



Rudolf A. Deisz

Ursachen der Pharmakoresistenz der Temporallappenepilepsie

# Neue Beeinträchtigungen der GABAergen Hemmung

Rudolf A. Deisz

Charité Universitätsmedizin Berlin, Zentrum für Anatomie, Institut für Zell- und Neurobiologie

psychoneuro 2004; 30 (2): 101–105

Die geordnete Informationsverarbeitung im Zentralnervensystem beruht auf einer kritischen Balance zwischen Erregungs- und Hemmungsprozessen. Störungen dieses empfindlichen Gleichgewichtes, in Richtung einer verstärkten Erregung oder einer verminderten Hemmung, führen zu einer gesteigerten Erregbarkeit, die letztlich den klinischen Symptomen der Epilepsien zugrunde liegen kann. Eine Fülle von Beobachtungen untermauert die zentrale Rolle von GABAergen Hemmung für Übererregbarkeit: Krampf-induzierende Substanzen (Bicucullin, Ammonium) vermindern und Antikonvulsiva bzw. Antiepileptika verstärken die Hemmungsprozesse. Die zellulären Mechanismen, die zur Übererregbarkeit und Pharmakoresistenz im epileptogenen humanen Gewebe beitragen sind, unklar (1). In dieser Übersicht werden einige Aspekte der synaptischen Hemmung dargestellt, vorwiegend Befunde von humanen Resektatgeweben, die neue Mechanismen von Störungen der GABAergen Hemmung im Temporallappenepilepsie-Gewebe aufzeigen.

## Grundlagen GABAerger Hemmung

Die synaptische Hemmung wird im Zentralnervensystem meist durch GABA (gamma amino butyric acid) vermittelt. GABA wird in hemmenden Neuronen über eine De-

*Trotz Einführung zahlreicher neuer Antiepileptika hat sich der Anteil pharmakoresistenter Patienten nur wenig geändert. Es scheint daher, als seien die zellulären Mechanismen der Epilepsie des Menschen und die Pharmakoresistenz nur unzureichend verstanden. An Hirnschnitten des humanen epileptogenen Neokortex konnte gezeigt werden, dass die GABA<sub>A</sub>-Antwort bei einigen Neuronen erregend statt hemmend ist und dass GABA<sub>B</sub>-Rezeptor vermittelte Effekte vermindert sind, ein Effekt der hochfrequente synaptische Aktivität begünstigt. Diese Veränderungen sind mehr als hinreichend zur Erklärung der schweren pharmakoresistenten Epilepsie. Störungen bzw. Fehlen jedes einzelnen dieser Mechanismen führt in knockout Mäusen zu Epilepsie.*

karboxylierung von Glutamat synthetisiert, durch einen spezifischen Transportmechanismus in den Vesikeln angereichert und beim Eintreffen eines Aktionspotentials in den synaptischen Spalt freigesetzt. Nach Diffusion kann freigesetztes GABA an verschiedene Rezeptoren binden und zelluläre Effekte auslösen. Synaptisch freigesetztes GABA wird schließlich über Transportmechanismen in die Zellen aufgenommen und durch eine GABA-Transaminase abgebaut oder wiederverwendet.

Trotz dieses bekannten einfachen Prinzips zeigt die GABAerge Hemmung bei genauerer Betrachtung eine erstaunliche Komplexität. Auf der Ebene der zellulären Elemente sind im Isokortex verschiedene Gruppen von GABA-synthetisierenden Neuronen etabliert, die sich nach Form, laminärer Verteilung der Axonkollateralen und Zielgebiet auf dem einzelnen Neuron unterscheiden (27). Auf der Ebene der GABA-Rezeptoren können zwei

molekular und funktionell verschiedene Familien von Rezeptoren unterschieden werden: die GABA<sub>A</sub>- und GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren. Auch auf der zeitlichen Ebene, der postnatalen Entwicklung, zeigt z.B. die Expression von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren eine erstaunliche Vielfalt (24).

Die GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren sind Ziel verschiedener Medikamente, Modulatoren (Benzodiazepine, Barbiturate, neuroaktive Steroide) und konvulsiver Substanzen (Bicucullin). Weniger bekannt sind die Effekte von Phenytoin auf die GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren (11, 16). Für GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren gibt es nur eine klinisch relevante Substanz, den Agonisten Baclofen; verschiedene Antagonisten werden derzeit nur experimentell genutzt.

## GABA<sub>A</sub>-Hemmung, Rezeptoren und ionale Mechanismen

GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren gehören zur Familie der liganden-aktivierten Ionenkanäle und weisen in ihrem

Aufbau Ähnlichkeiten mit Acetylcholinrezeptoren auf. Die GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren bestehen aus jeweils fünf homologen Untereinheiten, von denen jede vier transmembranale Domänen aufweist. Derzeit sind 17 Untereinheiten vollständig geklont. Grundsätzlich könnte die Zahl physiologisch und molekular verschiedener GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren den Wert von 1000 überschreiten, da die stöchiometrische Zusammensetzung physiologische und pharmakologische Eigenschaften bestimmt (24).

Die Aktivierung von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren verursacht das frühe inhibitorische postsynaptische Potential (IPSP<sub>A</sub>). Neben der Menge an freigesetztem GABA, Dichte und Leitfähigkeit der GABA-aktivierten Kanäle hängt die Wirksamkeit der Hemmung auch vom Cl<sup>-</sup>-Gradienten ab, der während der Kanal-Aktivierung wirksam wird (12). Ein auswärtsgerichteter, K<sup>+</sup>-gekoppelter Cl<sup>-</sup>-Transport hält den Gradienten negativer als das Ruhemembranpotential, die Grundlage hyperpolarisierender synaptischer Hemmung (12). Auch im ZNS von Säugern konnten wir einen vergleichbaren Transportmechanismus nachweisen (23, 29). Das molekulare Substrat dieses Transports ist eine von Payne et al. (26) klonierte Neuronen-spezifische Isoform des K/Cl-Transporters (KCC2). Neben Cl<sup>-</sup>-Ionen sind aber auch Bikarbonationen an der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Leitfähigkeit beteiligt (19). Die partielle Bikarbonat-Leitfähigkeit der GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren verursacht eine depolarisierende Differenz von etwa 15 mV zwischen dem Gleichgewichtspotential für Cl<sup>-</sup> und dem für GABA (19).

## ■ GABA<sub>B</sub>-Mechanismen

Auch die GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren bilden eine Gruppe, funktionelle Rezeptoren bestehen aus Heterodimeren verschiedener Untereinheiten mit jeweils sieben transmembranalen Domänen (20), die über G-Proteine verschiedene zelluläre Effekte steuern. Neben der molekularen Vielfalt sind GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren auch funktionell sehr heterogen (8). Im Neokortex lassen sich zwei wesentliche Typen nach Lokalisation, Pharmakologie, Effektormechanismen

und physiologischer Bedeutung unterscheiden. Postsynaptische GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren hemmen die Erregbarkeit über eine Leitfähigkeitserhöhung für K<sup>+</sup>-Ionen, präsynaptische GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren vermindern hingegen die synaptische Hemmung (13) über eine Reduktion der für die Freisetzung notwendigen Ca<sup>2+</sup>-Ströme (4).

Die präsynaptischen GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren bewirken eine negative Rückkoppelung von GABA auf seine Freisetzung, welche einen bestimmten Zeitverlauf und somit auch eine Frequenzabhängigkeit der Hemmung ergibt. Moderate Erhöhung der Reizfrequenz, von 0,1 auf 1 Hz, vermindert im Neokortex die postsynaptische GABA<sub>A</sub>-Leitfähigkeit um etwa 80%, eine Blockade der GABA-Wiederaufnahme vergrößert Dauer und Ausmaß der negativen Rückkoppelung (13). Das Zeitverhalten der negativen Rückkoppelung ist abhängig von der Kinetik der extrazellulären GABA-Konzentration und verursacht bei Hirnschnitten eine kritische Frequenz der Hemmung (etwa 3 Hz), bei der keine Nettohemmung mehr vorhanden ist (6). Veränderungen im Zeitverlauf von extrazellulärem GABA mit Tiagabin verstärkt bei Ratten in vivo die delta EEG-Aktivität (22).

## ■ GABA-Rezeptoren und epileptiforme Aktivität

Die Beeinträchtigung synaptischer Hemmung spielt eine Schlüsselrolle bei der Entstehung epileptiformer Aktivität: Verminderung der GABA<sub>A</sub>-Hemmung mit Antagonisten (Bicucullin, Penicillin: 17) oder durch hochfrequente Reizung können epileptiforme Aktivität induzieren. Nach einer transienten Übererregbarkeit ist die synaptische Hemmung langanhaltend vermindert, dabei ändert sich bei Ratten rasch das Expressionsmuster von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoruntereinheiten, bereits vor dem Auftreten von spontanen Anfällen (2). Die Blockade von GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren induziert im normalen Rattenkortex keine epileptiforme Aktivität (8), verstärkt aber Bicucullin-induzierte epileptiforme Aktivität (4).

## ■ Veränderungen GABAerger Hemmung in Resektaten

Die elektrophysiologischen Methoden und die spezifischen Voraussetzungen für Untersuchungen an humanen Neokortexresektaten sind beschrieben (5, 15). Es sei hier kurz erwähnt, dass mit unseren Verfahren von den meisten (85%) Resektaten Ableitungen erhalten werden. Um das Gewebe bestmöglich zu nutzen, werden die epilepsiechirurgischen Hirnschnitte meist bis zu 24 h verwendet. In diesem Zeitraum sind die neuronalen Eigenschaften relativ stabil (15).

## ■ Synaptische Potentiale im Neokortex

Orthodrome Reizung in epileptogenen humanen Resektatschnitten löst bei den meisten Neuronen deutlich größere synaptische Antworten aus als im Nagerkortex (15). Die systematische Erhöhung der Reizintensitäten (2–20 V, 100 μs) zeigt, dass die Amplituden der synaptischen Potentiale im epileptogenen humanen Gewebe bereits bei niedrigen Intensitäten vergleichsweise rasch zunehmen und deutlich größere Amplituden erreichen (15). Verglichen mit paroxysmalen Depolarisationen (PDS) im Nagerkortex, wie sie z.B. mit Bicucullin oder Penicillin induziert werden können (17), weisen die synaptischen Depolarisationen im epileptogenen humanen Neokortex aber nur vereinzelt die superponierten, hochfrequenten AP-Folgen auf (7). Die Spannungsabhängigkeit hingegen ist ähnlich der der PDS im Nagerkortex: Hyperpolarisation vergrößert und Depolarisation verkleinert die Amplitude dieser synaptischen Antwort. Bemerkenswert ist, dass die synaptischen Potentiale von verschiedenen Membranpotentialen ausgehend jeweils den gleichen Maximalwert (im Mittel -53 mV) erreichen, d.h. es handelt sich um einen Zustand hoher Leitfähigkeit, der wohl auch die Auslösung von APs verhindert.

Die pharmakologische Charakterisierung der synaptischen Antworten zeigte eine schwache Verminderung durch 20 μM D-APV (von 18,6 ± 7,6 mV in Kontrolle auf 15,9 ± 6,2 in D-APV, n = 19). Auch nach Zugabe

des AMPA (Amino-3-hydroxy-5-methylthioazol-4-propionat) Rezeptor-Antagonisten CNQX (6-Cyano-7-nitrochinoxalin-2,3-dion) (10  $\mu$ M), in Gegenwart von D-APV (2-Amino-4-phosphonovalerat), persistierte eine ausgeprägte Depolarisation. Das Umkehrpotential der verbliebenen Depolarisation betrug etwa -50 mV. Eine maßgebliche NMDA-Rezeptor-Beteiligung an den synaptischen Antworten erscheint daher sowohl von der Spannungsabhängigkeit, als auch von den geringen Effekten des NMDA-Rezeptor-Antagonisten D-APV unwahrscheinlich. Die verbliebene depolarisierende Komponente kann aber durch Bicucullin blockiert werden (10), ist also durch GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren vermittelt. Diese „depolarisation shifts (DS)“ im epileptogenen humanen Kortex sind daher nicht analog der Bicucullin-induzierten PDS, denen eine reduzierte GABA<sub>A</sub>-Leitfähigkeit zugrunde liegt. Die DSs beruhen vielmehr auf einem gestörten ionalen Gradienten, also einer falschen „Polung“, erregend statt hemmend, bei wohl unveränderter GABA<sub>A</sub>-Leitfähigkeit.

Wir nehmen an, dass der KCl-Transport vermindert ist, dadurch kann sich der Chloridgradient einer passiven Verteilung annähern und die beobachtete Depolarisation wäre durch die Bikarbonatbeteiligung verursacht. Am Rattenkortex konnten wir zeigen, dass nach einer Stunde Übererregbarkeit (0-Mg<sup>2+</sup>-ACSF) die Expression von KCC2 mRNA vermindert ist (Deisz et al. unveröffentlicht). Im humanen Gewebe könnte dieser Effekt nach einem Anfall eine langanhaltende Prädisposition für weitere Anfälle verursachen. Auch neuere Befunde bestätigen unser Konzept. Cohen et al. (3) konnten zeigen, dass interiktale Aktivität im Hippocampus von Neuronen ausgeht, welche depolarisierende GABA<sub>A</sub>-Antworten aufweisen.

#### **GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-vermittelte Effekte**

Die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-vermittelten inhibitorischen postsynaptischen Potentiale (IPSP<sub>B</sub>) sind im epileptogenen humanen Kortex deutlich kleiner als im Nagerkortex

(5). Eine weiterführende Untersuchung ergab, dass die IPSP<sub>B</sub> in Kortexschnitten verschiedener klinisch definierter Gruppen mit Epilepsie meist sehr klein sind (15), z.B. tragen die Amplituden in Schnitten von TLE mit AHS Resektaten (meist Standardresektion)  $-2,4 \pm 3,2$  mV (Membranpotential: -60 mV, n = 119). Vergleichbar niedrige Werte werden in Resektaten des frontalen Kortex erhalten, bei denen die pathologische Übererregbarkeit präoperativ encephalographisch gesichert wurde. In Resektaten ohne Epilepsie (Tumorgewebe) sind die Amplituden signifikant größer  $-6,9 \pm 4,4$  mV (n = 5; p = 0,016) und diese Werte entsprechen den etablierten Werten von Nagern. Die synaptisch ausgelöste IPSP<sub>B</sub>-Leitfähigkeit korreliert sehr gut mit der durch 2  $\mu$ M Baclofen induzierten Leitfähigkeit. Da Neurone mit niedriger IPSP<sub>B</sub>-Leitfähigkeit auch nur eine geringe Baclofen-Leitfähigkeit aufweisen beruhen die verminderten IPSP<sub>B</sub> auf beeinträchtigten GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren.

#### **Frequenzverhalten synaptischer Antworten**

In einigen Geweben (etwa 20%) treten spontane Depolarisationen mit Amplituden bis zu etwa 20 mV auf, vergleichbar den evozierten Antworten. Die mittlere Frequenz dieser Spontanaktivität betrug  $1,1 \pm 0,6$  Hz (15). Diese Spontanaktivität ist regional sehr eng begrenzt, innerhalb der geringen Volumina eines Resektates finden sich Schnitte mit Spontanaktivität und Schnitte ohne derartige Aktivität. Diese Spontanaktivität legt nahe, dass neben postsynaptischen auch präsynaptische GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren beeinträchtigt sind.

Präsynaptische, GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-vermittelte Prozesse wurden an pharmakologisch isolierten IPSP mit Doppelreizung untersucht. Bei Interstimulusintervallen von 500 ms sind die zweiten IPSP<sub>A</sub> im humanen Gewebe um ca. 10% vermindert; im Neokortex der Ratte hingegen sind die zweiten IPSP<sub>A</sub> um etwa 50% reduziert (8).

Mit Doppelreizung wurden auch mögliche präsynaptische GABA<sub>B</sub>-Effekte an exzitatorischen Terminalen

untersucht. Im humanen Gewebe zeigen die zweiten synaptischen Potentiale bei sämtlichen Interstimulusintervallen (100–1500 ms) eine konstante Amplitude (7). Im Penicillin-Modell bei Nagern sind die paroxysmalen Depolarisationen hingegen für etwa 800 ms refraktär, in diesem Zeitraum können nur noch EPSPs ausgelöst werden (17). Wir haben am Bicucullin-Modell bei Ratten überprüft, ob dieses Phänomen durch präsynaptische GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren verursacht ist. Bei niedriger Reizfrequenz (0,1 oder 0,05 Hz) können einzelne PDSs mit konstanter Amplitude ausgelöst werden. Mit Doppelreizung versagen die zweiten PDSs bei Interstimulusintervallen zwischen 100 ms und etwa 800 ms (7), entsprechend früheren Befunden mit Penicillin. Die Zugabe des GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Antagonisten CGP 55845A eliminiert die transiente Unterdrückung der PDS, so dass PDSs nahezu konstant bei allen Interstimulusintervallen ausgelöst werden können (7). Im Kortex von gesunden Ratten gewährleisteten GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren folglich, dass PDSs nur mit Frequenzen unterhalb von etwa 1 Hz auftreten können.

Auch im Hippocampus ist eine ausgeprägte präsynaptische GABA<sub>B</sub>-Wirkung auf experimentell induzierte, akute Übererregbarkeit (4-Aminopyridin-Modell) etabliert. Die Aktivierung von GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren mit 1  $\mu$ M Baclofen unterdrückt die synaptische Antwort fast vollständig (25). Wir konnten zeigen, dass der präsynaptische Effekt von 2  $\mu$ M Baclofen im humanen Gewebe nur sehr schwach ist, im Mittel waren die DSs um etwa 30% vermindert (28). Zusammengefasst zeigen diese Befunde, dass im humanen epileptogenen Kortex prä- und postsynaptische GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren beeinträchtigt sind.

#### **Wirkungen von Tiagabin im Kortex**

Die schwachen GABA<sub>B</sub>-Wirkungen im epileptogenen humanen Kortex könnten z.T. auch durch unzureichende GABA-Freisetzung oder eingeschränkte Diffusion verursacht sein. Wir haben daher den GABA-Aufnahme-Blocker Tiagabin unter-

sucht. Tiagabin (10 und 20  $\mu\text{M}$ ) hatte keine konsistenten Effekte auf Membranpotential, Eingangswiderstand und Amplitude der APs. Die neuronale Erregbarkeit, gemessen als Anzahl der durch konstanten Strom (0,3–0,5 nA) ausgelösten APs, war durch Tiagabin um etwa 20% vermindert. Synaptische Potentiale waren durch Tiagabin nicht signifikant verändert. Die gepaarte Auslösung (Interstimulusintervalle 100–1500 ms) synaptischer Potentiale ergab sowohl unter Kontrollbedingungen, als auch in Gegenwart von Tiagabin, nahezu konstante Amplituden der zweiten Antworten (7). An den gleichen Neuronen konnte aber gezeigt werden, dass die Erregbarkeit der Neurone – wie oben gemessen – nach einer synaptischen Antwort vermindert war. Werden die depolarisierenden Strompulse mit verschiedenen Latenzen (100–1500 ms) nach dem synaptischen Reiz appliziert, kann der Zeitverlauf dieser Hemmung bestimmt werden. Bei einer Latenz von 100 ms zwischen Reiz und zellulärer Depolarisation war die Anzahl der APs im Mittel um 50% vermindert, ein Effekt der nach 500 ms abgeklungen war. In Gegenwart von Tiagabin (10  $\mu\text{M}$ ) war dieser Effekt massiv verstärkt und verlängert: bei einer Latenz von 100 ms konnten keine APs ausgelöst werden und bei einer Latenz von 1 s war die Anzahl der APs noch um 80% vermindert (7, 14). Dieser Effekt persistierte auch nach Applikation des GABA<sub>B</sub>-Antagonisten CGP55845A, beruht also auf der Aktivierung von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren und entsprach etwa der Dauer pharmakologisch isolierter IPSP<sub>A</sub>. Die gepaarte Auslösung von pharmakologisch isolierten IPSP<sub>A</sub> zeigte auch in dieser Serie nur eine schwache Doppelpulsdepression, die aber in Ausmaß und Dauer durch Tiagabin vergrößert wurde. Wir folgern aus diesen Daten, dass im humanen epileptogenen Gewebe 1. GABA freigesetzt wird und 2. dass die GABA-Wirkung auf postsynaptische GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren durch Tiagabin verstärkt und verlängert wird. Die Konstanz synaptischer Antworten bei Doppelreizung zeigt aber, dass synaptisch freigesetztes GABA

die präsynaptischen GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren auch nach Blockade der Wiederaufnahme nicht aktivieren kann. Dieser Befund ist konsistent mit einer Beeinträchtigung der Rezeptoren, welche auch durch schwache präsynaptische Wirkung von Baclofen belegt ist.

## ■ Diskussion und Ausblick

Unsere Daten zeigen, dass im humanen Gewebe von epilepsiechirurgischen Resektaten zwei wichtige Aspekte GABAerger Hemmung beeinträchtigt sind: 1. Die GABA<sub>A</sub>-Hemmung ist depolarisierend und 2. sind verschiedene GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren (post-/präsynaptisch an inhibitorischen und präsynaptisch an exzitatorischen Terminalen) beeinträchtigt. Der Anteil betroffener Neurone ist aber je nach Mechanismus unterschiedlich. Die Beeinträchtigung des neuronalen KCl-Transporters konnte nur in etwa 10% der untersuchten Neurone durch eine depolarisierende GABA<sub>A</sub>-Hemmung nahegelegt werden (10), siehe auch Cohen et al. (3). Die Verminderung postsynaptischer GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Wirkung hingegen lässt sich in der Mehrzahl (94%) der untersuchten Neurone nachweisen. Die reduzierte Wirksamkeit präsynaptischer GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren wurde ebenfalls in der Mehrzahl der untersuchten Gewebe gefunden, sowohl an exzitatorischen als auch an inhibitorischen Terminalen.

Beide Effekte sind wahrscheinlich graduell, sowohl die Dichte der GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren als auch der KCl-Transporter könnten auf der Ebene des einzelnen Neurons variieren. Auch der Anteil betroffener Neurone in einem gegebenen Volumen, sowie die Größe des betroffenen Volumens könnten je nach Vorgesichte verschieden sein. Grundsätzlich könnten also die beschriebenen Mechanismen ein Kontinuum von subklinischer Erregbarkeitssteigerung bis hin zum status epilepticus ermöglichen (15).

Die hier skizzierten Veränderungen tragen aber nicht nur zur Übererregbarkeit im epileptogenen Gewebe bei, sondern können auch die Pharmakoresistenz gegenüber verschiedenen Antikonvulsiva erklären.

Anders als bei ungenügender Freisetzung, reduzierter Dichte oder Funktion von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren, kann eine Verstärkung der GABA<sub>A</sub>-Wirkung an den Rezeptoren (z.B. durch Benzodiazepine) nur eine sehr begrenzte Wirkung zeigen, wenn, wie hier gezeigt, der ionale Gradient gestört ist. Entsprechend kann auch die Blockade der Wiederaufnahme von GABA durch Tiagabin bei gestörtem ionalem Gradienten nur die Leitfähigkeit einer einzelnen GABA-Transiente verlängern, aber keine effektive, hyperpolarisierende Hemmung bewirken. Die verbesserte Verfügbarkeit von GABA in Gegenwart von Tiagabin verstärkt die postsynaptische shunt-Wirkung durch GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren und kann so die Generierung von APs verhindern.

Interessanterweise hat Tiagabin keinen Effekt auf das Frequenzverhalten der DS. Wie im Bicucullin-Modell gezeigt, beruht dies auf der Aktivierung von GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren. Die Blockade der GABA-Aufnahme bewirkt u.A. eine erleichterte Diffusion im Extrazellulärraum (9, 18) und begünstigt so die Aktivierung von GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren (18). Bei Doppelreizungen wäre demnach zu erwarten, dass eine transiente Unterdrückung der jeweils zweiten DS auftritt bzw. verstärkt wird. Dieser Effekt wurde aber nicht beobachtet. Die für das Frequenzverhalten synaptischer DS verantwortlichen GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren können also im epileptogenen humanen Gewebe auch in Gegenwart von Tiagabin nicht aktiviert werden, obwohl die zeitliche Wirkung von GABA durch Tiagabin verlängert ist (wie durch die Erregbarkeitsmessungen gezeigt) und daher auch eine vergrößerte räumliche Wirkung von GABA sehr wahrscheinlich ist. Dies legt also, ebenso wie die schwachen Effekte von Baclofen auf DSS, eine Beeinträchtigung von präsynaptischen GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren nahe. Bei intakten GABA<sub>B</sub>-Rezeptoren würde hingegen die negative Rückkoppelung von GABA auf seine Freisetzung verstärkt (13), ein Effekt der zur Nebenwirkung von Tiagabin, die Provokation von Absencestatus beitragen kann (5).

Nach den bisherigen Ausführungen könnte der Eindruck entstehen,

am humanen epileptogenen Gewebe sei nur GABA-Hemmung betroffen. Um dies zu vermeiden, sei noch kurz ein weiterer Befund erwähnt: eine Verminderung der Hyperpolarisation-aktivierten Kationenströme (HCN-Kanäle; 21). Diese Ströme sind z.B. wichtig für die Integration synaptischer Potentiale in Dendriten, die beobachtete Verminderung könnte u.A. zu einer verbesserten elektrotonischen Ausbreitung synaptischer Potentiale führen.

Da jede dieser drei Veränderungen allein bereits ausreicht, um bei knockout Mäusen Epilepsie auszulösen (15), ist nicht überraschend, dass die Kombination dieser Effekte eine pharmakoresistente Epilepsie verursacht. Unsere Erkenntnisse vom humanen Kortex ermöglichen eine Überprüfung der verschiedenen Tiermodelle. Es wird sich zeigen, welche Tiermodelle (SSSLE, Pilocarpin) die im humanen Gewebe gefundenen Veränderungen aufweisen. An diesen Modellen können dann neue therapeutische Strategien entwickelt und überprüft werden, welche helfen, die molekularen Veränderungen zu verhindern.

*Despite the considerable increase in available drugs to treat epilepsy, the percentage of patients becoming seizure free has changed very little in the last decade. Thus it seems as if the cellular mechanisms contributing to epileptogenesis and the development of pharmacoresistance in human epilepsy are still poorly understood. Here I briefly review some of our key findings from slices of human epileptogenic cortex: 1. GABA<sub>A</sub>-responses are in some neurones excitatory rather than inhibitory, probably due to impaired chloride transport and 2. GABA<sub>B</sub>-receptor mediated events are reduced, allowing for higher frequencies of synaptic activity and. These findings obtained in variable proportions of the neurones are more than sufficient to account for the severity of the pharmacoresistant epilepsy these patients suffered. Each mechanism in isolation cause epilepsy in knockout mice.*

**Key Words:** temporal lobe epilepsy – GABA – KCl transport

## Literatur

1. Avoli M & Williamson A. Functional and pharmacological properties of human neocortical neurons maintained in vitro. *Progr Neurobiol* 1996; 48: 519–554
2. Brooks-Kayal AR, Shumate MD, Jin H, Rikhter TY & Coulter DA. Selective changes in single cell GABA<sub>A</sub> receptor expression in temporal lobe epilepsy. *Nature Med* 1998; 4, 1166–1172
3. Cohen I, Navarro V, Clemenceau S, Baulac M & Miles R. On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science* 2002; 298: 1418–1421
4. Deisz RA. Electrophysiology of GABA<sub>B</sub> receptors. In: *The GABA receptors*, Enna S & Bowery NG (Hrsg.). Totowa, NJ, Humana Press Inc. 1997, 157–207
5. Deisz RA. GABA<sub>B</sub> receptor-mediated effects in human and rat neocortical neurones in vitro. *Neuropharmacol* 1999; 38: 1755–1766
6. Deisz RA. The GABA<sub>B</sub> receptor antagonist CGP 55845A reduces presynaptic GABA<sub>B</sub> actions in neocortical neurones of the rat in vitro. *Neuroscience* 1999; 93: 1241–1249
7. Deisz RA. Cellular mechanisms of pharmacoresistance in slices from epilepsy surgery. In *Novartis Foundation Symposia 243, Mechanisms of drug resistance in epilepsy: lessons from oncology*, 2002: 186–206
8. Deisz RA, Billard JM & Zieglgänsberger W. Presynaptic and postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors of neocortical neurones of the rat in vitro: differences in pharmacology and ionic mechanisms. *Synapse* 1997; 25: 62–72
9. Deisz RA, Dose M & Lux HD. The time course of GABA action on the crayfish stretch receptor: evidence for a saturable GABA uptake. *Neuroscience Lett* 1984; 47: 245–250
10. Deisz RA, Lehmann TN, Lanksch WR, Meencke HJ & Nitsch R. Receptor mechanisms involved in hyperexcitability of cortical tissue from epilepsy surgery. *J Physiol* 1998; 513P: 35–36
11. Deisz RA & Lux HD. Diphenylhydantoin prolongs post-synaptic inhibition and iontophoretic GABA action in the crayfish stretch receptor. *Neuroscience Lett* 1977; 5: 199–203
12. Deisz RA & Lux HD. The role of intracellular chloride in post-synaptic inhibition of crayfish stretch receptor neurones. *J Physiol* 1982; 326: 123–128
13. Deisz RA & Prince DA. Frequency-dependent depression of inhibition in guinea-pig neocortex in vitro by GABA<sub>B</sub> receptor feedback on GABA release. *J Physiol* 1989; 412: 513–541
14. Deisz RA, Spilker L, Lehmann TN, Lanksch WR & Meencke HJ. Tiagabine augments only GABA<sub>A</sub> receptor-mediated responses of human cortical neurones in slices from epilepsy surgery tissue. *J Physiol* 2001; 533: 52–53P
15. Deisz RA, Spilker L, Strauss U, Lehmann TN, Bohr KC. Zelluläre Mechanismen der Übererregbarkeit in Hirnschnitten von epilepsiechirurgischen Resektaten. *Z Epileptol* 2003; 16: 214–222
16. Granger P, Biton B, Faure C et al. Modulation of the g-aminobutyric acid type A receptor by the antiepileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Mol Pharmacol* 1995; 47: 1189–1196
17. Gutnick MJ, Connors BW & Prince DA. Mechanism of neocortical epileptogenesis in vitro. *J Neurophysiol* 1982; 48: 1321–1335
18. Isaacson JS, Solis JM & Nicoll RA. Local and diffuse synaptic action of GABA in the hippocampus. *Neuron* 1993; 10: 165–175
19. Kaila K, Voipio J, Paalasmaa P, Pasternack M & Deisz RA. The role of bicarbonate in GABA<sub>A</sub> receptor-mediated IPSPs of rat neocortical neurones. *J Physiol* 1993; 464: 273–289
20. Kaupmann K, Malitschek B, Schuler V, Heid J, Froestl W, Beck P, Mosbacher J, Bischoff S, Kulik A, Shigemoto R, Karschin A & Bettler B. GABA<sub>B</sub> receptor subtypes assemble into functional heterodimeric complexes. *Nature* 1998; 396: 683–687
21. Kole MHP, Strauss U, Lehmann TN, Lanksch WR, Meencke HJ & Deisz RA. Hyperpolarization-activated inward currents of human neocortical neurones. *Soc Neuroscience* 1999; 25: 844
22. Lancel M, Faulhaber J & Deisz RA. The GABA uptake inhibitor tiagabine induces a non-REM sleep specific enhancement of delta activity in the rat. *Brit J Pharmacol* 1998; 123: 1471–1477
23. Misgeld U, Deisz RA, Dodt HU & Lux HD. The role of chloride transport in postsynaptic inhibition of hippocampal neurones. *Science* 1986; 232: 1413–1415
24. Möhler H, Benke D, Benson J, Lüscher B, Rudolph U & Fritschy JM. Diversity in structure, pharmacology and regulation of GABA<sub>A</sub> receptors. In: *Enna SJ & Bowery N (Hrsg.). The GABA receptors*, Totowa, NJ Humana Press Inc. 1997; 11–63
25. Otis TS & Mody I. Differential activation of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors by spontaneously released transmitter. *J Neurophysiol* 1992; 67: 227–235
26. Payne JA, Stevenson TJ & Donaldson LF. Molecular characterization of a putative K-Cl cotransporter in rat brain. *J Biol Chem* 1996; 271: 16245–16252
27. Somogyi P. Synaptic organization of GABAergic neurons and GABA<sub>A</sub> receptors in the lateral geniculate nucleus and visual cortex. In: *Lam DM & Gilbert CD (Hrsg.). Neural mechanisms of visual perception*, Houston, Gulf Publishing, 1990; 35–62
28. Spilker LA, Lehmann TN, Meencke HJ, Nitsch R & Deisz RA. Impaired function of GABA<sub>B</sub> receptors in pharmacoresistant epilepsy tissue from humans (in Vorbereitung).
29. Thompson SM, Deisz RA & Prince DA. Relative contributions of passive equilibrium and active transport to the distribution of chloride in mammalian cortical neurones. *J Neurophysiol* 1988; 60: 105–124

## Kontaktadresse:

PD Dr. R.A. Deisz  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Zentrum für Anatomie  
Philippstr. 10  
10098 Berlin