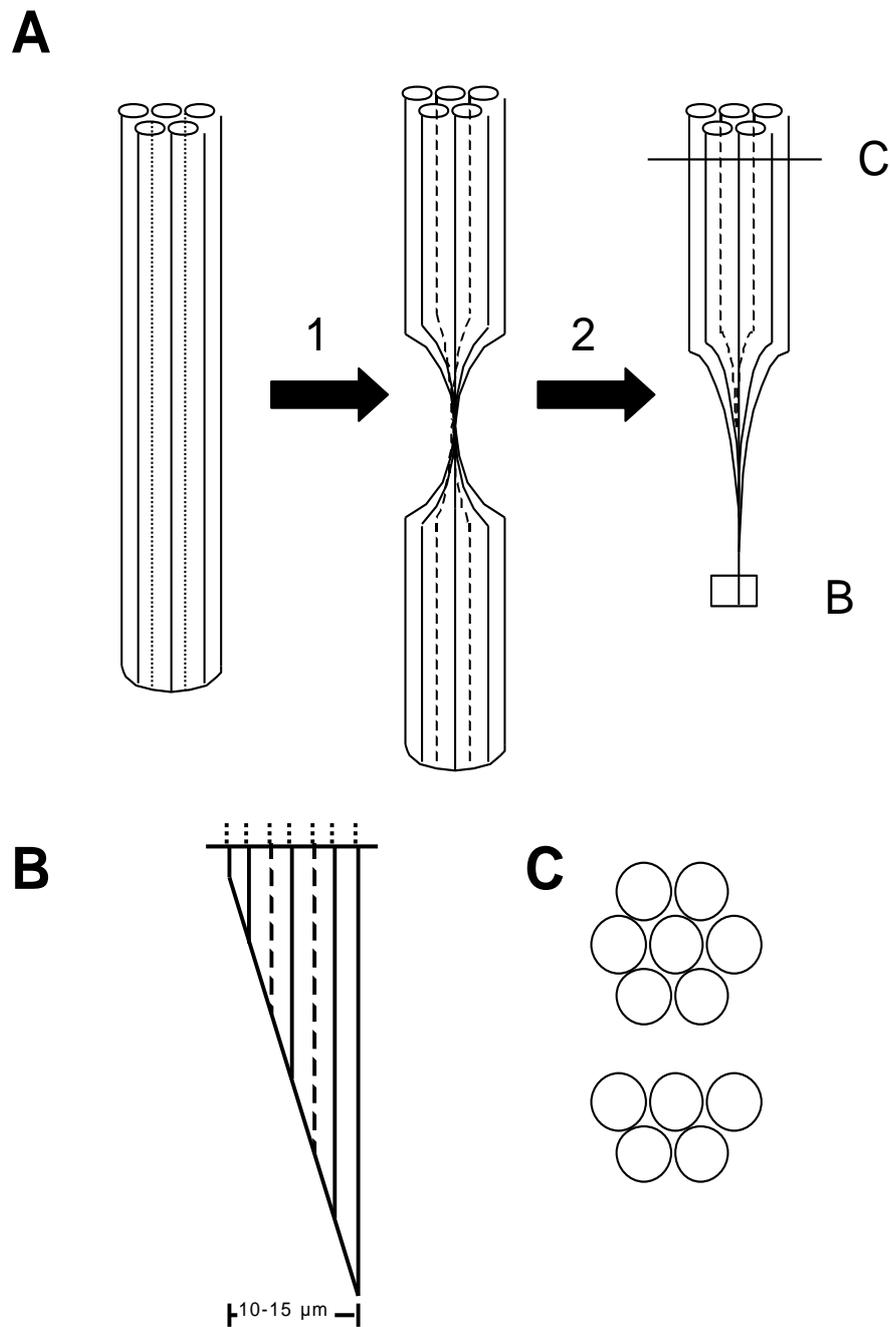


Abb. 3: Schematische Darstellung der Herstellung von Ableitelektroden. A) Herstellung der Ableitelektroden in zwei Fertigungsschritten. Der Rohling einer 5-lumigen Borosilikat-Glaskapillare wird in Schritt 1 unter lokaler Hitzeeinwirkung durch ein Gewicht vertikal ausgezogen. In Schritt 2 reißt der untere Teil der Kapillare unter erneuter Hitzeeinwirkung ab, und nach Rückbrechen gegen einen Glasstab entsteht die lang ausgezogene Spitze mit Außendurchmessern von 10-15 µm. B) Ausschnittsvergrößerung der Kapillarenspitze. C) Aufsicht auf den Querschnitt der 5- und 7-lumigen Glaskapillaren.

2.3.3. Ableitung von EEG und Nervenzellaktivität

Die bilaterale Erfassung des EEG erfolgte mittels selbstgefertigter Silberballelektroden, die an einen Differenzialverstärker (DPA 2F, npi electronic GmbH, Tamm, Deutschland) angeschlossen waren. Das EEG wurde 2000 fach verstärkt und nachfolgend gefiltert: Hochpass 3 Hz, Tiefpass 30 Hz.

Die Nervenzellaktivität wurde über eine Kapillare der mehrlumigen Ableitelektroden registriert, die mit einer 0.5 M (seltener 0.6 M) Natrium-Acetat-Lösung gefüllt waren. Die Signale wurden 10.000 fach verstärkt (EXT 20 F, npi electronic GmbH, Tamm, Deutschland) und gefiltert: Hochpass 100 Hz, Tiefpass 10 kHz.

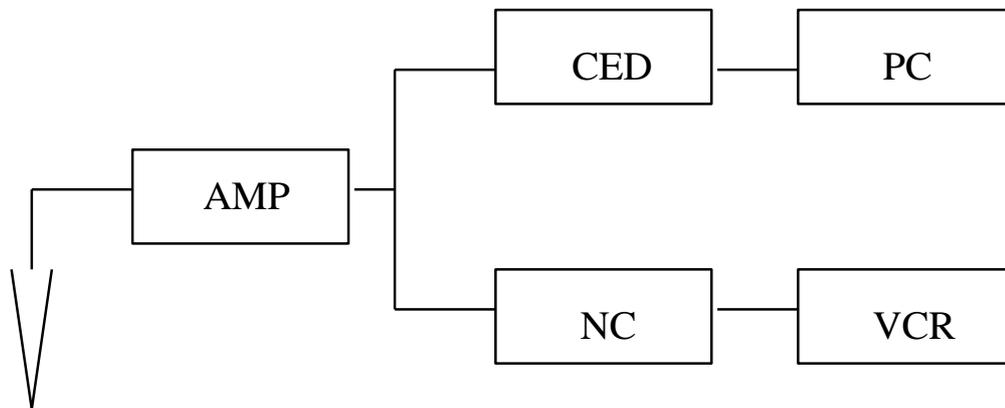


Abb. 4: Blockdiagramm zur Versuchsanordnung. Die Ableitkapillare war mit dem Verstärker (AMP) verbunden. Die Daten wurden dann über einen Neurocorder (NC) einem Videorecorder (VCR) als Speichermedium zugeleitet. Parallel erfolgte die Analog-Digital-Wandlung per A/D Interface (CED) und Speicherung mit einem Personal-Computer (PC).

Die analogen Signale wurden zum einen via Neurocorder (DR-890, NeuroData, Instr.Corp., Delaware Water Gap PA, USA) einem Videorecorder, zum anderen nach Passage des A/D-Interface CED 1401plus (Cambridge Electronic Design, UK) einem Personal Computer zugeführt (s. Abbildung 4). Am PC erfolgte unter Nutzung der Spike 2 Software (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) die Messwertaufnahme, die Speicherung und die offline-Bearbeitung der Daten.

2.3.4. Mikroiontophoretische Applikation von Ethosuximid

Die zur mikroiontophoretischen Applikation verwendeten Wirkstofflösungen wurden an jedem Versuchstag neu hergestellt. ESM (Sigma Chemical Co., St. Louis MO, USA) wurde in bidestilliertem Wasser gelöst, um Lösungen in Konzentrationen von 0.5 M und 0.75 M zu erhalten. Durch Zugabe von 1 M Salzsäure in geringen Mengen wurde die ESM-Lösung auf einen pH von 3.4 - 3.6 eingestellt. Da der pK_a -Wert von ESM bei 9.3 liegt, konnte eine weitgehende Ionisierung angenommen werden.

Zur Ableitung der Nervenzellaktivität und zur Applikation der Wirkstoffe standen 5- bzw. 7-lumige Borosilikat-Glaskapillaren zur Verfügung. Die einzelnen Lumina wurden unter Verwendung einer Injektionsnadel mit folgenden Stoffen luftblasenfrei befüllt: (1) ESM 0.5 M, (2) ESM 0.75 M, (3) und (4) jeweils Natrium-Azetat 0.6 M als Ableit- und Balancemedium, (5) Chicago-Sky-Blue B6 in 0.5 M Natrium-Azetat-Lösung als Farbstoff. Das Balancemedium diente dazu, die durch die Ejektions- und Retentionsströme der Mikroiontophorese applizierten Ladungsträger auszugleichen.

Der Kontakt zwischen dem entsprechenden Lumen der Glaskapillare und dem Vorverstärker des EXT-Verstärkers bzw. der Mikroiontophoreseeinheit (Neuro-Phore-BH-2, Medical Systems Corp., Greenvale NY, USA) wurde über Silberdrähte sichergestellt. Bevor die Ableitelektrode in das Gehirn des Versuchstieres eingeführt wurde, erfolgte die Einstellung der Retentions- und Ejektionsströme. Für ESM wurden Retentionsströme von -20 nA gewählt, um ein unkontrolliertes Ausströmen von Wirkstoff zu verhindern. Die Ejektionsströme variierten zwischen 40 und 120 nA. Die durch diese Ströme entstandene Ladungsumverteilung wurde durch die Mikroiontophoreseeinheit automatisch durch simultane Applikation entgegengesetzter Ströme ausgeglichen.

Außerdem wurden die Ausgangswiderstände der Kapillaren überprüft, die in der Regel im Bereich von 20-80 MOhm rangierten. Somit war im Verlauf des Experiments eine orientierende Kontrolle des Zustands der Ableitelektrode möglich. Bei Ausgangswiderständen größer als 120 MOhm wurden die Glaskapillaren ausgetauscht, da eine adäquate Austreibung des ESM nicht mehr sicher gewährleistet war.

Die Glaskapillare wurde mit Hilfe eines elektronischen Mikromanipulators (David Kopf Instruments, Tujunga CA, USA) an den gewünschten kortikalen bzw. thalamischen Ableitort positioniert. Es wurden Neurone untersucht, deren Entladungen mit den SWD im EEG zeitlich korrelierten. Wenn die SWD-Häufigkeit ausreichend groß und über einen längeren Zeitraum stabil war und nach der letzten intraperitonealen Injektion von Droperidol oder Fentanyl mindestens zwei Minuten vergangen waren, wurden zunächst

Neurogramm und EEG während einer einminütigen Kontrollphase vor Substanzgabe aufgezeichnet. So sollte einerseits der Einfluß intrinsischer Mechanismen auf die Anfallsaktivität und andererseits Veränderungen derselben durch die Narkosetiefe minimiert werden.

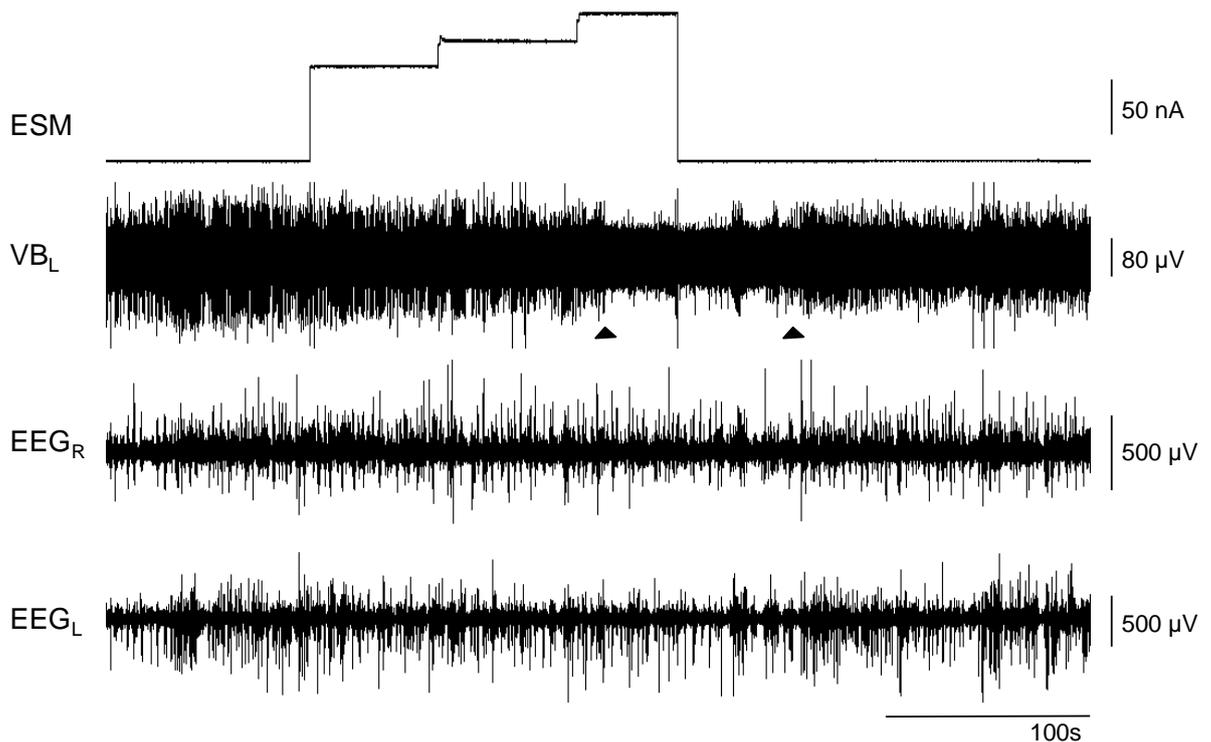


Abb. 5: Darstellung eines Datenfiles mit Kontrollphase, ESM-Applikation und Erholung. Obere Spur: Retentions- und Ejektionsstrom. Für die Substanzgabe wurde ausgehend von einem Retentionsstrom von -20 nA der Ejektionsstrom über 70 nA und 90 nA auf 120 nA erhöht. Zweite Spur: Neurogramm aus ventrobasalem thalamischem Kern (VB_L). Deutliche Abnahme der neuronalen Aktivität während und unmittelbar nach ESM-Applikation mit anschließender Erholung (durch Pfeile markiert). Untere Spuren: rechtes und linkes EEG.

Daraufhin erfolgte die Beeinflussung der neuronalen Aktivität mittels mikroiontophoretischer Applikation von ESM.. Die Applikationsdauer der Substanz betrug mindestens 60 Sekunden, in einigen Experimenten mehrere Minuten. Nach der Applikation wurde die Erholungsphase aufgezeichnet. Ein solcher Versuchsabschnitt wurde im Computer als Datenfile gespeichert und später offline ausgewertet (s. Abbildung 5).

Gegen Ende des Versuches bzw. bei Veränderung der Elektrodenposition wurde zur späteren Verifikation des Ableitortes eine Farbstoffmarkierung vorgenommen. Unter Verwendung eines Reizgerätes (Stimulator 1- Typ 215/I, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) wurde der Farbstoff Chicago Sky Blue B6 (Sigma Chemical Co., St. Louis MO, USA) iontophoretisch in das Hirngewebe ausgetrieben. Hierzu wurden 30-40 Rechteckimpulse mit der Dauer 3 s und dem Grundrhythmus 1/6 s sowie einer Amplitude von 0.3 mA (im Einzelfall bis zu 10 mA) appliziert. Vor dieser Reizung wurde dem Tier 0.01 mg Fentanyl verabreicht, um eventuelle Auswirkungen des Stromes auf die Schmerzempfindung zu unterdrücken.

Zur Beendigung des Experimentes wurden die Tiere durch eine Überdosis Pentobarbital (150 mg/kg i.p.) getötet. Das Eintreten des Todes wurde anhand des Nulllinien-EEG und Aussetzen der Spontanatmung festgestellt.

Um das Gehirn einer histologischen Aufarbeitung zuzuführen, wurde die Ratte zunächst dekapitiert. Dann wurde die Kalotte mittels chirurgischer Pinzette entfernt. Das Zerebrum inklusive Zerebellum wurden unter Verwendung eines scharfen Löffels nach Hemingway aus dem knöchernen Schädel gelöst, nachdem sämtliche Hirnnerven durchtrennt worden waren. Das Gehirn wurde für eine Woche in 4 % Formalin in PBS (pH 7.4) kühl gelagert.

2.3.5. Histologische Aufarbeitung

Nach einwöchiger Aufbewahrung in Paraformaldehydlösung wurden die Gehirne in 30 %ige Sucroselösung getaucht und für weitere drei Tage aufbewahrt. Es folgte die Anfertigung 40 µm dicker koronarer Kryoschnitte und deren Färbung mit Kresylviolett.

Die Farbstoffmarkierungen dienten der Verifikation der Ableitorte und waren eine unabdingbare Voraussetzung für den Einschluss der Ergebnisse des jeweiligen Experimentes in die statistische Analyse. Als Referenz diente wiederum der Atlas von Paxinos und Watson [80].

2.4. Rechnergestützte Datenanalyse

Die Datenanalyse erfolgte mit dem Ziel, eine Aussage bezüglich der Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität in unterschiedlichen thalamischen und kortikalen Kerngebieten zu treffen. Hierzu wurde das Spike 2 Software-Paket (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) verwendet.

2.4.1. Rauschanalyse

Für die Analyse extrazellulär aufgezeichneter Nervenzellaktivität ist eine Unterscheidung zwischen neuronalen Potenzialen und dem technischen Rauschen (Spike-Detektion) notwendig. Im Rahmen der Spike-Detektion werden Schwellenwerte festgelegt, die von den Signalen überstiegen werden müssen, um als neuronale Aktivität bewertet zu werden. Um für die gesamte Phase eines Experimentes einen einheitlichen Schwellenwert verwenden zu können, ist es erforderlich zu prüfen, ob sich das Rauschniveau in der Kontrollphase von dem während Substanzapplikation unterscheidet.

Die Rauschanalyse wurde mit der Spike 2 Software durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte an Neurogrammen des VB (n=6), des NRT (n=4) und des S1-HL (n=4). Die Kontroll- und Applikationsphase wurden jeweils in fünf gleich große Abschnitte unterteilt. Dann wurde aus jedem dieser Abschnitte ein 200 ms langes Intervall, das keine Summenaktionspotenziale enthielt, willkürlich ausgesucht (s. Abbildung 6). Diese Zeitintervalle wurden durch die Analyse-Software in zehn 20 ms lange Sequenzen unterteilt. Aus der Abtastrate von 10 kHz ergab sich, dass jeder dieser Sequenzen 200 Spannungswerte zugeordnet wurden, aus welchen die Varianz berechnet wurde. Aus den somit gewonnenen zehn Varianzen aus zehn Sequenzen wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Für jeden zuvor ausgewählten Abschnitt wurde analog verfahren und aus den fünf Varianzmittelwerten erneut das Mittel berechnet und als Niveau für den Rausch festgelegt.

In keinem der untersuchten Hirngebiete bestand ein signifikanter Unterschied in der Höhe des Rauschs unter Kontroll- bzw. Applikationsbedingungen (Wilcoxon-, T-Test; s. Tabellarischer Anhang, Tabellen A-C).

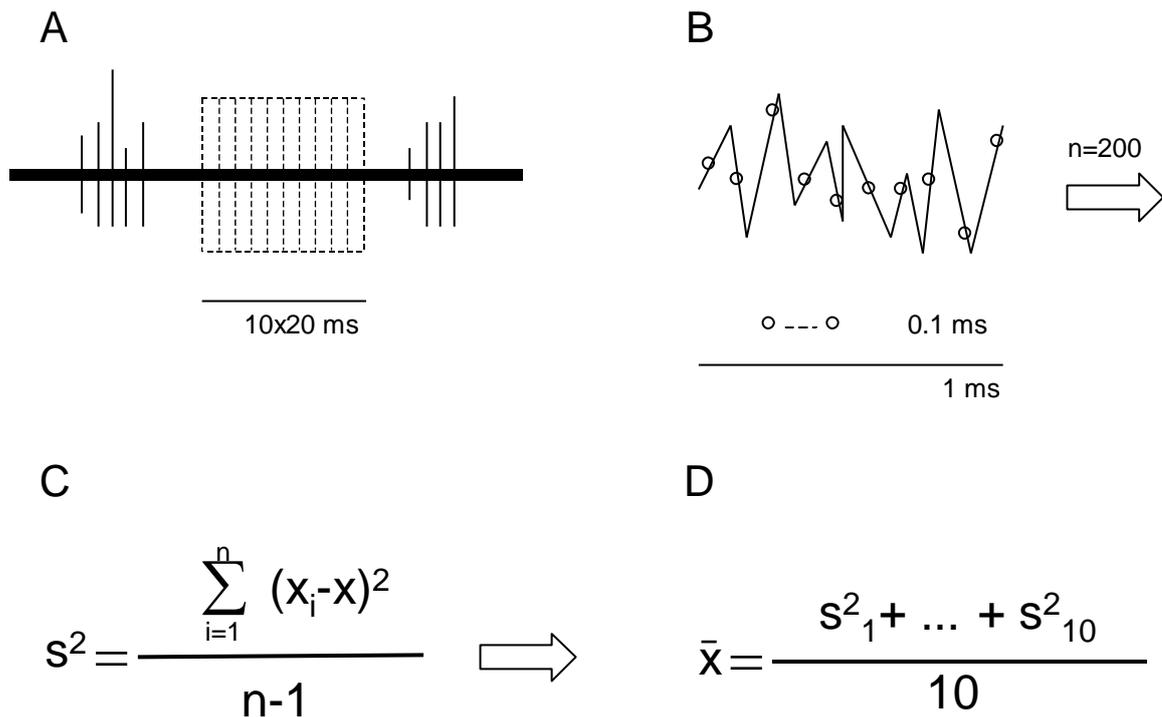


Abb. 6: Schematische Darstellung der Rauschanalyse. A) Neurogramm mit Summenaktionspotenzialen. Zwischen den Potenzialen liegt ein 200 ms langes Intervall ohne Entladungen, das in 10 Abschnitte à 20 ms unterteilt wurde. B) Vergrößerte Darstellung des Neurogramms. Die Kreise markieren die in die Rauschanalyse einbezogenen Spannungswerte. Insgesamt wurden für jeden 20 ms langen Abschnitt 200 Werte gespeichert. C) Berechnung der Varianz aus 200 Werten. D) Berechnung des Mittelwertes aus 10 Varianzen der unterschiedlichen Abschnitte. Nicht dargestellt ist die Mittelwertberechnung für die zuvor ausgesuchten fünf Zeitabschnitte.

2.4.2. Erfassung SWD-bezogener Nervenzellaktivität

Zur weiteren Datenanalyse wurden das Neurogramm und das EEG einer rechnergestützten Spike-Detektion zugeführt. Dabei kamen zwei unterschiedliche Methoden zur Anwendung, die sich im wesentlichen in der Festlegung des Schwellenwertes unterscheiden.

Die Analyse nach Methode A basiert auf der Detektion von Summenaktionspotenzialen anhand ihrer Amplituden. Summenaktionspotenziale mit einer Amplitude, deren Betrag dem zuvor vom Untersucher festgelegten Spannungswert Δ (in μV) gleich oder größer

sind, werden identifiziert und der Zeitpunkt des Amplitudenmaximums durch ein digitales Signal in einem separaten Analysekanal markiert (s. Abbildung 7A). Um möglichst alle Entladungen in die Analyse einzuschließen, wurde der Betrag des erforderlichen Amplitudenaufstrichs Δ bei Methode A so gering gewählt, dass alle gerade den Rausch übersteigenden Amplituden detektiert wurden. Da die Höhe des Rauschniveaus durch die Substanzapplikation unbeeinflusst bleibt (s. 2.4.1.), konnten die neuronalen Potenziale durch Festlegung eines einzigen Spannungswertes sicher vom Rausch abgetrennt werden.

Der Detektionsalgorithmus von Methode B beruht auf der standardisierten Festlegung eines Schwellenwertes (in μV). In der vorliegenden Studie wurde der Schwellenwert zehn Prozent über den in der Rauschanalyse ermittelten Spannungswert gelegt (s. 2.4.1.). Der Zeitpunkt der Überschreitung des Schwellenwertes durch das Potenzial wurde in digitalisierter Form im Analysekanal gespeichert (s. Abbildung 7B).

Beide Methoden wurden exemplarisch miteinander verglichen. Hierzu wurden drei Datenfiles aus dem VB und einer aus S1-HL ausgewertet und Peri-Event-Zeit-Histogramme (PEZH) erstellt.

Die mittlere Verminderung der SWD gekoppelten Nervenzellaktivität durch ESM im VB betrug nach Analyse mit Methode A 37,7 % gegenüber 37,3 % bei Auswertung mit Methode B. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant (s. Tabelle 2; Abbildung 7C,D). Gleiches gilt für die Auswertung der Daten aus der Region S1-HL. In der vorliegenden Studie fand für die Spike-Detektion Methode A Anwendung, die in eine Software-Routine der Spike 2-Software integriert ist.

Die Spike-Detektion für das EEG verlief prinzipiell gleichartig wie in Methode A. Zunächst wurden durch eine Software-Routine für alle SWD, die mindestens eine definierte Amplitude aufwiesen, in einem separaten Kanal digitale Signale gespeichert. Die Amplitude des Spikes der SWD musste mindestens dreimal so groß sein wie die Amplituden des EEG-Hintergrundmusters. Die SWD wurden zum Zeitpunkt des Maximums der Spitzenkomponente der SWD markiert.

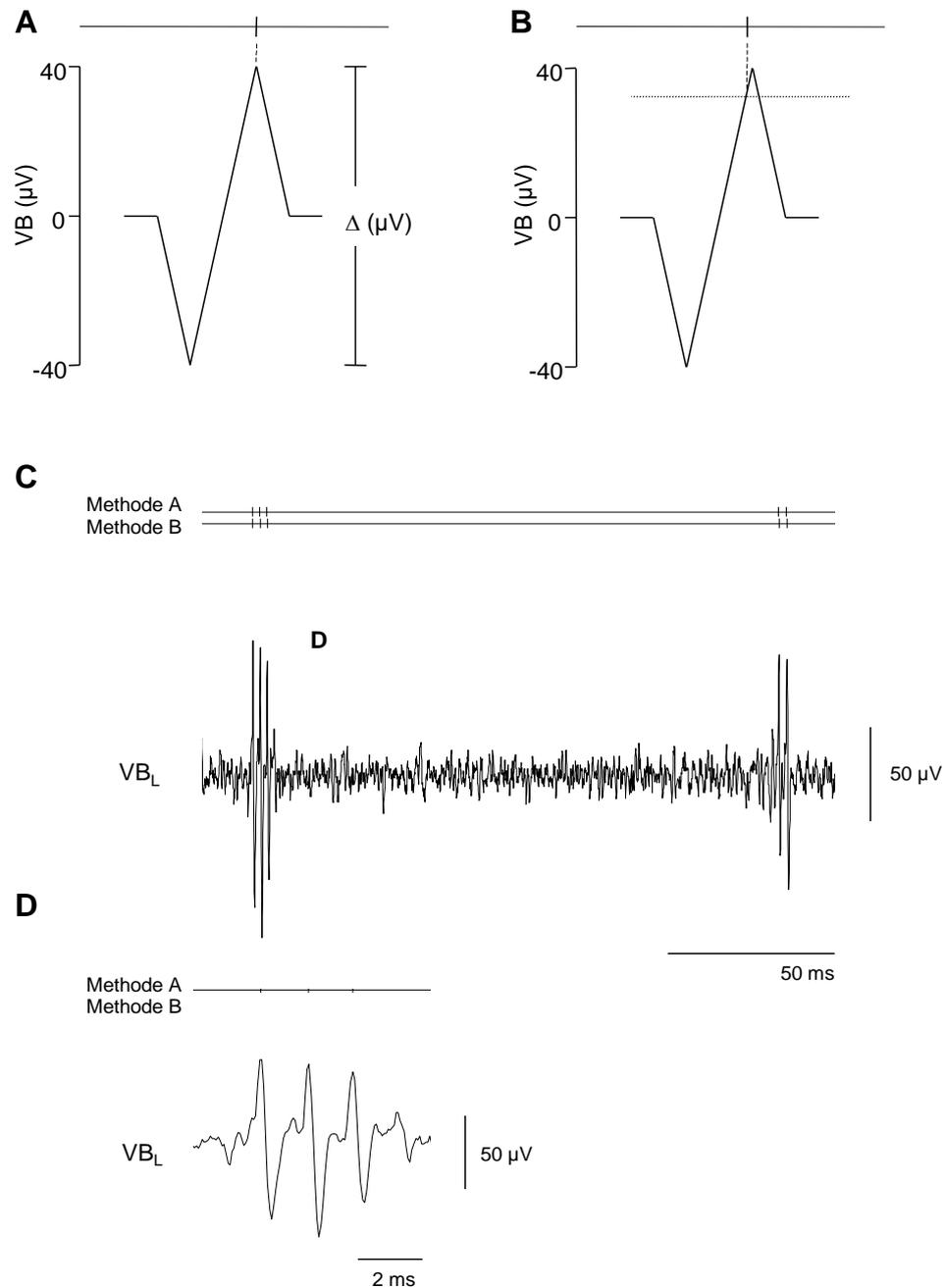


Abb. 7: Vergleich der beiden Auswertmethoden zur Spike-Detektion. A) Methode A. Analysekanal mit digitaler Markierung (obere Spur) und schematische Darstellung eines Summenaktionspotenzials. Die Amplitudenhöhe Δ (in μV) des Summenaktionspotenzials ist das entscheidende Kriterium für die Detektion. Das digitale Signal markiert das Maximum des Potenzials. B) Methode B. Darstellung wie in A). Die Überschreitung des Schwellenwertes führt zur Spike-Detektion. Das digitale Signal markiert den Zeitpunkt der Überschreitung des Schwellenwertes. C) Originalregistrierung aus VB. Analysekanäle für beide Methoden (obere Spuren), Neurogramm (untere Spur). D verweist auf die Ausschnittsvergrößerung in D). Die beiden Methoden zeigen keinen quantitativen Unterschied in Bezug auf die detektierten Signale. D) Ausschnittsvergrößerung aus C). Analysekanäle (obere Spuren), Neurogramm (untere Spur). Eichbalken $50\mu\text{V}$. Die Zahl der detektierten Amplituden ist gleich, lediglich die zeitliche Korrelation ist verschieden.

Ort	File	A		B		Wirkung Δ (%)	
		K	ESM	K	ESM	A	B
VB	1203	5,43	3,40	5,07	2,80	-37,4	-44,8
	1516	7,17	5,88	4,18	3,27	-18,0	-21,8
	0412	3,47	1,47	4,41	2,41	-57,6	-45,4
	Mittelwert	5,36	3,58	4,55	2,83	-37,7	-37,3
S1-HL	4407	4,42	4,83	4,21	4,57	9,3	8,6

Tab. 2: Vergleich der Auswertmethoden A und B für Ableitungen aus Nucleus ventralis basalis thalami (VB) und somatosensorischem Kortex (S1-HL). Die Zahl der Entladungen pro SWD (dis/SWD) sind für die Kontrollphase (K) und eine Abschnitt der Substanzgabe (ESM) aufgetragen. In den beiden rechten Spalten wurde die relative Wirkung (berechnet in % vom Ausgangswert) errechnet. Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

2.4.3 Erfassung der Wirkung von Ethosuximid auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität

Die Auswertung der Befunde zur ESM-Wirkung auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität erfolgte unter Verwendung von PETH. Die Konstruktion von PETH dient der zeitlichen Auftragung und Darstellung zweier in Abhängigkeit voneinander auftretender Ereignisse. In der vorliegenden Studie wurden die Summenaktionspotenziale aus dem jeweiligen Ableitort dem Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG zeitlich zugeordnet. Das Zeitintervall wurde auf 80 ms vor und nach dem Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG begrenzt. Das Maximum entsprach somit dem Zeitpunkt 0. Die registrierten Potenziale wurden in 54 Klassen von jeweils 3 ms Dauer eingeordnet und summiert (s. Abbildung 8).

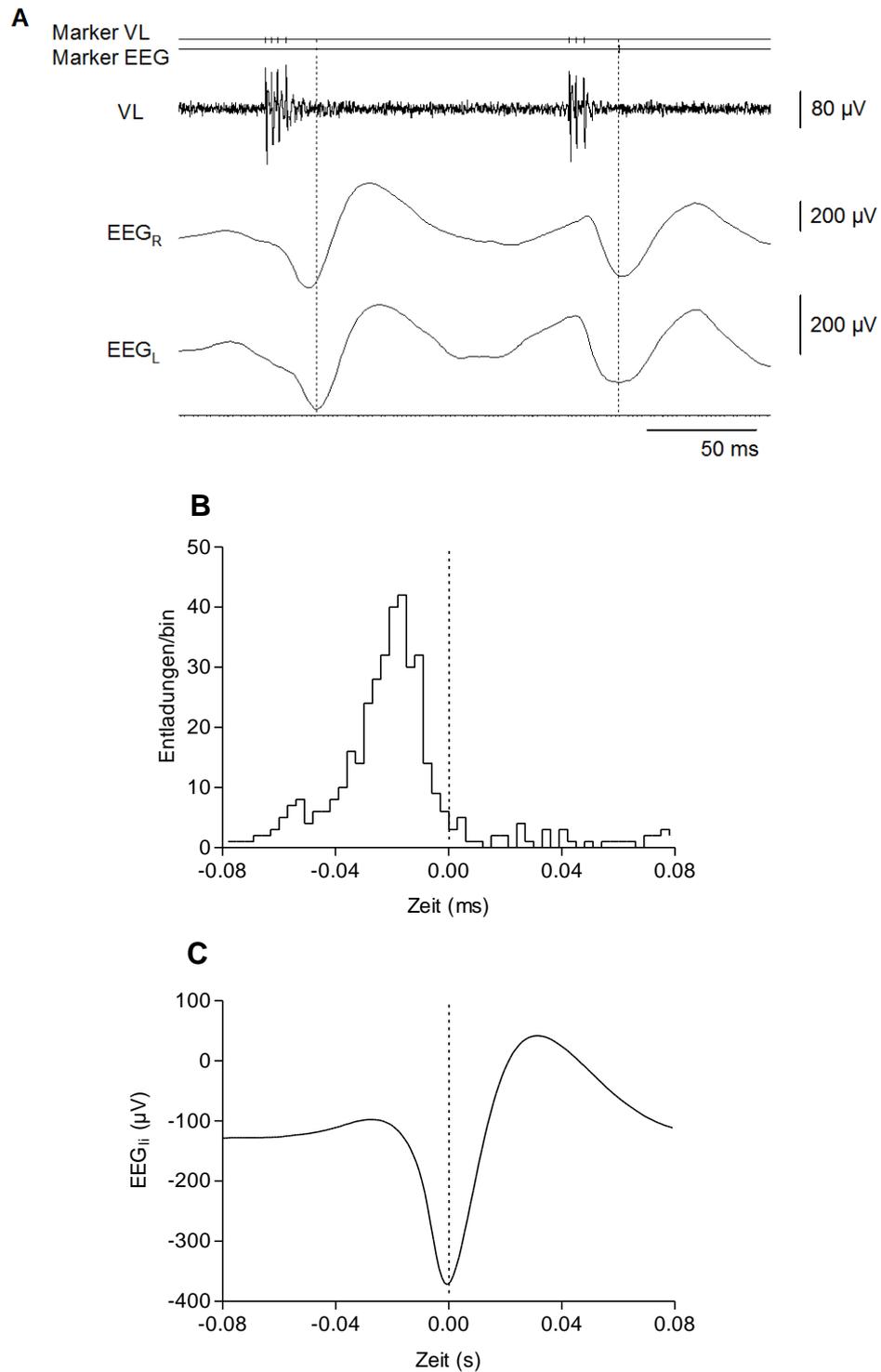


Abb. 8: Konstruktion eines Peri-Event-Zeit-Histogramms. A) Originalregistrierung mit Neurogramm aus VL (obere Spur) und EEG (untere Spuren). Im oberen Teil der Abbildung Darstellung der Markerkanäle mit den digitalen Markierungen aus der Spike-Detektion für das Neurogramm und das EEG. Zur Konstruktion der PETH werden die VL-Marker dann je nach ihrem zeitlichen Auftreten in Bezug auf den EEG-Marker einer Klasse zugeordnet und summiert. Die gestrichelte Linie markiert das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG, also den Zeitpunkt 0. B) PETH aus diesem Experiment, für das 127 SWD analysiert wurden. Jedes Potenzial, das im Zeitintervall ± 80 ms auftrat, wurde der entsprechenden Klasse zugeordnet. Der Saum an Aktivität, der an den Rändern der PETH sichtbar ist, entspricht überwiegend dem technischen Rauschen. C) SWD durch Signalmittelungsverfahren aus 127 Zyklen.

Die PETH stellen eine etablierte Methode dar, anfallsbezogene neuronale Aktivität zu untersuchen [41;90;91;97]. In der vorliegenden Arbeit wurde anhand von PETH die Wirkung des Antiepileptikums ESM auf thalamische und kortikale Neurone charakterisiert. Dazu wurden PETH für die verschiedenen Abschnitte eines Experimentes konstruiert und miteinander verglichen. Als Ausgangswert wurde die SWD-bezogene Nervenzellaktivität in der Kontrollphase unmittelbar vor Beginn der Substanzgabe errechnet. Die Phase der Substanzapplikation wurde zur Analyse in fünf (im NRT in drei) Zeitabschnitte unterteilt. Unmittelbar anschließend folgte die Erholungsphase. Es muss herausgestellt werden, dass in einem Experiment für jeden Zeitabschnitt die gleiche Zahl an SWD zur Konstruktion der PETH verwendet wurde. In jedem Abschnitt wurde die Zahl der Entladungen durch die Zahl der SWD im EEG dividiert. Dadurch wurde einerseits der zeitliche Bezug der Entladungen zur SWD hergestellt und andererseits eine Normierung der anfallsbezogenen Nervenzellaktivität erreicht. Dieses Vorgehen ermöglichte sowohl den interindividuellen Vergleich der neuronalen Entladungen als auch die Gegenüberstellung der an verschiedenen Hirnstrukturen erhobenen Daten. Als Parameter der anfallsbezogenen Nervenzellaktivität entstand somit der Wert *Entladungen pro SWD (dis/SWD)*.

Die relativen Veränderungen der neuronalen Aktivität in Zeitabschnitt E2 und die maximalen relativen Veränderungen wurden für das jeweilige Kerngebiet berechnet und den Ergebnissen aus den anderen untersuchten Hirnstrukturen statistisch gegenübergestellt. Dadurch konnte die differente ESM-Wirkung auf unterschiedliche Kerngebiete charakterisiert werden.

2.5. Statistik und Grafik

Alle statistischen Analysen wurden mit den Software Programmen Microsoft Excel '97 und GraphPad Prism, Version 2.01 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA) durchgeführt. Zum Einsatz kam der zweiseitige Zweistichprobentest nach Wilcoxon. Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0.05$ gewählt. In den Abbildungen sind die Signifikanzniveaus mit * für $p \leq 0.05$, ** für $p \leq 0.02$ und *** für $p \leq 0.001$ gekennzeichnet. Die Angaben über die Gruppengrößen sind dem Abschnitt Ergebnisse zu entnehmen.

Für das Erstellen der Grafiken (PSTH, Blockdiagramme) fand die Software GraphPad Prism Version 2.01 Anwendung.

Bedingt durch die Vielzahl der abgegriffenen Parameter und durch die zur Anwendung gekommenen hohen Abtastraten erreichten die abgespeicherten Files eine Größe im Bereich von Megabyte. Deswegen wurden Wechselplatten vom Typ Zip 250-10MEGA als zusätzliche Speichermedien verwendet. Die analogen Rohdaten wurden auf Videoband gespeichert.

3. Resultate

3.1. Veränderungen der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus ventralis basalis thalami (VB)

In zehn Versuchstieren des WAG/Rij-Stammes wurden elf mikroiontophoretische ESM-Applikationen an Zellverbänden des ventrobasisalen thalamischen Kerns (VB) vorgenommen ($n=11$; Tabellarischer Anhang, Tab. D). Die neuronale Aktivität wurde in neun Fällen im VB der rechten und zweimal im VB der linken Hirnhälfte aufgezeichnet und hinsichtlich der Wirkung von ESM getestet. Die mittlere ESM-Konzentration lag bei 0.66 ± 0.06 M (Mittel \pm SE). Zum Austreiben des Wirkstoffs aus der Kapillare wurden Ejektionsströme im Bereich von 12.5 bis 120 nA verwendet. Im Anhang findet sich eine tabellarische Darstellung der Daten.

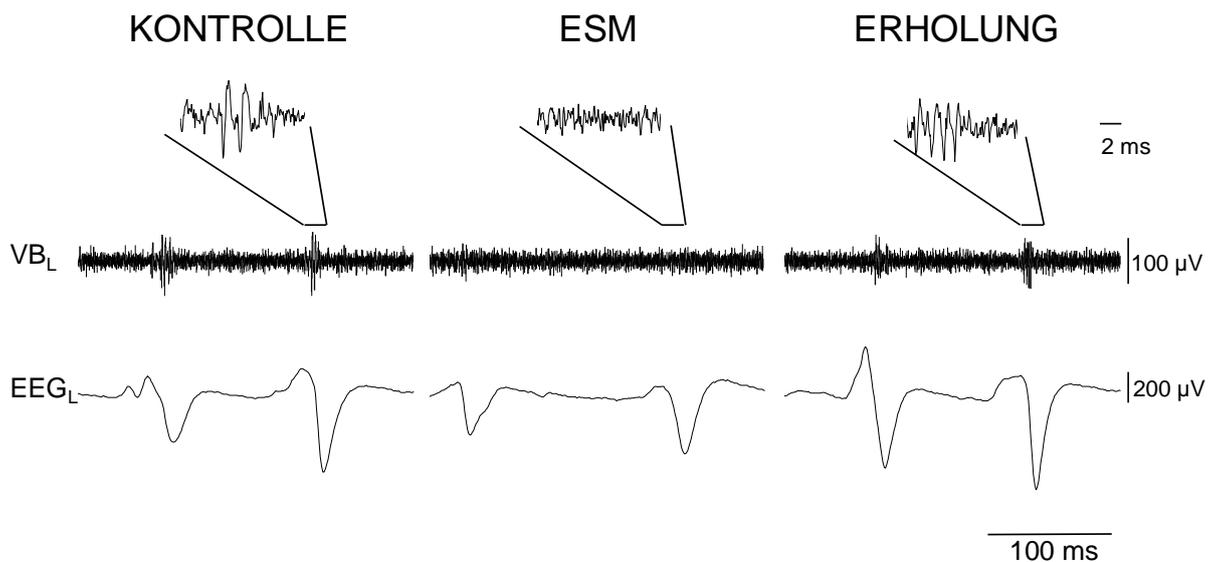


Abb. 9: SWD-bezogene neuronale Aktivität im Nucleus ventralis basalis (VB) vor, während und nach Applikation von ESM. Darstellung einzelner Versuchsabschnitte mit Neurogramm des VB und einer EEG-Spur. Die Einsatzfiguren sind 2 ms lange Ausschnittsvergrößerungen des Neurogramms. Unter ESM-Applikation konnte eine deutlich reduzierte Zahl neuronaler Entladungen beobachtet werden, die nach Ende der Ejektion wieder anstiegen.

In den hier vorgestellten Experimenten zeigten die VB-Neurone ein Entladungsverhalten, das durch eine Abfolge gruppierter Aktionspotenziale (Bursts) in enger zeitlicher Kopplung zur Spitzenkomponente der SWD im EEG charakterisiert war. Diese Beobachtungen entsprechen jenen anderer Arbeitsgruppen an Tieren des WAG/Rij-Stammes [44;101].

Während mikroiontophoretischer ESM-Applikation zeigte sich eine deutliche Reduktion der SWD-bezogenen Entladungen (s. Abbildung 5 und 9).

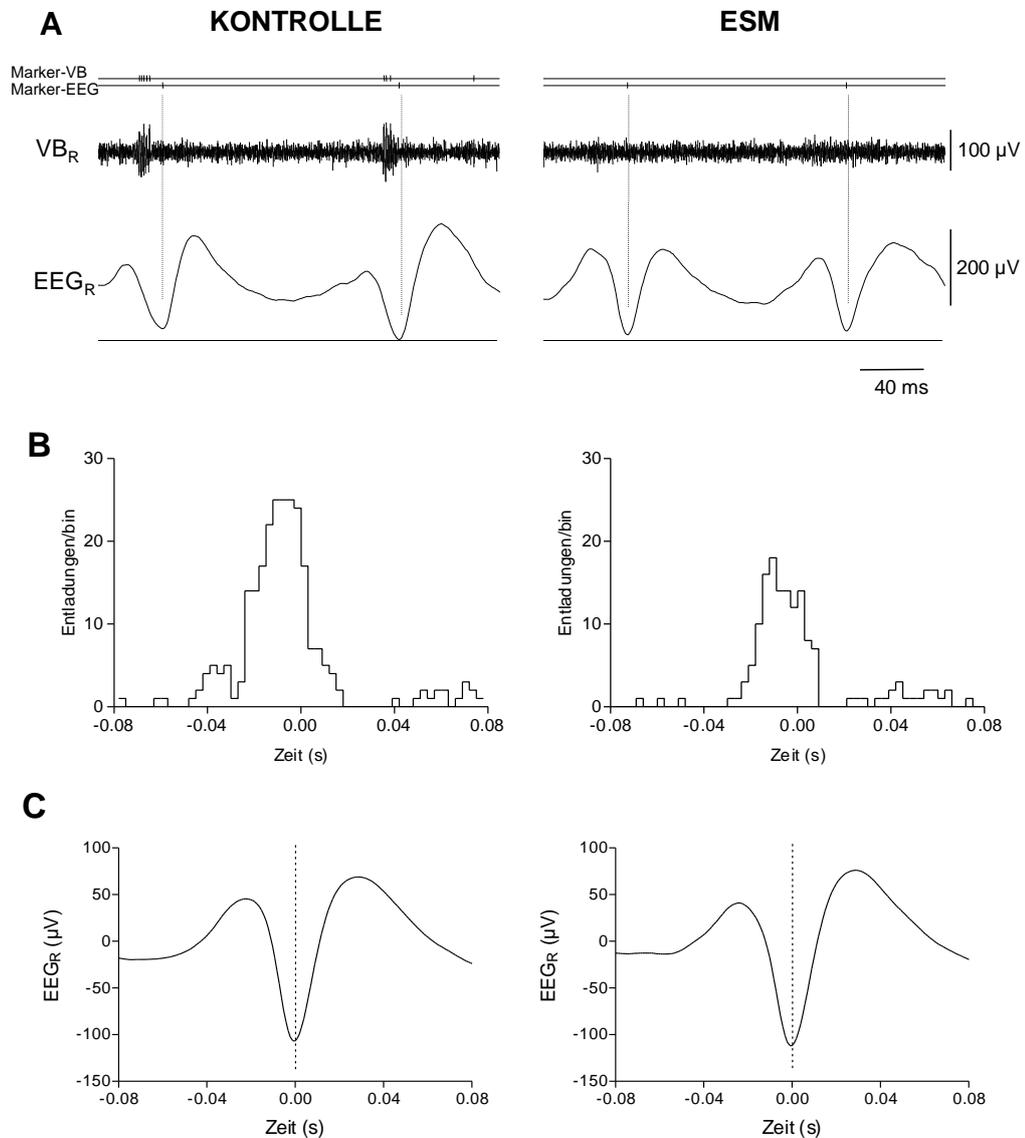


Abb. 10: Darstellung der Datenbearbeitung von der Originalregistrierung bis zum Peri-Event-Zeit-Histogramm (PETH). A) Originalregistrierung des Neurogramms im VB und EEG. Obere Spur: Neurogramm, untere Spur: EEG rechts. Darüber Markerkanäle für VB und EEG mit durch die Spike-Detektion gewonnenen digitalen Signalen. Die gestrichelte Linie entspricht dem Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG, das bei der Konstruktion des PETH als Zeitpunkt 0 verwendet wurde. B) Darstellung eines PETH. Für die Erstellung des PETH wurden in je 46 Zyklen jene neuronalen Ereignisse unter Verwendung der Markierungen des Markerkanals summiert, die innerhalb ± 80 ms um den Zeitpunkt 0 herum auftraten. Klassenbreite 3 ms. C) Darstellung einer gemittelten SWD. Die SWD wurde durch Signalmittelung von 46 Zyklen erhalten. Die gestrichelten Linien entsprechen jeweils dem Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG, also dem Zeitpunkt 0 in der PETH.

Die Wirkung des Antiepileptikums ESM auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität wurde in fünf unterschiedlichen Zeitabschnitten (E1-E5) untersucht. Auf der Grundlage von Peri-Event-Zeit-Histogrammen (PETH) erfolgte die vergleichende Datenanalyse der unterschiedlichen Versuchsabschnitte. Abbildung 10 verdeutlicht die Konstruktion eines PETH aus den aufgezeichneten Messwerten.

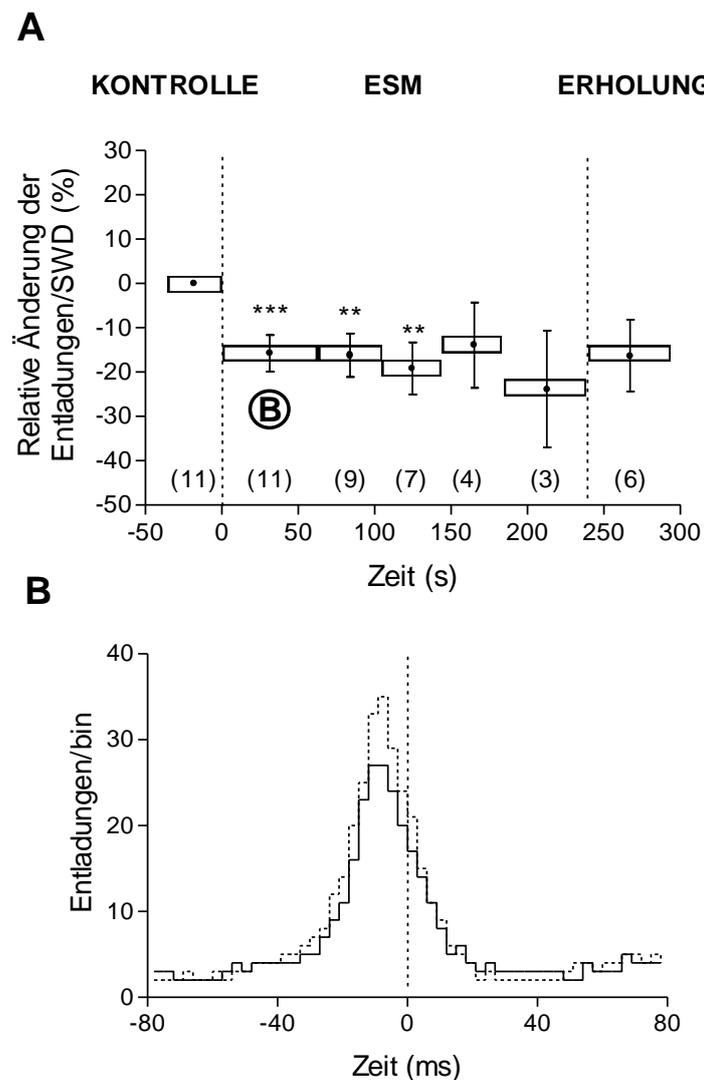


Abb. 11: Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität des Nucleus ventralis basalis thalami (n=11). A) Zeitverlauf der relativen Veränderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität während ESM-Gabe in Bezug auf die Kontrollphase. Darstellung der Veränderung unter ESM in fünf Zeitabschnitten E1-E5 und anschließender Erholung. In Klammern Anzahl der analysierten Experimente. Die gestrichelten Linien markieren den Beginn und das Ende der Substanzapplikation. *** entspricht $p \leq 0.001$, ** entspricht $p \leq 0.02$. B) Kumulatives PETH mit Vergleich der Kontrollperiode (gestrichelt) und Abschnitt E1 der Substanzapplikation (durchgezogen; n=11). Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Es zeigt sich eine signifikante Abnahme der neuronalen Aktivität um $15.8 \pm 4.1\%$ ($p \leq 0.001$).

Es konnte gezeigt werden, dass im ersten Zeitabschnitt der ESM-Gabe in allen Experimenten eine Abnahme der neuronalen Entladungen eintrat. Im Mittel zeigte sich eine signifikante Verminderung von 6.17 ± 0.78 Entladungen pro SWD (dis/SWD) auf 5.35 ± 0.82 dis/SWD ($p \leq 0.001$). Das entspricht einer relativen Veränderung um $-15.8 \pm 4.1\%$ (s. Abbildung 11).

Bei Betrachtung der einzelnen Experimente fielen große quantitative Unterschiede bezüglich der Abnahme neuronaler Aktivität durch ESM auf. Im Abschnitt E1 variierte diese von 2.1 % bis 41.9 %.

Im Zeitabschnitt E2 konnte eine Verstärkung der hemmenden ESM-Wirkung auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität verzeichnet werden. Die Zahl der Entladungen sank auf 5.04 ± 0.8 dis/SWD ($n=9$; $p \leq 0.02$). Hierbei ist zu beachten, dass im Abschnitt E1 eine mittlere Ejektionsstromstärke von 43.4 ± 6.4 nA Verwendung fand, während diese in E2 49.2 ± 8.4 nA betrug. Die anliegenden Ejektionsströme unterschieden sich nicht signifikant.

Im nachfolgenden Versuchsabschnitt E3 blieb die neuronale Aktivität gegenüber der Kontrollphase weiter signifikant vermindert. In E4 und E5 waren die Fallzahlen so gering ($n=4$ bzw. $n=3$), dass nur eingeschränkt Aussagen getroffen werden können. In der Erholungsphase nach Ende der Applikation wurde ein Wiederanstieg der Entladungen auf 6.23 ± 1.32 dis/SWD gemessen ($n=7$; s. Abbildung 11).

Anschließend wurde die maximale Wirkung des ESM auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität berechnet. Dazu wurde jeweils derjenige Zeitabschnitt aus den Experimenten ausgewählt, in dem die Zahl der Entladungen/SWD während ESM-Gabe die größte Abweichung von den Werten in der Kontrollperiode aufwies. Der statistische Vergleich zeigte hinsichtlich des maximalen ESM-Effekts eine signifikante Abnahme der SWD-bezogenen Entladungen um $25.4 \pm 4.7\%$ auf 5.00 ± 0.82 dis/SWD ($n=11$; $p \leq 0.001$).

In einigen Experimenten gelang es, Aktionspotenziale von Einzelzellen des VB aufzuzeichnen. Unter der ESM-Applikation trat ebenfalls eine Abnahme der neuronalen Aktivität ein. Der Betrag der relativen Abnahme der Entladungen war quantitativ vergleichbar mit den relativen Änderungen in den multi-unit Ableitungen (s. Abbildung 12). Im dargestellten Beispiel wurde eine um 15.2 % geringere Zahl SWD-bezogener Entladungen festgestellt.

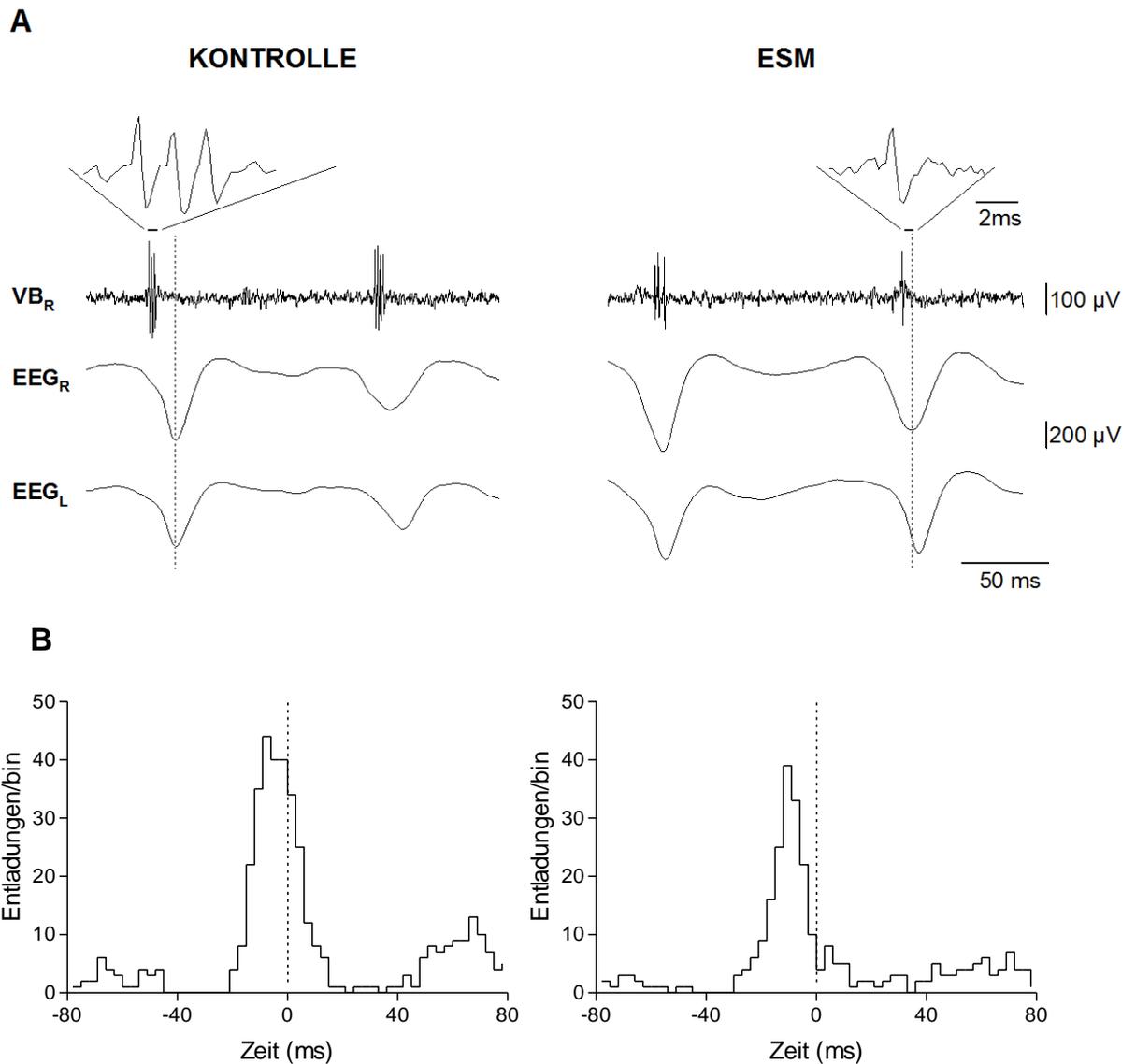


Abb. 12: Wirkung von ESM auf Aktionspotenziale von Einzelzellen aus dem Nucleus ventralis basalis thalami (VB). A) Neurogramm aus dem VB (obere Spur) und simultane EEG-Ableitung (untere Spuren) vor und während ESM-Applikation. Die Einsatzfiguren sind 2 ms lange Ausschnittsvergrößerungen der neuronalen Entladungen. Unter ESM zeigen sich deutlich weniger SWD-bezogene Potenziale. B) PETH aus diesem Experiment unter Kontrollbedingungen und ESM-Wirkung. Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Die Abnahme der SWD-bezogenen Entladungen unter ESM in Abschnitt E1 betrug 15.2%.

Im Rahmen einer Pilotstudie an GAERS, in denen zehn Wirkstoffapplikationen an thalamischen Relaisneuronen vorgenommen wurden, bewirkte ESM eine vergleichbare Abnahme der SWD-korrelierten Nervenzellaktivität um 24.7 % ($p \leq 0.002$) [93].

3.2. Veränderung der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus reticularis thalami (NRT)

Im NRT wurde in vier Experimenten Wirkstoffapplikationen vorgenommen ($n=4$; Tabellarischer Anhang, Tab. E). Die Ableitelektrode wurde jeweils im posterioren Teil des Kerngebiets platziert. Im Gegensatz zu den spezifischen thalamischen Relaiskernen VB und VL sind die Nervenzellen hier wesentlich kleiner und liegen räumlich dichter beieinander. Dadurch gestaltete sich die extrazelluläre Ableitung der neuronalen Aktivität schwieriger. Die Kombination aus geringerer Amplitude der Summenaktionspotenziale und höherem Niveau des Hintergrundauschens resultierte in einem geringeren Signal-Rausch-Verhältnis. Durch die genannten Analysemethoden konnte die neuronale Aktivität trotzdem sicher identifiziert werden. In zwei Experimenten war durch das geringe Signal-Rausch-Verhältnis der aufgezeichneten Neurogramme keine zuverlässige Spike-Detektion möglich. Deshalb wurden diese nicht in die statistische Analyse eingeschlossen.

Das Entladungsverhalten der NRT-Neurone zeigte den bekannten zeitlichen Bezug zur Spitze der SWD [44]. Die Wirkstoffapplikation wurde in zwei Experimenten an Neuronen des rechten NRT vorgenommen und in den beiden anderen Fällen an Zellen des linken NRT. Die ESM-Konzentration betrug im Mittel 0.56 ± 0.06 M. Es kamen Ejektionsströme zwischen 40 nA und 60 nA zur Anwendung.

Bedingt durch die relativ kurzen Applikationsphasen beschränkte sich die Datenanalyse auf die Verwendung von lediglich drei Zeitabschnitten (E1-E3). Das Entladungsverhalten der NRT-Neurone wurde durch die ESM-Gabe in keinem Zeitabschnitt signifikant verändert (Abb. 13).

In Zeitabschnitt E2 wurde eine geringe Abnahme der Potenziale von 8.81 ± 1.6 dis/SWD auf im Mittel 8.48 ± 1.17 dis/SWD beobachtet. Diese Abnahme entspricht einer relativen Veränderung um -1.2 ± 5.2 %. Dabei fand ein mittlerer Ejektionsstrom von 62.5 ± 6.3 nA Anwendung.

Durch den Vergleich der Messwerte mit maximaler Auslenkung gegenüber der Kontrollphase ließ sich in drei Fällen eine Reduktion der SWD-bezogenen neuronalen Entladungen unter Substanzeinfluss sichern. Die mittlere relative Abnahme betrug 3.4 ± 5.6 %.

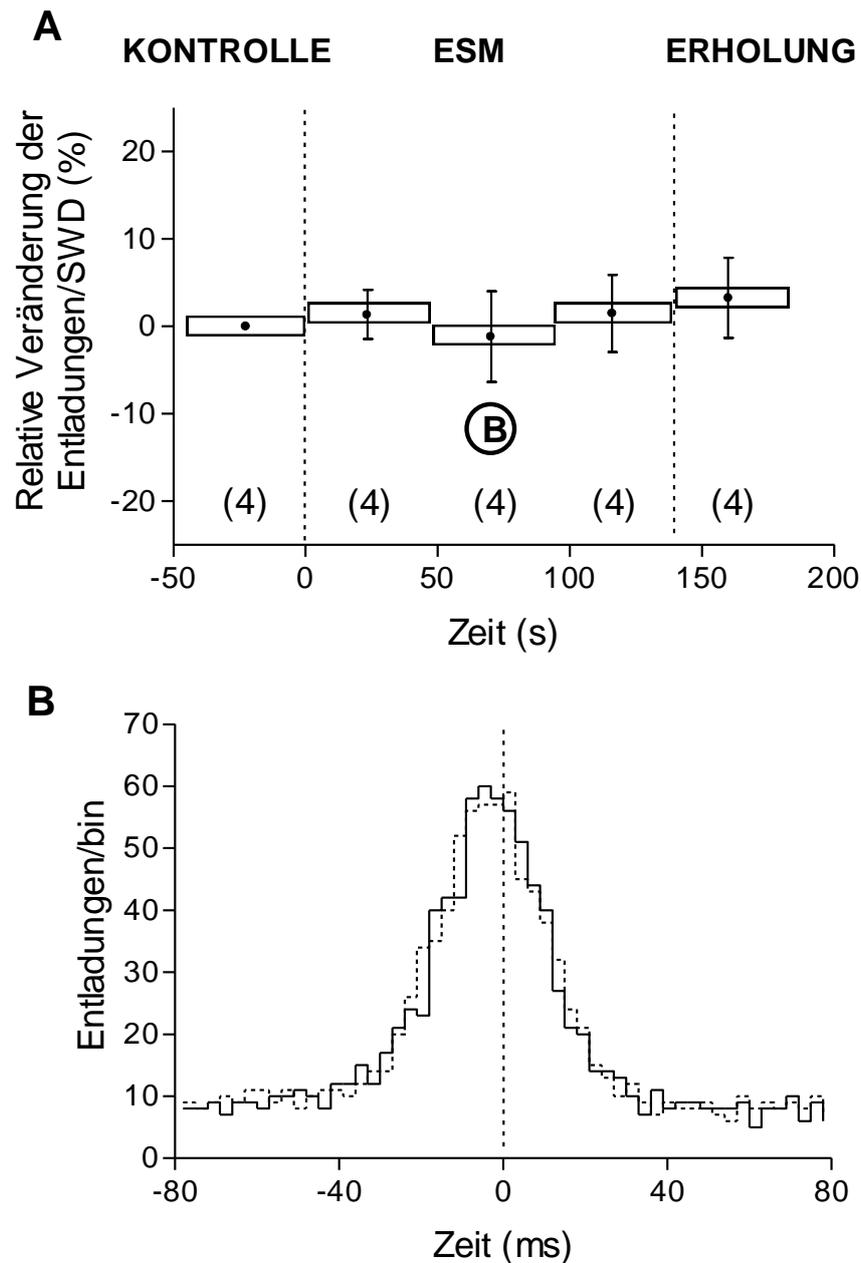


Abb. 13: Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität des Nucleus reticularis thalami (n=4). A) Zeitverlauf der relativen Veränderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität während ESM-Gabe in Bezug auf die Kontrollphase. Darstellung der Veränderung unter ESM in drei Zeitabschnitten E1-E3 und anschließender Erholung. In Klammern Anzahl der analysierten Experimente. Die gestrichelten Linien markieren den Beginn und das Ende der Substanzapplikation. B) Kumulatives PETH mit Vergleich der Kontrollperiode (gestrichelt) und Abschnitt E2 der Substanzapplikation (durchgezogen). Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Während der Applikation von ESM zeigen sich keine deutlichen Effekte auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität.

3.3. Veränderung der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Nucleus ventralis lateralis thalami (VL)

In diesem dem motorischen System zugehörigen thalamischen Kerngebiet wurden sieben ESM-Applikationen (fünf im VL der rechten und zwei im VL der linken Hemisphäre) in sechs WAG/Rij-Tieren durchgeführt (Tabellarischer Anhang, Tab. F). Die Beobachtungen zum zeitlichen Entladungsverhalten der VL-Neurone in Bezug auf die SWD entsprachen den Berichten aus anderen Studien an WAG/Rij [44]. Die Austreibung des Pharmakons aus der Kapillare erfolgte mit Ejektionsströmen zwischen 40 nA und 100 nA. ESM wurde ausschließlich in einer Konzentration von 0,5 M verwendet.

Bei der Analyse des SWD-bezogenen Entladungsverhaltens der VL-Neurone während ESM-Gabe fielen drei verschiedene Muster auf: In zwei Experimenten reduzierte ESM die Nervenzellaktivität während aller Versuchsabschnitte. In fünf Experimenten wurde ein biphasischer Verlauf des Entladungsverhaltens unter ESM-Gabe beobachtet. Dabei konnte in zwei Tieren zunächst eine Abnahme der Entladungen gezählt werden, die im weiteren Verlauf der Applikation über die gemessene Aktivität in der Kontrollphase anstieg, in drei Tieren zeigte sich ein reziprokes biphasisches Verhalten mit primärer Aktivierung und konsekutiver Abnahme.

In den Experimenten im VL konnte nur eine Tendenz zur Abnahme der neuronalen Aktivität durch die ESM-Gabe beobachtet werden. Durch Substanzgabe verringerte sich die Zahl neuronaler Potenziale im Abschnitt E2 von 4.43 ± 0.65 dis/SWD auf 4.22 ± 0.80 dis/SWD (s. Abbildung 14). Das entspricht einer relativen Abnahme um 6.6 ± 6.6 % gegenüber der Kontrollperiode. Die ESM-Ejektion erfolgte in diesem Zeitabschnitt mit einer Stromstärke von 60.0 ± 4.4 nA.

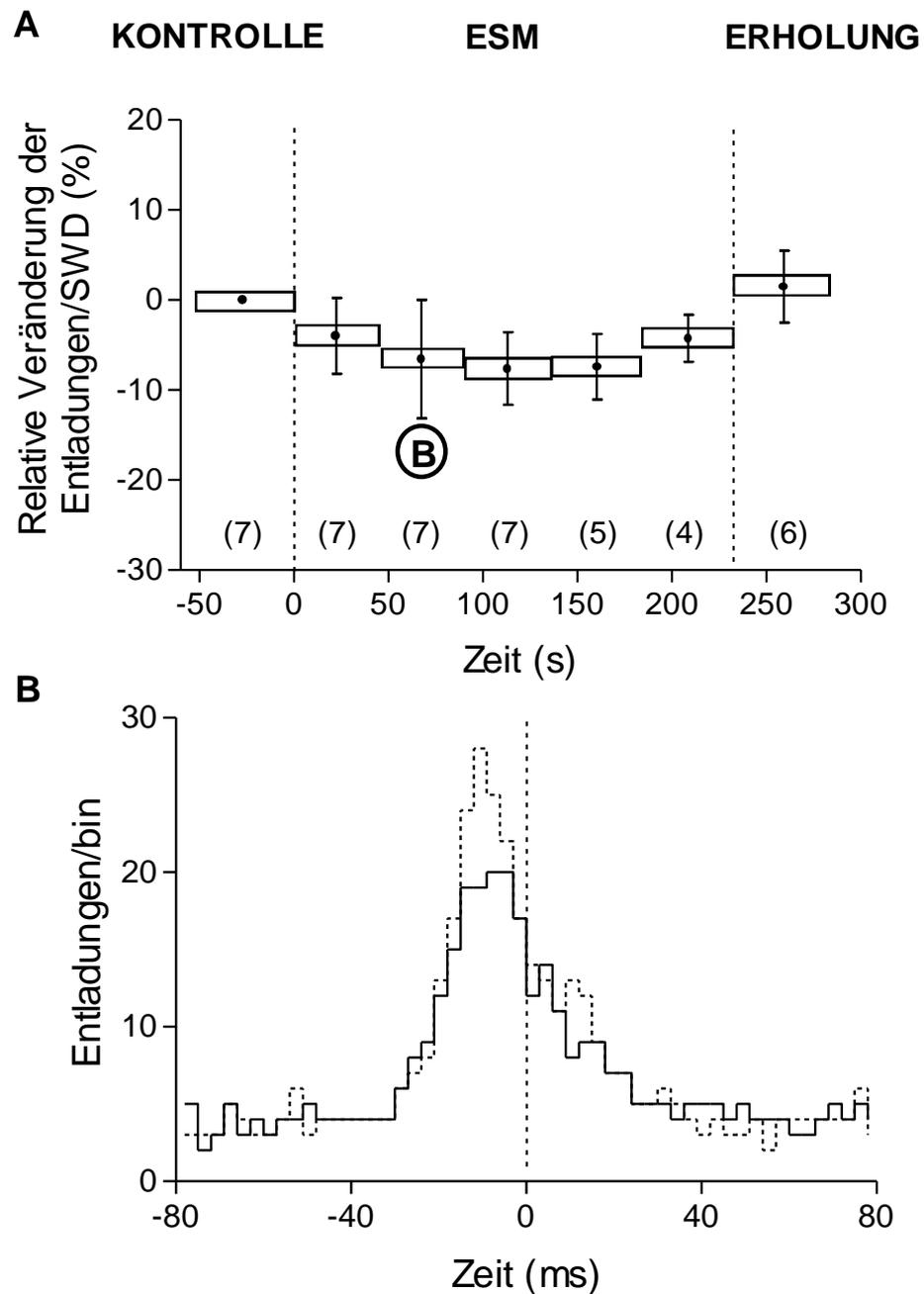


Abb. 14: Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität im Nucleus ventralis lateralis thalami (n=7). A) Zeitverlauf der relativen Veränderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität während ESM-Gabe in Bezug auf die Kontrollphase. Darstellung der Veränderung unter ESM in fünf Zeitabschnitten E1-E5 und anschließender Erholung. In Klammern Anzahl der analysierten Experimente. Die gestrichelten Linien markieren den Beginn und das Ende der Substanzapplikation. B) Kumulatives PETH mit Vergleich der Kontrollperiode (gestrichelt) und Abschnitt E2 der Substanzapplikation (durchgezogen). Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Eine tendenzielle Abnahme der Nervenzellaktivität unter ESM-Einfluss von 4.43 ± 0.66 dis/SWD auf 4.22 ± 0.80 dis/SWD wurde beobachtet.

Bei Betrachtung der maximalen Auslenkung der neuronalen Aktivität unter pharmakologischer Beeinflussung wurden sehr uneinheitliche Befunde offenkundig. Die Veränderungen in den einzelnen Experimenten reichten von einer relativen Reduktion der Entladungen um 26.0 % bis hin zu einer Aktivierung um 28.0 %. Hierbei ist hervorzuheben, dass die Aktivierung einer initialen Verminderung der Entladungen folgte. Im Mittel war die maximale Auslenkung des veränderten Entladungsverhaltens durch eine Tendenz zur Abnahme der SWD-korrelierten Entladungen um 7.6 ± 7.4 % charakterisiert. In sechs Fällen konnte unmittelbar nach Applikationsende die SWD-bezogene neuronale Aktivität bestimmt werden. Es wurde in vier Experimenten ein deutlicher Wiederanstieg der gezählten Potenziale im Vergleich zu Abschnitt E1 auf im Mittel 4.81 ± 0.73 dis/SWD nachgewiesen (n=6).

In drei separat analysierten Experimenten gelang die Aufzeichnung von Einzelzellaktivität (s. Abbildung 15). Für die Substanzapplikation wurden in zwei Fällen sehr niedrige Konzentrationen zwischen 5 und 15 mM verwendet, die außerdem mit niedrigen Ejektionsströmen im Bereich von 10 bis 20 nA ausgetrieben wurden. ESM induzierte dabei keine Veränderung des Entladungsverhaltens der VL-Neurone. In einem weiteren Fall wurde ESM in 0.75 M Lösung mit bis zu 100 nA appliziert und verursachte eine deutliche Zunahme der SWD-bezogenen neuronalen Aktivität.

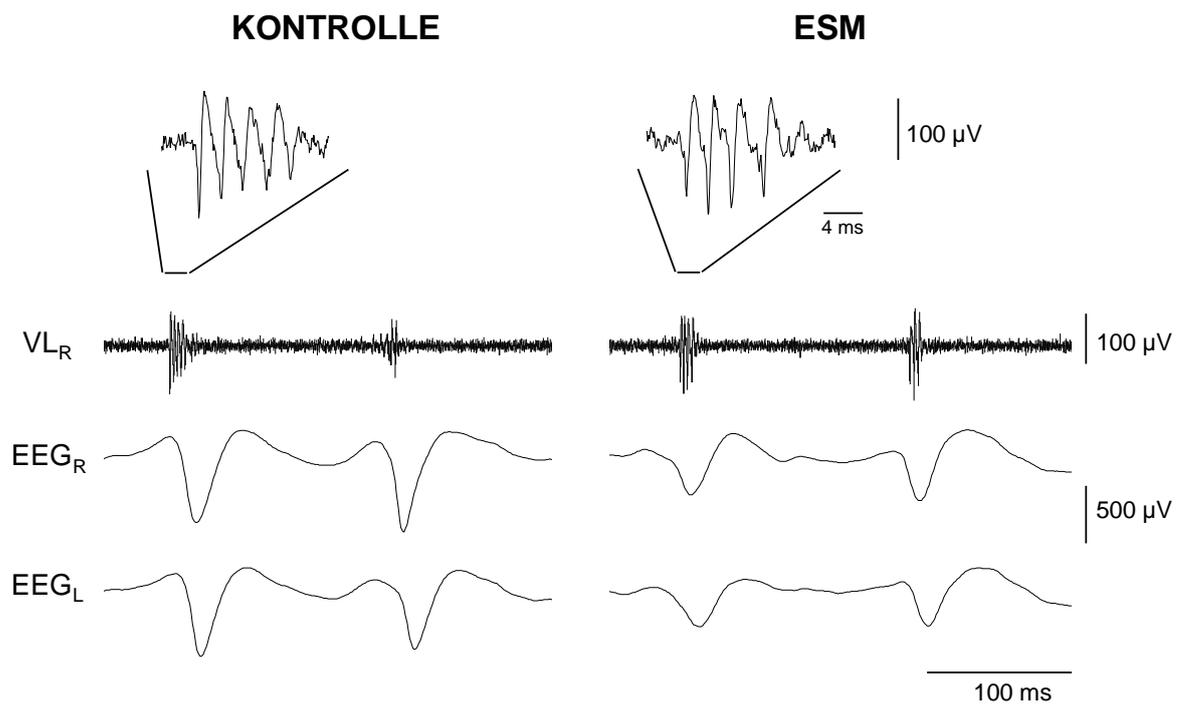


Abb. 15: Einzelzelleitung eines Neurons aus dem Nucleus ventralis lateralis (VL) vor und während Ethosuximid-Applikation. Neurogramm (obere Spur), EEG bilateral (untere Spuren). Die Ausschnittsvergrößerung zeigt eine SWD-bezogene Burstentladung des VL-Neurons. Während simultaner Applikation von ESM 5 mM und 10 mM aus zwei Lumina mit 12 respektive 18 nA zeigte sich keine Veränderung des Entladungsverhaltens.

3.4. Veränderung der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex (S1-HL)

In dem Areal des somatosensorischen Kortex, das die sensiblen Afferenzen des Hinterlaufs der Ratte empfängt, wurden sechs ESM-Applikationen (zweimal rechts, viermal linksseitig) in fünf WAG/Rij-Tieren durchgeführt ($n=6$; Tabellarischer Anhang, Tab. G). Die Wirkstoffgaben erfolgten mit Ejektionsströmen zwischen 40 und 120 nA. Die mittlere ESM-Konzentration betrug 0.67 ± 0.3 M. Die mikroskopische Untersuchung der Ableitorte ergab, dass einmal neuronale Aktivität aus Schicht IV abgeleitet wurde. Die Neurone in dieser Schicht empfangen monosynaptische Afferenzen aus dem VB. In zwei weiteren Tieren war die Ableitelektrode in Schicht V platziert. Dieser Schicht entspringen kortikofugale Axone, die die Verbindung zu subkortikalen Strukturen herstellen. In den

übrigen Experimente erfolgte die Ableitung aus den Bereichen der Schichten IV und V, wobei keine eindeutige Zuordnung des Ableitortes zu einer kortikalen Schicht möglich war. Die ESM-Applikation an Neurone aus S1-HL konnte keine signifikante Veränderung des Entladungsverhaltens induzieren. In Zeitabschnitt E2 wurde in vier von fünf Experimenten eine gegenüber der Kontrollphase gesteigerte Entladungsrate gezählt. Daraus errechnete sich eine relative Zunahme der SWD-bezogenen Potenziale um $8.3 \pm 11.3 \%$ (s. Abbildung 16). In diesem Zeitabschnitt wurde ESM mit einem mittleren Ejektionsstrom von $76.0 \pm 16.0 \text{ nA}$ ausgetrieben. (s. Abbildung 16). In den Zeitabschnitten E4 und E5 war die Zahl der analysierten Experimente sehr gering, so dass keine validen Aussagen zu den Befunden gemacht werden können.

In fünf von sechs Experimenten wurde als maximale, ESM-bedingte Auslenkung des Entladungsverhaltens gegenüber der Kontrollphase eine Zunahme der Potenziale registriert. Im Mittel konnte eine um $11.0 \pm 10.0 \%$ gesteigerte SWD-korrelierte neuronale Aktivität beobachtet werden. Die Beträge der relativen Steigerung rangierten zwischen 4.1% und 49.4% .

In vier Fällen gelang es, das Entladungsverhalten nach Ende der ESM-Applikation zu untersuchen. In jenen drei Untersuchungen, in denen ESM einen Anstieg der SWD-bezogenen Entladungen verursacht hatte, fanden sich in der Erholungsphase wieder deutlich weniger Potenziale. Im Mittel wurden in diesem Abschnitt $7.41 \pm 1.6 \text{ dis/SWD}$ gezählt ($n=4$).

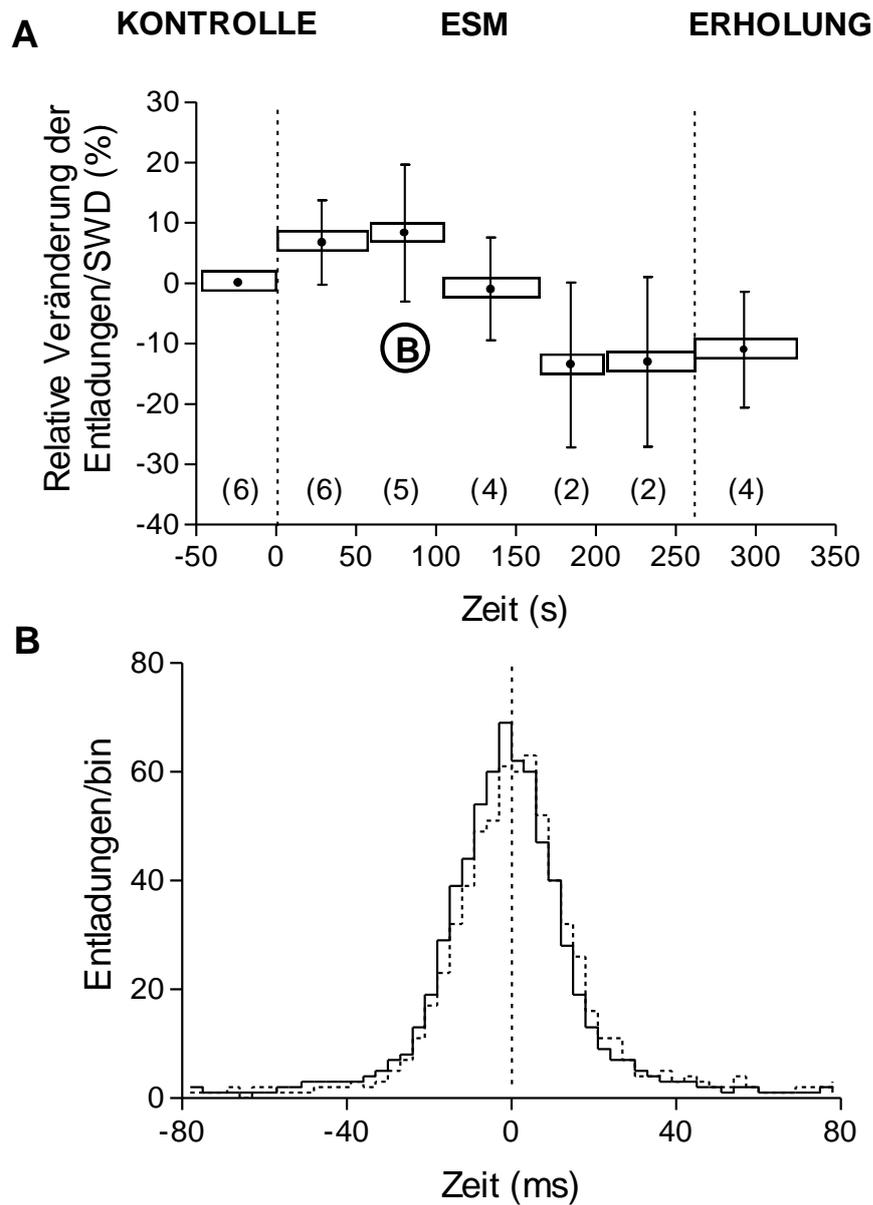


Abb. 16: Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität im Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex (n=6). A) Zeitverlauf der relativen Veränderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität während ESM-Gabe in Bezug auf die Kontrollphase. Darstellung der Veränderung unter ESM in fünf Zeitabschnitten E1-E5 und anschließender Erholung. In Klammern Anzahl der analysierten Experimente. Die gestrichelten Linien markieren den Beginn und das Ende der Substanzapplikation. B) Kumulatives PETH mit Vergleich der SWD-bezogenen Entladungen zwischen der Kontrollperiode (gestrichelt) und Abschnitt E2 der Substanzapplikation (durchgezogen). Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Während der Applikation von ESM zeigte sich ein Anstieg der SWD-bezogenen neuronalen Aktivität um $8.3 \pm 11.3\%$ in Abschnitt E2. In den Phasen E4, E5 wurden nur jeweils zwei Experimente analysiert, daher sind die dargestellten Ergebnisse zurückhaltend zu bewerten.

3.5. Veränderung der Nervenzellaktivität durch Ethosuximid im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex (S1-J)

Die sensiblen Afferenzen des Kiefers der Ratte werden via ventrobasalem Kern des Thalamus zum Repräsentationsareal des Kiefers im primären sensorischen Kortex S1-J geleitet. In dieser Hirnregion wurden sechs Wirkstoffapplikationen (jeweils drei auf jeder Seite) in fünf Tieren vorgenommen ($n=6$; Tabellarischer Anhang, Tab. H). Die Ableitelektrode wurde dabei fünfmal in Schicht V und einmal in Schicht IV platziert. In diesen Experimenten wurde ESM jeweils aus zwei Kapillaren der Ableitkapillare simultan ausgetrieben. In jeder Kapillare befand sich das Pharmakon in einer 0.5 M Lösung. An den einzelnen Kapillaren lagen dabei Ejektionsströme an, die zwischen 15 und 120 nA variierten. Die Entladungen der Neuronen aus S1-J zeigten eine enge zeitliche Korrelation mit dem Minimum der SWD (s. Abbildung 17).

Die Datenanalyse ergab, dass ESM in der ersten Applikationsperiode E1 die SWD-bezogene Nervenzellaktivität von 8.50 ± 2.1 dis/SWD auf 7.47 ± 1.6 dis/SWD reduzierte ($p \leq 0.1$; s. Abbildung 18). In den Abschnitten E2 und E3 löste ESM eine signifikante Abnahme der SWD-bezogenen Entladungen auf 6.37 ± 1.5 dis/SWD respektive 5.84 ± 1.9 dis/SWD aus (jeweils $p \leq 0.05$). Das entspricht einer relativen Verminderung der neuronalen Aktivität von 20.4 ± 8.7 % bzw. 27.2 ± 13.8 %.

Bei Betrachtung der maximalen Änderung des Entladungsverhaltens konnte in fünf Fällen eine verminderte neuronale Aktivität unter ESM-Gabe aufgezeigt werden. Im Mittel entspricht das einer relativen Abnahme um 32.1 ± 16.0 %, ohne statistische Signifikanz zu erreichen.

In die Analyse des Entladungsverhaltens nach Applikationsende konnten nur noch drei Experimente eingeschlossen werden. Dabei wurde in zwei Fällen ein wieder gesteigertes neuronales Entladungsverhalten beobachtet.

In allen Experimenten in S1-J wurde in mindestens einem Zeitabschnitt eine verminderte Zahl neuronaler Potenziale infolge der ESM-Gabe gegenüber der Kontrollperiode registriert. Wie in allen Gruppen zeigten sich große interindividuelle Unterschiede bezüglich der relativen ESM-Wirkung. Den starken inhibitorischen Effekt des ESM auf die SWD-bezogenen Potenziale im S1-J verdeutlicht exemplarisch Abbildung 17. Hier konnte eine fast vollständige Supprimierung neuronaler Potenziale unter ESM beobachtet werden, die nach Applikationsende reproduzierbar reversibel war. Die Nervenzellen aus Schicht IV, die in nur einem Tier untersucht wurden, zeigten keine andere Reaktion auf die Wirkstoffgabe.

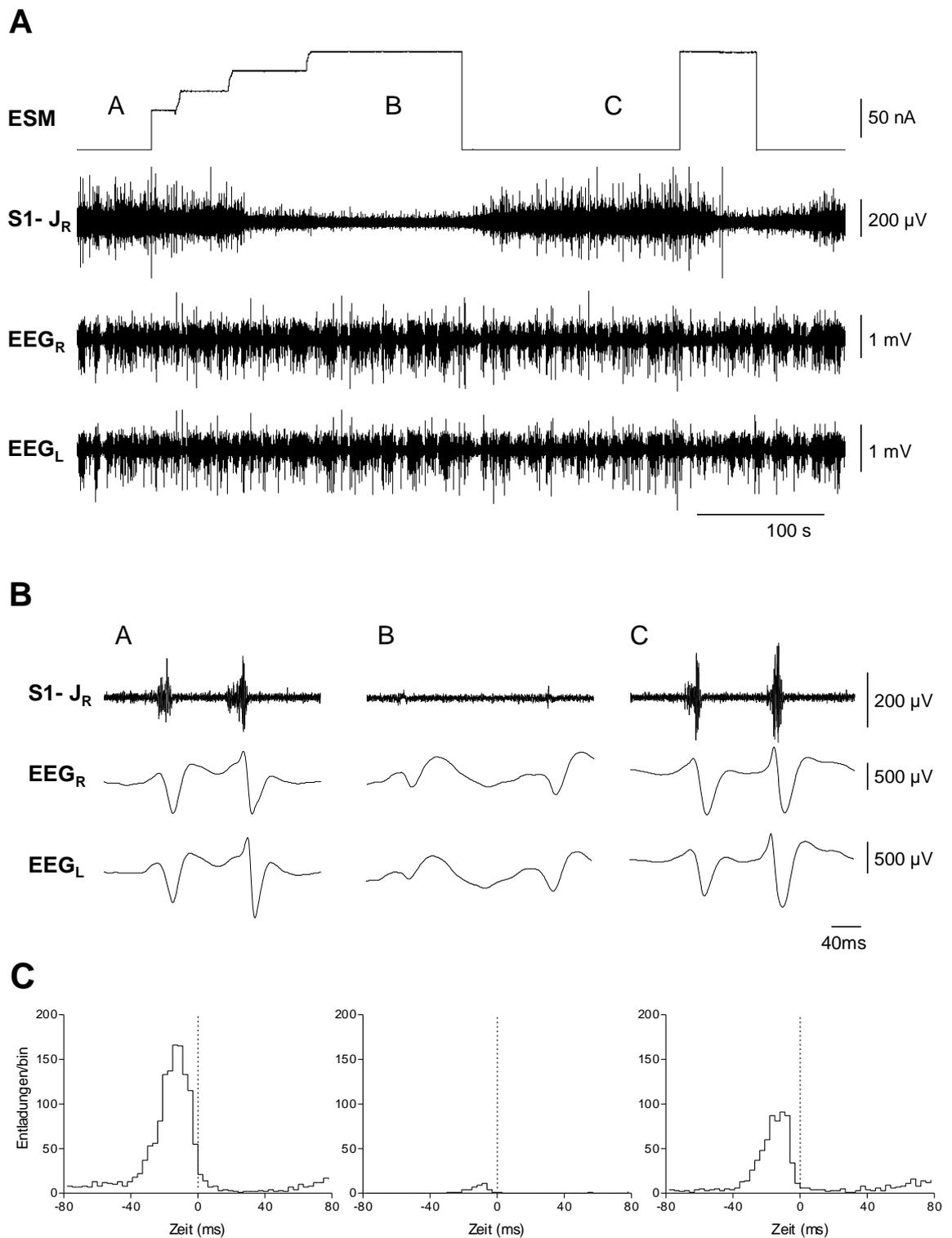


Abb. 17: Reversible Verminderung SWD-bezogener neuronaler Aktivität durch die Applikation von ESM im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex S1-J. A) Originalregistrierung mit Neurogramm (obere Spur), EEG bilateral (untere Spuren) und Darstellung der Substanzgabe in Form der Ejektionsstromkurve. Abschnitte A, B und C werden in Teil B vergrößert dargestellt. B) Ausschnittsvergrößerung mit Darstellung des Neurogramms und des EEG. C) PETH aus den jeweiligen Abschnitten A-C. Die gestrichelte Linie markiert das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. Es zeigte sich eine reproduzierbare Verminderung der SWD-bezogenen neuronalen Aktivität durch ESM-Gabe mit jeweils folgender Erholung nach Applikationsende ohne Beeinflussung der SWD-Zahl.

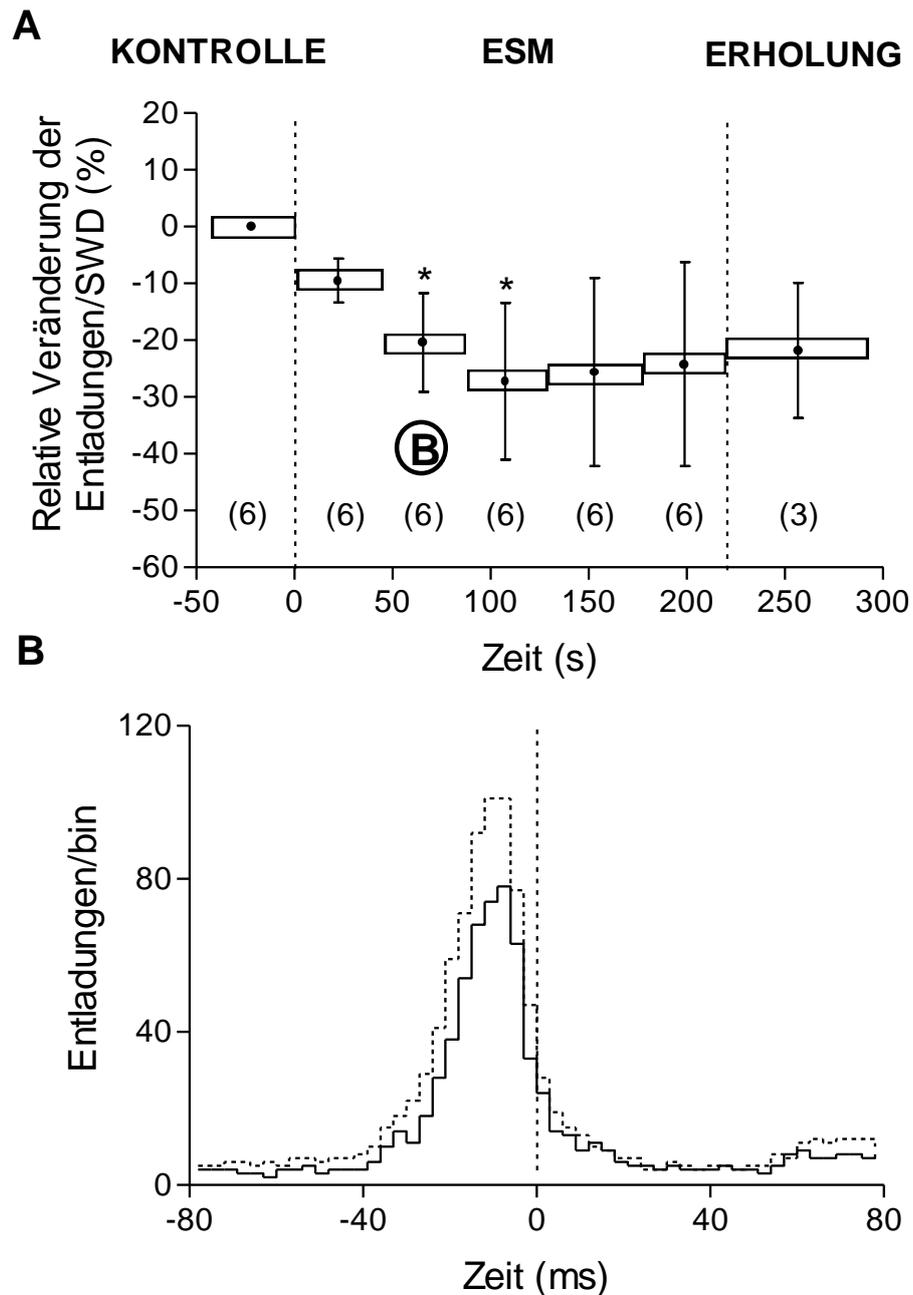


Abb. 18: Wirkung von ESM auf die SWD-bezogene neuronale Aktivität im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex ($n=6$). A) Zeitverlauf der relativen Veränderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität während ESM-Gabe in Bezug auf die Kontrollphase. Darstellung der Veränderung unter ESM in fünf Zeitabschnitten E1-E5 und anschließender Erholung. In Klammern Anzahl der analysierten Experimente. Die gestrichelten Linien markieren den Beginn und das Ende der Substanzapplikation. In den Abschnitten E2 und E3 ist die SWD-bezogene Nervenzellaktivität signifikant vermindert ($* p \leq 0.05$). B) Kumulatives PETH mit Vergleich der SWD-bezogenen Entladungen zwischen der Kontrollperiode (gestrichelt) und Abschnitt E2 der Substanzapplikation (durchgezogen). Die gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt 0, also das Maximum der Spitzenkomponente der SWD im EEG. In Abschnitt E2 kam es zur signifikanten Abnahme SWD-bezogener Entladungen um $20.4 \pm 8.7\%$ ($p \leq 0.05$).

3.6. Zusammenfassende Darstellung der Resultate

Alle Ergebnisse sind zusammenfassend in Abbildung 19 dargestellt. Die mikroiontophoretische Applikation von ESM im Kerngebiet des VB und im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex S1-J führte zu einer signifikanten Abnahme der SWD-bezogenen Nervenzellaktivität. Im thalamischen Kerngebiet VL wurde während der Gabe des Antiepileptikums lediglich eine tendenzielle Abnahme der neuronalen Aktivität registriert. Die Neuronen aus dem Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex S1-HL reagierten mit einer tendenziellen Zunahme der Entladungen. Im posterioren Teil des NRT trat keine Veränderung der neuronalen Aktivität durch ESM ein.

In einer abschließenden statistischen Analyse wurden die unterschiedlichen Hirnregionen hinsichtlich des ESM-Effekts auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität miteinander verglichen (Mann-Whitney-Test): In Zeitabschnitt E2 führte ESM in den Kerngebieten des VB und S1-J zu einer signifikant stärkeren Abnahme der neuronalen Entladungen als in S1-HL ($p \leq 0.02$ bzw. $p \leq 0.05$).

Beim Vergleich der maximalen relativen Wirkung des ESM zeigte sich, dass im VB eine signifikant stärkere Abnahme der Entladungen eintrat als im NRT und S1-HL ($p \leq 0.05$ respektive $p \leq 0.02$).

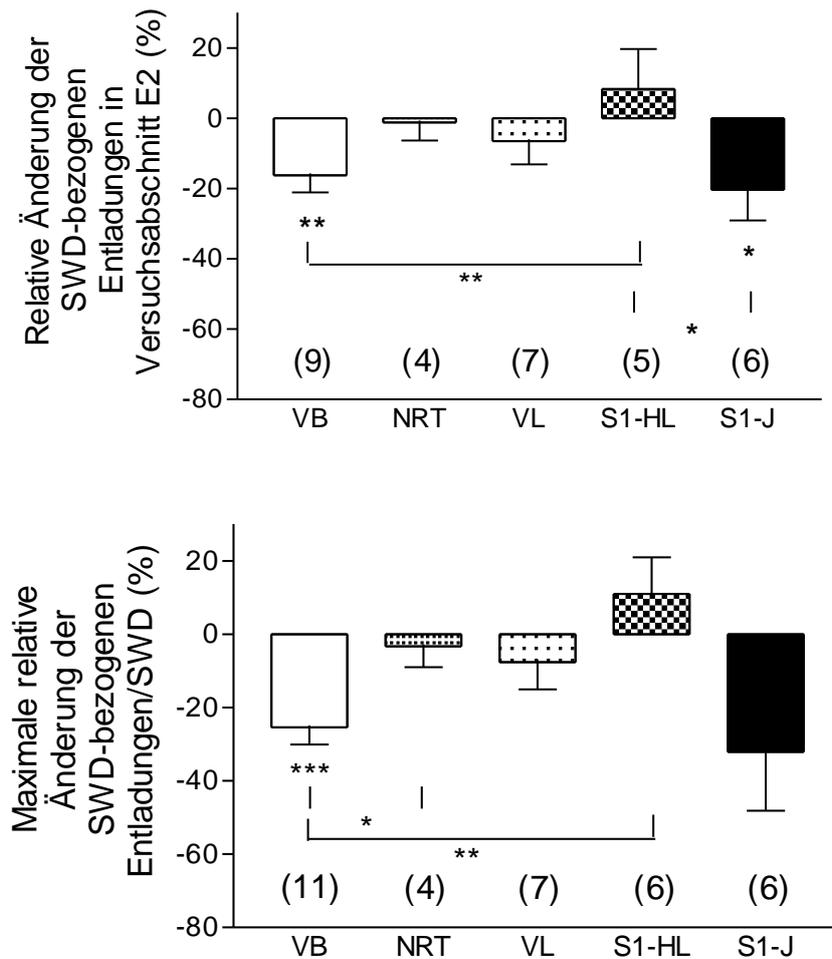


Abb. 19: Relative Änderung der SWD-bezogenen Nervenzellaktivität durch ESM in thalamischen und kortikalen Neuronen. A) Darstellung für Zeitabschnitt E2. Im Kerngebiet VB und S1-J induzierte ESM eine signifikante Abnahme der SWD-bezogenen Potenziale um $16.2 \pm 4.9\%$ (** $p \leq 0.02$) respektive $20.4 \pm 8.7\%$ (* $p \leq 0.05$). In VL war lediglich eine geringe tendenzielle Abnahme der Entladungen um $6.6 \pm 6.6\%$ zu beobachten. In S1-HL wurde eine Tendenz zur Zunahme um $8.3 \pm 11.3\%$ registriert. Im posterioren Teil des NRT zeigte sich keine Veränderung der Aktivität. Der Vergleich der relativen Wirkung von ESM in den unterschiedlichen Regionen zeigte sowohl für VB (** $p \leq 0.02$) als auch S1-J (* $p \leq 0.05$) eine signifikant stärkere Verminderung der SWD-korrelierten Potenziale als im Kerngebiet des S1-HL. B) Darstellung der maximalen relativen ESM-Wirkung. Im Hirnareal VB wurde eine signifikante Abnahme SWD-bezogener Entladungen um $25.4 \pm 4.7\%$ (** $p \leq 0.001$) gemessen. Im S1-J wurde eine Abnahme um $32.1 \pm 16.0\%$ verzeichnet. Im VL trat während ESM-Gabe eine tendenzielle Abnahme um $7.6 \pm 7.4\%$ ein. Im S1-HL wurde eine tendenzielle Zunahme um $11.0 \pm 10.0\%$ beobachtet. Im NRT zeigte sich die neuronale Aktivität wiederum kaum verändert. Die beobachtete Reduktion der Entladungen im Nucleus ventrobasis thalami war signifikant stärker als im NRT (* $p \leq 0.05$) und S1-HL (** $p \leq 0.02$). In Klammern die Zahl der untersuchten Tiere.

4. Diskussion

4.1. Methodentechnische Betrachtungen

Bei der Betrachtung und Bewertung der vorgestellten Resultate müssen neben der Substanzwirkung mögliche andere Einflussfaktoren auf das neuronale Entladungsverhalten berücksichtigt werden. Insbesondere gilt dies vor dem Hintergrund der beträchtlichen Variabilität in der beobachteten ESM-Wirkung.

An erster Stelle stehen dabei die zur Operation und Versuchsdurchführung notwendigen Pharmaka. Das Aktivitätsniveau thalamischer Relaisneurone wird neben den Impulsen aus dem NRT, Schmerzafferenzen und den somatosensiblen Afferenzen von Fasern extrathalamischer Eingangssysteme, vor allem kortikofugalen Eingängen, moduliert. Da die verwendeten Anaesthetika und Analgetika ihre Wirkung insbesondere auch über die Beeinflussung kortikaler Neurone entfalten, könnten sie in unterschiedlicher Weise mit den Mechanismen zur Entstehung anfallsbezogener Nervenzellaktivität interferieren.

Im Stadium der tiefen Pentobarbitalnarkose konnten in unseren Experimenten, wie auch in anderen in vivo Studien, keine SWD registriert werden [44;94;101]. Es ist bekannt, dass Pentobarbital durch Bindung an den GABA_A-Rezeptor die Hyperpolarisation von neuronalen Membranen erleichtert. Ausserdem wurde in in vitro-Studien gezeigt, dass es Kalzium-abhängige Aktionspotenziale in ihrer Dauer reduziert und I_T blockieren kann [40;106]. In der vorgestellten Studie wurden die ersten Applikationen von ESM erst sechs Stunden nach Gabe von Pentobarbital durchgeführt. Da dessen Wirkdauer aber nur zirka vier Stunden beträgt, kann davon ausgegangen werden, dass das Barbiturat keinen Einfluss auf die Versuchsergebnisse hatte.

Zur Untersuchung anfallsabhängiger Nervenzellaktivität an Tiermodellen der Absence Epilepsie wurde in mehreren Studien die Neuroleptanalgesie (NLA) als Narkoseform gewählt [18;44;88;94;95;101]. Der Einfluss der NLA auf die Häufigkeit und Frequenz der SWD wurde bereits detailliert untersucht [43;118]. Nach einmaliger intramuskulärer Injektion des synthetischen Opioids Fentanyl und des Neuroleptikums Fluanisone in unterschiedlichen Dosierungen wurde ein Anstieg der Häufigkeit und ein Abfall der Frequenz der SWD über einen Zeitraum von drei Stunden in Tieren des WAG/Rij Stammes beobachtet. Die alleinige Injektion des Neuroleptikums führte ebenso zu einem starken Anstieg der SWD. Die Applikation von Fentanyl hingegen hatte eine biphasische Wirkung. Zunächst war die Anzahl der SWD unverändert, und die Tiere befanden sich in einem Zustand tiefer Anästhesie, nach zirka zwei Stunden traten parallel zur Erhöhung der

Vigilanz wieder signifikant mehr SWD auf. Ein Vergleich mit den in der vorliegenden Arbeit verabreichten Mengen fällt schwer, da hier wiederholte Injektionen von Fentanyl in Kombination mit DHB vorgenommen wurden. Dabei kamen für Fentanyl mittlere Dosierungen von 0.05 ± 0.006 mg/kg*h und für DHB von 5.36 ± 0.30 mg/kg*h zur Anwendung (n=28). Insbesondere für das lipophile Opioid Fentanyl muss bei Betrachtung und Vergleich von Dosierungen die Rückverteilung des Wirkstoffs aus dem Fettgewebe berücksichtigt werden. Anders als Inoue und Mitarbeiter [40;41], die in ihren Arbeiten ein Kombinationspräparat aus Opioid und Neuroleptikum applizierten, wurden in der vorliegenden Studie die Substanzen bewusst separat verwendet, um Anaesthetie und Analgesie unabhängig voneinander steuern und variieren zu können [44].

Die in dieser Arbeit verwendeten NLA-Dosierungen können mit jenen anderer Studien verglichen werden, in denen SWD-bezogene Nervenzellaktivitäten in WAG/Rij untersucht wurden und wiederholte Injektionen erfolgten. Dort betrug die mittlere Fentanyl-dosis 0.102 ± 0.006 mg/kg*h, die des Droperidol 6.12 ± 0.307 mg/kg*h [101]. Das Neuroleptikum kam somit in vergleichbarer Dosierung zum Einsatz, wohingegen das Opioid von uns lediglich in halber Dosierung angewendet wurde. In der Studie von Pinault und Mitarbeitern [88], die intrazelluläre Ableitungen an thalamischen Neuronen während Absencen in GAERS vornahmen, wurden zusätzlich zu den vergleichsweise geringen Dosen Fentanyl und Haloperidol (0.003 mg/kg respektive 1.0 mg/kg alle 20-30 Minuten) Muskelrelaxanzien appliziert. Diese geringen Mengen an verabreichtem Analgetikum könnten eine Erklärung dafür sein, dass die Autoren während der SWD keine LTS beobachteten, für deren Entstehung eine tiefe Hyperpolarisation der thalamischen Relaisneurone vorausgehen muss. Bei unzureichender Anaesthetie und Analgesie darf kritisch vermutet werden, dass diese Hyperpolarisation bedingt durch exzitatorische Afferenzen aus der Peripherie und der Hirnrinde nicht erreicht wurde.

Insgesamt gehen wir von einer permissiven Wirkung der NLA auf die Anfallsaktivität aus. Da die NLA-Serumkonzentrationen nicht gemessen wurden, konnte dieser Effekt nicht individuell quantifiziert werden. Um den Einfluss der NLA auf die Untersuchungsergebnisse zu minimieren, kam eine standardisierte Versuchsführung zur Anwendung. Die Stabilität der anfallsassoziierten Aktivität wurde in langen Kontrollphasen überprüft, anschließend wurde die Dauerhaftigkeit der Wirkung von ESM in langen Applikationsphasen verifiziert und deren Reversibilität überprüft. Außerdem wurden obligatorische Intervalle von zwei Minuten zwischen NLA-Medikation und Aufzeichnungsbeginn eingehalten. Somit ist die Vergleichbarkeit der Ausgangsbedingungen ausreichend sicher gewährleistet. Trotzdem muss die NLA-Medikation als potenzielle

Ursache der interindividuell beobachteten Unterschiede in der Wirksamkeit von ESM in Erwägung gezogen werden.

In vielen Studien werden im Rahmen der Analyse extrazellulär aufgezeichneter Nervenzellaktivität zur Spike-Detektion sogenannte Window-Diskriminatoren verwendet. Dabei werden standardisierte Schwellenwerte festgelegt, deren Überschreiten durch das Signal zur digitalen Erfassung desselben führt (s. Methode B in Abschnitt 2.4.2.) [35;47;63]. Um Aussagen über das Verhalten von Einzelzellen treffen zu können, wird häufig eine Amplitudendiskrimination vorgenommen, in der Aktionspotenziale einzelner Nervenzellen aus multi-unit-Ableitungen anhand der Amplituden isoliert und untersucht werden [52].

In der vorliegenden Studie wurde zur Spike-Detektion die Amplitudenhöhe Δ definiert, die das Potenzial mindestens erreichen musste, um registriert zu werden. Um sämtliche neuronale Aktivität zu erfassen, wurde Δ so gering gewählt, dass alle gerade den Rausch übersteigenden Amplituden detektiert wurden. Durch die Ergebnisse der Rauschanalyse, die ein unverändertes Rauschniveau vor und während Substanzgabe belegen, kann die rauschnahe Erfassung neuronaler Aktivität mit der Spike 2 Software als zuverlässige Methode der Spike-Detektion erachtet werden. Der Saum geringer Aktivität an den Rändern des PETH in Abbildung 8 stellt das Rauschen dar und verdeutlicht die mit großer Sicherheit vorgenommene Signal-Rausch-Unterscheidung. Es zeigte sich, dass die von uns favorisierte Methode der Spike-Detektion quantitativ gleiche Ergebnisse liefert wie jene der etablierten Window-Diskrimination (s. Tabellarischer Anhang, Tab. A-C).

Bei der Bewertung der Resultate muss darüber hinaus die relativ geringe Zahl der durchgeführten Experimente berücksichtigt werden. Dies gilt insbesondere für den NRT, aus dem nur vier Experimente in die Analyse eingeschlossen wurden. Demgegenüber sind die Resultate aus VB und S1-J sehr homogen hinsichtlich der ESM-Wirkung auf die neuronale Aktivität. Während im VB in zehn von elf Fällen eine Verminderung SWD-bezogener Nervenzellaktivität unter ESM beobachtet wurde, findet diese in S1-J sogar in 100 % der Experimente statt. Aus diesem Grund lässt sich auch mit diesem kleinen Kollektiv eine sichere Aussage über die ESM-Wirkung auf die untersuchten Hirngebiete treffen.

Wie schon im Ergebnisteil ausgeführt, wurden erhebliche interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der Verminderung SWD-bezogener Entladungen beobachtet. Als mögliche Ursache können variable lokale Wirkstoffkonzentrationen, die im Rahmen dieser mikroiontophoretischen Studie nicht bestimmt werden konnten, diskutiert werden. Diese

unterliegen unterschiedlichen Einflüssen wie der variablen Ejektion verursacht durch unterschiedliche Elektrodenwiderstände und Ejektionsströme, der Verdünnung durch die extrazelluläre Flüssigkeit und Diffusionsprozessen. Es ist bei Aufzeichnung von Potenzialen mehrerer Zellen (multi-unit) daher nicht auszuschließen, dass unterschiedliche Wirkstoffkonzentrationen an einzelnen Zellen vorliegen.

Eine strombedingte Veränderung der neuronalen Erregbarkeit unabhängig von der ESM-Wirkung wird als unwahrscheinlich eingeschätzt, da in allen Experimenten ein Balancestrom Anwendung fand.

4.2. Auswahl der thalamischen und kortikalen Areale

Die Auswahl der Hirnareale, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, erfolgte auf der Grundlage der Ergebnisse früherer Untersuchungen. Diese belegen, dass für die Entstehung und Ausbreitung epileptiformer Aktivität im Rahmen von Absencen ein intaktes neuronales Netzwerk unabdingbar ist. Dazu gehören sowohl die Nervenzellen der lateralen thalamischen Kerne als auch die des somatosensorischen Kortex. Die zentrale Rolle scheint dabei der neuronale Kreis aus Nucleus ventralis basalis (VB), Nucleus reticularis thalami (NRT) und primärem somatosensorischen Kortex (S1) zu spielen [28;112].

In elektrophysiologischen Experimenten an einem Tiermodell der Absence Epilepsie konnten in den lateralen thalamischen Kerngebieten SWD-ähnliche Feldpotenziale registriert werden. Demgegenüber fehlten diese in den medialen thalamischen Nuklei und dem Hippocampus [48;115]. Aus jüngeren Studien ist bekannt, dass thalamische Neurone während Absencen in Form von Burstentladungen, d.h. einer schnellen Abfolge von gruppierten Aktionspotenzialen, in zeitlicher Korrelation zu den SWD entladen [44;95]. Während die Bursts der VB- und NRT-Neurone zeitlich vor der Spitzenkomponente der SWD auftreten, zeigen die Neurone der intralaminären Kerne ihr Entladungsmaximum nach der Spitzenkomponente der SWD [94].

In Folgestudien wurden definierte Areale durch Injektion chemischer Substanzen funktionell inaktiviert und die Auswirkung auf das Anfallsgeschehen untersucht. Nach Ausschaltung des lateralen Thalamus wurden keine SWD mehr registriert. Die Injektion in die medialen thalamischen Kerne hingegen führte zu keiner Veränderung des EEG-Rhythmus [112].

Studien, in denen einzelne thalamische Kerngebiete inaktiviert wurden, konnte zeigen, dass die Ausschaltung des NRT eine Suppression der SWD zur Folge hatte. Gleiches wurde

erreicht, indem der anorganische Kalziumantagonist Kadmium injiziert wurde. Damit wurde die Rolle des NRT als unverzichtbarer Bestandteil des neuronalen Netzwerks und die Wichtigkeit Kalzium-abhängiger Prozesse im NRT während der Generierung von Absencen unterstrichen [4;70].

Auch wenn motorische Symptome nicht zu den charakteristischen Merkmalen der Petit mal gehören, enthalten semiologische Beschreibungen häufig Hinweise auf Muskeltonuserhöhungen und Retropulsionen des Kopfes [76]. In den im Rahmen dieser Studie durchgeführten Experimente konnten in einer Vielzahl von Tieren motorische Symptome im Sinne eines erhöhten Muskeltonus und rhythmischer Schwanzbewegungen beobachtet werden. Demzufolge wurden Neuronen aus dem Kerngebiet des VL, der bedeutendsten thalamo-kortikalen Relaisstation für motorische Informationen aus dem Zerebellum, in die Untersuchungen einbezogen. Diverse Studien belegen, dass VL-Neurone in Form rhythmisch synchronisierter Entladungen mit zeitlich engem Bezug zu den SWD während der Absence Epilepsie entladen [44;95]. Zusätzliche Befunde konnten eine Beteiligung des zerebellären Kortex und zerebellärer Kerne am epileptischen Geschehen in Form rhythmischer neuronaler Aktivität nachweisen [49].

Kerngebiete des motorischen Systems haben einen modulierenden oder sogar kontrollierenden Einfluss auf die Absence Epilepsie. So wird GABAergen Neuronen aus der Substantia nigra, die in den Thalamus projizieren, eine entscheidende Rolle in der Beeinflussung der Anfallsaktivität zugeschrieben [14;30;31]. Desgleichen gibt es Hinweise auf eine Beteiligung aufsteigender cholinergischer Afferenzen aus dem Tegmentum, die die rhythmische Aktivität thalamischer Nervenzellen beeinflussen [27]. Von großem Interesse ist die Arbeit von Vercueil und Mitarbeitern [111], die zeigen konnten, dass die Hochfrequenzstimulation subthalamischer Neurone einen suppressiven Effekt auf das Erscheinen von SWD im EEG hat. Die beschriebene Wirkung wird, so die Autoren, über die Substantia nigra vermittelt.

Die Beteiligung motorischer Kerngebiete ist evident, trotzdem bleibt es letztendlich unklar, ob der VL für die Entstehung der Absence unabdingbar ist, oder ob es sich um ein Kerngebiet handelt, dass durch die sich ausbreitenden Oszillationen synchronisiert wird.

Ähnlich wie in thalamischen Strukturen sind die Neurogramme aus kortikalen Arealen im Rahmen von Absencen durch Burstentladungen, die zeitlich vor der Spitzenkomponente der SWD im EEG liegen, charakterisiert. Die simultane Registrierung neuronaler Aktivitäten in Thalamus und Kortex in GAERS lieferte experimentelle Hinweise, dass die Synchronisation neuronaler Aktivitäten im Kortex der Anfallsentstehung vorausgeht (s.

Abbildung 1). Diese Beobachtungen sind konkordant mit jenen von Seidenbecher und Mitarbeitern [95], die der Hirnrinde eine für die Synchronisation wichtige Funktion zusprechen. Aus elektrophysiologischen Studien weiss man, dass die kortikalen Neurone über glutamaterge Neurone das Aktivitätsmuster thalamischer Kerngebiete mitbestimmen können [10;50]. Zusammen mit den Hinweisen aus Experimenten an GAERS, in denen kortikale Nervenzellen durch lokale Applikation von Kaliumchlorid funktionell inaktiviert wurden und ein Sistieren der SWD im EEG beobachtet wurde, unterstreichen diese Befunde die zentrale Rolle kortikaler Areale, deren Beteiligung an der Entstehung oszillierender Rhythmen essenziell ist [112].

4.3. Modell der pathophysiologischen Grundlagen der Generierung von SWD

Aus in vitro Untersuchungen ist bekannt, dass die Nervenzellen des NRT und jene der thalamischen Relaiskerne VB und VL unabhängig voneinander in der Lage sind, rhythmische Burstentladungen zu generieren [32;54]. In den thalamischen Relaisneuronen ist das Zusammenspiel des I_T und eines durch Hyperpolarisation aktivierten Kationenstroms (I_H) von großer Bedeutung [26;68]. I_T wurde 1984 erstmals an sensorischen Nervenzellen der Ratte beschrieben [16]. Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass I_T an der Umschaltung des Aktivitätszustands thalamischer Neurone von einem tonischen zu einem phasischen Entladungsmodus beteiligt ist und eine zentrale Rolle bei der Entstehung rhythmisch oszillierender neuronaler Aktivität spielt [39;104].

Im intakten thalamo-kortikalen Netzwerk übt der NRT über GABAerge Efferenzen einen inhibitorischen Einfluss auf die Relaisneurone des VB aus. GABA löst an VB-Neuronen inhibitorische postsynaptische Potenziale (IPSP) aus, die durch Öffnung von Kalium- und Chloridkanälen an der Zellmembran entstehen. Es wird eine kurz anhaltende, schnelle Hyperpolarisation vermittelt durch GABA_A-Rezeptoren von einer lang anhaltenden GABA_B-vermittelten Hyperpolarisation unterschieden. Durch letztere gelangt das Membranpotenzial in den Bereich von -80 bis -90 mV und überführt I_T in den aktivierbaren Zustand (Deinaktivierung) bei gleichzeitiger Aktivierung von I_H . Während der Repolarisation wird die Aktivierungsschwelle des I_T bei zirka -60 mV erreicht [21]. Der folgende Kalziumeinstrom führt zur Entstehung eines Kalzium-abhängigen Potenzials, das in der angelsächsischen Literatur als "low-threshold-spike" (LTS) bezeichnet wird. Auf dem Boden dieser Depolarisation entsteht eine schnelle Folge Natrium-vermittelter Aktionspotenziale, die das Substrat der charakteristischen Burstentladung darstellen. Im Rahmen des LTS werden beide Ströme in- bzw. deaktiviert und stehen erst nach einer

erneuten Hyperpolarisation wieder zur Verfügung [62;67;78]. Die Burstentladungen aktivieren über exzitatorische Efferenzen NRT-Neurone und führen zur Entstehung sogenannter "rebound bursts". Die Folge ist eine erneute GABA-Freisetzung im VB, die den Zyklus wieder startet [6;29;103;117].

Kortikale Neurone können über glutamaterge Efferenzen das Aktivitätsmuster thalamischer Netzwerke kontrollieren [5;10]. In diesen Studien wurde gezeigt, dass durch Stimulation kortiko-thalamischer Neurone die Frequenz thalamischer Oszillationen beeinflusst werden kann. Die Autoren vermuten eine Vermittlung durch GABA_B-Rezeptor abhängige Prozesse. In anderen Experimenten wurden durch repetitive Stimulation kortikaler Neurone in den Zellen des VB und NRT frequenzabhängig Burstentladungen generiert [50]. Die oszillierenden thalamischen Rhythmen werden über kortiko-thalamische Efferenzen synchronisiert, und die weitreichenden synaptischen Verbindungen des Kortex vermitteln die Ausbreitung der rhythmischen Aktivität über weite Teile des Zerebrums [20;67].

Die genannten Prozesse zur Generierung rhythmisch oszillierender Aktivität stellen das Substrat der Entstehung von Schlafspindeln dar, die während Tiefschlafphasen beobachtet werden [103]. Im Rahmen von Absencen kommt es zur pathologischen Steigerung der Synchronisation und Transformation der Spindeln in SWD. Als pathophysiologische Grundlage können folgende Faktoren angesehen werden:

In Tiermodellen der Absence Epilepsie wurden Unterschiede der neuronalen Transmission im Kortex festgestellt. Einerseits besteht eine gesteigerte NMDA-vermittelte Reaktion der glutamatergen kortikalen Neurone [90]. Andererseits wird eine verminderte GABA-vermittelte Inhibition im Kortex von WAG/Rij beschrieben [61]. Dazu passen die Ergebnisse von Spreafico und Mitarbeitern aus Experimenten an GAERS [100], die eine reduzierte Intensität der Anfärbarkeit einer Untereinheit des GABA_A-Rezeptors festgestellt haben [3]. Die Anzahl an GABA_B-Rezeptoren in kortikalen Neuronen in GAERS unterscheidet sich nicht von der in Kontrolltieren, doch ließ sich eine geringere Affinität gegenüber einem hochaffinen Liganden feststellen [28]. Es wird postuliert, dass diese Faktoren zu einer kortikalen Hyperexzitabilität führen, die ihrerseits zur Transformation der rhythmischen Aktivität in SWD beiträgt.

Auf thalamischer Ebene wurden ebenfalls zelluläre und elektrophysiologische Veränderungen in Tieren der Absence-Modelle gefunden, die zur Anfallsentstehung beitragen sollen. Die Amplitude des I_T, nicht aber seine Aktivierungs- und Inaktivierungskinetik ist in NRT-Neuronen von GAERS signifikant vergrößert, während in thalamischen Relaisneuronen kein Unterschied nachgewiesen werden konnte [36;107]. Die

erhöhte I_T -Leitfähigkeit hat seine Ursache wahrscheinlich in der gesteigerten Transkription einer Kanaluntereinheit des T-Kalziumkanals [105]. Der rein anatomische Vergleich des NRT in Bezug auf Zellzahl erbrachte hingegen keinen Unterschied zwischen GAERS und Kontrolltieren [72;91].

Als weiterer Faktor der pathologisch veränderten Nervenzellaktivität wird eine veränderte GABAerge Neurotransmission in thalamischen Nuklei vermutet. Es wird ein Unleichgewicht zugunsten der GABA_B-vermittelten Prozesse angenommen, die zu einer lang anhaltenden Hyperpolarisation und folglich zur vermehrten Deaktivierung von I_T führen. Diese Vermutung stützt sich auf frühe Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen, die eine Zunahme der SWD-Zahl nach systemischen Applikationen bzw. thalamischen Mikroinjektion von GABA_A- und GABA_B-Agonisten und/oder Antagonisten beobachteten [56;57;84;98]. Bezüglich Zellzahl, GABA-Rezeptorbesatz und Affinität der GABA-Rezeptoren wurde allerdings kein Unterschied gefunden [51;100]. Durch jüngste elektrophysiologische Studien wurde die Bedeutung GABAerger Prozesse in der Generierung von SWD-bezogener Nervenzellaktivität bestätigt. Hier zeigte sich ein deutlicher Anstieg SWD-bezogener Nervenzellaktivität nach mikroiontophoretischer Gabe eines GABA_A-Antagonisten, die Applikation eines GABA_B-Antagonisten blieb ohne signifikante Wirkung [101]. Die endgültige Bestätigung, dass eine GABAerge Disbalance in thalamischen Netzwerken zur Entstehung der Absencen beiträgt steht aus.

4.4. Wirkmechanismus von ESM

Als ESM zur Behandlung von Absencen zugelassen wurde, war dessen Wirkmechanismus noch unbekannt. Im Rahmen elektrophysiologischer Untersuchungen an thalamischen Schnittpräparaten konnte der Nachweis erbracht werden, dass ESM das Auftreten rhythmischer thalamischer Burstentladungen in VB und NRT reduziert [42;123]. Ähnliche Ergebnisse erbrachten jüngste in vitro Untersuchungen mit ESM an thalamischen Relaisneuronen des VB und des NRT, die analog zu Befunden von Huguenard und Mitarbeitern eine Verminderung der Aktionspotenziale innerhalb einer Burstentladung und einen Anstieg des Anteils tonischer Entladungen unter ESM-Einfluss zeigen konnten [42]. Diese Beobachtungen werden durch die Resultate der vorliegenden Arbeit unterstützt.

Im Rahmen dieser Studie ist es gelungen, extrazelluläre Nervenzellaktivität während Absence Eplepsien in vivo aufzuzeichnen. Das Entladungsverhalten der untersuchten thalamischen und kortikalen Neurone war durch eine schnelle Abfolge gruppierter

Aktionspotenziale (Bursts) mit zeitlich engem Bezug zur Spitzenkomponente der SWD im EEG charakterisiert und entsprach damit Befunden anderer Arbeitsgruppen [44;95].

Durch mikroiontophoretische Applikation des Antiepileptikums ESM wurde die Wirkung auf thalamische und kortikale Neurone charakterisiert. Hierbei zeigten sich deutliche regionale Unterschiede in der Wirksamkeit von ESM auf die SWD-bezogene Nervenzellaktivität. Im VB bewirkte die lokale ESM-Applikation eine Verminderung der SWD-bezogenen Nervenzellaktivität in Abschnitt E2 um $16.2 \pm 4.9 \%$ ($n = 9$; $p \leq 0.02$). Die maximale Abnahme betrug $25.4 \pm 4.7 \%$ ($n = 11$; $p \leq 0.001$). Dieses Ergebnis bekräftigt Befunde unserer Pilotstudie an GAERS, dass ESM die Entladungshäufigkeit thalamischer Relaisneurone des VB innerhalb der Burstentladungen während der Absence Epilepsien reduziert [92]. Unterstützung fanden die vorliegenden Resultate durch die Ergebnisse aus den Untersuchungen an Einzelzellen, deren SWD-bezogene Entladungen in ähnlicher Weise durch ESM vermindert wurden.

Die Veränderungen des Entladungsverhaltens der NRT-Neurone während der Applikation von ESM waren sehr gering. Die Zahl der Potenziale war in Abschnitt E2 um $1.2 \pm 5.2 \%$ reduziert. Die maximale relative Verminderung gegenüber Kontrollwerten betrug $3.4 \pm 5.6 \%$. Der fehlende Nachweis einer signifikanten Abnahme SWD-bezogener Nervenzellaktivität im posterioren Teil des NRT steht den Befunden anderer Arbeitsgruppen gegenüber, die an Katzen bzw. thalamischen Schnittpräparaten gearbeitet haben und eine Abnahme der Burstentladungen mit nachfolgender Verminderung thalamischer Oszillationen beobachten konnten [42;85]. Die Frage, ob das in anderen Studien durch ESM veränderte Entladungsverhalten der NRT-Neurone wesentlich zur klinisch beobachteten Anfallskontrolle beiträgt und über welche molekularen Mechanismen dieses vermittelt wird, muss unbeantwortet bleiben.

Aufgrund der motorischen Phänomene im Rahmen von Absenzen wurde die Auswirkung von ESM auf motorische Relaiskerne des Thalamus untersucht. In unseren Experimenten wurde eine tendenzielle Verminderung der neuronalen Aktivität um $6.6 \pm 6.6 \%$ beobachtet. Die maximale Abnahme der SWD-bezogenen Potenziale betrug im Mittel $7.6 \pm 7.4 \%$. In keinem der Fälle führte die ESM-Gabe zu einer Reduktion der oben beschriebenen motorischen Symptomatik. Die Erhöhung des Muskeltonus und die rhythmischen Schwanzbewegungen waren jederzeit wahrnehmbar.

Die Wirkung des Antiepileptikums ESM auf kortikale Neurone ist bisher wenig untersucht. In unserer Studie fand sich im Areal S1-J eine signifikante Abnahme der SWD-bezogenen Entladungen in Abschnitt E2 um $20.4 \pm 8.7 \%$ während ESM-Gabe ($p \leq 0.05$). Die

maximale Reduktion der Nervenzellaktivität betrug 32.1 ± 16.0 %. Eine Analyse, die getrennt nach Zugehörigkeit der Neurone zu einer bestimmten kortikalen Schicht durchgeführt wurde, ließ auf Grund sehr geringer Fallzahlen keine validen Aussagen zu. Die erhobenen Befunde in S1-J zeigen, dass ESM auch auf kortikaler Ebene einen inhibitorischen Effekt auf die anfallsbezogene Nervenzellaktivität ausübt. Unter Berücksichtigung oben genannter Resultate, dass bei Ausschaltung kortikaler Strukturen Absencen sistieren, darf postuliert werden, dass die Reduktion SWD-bezogener Entladungen in kortikalen Neuronen eine bedeutsame Rolle bei der klinisch beobachteten antiepileptischen Wirksamkeit spielt.

Demgegenüber stehen die Resultate aus Areal S1-HL, die hinsichtlich der SWD-bezogenen Entladungen eine Tendenz zur Zunahme unter ESM zeigten. In Abschnitt E2 wurden 8.3 ± 11.3 % mehr Potenziale registriert. Die maximale Veränderung war durch einen Anstieg der Zahl der Potenziale um 11.0 ± 10.0 % geprägt. Es muss letztlich unbeantwortet bleiben, warum die Neurone aus S1-HL ein anderes Reaktionsmuster auf die ESM-Applikation zeigen.

Hinsichtlich der molekularen Mechanismen, über die die ESM-Wirkung vermittelt wird, existieren widersprüchliche experimentelle Resultate. Durch elektrophysiologische und pharmakologische Studien an isolierten Einzelzellen des VB der Ratte wurde gezeigt, dass ESM den T-Kalziumstrom (I_T) reduziert. Die Konzentrationen des Wirkstoffs entsprachen dabei den therapeutischen Serumspiegeln [22-24]. Auf der Grundlage dieser elektrophysiologischen Befunde zur ESM-Wirkung wurde die I_T -Blockade als antiepileptischer Wirkmechanismus postuliert [108].

Darüberhinaus wirkt ESM als partieller Antagonist am $GABA_A$ -Rezeptor [25]. In Zellkulturen kortikaler Neurone wurde eine Verminderung GABA-vermittelter IPSP durch ESM beobachtet [7;69]. Eine Blockade Natriumkanal-abhängiger Aktionspotenziale hingegen konnte nicht nachgewiesen werden.

Neuere Untersuchungen an isolierten thalamischen Neuronen der Katze von Leresche und Mitarbeitern [52], in deren Experimenten die ESM-Applikation zwar die Zahl der Burstentladungen verminderte, aber keine I_T -Reduktion festgestellt werden konnte, stellen diese Befunde in Frage. Die Veränderungen des Entladungsverhaltens wurden der Blockade eines nicht-inaktivierenden Natriumstroms sowie eines Kalzium-abhängigen Kaliumstroms zugeschrieben. Die Autoren postulierten, dass der antiepileptische Wirkmechanismus von ESM ähnlich dem des Valproat, das auch in der Behandlung der Absence Epilepsie etabliert ist, auf der Blockade von Natriumkanälen beruht.

Auch Pfrieger und Mitarbeiter konnten in ihren Experimenten keine I_T -Reduktion durch ESM an thalamischen Neuronen beobachten [87].

Hinsichtlich der Entstehung der SWD-bezogenen Burstentladungen wird durch neuere Arbeiten außerdem die Beteiligung des LTS und I_T in Frage gestellt: Mitarbeiter aus der Arbeitsgruppe um Crunelli führten intra- und extrazelluläre Ableitungen im VB von GAERS in vivo durch [18;88]. Hierbei konnten nur in einzelnen Neuronen LTS, die simultan mit den SWD auftraten, nachgewiesen werden. Mehrheitlich zeigten sich rhythmische Sequenzen inhibitorischer und exzitatorischer postsynaptischer Potenziale (IPSP/EPSP) auf dem Boden einer tonischen Hyperpolarisation. Während bisher nicht geklärt werden konnte, über welchen Mechanismus diese tonische Hyperpolarisation vermittelt wird, wurden die IPSP der Aktivierung von $GABA_A$ -Rezeptoren zugeschrieben. Es stellte sich außerdem heraus, dass das Ruhemembranpotenzial der untersuchten Neurone während typischer Absencen im Mittel bei -56 ± 2 mV lag und damit oberhalb der Deaktivierungsschwelle für I_T . Diese erste systematische Untersuchung zu zellulären Mechanismen im Rahmen der Absence Epilepsie in einem intakten neuronalen Netzwerk konnte demzufolge keine Beteiligung von LTS an der Entstehung von Absencen nachweisen und damit die Schlüsselrolle des I_T nicht bestätigen.

Die Beobachtungen der vorliegenden Studie geben Hinweise auf die Wirkung von ESM auf SWD-bezogene neuronale Aktivität in unterschiedlichen Hirnarealen. Es ist gelungen, ein Wirkprofil dieser Substanz in unterschiedlichen thalamischen und kortikalen Kerngebieten zu erstellen. Der abschließende statistische Vergleich der ESM-Wirkung in den unterschiedlichen Hirnarealen belegte, dass die Abnahme SWD-bezogener Entladungen im VB und S1-J in Zeitabschnitt E2 signifikant größer war als die Veränderungen in S1-HL ($p \leq 0.02$ bzw. $p \leq 0.05$). Bei Betrachtung der maximalen relativen Veränderungen der Nervenzellaktivität zeigte sich eine signifikant deutlichere Abnahme der Potenziale im VB verglichen mit NRT und S1-HL ($p \leq 0.05$ bzw. $p \leq 0.02$).

Aus den Ergebnissen wird geschlossen, dass der Hauptangriffspunkt von ESM in der Therapie der Absence Epilepsie die Neuronen des ventrobasalen thalamischen Kerns und jene des Repräsentationsareals des Kiefers im somatosensorischen Kortex sind. Es darf angenommen werden, dass die Verminderung SWD-bezogener neuronaler Entladungen durch ESM einen zentralen Mechanismus der therapeutischen Wirkung bei der Behandlung der Absence Epilepsie darstellt. Bezüglich der molekularen Wirkmechanismen (I_T -Blockade versus Inhibition von Natriumströmen) oder der Effizienz der Anfallskontrolle lassen unsere Befunde allerdings keine Aussage zu.

4.5. Ausblick

Die Absence Epilepsie gehört zu der Gruppe der Idiopathischen Generalisierten Epilepsien. Die Prognose der Erkrankung hängt von einer adäquaten Anfallskontrolle ab, wie zahlreiche klinische Studien zeigen konnten. Die fehlende Remission der Absence Epilepsie geht mit deutlichen Einschränkungen der psychosozialen und kognitiven Kompetenz der Patienten einher [8;64;121]. Im Vergleich mit anderen chronisch Kranken stellte sich heraus, dass die akademische Ausbildung der Patienten mit Absencen geringer und die psychosozialen Probleme (soziale Einbindung, Suchtverhalten etc.) größer waren. Diese Studien zeigten, dass eine adäquate Anfallskontrolle die Einschränkungen in den genannten Bereichen deutlich verminderte [120]. Bei der Bewertung der insgesamt guten Ergebnisse der Pharmakotherapie der Absence Epilepsie bleibt zu beachten, dass die Medikamenteneinnahme in Einzelfällen zu seltenen, aber sehr ernst zu nehmenden unerwünschten Nebenwirkungen führen kann (s. Einleitung). Außerdem werden bei dieser Form der Epilepsie auch pharmakoresistente Formen berichtet.

Zur Entwicklung neuer potenterer Pharmaka, die ihre Wirkung gezielt an Schlüsselstellen des der Krankheit zugrundeliegenden Prozesses ausüben können, ist es von besonderer Wichtigkeit, die Pathomechanismen der Entstehung und Ausbreitung der pathologisch gesteigerten Nervenzellaktivität zu ergründen und die zelluläre und molekulare Pathophysiologie aufzuklären. In Folgestudien bleibt zu klären, welcher molekulare Mechanismus der antiepileptischen Wirkung von ESM zugrundeliegt. Interessant hinsichtlich der Entwicklung neuer Therapieverfahren scheint auch, ob durch Mikroinjektion von ESM eine Anfallskontrolle erreicht werden kann.

5. Zusammenfassung

Das typische elektroenzephalografische Kennzeichen der Absence Epilepsie sind Spike-and-Wave Entladungen (SWD). Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass ein neuronaler Kreis aus thalamischen und kortikalen Nervenzellen eine zentrale Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der Anfälle spielt. In Tieren des WAG/Rij-Stammes, einem Tiermodell der Absence Epilepsie, wurden unter Neuroleptanalgesie extrazelluläre Nervenzellaktivitäten von thalamischen und kortikalen Neuronen während spontaner Anfälle aufgezeichnet. Es wurden mikroiontophoretische Applikationen von Ethosuximid (ESM), einem klinisch etablierten Antiepileptikum, vorgenommen und dessen Wirkung auf SWD-bezogene neuronale Entladungen in mehreren Zeitabschnitten untersucht.

Im Nucleus ventralis lateralis (VL) konnte im Zeitabschnitt E2 der ESM-Gabe eine tendenzielle Abnahme der Nervenzellaktivität um $6.6 \pm 6.6 \%$ beobachtet werden. Die Zellen des Repräsentationsareals der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex (S1-HL) reagierten mit einer Zunahme der Entladungen um $8.3 \pm 11.3 \%$ auf die ESM-Applikation. Bei ESM-Gabe in den posterioren Teil des Nucleus reticularis thalami (NRT) wurde keine signifikante Veränderung des Entladungsverhaltens beobachtet. Sowohl im Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex (S1-J) als auch im Nucleus ventralis basalis (VB) bewirkte ESM eine signifikante Verminderung SWD-bezogener Potenziale um $20.4 \pm 8.7 \%$ respektive $16.2 \pm 4.9 \%$ ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.001$). Die statistische Analyse zeigt, dass die Veränderungen im Zeitabschnitt E2 der Substanzgabe im VB und S1-J signifikant stärker ausgeprägt waren als in S1-HL. Die maximale relative Abnahme der Nervenzellaktivität im VB ($25.4 \pm 4.7 \%$) unterschied sich signifikant von den Veränderungen in NRT ($3.4 \pm 5.6 \%$) und S1-HL (Zunahme um $11.0 \pm 10.0 \%$; $p \leq 0.02$; $p \leq 0.05$).

Es wird postuliert, dass die Nervenzellen des VB und S1-J zelluläre Zielstrukturen der klinisch beobachteten antiepileptischen Wirkung von ESM sind.

6. Literaturverzeichnis

1. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. 22. 489-501 (1981)
2. Adams, R. D. and Victor, M.: *Principles of Neurology*. 271-351. Fifth Edition. McGraw-Hill, Inc. (1993)
3. Avanzini, G., de Curtis M., Franceschetti, S., Sancini, G., and Spreafico, R.: Cortical versus thalamic mechanisms underlying spike and wave discharges in GAERS. *Epilepsy Res.* 26. 37-44 (1996)
4. Avanzini, G., Vergnes, M., Spreafico, R., and Marescaux, C.: Calcium-dependent regulation of genetically determined spike and waves by the reticular thalamic nucleus of rats. *Epilepsia*. 34. 1-7 (1993)
5. Bal, T., Debay, D., and Destexhe, A.: Cortical feedback controls the frequency and synchrony of oscillations in the visual thalamus. *J.Neurosci.* 20. 7478-7488 (2000)
6. Bal, T. and McCormick, D. A.: What stops synchronized thalamocortical oscillations? *Neuron*. 17. 297-308 (1996)
7. Barnes, D. M. and Dichter, M. A.: Effects of ethosuximide and tetramethylsuccinimide on cultured cortical neurons. *Neurology*. 34. 620-625 (1984)
8. Bartolomei, F., Roger, J., Bureau, M., Genton, P., Dravet, C., Viallat, D., and Gastaut, J. L.: Prognostic factors for childhood and juvenile absence epilepsies. *Eur.Neurol.* 37. 169-175 (1997)
9. Beernink, D. H. and Miller, J. J.: Anticonvulsant-induced antinuclear antibodies and lupus-like disease in children. *J.Pediatr.* 82. 113-117 (1973)
10. Blumenfeld, H. and McCormick, D. A.: Corticothalamic inputs control the pattern of activity generated in thalamocortical networks. *J.Neurosci.* 20. 5153-5162 (2000)
11. Brodie, M. J. and Dichter, M. A.: Established antiepileptic drugs. *Seizure*. 6. 159-174 (1997)
12. Browne, T. R., Dreifuss, F. E., Dyken, P. R., Goode, D. J., Penry, J. K., Porter, R. J., White, B. G., and White, P. T.: Ethosuximide in the treatment of absence (petit mal) seizures. *Neurology*. 25. 515-524 (1975)
13. Buoni, S., Grosso, S., and Fois, A.: Lamotrigine in typical absence epilepsy. *Brain Dev.* 21. 303-306 (1999)
14. Buzsaki, G., Smith, A., Berger, S., Fisher, L. J., and Gage, F. H.: Petit mal epilepsy and parkinsonian tremor: hypothesis of a common pacemaker. *Neuroscience*. 36. 1-14 (1990)
15. Callaghan, N., O'Hare, J., O'Driscoll, D., O'Neill, B., and Daly, M.: Comparative study of ethosuximide and sodium valproate in the treatment of typical absence seizures (petit mal). *Dev.Med.Child Neurol.* 24. 830-836 (1982)
16. Carbone, E. and Lux, H. D.: A low voltage-activated, fully inactivating Ca channel in vertebrate sensory neurones. *Nature*. 310. 501-502 (1984)
17. Casteels, K., Van, Geet C., and Wouters, K.: Ethosuximide-associated lupus with cerebral and renal manifestations [letter]. *Eur.J.Pediatr.* 157. 780 (1998)
18. Charpier, S., Leresche, N., Deniau, J. M., Mahon, S., Hughes, S. W., and Crunelli, V.: On the putative contribution of GABA(B) receptors to the electrical events occurring during spontaneous spike and wave discharges. *Neuropharmacology*. 38. 1699-1706 (1999)

19. Coenen, A. M. and van, Luijtelaar EL: The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1. 297-301 (1987)
20. Contreras, D., Destexhe, A., Sejnowski, T. J., and Steriade, M.: Control of spatiotemporal coherence of a thalamic oscillation by corticothalamic feedback. *Science.* 274. 771-774 (1996)
21. Coulter, D. A., Huguenard, J. R., and Prince, D. A.: Calcium currents in rat thalamocortical relay neurones: kinetic properties of the transient, low-threshold current. *J.Physiol.* 414. 587-604 (1989a)
22. Coulter, D. A., Huguenard, J. R., and Prince, D. A.: Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Ann.Neurol.* 25. 582-593 (1989b)
23. Coulter, D. A., Huguenard, J. R., and Prince, D. A.: Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neurosci.Lett.* 98. 74-78 (1989c)
24. Coulter, D. A., Huguenard, J. R., and Prince, D. A.: Differential effects of petit mal anticonvulsants and convulsants on thalamic neurones: calcium current reduction. *Br.J.Pharmacol.* 100. 800-806 (1990a)
25. Coulter, D. A., Huguenard, J. R., and Prince, D. A.: Differential effects of petit mal anticonvulsants and convulsants on thalamic neurones: GABA current blockade. *Br.J.Pharmacol.* 100. 807-813 (1990b)
26. Crunelli, V., Lightowler, S., and Pollard, C. E.: A T-type Ca^{2+} current underlies low-threshold Ca^{2+} potentials in cells of the cat and rat lateral geniculate nucleus. *J.Physiol.* 413. 543-561 (1989)
27. Danober, L., Depaulis, A., Vergnes, M., and Marescaux, C.: Mesopontine cholinergic control over generalized non-convulsive seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience.* 69. 1183-1193 (1995)
28. Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., and Marescaux, C.: Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog.Neurobiol.* 55. 27-57 (1998)
29. de Curtis, M. and Avanzini, G.: Thalamic regulation of epileptic spike and wave discharges. *Funct.Neurol.* 9. 307-326 (1994)
30. Depaulis, A., Vergnes, M., Liu, Z., Kempf, E., and Marescaux, C.: Involvement of the nigral output pathways in the inhibitory control of the substantia nigra over generalized non-convulsive seizures in the rat. *Neuroscience.* 39. 339-349 (1990)
31. Deransart, C., Marescaux, C., and Depaulis, A.: Involvement of nigral glutamatergic inputs in the control of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience.* 71. 721-728 (1996)
32. Deschenes, M., Paradis, M., Roy, J. P., and Steriade, M.: Electrophysiology of neurons of lateral thalamic nuclei in cat: resting properties and burst discharges. *J.Neurophysiol.* 51. 1196-1219 (1984)
33. Drinkenburg, W. H., Coenen, A. M., Vossen, J. M., and van, Luijtelaar EL: Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 9. 218-224 (1991)
34. Ferrie, C. D., Robinson, R. O., Knott, C., and Panayiotopoulos, C. P.: Lamotrigine as an add-on drug in typical absence seizures. *Acta Neurol.Scand.* 91. 200-202 (1995)
35. Gervasoni, D., Darracq, L., Fort, P., Souliere, F., Chouvet, G., and Luppi, P. H.: Electrophysiological evidence that noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus are tonically inhibited by GABA during sleep. *Eur.J.Neurosci.* 10. 964-970 (1998)
36. Guyon, A., Vergnes, M., and Leresche, N.: Thalamic low threshold calcium current in a genetic model of absence epilepsy. *Neuroreport.* 4. 1231-1234 (1993)
37. Hauser, W. A.: The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia.* 35 Suppl 2. S1-S6 (1994)

38. Hauser, W. A.: Epidemiology of epilepsy in children. *Neurosurg.Clin.N.Am.* 6. 419-429 (1995)
39. Hernandez-Cruz, A. and Pape, H. C.: Identification of two calcium currents in acutely dissociated neurons from the rat lateral geniculate nucleus. *J.Neurophysiol.* 61. 1270-1283 (1989)
40. Heyer, E. J. and Macdonald, R. L.: Barbiturate reduction of calcium-dependent action potentials: correlation with anesthetic action. *Brain Res.* 236. 157-171 (1982)
41. Holmes, G. L., McKeever, M., and Adamson, M.: Absence seizures in children: clinical and electroencephalographic features. *Ann.Neurol.* 21. 268-273 (1987)
42. Huguenard, J. R. and Prince, D. A.: Intrathalamic rhythmicity studied in vitro: nominal T-current modulation causes robust antioscillatory effects. *J.Neurosci.* 14. 5485-5502 (1994)
43. Inoue, M., Ates, N., Vossen, J. M., and Coenen, A. M.: Effects of the neuroleptanalgesic fentanyl-fluanisone (Hypnorm) on spike-wave discharges in epileptic rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 48. 547-551 (1994)
44. Inoue, M., Duysens, J., Vossen, J. M., and Coenen, A. M.: Thalamic multiple-unit activity underlying spike-wave discharges in anesthetized rats. *Brain Res.* 612. 35-40 (1993)
45. Janz, D.: Die klinische Stellung der Pyknolepsie. *Dtsch.Med.Wochenschr.* 1392-1400 (1955)
46. Janz, D.: The idiopathic generalized epilepsies of adolescence with childhood and juvenile age of onset. *Epilepsia.* 38. 4-11 (1997)
47. Johnson, P. I. and Napier, T. C.: GABA- and glutamate-evoked responses in the rat ventral pallidum are modulated by dopamine. *Eur.J.Neurosci.* 9. 1397-1406 (1997)
48. Kandel, A., Bragin, A., Carpi, D., and Buzsaki, G.: Lack of hippocampal involvement in a rat model of petit mal epilepsy. *Epilepsy Res.* 23. 123-127 (1996)
49. Kandel, A. and Buzsaki, G.: Cerebellar neuronal activity correlates with spike and wave EEG patterns in the rat. *Epilepsy Res.* 16. 1-9 (1993)
50. Kao, C. Q. and Coulter, D. A.: Physiology and pharmacology of corticothalamic stimulation-evoked responses in rat somatosensory thalamic neurons in vitro. *J.Neurophysiol.* 77. 2661-2676 (1997)
51. Knight, A. R. and Bowery, N. G.: GABA receptors in rats with spontaneous generalized nonconvulsive epilepsy. *J.Neural Transm.Suppl.* 35. 189-196 (1992)
52. Kyriazi, H., Carvell, G. E., Brumberg, J. C., and Simons, D. J.: Laminar differences in bicuculline methiodide's effects on cortical neurons in the rat whisker/barrel system. *Somatosens.Mot.Res.* 15. 146-156 (1998)
53. Lannes, B., Micheletti, G., Vergnes, M., Marescaux, C., Depaulis, A., and Warter, J. M.: Relationship between spike-wave discharges and vigilance levels in rats with spontaneous petit mal-like epilepsy. *Neurosci.Lett.* 94. 187-191 (1988)
54. Leresche, N., Jassik-Gerschenfeld, D., Haby, M., Soltesz, I., and Crunelli, V.: Pacemaker-like and other types of spontaneous membrane potential oscillations of thalamocortical cells. *Neurosci.Lett.* 113. 72-77 (1990)
55. Leresche, N., Parri, H. R., Erdemli, G., Guyon, A., Turner, J. P., Williams, S. R., Asproдини, E., and Crunelli, V.: On the action of the anti-absence drug ethosuximide in the rat and cat thalamus. *J.Neurosci.* 18. 4842-4853 (1998)
56. Liu, Z., Vergnes, M., Depaulis, A., and Marescaux, C.: Evidence for a critical role of GABAergic transmission within the thalamus in the genesis and control of absence seizures in the rat. *Brain Res.* 545. 1-7 (1991)

57. Liu, Z., Vergnes, M., Depaulis, A., and Marescaux, C.: Involvement of intrathalamic GABA_B neurotransmission in the control of absence seizures in the rat. *Neuroscience*. 48. 87-93 (1992)
58. Livingston, S., Rodriguez, H., Greene, C. A., and Pauli, L. L.: Systemic lupus erythematosus. Occurrence in association with ethosuximide therapy. *JAMA*. 203. 731-732 (1968)
59. Loiseau, P., Duche, B., and Pedespan, J. M.: Absence epilepsies. *Epilepsia*. 36. 1182-1186 (1995)
60. Lubke, J.: Morphology of neurons in the thalamic reticular nucleus (TRN) of mammals as revealed by intracellular injections into fixed brain slices. *J.Comp.Neurol*. 329. 458-471 (1993)
61. Luhmann, H. J., Mittmann, T., van, Luijtelaar G., and Heinemann, U.: Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res*. 22. 43-51 (1995)
62. Luthi, A. and McCormick, D. A.: H-current: properties of a neuronal and network pacemaker. *Neuron*. 21. 9-12 (1998)
63. Maalouf, M., Dykes, R. W., and Miasnikov, A. A.: Effects of D-AP5 and NMDA microiontophoresis on associative learning in the barrel cortex of awake rats. *Brain Res*. 793. 149-168 (1998)
64. Mandelbaum, D. E. and Burack, G. D.: The effect of seizure type and medication on cognitive and behavioral functioning in children with idiopathic epilepsy. *Dev.Med.Child Neurol*. 39. 731-735 (1997)
65. Marescaux, C., Vergnes, M., and Depaulis, A.: Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg--a review. *J.Neural Transm.Suppl*. 35. 37-69 (1992)
66. Mattson, R. H.: Efficacy and adverse effects of established and new antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 36 Suppl 2. S13-S26 (1995)
67. McCormick, D. A. and Bal, T.: Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu.Rev.Neurosci*. 20. 185-215 (1997)
68. McCormick, D. A. and Pape, H. C.: Properties of a hyperpolarization-activated cation current and its role in rhythmic oscillation in thalamic relay neurones. *J.Physiol*. 431. 291-318 (1990)
69. McLean, M. J. and Macdonald, R. L.: Sodium valproate, but not ethosuximide, produces use- and voltage-dependent limitation of high frequency repetitive firing of action potentials of mouse central neurons in cell culture. *J.Pharmacol.Exp.Ther*. 237. 1001-1011 (1986)
70. Meeren, HKM, Mödersheim, TAE, Coenen, A., and van Luijtelaar, ELJM. Unilateral thalamic lesions produce bilateral effects on Spike-Wave Discharges in a genetic model of Absence Epilepsy. *Eur.J.Neurosci*. 10. 1998.
71. Micheletti, G., Vergnes, M., Marescaux, C., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., and Warter, J. M.: Antiepileptic drug evaluation in a new animal model: spontaneous petit mal epilepsy in the rat. *Arzneimittelforschung*. 35. 483-485 (1985)
72. Mouritzen-Dam, A., Moller, A., Scheel-Kruger, J., Jensen, L. H., Marescaux, C., and Vergnes, M.: Total number of neurons in the ventro-lateral/posterior thalamic nuclei in a genetic petit mal-like rat strain. *Epilepsy Res.Suppl*. 12. 303-307 (1996)
73. Murphy, K. and Delanty, N.: Primary Generalized Epilepsies. *Curr.Treat.Options.Neurol*. 2. 527-542 (2000)
74. Olsson, I.: Epidemiology of absence epilepsy. I. Concept and incidence. *Acta Paediatr.Scand*. 77. 860-866 (1988)
75. Olsson, I. and Hagberg, G.: Epidemiology of absence epilepsy. III. Clinical aspects. *Acta Paediatr.Scand*. 80. 1066-1072 (1991)
76. Panayiotopoulos, C. P.: Typical absence seizures and their treatment. *Arch.Dis.Child*. 81. 351-355 (1999)

77. Panayiotopoulos, C. P., Ferrie, C. D., Knott, C., and Robinson, R. O.: Interaction of lamotrigine with sodium valproate. *Lancet*. 341. 445 (1993)
78. Pape, H. C.: Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu.Rev.Physiol*. 58. 299-327 (1996)
79. Parker, A. P., Agathonikou, A., Robinson, R. O., and Panayiotopoulos, C. P.: Inappropriate use of carbamazepine and vigabatrin in typical absence seizures. *Dev.Med.Child Neurol*. 40. 517-519 (1998)
80. Paxinos, G. and Watson, C.: The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th edition. Academic Press Sydney (1998)
81. Peeters, B. W., Kerbusch, J. M., Coenen, A. M., Vossen, J. M., and van, Luijtelaa EL: Genetics of spike-wave discharges in the electroencephalogram (EEG) of the WAG/Rij inbred rat strain: a classical mendelian crossbreeding study. *Behav.Genet*. 22. 361-368 (1992)
82. Peeters, B. W., Kerbusch, J. M., van, Luijtelaa EL, Vossen, J. M., and Coenen, A. M.: Genetics of absence epilepsy in rats. *Behav.Genet*. 20. 453-460 (1990)
83. Peeters, B. W., Spooren, E. L., van Luijtelaa, ELJM, and Coenen, A.: The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: anticonvulsant drug evaluation. *Neurosci.Res*. 2. 93-97 (1988)
84. Peeters, B. W., van, Rijn CM, Vossen, J. M., and Coenen, A. M.: Effects of GABA-ergic agents on spontaneous non-convulsive epilepsy, EEG and behaviour, in the WAG/RIJ inbred strain of rats. *Life Sci*. 45. 1171-1176 (1989)
85. Pellegrini, A., Dossi, R. C., Dal, Pos F., Ermani, M., Zanotto, L., and Testa, G.: Ethosuximide alters intrathalamic and thalamocortical synchronizing mechanisms: a possible explanation of its antiabsence effect. *Brain Res*. 497. 344-360 (1989)
86. Penry, J. K., Porter, R. J., and Dreifuss, R. E.: Simultaneous recording of absence seizures with video tape and electroencephalography. A study of 374 seizures in 48 patients. *Brain*. 98. 427-440 (1975)
87. Pfrieder, F. W., Veselovsky, N. S., Gottmann, K., and Lux, H. D.: Pharmacological characterization of calcium currents and synaptic transmission between thalamic neurons in vitro. *J.Neurosci*. 12. 4347-4357 (1992)
88. Pinault, D., Leresche, N., Charpier, S., Deniau, J. M., Marescaux, C., Vergnes, M., and Crunelli, V.: Intracellular recordings in thalamic neurones during spontaneous spike and wave discharges in rats with absence epilepsy. *J.Physiol*. 509. 449-456 (1998)
89. Price, J. L.: Thalamus. 629-648. *The Rat Nervous System - Second Edition*. Academic Press Paxinos, G. San Diego (1995)
90. Pumain, R., Louvel, J., Gastard, M., Kurcewicz, I., and Vergnes, M.: Responses to N-methyl-D-aspartate are enhanced in rats with petit mal-like seizures. *J.Neural Transm.Suppl*. 35. 97-108 (1992)
91. Sabers, A., Moller, A., Scheel-Kruger, J., and Mouritzen, Dam A.: No loss in total neuron number in the thalamic reticular nucleus and neocortex in the genetic absence epilepsy rats from Strasbourg. *Epilepsy Res*. 26. 45-48 (1996)
92. Sato, S., White, B. G., Penry, J. K., Dreifuss, F. E., Sackellares, J. C., and Kupferberg, H. J.: Valproic acid versus ethosuximide in the treatment of absence seizures. *Neurology*. 32. 157-163 (1982)
93. Schmidt, B., Staak, R., Seidenbecher, T., Stefan, H., and Pape, H. C. Effects of ethosuximide on spike and wave-related activity of thalamocortical relay neurons in a genetic rat model. *Eur.J.Physiol. Suppl*. 435. (1998)

94. Seidenbecher, T. and Pape, H. C.: Contribution of intralaminar thalamic nuclei to spike-and-wave-discharges during spontaneous seizures in a genetic rat model of absence epilepsy. *Eur.J.Neurosci.* 13. 1537-1546 (2001)
95. Seidenbecher, T., Staak, R., and Pape, H. C.: Relations between cortical and thalamic cellular activities during absence seizures in rats. *Eur.J.Neurosci.* 10. 1103-1112 (1998)
96. Sherwin, A. L., Robb, J. P., and Lechter, M.: Improved control of epilepsy by monitoring plasma ethosuximide. *Arch.Neurol.* 28. 178-181 (1973)
97. Singesen, B. H., Fishman, L., and Hanson, V.: Antinuclear antibodies and lupus-like syndromes in children receiving anticonvulsants. *Pediatrics.* 57. 529-534 (1976)
98. Snead, O. C., Depaulis, A., Banerjee, P. K., Hechler, V., and Vergnes, M.: The GABAA receptor complex in experimental absence seizures in rat: an autoradiographic study. *Neurosci.Lett.* 140. 9-12 (1992)
99. Spreafico, R., Battaglia, G., and Frassoni, C.: The reticular thalamic nucleus (RTN) of the rat: cytoarchitectural, Golgi, immunocytochemical, and horseradish peroxidase study. *J.Comp.Neurol.* 304. 478-490 (1991)
100. Spreafico, R., Mennini, T., Danober, L., Cagnotto, A., Regondi, M. C., Miari, A., De, Blas A., Vergnes, M., and Avanzini, G.: GABAA receptor impairment in the genetic absence epilepsy rats from Strasbourg (GAERS): an immunocytochemical and receptor binding autoradiographic study. *Epilepsy Res.* 15. 229-238 (1993)
101. Staak, R. and Pape, H. C.: Contribution of GABA_A and GABA_B receptors to thalamic neuronal activity during spontaneous absence seizures in rats. *J.Neurosci.* 21. 1378-1384 (2001)
102. Stefan, H.: Epileptic absences. Studies on the structure, pathophysiology and clinical course of the seizure. *Fortschr.Med.* 101. 996-998 (1983)
103. Steriade, M., McCormick, D. A., and Sejnowski, T. J.: Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science.* 262. 679-685 (1993)
104. Suzuki, S. and Rogawski, M. A.: T-type calcium channels mediate the transition between tonic and phasic firing in thalamic neurons. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 86. 7228-7232 (1989)
105. Talley, E. M., Solorzano, G., Depaulis, A., Perez-Reyes, E., and Bayliss, D. A.: Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 75. 159-165 (2001)
106. Todorovic, S. M. and Lingle, C. J.: Pharmacological properties of T-type Ca²⁺ current in adult rat sensory neurons: effects of anticonvulsant and anesthetic agents. *J.Neurophysiol.* 79. 240-252 (1998)
107. Tsakiridou, E., Bertollini, L., de, Curtis M., Avanzini, G., and Pape, H. C.: Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J.Neurosci.* 15. 3110-3117 (1995)
108. van Luijtelaar G., Wiaderna, D., Elants, C., and Scheenen, W.: Opposite effects of T- and L-type Ca(2+) channels blockers in generalized absence epilepsy. *Eur.J.Pharmacol.* 406. 381-389 (2000)
109. van Luijtelaar EL and Coenen, A. M.: Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci.Lett.* 70. 393-397 (1986)
110. van Rijn CM, Weyn, Banningh EW, and Coenen, A. M.: Effects of lamotrigine on absence seizures in rats. *Pol.J.Pharmacol.* 46. 467-470 (1994)
111. Vercueil, L., Benazzouz, A., Deransart, C., Bressand, K., Marescaux, C., Depaulis, A., and Benabid, A. L.: High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses absence seizures in the rat: comparison with neurotoxic lesions. *Epilepsy Res.* 31. 39-46 (1998)

112. Vergnes, M. and Marescaux, C.: Cortical and thalamic lesions in rats with genetic absence epilepsy. *J.Neural Transm.Suppl.* 35:71-83. 71-83 (1992)
113. Vergnes, M., Marescaux, C., Boehler, A., and Depaulis, A.: Are rats with genetic absence epilepsy behaviorally impaired? *Epilepsy Res.* 9. 97-104 (1991)
114. Vergnes, M., Marescaux, C., Depaulis, A., Micheletti, G., and Warter, J. M.: Ontogeny of spontaneous petit mal-like seizures in Wistar rats. *Brain Res.* 395. 85-87 (1986)
115. Vergnes, M., Marescaux, C., Depaulis, A., Micheletti, G., and Warter, J. M.: Spontaneous spike and wave discharges in thalamus and cortex in a rat model of genetic petit mal-like seizures. *Exp.Neurol.* 96. 127-136 (1987)
116. Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., and Warter, J. M.: Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neurosci.Lett.* 33. 97-101 (1982)
117. von Krosigk M., Bal, T., and McCormick, D. A.: Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science.* 261. 361-364 (1993)
118. Warter, J. M., Vergnes, M., Depaulis, A., Tranchant, C., Rumbach, L., Micheletti, G., and Marescaux, C.: Effects of drugs affecting dopaminergic neurotransmission in rats with spontaneous petit mal-like seizures. *Neuropharmacology.* 27. 269-274 (1988)
119. Winek, C. L.: Tabulation of therapeutic, toxic, and lethal concentrations of drugs and chemicals in blood. *Clin.Chem.* 22. 832-836 (1976)
120. Wirrell, E. C., Camfield, C. S., Camfield, P. R., Dooley, J. M., Gordon, K. E., and Smith, B.: Long-term psychosocial outcome in typical absence epilepsy. Sometimes a wolf in sheeps' clothing. *Arch.Pediatr.Adolesc.Med.* 151. 152-158 (1997)
121. Wirrell, E. C., Camfield, C. S., Camfield, P. R., Gordon, K. E., and Dooley, J. M.: Long-term prognosis of typical childhood absence epilepsy: remission or progression to juvenile myoclonic epilepsy [see comments]. *Neurology.* 47. 912-918 (1996)
122. Yamamoto, T., Kishimoto, Y., Yoshikawa, H., and Oka, H.: Cortical laminar distribution of rat thalamic ventrolateral fibers demonstrated by the PHA-L anterograde labeling method. *Neurosci.Res.* 9. 148-154 (1990)
123. Zhang, Y. F., Gibbs, J. W., and Coulter, D. A.: Anticonvulsant drug effects on spontaneous thalamocortical rhythms in vitro: ethosuximide, trimethadione, and dimethadione. *Epilepsy Res.* 23. 15-36 (1996)

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei dem Direktor des Instituts für Physiologie, Herrn Prof. Dr. H.-C. Pape, für das entgegengebrachte Vertrauen bei der Vergabe des Themas dieser Dissertation bedanken. In jeder Phase dieser Arbeit war Herr Prof. Dr. Pape ein geduldiger Ansprechpartner und hat durch konstruktive Anregungen und Kritik zum Gelingen der Experimente beigetragen. Besonderer Dank gilt für die persönliche Förderung durch Herrn Prof. Pape, die den Fortgang der Arbeit ermöglichte und beschleunigte.

Als meinem Betreuer während der Erstellung der Dissertation möchte ich Herrn Dr. R. Staak meinen größten Dank aussprechen. Mit aufopferungsvollem persönlichem Einsatz und seiner reichen wissenschaftlichen Erfahrung hat er mich durch die Höhen und Tiefen bei der Bearbeitung der Fragestellung begleitet. Durch seine angenehme persönliche Art entstand ein ausgezeichnetes Arbeitsklima, geprägt von einem vorbehaltlosen, intensiven Meinungsaustausch und vertrauensvoller Zusammenarbeit.

Weiterhin danke ich Frau S. Staak für hervorragende Betreuung bei der aufwendigen technischen Vorbereitung und Durchführung der Experimente sowie bei deren anschließender Auswertung. Darüberhinaus haben ihre kritischen Beiträge zur Bewertung der Ergebnisse und ihre Vorschläge zur weiteren Versuchsplanung zum Gelingen des Projektes beigetragen.

Für die ausgezeichnete Unterstützung bei der Erstellung der histologischen Präparate gilt mein Dank Frau A. Reusch.

Außerdem möchte ich Herrn Dr. R. Driesang danken, dessen Programmier-Kenntnisse die Durchführung der Rauschanalyse ermöglicht haben.

Vielen Dank auch an Herrn Prof. Dr. G. Reiser für die Förderung im Rahmen des Graduiertenkollegs „Biologische Grundlagen von Erkrankungen des Nervensystems“.

.

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel:

Wirkung von mikroiontophoretisch appliziertem Ethosuximid auf thalamische und kortikale Neurone in einem Tiermodell der Absence Epilepsie in vivo

im Institut für Physiologie an der Medizinischen Fakultät

mit Unterstützung durch die in der Danksagung erwähnten Personen angefertigt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die oben aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung sind die Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe die Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Freiburg, den 01.01.2002

Boris H. Schmidt

Darstellung des Bildungsweges

Geburtstag, -ort:	15.03.1974 in Kassel
Schulbildung:	1980-1984 Grundschule am Schloth Melsungen 1984-1990 Gesamtschule Melsungen 1990-1993 Oberstufengymnasium Geschwister-Scholl Melsungen Abitur
Zivildienst:	08/93-10/94 Evangelisches Krankenhaus Lindenthal in Köln
Studium:	10/94-11/01 Humanmedizin an der Otto-von-Guericke-Universität in Magdeburg 05/98-12/98 Stipendiat des Graduiertenkollegs „Biologische Grundlagen von Erkrankungen des Zentralen Nervensystems“ 06/98 Arbeitsaufenthalt am Institute of Ophthalmology am University College in London 10/99–05/00 Zwei Tertiale des Praktischen Jahres an der Tulane University of New Orleans, USA als Stipendiat des DAAD 06/00-10/00 Drittes Terial in der Klinik für Neurologie am Universitätsklinikum Magdeburg
Beruf:	seit 01/01 Arzt im Praktikum an der Universitätsklinik Freiburg, Medizinische Klinik III, Abteilung für Kardiologie und Angiologie

Publikationsliste

- Schmidt-B., Staak-R., Seidenbecher-T., Staak-S. und Pape-H.-C.: „The anticonvulsivum ethosuximide reduces spike and wave-related activity in neurons of the thalamic ventrobasal complex in epileptic rats.“ – Poster at the Symposium of Pathology of Cerebral Neurotransmission in Magdeburg. Abstract published in „Pharmacopsychiatry“, Issue 02/98
- Schmidt-B., Staak-R., Seidenbecher-T., Staak-S. und Pape-H.-C.: „Effects of ethosuximide on spike and wave-related activity of thalamocortical relay neurons in a genetic rat model.“ – Poster at the Joint Congress of the German and Scandinavian Physiological Societies in March 1998 in Hamburg. Abstract published in „European Journal of Physiology“, Supplement to Vol. 435, No. 6 (1998)
- Staak-R., Seidenbecher-T., Staak-S., Schmidt-B. und Pape-H.-C.: „Effects of GABA receptor antagonists on seizure related thalamic activity in epileptic rats.“ – Poster at the Forum of European Neuroscience in June 1998 in Berlin. Abstract published in „European Journal of Neuroscience“, Volume 10, Supplement 10, 1998
- Staak-R., Seidenbecher-T., Staak-S., Schmidt-B. und Pape-H.-C.: „Effects of GABA receptor antagonists on spike and wave related activity in the thalamus of epileptic rats.“ – Poster at the Symposium of Pathology of Cerebral Neurotransmission in Magdeburg. Abstract published in „Pharmacopsychiatry“, Issue 02/98
- Staak-R., Seidenbecher-T., Schmidt-B., Staak-S. and Pape-H.-C.: “Regionally specific effects of ethosuximide on spike-and-wave related activity in thalamus and cortex.” – Poster at the Annual Meeting of the Society for Neuroscience in Miami, USA, October 1999. Abstract published in Soc. for Neuroscience vol. 25, part 2, p. 1869 (1999)

Tabellarischer Anhang

KONTROLLE						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w b1103	35,52	37,11	35,10	38,34	35,96	36,41
w b1013	46,85	46,44	44,74	45,95	46,02	46,00
w b1715	31,81	29,66	24,46	29,47	27,69	28,62
w b1203	49,19	43,65	42,46	45,48	43,72	44,90
w b1516	34,48	36,33	34,35	38,72	35,09	35,79
w b0412	37,38	37,78	40,40	36,81	35,94	37,66
						38,23 ± 6,43
ESM						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w b1103	38,49	38,97	42,43	40,64	39,03	39,91
w b1013	48,90	46,00	41,95	47,95	47,07	46,37
w b1715	30,57	26,08	27,51	25,50	26,31	27,19
w b1203	51,60	42,09	45,56	44,91	47,42	46,32
w b1516	35,89	37,36	33,93	36,44	34,77	35,68
w b0412	33,11	36,01	35,73	36,81	35,94	35,52
						38,50 ± 7,35

Tab A: Rauschanalyse der Ableitungen aus dem Nucleus ventralis basalis thalami (VB) während Kontrolle und ESM-Applikation. Dargestellt sind die Mittelwerte der Varianzen aus 5 willkürlich gewählten Abschnitten und der daraus gebildete Mittelwert. Im paarigen Mittelwertvergleich zeigt sich kein signifikanter Unterschied ($p=1.0$).

KONTROLLE						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w 043-16	21,40	26,87	21,89	22,82	23,30	23,26
w 045-12	28,90	26,86	29,42	27,18	25,25	27,52
w 047-16	32,23	35,63	35,55	34,23	32,32	33,99
w 044-07	18,02	13,91	16,31	17,01	15,16	16,08
						25,21 ± 7,5
ESM						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w 043-16	24,74	24,38	23,96	24,24	22,89	24,04
w 045-12	24,95	28,35	30,52	24,47	30,05	27,67
w 047-16	34,25	31,95	35,00	31,34	32,97	33,10
w 044-07	15,73	14,93	16,47	14,41	15,42	15,39
						25,05 ± 7,4

Tab.B: Rauschanalyse der Ableitungen aus dem Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex (S1-HL) während Kontrolle und ESM-Applikation. Dargestellt sind die Mittelwerte der Varianzen aus 5 willkürlich gewählten Abschnitten und der daraus gebildete Mittelwert. Im paarigen Mittelwertvergleich zeigt sich kein signifikanter Unterschied ($p=0.94$).

KONTROLLE						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w b3106	47,00	46,03	49,90	45,13	43,21	46,25
w b2304	25,66	27,88	21,95	25,11	25,45	25,21
w b2502	38,65	39,05	39,78	40,34	39,45	39,45
w b3003	52,22	51,28	49,01	50,52	52,11	51,03
						40,49 ± 11,2
ESM						
File/Abschnitt	1	2	3	4	5	Mittelwert
w b3106	47,42	46,60	42,09	46,86	51,92	46,98
w b2304	25,58	23,80	25,06	24,90	25,95	25,06
w b2502	36,16	40,20	37,68	39,07	38,10	38,24
w b3003	50,58	53,32	52,12	51,60	53,61	52,25
						40,63 ± 11,9

Tab.C: Rauschanalyse der Ableitungen aus dem Nucleus reticularis thalami (NRT) während Kontrolle und ESM-Applikation. Dargestellt sind die Mittelwerte der Varianzen aus 5 willkürlich gewählten Abschnitten und der daraus gebildete Mittelwert. Im paarigen Mittelwertvergleich zeigt sich kein signifikanter Unterschied ($p=0.97$).

Abschnitt/File	8101	7901	7501	0412	1103	1203	1516	1703	1715	3801	0508	n	Mittelwert	SE
Relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen in %														
E 1	-2,1	-3,2	-15,2	-14,5	-41,9	-34,4	-14,9	-1,7	-14,7	-3,1	-27,8	11	-15,8	4,1
E 2	0,0	-6,1	-20,1	-22,9		-31,2	-0,7		-36,0	0,3	-29,4	9	-16,2	4,9
E 3	-1,8	-24,1	-31,9	-34,1			-4,6		-34,8	-3,0		7	-19,2	5,8
E 4	9,1			-27,9			-5,3		-31,5			4	-13,9	9,6
E 5	-14,1						-7,4		-49,8			3	-23,8	13,2
aus		-35,8		-14,0		-20,8	7,3	5,4	-50,8	-5,3		7	-16,3	8,1
max	-14,1	-24,1	-31,9	-34,1	-41,9	-34,4	-14,9	-1,7	-49,8	-3,1	-29,4	11	-25,4	4,7
Zahl der SWD	113	90	149	20	53	30	60	33	78	121	32	11	70,8	13,0
Dauer des analysierten Zeitabschnitts in s														
Kontrolle	50,5	47,3	56,9	16,9	33,6	54,1	27,0	21,5	23,8	23,2	39,9	11	35,9	4,4
E 1	90,4	117,2	54,9	43,2	39,7	62,6	63,0	92,1	35,9	36,9	54,9	11	62,8	8,0
E 2	46,9	47,4	41,2	37,2		24,9	29,8		33,2	42,5	75,0	9	42,0	4,8
E 3	45,0	35,6	54,4	28,2			38,4		32,9	45,7		7	40,0	3,4
E 4	44,0			53,7			26,9		38,5			4	40,8	5,6
E 5	51,7						72,5		38,3			3	54,2	10,0
aus		38,3		38,2		74,8	57,6	65,5	54,7	52,6		7	54,5	5,1
Ejektionsstromstärke in nA														
E 1	15,0	12,5	10,0	60,0	60,0	40,0	60,0	40,0	60,0	60,0	60,0	11	43,4	6,4
E 2	30,0	17,5	15,0	60,0		40,0	60,0		70,0	60,0	90,0	9	49,2	8,4
E 3	40,0	25,0	20,0	60,0			90,0		80,0	60,0		7	53,6	10,0
E 4	65,0			120,0			120,0		90,0			4	98,8	13,3
E 5	70,0						120,0		100,0			3	96,7	14,5

Tab. D: Übersicht über die Experimente aus dem Nucleus ventralis basalis thalami (VB). Obere Zeile: Name und Zahl der Versuche, Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE). Die relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen (in %) zeigt die Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert. Die Dauer der analysierten Zeitabschnitte (in s) und die Ejektionsstromstärken werden dargestellt.

Abschnitt/File	3003	2304	3106	2502	n	Mittelwert	SE
Relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen in %							
E 1	3,2	-6,7	2,9	6,2	4	1,4	2,8
E 2	4,1	-5,7	-13,2	10,1	4	1,2	5,2
E 3	-6,4	-4,5	3,9	12,9	4	1,5	4,4
aus	-6,3	-2,9	11,8	10,5	4	3,3	4,6
max	-6,4	-6,7	-13,2	12,9	4	-3,4	5,6
Zahl der SWD	90	83	107	238	4	129,5	36,5
Dauer des analysierten Zeitabschnitts in s							
Kontrolle	44,9	40,9	27,4	67,3	4	45,1	8,3
E 1	42,3	44,0	36,4	64,4	4	46,8	6,1
E 2	39,0	34,6	49,5	63,8	4	46,7	6,5
E 3	43,7	40,0	36,2	59,0	4	44,7	5,0
aus	36,4	42,2	33,9	60,4	4	43,2	6,0
Ejektionsstromstärke in nA							
E 1	60,0	60,0	50,0	40,0	4	52,5	4,8
E 2	60,0	60,0	50,0	80,0	4	62,5	6,3
E 3	60,0	60,0	50,0	80,0	4	62,5	6,3

Tab. E: Übersicht über die Experimente aus dem Nucleus reticularis thalami (NRT). Obere Zeile: Name und Zahl der Versuche, Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE). Die relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen (in %) zeigt die Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert. Die Dauer der analysierten Zeitabschnitte (in s) und die Ejektionsstromstärken werden dargestellt.

Abschnitt/File	2904	2107	1901	1906	2301	0713	1505	n	Mittelwert	SE
Relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen in %										
E 1	8,7	-6,9	7,6	-7,4	-16,1	4,6	-18,3	7	-4,0	4,2
E 2	0,0	-4,6	-12,2	28,0	-15,9	-26,0	-15,2	7	-6,6	6,6
E 3	-5,9	-9,4	-0,4	11,4	-12,1	-15,8	-20,9	7	-7,6	4,0
E 4		-5,3	-2,3		-21,8	-2,6	-5,2	5	-7,4	3,6
E 5		-7,8	-8,7			-3,1	2,6	4	-4,2	2,6
aus		3,7	5,7	5,9	-4,0	12,8	-15,2	6	1,5	4,0
max	8,7	-9,4	-12,2	28,0	-21,8	-26,0	-20,9	7	-7,6	7,4
Zahl der SWD	97	154	113	45	99	47	56	7	87,3	15,2
Dauer des analysierten Zeitabschnitts in s										
Kontrolle	40,5	37,6	61,8	54,3	45,3	30,2	107,5	7	53,9	9,8
E 1	39,8	39,0	50,6	66,5	51,9	33,6	32,3	7	44,8	4,6
E 2	47,1	38,7	58,9	32,5	40,4	40,9	57,6	7	45,2	3,8
E 3	43,1	39,5	49,5	64,0	45,2	31,1	52,8	7	46,4	3,9
E 4		41,5	70,6		58,1	45,9	21,9	5	47,6	8,2
E 5		40,5	54,3			63,2	39,4	4	49,3	5,7
aus		42,2	67,4	53,5	36,8	78,3	34,3	6	52,1	7,2
Ejektionsstromstärke in nA										
E 1	40,0	60,0	40,0	60,0	60,0	40,0	60,0	7	51,4	4,0
E 2	40,0	70,0	50,0	70,0	70,0	60,0	60,0	7	60,0	4,4
E 3	40,0	80,0	60,0	80,0	80,0	80,0	90,0	7	72,9	6,4
E 4		90,0	80,0		80,0	100,0	120,0	5	94,0	7,5
E 5		100,0	80,0			120,0	120,0	4	105,0	9,6

Tab. F: Übersicht über die Experimente aus dem Nucleus ventralis lateralis (VL). Obere Zeile: Name und Zahl der Versuche, Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE). Die relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen (in %) zeigt die Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert. Die Dauer der analysierten Zeitabschnitte (in s) und die Ejektionsstromstärken werden dargestellt.

Abschnitt/File	4316	4512	4716	4709	4407	4809	n	Mittelwert	SE
Relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen in %									
E 1	8,8	-2,3	-2,2	-14,4	16,0	34,7	6	6,8	7,0
E 2	6,5	4,1	2,1	-20,5		49,4	5	8,3	11,3
E 3	7,5	-1,4	14,7	-24,6			4	-0,9	8,5
E 4		0,1		-27,2			2	-13,5	13,7
E 5		1,0		-27,1			2	-13,0	14,0
aus		-5,8	14,0	-26,0	-26,2		4	-11,0	9,6
max	8,8	4,1	14,7	-27,2	16,0	49,4	6	11,0	10,0
Zahl der SWD	86	62	125	163	52	124	6	102,0	17,4
Dauer des analysierten Zeitabschnitts in s									
Kontrolle	40,0	38,5	34,2	44,5	65,4	62,9	6	47,6	5,4
E 1	38,4	37,2	35,5	47,8	103,2	80,4	6	57,1	11,5
E 2	49,7	34,3	37,1	45,9		68,2	5	47,0	6,0
E 3	41,5	44,6	103,8	50,9			4	60,2	14,7
E 4		36,5		43,8			2	40,2	3,7
E 5		66,3		45,6			2	55,9	10,3
aus		45,5	81,2	53,9	79,3		4	65,0	9,0
Ejektionsstromstärke in nA									
E 1	100,0	40,0	80,0	40,0	60,0	70,0	6	65,0	9,6
E 2	100,0	40,0	80,0	40,0		120,0	5	76,0	16,0
E 3	100,0	40,0	120,0	40,0			4	75,0	20,6
E 4		60,0		40,0			2	50,0	10,0
E 5		80,0		40,0			2	60,0	20,0

Tab. G: Übersicht über die Experimente aus dem Repräsentationsareal der Hinterextremität im somatosensorischen Kortex (S1-HL). Obere Zeile: Name und Zahl der Versuche, Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE). Die relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen (in %) zeigt die Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert. Die Dauer der analysierten Zeitabschnitte (in s) und die Ejektionsstromstärken werden dargestellt.

Abschnitt/File	9004	8007	9002	9801	5104	5001	n	Mittelwert	SE
Relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen in %									
E 1	8,2	-8,5	-18,0	-17,1	-11,1	-10,8	6	-9,6	3,9
E 2	-0,6	-12,2	-60,4	-22,4	-20,9	-5,9	6	-20,4	8,7
E 3	-20,0	-0,3	-94,0	-18,1	-22,6	-8,4	6	-27,2	13,8
E 4	-48,9	-5,5	-97,8	-11,7	1,9	-8,1	6	-28,4	16,6
E 5	-54,5	15,2	-96,8	11,3	-22,0	1,5	6	-24,2	18,0
aus			-44,8		-5,0	-15,6	3	-21,8	11,9
max	-54,5	15,2	-97,8	-22,4	-22,6	-10,8	6	-32,1	16,0
Zahl der SWD	117	122	147	117	83	148	6	122,3	9,8
Dauer des analysierten Zeitabschnitts in s									
Kontrolle	48,5	56,4	52,9	28,4	23,6	54,8	6	44,1	5,9
E 1	45,5	60,2	47,9	39,0	19,9	55,3	6	44,6	5,8
E 2	43,4	47,3	54,8	35,9	20,8	50,2	6	42,1	5,0
E 3	40,5	39,9	49,2	35,6	23,8	60,6	6	41,6	5,1
E 4	76,4	40,6	50,3	33,3	37,2	56,3	6	49,0	6,5
E 5	44,1	41,7	40,3	27,6	46,6	58,8	6	43,2	4,1
aus			71,9		83,3	62,4	3	72,5	6,0
Ejektionsstromstärke in nA									
E 1	140	15	60	20	120	120	6	79,2	22,4
E 2	170	35	100	80	140	160	6	114,2	21,2
E 3	180	40	140	140	160	200	6	143,3	22,8
E 4	150	60	160	180	170	220	6	156,7	21,7
E 5	180	70	160	200	190	240	6	173,3	23,3

Tab. H: Übersicht über die Experimente aus dem Repräsentationsareal des Kiefers im somatosensorischen Kortex (S1-J). Obere Zeile: Name und Zahl der Versuche, Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SE). Die relative Veränderung SWD-bezogener Entladungen (in %) zeigt die Veränderungen gegenüber dem Kontrollwert. Die Dauer der analysierten Zeitabschnitte (in s) und die Ejektionsstromstärken werden dargestellt. Es ist zu beachten, dass ESM in diesen Experimenten jeweils aus zwei Kapillaren simultan ausgetrieben wurde. Die angegebenen Ejektionsstromstärken wurden addiert.