

Aus dem Institut für Experimentelle Epilepsieforschung  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
(Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape)

**Wirkungen von Lamotrigin  
auf neuronale Aktivität unter epileptischen und  
nicht-epileptischen Bedingungen in einem Modellnervensystem  
(Buccalganglien von *Helix pomatia*)**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Hesekamp, Helke  
aus Emsdetten

2007



Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Arolt

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Speckmann

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Wassmann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.09.2007

Aus dem Institut für Experimentelle Epilepsieforschung  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
- Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape -

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann  
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. H. Wassmann

## ZUSAMMENFASSUNG

### **Wirkungen von Lamotrigin auf neuronale Aktivität unter epileptischen und nicht-epileptischen Bedingungen in einem Modellnervensystem (Buccalganglien von *Helix pomatia*).**

Hesekamp, Helke

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zum Verständnis der Wirkungsweise von Lamotrigin leisten. Dazu wurden die Wirkungen von Lamotrigin auf Neurone in einem Modellnervensystem untersucht, indem die Veränderungen von Membranpotential, Membranwiderstand, Aktionspotentialen, synaptischen Potentialen, Schrittmacherpotentialen und epileptiformer Aktivität durch Lamotrigin ausgewertet wurden.

Als Modellnervensystem wurden die Buccalganglien der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*) verwendet. Die Ganglien wurden aus dem Tier isoliert und in eine kontinuierlich durchspülte Experimentierkammer gegeben. Die identifizierten Neurone B1, B2 und B3 wurden mit intrazellulären Elektroden abgeleitet und unter verschiedenen Kontrollbedingungen untersucht: i) bei nicht-epileptischen Bedingungen, die durch physiologische Schnecken-„Ringer“-Lösung eingestellt wurden, ii) bei unter-schwellig epileptischen Bedingungen, die durch Zugabe von 8 und 16 mM Pentylentetrazol (PTZ) zur Schnecken-„Ringer“-Lösung ausgelöst wurden und iii) unter epileptischen Bedingungen, die durch 40 mM PTZ-Lösung eingestellt wurden. Die Zugabe 40 mM PTZ-Lösung löst regelmäßig das Auftreten epilepsietypischer Membranpotentialänderungen, der sogenannten „paroxysmal depolarization shifts“ (PDS), aus. 8 und 16 mM PTZ-Konzentrationen sind für die Auslösung von PDS unter-schwellig.

Das Membranpotential des B3-Neurons wurde durch Lamotrigin um 1 bis 3 mV hyperpolarisiert. Der Membranwiderstand nahm um ca. 0,3 M $\Omega$  bei nicht-epileptischen Bedingungen und um ca. 0,8 M $\Omega$  bei unter-schwellig epileptischen Bedingungen ab. Das Aktionspotential wurde bei unter-schwellig epileptischen Bedingungen durch Lamotrigin um ca. 1 ms verkürzt. Synaptische Potentiale, die durch elektrische Reizung eines Nerven ausgelöst wurden, waren während Lamotrigingabe vergrößert. Diese Wirkung wurde vor allem unter nicht-epileptischen Bedingungen deutlich. Schrittmacherpotentiale, aus denen sich PDS entwickeln können, wurden durch Lamotrigin in ihrer Häufigkeit reduziert und so verändert, dass die Depolarisation verkürzt und die Hyperpolarisation verstärkt wurden. PDS wurden durch Lamotrigin bis zum vollständigen Block verkürzt. Die überdauernde Blockade der PDS durch Lamotrigin konnte gezeigt werden. Aufgrund der überdauernden Wirkung wird angenommen, dass Lamotrigin durch Beeinflussung intrazellulärer Regulationsmechanismen die Entstehung epileptischer Aktivität erschwert.

Tag der mündlichen Prüfung: 24.09.2007

Die Untersuchungen dieser Arbeit an überlebendem Nervengewebe sind von der Bezirksregierung Münster in einem Schreiben vom 19. Dezember 2002, Aktenzeichen 50.0835.1.0 (G 79/2002), genehmigt worden. Eine Änderung dieser Genehmigung erfolgte am 01.04.2005.

*Meinen Eltern gewidmet*

# INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG .....	1
2. MATERIAL UND METHODEN .....	6
2.1 Versuchstier .....	6
2.2 Präparation .....	8
2.3 Elektrophysiologische Versuchsanordnung .....	8
2.4 Auslösung epileptischer Aktivität .....	10
2.5 Verwendete Lösungen .....	11
2.6 Versuchsprotokolle .....	12
2.7 Dokumentation und Versuchsauswertung .....	13
3. ERGEBNISSE .....	16
3.1 Wirkung von Lamotrigin auf Membranpotential und Membranwiderstand .....	16
3.2 Wirkung von Lamotrigin auf das Aktionspotential .....	22
3.3 Wirkung von Lamotrigin auf synaptische Potentiale .....	27
3.3.1 Wirkung von Lamotrigin auf IPSP .....	27
3.3.2 Wirkung von Lamotrigin auf EPSP .....	34
3.4 Wirkung von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale und PDS .....	44
3.4.1 Wirkung von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale .....	44
3.4.2 Wirkung von Lamotrigin auf PDS .....	52
4. DISKUSSION .....	64
4.1 Modellnervensystem .....	65
4.2 Wirkungen von Lamotrigin .....	67
5. ZUSAMMENFASSUNG .....	74

6. LITERATURVERZEICHNIS .....	75
7. DANKSAGUNG.....	88
8. LEBENSLAUF .....	90
9. ANHANG.....	92

# 1. Einleitung

Epilepsie ist eine schon seit langem bekannte Erkrankung. Bereits Hippocrates (460-377 v. Chr.) berichtete von der „heiligen Krankheit“, bei der „der Kranke seine Sprache verliert und gewürgt wird. Schaum fließt aus seinem Mund, er beisst die Zähne aufeinander, die Hände krampfen sich zusammen, die Augen verdrehen sich und die Kranken sind nicht bei Besinnung“ (Grensemann, 1968). Er benannte dieses Krankheitsbild Epilepsie. J. H. Jackson (1886; 1931) gab schließlich die bis heute gültige Definition der Epilepsie: Es handelt sich um Funktionsstörungen des Gehirns, bei denen es zu einer plötzlichen, vorübergehenden, exzessiven Entladung von zerebralen Neuronen kommt. Weltweit sind etwa 40 bis 100 Millionen Menschen an Epilepsie erkrankt (Delgado-Escueta, 1999), davon etwa 800.000 in Deutschland (Gleixner et al., 2004). 5 % aller Menschen erleiden einmal in ihrem Leben einen epileptischen Krampfanfall und 10 % der Menschen weisen eine erhöhte Krampfbereitschaft auf (Poeck und Hacke, 2001). Die Therapie der Epilepsien erfolgt hauptsächlich über Medikamente, die die Anfälle unterdrücken und meist über lange Zeiträume regelmäßig eingenommen werden müssen. Etwa 20 % der Patienten profitieren jedoch kaum oder gar nicht von diesen Antiepileptika. Dabei handelt es sich meist um schwere Epilepsien. Diese Zahlen verdeutlichen, dass immer noch ein hoher Forschungsbedarf bezüglich der Pharmakotherapie besteht.

Für die Entwicklung neuer Pharmaka ist die Kenntnis der Elementarprozesse der epileptischen Aktivität Voraussetzung. Es ist allgemein akzeptiert, dass sogenannte „paroxysmal depolarization shifts“ (PDS) die Grundlage epileptischer Aktivität bei Mensch und Tier bilden (Li und Van Buren, 1972; Rayport, 1972; Prince and Wong, 1981). PDS sind epileptische Entladungen der Nervenzellen, die aus charakteristischen Folgen von Membranpotentialänderungen bestehen (Goldensohn und Purpura, 1963; Matsumoto und Ajmone Marsan, 1964; Creutzfeldt et al., 1966). Eine solche epileptische Entladung beginnt mit einer steilen Depolarisation, die in eine plateauförmige Verminderung des Membranpotentials übergeht. Die Depolarisation geht mit einer starken Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration einher (Eckert und Lux, 1976; Speckmann, 1986; Pisani et al., 2004). Diese Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration bewirkt schließlich eine Aktivierung kalziuminduzierter Kaliumströme, die zu einer steilen Repolarisation führen.

Über den Entstehungsmechanismus der PDS bestehen unterschiedliche Vorstellungen. Es wird vielfach angenommen, dass epileptische Aktivität durch verstärkte Exzitation und /oder verminderte Inhibition im Nervensystem entsteht. Infolge der Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen Exzitation und Inhibition zugunsten der Exzitation kommt es zur Rekrutierung bisher unbeteiligter Nervenzellen und zur Synchronisation (Delgado-Escueta, 1999). In diesem Zusammenhang werden PDS oft als „giant EPSP“ bezeichnet (Johnston und Brown, 1981). In der Literatur konnte jedoch bereits mehrfach gezeigt werden, dass PDS auch ohne synaptische Zuflüsse entstehen können (Speckmann und Caspers, 1973; Madeja et al., 1989; Altrup, 2004). Vor diesem Hintergrund ist angenommen worden, dass PDS in dem einzelnen Neuron generiert werden können und auf charakteristischen Ionenströmen beruhen: einem spannungsabhängigen, transmembranösen Kalziumstrom, der die Zelle depolarisiert, einer kalziuminduzierten intrazellulären Kalziumfreisetzung und einem kalziuminduzierten Kaliumstrom, der zur Repolarisation führt.

Vor dem Hintergrund der oben dargestellten Vorstellungen wird vielfach angestrebt, Pharmaka zu entwickeln, die auf die Basismechanismen der epileptischen Aktivität zielen. Jedoch steht den relativ differenzierten Vorstellungen über die Angriffspunkte der Pharmaka ein Mangel an Wissen über diese Basismechanismen der Epileptogenese gegenüber. So ist es nicht erstaunlich, dass eine wirksame Therapie im wesentlichen empirisch ermittelt werden muss.

Eines der neueren Antiepileptika mit guter Wirksamkeit ist Lamotrigin. Es wird erfolgreich bei refraktärer, partieller Epilepsie, bei generalisierten Anfällen, bei Absencen und bei dem Lennox-Gastaut-Syndrom eingesetzt. Es besitzt weiterhin gute Wirksamkeit bei der Therapie manischer Phasen im Rahmen bipolarer Störungen, bei Migräne mit Aura, neuropathischen Schmerzen und bei Bewegungsstörungen wie Chorea Huntington (Leach et al., 2002). So wie verschiedene klinische Anwendungen für Lamotrigin beschrieben worden sind, sind in der Literatur auch verschiedene Wirkmechanismen postuliert worden. Die Kenntnis der Wirkmechanismen ist eine Voraussetzung für die Therapie, wenn unerwartete, noch unbekannte Effekte auftreten. Die Kenntnis der Mechanismen ist auch notwendig, wenn das Wirkungsprinzip verbessert oder neue Wirkstoffe entwickelt werden sollen. Um Rückschlüsse auf die Wirkmechanismen zu erhalten, ist die Wirkung von Lamotrigin auf verschiedene Zellfunktionen betrachtet worden. So wurden beispielsweise die Veränderungen von Membranpotential und Membranwiderstand durch Lamotrigin untersucht. Dabei konnten

Calabresi et al. (1999) sowie Ootom und Nüsier (2001) in kortikostriatalen bzw. hippocampalen Neuronen der Ratte keine Veränderung des Membranpotentials durch Lamotrigin beobachten. Demgegenüber beschreiben Poolos et al. (2002) in hippocampalen Neuronen der Ratte eine durch Lamotrigin induzierte Depolarisation. Ebenfalls wurde die Wirkung von Lamotrigin auf das Aktionspotential untersucht. Poolos et al. (2002) konnten keine Veränderung von Aktionspotentialen hippocampaler Neurone der Ratte feststellen. Grunze et al. (1998a, b) hingegen zeigten eine deutliche Reduktion der Amplitude des Aktionspotentials durch Lamotrigin in hippocampalen Neuronen des Meerschweinchens. Auch andere Autoren konnten eine Blockierung von Aktionspotentialen durch Lamotrigin zeigen (Calabresi et al., 1999; Langosch et al., 2000a, b; Cheung et al., 1992). In diesem Zusammenhang wird oft die Blockade spannungsabhängiger Natriumkanäle durch Lamotrigin diskutiert. Eine solche Blockade haben beispielsweise Spadoni et al. (2002) in neokortikalen Neuronen der Ratte und Remy et al. (2003) in hippocampalen Neuronen der Ratte gezeigt. Demgegenüber konnten Pisani et al. (2004) in neokortikalen Neuronen und Wang et al. (1996) in Mandelkernneuronen der Ratte keine Beeinflussung der Natriumkanäle beobachten.

Vor dem Hintergrund der Vorstellung zur Entstehung epileptischer Aktivität durch ein Ungleichgewicht von Exzitation und Inhibition sind auch Wirkungen von Lamotrigin auf synaptische Potentiale untersucht worden. Auch hier kommen die Autoren zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. So beobachteten Cunningham und Jones (2000) in Neuronen des entorhinalen Kortex der Ratte eine Erhöhung der Amplitude inhibitorischer postsynaptischer Potentiale (IPSP). Demgegenüber beschreiben Lees und Leach (1993) eine Reduktion der IPSP-Amplitude durch Lamotrigin in kortikalen Neuronen der Ratte. Eine Reduktion der Amplitude exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (EPSP) konnten beispielsweise Langosch et al. (2000a, b) in hippocampalen Neuronen des Meerschweinchens zeigen. Cunningham und Jones (2000) hingegen konnten keine Beeinflussung der EPSP-Amplituden in Neuronen des entorhinalen Kortex durch Lamotrigin feststellen.

Um die antiepileptische Wirkung von Lamotrigin zu beurteilen, wird oft die Beeinflussung von PDS durch Lamotrigin untersucht. Ein wesentliches Element, auf dem PDS beruhen, ist der Kalziumstrom über „high voltage activated“ Kalziumkanäle. Auch bezüglich der Wirkung von Lamotrigin auf diese Kalziumkanäle werden in der Literatur unterschiedliche Beobachtungen beschrieben. So stellen Wang et al. (1996) in Mandelkernneuronen der Ratte eine Blockade von „high voltage activated“ Kalziumkanälen des N-Types durch Lamotrigin

fest. Demgegenüber zeigten Pisani et al. (2004) sowie Stefani et al. (1996) eine Blockade von „high voltage activated“ Kalziumkanälen des P-Types.

Der oben dargestellte Dissens bezüglich der Lamotriginwirkungen kann unter anderem darauf zurückgeführt werden, dass die Ergebnisse an verschiedenen Teilen des Nervensystems und in verschiedenen Tierarten gewonnen wurden. Dadurch sind sie nur schwer vergleichbar. Es wird deutlich, dass eine Testung aller Zellfunktionen unter einheitlichen Bedingungen nötig ist. Außerdem wurden die oben genannten Untersuchungen unter nicht-epileptischen Bedingungen durchgeführt. Es ist jedoch interessant, die Lamotriginwirkungen auch bei unterschwellig epileptischen und bei epileptischen Bedingungen zu untersuchen, da beispielsweise epileptogene Pharmaka viele Zelleigenschaften verändern, die durch antiepileptisch wirkende Substanzen wieder normalisiert werden könnten.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Wirkungen von Lamotrigin auf mehrere Zellfunktionen unter einheitlichen Bedingungen zu testen. Dabei sollen die Ergebnisse untereinander vergleichbar sein und in Bezug auf die Basismechanismen der Epileptogenese eingeordnet werden. Für solche komplexen Fragestellungen sind in der Literatur vielfach relativ einfache biologische Modellnervensysteme eingesetzt worden. In der Epilepsieforschung sind oft Experimente an den Buccalganglien der Weinbergschnecke *Helix pomatia* durchgeführt worden (vgl. Altrup, 2004). Solche Invertebratenganglien eignen sich aus mehreren Gründen als Modellsysteme. Viele enthalten Riesenneurone, die visuell vor dem Experiment identifiziert werden können und deren spezifische Eigenschaften gut bekannt sind (Altrup und Speckmann, 1994). In den Buccalganglien von *Helix pomatia* kommt unter anderem das Riesenneuron B3 vor, das während der Applikation von Pentylentetrazollösung (PTZ) typische epileptiforme Aktivität (PDS) generiert (Caspers und Speckmann, 1969; Speckmann et al., 1972). Um die Wirkungen von Lamotrigin auf verschiedene Zellfunktionen zu überprüfen, werden in der vorliegenden Arbeit die Veränderungen von Membranpotential und –widerstand, Amplitude und Dauer der Aktionspotentiale, Amplitude der synaptischen Potentiale, Schrittmacherpotentiale und PDS durch Lamotrigin betrachtet. Die Wirkungen von Lamotrigin auf diese Zielgrößen werden dabei unter i) nicht-epileptischen Bedingungen, die durch Superfusion mit physiologischer Schnecken-„Ringer“-Lösung eingestellt werden, ii) unterschwellig epileptischen Bedingungen, die durch Superfusion mit 8 und 16 mM PTZ-

Lösung eingestellt werden und iii) epileptischen Bedingungen, die durch Superfusion mit 40 mM PTZ-Lösung eingestellt werden, untersucht.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchstier

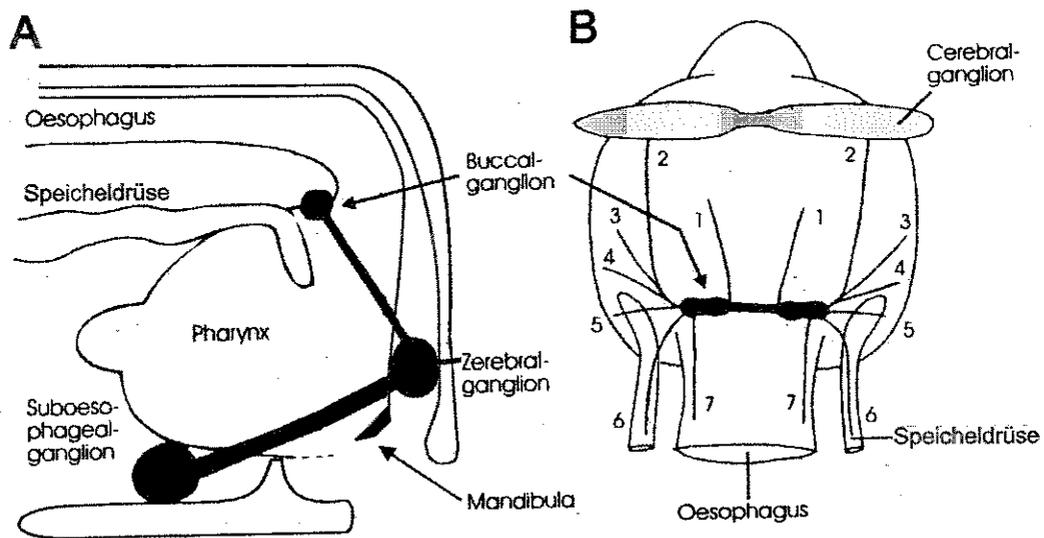
Für die vorliegende Arbeit wurde Nervengewebe der Weinbergschnecke *Helix pomatia* untersucht. Die Versuche an überlebendem Nervengewebe (in vitro) sind der Bezirksregierung Münster angezeigt und in dem Schreiben vom 19.12.2002 genehmigt worden (siehe Anhang). Für die Experimente wurden adulte Schnecken verwendet, die in einem Terrarium bei Raumtemperatur, hoher Luftfeuchtigkeit und reichlichem Angebot von frischem Salat gehalten wurden. Während der Winterruhe wurden die Schnecken bei 6°C in einem dunklen Raum gehalten. Einige Tage vor dem Experiment wurde das während dieser Phase vorhandene Epiphragma (Meisenheimer, 1912; Kiliyas, 1960) eröffnet und die Schnecken wurden in das Terrarium überführt. Eine jahreszeitliche Abhängigkeit der Ergebnisse konnte nicht beobachtet werden.

Das zentrale Nervensystem der Weinbergschnecke wird von zwei paarig angelegten Buccalganglien und Cerebralganglien sowie einem unpaaren Suboesophagealganglion gebildet (Abb. 1). Die Buccalganglien liegen auf der „Dorsalseite“ des Pharynx unmittelbar am Abgang des Oesophagus und stehen über Cerebrobuccalconnective mit den Cerebralganglien in Verbindung. Außerdem bestehen nervale Verbindungen zu Pharynx, Oesophagus und den paarigen Speicheldrüsen. Die Hauptfunktion der Buccalganglien besteht in der Steuerung der Muskel- und Organtätigkeit des oberen Verdauungstraktes bei der Nahrungsaufnahme (Kunze, 1917a, b; Peters und Altrup, 1984; Altrup et al., 1990b).

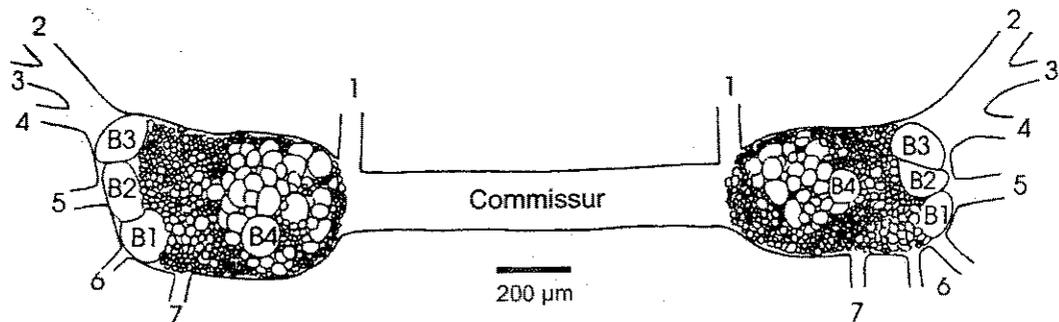
In den Buccalganglien befinden sich etwa 1000 Nervenzellen (Abb. 2). Am lateralen Rand und auf dem Lobus medialis findet man vier prominente Nervenzellen (Kunze, 1917a, b; Steffens, 1980), die als B1, B2, B3 und B4 bezeichnet werden (Schulze et al., 1975). Durch histologische und elektrophysiologische Untersuchungen sind diese vier Zellen charakterisiert; eine interindividuelle Konstanz bezüglich Lage, Größe und definierter physiologischer Funktion konnte nachgewiesen werden (Peters und Altrup, 1984; Altrup, 1987; Altrup et al., 1990a).

Bei Applikation epileptogener Substanzen (hier Pentylentetrazol, PTZ) generiert das B3-Neuron epileptiforme Aktivität in Form von paroxysmalen Depolarisationen („paroxysmal

depolarization shift“, PDS; Goldensohn und Purpura, 1963; Matsumoto und Ajmone Marsan, 1964; Creutzfeldt et al., 1966). Die epileptiforme Aktivität in der Schnecke unterscheidet sich nicht grundsätzlich von der epileptischen Aktivität der Säugetiere einschließlich des Menschen (Altrup, 2004).



**Abb. 1:** Schematische Darstellung des Zentralnervensystems von *Helix pomatia*. **A:** Sagittalschnitt des Schneckenkopfes mit Pharynx und Ganglien in situ. **B:** Aufsicht auf den isolierten Pharynx im Präparationsbad. Oesophagus und Speicheldrüsen sind zur Darstellung der Buccalganglien nach vorne und die Cerebralganglien nach hinten umgeschlagen. Die von den Buccalganglien abgehenden Nerven sind nummeriert: 1 (hintere), 3 und 4 (mittlere), 5 (vordere): Pharyngealnerven; 2: Cerebrobuccalconnective; 6: Speicheldrüsenerven; 7: hintere Oesophagealnerven (modifiziert nach Altrup, 1990).



**Abb. 2:** Schematisierte Dorsalansicht der isolierten Buccalganglien von *Helix pomatia* mit Lage der identifizierten Riesenneurone B1- B4 unter den skizzierten oberflächlichen Perikarya und mit den Nervenabgängen 1- 7: 1 (hintere), 3 und 4 (mittlere), 5 (vordere): Pharyngealnerven; 2: Cerebrobuccalconnective; 6: Speicheldrüsenerven; 7: hintere Oesophagealnerven (modifiziert nach Altrup, 1990).

## 2.2 Präparation

Zur Präparation des Nervengewebes wurden die Schnecken unmittelbar unterhalb der Gehäuseöffnung dekapitiert. Nach median-sagittaler Eröffnung des Kopfteils wurden dann Pharynx, Oesophagus und Speicheldrüsen en bloc isoliert, in ein 10-ml fassendes Rundbad mit Wachsboden (Eigenbau des Instituts) gegeben und dort mit Insektennadeln fixiert.

In dem Rundbad wurde das Präparat kontinuierlich mit einer Schnecken-„Ringer“-Lösung, im Folgenden als Meng-Lösung bezeichnet (siehe Kapitel 2.5), superfundiert.

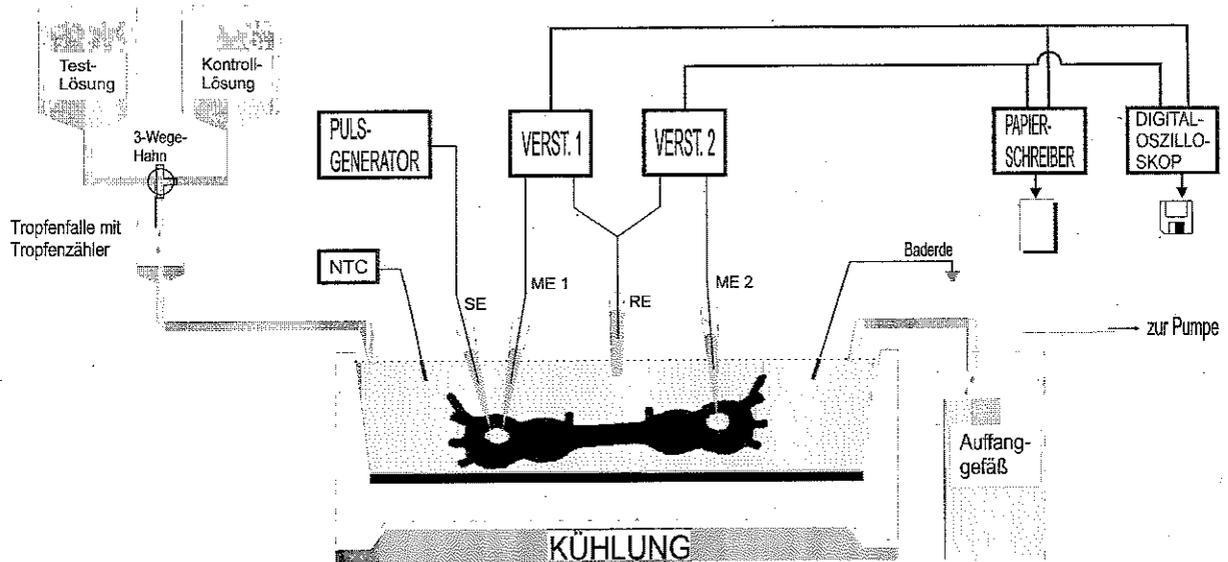
Die Feinpräparation erfolgte unter einem binokularen Stereomikroskop (Wild M8, Leica, Köln) mit 6- bis 50facher Vergrößerung. Mit Hilfe einer feinen Pinzette (DuMont High-Tech, Schweiz) und einer mikrochirurgischen Schere (Geuder, Heidelberg) wurde das fibromuskuläre Gewebe zur Darstellung der Pharyngealnerven, der Cerebrobuccalconnective, der Speicheldrüsen- und hinteren Oesophagealnerven sowie der identifizierten Riesenneurone entfernt. Dabei blieb die feste, innere Schicht des Perineuriums (Steffens, 1980) erhalten. Da diese Schicht die Zellpunktion mit Mikroelektroden erschwert, kann sie mit proteolytischen Enzymen aufgelockert werden (Hafeman und Miller, 1967). Auf eine solche enzymatische Auflockerung wurde in der vorliegenden Arbeit verzichtet, da die bioelektrische Aktivität der Neurone durch diese Behandlung verändert wird (Altrup et al., 1980).

Durch distale Durchtrennung der Nerven wurden dann die Buccalganglien vom Pharynx abgesetzt und mit Hilfe der erhaltenen Nervenanteile auf einem Filterpapier fixiert. Dieses wurde sodann in ein rinnenförmiges Versuchsbad mit Wachsboden (Eigenbau des Institutes) überbracht. Dort erfolgte die Fixierung und Positionierung mit feinen, gebogenen Insektennadeln, die zugleich auch als Widerlager bei der Punktion mit den Mikroelektroden dienten. Die Vorbereitung der Experimente dauerte jeweils weniger als 2 Stunden.

## 2.3 Elektrophysiologische Versuchsanordnung

In Abb. 3 sieht man eine schematische Versuchsanordnung; das Präparat befindet sich am Boden des Versuchsbeckens. Das Präparat wurde von Meng-Lösung (siehe Kapitel 2.5) mit einer Anflutung von ca. 3 ml pro Minute in annähernd laminarer Strömung umspült. Ein kompletter Austausch der Lösung fand etwa 60 mal pro Stunde statt. Durch Vorkühlung der Lösung und durch direkte Kühlung des Versuchsbeckens wurde eine konstante Temperatur

von  $19 \pm 1^\circ\text{C}$  erreicht, welche mittels eines NTC-Widerstandes (Eigenbau des Institutes) kontinuierlich geregelt wurde.



**Abb. 3:** Schematische Darstellung der Versuchsanordnung mit dem Ganglienpräparat auf dem Boden des Versuchsbekens (Bildmitte). Buccalganglien von *Helix pomatia*, hier B2 Neurone mit Mikroelektroden in vitro. SE: Stromelektrode für die Injektion hyperpolarisierender Strompulse, ME 1: Messelektrode 1, ME 2: Messelektrode 2, RE: Referenzelektrode, Verst. 1: Mikroelektrodenverstärker 1, Verst. 2: Mikroelektrodenverstärker 2, NTC: NTC-Widerstand (Temperaturfühler). Vorkühlung der Lösung wird nicht dargestellt.

Für die intrazelluläre Ableitung einzelner Neurone in „current-clamp“-Technik und die Strompulsapplikation wurden Mikroelektroden aus Borosilikatglas mit Filament (2 mm Außendurchmesser, 1 mm Innendurchmesser, Filament 0,266 mm; Hilgenberg, Malsfeld) mit einem Vertikal-Elektrodenziehgerät (Eigenbau des Institutes) gefertigt. Die Elektroden wurden mit 150 mM KCl-Lösung gefüllt. Sie wiesen einen Elektrodenwiderstand von 30-50 MO auf. Die Elektroden wurden über einen chlorierten Silberdraht an einen Mikroelektrodenverstärker (Verstärkung 10fach; HSE, March-Hugstetten) bzw. an einen Strompulsgenerator (Eigenbau des Institutes) angeschlossen. Das Membranpotential wurde als Potentialdifferenz gegen eine mit Agar-Agar-Gel gefüllte Referenzelektrode gemessen.

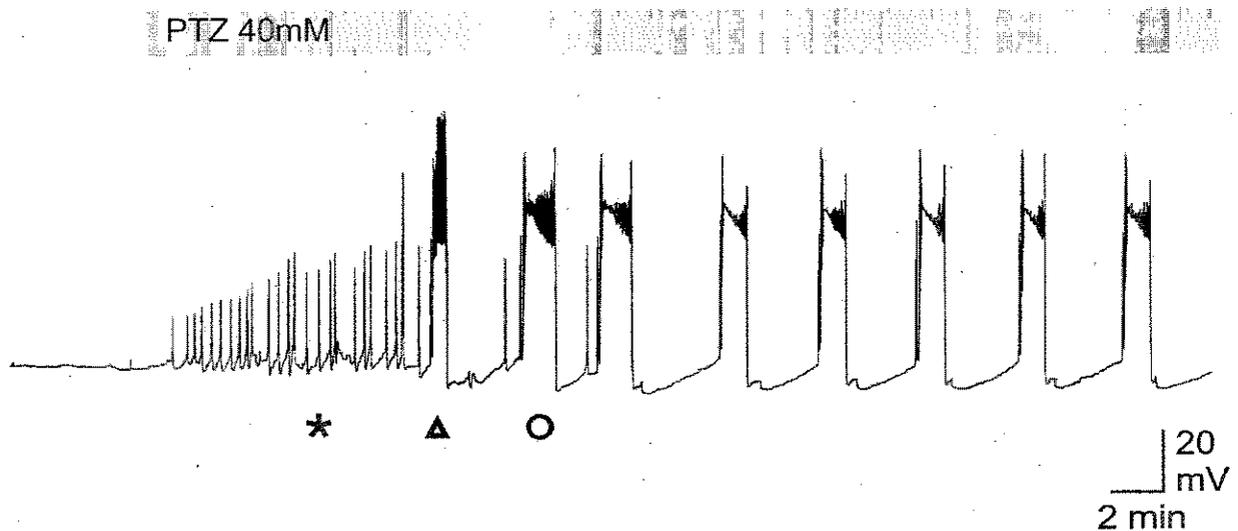
Synaptische Potentiale wurden durch elektrische Reizung eines Nerven ausgelöst. Dazu wurde der vordere Schlundkopfnerv mit einer Saugelektrode angesaugt und über ein Reizgerät (Eigenbau des Institutes) mit bipolaren Pulsen gereizt. Mit Hilfe der intrazellulären Ableitungen konnten die zellulären Antworten erfasst werden. Die Messung des Membranwiderstandes erfolgte durch doppelte Punktion der Nervenzelle. Dabei wurde das Neuron mit einer Elektrode, die der Injektion von 2 nA großen Strompulsen (Dauer: 5 s, Rate: 3 Pulse/min) diente, sowie einer Registrierelektrode punktiert. Die induzierten Hyperpolarisationen wurden gemessen und nach dem Ohmschen Gesetz ( $R=U/I$ ) umgerechnet. Alle Registrierungen erfolgten auf einem Mehrkanal-Papiersreiber (Vorschub: 1 cm/min; Rikadenki Electronics, Freiburg) und auf einem Digitaloszilloskop mit Diskettenspeicher (Nicolet Instrument Corporation; Madison, USA). Die Papiersreiber-Registrierung diente außerdem als Versuchsprotokoll.

## **2.4 Auslösung epileptischer Aktivität**

Zur Auslösung epileptischer Aktivität wurde der oben beschriebenen Badlösung Pentylentetrazol (PTZ) in einer Konzentration von 40 mM kontinuierlich zugesetzt. Eine typische Reaktion in den Buccalganglien ist in Abb. 4 dargestellt. Die Zugabe von PTZ zur Badlösung führte zu einer Depolarisation und Steigerung der Entladungsfrequenz der Neurone (Speckmann und Caspers, 1973). Unmittelbar nach Beginn der Applikation traten Schrittmacherpotentiale auf, die dosisabhängig größer wurden (Abb. 4, Stern). Sie gingen in länger andauernde sogenannte „bursts“ über (Abb. 4, Dreieck). Bursts sind neuronale Depolarisationen mit einer Amplitude von 20-40 mV, die von Aktionspotentialen überlagert werden. Sie wandelten sich innerhalb der ersten 15-30 Minuten zu typischen paroxysmalen Depolarisationen (PDS) um, welche im Gegensatz zu den bursts durch eine Inaktivierungsphase gekennzeichnet waren (Abb. 4, Kreis).

In der vorliegenden Arbeit wurden neben nicht-epileptischen Kontrollbedingungen auch epileptische und unterschwellig epileptische Kontrollbedingungen gewählt. Epileptische Kontrollbedingungen wurden durch Zugabe der oben beschriebenen 40 mM PTZ-Lösung ausgelöst. Unterschwellig epileptische Bedingungen wurden durch Zugabe von PTZ in den Konzentrationen 8 und 16 mM eingestellt. Diese Bedingungen werden als „unterschwellig epileptisch“ bezeichnet, da 8 und 16 mM PTZ-Konzentrationen zwar bereits epileptogene

Grundbedingungen schaffen und vergrößerte Schrittmacherpotentiale auslösen, jedoch noch nicht zum Auftreten von PDS führen.



**Abb. 4:** Entwicklung paroxysmaler Depolarisationen in einem B3-Neuron (Buccalganglion von *Helix pomatia*) während Applikation von Pentylentetrazollösung. Stern: größer werdende Schrittmacherpotentiale, die in einen burst (Dreieck) und in paroxysmale Depolarisationen (Kreis) übergehen. PTZ: Pentylentetrazol.

## 2.5 Verwendete Lösungen

Die Schnecken-„Ringer“-Lösung nach Meng (1960), in der vorliegenden Arbeit als Meng-Lösung bezeichnet, bestand aus: Natriumchlorid 130 mM, Kaliumchlorid 4,5 mM, Kalziumchlorid 9 mM sowie Tris- Hydroxymethylaminomethan 5 mM zur Pufferung. In dieser Zusammensetzung entsprach sie der Hämolymphe der Weinbergschnecke.

Um unterschwellig epileptische Kontrollbedingungen einzustellen, wurde 8 und 16 mM Pentylentetrazollösung der Meng-Lösung zugesetzt. Um epileptische Aktivität auszulösen wurde der Meng-Lösung 40 mM Pentylentetrazollösung zugesetzt (PTZ-Lsg.; nach Speckmann und Caspers, 1973). Der pH-Wert aller Lösungen wurde auf 7,35-7,45 eingestellt. Für die Lamotrigintestlösungen wurde Lamotrigin (Sigma Chemical Co., St. Louis; USA) in Meng-Lösung beziehungsweise PTZ-Lösung gebracht und über 24 Stunden im Rührbad gelöst. Es wurden Konzentrationen im Bereich von 20-80  $\mu$ M verwandt. Diese Konzentrationen wurden gewählt, da eine Konzentration von 20  $\mu$ M, entsprechend 5,12 mg

der Wirksubstanz, im Bereich der therapeutisch üblich eingesetzten Plasmakonzentration liegt (3-14 mg/l; Morris et al., 1998). Konzentrationen von 80  $\mu$ M, entsprechend 20,49 mg der Wirksubstanz, wurden gewählt, um stärkere Effekte beobachten zu können und die Ergebnisse mit denen aus anderen Studien vergleichen zu können. Laut Aussagen des Herstellers im Sigma-Katalog ist Lamotrigin nicht wasserlöslich. Dementsprechend wurde in den ersten Experimenten der Lösungsvermittler Dimethylsulfoxid (DMSO) verwendet. In diesen ersten Versuchen ergab sich eine schwächere Lamotriginwirkung bei 80  $\mu$ M Konzentration im Vergleich zu einer 20  $\mu$ M Konzentration. Dies konnte darauf zurückgeführt werden, dass DMSO eine schwach epileptogene Eigenwirkung aufweist und in der 80  $\mu$ M Lösung höher konzentriert war. Eine telefonische Nachfrage im zuständigen Forschungslabor der pharmazeutischen Industrie ergab, dass Lamotrigin in den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Konzentrationen wasserlöslich ist. In den darauffolgenden Experimenten wurde daraufhin auf den Lösungsvermittler DMSO verzichtet.

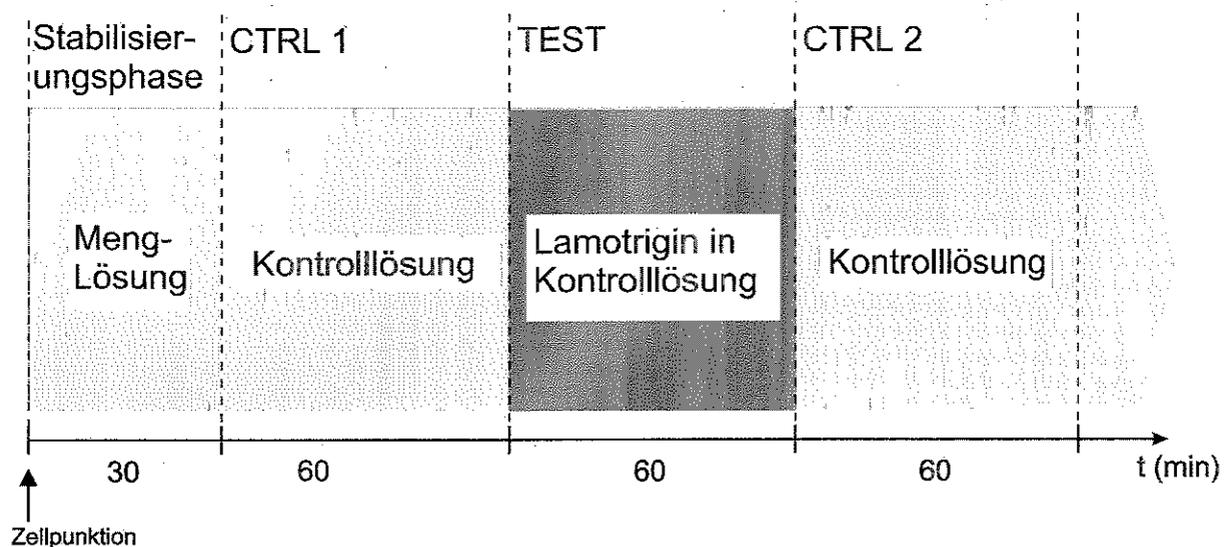
## 2.6 Versuchsprotokolle

Untersucht wurden die Wirkungen von Lamotrigin in verschiedenen Konzentrationen. Dazu wurden verschiedene Kontrollbedingungen gewählt (kontinuierliche Superfusion mit Meng-Lösung, 8 und 16 mM PTZ in Meng-Lösung, 40 mM PTZ in Meng-Lösung). Meng-Lösung wurde als Kontrollbedingung gewählt, um die Wirkungen von Lamotrigin unter physiologischen (nicht-epileptischen) Bedingungen zu erfassen. Mit den PTZ-Konzentrationen sollten die Wirkungen von Lamotrigin bei unterschwellig epileptischen Bedingungen (durch 8 und 16 mM PTZ-Lösung eingestellt) und bei epileptiformer Aktivität (durch 40 mM PTZ-Lösung eingestellt) ermittelt werden. Es wurden untersucht die Wirkungen auf:

- 1) Membranpotential und -widerstand,
- 2) Aktionspotential,
- 3) induzierte synaptische Potentiale nach Nervenreizung,
- 4) Schrittmacherpotentiale und paroxysmale Depolarisationen.

Abb. 5 zeigt einen Überblick über die Versuchsabläufe. Nach der Zellpunktion erfolgte eine Stabilisierungsphase, die mindestens 30 Minuten dauerte. Die erste Kontrollphase (CTRL 1)

wurde begonnen, wenn in der Stabilisierungsphase das Membranpotential der Zelle um weniger als  $\pm 5$  mV in 15 Minuten variierte. Wurde 40 mM PTZ gegeben, so musste vor Beginn der Kontrollphase 1 stabile epileptiforme Aktivität vorliegen. Der einstündigen Testphase der kontinuierlichen Lamotriginapplikation (TEST) folgte eine einstündige Auswaschphase mit der jeweiligen Kontrolllösung (CTRL 2).



**Abb. 5:** Zeitlicher Ablauf der Experimente in mehreren Phasen (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrollphase 1; **Test:** Testphase mit Applikation von Lamotrigin in Konzentrationen von 20-80  $\mu\text{M}$ ; **CTRL 2:** Kontrollphase 2.

## 2.7 Dokumentation und Versuchsauswertung

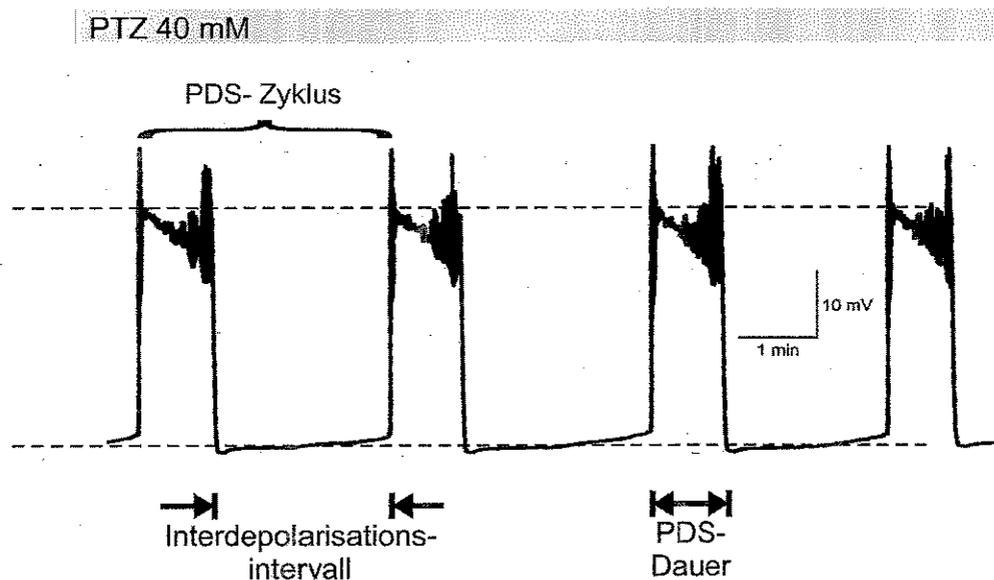
Dokumentiert wurden bei allen Experimenten in einem standardisierten Versuchsprotokoll Badtemperatur, Superfusat-Flussgeschwindigkeit, pH-Werte der Lösungen, Präparationsdauer, Spitzenwiderstände der Elektroden sowie Zeitpunkt der Zellpunktion und die Verläufe der Versuchsphasen. Nach Auswertung der Versuchsdaten wurden diese mit Hilfe des Software-Paketes SigmaPlot/SigmaStat (Version 5.01, Jandel Corporation, USA) graphisch dargestellt und statistisch geprüft. Dazu wurden der Student t-Test für verbundene Stichproben beziehungsweise der Wilcoxon-Test angewandt, wenn keine Normalverteilung der Messwerte vorlag. Dabei war zu beachten, dass während der dreistündigen Dauer der

Experimente gelegentlich Trends der Messwerte, beispielsweise eine kontinuierliche Zunahme des Membranwiderstandes oder eine kontinuierliche Abnahme der epileptiformen Aktivität, auftraten, welche die Signifikanzprüfung erschwerten. Bei der Bewertung der Wirkung von PTZ auf die Häufigkeit von Schrittmacherpotentialen wurden verschiedene Gruppen miteinander verglichen. Zur statistischen Prüfung wurde in diesem Fall der Mann-Whitney-Wilcoxon-Test angewandt.

Aus den Papierschreiberregistrierungen und den digitalen Oszilloskopdaten wurden die Messwerte ermittelt. Das Ruhemembranpotential (RMP) wurde kontinuierlich vom Papierschreiber registriert. Zu Versuchsbeginn wurde der Papierschreiber mit 50 mV Testpulsen geeicht. Bei einem Vorschub von 1 cm/min und einer Amplitude von 10 mV/ 1,25 cm wurde das Ruhemembranpotential abgelesen. Die Membranwiderstände wurden nach dem Ohmschen Gesetz aus den Amplituden der injizierten konstanten Strompulse und der induzierten Hyperpolarisationen der Membran berechnet und protokolliert. Eine verlässliche Widerstandsberechnung ist mit dieser Methode möglich, weil die Strom-Spannungs-Beziehung für die verwendeten Ströme (2 nA) in dem untersuchten Modellnervensystem linear ist (Altrup et al., 1980). Die Amplituden wurden in den Papierschreiberregistrierungen bestimmt. Bei der Standardeinstellung ergab ein Puls von 50 mV einen Schreiberausschlag von 6,25 cm. Die Dauer der Strompulse von 5 s ergab eine hinreichend genaue Auflösung der induzierten Hyperpolarisationen in der Papierschreiberregistrierung.

Um das Aktionspotential zu beurteilen, wurden Aufzeichnungen mit dem Digitaloszilloskop verwandt. Die Oszilloskopdaten wurden mit Hilfe eines Konvertierungsprogrammes (Eigenprogrammierung des Institutes) in das Bearbeitungsprogramm Corel Draw Graphics Suite 12 (Corel Corporation, 2003) überführt. Mit hoher Auflösung konnten sie nun in Amplitude, Dauer, Auf- und Abstrich beurteilt und ausgedruckt (HP Laserjet IIP Plus, Hewlett Packard, Boise, USA) werden. Die synaptischen Potentiale wurden ebenfalls digital aufgezeichnet und mit Hilfe des Bearbeitungsprogrammes Corel Draw 12 gemessen. Auch spontane und induzierte Schrittmacherpotentiale, die in den B3-Neuronen vorkommen, wurden digital registriert und mit Hilfe des Bearbeitungsprogrammes Corel Draw 12 ausgewertet.

Um das Ausmaß der epileptischen Aktivität zu erfassen, wurde der prozentuale Zeitanteil der Depolarisation einer PDS an einem oder mehreren PDS-Zyklen bestimmt (Abb. 6). Dieser Prozentsatz wurde als Maß für die epileptische Aktivität verwendet.



**Abb. 6:** Schema zur Auswertung des Ausmaßes der epileptischen Aktivität. Über einen bestimmten Zeitraum werden die kumulative Dauer der paroxysmalen Depolarisationen (PDS) sowie die der Interdepolarisationsintervalle bestimmt. Die Dauer der PDS wurde als Prozent der Dauer des PDS-Zyklus berechnet. Der Prozentsatz wurde als Maß für die epileptiforme Aktivität verwendet.

### 3. Ergebnisse

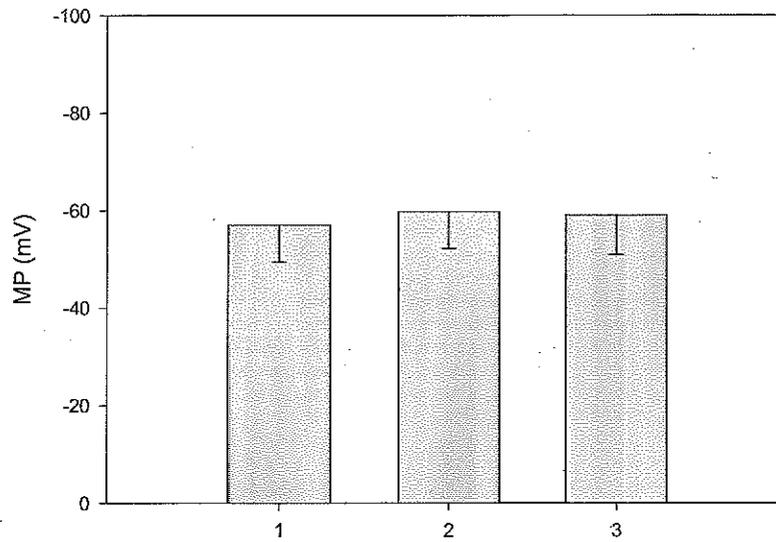
#### 3.1 Wirkung von Lamotrigin auf Membranpotential und Membranwiderstand

In den Versuchen zur Wirkung von Lamotrigin auf das *Membranpotential* wurde 80  $\mu\text{M}$  Lamotrigin verwandt. Es wurden drei Kontrollbedingungen gewählt: i) nicht-epileptische Bedingungen (Meng-Lösung), ii) unterschwellig epileptische Bedingungen (16 mM PTZ) und iii) epileptische Bedingungen (40 mM PTZ).

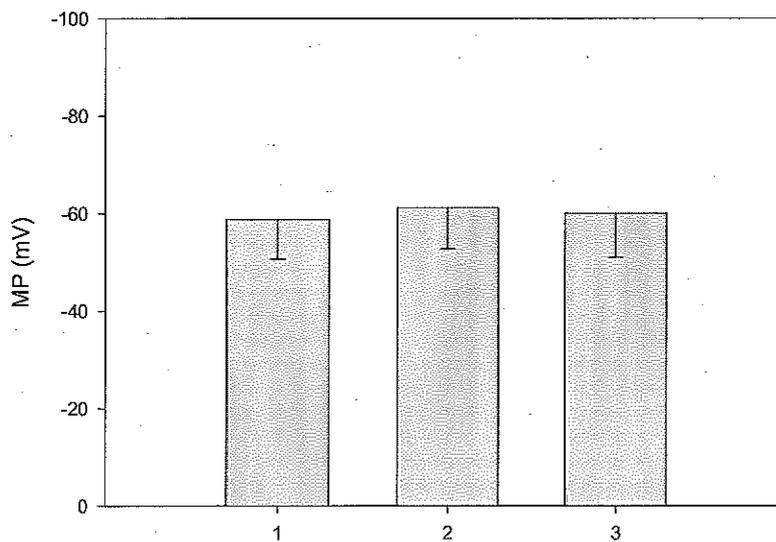
i) Unter nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung) betrug das Ruhemembranpotential  $-57,10 \pm 7,60$  mV (Kontrollphase 1; n=26). Bei Lamotrigingabe (80  $\mu\text{M}$ ) hyperpolarisierte das B3-Neuron um  $2,77 \pm 4,26$  mV auf  $-59,85 \pm 7,60$  mV (Test; n=26). In Kontrollphase 2 lag das Ruhemembranpotential bei  $-59,12 \pm 8,10$  mV (n=26). Die statistische Auswertung ergab eine signifikante Veränderung durch Lamotrigin ( $p=0,003$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die gemessenen Veränderungen sind als Blockdiagramm in Abb. 7 zu sehen (vgl. Abb. 10; vgl. Anhang, Tab. 1).

ii) Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen, das heißt während Zugabe von 16 mM PTZ-Lösung, betrug das Membranpotential  $-58,85 \pm 8,1$  mV (Kontrollphase 1; n=13). Lamotrigingabe (80  $\mu\text{M}$ ) führte zu einer Hyperpolarisation des Membranpotentials um  $2,42 \pm 3,67$  mV auf  $-61,27 \pm 8,42$  mV (Test; n=13). In Kontrollphase 2 lag das Membranpotential bei  $-60,1$  mV  $\pm 9,02$  mV (n=13). Die Veränderung durch Lamotrigin war statistisch signifikant ( $p=0,035$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Mittelwerte und Standardabweichungen sind in dem Blockdiagramm in Abb. 8 zu sehen (vgl. Abb. 12; vgl. Anhang, Tab. 2).

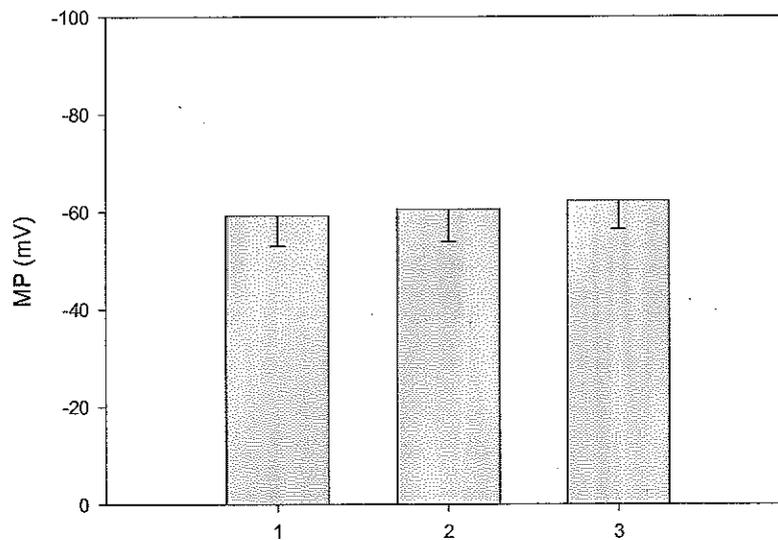
iii) Unter epileptischen Bedingungen, die durch Zugabe von 40 mM PTZ eingestellt wurden, lag das Membranpotential bei  $-59,31 \pm 6,26$  mV (Kontrollphase 1; n=13). Lamotrigingabe (80  $\mu\text{M}$ ) hyperpolarisierte das B3-Neuron um  $1,31 \pm 2,14$  mV von auf  $-60,62 \pm 6,65$  mV (Test; n=13). In Kontrollphase 2 lag das Membranpotential bei  $-61,39 \pm 5,74$  mV (n=13). Es lag ein statistisch signifikanter Unterschied vor ( $p=0,048$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die gemessenen Veränderungen sind in Abb. 9 als Blockdiagramm zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 3).



**Abb. 7:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf das Ruhemembranpotential des B3-Neurons (Buccalganglien von *Helix pomatia*) in Meng-Lösung. Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=26$ ).  $p=0,003$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: Test mit Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung). MP: Membranpotential.



**Abb. 8:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf das Membranpotential des B3-Neurons (Buccalganglien von *Helix pomatia*) während kontinuierlicher Superfusion mit Pentylentetrazol ( $16 \text{ mM}$  PTZ). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=13$ ).  $p=0,035$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 ( $16 \text{ mM}$  PTZ); Block 2: Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in PTZ ( $16 \text{ mM}$ ); Block 3: Kontrolle 2 ( $16 \text{ mM}$  PTZ). MP: Membranpotential.



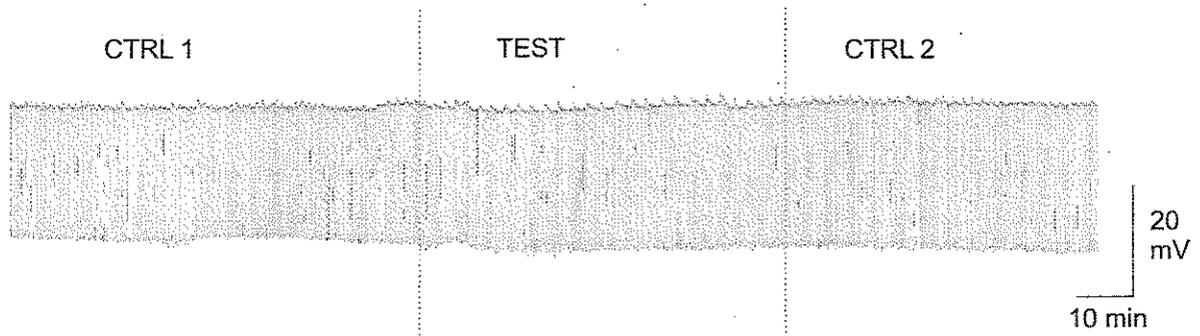
**Abb. 9:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf das Membranpotential des B3-Neurons (Buccalganglien von *Helix pomatia*) während kontinuierlicher Superfusion mit Pentylentetrazol (PTZ; 40 mM). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=13).  $p=0,048$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (40 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (40 mM PTZ). MP: Membranpotential.

Für die Messung des *Membranwiderstandes* wurde das Soma des B3-Neurons mit einer zweiten Mikroelektrode angestochen. Über diese Elektrode wurden Strompulse gegeben (Amplitude: 2 nA, Frequenz: 3/min, Dauer: 5s). Die resultierenden Spannungspulse in der Registrierelektrode ergaben nach dem Ohmschen Gesetz den Membranwiderstand. Bei der Auswertung musste beachtet werden, dass der Membranwiderstand in dem verwendeten Modelnervensystem zeitabhängig linear zunimmt (Üre und Altrup, 2006). Um diesen Faktor zu berücksichtigen, wurden aus den Widerstandswerten von Kontrolle 1 und 2 Mittelwerte gebildet und diese mit den Testwerten verglichen. Die Wirkung auf den Membranwiderstand wurde unter zwei verschiedenen Kontrollbedingungen erfasst: i) nicht-epileptische Bedingungen (Meng-Lösung) und ii) unterschwellig epileptische Bedingungen (16 mM PTZ). Die Messung des Membranwiderstandes während der Gabe von 40 mM PTZ erwies sich als sehr schwierig, da die Pulsamplituden starke Schwankungen aufwiesen. Während epileptischer Depolarisation war der Membranwiderstand deutlich verkleinert und in den Intervallen zwischen den Depolarisationen wies er keine Konstanz auf. Deswegen wurde auf eine Versuchsreihe mit 40 mM PTZ als Kontrollbedingung verzichtet.

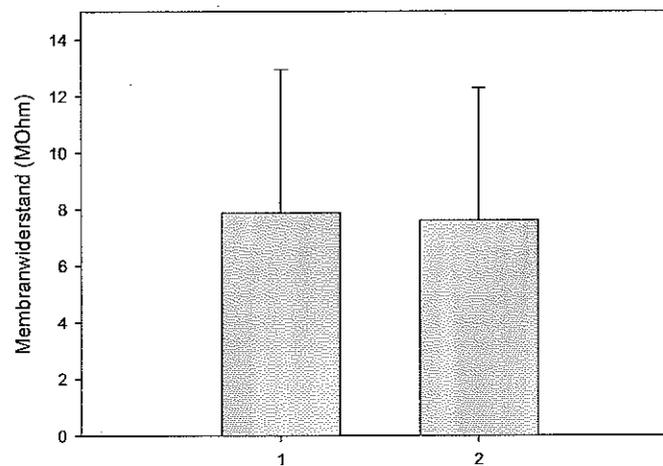
i) Unter nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung), veränderte sich der Membranwiderstand bei Lamotrigingabe ( $80 \mu\text{M}$ ) um  $0,28 \pm 0,59 \text{ MO}$  von  $7,88 \pm 5,07 \text{ MO}$  (Kontrolle) auf  $7,60 \pm 4,69 \text{ MO}$  (Test;  $n=22$ ). Die statistische Auswertung ergab eine signifikante Abnahme des Membranwiderstandes ( $p=0,037$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Abb. 10 und 11 zeigen die Veränderungen (vgl. Anhang, Tab. 4).

ii) Die Zugabe von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) bei unterschwellig epileptischen Bedingungen (kontinuierliche Superfusion mit  $16 \text{ mM PTZ}$ ) verringerte den Membranwiderstand um  $0,81 \pm 0,38 \text{ MO}$  von  $8,19 \pm 2,12 \text{ MO}$  (Kontrolle) auf  $7,38 \pm 1,99 \text{ MO}$  (Test;  $n=10$ ). Die statistische Auswertung ergab eine signifikante Abnahme des Membranwiderstandes ( $p < 0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 12. Mittelwerte und Standardabweichungen sind in dem Blockdiagramm Abb. 13 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 5).

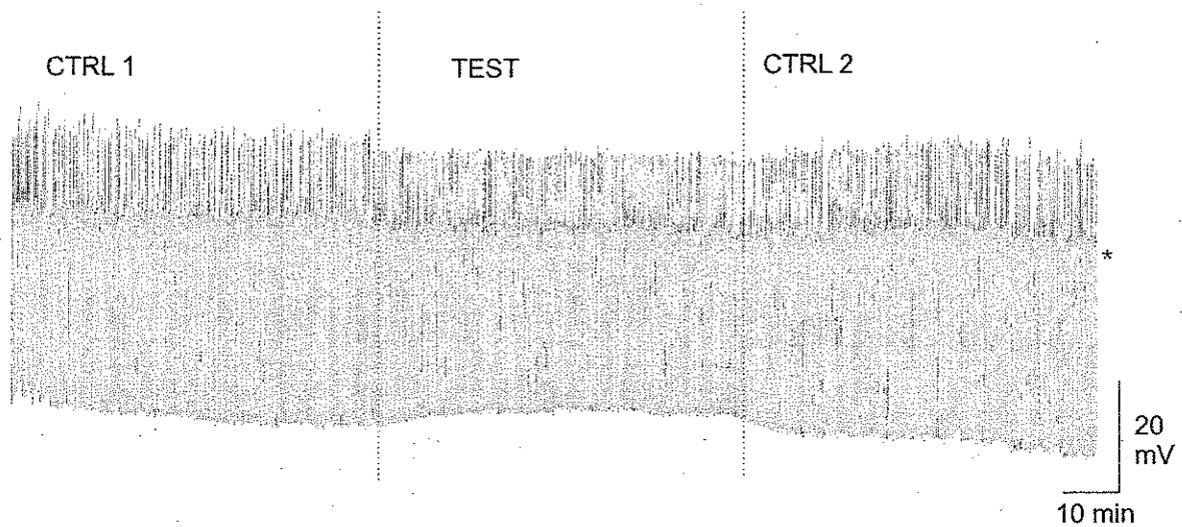
Insgesamt zeigen die Experimente, dass Lamotrigin das Membranpotential des B3-Neurons um etwa  $1$  bis  $3 \text{ mV}$  hyperpolarisiert und den Membranwiderstand um bis zu  $10\%$  erniedrigt. Insbesondere der bei unterschwellig epileptischen Bedingungen erhöhte Membranwiderstand wurde durch Lamotrigin „normalisiert“.



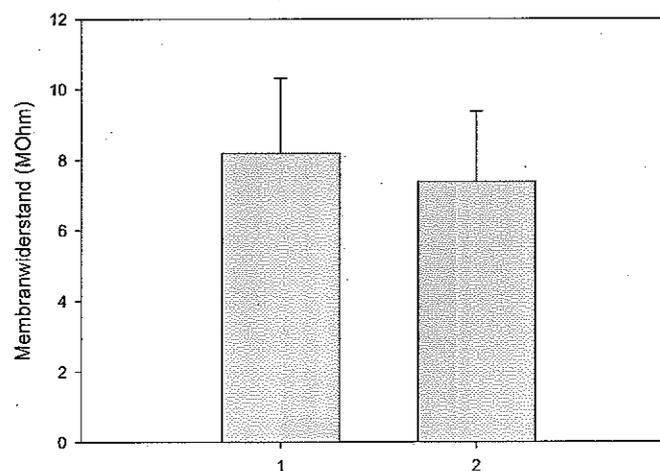
**Abb. 10:** Typisches Beispiel für die Veränderung des Membranwiderstandes durch Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). CTRL 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Test: Testphase mit Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ); CTRL 2: Kontrolle.2 (Meng-Lösung). Hyperpolarisierende Strompulse wurden über eine zweite intrazelluläre Mikroelektrode appliziert (Pulsamplitude: 2 nA, Frequenz: 3/min, Dauer: 5 s). Der Membranwiderstand ergab sich aus den resultierenden Spannungsimpulsen in der Registrierelektrode nach dem Ohmschen Gesetz.



**Abb. 11:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf den Membranwiderstand des B3-Neurons (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=22$ ).  $p=0,037$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Mittelwert aus den Kontrollbedingungen (Meng-Lösung) vor und nach Lamotrigingabe; Block 2: Testbedingungen (Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung). Hyperpolarisierende Strompulse wurden über eine zweite intrazelluläre Mikroelektrode appliziert (Pulsamplitude: 2 nA, Frequenz: 3/min, Dauer: 5 s). Der Membranwiderstand ergab sich aus den resultierenden Spannungsimpulsen in der Registrierelektrode nach dem Ohmschen Gesetz.



**Abb. 12:** Typisches Beispiel für die Veränderung des Membranwiderstandes durch Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) während kontinuierlicher Superfusion mit  $16 \text{ mM}$  PTZ-Lösung in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 ( $16 \text{ mM}$  PTZ); **Test:** Testphase mit Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in  $16 \text{ mM}$  PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 ( $16 \text{ mM}$  PTZ). Hyperpolarisierende Strompulse wurden über eine zweite intrazelluläre Mikroelektrode appliziert (Pulsamplitude:  $2 \text{ nA}$ , Frequenz:  $3/\text{min}$ , Dauer:  $5 \text{ s}$ ). Der Membranwiderstand ergab sich aus den resultierenden Spannungsimpulsen in der Registrierelektrode nach dem Ohmschen Gesetz. Der Stern markiert das Membranpotential.



**Abb. 13:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf den Membranwiderstand des B3-Neurons während kontinuierlicher Superfusion mit  $16 \text{ mM}$  Pentylentetrazol (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=20$ ).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Mittelwert aus den Kontrollbedingungen ( $16 \text{ mM}$  PTZ) vor und nach Lamotrigingabe; Block 2: Testbedingungen (Lamotrigin  $80 \mu\text{M}$  in  $16 \text{ mM}$  PTZ). Hyperpolarisierende Strompulse wurden über eine zweite intrazelluläre Mikroelektrode appliziert (Pulsamplitude:  $2 \text{ nA}$ , Frequenz:  $3/\text{min}$ , Dauer:  $5 \text{ s}$ ). Der Membranwiderstand ergab sich aus den resultierenden Spannungsimpulsen in der Registrierelektrode nach dem Ohmschen Gesetz.

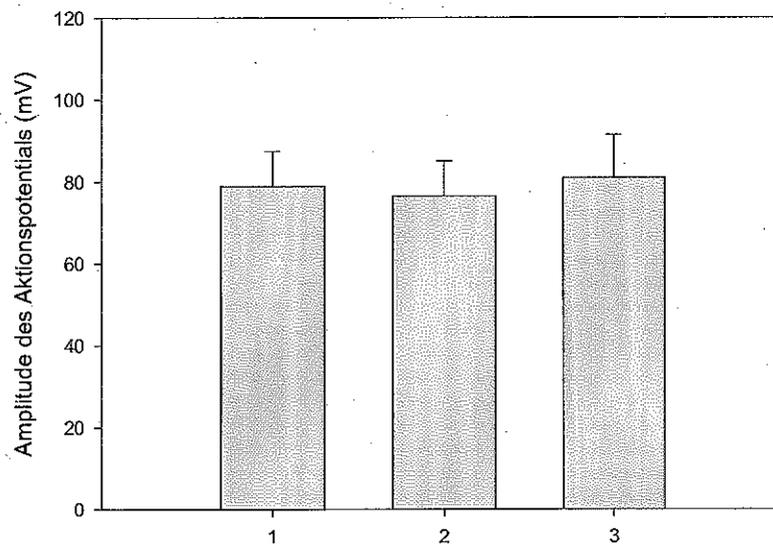
### 3.2 Wirkung von Lamotrigin auf das Aktionspotential

Spannungsgesteuerte Kanalsysteme des Aktionspotentials sind oft mit epileptischer Aktivität und mit der Wirkung von Antiepileptika verknüpft worden (Leach et al., 2002). Die Wirkung von Lamotrigin auf das Aktionspotential ist daher von besonderem Interesse. In der vorliegenden Arbeit wurden Amplitude und Dauer des Aktionspotentials gemessen. Es wurden Veränderungen des Aktionspotentials durch Lamotrigin unter i) nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung) und ii) bei unterschwelligen PTZ-Konzentrationen (8 mM und 16 mM PTZ) bestimmt.

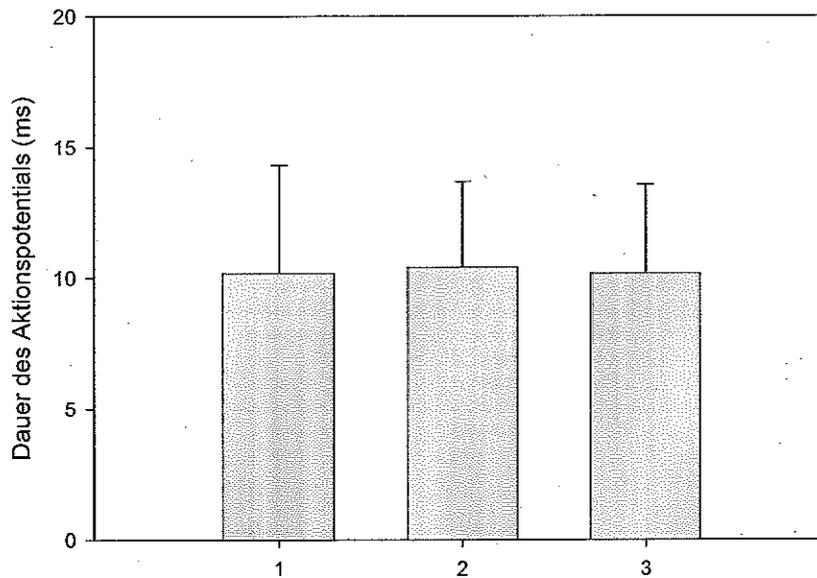
i) Unter nicht-epileptischen Bedingungen, das heißt ohne Zugabe von Pentylentetrazol zu den Lösungen, betrug die Amplitude des Aktionspotentials  $78,9 \pm 8,6$  mV ( $n=9$ ). Nach Zugabe von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) betrug die Amplitude  $76,5 \pm 8,6$  mV und in der Kontrollphase 2  $80,9 \pm 10,5$  mV ( $n=9$ ; Abb. 14; vgl. Anhang, Tab. 6). Die Veränderung durch Lamotrigin erwies sich als statistisch nicht signifikant ( $p=0,173$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Dauer des Aktionspotentials veränderte sich von  $10,2 \pm 4,1$  ms in Kontrollphase 1 auf  $10,4 \pm 3,3$  ms bei Zugabe von Lamotrigin ( $n=6$ ; Abb. 15; vgl. Anhang, Tab. 7). In der Kontrollphase 2 betrug die Dauer des Aktionspotentials  $10,2 \pm 3,4$  ms ( $n=6$ ). Die statistische Auswertung ergab keine Signifikanz dieser Veränderung ( $p=0,753$ ; t-Test für verbundene Stichproben).

ii) Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen, die durch 8 und 16 mM PTZ-Konzentrationen eingestellt wurden, wies das Aktionspotential in der Kontrollphase 1 eine Amplitude von  $61,0 \pm 14,2$  mV ( $n=18$ ) auf. Bei zusätzlicher Applikation von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) betrug die Amplitude  $61,5 \pm 13,5$  mV ( $n=18$ ). Nach Auswaschen dem von Lamotrigin (Kontrollphase 2) hatte das Aktionspotential eine Amplitude von  $60,6 \pm 13,6$  mV ( $n=18$ ; Abb. 16; vgl. Anhang, Tab. 8). Die Werte waren statistisch nicht signifikant ( $p=0,719$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Dauer des Aktionspotentials betrug  $12,1 \pm 4,6$  ms vor der Gabe von Lamotrigin ( $n=18$ ). Bei Gabe von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) ergab sich eine Dauer von  $11,0 \pm 4,2$  ms und in der Kontrollphase 2 eine Dauer von  $10,8 \pm 4,5$  ms ( $n=18$ ; siehe Abb. 18; vgl. Anhang, Tab. 9). Die Abnahme der Dauer des Aktionspotentials durch Lamotrigin war signifikant ( $p=0,016$ ; Wilcoxon-Test). Ein Beispiel zeigt Abb. 18. Trotz einer größeren Differenz der Mittelwerte von Kontrolle 1 und 2 unterschieden sich die beiden Kontrollphasen nicht signifikant voneinander ( $p=0,099$ ; Wilcoxon-Test). Dies hing mit einer größeren Streuung der Messwerte der Kontrollphase 2 zusammen.

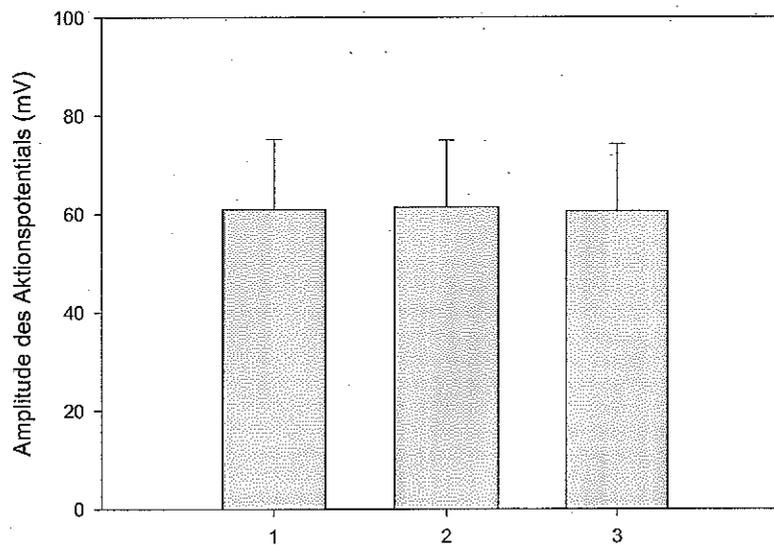
Insgesamt zeigen die Experimente, dass Lamotrigin die Dauer des Aktionspotentials unter epileptischen Bedingungen verkleinerte.



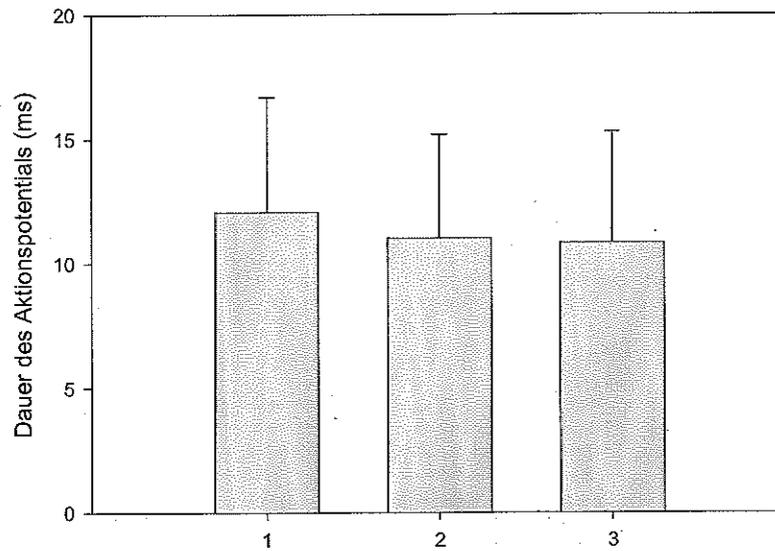
**Abb. 14:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplitude des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron; Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=9).  $p=0,173$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



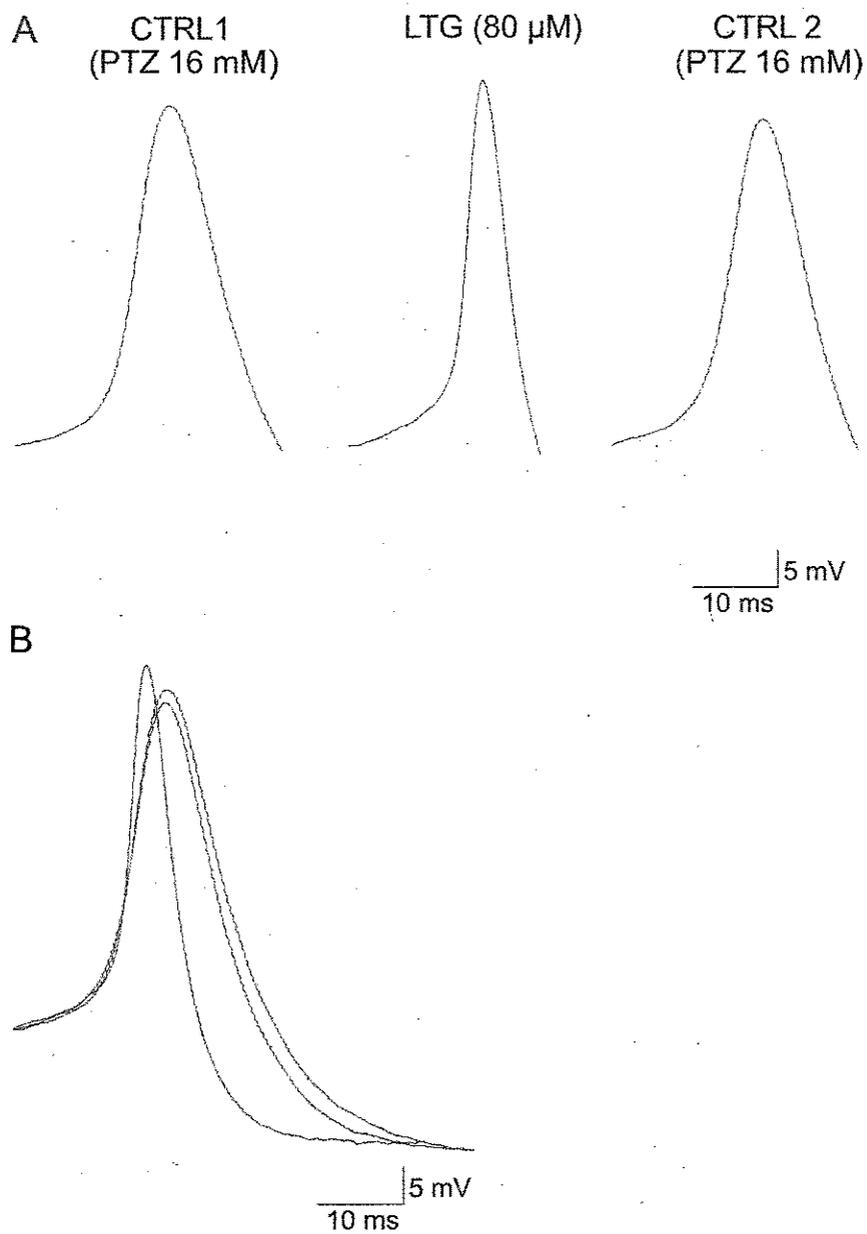
**Abb. 15:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf die Dauer des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron; Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=6$ ).  $p=0,753$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



**Abb. 16:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) auf die Amplitude des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit unter-schwelligem Konzentrationen von Pentylentetrazol (8 und 16 mM PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=18$ ).  $p=0,719$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (8 und 16 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in 8/16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (8 und 16 mM PTZ).



**Abb. 17:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Dauer des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit unterschwelligen Konzentrationen von Pentylentetrazol (8 und 16 mM PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=18$ ).  $p=0,016$  (Wilcoxon-Test von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (8 und 16 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 8/16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (8 und 16 mM PTZ).



**Abb. 18:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf das Aktionspotential des B3-Neurons während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** Aktionspotentiale der einzelnen Versuchsphasen; **B:** Aktionspotentiale aller Versuchsphasen übereinandergelegt. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ).

### 3.3 Wirkung von Lamotrigin auf synaptische Potentiale

Die Entstehung epileptischer Aktivität ist oft mit Veränderungen in der chemisch-synaptischen Informationsübertragung verknüpft worden. Insbesondere eine Hemmung von inhibitorischen postsynaptischen Potentialen (IPSP) und/oder Aktivierung von exzitatorischen postsynaptischen Potentialen (EPSP) sind oft als Ursachen für epileptische Aktivität diskutiert worden. In der vorliegenden Arbeit wurde daher die Wirkung von Lamotrigin auf IPSP und EPSP untersucht. Die synaptischen Potentiale wurden durch Reizung eines Nerven der Buccalganglien (vorderer Schlundkopfnerv; Kunze, 1917a, b) ausgelöst. Die IPSP wurden polysynaptisch durch Reizserien hoher Reizintensität ausgelöst und in dem B1-Neuron registriert (Altrup, 1987). Die EPSP wurden bei niedriger Reizintensität vorwiegend monosynaptisch ausgelöst (Altrup et al., 1990a); sie wurden in dem B3-Neuron registriert.

#### 3.3.1 Wirkung von Lamotrigin auf IPSP

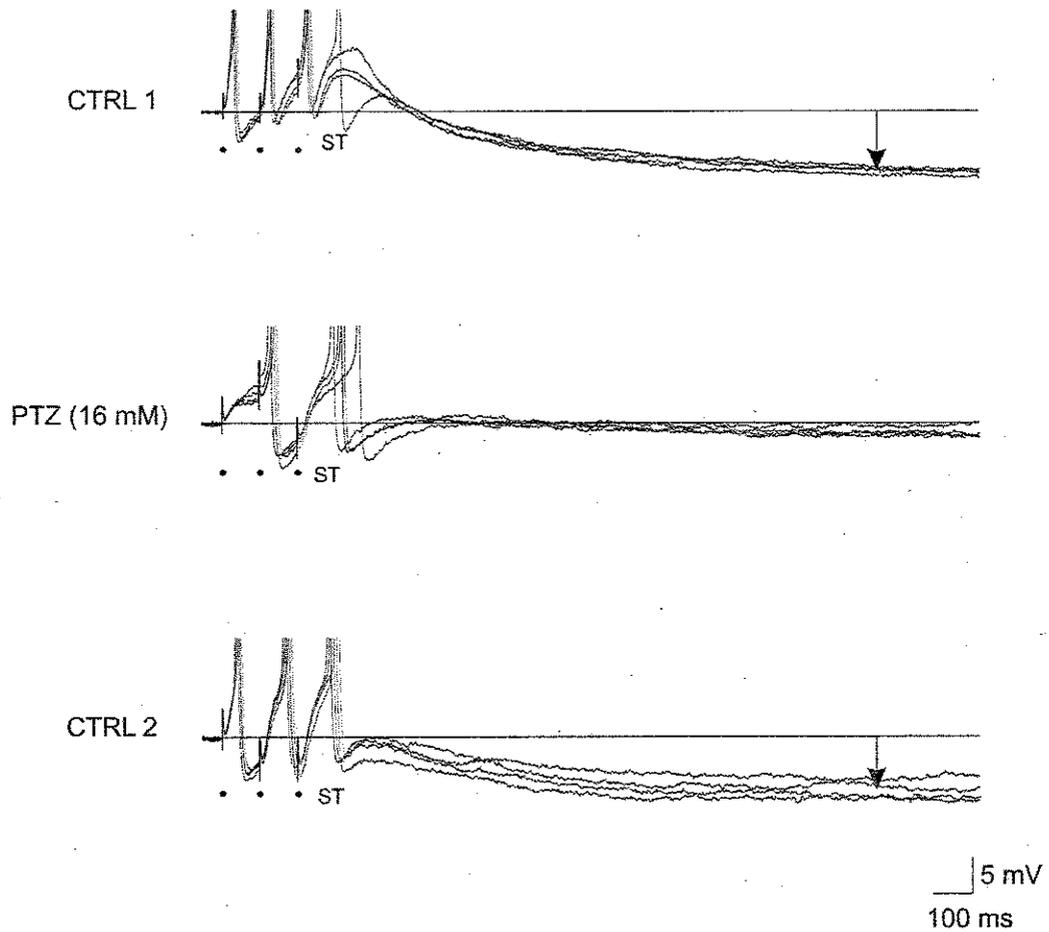
Es ist aus der Literatur bekannt, dass IPSP durch Pentylentetrazol dosisabhängig blockiert werden (Calabresi et al., 1990; Altrup, 2004). Diese Wirkung wurde zunächst in der vorliegenden Arbeit überprüft. Dabei zeigte sich, dass die Amplitude der IPSP von  $5,68 \pm 1,70$  mV (Kontrollphase 1) durch 16 mM PTZ auf  $0,89 \pm 1,01$  mV ( $n=7$ ) verkleinert wurde. In Kontrollphase 2 betrug die Amplitude  $4,00 \pm 2,48$  mV ( $n=6$ ). Die Abnahme der Amplitude durch 16 mM PTZ erwies sich als statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 19. Die Kontrollphasen 1 und 2 waren nicht signifikant verschieden ( $p=0,177$ ; Wilcoxon-Test). Das Blockdiagramm zu den gemessenen Werten ist in Abb. 20 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 10). Vor diesem Hintergrund wurde die Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf IPSP i) unter nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung) und ii) bei unterschwellig epileptischen Bedingungen (16 mM PTZ) geprüft.

i) Unter nicht-epileptischen Bedingungen, das heißt ohne Zugabe von Pentylentetrazol zu den Lösungen, hatten die IPSP in der Kontrollphase 1 eine Amplitude von durchschnittlich  $4,49 \pm 1,80$  mV ( $n=9$ ). Nach Zugabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) zu der Meng-Lösung betrug die Amplitude der IPSP  $5,50 \pm 1,62$  mV ( $n=9$ ). Die IPSP-Amplitude nach einer Stunde Auswaschen (Kontrollphase 2) betrug  $3,48 \pm 2,62$  mV ( $n=7$ ). Lamotrigin (80  $\mu$ M) bewirkte eine signifikante Zunahme der Amplitude der IPSP um  $1,01 \pm 0,72$  mV ( $p=0,003$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 21. Mittelwerte und

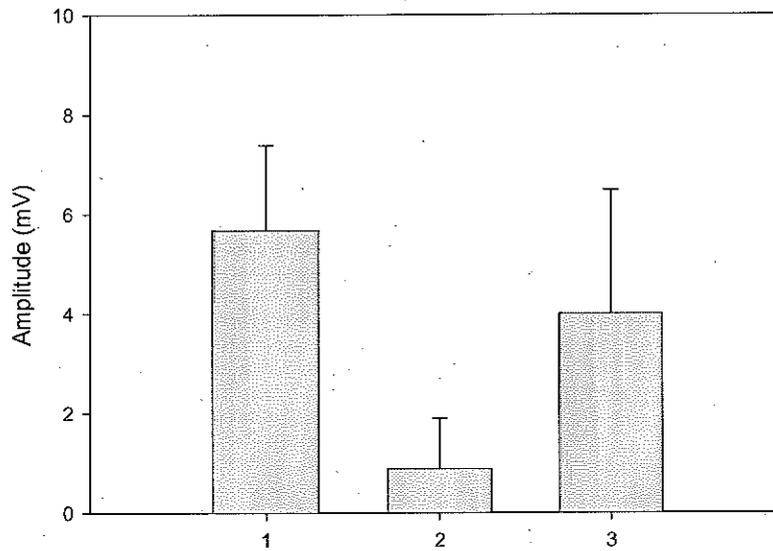
Standardabweichung sind in Abb. 22 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 11). Die Kontrollphasen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p=0,601$ ; t-Test für verbundene Stichproben).

ii) Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen, das heißt nach Zugabe von 16 mM Pentylentetrazol zu der Meng-Lösung, betrug die Amplitude der IPSP in der Kontrollphase 1  $1,46 \pm 1,76$  mV ( $n=8$ ). Bei zusätzlicher Gabe von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) nahm die Amplitude der IPSP auf  $2,58 \pm 2,39$  mV zu ( $n=8$ ). In der Kontrollphase 2 betrug die Amplitude der IPSP  $1,68 \pm 2,10$  mV ( $n=8$ ). Die Abb. 23 und 24 zeigen diese Ergebnisse (vgl. Anhang, Tab. 12). Die Zunahme durch Lamotrigin erwies sich als statistisch nicht signifikant ( $p=0,307$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Kontrollphasen 1 und 2 waren nicht signifikant verschieden ( $p=0,878$ ; Wilcoxon-Test).

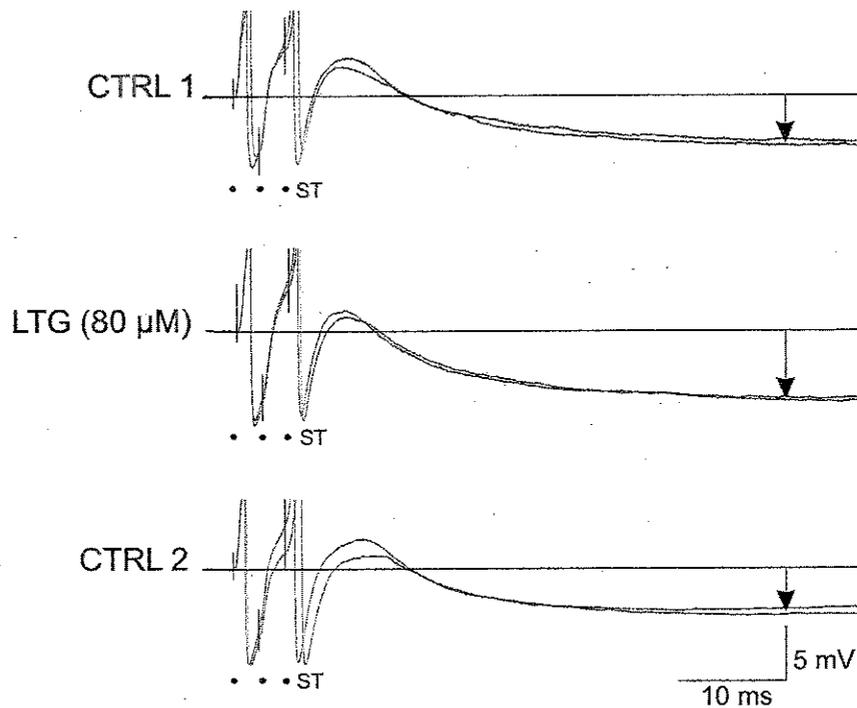
Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Lamotrigin die inhibitorischen postsynaptischen Potentiale unter nicht-epileptischen Bedingungen vergrößerte. Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen war die Vergrößerung statistisch nicht signifikant.



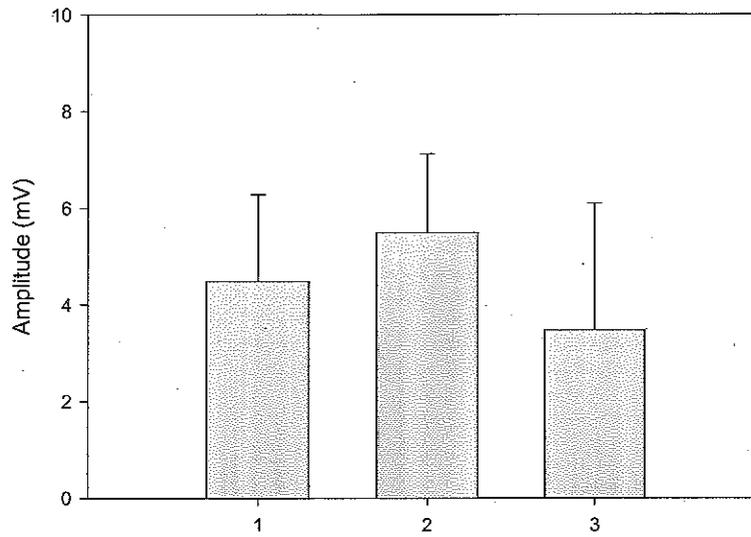
**Abb. 19:** Typisches Beispiel der Veränderung der Amplitude der inhibitorischen postsynaptischen Potentiale durch 16 mM Pentylentetrazol in den Buccalganglien von *Helix pomatia* (B1-Neuron). **CTRL 1:** Kontrolle 1 mit Meng-Lösung; **PTZ (16 mM):** Testphase mit 16 mM Pentylentetrazol; **CTRL 2:** Kontrolle 2 mit Meng-Lösung; **ST:** Reizung. Es wurden jeweils 4 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und erstem Reizartefakt gesucht wurde. Die Amplituden der IPSP sind durch Pfeile markiert. Reizartefakte und Aktionspotentiale sind gekürzt.



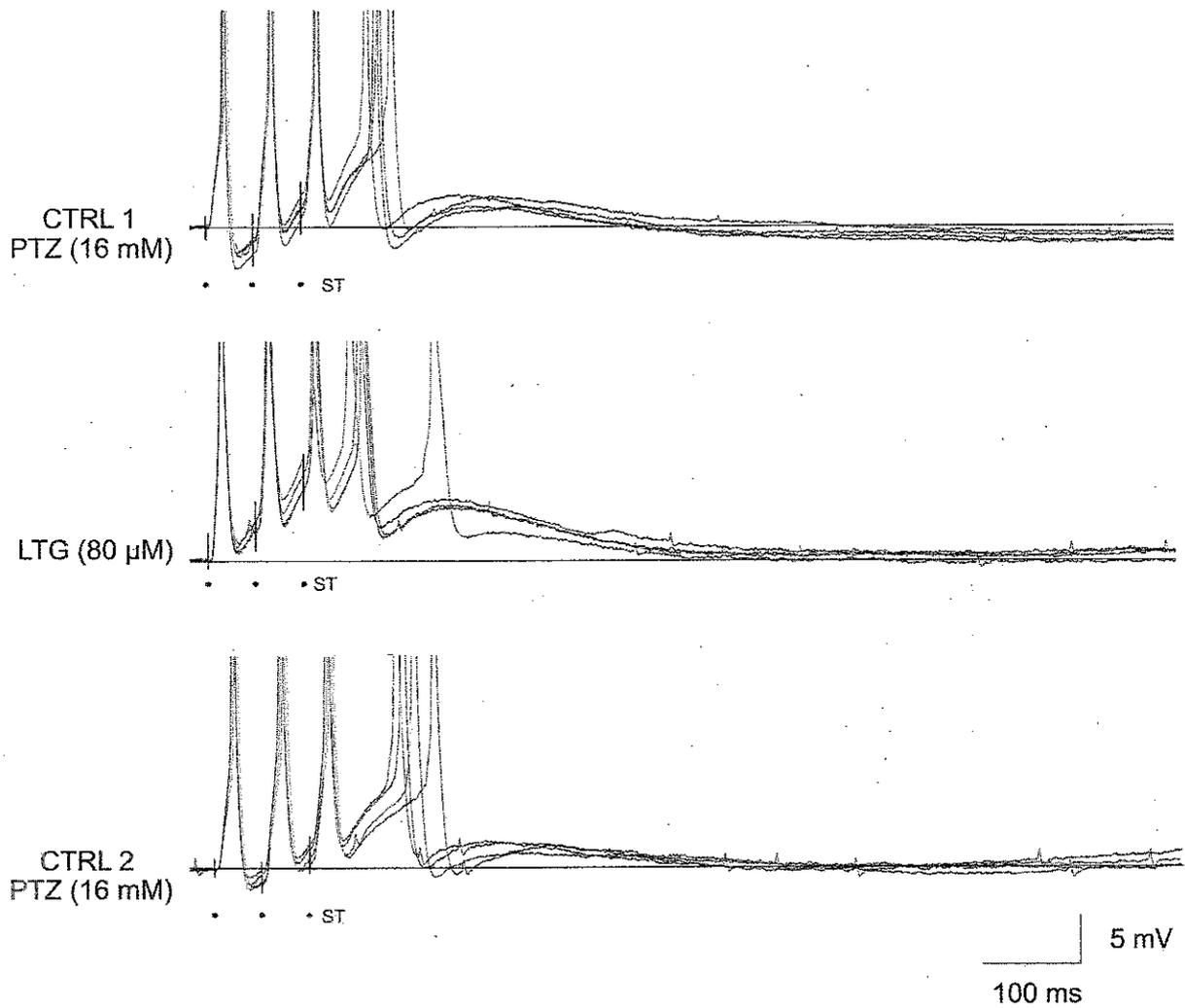
**Abb. 20:** Blockdiagramm zur Wirkung von Pentylentetrazol (PTZ; 16 mM) auf die Amplitude der IPSP in dem B1-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=7$ ).  $p<0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: 16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



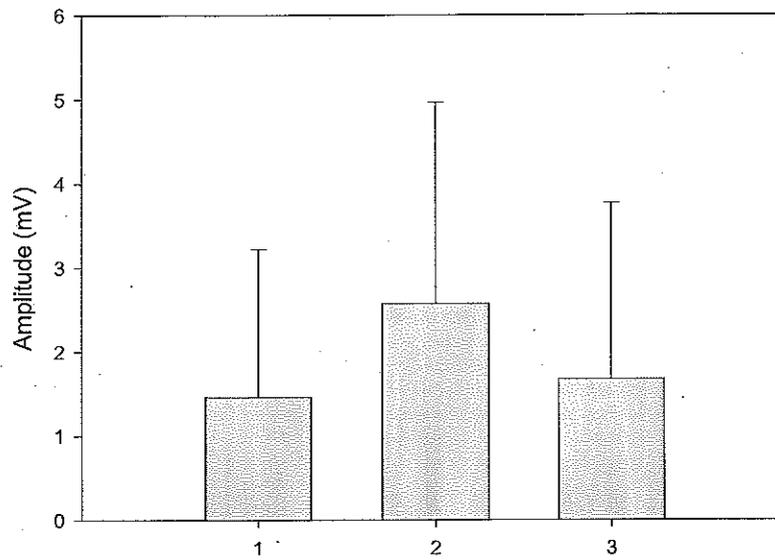
**Abb. 21:** Veränderung der Amplitude der inhibitorischen postsynaptischen Potentiale durch Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in den Buccalganglien von *Helix pomatia* (B1-Neuron). **CTRL 1:** Kontrolle 1 mit Meng-Lösung; **LTG ( $80 \mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 mit Meng-Lösung; **ST:** Reizung. Es wurden jeweils 2 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und erstem Reizartefakt gesucht wurde. Die Amplituden der IPSP sind durch Pfeile markiert. Reizartefakte und Aktionspotentiale sind gekürzt.



**Abb. 22:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplitude der IPSP in dem B1-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=7$ ).  $p=0,003$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



**Abb. 23:** Beispiel zur Veränderung der Amplitude der inhibitorischen postsynaptischen Potentiale durch Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ) in dem B1-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 mit 16 mM PTZ; **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 mit 16 mM PTZ; **ST:** Reizung. Es wurden jeweils 4 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und erstem Reizartefakt gesucht wurde. Reizartefakte und Aktionspotentiale sind gekürzt.



**Abb. 24:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude der IPSP in dem B1-Neuron bei kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=8).  $p=0,307$  (Wilcoxon-Test von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (16 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (16 mM PTZ).

### 3.3.2 Wirkung von Lamotrigin auf EPSP

Hauptsächlich monosynaptisch ausgelöste EPSP erhält man in dem B3-Neuron nach elektrischer Reizung des gleichseitigen vorderen Schlundkopfnerven (Kunze, 1917a, b; Altrup et al., 1990a). In den Versuchen wurde zunächst geprüft, welche Veränderungen der EPSP nach Gabe von Pentylentetrazol in den Konzentrationen 16 mM und 40 mM beobachtet werden können. Bei Zugabe von 16 mM PTZ zu der Meng-Lösung wurde die Amplitude der EPSP um  $2,19 \pm 1,44$  mV von  $4,71 \pm 1,53$  mV (Kontrollphase 1) auf  $2,52 \pm 1,69$  mV (Test; n=11) verringert. In Kontrollphase 2 betrug die Amplitude  $4,63 \pm 1,34$  mV (n=9). Die statistische Prüfung ergab eine signifikante Abnahme der Amplitude durch 16 mM PTZ ( $p < 0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Kontrollphasen 1 und 2 waren nicht signifikant verschieden ( $p = 0,779$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Abb. 25 zeigt ein typisches Beispiel; Mittelwerte und Standardabweichungen sind in dem Blockdiagramm in Abb. 26 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 13). Nach Zugabe von 40 mM PTZ nahm die Amplitude der EPSP um  $2,30 \pm 1,29$  mV von  $3,18 \pm 1,11$  mV (Kontrollphase 1) auf  $0,88 \pm 1,03$  mV (Test; n=5) ab. Die Abnahme der Amplitude durch 40 mM PTZ war statistisch signifikant ( $p = 0,016$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die beschriebenen Veränderungen sind in den Abb. 27 und 28 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 14). Es wurde nun untersucht, wie Lamotrigin die Amplituden der EPSP beeinflusst. Lamotrigin wurde bei: i) nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung), ii) unerschwellig epileptischen Bedingungen (16 mM PTZ) und bei iii) epileptischen Bedingungen (40 mM PTZ) untersucht.

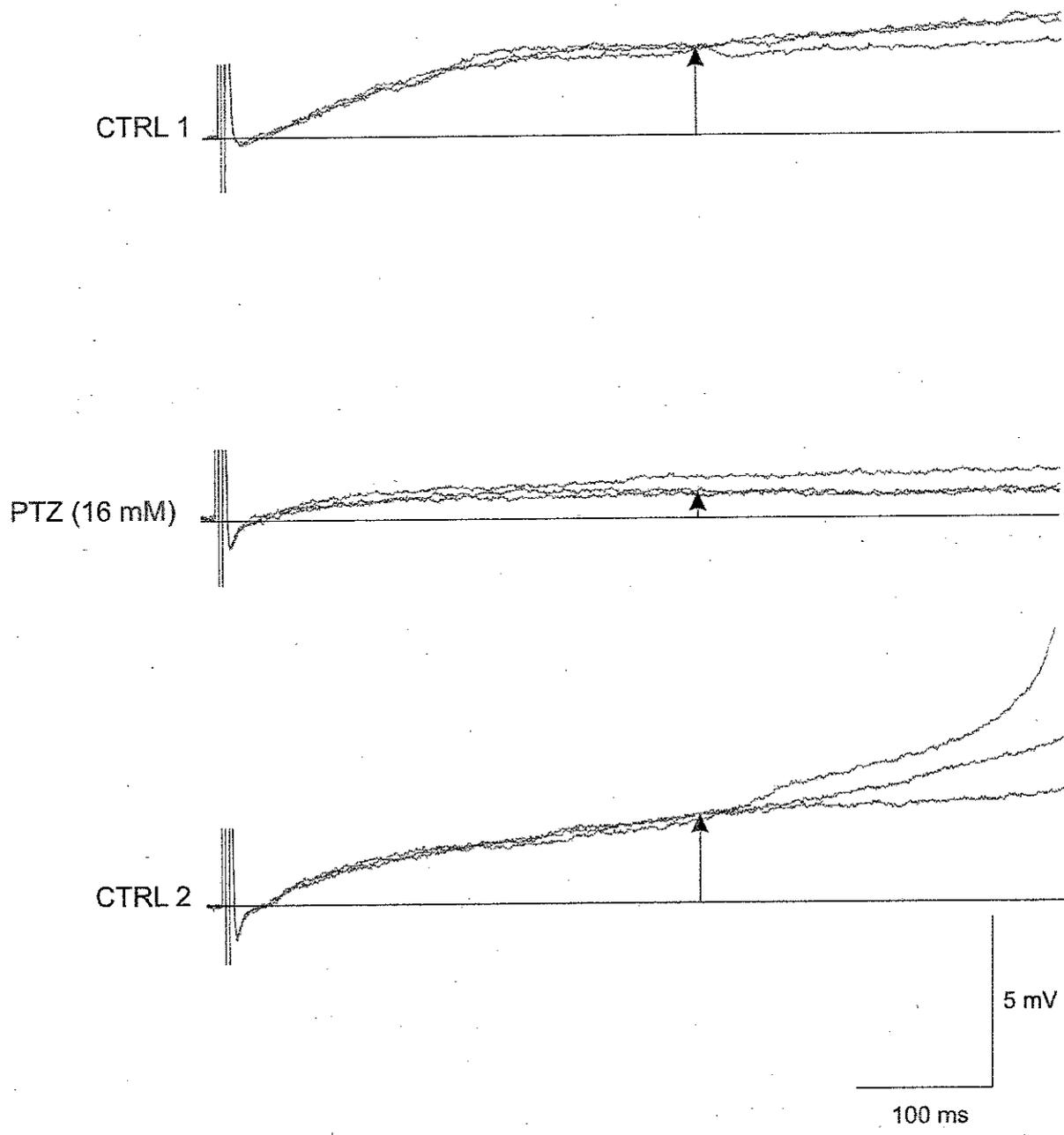
i) Unter nicht-epileptischen Bedingungen (ohne Zugabe von Pentylentetrazol) betrug die Amplitude der EPSP zunächst  $3,76 \pm 1,89$  mV (n=11). Bei Gabe von Lamotrigin nahm die Amplitude um  $1,56 \pm 1,42$  mV auf  $5,32 \pm 1,56$  mV zu (n=11). Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 29; Mittelwerte und Standardabweichung sind in Abb. 30 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 15). Die Zunahme der Amplitude durch Lamotrigin erwies sich als statistisch signifikant ( $p = 0,004$ ; t-Test für verbundene Stichproben).

ii) Bei unerschwellig epileptischen Bedingungen, die durch 16 mM Pentylentetrazol eingestellt wurden, vergrößerte sich die Amplitude der EPSP bei Gabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) von  $2,31 \pm 1,77$  mV (Kontrollphase 1) auf  $4,22 \pm 2,00$  mV (n=12). In der Kontrollphase 2 betrug die Amplitude  $2,84 \pm 1,65$  mV (n=11). Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 31; Mittelwerte und Standardabweichung sind in Abb. 32 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 16). Die

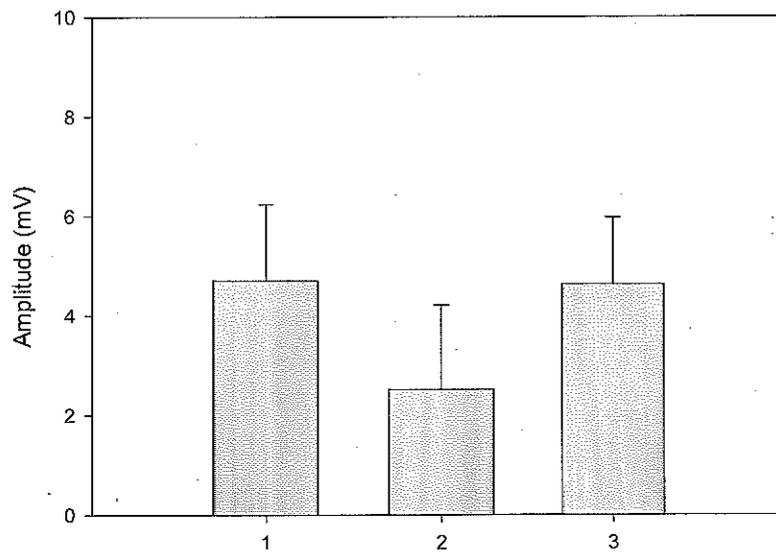
Zunahme der Amplitude während Lamotrigingabe erwies sich als statistisch signifikant ( $p=0,001$ ; Wilcoxon-Test). Die Kontrollphasen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p=0,054$ ; Wilcoxon-Test).

iii) Unter epileptischen Bedingungen (bei Zugabe von 40 mM Pentylentetrazol) betrug die Amplitude der EPSP zunächst  $0,88 \pm 1,03$  mV ( $n=5$ ). Während zusätzlicher Gabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) wurde die Amplitude um  $0,26 \pm 0,43$  mV auf  $1,14 \pm 0,94$  mV erhöht ( $n=5$ ). In Kontrollphase 2 betrug die Amplitude der EPSP  $0,40 \pm 0,23$  mV ( $n=5$ ). Abb. 33 zeigt ein typisches Beispiel; in Abb. 34 sind die gemessenen Veränderungen in einem Blockdiagramm dargestellt (vgl. Anhang, Tab. 17). Die statistische Auswertung ergab keine signifikante Veränderung ( $p=0,251$ ; t-Test für verbundene Stichproben).

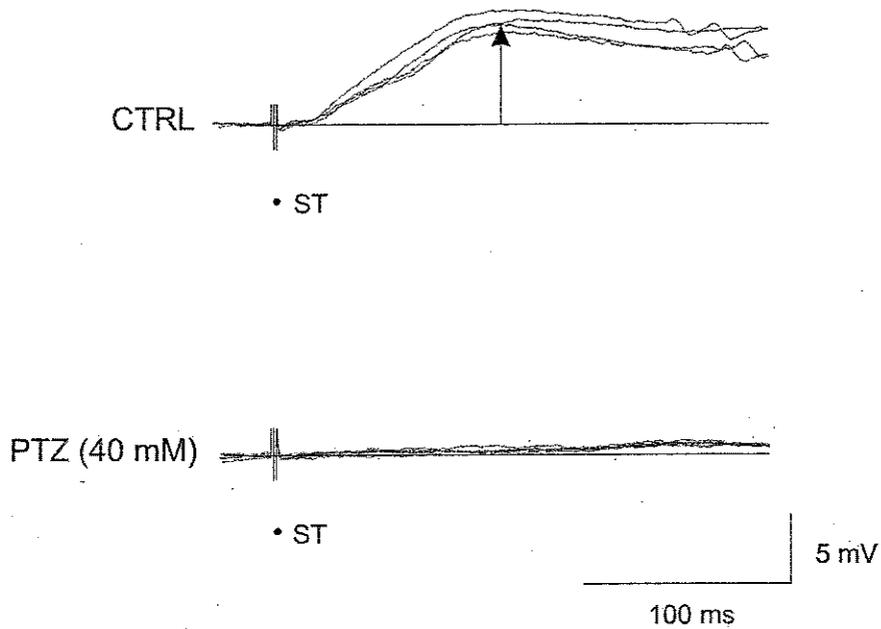
Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Lamotrigin die Amplitude der EPSP erhöhte. Durch Pentylentetrazol wurde die EPSP-Amplitude dosisabhängig verkleinert. Lamotrigin konnte diese Verkleinerung bei unterschwellig epileptischen Bedingungen (16 mM PTZ) teilweise aufheben. Unter epileptischen Bedingungen (40 mM PTZ) konnte kein Lamotrigineffekt mehr nachgewiesen werden.



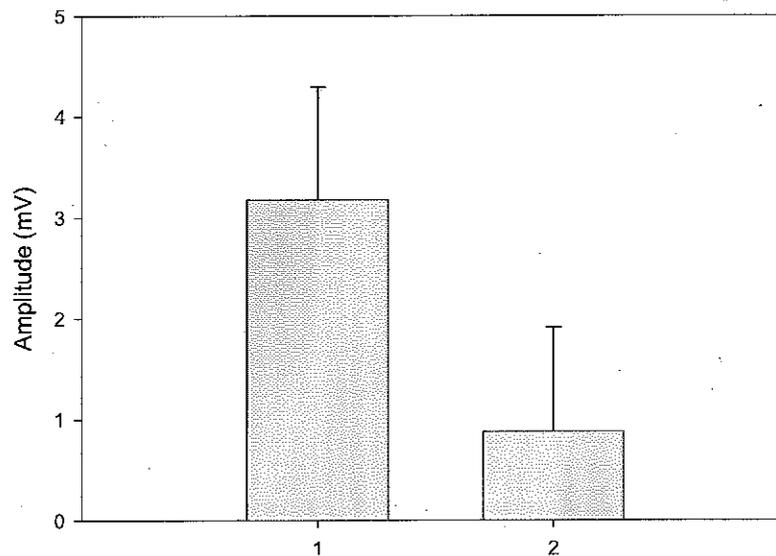
**Abb. 25:** Wirkung von 16 mM Pentylentetrazollösung auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 mit Meng-Lösung; **PTZ (16 mM):** Testphase mit 16 mM Pentylentetrazol; **CTRL 2:** Kontrolle 2 mit Meng-Lösung; **ST:** Reizung. Es wurden jeweils 3 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und erstem Reizartefakt gesucht wurde. Die Amplituden der EPSP sind durch Pfeile markiert. Die Reizartefakte sind gekürzt.



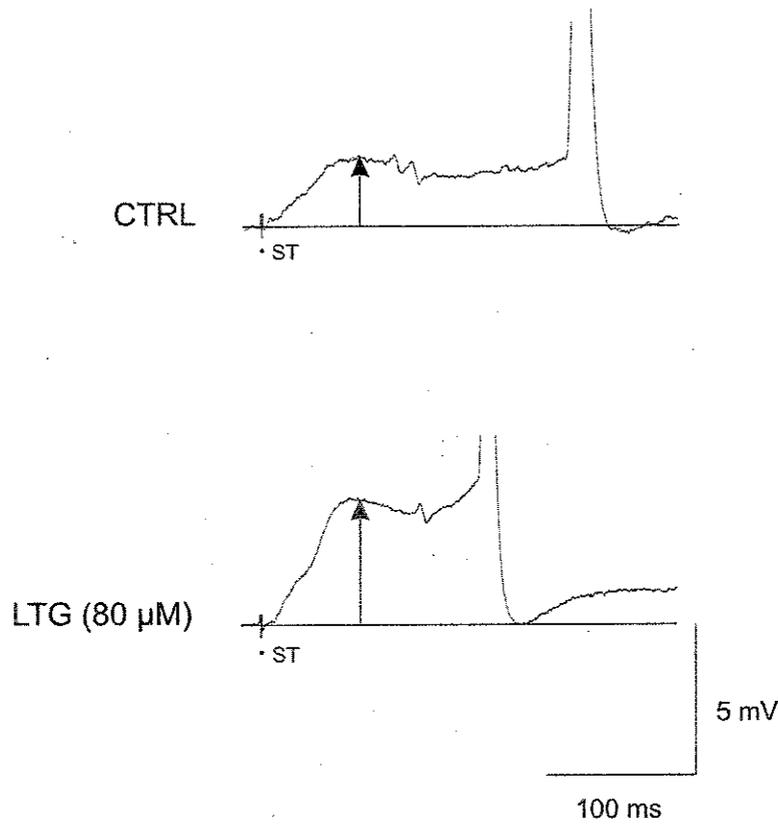
**Abb. 26:** Blockdiagramm zur Wirkung von 16 mM Pentylentetrazol (PTZ) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (B3-Neuron; Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=11).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: 16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



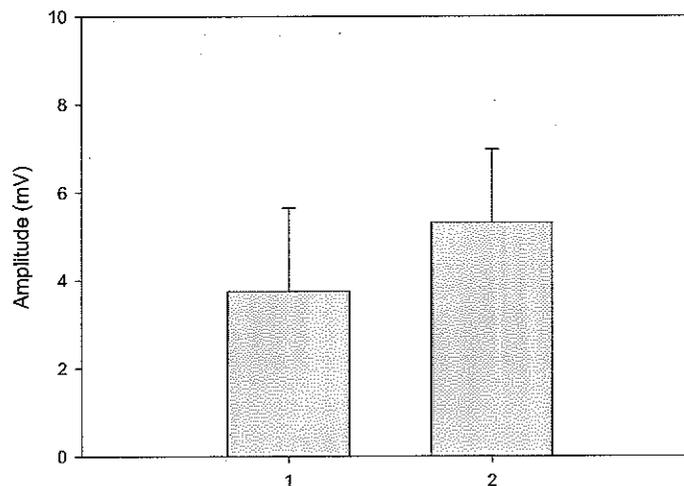
**Abb. 27:** Wirkung von 40 mM Pentylentetrazol (PTZ) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (B3-Neuron; Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL:** Kontrollbedingungen (Meng-Lösung), **PTZ (40 mM):** Testphase mit 40 mM PTZ; **ST:** Reizung. Es wurden jeweils 4 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und Reizartefakten gesucht wurde. Die Amplituden der EPSP sind durch Pfeile markiert. Die Reizartefakte sind gekürzt.



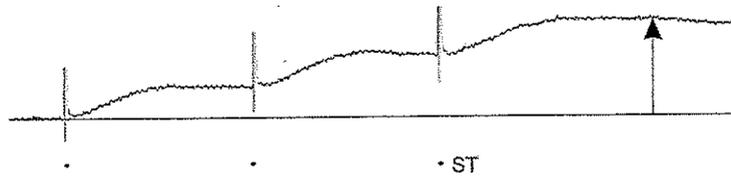
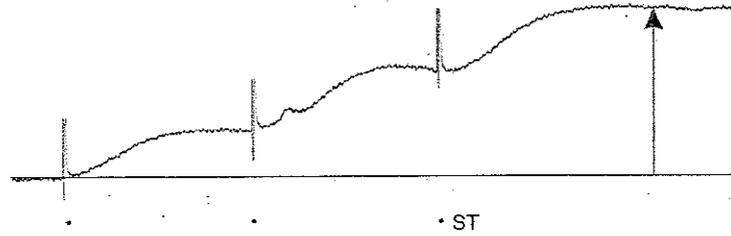
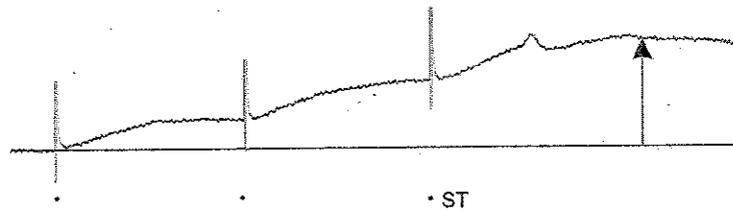
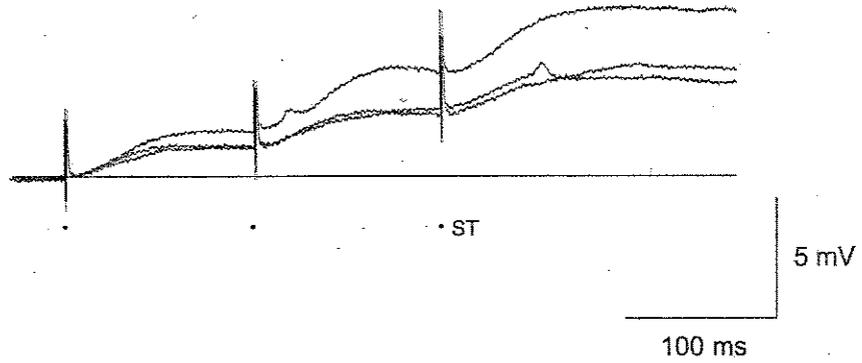
**Abb. 28:** Blockdiagramm zur Wirkung von 40 mM Pentylentetrazol (PTZ) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=5$ ).  $p=0,016$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrollbedingungen (Meng-Lösung); Block 2: Test mit 40 mM PTZ. Eine Kontrolle 2 entfiel, da der Versuch mit einer weiteren Testphase fortgeführt wurde.



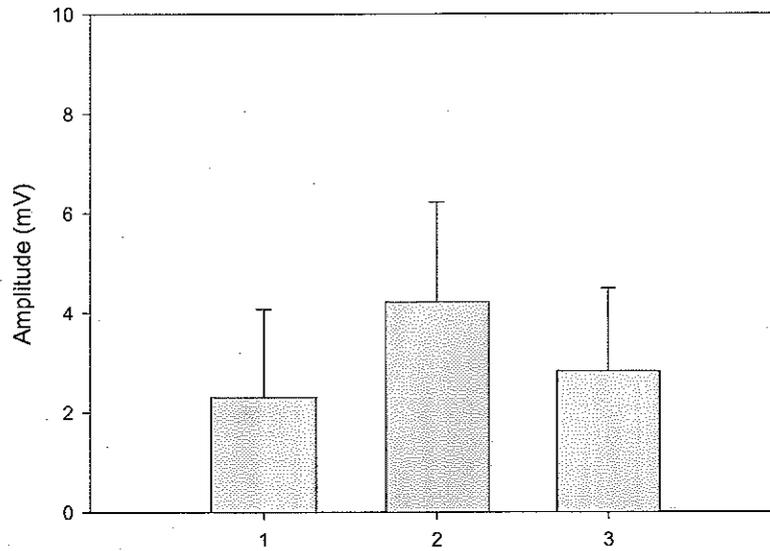
**Abb. 29:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL:** Kontrollbedingungen (Meng-Lösung); **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; **ST:** Reizung. Die Amplituden der EPSP sind durch Pfeile markiert. Reizartefakte und Aktionspotentiale sind gekürzt.



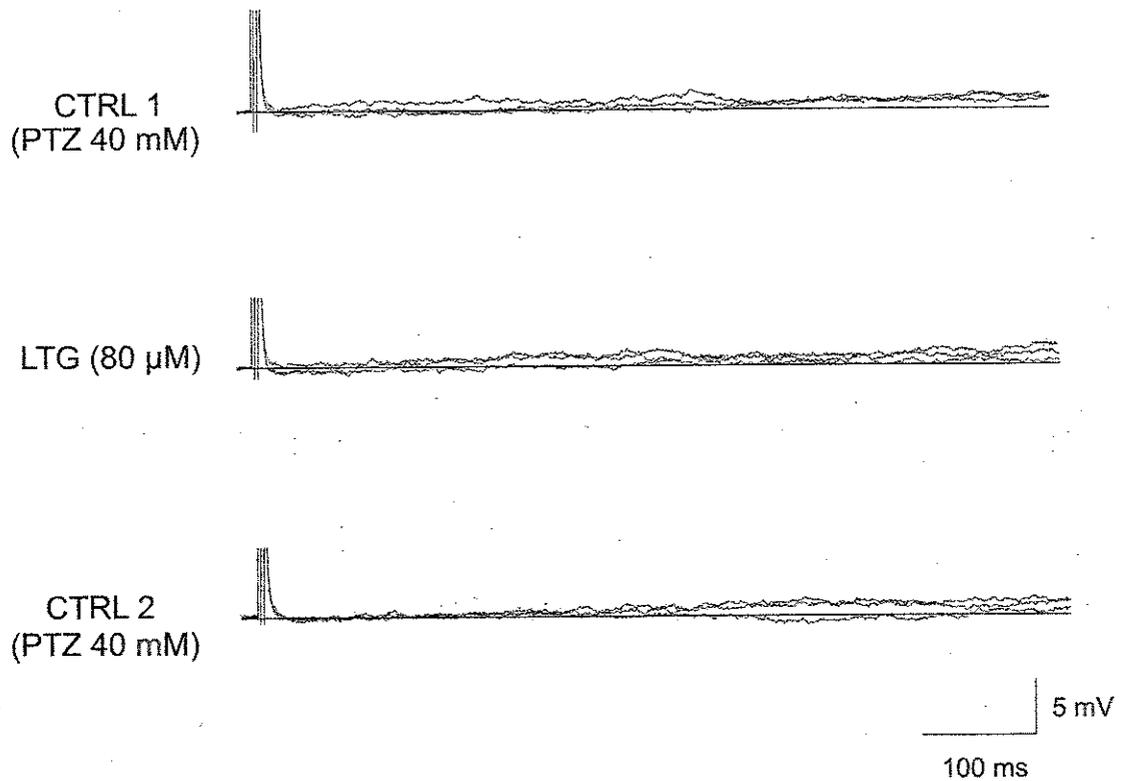
**Abb. 30:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung auf die Amplitude der EPSP (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=11$ ).  $p=0,004$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrollbedingungen (Meng-Lösung); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung. Die Kontrolle 2 entfiel, da der Versuch mit einer weiteren Testphase fortgeführt wurde.

**A**CTRL 1  
(PTZ 16 mM)LTG (80  $\mu$ M)CTRL 2  
(PTZ 16 mM)**B**

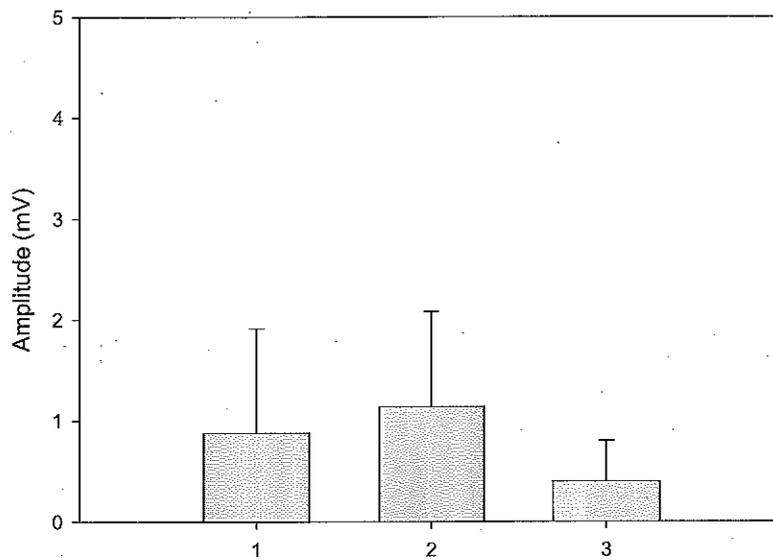
**Abb. 31:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM PTZ (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** Veränderung der EPSP während der einzelnen Versuchsphasen; **B:** EPSP aller Versuchsphasen übereinandergelegt. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM Pentylentetrazol; PTZ); **LTG (80  $\mu$ M):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **ST:** Reizung. Die Amplituden der EPSP sind durch Pfeile markiert. Die Reizartefakte wurden gekürzt.



**Abb. 32:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=12).  $p=0,001$  (Wilcoxon-Test von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (16 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (16 mM PTZ).



**Abb. 33:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude der exzitatorischen postsynaptischen Potentiale während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Es wurden jeweils 3 Reizantworten des Neurons übereinandergeschrieben, indem die beste Übereinstimmung von Ausgangsmembranpotential und Reizartefakten gesucht wurde. Die Reizartefakte sind gekürzt. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM Pentylentetrazol; PTZ); **LTG (80  $\mu$ M):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ).



**Abb. 34:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplituden der EPSP während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ) in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=5$ ).  $p=0,251$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (40 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (40 mM PTZ).

### **3.4 Wirkung von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale und PDS**

Es ist in der Literatur gezeigt worden, dass epileptische Entladungen der Neurone sich aus Schrittmacherpotentialen entwickeln können (vgl. Schwartzkroin, 1982). Schrittmacherpotentiale entstehen auf nicht-synaptischem Weg in Neuronen, die die dazu benötigten Membranmechanismen exprimiert haben. In der Regel müssen die Neurone um wenige mV depolarisiert werden, um die Prozesse zu aktivieren, die zu Schrittmacherpotentialen führen. Schrittmacherpotentiale bestehen aus a) einer kleinen (wenige mV) und kurzen (<100 ms) Depolarisation, an der ein transmembranöser Kalziumstrom beteiligt ist und die regelmäßig von Aktionspotentialen überlagert wird, und b) einer sich anschließenden Hyperpolarisation, die von einem kalziumabhängigen Kaliumstrom getragen wird. Mit dem Abklingen der Hyperpolarisation wird die Schwelle für die nächste kleine und kurze Depolarisation erreicht, so dass der Aktivitätszyklus erneut startet (Wilson, 1982). Da die paroxysmalen Depolarisationen aus Schrittmacherpotentialen entstehen (Altrup, 2004), wurde die Wirkung von Lamotrigin auf diese Potentiale untersucht. Dazu wurden in Kapitel 3.4.1 die Häufigkeit und der Zeitgang der Schrittmacherpotentiale in 10 Minuten bei: i) nicht-epileptischen Bedingungen (Meng-Lösung), ii) unterschwellig epileptischen Bedingungen (16 mM PTZ) und iii) epileptischen Bedingungen (40 mM PTZ) bestimmt. In Kapitel 3.4.2 wird dargestellt, welche Wirkungen von Lamotrigin auf PDS beobachtet wurden. Allgemein konnte beobachtet werden, dass die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale in 10 Minuten bei PTZ-Gabe abnahm, wobei die Schrittmacher-Depolarisation an Dauer und Amplitude mit steigender PTZ-Konzentration zunahm (vgl. Altrup et al., 2003). Eine Auswertung der Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale ergab, dass sich die Häufigkeiten unter PTZ-Gabe signifikant von denen unter Meng-Lösung unterschieden ( $p=0,003$  für 16 mM PTZ, Mann-Whitney-Wilcoxon-Test;  $p<0,001$  für 40 mM PTZ; Mann-Whitney-Wilcoxon-Test). Die Häufigkeiten der Schrittmacherpotentiale, die bei Gabe von 16 mM PTZ gemessen wurden, unterschieden sich nicht signifikant von denen, die bei Gabe von 40 mM PTZ gemessen wurden ( $p=0,372$ , Mann-Whitney-Wilcoxon-Test).

#### **3.4.1 Wirkung von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale**

i) Für die Untersuchung der Schrittmacherpotentiale unter nicht-epileptischen Bedingungen wurden Neurone herangezogen, die spontan Schrittmacherpotentiale generierten. Unter Kontrollbedingungen traten diese spontanen Schrittmacherpotentiale mit einer Häufigkeit von

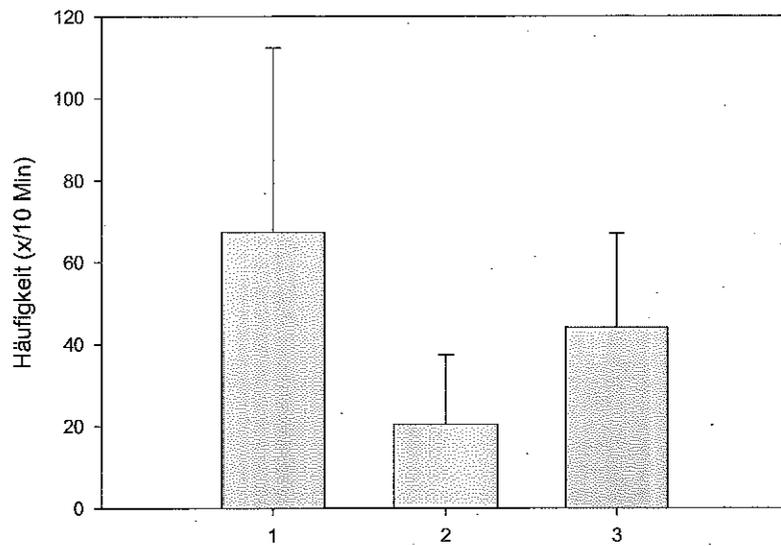
67,4 ± 44,9 in 10 Minuten auf (n=11). Nach Zugabe von Lamotrigin (80 µM) zur Kontrolllösung nahm die Häufigkeit auf 20,5 ± 16,8 Potentiale in 10 Minuten ab (n=11). Nach einer Stunde Auswaschen (Kontrollphase 2) nahm die Häufigkeit auf 44,1 ± 22,9 Potentiale in 10 Minuten wieder zu (n=11). Die statistische Auswertung zeigte eine signifikante Abnahme der Häufigkeit in dem B3-Neuron ( $p < 0,001$ ; Wilcoxon-Test; Abb. 35; vgl. Anhang, Tab. 18). Die Kontrollphasen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p = 0,320$ ; Wilcoxon-Test). Hinsichtlich des Mechanismus der oben beschriebenen Abnahme der Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale zeigen die Registrierungen in Abb. 36 A, B3 und B, B3 sowie Abb. 37, dass die Schrittmacher-Hyperpolarisation während Lamotrigingabe größer war und länger andauerte im Vergleich zu Kontrolle 1 und 2. Die vergrößerten und verlängerten Hyperpolarisationen sind in den Abbildungen mit einem Stern markiert. Außerdem fiel auf, dass die Schrittmacher-Hyperpolarisation früher auftrat, so dass die Schrittmacher-Depolarisation während Lamotrigingabe verkürzt war. Vergleichbare Wirkungen des Lamotrigin konnten in den Neuronen B1 (Abb. 36, A, B1) und B2 (Abb. 36, B, B2) nicht festgestellt werden. Beide Neurone weisen keine Schrittmacherpotentiale auf (Altrup et al., 2003). Es wird deutlich, dass die Abnahme der Schrittmacherhäufigkeit in dem B3-Neuron unter Lamotrigin hauptsächlich auf einer Verlängerung der Schrittmacher-Hyperpolarisation beruhte.

ii) Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen, das heißt bei Zugabe von 16 mM PTZ, kam es zu einer verlängerten Dauer und Amplitude der Schrittmacherpotential-Depolarisation sowie einer Zunahme der Latenzzeit bis zur Schrittmacher-Repolarisation (siehe oben; Altrup et al., 2003). Bei 16 mM Pentylentetrazol betrug die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale in Kontrollphase 1 20,3 ± 10,2 Potentiale in 10 Minuten (n=14). Nach Zugabe von Lamotrigin (80 µM) sank die Häufigkeit auf 15,2 ± 10,8 Potentiale in 10 Minuten (n=14) und stieg in der Kontrollphase 2 wieder auf 19,5 ± 11,4 Potentiale an (n=14). Die Abnahme der Häufigkeit durch Lamotrigin war mit  $p = 0,017$  (t-Test für verbundene Stichproben) signifikant. Die Kontrollphasen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $p = 0,503$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Das Blockdiagramm in Abb. 38 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen (vgl. Anhang, Tab. 19). Abb. 39 zeigt die Häufigkeitsabnahme und lässt in Bezug auf die zugrunde liegenden Mechanismen erkennen, dass insbesondere die Dauer der Schrittmacher-Hyperpolarisation während der Gabe von Lamotrigin vergrößert war. Abb. 40 zeigt darüber hinaus, dass die Schrittmacher-Hyperpolarisation während Lamotrigingabe eine kürzere Latenzzeit aufwies. Der Beginn der Hyperpolarisation ist in

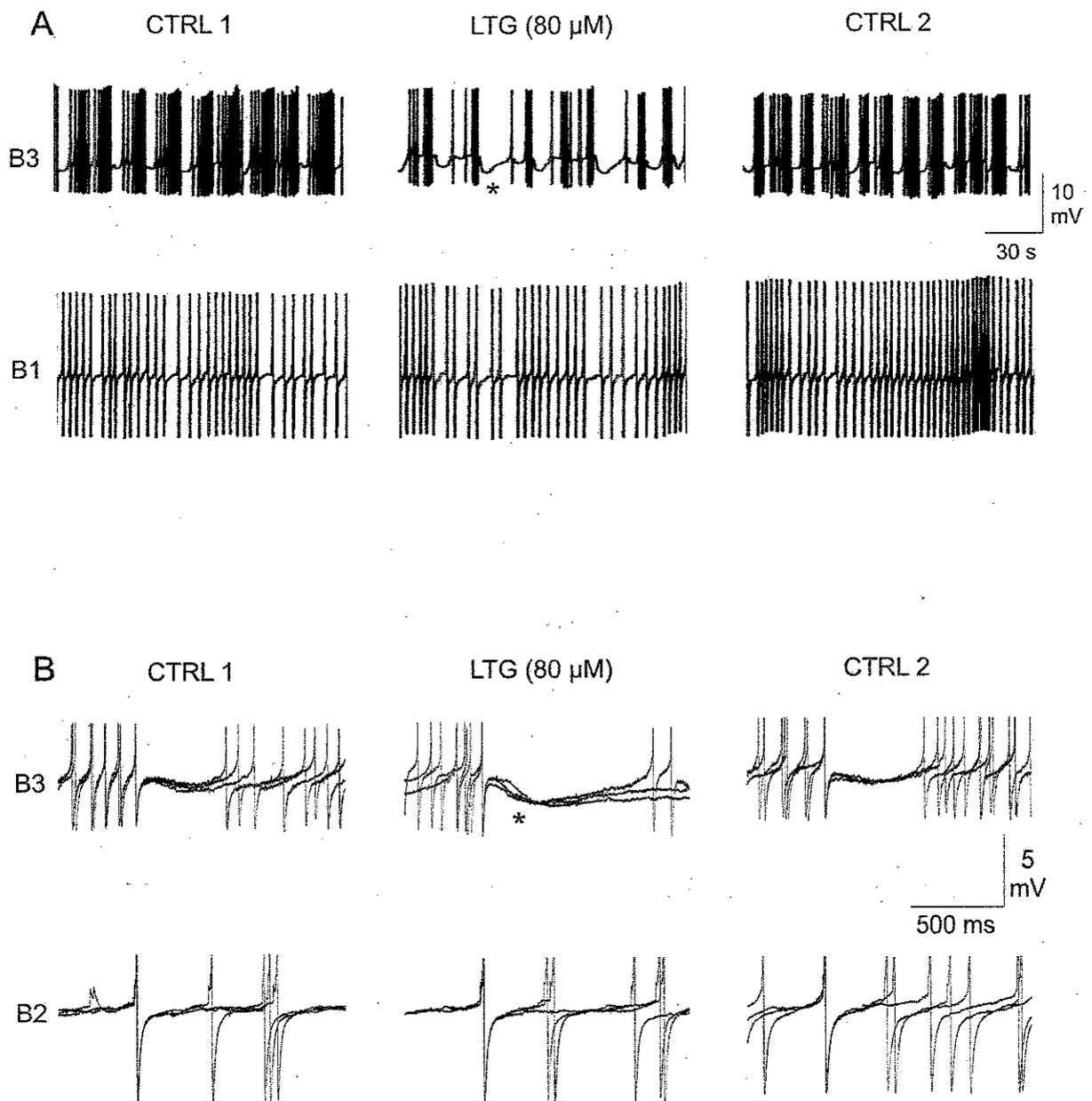
Abb. 40 jeweils durch einen Pfeil markiert. Die dargestellten Wirkungen von Lamotrigin zeigen, dass die Schrittmacherpotentiale, die durch PTZ vergrößert wurden, durch zusätzliche Gabe von Lamotrigin wieder kleiner wurden und weniger häufig auftraten.

iii) Unter epileptischen Bedingungen, das heißt nach Zugabe von 40 mM Pentylentetrazol, treten neben paroxysmalen Depolarisationen auch vergrößerte Schrittmacherpotentiale auf, die hier besprochen werden. Die vergrößerten Schrittmacherpotentiale zeigten folgende Veränderungen: In der Kontrollphase 1 betrug die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale  $16,6 \pm 7,9$  Potentiale in 10 Minuten ( $n=20$ ). Bei Zugabe von Lamotrigin ( $80 \mu\text{M}$ ) sank die Häufigkeit auf  $11,4 \pm 5,2$  Potentiale in 10 Minuten ( $n=20$ ). Dabei nahm insbesondere die Dauer der Schrittmacherdepolarisation ab. In der Kontrollphase 2 stieg die Häufigkeit auf  $13,6 \pm 6,9$  Potentiale in 10 Minuten wieder an ( $n=20$ , Abb. 41; vgl. Anhang, Tab. 20). Die Abnahme der Häufigkeit durch Lamotrigin erwies sich als statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Die Kontrollphasen 1 und 2 unterschieden sich ebenfalls signifikant voneinander ( $p = 0,002$ ; t-Test für verbundene Stichproben), so dass die Effekte durch Lamotrigin nach einer Stunde Auswaschen nur zum Teil reversibel waren. Hinsichtlich des Mechanismus der oben beschriebenen Häufigkeitsabnahme der vergrößerten Schrittmacherpotentiale unter epileptischen Bedingungen zeigt die Abb. 42, dass wiederum insbesondere die Schrittmacher-Hyperpolarisation während Lamotrigingabe größer war und länger andauerte.

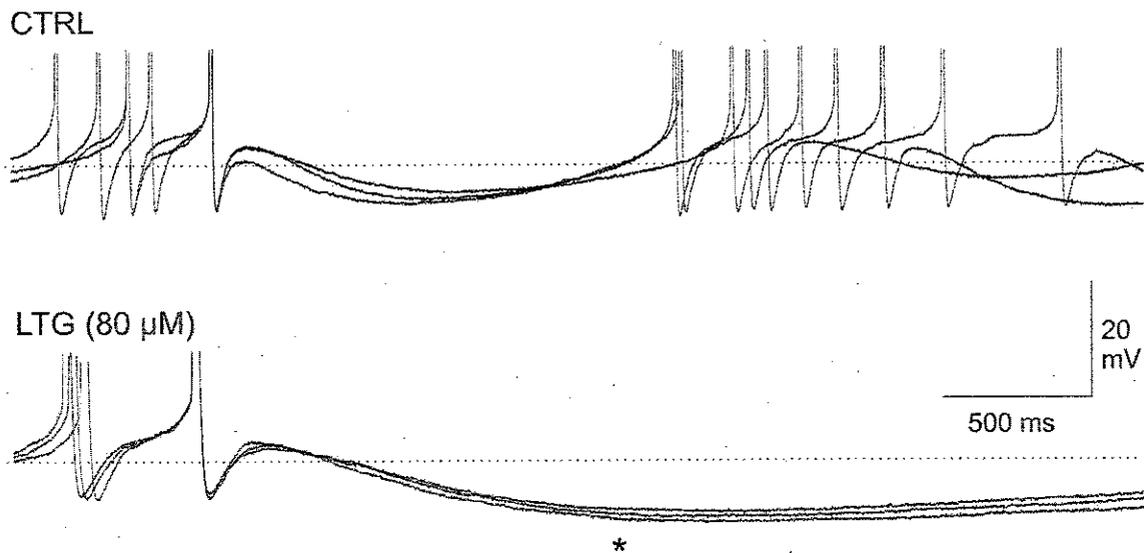
Insgesamt zeigen die Experimente, dass Lamotrigin die Häufigkeit von Schrittmacherpotentialen erniedrigte. Dieser Effekt beruhte hauptsächlich auf einer Verlängerung der Schrittmacher-Hyperpolarisation und war nur teilweise reversibel.



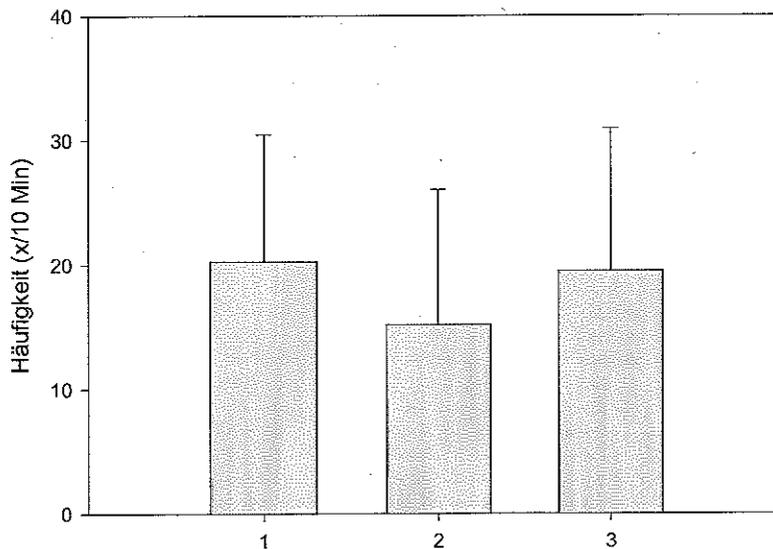
**Abb. 35:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=11).  $p < 0,001$  (Wilcoxon-Test von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; Block 3: Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



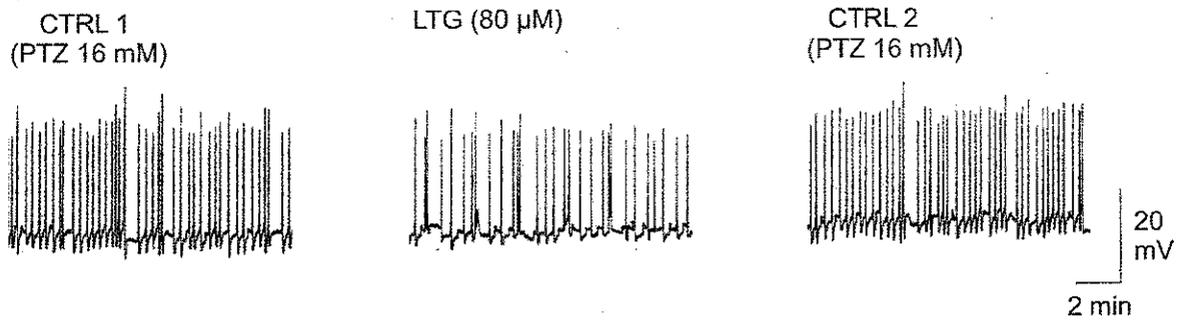
**Abb. 36:** Wirkung von Lamotrigin (80 μM) auf Fluktuationen des Membranpotentials unter nicht-epileptischen Bedingungen (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** Wirkung von Lamotrigin (80 μM) auf Neuron B3 und B1, Papierschreiberregistrierungen. Die Schrittmacher-Hyperpolarisation während Lamotrigin ist durch den Stern markiert. **B:** Wirkung von Lamotrigin (80 μM) auf Neuron B3 und B2, Oszilloskopregistrierungen; es wurden jeweils 3 Registrierungen übereinandergelegt, indem nach der besten Übereinstimmung des letzten Aktionspotentials vor der Hyperpolarisation gesucht wurde. Die Schrittmacher-Hyperpolarisation ist durch den Stern markiert. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **LTG (80 μM):** Lamotrigin (80 μM) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung).



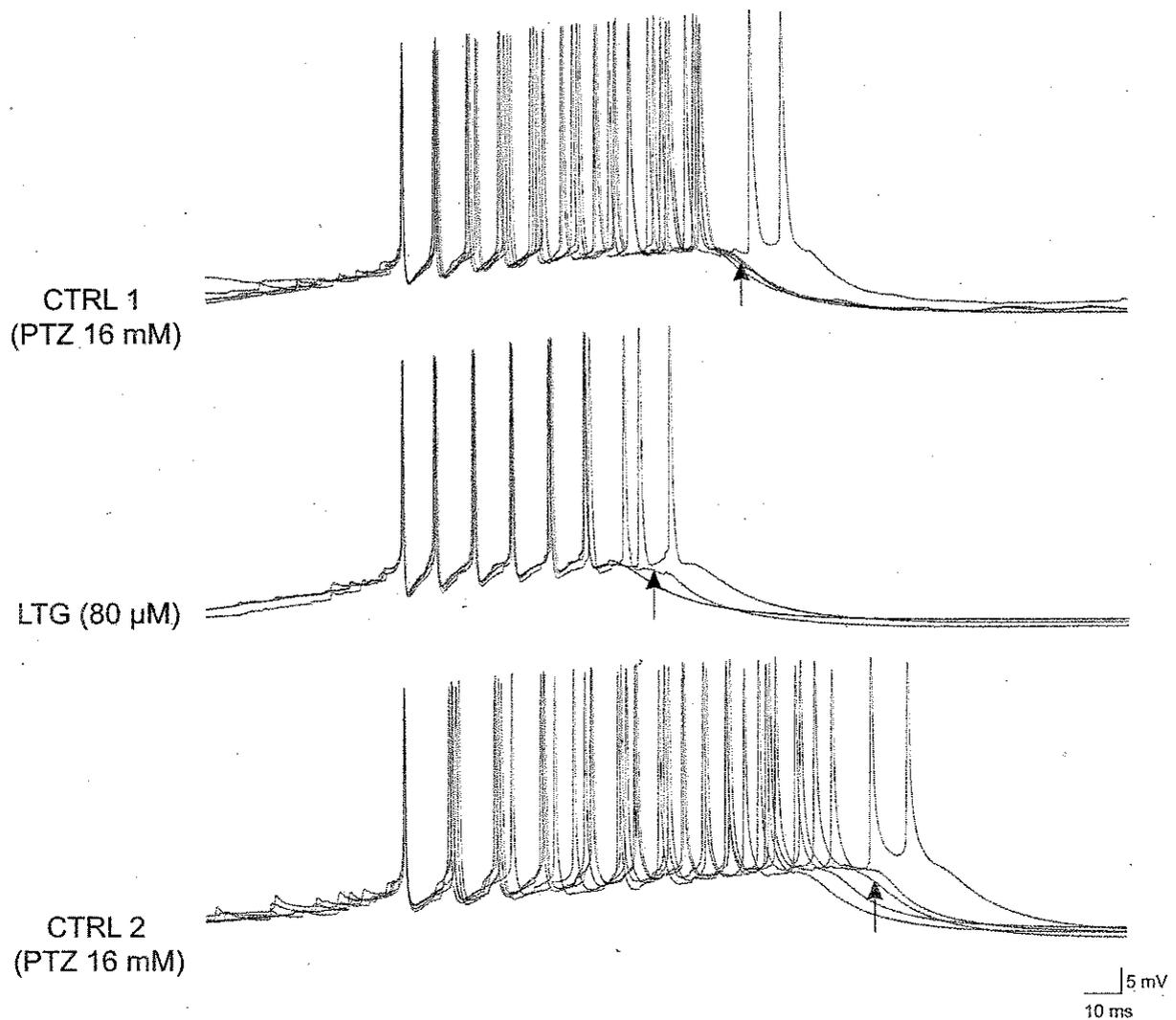
**Abb. 37:** Zeitgang spontaner Schrittmacherpotentiale vor (CTRL) und während der Gabe von Lamotrigin (LTG 80  $\mu$ M) in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Es wurden jeweils 3 Registrierungen übereinandergelegt, indem die beste Übereinstimmung des letzten Aktionspotentials vor der Hyperpolarisation gesucht wurde; Oszilloskopregistrierungen. Die Schrittmacher-Hyperpolarisation während Lamotrigingabe ist durch den Stern markiert. Die Aktionspotentiale sind gekürzt. CTRL: Kontrolle (Meng-Lösung); LTG (80  $\mu$ M): Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung.



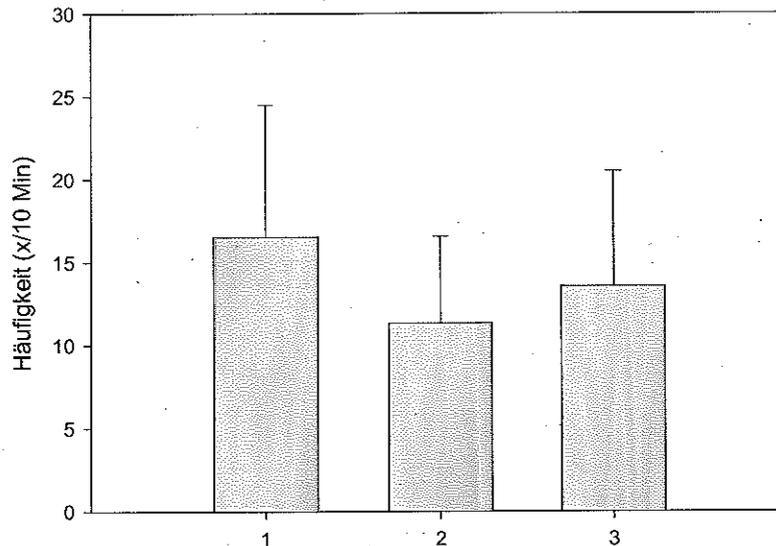
**Abb. 38:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale bei kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=14).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (16 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (16 mM PTZ).



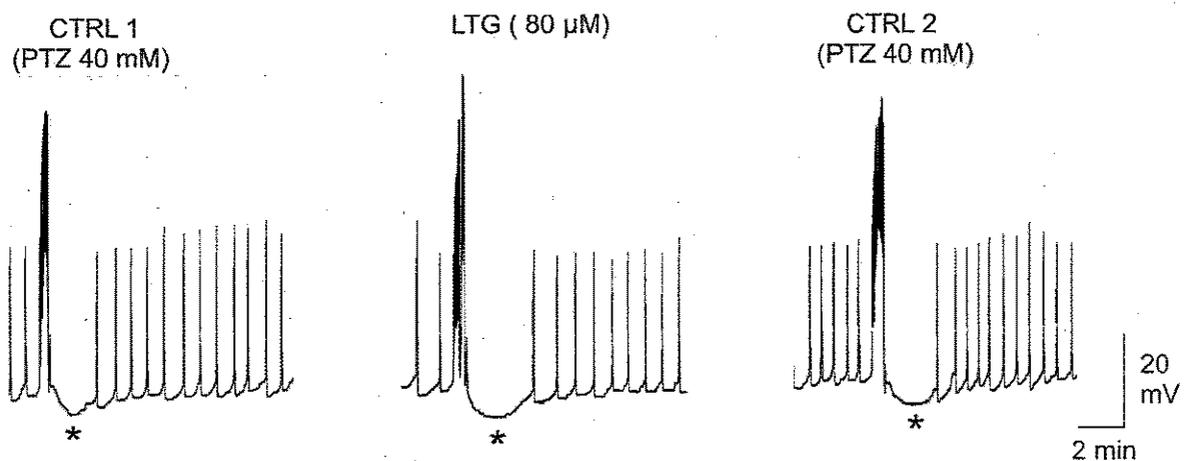
**Abb. 39:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf Schrittmacherpotentiale während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ).



**Abb. 40:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Dauer von Schrittmacherpotentialen während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Es wurden jeweils 5 Registrierungen übereinandergelegt, indem die beste Übereinstimmung des ersten Aktionspotentials gesucht wurde. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ). Der Pfeil markiert den Beginn der Repolarisation.



**Abb. 41:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale bei kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ) in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=20$ ).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (40 mM PTZ); Block 2: Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (40 mM PTZ).



**Abb. 42:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf Schrittmacherpotentiale während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Die Schrittmacher-Hyperpolarisationen sind jeweils durch einen Stern markiert. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **LTG (80  $\mu\text{M}$ ):** Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ).

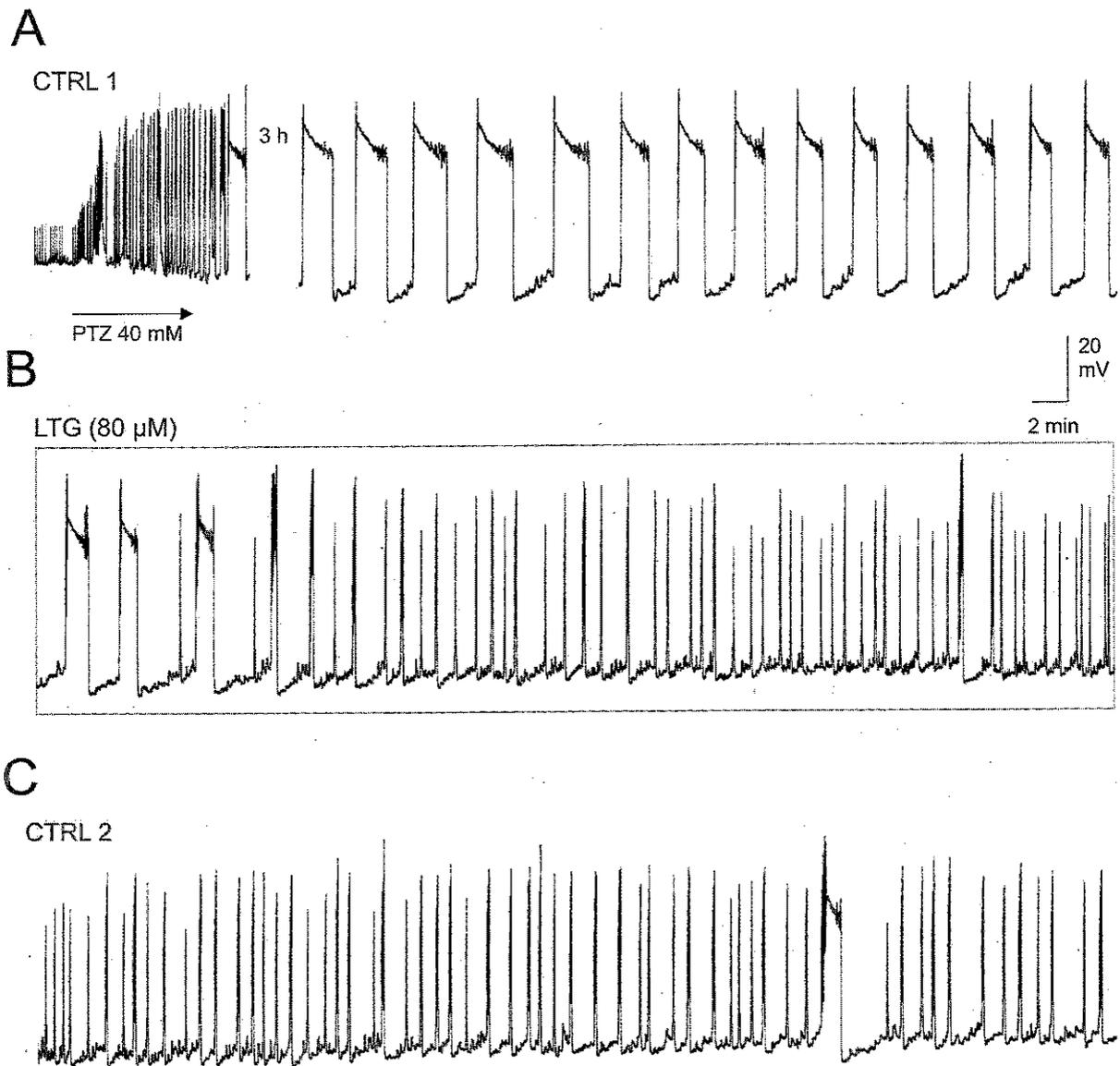
### 3.4.2 Wirkung von Lamotrigin auf PDS

Neuronale epileptische Entladungen treten in Form von „paroxysmal depolarization shifts“ (PDS) auf (Goldensohn und Purpura, 1963; Matsumoto und Aymone Marsan, 1964; Creutzfeldt et al., 1966). PDS bilden die Grundlage epileptischer Aktivität bei Mensch und Tier (Li und Van Buren, 1972; Rayport, 1972; Prince and Wong, 1981). In der vorliegenden Arbeit wurden PDS in dem B3-Neuron durch Applikation von 40 mM PTZ ausgelöst (vgl. Abb. 4). Abb. 43 zeigt ein Beispiel für eine Wirkung von Lamotrigin unter epileptischen Bedingungen (40 mM PTZ). Abb. 43, A zeigt epileptiforme Aktivität, die über mehrere Stunden konstant war. Nach Zugabe von Lamotrigin zur PTZ-Lösung nahmen Häufigkeit und Dauer der PDS ab (Abb. 43, B). Dabei wurde die PDS-Aktivität durch Schrittmacheraktivität ersetzt. In dem Beispiel Abb. 43 waren die Veränderungen, die durch Lamotrigin ausgelöst wurden, nur zum Teil reversibel (Abb. 43, C, CTRL 2). Eine Übersicht über weitere Versuche zeigt Abb. 44. Es wird deutlich, dass Lamotrigin (80  $\mu$ M) in den meisten Fällen die epileptiforme Aktivität vollständig unterdrückte (Abb. 44, A-D). In einzelnen Fällen war die Unterdrückung nicht vollständig.

Zur Auswertung der Experimente wurde das Ausmaß der epileptiformen Aktivität bestimmt, indem der prozentuale Anteil der PDS-Dauer in verschiedenen Zeiträumen errechnet wurde (siehe Kapitel 2.7). Um den Verlauf der Lamotriginwirkung zu erfassen, wurde außerdem in 15 Experimenten der prozentuale Anteil der PDS-Dauer in 10-minütigen Abschnitten vor, während und nach Lamotrigingabe bestimmt. Aus den 6 ermittelten Werten vor Lamotrigingabe wurde für jedes Experiment ein Mittelwert errechnet, anhand dessen die ermittelten Werte aller Versuchsphasen des Experimentes normiert wurden. Aus den normierten Werten der 15 Experimente wurde ein Mittelwert für den jeweiligen Zeitpunkt errechnet und in einem Diagramm aufgetragen (Abb. 45). Das Diagramm verdeutlicht, dass mit Zugabe von Lamotrigin die epileptiforme Aktivität im Verlauf von 30 min abnahm. Nach Auswaschen von Lamotrigin war die epileptiforme Aktivität im Verlauf von 2 h nur zum Teil reversibel. Zur weiteren Auswertung wurde der Anteil der prozentualen Depolarisation über einen Zeitraum von ca. 30 Minuten vor, während und nach Lamotrigingabe berechnet: Lamotrigin (80  $\mu$ M) verringerte den prozentualen Anteil der Depolarisation von  $39,21 \pm 24,07\%$  vor Lamotrigingabe (Kontrollphase 1) auf  $9,55 \pm 15,46\%$  während Lamotrigingabe (n=29). Diese Veränderung durch Lamotrigin erwies sich als statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ;

Wilcoxon-Test). Nach einer Stunde Auswaschen (Kontrollphase 2) nahm der prozentuale Anteil der Depolarisation auf  $20,93 \pm 19,92\%$  zu ( $n=29$ ). Die Werte von Kontrolle 1 und Kontrolle 2 waren ebenfalls signifikant verschieden ( $p<0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben) und bestätigten damit die Beobachtung, dass die Lamotriginwirkungen nicht vollständig reversibel waren. Die gemessenen Veränderungen sind in dem Blockdiagramm in Abb. 46 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 21).

In den bisher dargestellten Experimenten wurde Lamotrigin in einer Konzentration von  $80 \mu\text{M}$  verwendet, die über der therapeutisch üblich eingesetzten Konzentration von 3-14 mg, entsprechend  $11,7\text{-}54,67 \mu\text{M}$  Lösung, liegt (vgl. Morris et al., 1998). Es wurde daher in einer weiteren Serie Lamotrigin in der Konzentration von  $20 \mu\text{M}$  verwandt, um die Wirkungen im therapeutisch eingesetzten Konzentrationsbereich beurteilen zu können. Abb. 47 zeigt typische Beispiele. Es ergab sich der Eindruck, dass  $20 \mu\text{M}$  Lamotrigin qualitative Wirkungen zeigte, die mit den oben beschriebenen Wirkungen von  $80 \mu\text{M}$  Lamotrigin vergleichbar waren. Dieser Eindruck bestätigte sich bei der Auswertung der Experimente: Der prozentuale Anteil der Depolarisation lag vor Lamotriginapplikation (Kontrollphase 1) bei  $41,94 \pm 27,46\%$  ( $n=16$ ). Nach Zugabe von Lamotrigin ( $20 \mu\text{M}$ ) wurde der prozentuale Anteil der Depolarisation auf  $14,13 \pm 13,27\%$  verringert ( $n=16$ ). Diese Abnahme erwies sich als statistisch signifikant ( $p<0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Während der Kontrollphase 2 betrug der prozentuale Anteil der Depolarisation  $21,94 \pm 19,76 \%$  ( $n=16$ ). Die Ausgangsaktivität wurde somit nicht wieder erreicht; die Aktivität in Kontrollphase 2 blieb signifikant vermindert ( $p<0,001$ ; t-Test für verbundene Stichproben). Das Blockdiagramm in Abb. 48 stellt die gemessenen Veränderungen dar (vgl. Tab. 22).



**Abb. 43:** Wirkung von Lamotrigin (80 μM) auf epileptische Aktivität in dem B3-Neuron während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** Aktivität vor Lamotrigingabe; **B:** Aktivität während Lamotrigingabe; **C:** Aktivität nach Lamotrigingabe. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **LTG (80 μM):** Testphase mit Lamotrigin (80 μM) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ).

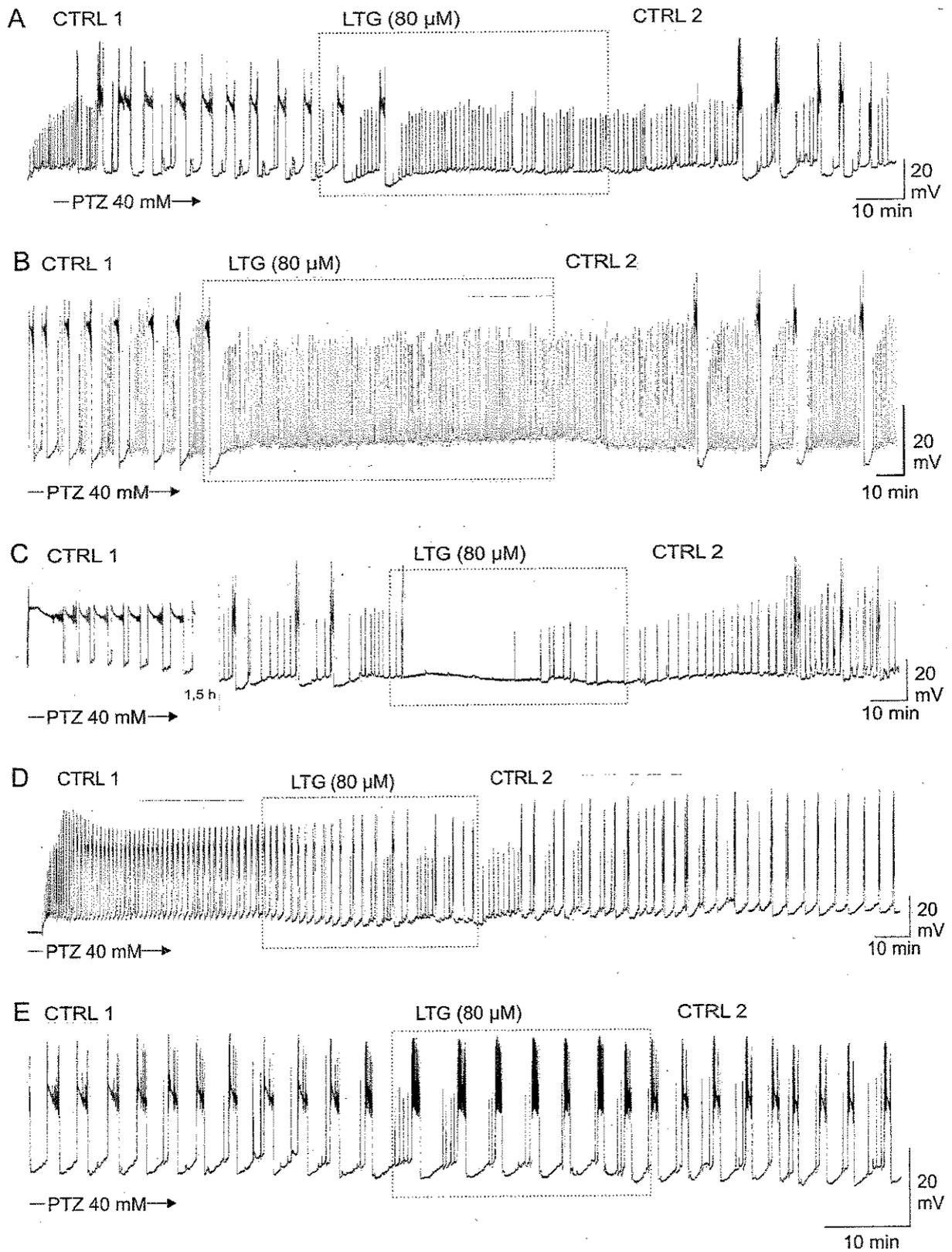
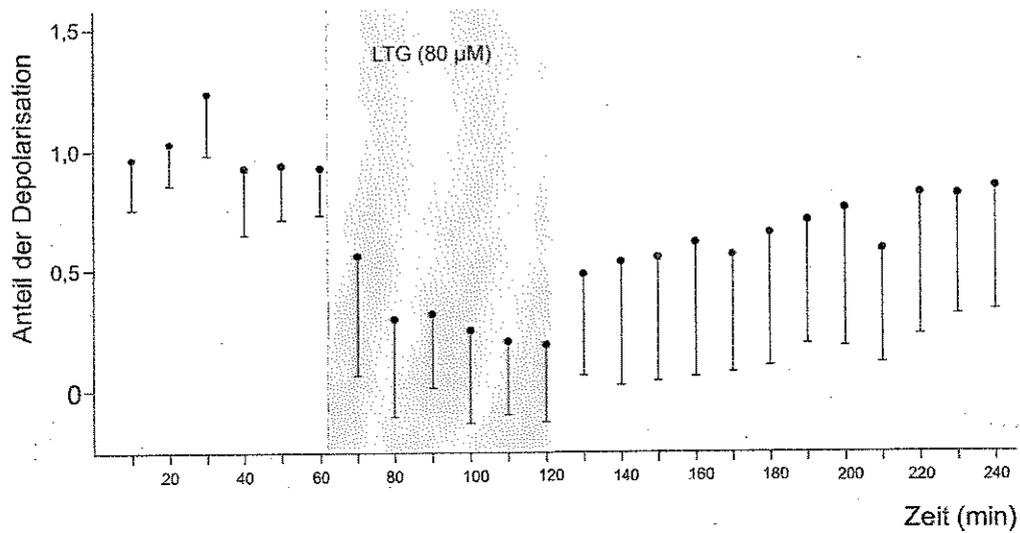
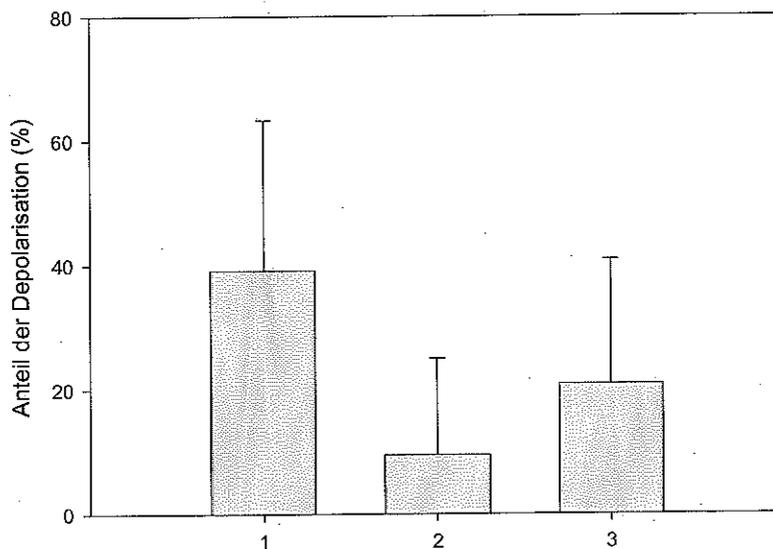


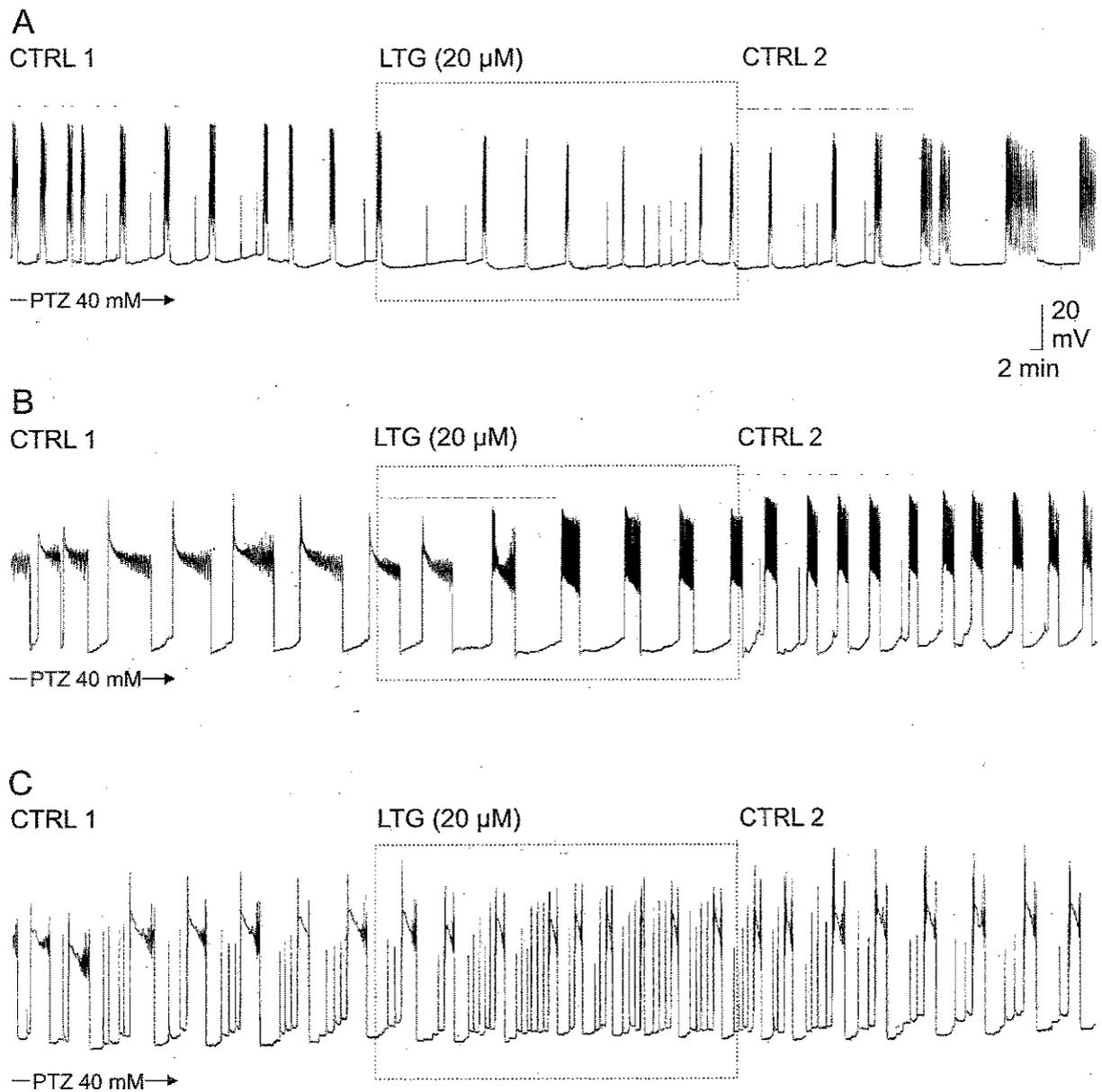
Abb. 44: Beispiele zur Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Geordnet nach Ausmaß der Blockierung der PDS. CTRL 1: Kontrolle 1 (PTZ 40 mM); LTG (80  $\mu\text{M}$ ): Testphase mit Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; CTRL 2: Kontrolle 2 (PTZ 40 mM); PTZ: Pentylentetrazol; LTG: Lamotrigin.



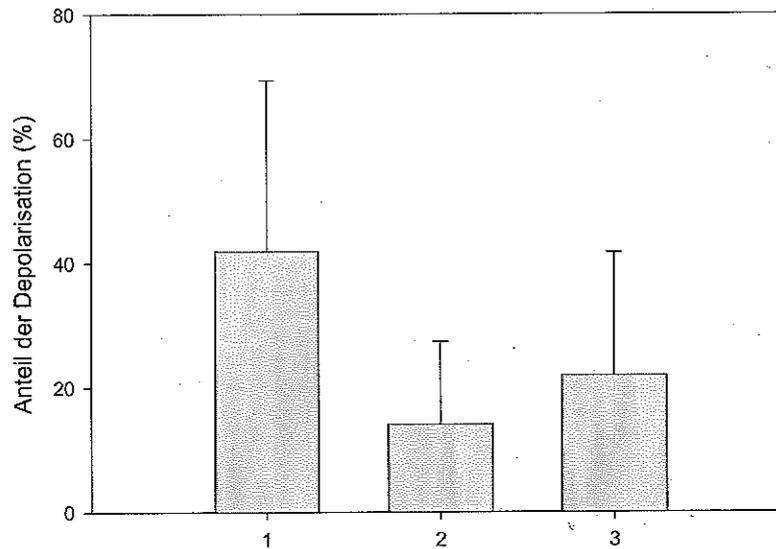
**Abb. 45:** Diagramm zum Zeitgang der Lamotriginwirkung auf epileptische Aktivität in dem B3-Neuron während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Aufgetragen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen des Anteiles der Depolarisation in 10-minütigen Abständen (n=15). Der Zeitraum der Lamotriginapplikation (80 µM) ist grau unterlegt. LTG: Lamotrigin.



**Abb. 46:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (80 µM) auf den prozentualen Anteil der Depolarisation der PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte ± Standardabweichung (n=29).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (40 mM Pentylentetrazol; PTZ); Block 2: Lamotrigin (80 µM) in 40 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (40 mM PTZ).

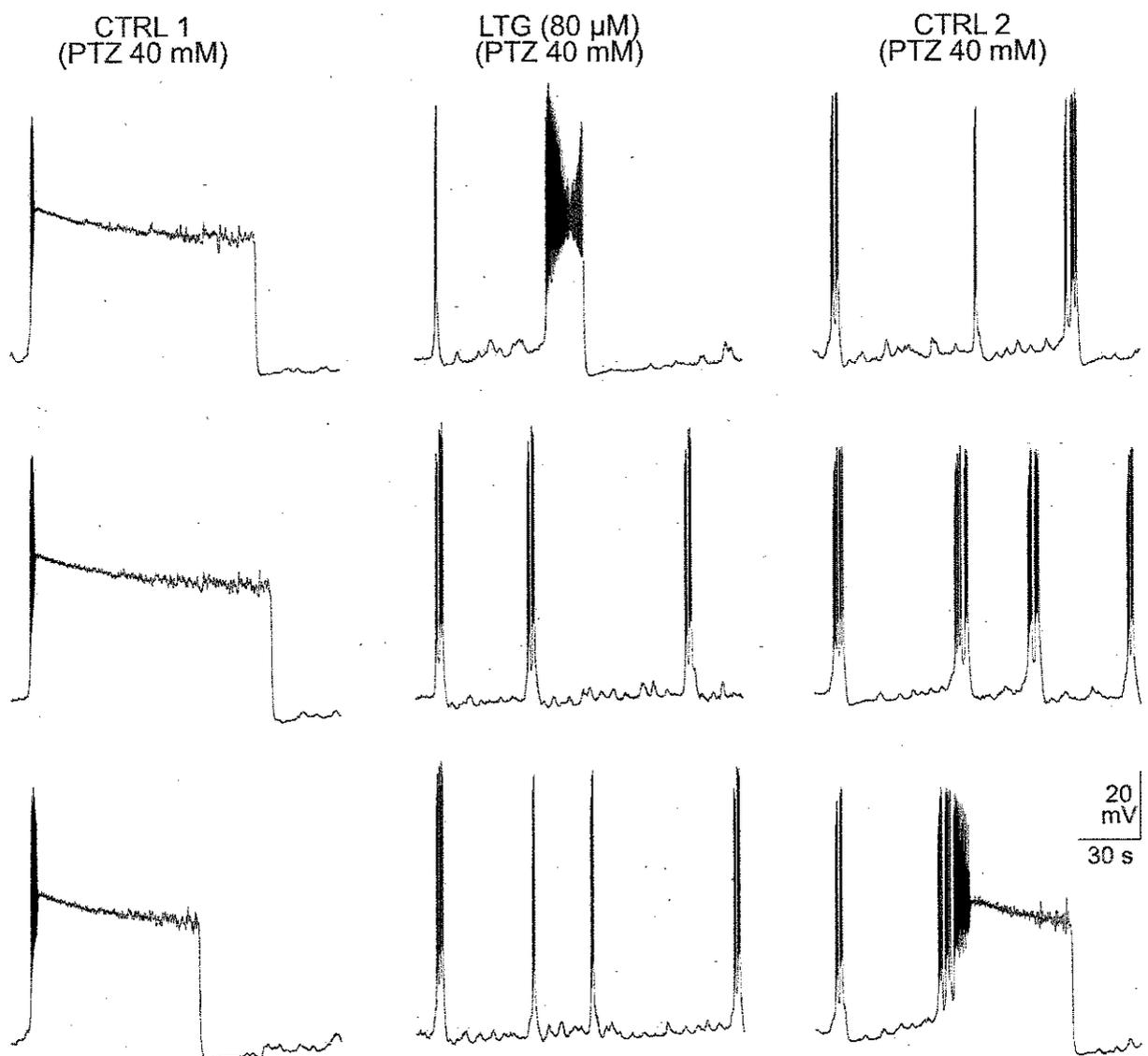


**Abb. 47:** Beispiele zur Wirkung von Lamotrigin (20 μM) auf PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Geordnet nach Ausmaß der Blockierung der PDS. **CTRL 1:** Kontrolle 1 (PTZ 40 mM); **LTG (20 μM):** Testphase mit Lamotrigin (20 μM) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (PTZ 40 mM); **PTZ:** Pentylentetrazol; **LTG:** Lamotrigin.

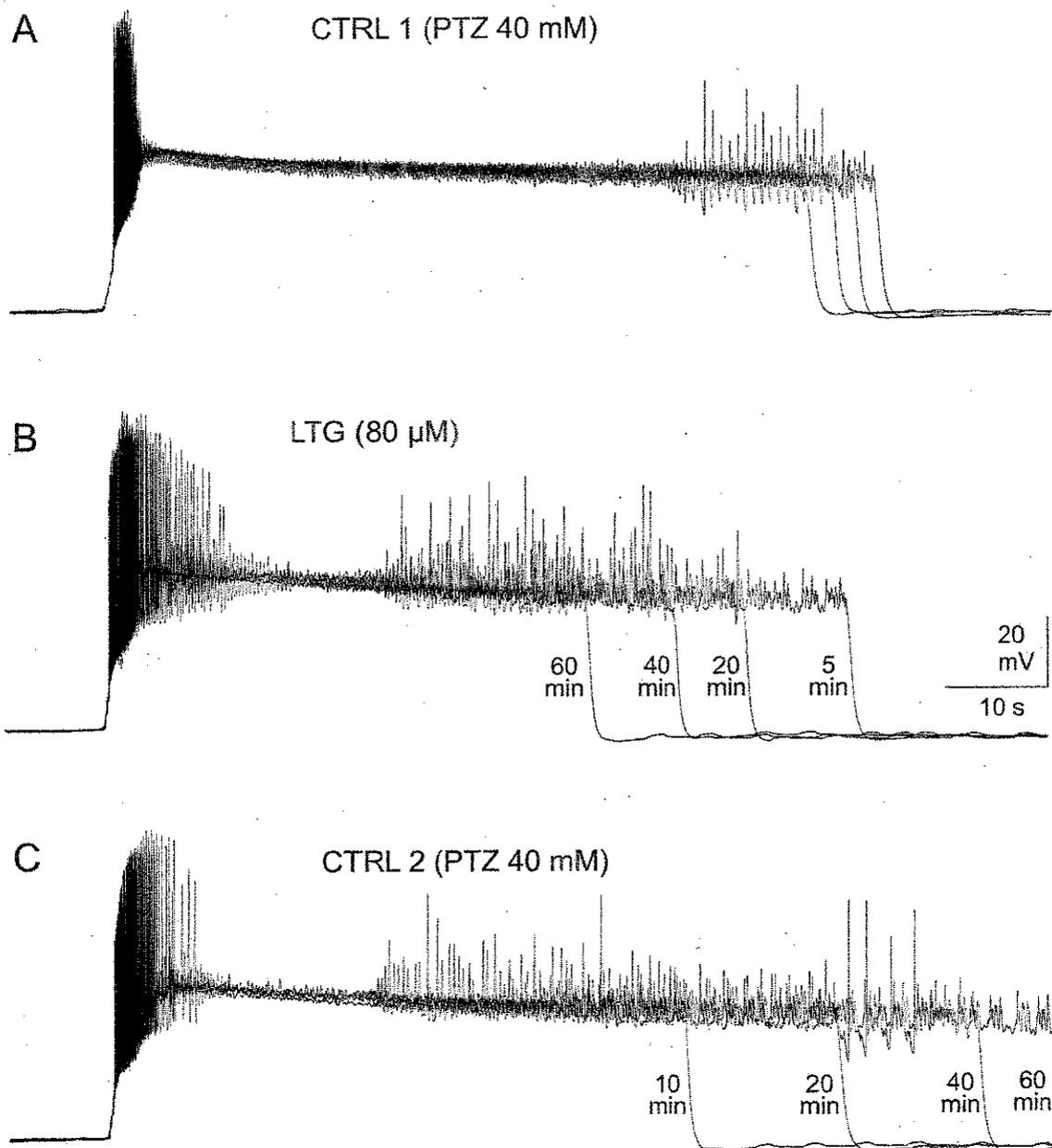


**Abb. 48:** Blockdiagramm zur Wirkung von Lamotrigin (20  $\mu\text{M}$ ) auf den prozentualen Anteil der Depolarisation der PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n=16$ ).  $p < 0,001$  (t-Test für verbundene Stichproben von Block 1 und 2). Block 1: Kontrolle 1 (40 mM Pentylentetrazol; PTZ); Block 2: Lamotrigin (20  $\mu\text{M}$ ) in 40 mM PTZ; Block 3: Kontrolle 2 (40 mM PTZ).

Hinsichtlich der zugrunde liegenden Mechanismen wurde untersucht, ob der Zeitgang der PDS Veränderungen erkennen ließ, die die Blockierung der PDS durch Lamotrigin erklären könnten. Die Abb. 49 und 50 geben hierfür Beispiele: Abb. 49 zeigt in der linken Spalte drei PDS, die 40, 30 und 10 min vor Lamotrigingabe auftraten. In der mittleren Spalte sind Kurvenausschnitte zu sehen, die die Aktivität des B3-Neurons 10, 20 und 60 min nach Beginn der Lamotrigingabe repräsentieren, und in der rechten Spalte 10, 20 und 50 min nach Ende der Lamotrigingabe. Neben einer Abflachung des Aufstriches der PDS und einer geringfügigen Abnahme der Depolarisationsamplitude fiel vor allem auf, dass die Repolarisation der PDS früher nach Beginn der PDS einsetzte, so dass die PDS-Dauer verkürzt war. Diese Verkürzung ist auch in Abb. 50 aus einem anderen Versuch dargestellt.



**Abb. 49:** Wirkung von Lamotrigin auf PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). Linke Spalte: drei PDS 40, 30 und 10 min vor Lamotrigingabe (von oben nach unten); mittlere Spalte: Aktivität des B3-Neurons 10, 20 und 60 min nach Beginn der Lamotrigingabe (von oben nach unten); rechte Spalte: Aktivität des B3-Neurons 10, 20 und 50 min nach Beendigung der Lamotrigingabe (von oben nach unten). **CTRL 1:** Kontrolle 1; **CTRL 2:** Kontrolle 2; **LTG:** Lamotrigin; **PTZ:** Pentylentetrazol.

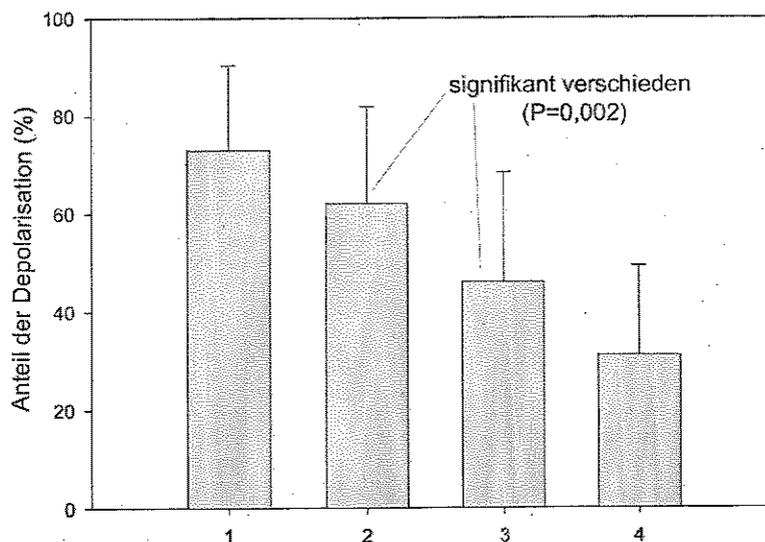


**Abb. 50:** Wirkung von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf PDS in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** PDS vor Lamotrigingabe (Kontrolle 1). **B:** PDS während Lamotrigingabe. **C:** PDS nach Lamotrigingabe (Kontrolle 2). **CTRL 1:** Kontrolle 1; **CTRL 2:** Kontrolle 2; **LTG:** Lamotrigin; **PTZ:** Pentylentetrazol.

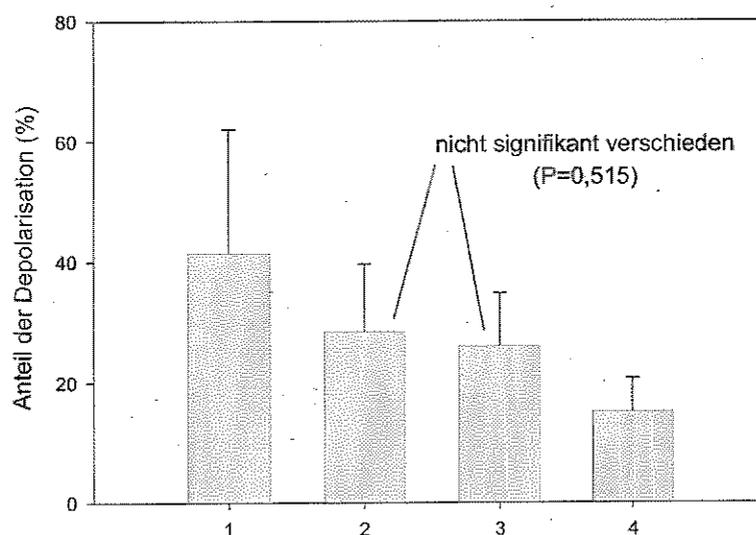
In den bisher dargestellten Experimenten konnte festgestellt werden, dass die Wirkungen von Lamotrigin auf PDS nur zum Teil reversibel waren. Daraus ergab sich die Überlegung, ob ein Teil der Lamotriginwirkung auf unbekannte physiologische Prozesse gerichtet ist, die das Auftreten epileptischer Aktivität erschweren. In einem solchen Fall müsste eine Lamotriginwirkung auch festgestellt werden können, wenn Lamotrigin unter nicht-epileptischen Bedingungen vor Induktion epileptischer Aktivität gegeben wird. Um einen Beitrag zur Beantwortung dieser Frage zu leisten, wurde folgendes Versuchsprotokoll gewählt: Zwischen zwei jeweils einstündigen PTZ-Applikationen wurde Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung über eine Stunde gegeben und der prozentuale Anteil der Depolarisation jeweils zu Beginn und am Ende der PTZ-Gaben ermittelt. Die Auswertung der Versuche ergab: Die Anfangsaktivität der 1. PTZ-Gabe betrug  $73,17 \pm 17,19\%$  (n=12). Im Verlauf der 1. Gabe nahm sie auf  $62,25 \pm 19,70\%$  ab (n=12). Die Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe lag bei  $46,17 \pm 22,24\%$  (n=12). Sie nahm im Verlauf der 2. PTZ-Gabe auf  $31,17 \pm 18,24\%$  ab (n=12). Das Blockdiagramm in Abb. 51 zeigt die gemessenen Veränderungen (vgl. Anhang, Tab. 23). Es wurden weiterhin Kontrollexperimente gemacht, in denen nur Meng-Lösung zwischen den beiden PTZ-Gaben gegeben wurde. Die Auswertung dieser Experimente zeigte, dass die Anfangsaktivität der 1. PTZ-Gabe bei  $36,87 \pm 12,10\%$  lag (n=12). Im Verlauf der 1. Gabe nahm sie auf  $26,53 \pm 9,22\%$  ab (n=12). Die Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe betrug  $28,32 \pm 11,30\%$  (n=12). Sie nahm im Verlauf der 2. PTZ-Gabe auf  $15,5 \pm 5,92\%$  ab (n=12). Mittelwerte und Standardabweichungen sind in Abb. 52 zu sehen (vgl. Anhang, Tab. 24).

Die dargestellten Experimente sind in Anlehnung an frühere Versuchsserien durchgeführt worden, in denen zwischen zwei PTZ-Gaben die Proteinkinase A mit Forskolin (50  $\mu$ M) aktiviert wurde. Dabei war von besonderem Interesse der Vergleich zwischen den epileptiformen Aktivitäten am Ende der 1. PTZ-Gabe und zu Beginn der 2. PTZ-Gabe. Wurde zwischen den beiden PTZ-Gaben die Proteinkinase A durch Forskolin aktiviert, war die epileptische Aktivität zu Beginn der 2. PTZ-Gabe signifikant höher als am Ende der 1. PTZ-Gabe (Üre und Altrup, 2006). Die in der vorliegenden Arbeit gemachten Ergebnisse zeigen, dass bei Gabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung zwischen beiden PTZ-Gaben die Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe signifikant vermindert war gegenüber der Endaktivität der 1. PTZ-Gabe ( $p=0,002$ ; vgl. Abb. 51). Wurde zwischen den beiden PTZ-Gaben nur Meng-Lösung gegeben, unterschieden sich die Aktivitäten am Ende der 1. PTZ-Gabe und am Anfang der 2. PTZ-Gabe nicht signifikant voneinander ( $p=0,515$ ; vgl. Abb. 52). Abb. 53, A zeigt typische Beispiele epileptischer Aktivität, wenn Lamotrigin (80  $\mu$ M in Meng-Lösung)

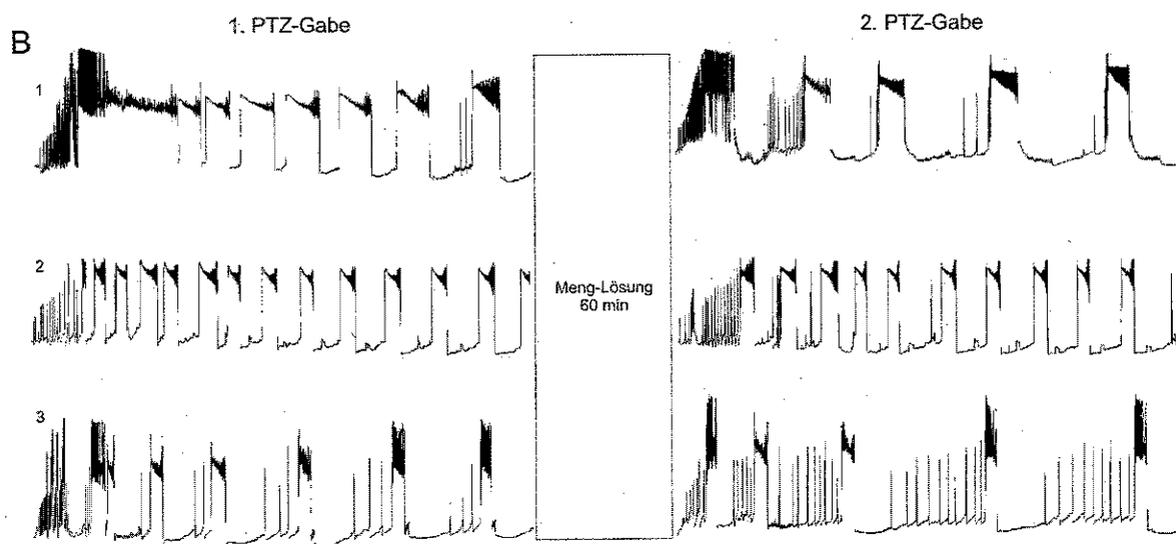
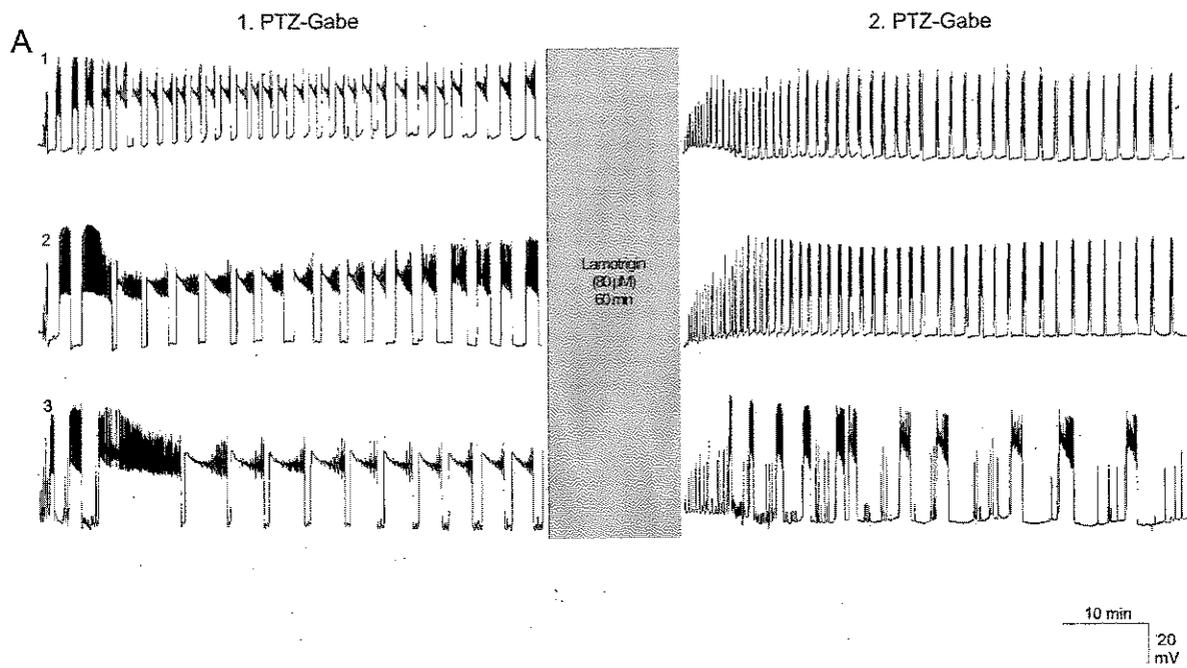
zwischen den beiden PTZ-Gaben appliziert wurde. Abb. 53, B zeigt typische Beispiele, wenn nur Meng-Lösung zwischen den beiden PTZ-Gaben gegeben wurde.



**Abb. 51:** Ausmaß der epileptischen Aktivität vor und nach Gabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=12). Zwischen zwei PTZ-Gaben (40 mM PTZ) wurde Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung gegeben. Es wurden jeweils die Anfangs- und die Endaktivitäten unter PTZ-Applikation bestimmt. Block 1: Anfangsaktivität der 1. PTZ-Gabe (40 mM PTZ-Lösung); Block 2: Endaktivität der 1. PTZ-Gabe; Block 3: Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe (40 mM PTZ-Lösung); Block 4: Endaktivität der 2. PTZ-Gabe.



**Abb. 52:** Ausmaß der epileptischen Aktivität vor und nach Applikation von Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n=12). Zwischen zwei PTZ-Gaben (40 mM PTZ) wurde Meng-Lösung gegeben. Es wurden jeweils die Anfangs- und die Endaktivitäten unter PTZ-Applikation bestimmt. Block 1: Anfangsaktivität der 1. PTZ-Gabe (40 mM PTZ-Lösung); Block 2: Endaktivität der 1. PTZ-Gabe; Block 3: Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe (40 mM PTZ-Lösung); Block 4: Endaktivität der 2. PTZ-Gabe.



**Abb. 53:** Ausmaß epileptischer Aktivität bei zweimaliger Gabe von Pentylentetrazol (PTZ; 40 mM) in dem B3-Neuron (Buccalganglien von *Helix pomatia*). **A:** Ausmaß epileptischer Aktivität bei Gabe von Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung zwischen den beiden PTZ-Gaben. **B:** Ausmaß epileptischer Aktivität bei Gabe von Meng-Lösung zwischen den beiden PTZ-Gaben. **PTZ:** Pentylentetrazol; **LTG:** Lamotrigin.

## 4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Wirkungen von Lamotrigin auf Membranpotential, Membranwiderstand, Aktionspotential, synaptische Übertragung, Schrittmacherpotentiale und paroxysmale Depolarisationen (PDS) in einem Modellnervensystem (Buccalganglien von *Helix pomatia*) untersucht. Das Modellnervensystem ermöglicht es, Wirkungen von Lamotrigin auf mehrere elektrophysiologisch messbare Parameter der Zellfunktion an denselben identifizierten Neuronen zu prüfen. Das Ziel der Arbeit war es, Prinzipien der Lamotriginwirkung zu erkennen. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass Lamotrigin mehrere Parameter der Zellfunktion an denselben Neuronen veränderte. Lamotrigin hyperpolarisierte die Neurone und senkte den Membranwiderstand. Es vergrößerte die synaptischen Potentiale und verringerte die Häufigkeit von Schrittmacherpotentialen. Epileptiforme Aktivität wurde verringert, indem die PDS verkleinert und bis zum vollständigen Block verkürzt wurden. Die epileptogene Substanz Pentylenetetrazol verändert mehrere Parameter der Zellfunktion (Altrup, 2004). Durch zusätzliche Gabe von Lamotrigin wurden solche Wirkungen zum Teil kompensiert.

Im Folgenden werden in einem ersten Abschnitt das in dieser Arbeit zugrunde liegende Modellnervensystem und die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf das Nervensystem des Menschen diskutiert. In einem zweiten Abschnitt werden die erhaltenen Ergebnisse mit denen aus der Literatur verglichen und mögliche Wirkmechanismen diskutiert.

## 4.1 Modellnervensystem

Das Invertebraten-Modellnervensystem wurde unter *in vitro* Bedingungen untersucht, weil auf diese Weise viele Versuchsbedingungen konstant gehalten werden können. Vergleichbare *in vitro* Untersuchungen des Zentralnervensystems eines Säugetieres einschließlich des Menschen erfordern die Herstellung eines 300 bis 500  $\mu\text{m}$  dicken Schnittpräparates. Vergleicht man das Modellnervensystem (Buccalganglien von *Helix pomatia*) mit Schnittpräparaten aus dem Zentralnervensystem eines Säugetieres, ergeben sich die folgenden Vorteile des Modellnervensystems: i) Der Neuronenverband bleibt strukturell und funktionell intakt; es gibt keine großflächigen Schnittoberflächen. ii) Die Versorgung der Neurone im Modellnervensystem erfolgt sowohl *in vivo* als auch *in vitro* nur durch Diffusion von außerhalb des Nervensystems. iii) Das Modellnervensystem weist identifizierte Riesenneurone auf, die bezüglich ihrer Lage und Funktion konstant sind und vor dem Experiment identifiziert werden können. iv) Die Riesenneurone sind so groß, dass man sie mit mehreren Mikroelektroden gleichzeitig anstechen kann. v) Der apparative Aufwand zur stabilen intrazellulären Ableitung auch mehrerer Neurone ist insgesamt relativ gering. Diese Vorteile der Buccalganglien sind in der Epilepsieforschung schon mehrfach genutzt worden (Speckmann und Caspers, 1973; Altrup et al., 1990b; Altrup, 2004). Auch für die Untersuchung von Wirkungsmechanismen verschiedener Pharmaka und für die Entwicklung neuer antiepileptischer Pharmaka sind die Ganglien bereits mehrfach genutzt worden (Altrup et al., 1991; Altrup et al., 1992a, b; Walden et al., 1993; Redecker et al., 2000a, b). Ein Nachteil des verwendeten Modellnervensystems besteht in der phylogenetischen Distanz zwischen Invertebratenganglien und dem Nervensystem des Menschen.

Trotz der phylogenetischen Distanz sind Invertebraten-Nervensysteme in der Literatur häufig als Modellsysteme für das Nervensystem des Menschen verwendet worden. Grundlegende Mechanismen neuronaler Aktivität wurden vielfach zuerst an Invertebraten-Nervensystemen erforscht. Die gefundenen Mechanismen wurden anschließend auch im Säugetier-Nervensystem (einschließlich des menschlichen Nervensystems) bestätigt. So erarbeiteten Hodgkin und Huxley (1952) die Ionentheorie der Erregung an Neuronen des Tintenfisches. Katz und Miledi (1971) erforschten die Prinzipien synaptischer Übertragung ebenfalls an Neuronen des Tintenfisches und Kandel (1976) verwendete das Nervensystem der Meeresschnecke *Aplysia californica*, um die Basismechanismen von Lernen und Gedächtnis zu beschreiben. Während in den meisten Fällen Mechanismen aus Invertebraten-

Nervensystemen anschließend auch in Vertebraten-Nervensystemen entdeckt wurden, gibt es aber auch Beispiele, dass Prozesse zuerst in Vertebraten-Nervensystemen erkannt und anschließend in Invertebraten-Nervensystemen bestätigt wurden. Ein Beispiel hierfür sind die Morphinrezeptoren, die zunächst in Vertebraten-Nervensystemen entdeckt und später auch in Invertebraten-Nervensystemen nachgewiesen wurden (Trembley et al., 1974). Desweiteren wurden grundlegende, neurophysiologische Techniken zunächst an Invertebraten-Nervensystemen erarbeitet. Ein Beispiel hierfür ist die patch-clamp-Technik (Neher und Lux, 1969).

Epileptiforme Aktivität in den Buccalganglien der Weinbergschnecke ist mit der epileptischen Aktivität des Menschen vergleichbar. So besteht die Aktivität der einzelnen Neurone unter epileptischen Bedingungen sowohl in den Ganglien als auch im ZNS des Menschen aus paroxysmalen Depolarisationen (PDS; Li und Van Buren, 1972; Rayport, 1972; Prince and Wong, 1981). PDS gehen sowohl in den Schneckenganglien als auch im ZNS des Menschen mit Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration und denselben Veränderungen des extrazellulären Ionenmilieus einher. So wie beim Menschen sind auch in den Schneckenganglien die PDS synchronisiert und es entstehen dieselben typischen Feldpotentiale (Niedermeyer und Lopes da Silva, 1993; Altrup et al., 2004). Desweiteren führen dieselben epileptogenen Substanzen wie zum Beispiel Pentylentetrazol und Etomidat sowohl beim Menschen als auch bei der Schnecke zu epileptiformer Aktivität (Altrup et al., 1991; Schulze-Bonhage et al., 1995). Schließlich kann epileptiforme Aktivität in den Buccalganglien durch die Antiepileptika blockiert werden, die auch beim Menschen verwendet werden (Altrup et al., 1992a; Redecker et al., 2000a, b; Altrup et al., 2004).

Zusammenfassend kann man annehmen, dass die Buccalganglien von *Helix pomatia* geeignete Modellstrukturen sind, um an ihnen Prinzipien zu erkennen, die der epileptischen Aktivität in allen Nervensystemen zugrunde liegen.

## 4.2 Wirkungen von Lamotrigin

In der vorliegenden Arbeit sind mehrere Wirkungen von Lamotrigin beschrieben worden, die im Folgenden diskutiert werden sollen. Da in der Literatur gezeigt werden konnte, dass epileptiforme Aktivität sich aus Schrittmacherpotentialen entwickelt (Altrup et al., 2004), sind die Wirkungen von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale und epileptische Depolarisationen (PDS) von besonderer Bedeutung.

### 4.2.1 Wirkungen auf Membranpotential und Membranwiderstand

Lamotrigin hyperpolarisierte das Membranpotential und erniedrigte den Membranwiderstand. Man muss annehmen, dass dies durch Öffnung von Kaliumleckkanälen durch Lamotrigin ausgelöst worden ist. Es stellt sich außerdem die Frage, ob die Öffnung von Kaliumleckkanälen durch Lamotrigin eine antiepileptische Wirkung ist. Regelungen von Zellfunktionen finden oft durch Modulation der Funktion von Kaliumkanälen statt. Dafür gibt es im menschlichen und tierischen Genom viele verschiedenen Kanalsubtypen. Eine Öffnung von Kaliumleckkanälen führt oft zu einer Hyperpolarisation, die als eine Erhöhung der Membranschwelle für epileptische Depolarisationen angesehen werden kann. Deshalb werden Öffnung und Schließung von Kaliumleckkanälen immer wieder mit antiepileptischen und epileptogenen Mechanismen in Verbindung gebracht. So gehört beispielsweise zum Wirkspektrum des Antiepileptikums Valproat auch eine Verstärkung verschiedener Typen von Kaliumströmen (Altrup et al., 1992a; Walden et al., 1993). Für eine Rolle von Kaliumkanälen bei epileptogenen Mechanismen spricht außerdem die Beobachtung, dass familiäre Epilepsien mit Störungen im Genom des Menschen verknüpft sind, die Kaliumkanäle betreffen (Stafstrom, 2006). Eine Blockierung transmembranöser Kaliumströme durch Pentylentetrazol fanden Hartung und Hermann (1987) in Neuronen von *Aplysia californica*. Madeja et al. (1991) haben gezeigt, dass Pentylentetrazol an der nativen Oozyte Kaliumkanäle blockiert und damit den Membranwiderstand erhöht. Untersuchungen mit Heptanol (Turner et al., 1997; 1999) und mit Etomidat (Altrup et al., 1989) haben die epileptogenen Wirkungen dieser Substanzen ebenfalls mit einer Blockierung von Kaliumleckkanälen und einer Widerstandserhöhung verknüpft. Hinsichtlich des Mechanismus der epileptogenen Wirkung einer Widerstandserhöhung der Zellmembran diskutieren Madeja

et al. (1991), dass alle weiteren Membranströme größere Membranpotentialänderungen zur Folge haben. Dies kann zur Amplitude der paroxysmalen Depolarisationen beitragen.

In der Literatur werden unterschiedliche Wirkungen von Lamotrigin auf das Membranpotential beschrieben. Calabresi et al. (1999) sowie Ootom und Nusier (2001) fanden bei intrazellulären Ableitungen aus Kortex-Schnittpräparaten der Ratte keine Veränderungen des Membranpotentials. Poolos et al. (2002) sowie Berger und Lüscher (2004) beschreiben nach Untersuchungen an hippocampalen beziehungsweise neokortikalen Neuronen der Ratte eine Depolarisation der Neurone bei Gabe von Lamotrigin (10-100  $\mu$ M). Die Autoren führen die Depolarisation auf eine Erhöhung von einwärts gerichteten hyperpolarisationsaktivierten Kationenströmen durch Lamotrigin zurück.

Bei den Untersuchungen der Wirkung von Lamotrigin auf den Membranwiderstand konnten in der Literatur vielfach keine Veränderungen festgestellt werden (Wang et al., 1996; Grunze et al., 1998a, b; Calabresi et al., 1999). In den genannten Arbeiten wurde Lamotrigin jedoch unter nicht-epileptischen Bedingungen appliziert. In der vorliegenden Arbeit waren die Veränderungen des Membranwiderstandes unter nicht-epileptischen Bedingungen ebenfalls sehr gering, so dass man eher von einem Trend sprechen kann. Erst unter epileptiformen Bedingungen, die mit einem Pentylentetrazol-induzierten Widerstandsanstieg einhergingen (Altrup et al., 2003), führte Lamotrigin zu einer deutlichen Abnahme des Membranwiderstandes. Es entsteht der Eindruck, dass Lamotrigin Wirkungen von Pentylentetrazol an Membranpotential und -widerstand kompensieren konnte, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass diese Wirkungen von Lamotrigin mit den Wirkungen von Pentylentetrazol verknüpft sind und in sofern keine allgemeingültigen antiepileptischen Wirkungen des Lamotrigin darstellen.

#### *4.2.2 Wirkungen von Lamotrigin auf das Aktionspotential*

In der vorliegenden Arbeit wurden die Wirkungen von Lamotrigin auf die Amplitude und die Dauer des Aktionspotentials untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Lamotrigin das Aktionspotential bei unterschwellig epileptischen Bedingungen verkürzte. Unter nicht-epileptischen Bedingungen konnte eine solche Verkürzung nicht nachgewiesen werden. Bei der Verkürzung des Aktionspotentials war vor allem der Abstrich betroffen. Da dieser Anteil

des Aktionspotentials hauptsächlich von Kaliumströmen getragen wird, weist dieses Ergebnis auf eine Verstärkung spannungsabhängiger Kaliumströme hin. Eine solche Verstärkung von Kaliumströmen durch Lamotrigin wurde auch von Grunze et al. (1998a, b) an einzelnen Neuronen des Hippocampus des Meerschweinchens beobachtet. Die Abnahme der Dauer des Aktionspotentials wurde in der vorliegenden Arbeit nur beobachtet, wenn 8 oder 16 mM Pentylentetrazol gleichzeitig gegeben wurde. Es ist von Pentylentetrazol bekannt, dass es eine Verbreiterung der Aktionspotentiale bewirkt (Speckmann und Caspers, 1973; Altrup et al., 2003). Dies deutet darauf hin, dass Lamotrigin einem durch Pentylentetrazol ausgelösten Mechanismus entgegenwirkt, so dass auch diese Wirkung von Lamotrigin kein allgemeingültiger antiepileptischer Mechanismus des Lamotrigin sein muss (vgl. 4.2.1).

In der Literatur zu den Wirkungen von Lamotrigin auf das Aktionspotential wurden ebenfalls die Veränderungen von Amplitude und Dauer des Aktionspotentials untersucht. Es konnten keine Veränderungen durch Lamotrigin festgestellt werden (Grunze et al., 1998a, b; Poolos et al., 2002; Berger und Lüscher, 2004). Die Untersuchungen wurden jedoch unter nicht-epileptischen Bedingungen durchgeführt und entsprechen daher den in der vorliegenden Arbeit gemachten Beobachtungen.

#### *4.2.3 Wirkungen von Lamotrigin auf synaptische Potentiale*

In der vorliegenden Arbeit konnte beobachtet werden, dass Lamotrigin die Amplitude sowohl inhibitorischer (IPSP) als auch exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (EPSP) vergrößerte. Diese Vergrößerung war unter nicht-epileptischen Bedingungen besonders deutlich. Bei unterschwellig epileptischen Bedingungen wurden die EPSP durch Lamotrigin noch signifikant vergrößert, während die Zunahme der IPSP statistisch nicht mehr signifikant war. Bei epileptischen Bedingungen waren Veränderungen der postsynaptischen Potentiale durch Lamotrigin nicht mehr nachweisbar.

In der Literatur sind die Beobachtungen zu den Wirkungen von Lamotrigin auf synaptische Potentiale nicht einheitlich. So beschreiben Lees und Leach (1993) eine Amplitudenverminderung spontaner IPSP durch Lamotrigin in Neuronen des Kortex der Ratte. Demgegenüber haben Cunningham und Jones (2000) in Neuronen des entorhinalen Kortex der Ratte eine Vergrößerung der Amplitude spontaner IPSP beobachtet. Ebenso wird die Wirkung von Lamotrigin auf EPSP unterschiedlich beschrieben. In den Neuronen des

Kortex der Ratte (Lees und Leach, 1993), in Neuronen des Mandelkerns der Ratte (Wang et al., 1996), in kortikostriatalen Neuronen der Ratte (Calabresi et al., 1999) und in hippocampalen Neuronen des Meerschweinchens (Langosch et al., 2000a, b) konnte eine Reduktion der EPSP-Amplitude durch Lamotrigin beobachtet werden. Cunningham und Jones (2000) hingegen konnten keine Veränderung der EPSP-Amplitude durch Lamotrigin in Neuronen des Kortex der Ratte nachweisen. Diese unterschiedlichen Beobachtungen können mit der Ableitung der synaptischen Potentiale aus verschiedenen Teilen des Nervensystems zusammenhängen.

Die Beeinflussung synaptischer Potentiale durch Antiepileptika wird oft als deren entscheidender antiepileptischer Mechanismus angesehen. Diese Annahme beruht auf der Vorstellung, dass epileptische Aktivität durch gesteigerte Exzitation und/oder verminderte Inhibition entsteht. In diesem Zusammenhang werden PDS oft auch als „giant EPSP“ bezeichnet. Es konnte jedoch bereits mehrfach gezeigt werden, dass epileptische Aktivität auch ohne Beteiligung synaptischer Prozesse entstehen kann (Speckmann und Caspers, 1973; Madeja et al., 1989; Altrup, 2004). Gegen eine Entstehung epileptischer Aktivität aufgrund erhöhter synaptischer Exzitation sprechen auch die in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Ergebnisse. So müsste Lamotrigin dieser Vorstellung nach durch seine fördernde Wirkung auf EPSP epileptogen wirken. Pentylentetrazol hingegen müsste durch die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Blockierung exzitatorischer Potentiale antiepileptisch wirken.

#### *4.2.4 Wirkungen von Lamotrigin auf Schrittmacherpotentiale*

Bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Schrittmacherpotentialen handelt es sich um Schwankungen des Membranpotentials, die ohne synaptische Zuflüsse von der jeweiligen Zelle selbst generiert werden (Alving, 1986; Chen et al., 1971). Sie werden auch als endogene Schrittmacherpotentiale bezeichnet. Ein Schrittmacherpotential besteht aus einer Schrittmacher-Depolarisation, an der ein transmembranöser Kalziumstrom beteiligt ist (Eckert und Lux, 1976; Johnston, 1976), und die ein oder mehrere Aktionspotentiale auslöst. Der Kalziumstrom führt zu einer Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern ( $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release, CICR). Schließlich wird ein kalziumabhängiger Kaliumstrom (BK- $\text{Ca}^{2+}$ ) aktiviert, der das Membranpotential hyperpolarisiert (Schrittmacher-Hyperpolarisation; Wilson, 1982). Durch die dargestellten Prozesse kommt es zu rhythmischen Serien von Aktionspotentialen, die auch als „AP-bursts“ bezeichnet werden. Grundsätzlich können AP-

bursts verschiedene Ursachen haben; sie können beispielsweise auch auf synaptischem Weg generiert werden. Die Entstehungsmechanismen von AP-bursts in den identifizierten Neuronen der Buccalganglien von *Helix pomatia* sind bekannt. So finden sich synaptisch ausgelöste bursts vor allem in dem B4-Neuron und bursts, die durch endogene Schrittmacherpotentiale ausgelöst werden, in dem B3-Neuron. Endogene Schrittmacherpotentiale wie in Neuron B3 finden sich auch in Vertebraten-Nervensystemen: so zum Beispiel im Rückenmark (Legendre et al., 1985), in Neuronen des Nucleus vestibularis (Lin und Carpenter, 1993) und der unteren Olive (Bal und McCormick, 1997), im Hippocampus (vgl. Wong und Schwartzkroin, 1982) und im Thalamus (Bal und McCormick, 1993). In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, dass Pentylentetrazol die Schrittmacher-Depolarisation verlängerte und die Amplitude vergrößerte. Dabei war die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale vermindert. Bei 40 mM Pentylentetrazol entstanden aus den Schrittmacherpotentialen paroxysmale Depolarisationen (vgl. Altrup et al., 2003).

Es konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass Lamotrigin in den Ablauf der endogenen Schrittmacherpotentiale eingriff. Die Dauer der Schrittmacher-Depolarisation war während Lamotrigingabe verkürzt und die Schrittmacher-Hyperpolarisation vergrößert und verlängert. Diese Wirkungen waren schon bei unterschwellig epileptischen Bedingungen zu beobachten und somit bereits unter diesen Bedingungen als antiepileptische Wirkung zu verstehen. Entsprechend den oben dargestellten Mechanismen der Schrittmacherpotentiale kann die Verkürzung der Schrittmacher-Depolarisation durch Lamotrigin sowie die Vergrößerung und Verlängerung der Schrittmacher-Hyperpolarisation grundsätzlich durch i) eine Verminderung des Kalziumeinstromes und/oder ii) eine Verminderung der kalziuminduzierten Kalziumfreisetzung und/oder iii) mit einer erleichterten Auslösung und Verstärkung des kalziumabhängigen Kaliumstromes erklärt werden. In der Literatur ist mehrfach dargestellt worden, dass Lamotrigin spannungsabhängige Kalziumkanäle blockiert (Stefani et al., 1996; Wang et al., 1996; 1998; Pisani et al., 2004). Dabei handelte es sich vor allem um „high-voltage-activated“ Kalziumkanäle. Eine Beeinflussung der „high-voltage-activated“ Kalziumkanäle als Wirkmechanismus zur Veränderung der Schrittmacherpotentiale durch Lamotrigin ist wenig wahrscheinlich, da endogene Schrittmacherpotentiale mit der Aktivierung von „low-voltage-activated“ Kalziumkanälen einhergehen. Außerdem kann die beobachtete Vergrößerung der Schrittmacher-Hyperpolarisation durch Lamotrigin nicht mit einer Blockade von „high-voltage-activated“ Kalziumkanälen erklärt werden.

In der Literatur ist ebenfalls mehrfach dargestellt worden, dass Lamotrigin außerdem spannungsabhängige Natriumkanäle aktivitätsabhängig blockiert (Cheung et al., 1992; Xie et al., 1995; Kuo und Lu, 1997; Zona und Avoli, 1997; Spadoni et al., 2002; Remy et al., 2003). Die Wirkung dieser Blockade wurde unter anderem gezeigt, indem natriumabhängige Aktionspotentiale in kortikostriatalen Neuronen der Ratte durch depolarisierende Strompulse induziert wurden (Calabresi et al., 1999). Dabei konnte beobachtet werden, dass Lamotrigin unter Kontrollbedingungen die Anzahl der hervorgerufenen Aktionspotentiale reduzierte, wobei der Effekt im letzten Teil des Strompulses am größten war und zu einer vollständigen Blockade der Aktionspotentiale führte. Diese Beobachtung wurde auf eine aktivitätsabhängige Beeinflussung spannungsabhängiger Natriumkanäle durch Lamotrigin zurückgeführt. In der Literatur ist jedoch auch beschrieben worden, dass viele Zellen erst dann Schrittmacherpotentiale generieren, wenn sie um einige mV depolarisiert werden. Es ist also auch vorstellbar, dass durch die induzierten Strompulse Schrittmacherpotentiale in den Neuronen ausgelöst wurden, die durch Lamotrigin verkürzt wurden.

#### *4.2.5 Wirkungen von Lamotrigin auf PDS*

Neuronale epileptische Entladungen treten in Form von „paroxysmal depolarization shifts“ (PDS) auf (Goldensohn und Purpura, 1963; Matsumoto und Aymone Marsan, 1964; Creutzfeldt et al., 1966). PDS bilden die Grundlage epileptischer Aktivität bei Mensch und Tier (Li und Van Buren, 1972; Rayport, 1972; Prince and Wong, 1981). In dem verwendeten Modellnervensystem entstehen PDS aus endogenen Schrittmacherpotentialen (Altrup, 2004). Dabei ist ein Kalziumeinstrom essentiell, an dem „high-voltage-activated“ Kalziumkanäle beteiligt sind (Speckmann, 1986; Pisani et al., 2004). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Lamotrigin die Dauer der PDS verkürzte (vgl. Pisani et al., 2004). Es liegt daher nahe, dass Lamotrigin den Kalziumeinstrom über eine Blockade von „high-voltage-activated“ Kalziumkanälen vermindert. Eine Blockade von „high-voltage-activated“ Kalziumkanälen durch Lamotrigin ist mehrfach in der Literatur beschrieben worden. Wang et al. (1998) untersuchten den depolarisationsevozierten Kalziumeinstrom in einzelnen Neuronen aus dem Mandelkern der Ratte. Sie beobachteten, dass Lamotrigin die intrazelluläre Kalziumkonzentration senkte, und nahmen an, dass Lamotrigin einen „high-voltage-activated“ Kalziumkanal blockierte. Pisani et al. (2004) stellten ebenfalls fest, dass bei epileptiformer Aktivität die intrazelluläre Kalziumkonzentration anstieg und Lamotrigin diesen Anstieg verminderte, indem es verschiedene „high-voltage-activated“ Kalziumkanäle

blockierte. Eine Blockade von Ionenkanälen kann auf verschiedenen Wegen erfolgen. Das Antiepileptikum kann sich direkt an den Kanal anlagern oder indirekt über intrazelluläre Signalkaskaden wirken. Bei einer Anlagerung an einen Kanal wäre zu erwarten, dass die Lamotriginwirkung mit dem Auswaschen des Pharmakons wieder verschwindet. Demgegenüber können Wirkungen in intrazellulären Signalkaskaden auch nach dem Auswaschen bestehen bleiben. Eine eingeschränkte Reversibilität der beobachteten Lamotriginwirkungen ist in der vorliegenden Arbeit mehrfach festgestellt worden. Zur Überprüfung einer indirekten Wirkung wurden daher Experimente durchgeführt, in denen geprüft wurde, ob Lamotrigin eine Wirkung auf epileptische Aktivität entfalten kann, wenn es zwischen zwei Gaben von Pentylenetetrazol appliziert wurde. Eine solche überdauernde Lamotriginwirkung konnte in den Ergebnissen demonstriert werden (vgl. Grunze et al., 1998a, b). Sie weist darauf hin, dass Lamotrigin epileptische Aktivität indirekt beeinflussen kann, indem es intrazelluläre Signalkaskaden moduliert, die ihrerseits antiepileptisch oder epileptogen wirksam sind. In der Literatur konnte gezeigt werden, dass eine Aktivierung der Proteinkinase A auch unter nicht-epileptischen Bedingungen auf nachfolgende epileptische Aktivität verstärkend wirkt (Üre und Altrup, 2006). Es ist daher denkbar, dass Lamotrigin einer Aktivierung der Proteinkinase A entgegenwirkt.

## 5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zum Verständnis der Wirkungsweise von Lamotrigin leisten. Dazu wurden die Wirkungen von Lamotrigin auf Neurone in einem Modellnervensystem untersucht, indem die Veränderungen von Membranpotential, Membranwiderstand, Aktionspotentialen, synaptischen Potentialen, Schrittmacherpotentialen und epileptiformer Aktivität durch Lamotrigin ausgewertet wurden.

Als Modellnervensystem wurden die Buccalganglien der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*) verwendet. Die Ganglien wurden aus dem Tier isoliert und in eine kontinuierlich durchspülte Experimentierkammer gegeben. Die identifizierten Neurone B1, B2 und B3 wurden mit intrazellulären Elektroden abgeleitet und unter verschiedenen Kontrollbedingungen untersucht: i) bei nicht-epileptischen Bedingungen, die durch physiologische Schnecken-„Ringer“-Lösung eingestellt wurden, ii) bei unterschwellig epileptischen Bedingungen, die durch Zugabe von 8 und 16 mM Pentylentetrazol (PTZ) zur Schnecken-„Ringer“-Lösung ausgelöst wurden und iii) unter epileptischen Bedingungen, die durch 40 mM PTZ-Lösung eingestellt wurden. Die Zugabe 40 mM PTZ-Lösung löst regelmäßig das Auftreten epilepsietypischer Membranpotentialänderungen, der sogenannten „paroxysmal depolarization shifts“ (PDS), aus. 8 und 16 mM PTZ-Konzentrationen sind für die Auslösung von PDS unterschwellig.

Das Membranpotential des B3-Neurons wurde durch Lamotrigin um 1 bis 3 mV hyperpolarisiert. Der Membranwiderstand nahm um ca. 0,3 MO bei nicht-epileptischen Bedingungen und um ca. 0,8 MO bei unterschwellig epileptischen Bedingungen ab. Das Aktionspotential wurde bei unterschwellig epileptischen Bedingungen durch Lamotrigin um ca. 1 ms verkürzt. Synaptische Potentiale, die durch elektrische Reizung eines Nerven ausgelöst wurden, waren während Lamotrigingabe vergrößert. Diese Wirkung wurde vor allem unter nicht-epileptischen Bedingungen deutlich. Schrittmacherpotentiale, aus denen sich PDS entwickeln können, wurden durch Lamotrigin in ihrer Häufigkeit reduziert und so verändert, dass die Depolarisation verkürzt und die Hyperpolarisation verstärkt wurden. PDS wurden durch Lamotrigin bis zum vollständigen Block verkürzt. Die überdauernde Blockade der PDS durch Lamotrigin konnte gezeigt werden. Aufgrund der überdauernden Wirkung wird angenommen, dass Lamotrigin durch Beeinflussung intrazellulärer Regulationsmechanismen die Entstehung epileptischer Aktivität erschwert.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Altrup, U., Höhn, C., Schulze, H., Speckmann, E.-J., Kuhlmann, D., Nolte, A. (1980):  
Effects of extracellularly applied proteolytic enzymes (pronase) on  
electrophysiological activities of identified neurons in the buccal ganglia of *Helix pomatia* L.  
Comp. Biochem. Physiol. 67A (1): 1-7
2. Altrup, U. (1987):  
Inputs and outputs of giant neurons B1 and B2 in the buccal ganglia of *Helix pomatia*:  
an electrophysiological and morphological study.  
Brain Res. 414: 271-284
3. Altrup, U., Lehmenkühler, A., Speckmann, E.-J. (1989):  
Differential epileptogenic effects of pentylentetrazol and etomidate on identified  
neurons in a model nervous system (*Helix pomatia*, buccal ganglia).  
Eur. J. Neurosci. S2: 56
4. Altrup, U., Lehmenkühler, A., Madeja, M., Speckmann, E.-J. (1990a):  
Morphology and function of the identified neuron B3 in the buccal ganglia of *Helix pomatia*.  
Comp. Biochem. Physiol. 97A (1): 65-74
5. Altrup, U., Madeja, M., Speckmann, E.-J. (1990b):  
Die Buccalganglien der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*) als Modellnervensystem  
in der experimentellen Epilepsieforschung.  
EEG-Labor 12: 12-25
6. Altrup, U., Lehmenkühler, A., Lücke, A., Madeja, M., Reith, H., Speckmann, E.-J.,  
Walden, J. (1991):  
The buccal ganglia of *Helix pomatia* in experimental epileptology.  
In: Kits, K. S., Boer, H. H., Joosse, J. (Hrsg.): Molluscan neurobiology.  
North-Holland, Amsterdam, Oxford, New York, S. 221-226

7. Altrup, U., Gerlach, G., Reith, H., Said, M. N., Speckmann, E.-J. (1992a):  
Effects of valproate in a model nervous system (buccal ganglia of *Helix pomatia*):  
I. Antiepileptic actions.  
*Epilepsia* 33: 743-752
8. Altrup, U., Reith, H., Speckmann, E.-J. (1992b):  
Effects of valproate in a model nervous system (buccal ganglia of *Helix pomatia*):  
II. Epileptic actions.  
*Epilepsia* 33: 753-759
9. Altrup, U., Speckmann, E.-J. (1994):  
Identified neuronal individuals in the buccal ganglia of *Helix pomatia*.  
*Neurosci. Behav. Physiol.* 24: 23-32
10. Altrup, U., Häder, M., Storz, U. (2003):  
Endogenous pacemaker potentials develop into paroxysmal depolarization shifts  
(PDSs) with application of an epileptogenic drug.  
*Brain Res.* 975: 73-84
11. Altrup, U. (2004):  
Epileptogenicity and Epileptic Activity: Mechanisms in an Invertebrate Model  
Nervous System.  
*Current Drug Targets* 5: 473-484
12. Alving, B. O. (1968):  
Spontaneous activity in isolated somata of *Aplysia* pacemaker neurons.  
*Journal of General Physiology* 51: 29-45
13. Bal, T., McCormick, D. A. (1993):  
Mechanisms of oscillatory activity in guinea-pig nucleus reticularis thalami in vitro:  
a mammalian pacemaker.  
*J. Physiol.* 468: 669-691

14. Bal, T., McCormick, D. A. (1997):  
Synchronized oscillations in the inferior olive are controlled by the hyperpolarized-activated cation current  $I(h)$ .  
*J. Neurophysiol.* 77 (6): 3145-3156
  
15. Berger, T., Lüscher, H. R. (2004):  
Associative somatodendritic interaction in layer V pyramidal neurons is not affected by the antiepileptic drug Lamotrigine.  
*Eur. J. Neurosci.* 20: 1688-1693
  
16. Calabresi, P., Mercuri, N. B., Stefani, A., Bernardi, G. (1990):  
Synaptic and intrinsic control of membrane excitability of neostriatal neurons. I. An in vivo analysis.  
*J. Neurophysiol.* 63: 651-662
  
17. Calabresi, P., Centonze, D., Marfia, G. A., Pisani, A., Bernardi, G. (1999):  
An in vitro electrophysiological study on the effects of phenytoin, lamotrigine and gabapentin on striatal neurons.  
*Bri. J. Pharmacol.* 126: 689-696
  
18. Caspers, H., Speckmann, E.-J. (1969):  
DC potential shifts in paroxysmal states.  
In: Jaspers, H. H., Ward, A. A., Pope, A. (Hrsg.): *Basic mechanisms of epilepsies.*  
Little, Brown & Co., Boston, S. 375-388
  
19. Chen, C. F., Von Baumgarten, R., Takeda, R. (1971):  
Pacemaker properties of completely isolated neurons in *Aplysia californica*.  
*Nat. New Biol.* 233: 27-29
  
20. Cheung, H., Kamp, D., Harris, E. (1992):  
An in vitro investigation of the action of lamotrigine on neuronal voltage-activated sodium channels.  
*Epilepsy Res.* 13: 107-112

21. Creutzfeldt, O. D., Watanabe, S., Lux, H. D. (1966):  
Relations between EEG-phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked response after thalamic and epicortical stimulation.  
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 20: 1-18
22. Cunningham, M. O., Jones, R. S. (2000):  
The anticonvulsant lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increases spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro.  
Neuropharmacology 39: 2139-2146
23. Delgado-Escueta, A. V., Wilson, W. A., Olsen, R. W., Porter, R. J. (1999):  
New waves of research in the epilepsies: crossing into the third millennium.  
In: Delgado-Escueta, A. V., Wilson, W. A., Olsen, R. W., Porter, R. J. (Hrsg.):  
Jasper's basic mechanisms of the epilepsies.  
Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, S. 3-47
24. Eckert, R., Lux, H. D. (1976):  
A voltage-sensitive persistent calcium conductance in neuronal somata of Helix.  
J. Physiol. 254: 129-151
25. Gleixner, C., Müller, M., Wirth, S.-B., Elsen, A., Genius, R., Sander, M., Menzer, C., Thömmes, A. (2004):  
Neurologie und Psychiatrie.  
Müller, M. (Hrsg.), Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach
26. Goldensohn, E. S., Purpura, D. P. (1963):  
Intracellular potentials of cortical neurons during focal epileptogenic discharges.  
Science 139: 840-842
27. Grensemann, H. (1968):  
Über die heilige Krankheit  
Deichgräber, K., Diller, H., Goerke, H. (Hrsg.)  
Walter de Gruyter, Berlin, S. 73

28. Grunze, H., Greene, R. W., Walden, J., Wegerer, J. (1998a):  
Modulation of Calcium and Potassium Currents by Lamotrigine.  
*Neuropsychobiology* 38: 131-138
29. Grunze, H., Greene, R. W., Meyer, T., Moller, H. J., Walden, J. (1998b):  
Lamotrigine may limit pathological excitation in the hippocampus by modulating a  
transient potassium outward current.  
*Brain Res.* 791: 330-334
30. Hafeman, D. R., Miller, S. L. (1967):  
Enzymatic softening of connective tissue sheaths to aid microelectrode penetration.  
*Comp. Biochem. Physiol.* 22: 303-307
31. Hartung, K., Hermann, A. (1987):  
Differential effects of pentylentetrazol on ion currents of *Aplysia* neurones.  
*Brain Res.* 419: 55-64
32. Hodgkin, A. L., Huxley, A. F. (1952):  
A quantitative description of membrane current and its application to conduction and  
excitation in nerve.  
*J. Physiol.* 117: 500-544
33. Jackson, J. H. (1886):  
Clinical remarks on the occasional occurrence of subjective sensations of smell in  
patients who are liable to epileptiform seizures or who have symptoms of mental  
derangement and in others.  
*Lancet* 2: 659-660
34. Jackson, J. H. (1931):  
Selected writings of John Hughlings Jackson.  
Hodder and Stoughton, London.

35. Johnston, D. (1976):  
Voltage clamp reveals basis for calcium regulations of bursting pacemaker potentials  
in *Aplysia* neurons.  
Brain Res. 7: 418-423
36. Johnston, D., Brown, T. H. (1981):  
Giant synaptic potential hypothesis for epileptiform activity.  
Science 211: 294-297
37. Kandel, E. R. (1976):  
The Cellular Basis of Behaviour.  
Freeman, New York
38. Katz, B., Miledi, R. (1971):  
The effect of prolonged depolarization on synaptic transfer in the stellate ganglion  
squid.  
J. Physiol. 216: 503-512
39. Kilius, R. (1960):  
Bau und Bildung der Schale.  
In: Weinbergschnecken, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin, S. 14-21
40. Kunze, H. (1917a):  
Zur Topographie und Histologie des Centralnervensystems von *Helix pomatia* L.  
Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Philosophischen  
Fakultät der Kgl. Universität zu Marburg.
41. Kunze, H. (1917b):  
Über das ständige Auftreten bestimmter Zellelemente im Centralnervensystem von  
*Helix pomatia* L.  
Zool. Anz. 49: 123-137

42. Kuo, C. C., Lu, L. (1997):  
Characterization of lamotrigine inhibition of Na<sup>+</sup> channels in rat hippocampal neurones.  
Br. J. Pharmacol. 121: 1231-1238
43. Langosch, J. M., Frick, A., Grunze, H., Walden, J., Zhou, X. Y. (2000a):  
Effects of lamotrigine on field potentials and long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices.  
Epilepsia 41: 1102-1106
44. Langosch, J. M., Zhou, X. Y., Grunze, H., Walden, J. (2000b):  
New insights into the mechanisms and sites of action of Lamotrigine.  
Neuropsychobiology 42 (suppl.): 26-27
45. Leach, M. J., Randall, A. D., Stefani, A., Hainsworth, A. H. (2002):  
Lamotrigine.  
In: Levy, R. H., Mattson, R. H., Meldrum, B. S., Perucca, E. (Hrsg.): Antiepileptic drugs.  
Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, S. 361-416
46. Lees, G., Leach, M. J. (1993):  
Studies on the mechanism of action of the novel anticonvulsant lamotrigine (Lamictal) using primary neurological cultures from rat cortex.  
Brain Res. 612: 190-199
47. Legendre, P., McKenzie, J. S., Dupouy, B., Vincent, J. D. (1985):  
Evidence for bursting pacemaker neurones in cultured spinal cord cells.  
Neuroscience 16 (4): 753-767
48. Li, C. L., Van Buren, J. M. (1972):  
Micro-electrode recordings in the brain of man with particular reference to epilepsy and dyskinesia.  
In: Somjen, G. G. (Hrsg.): Neurophysiology studied in man.  
Excerpta Medica, Amsterdam, S. 49-63

49. Lin, Y., Carpenter, D. O. (1993):  
Medial vestibular neurons are endogenous pacemakers whose discharge is modulated by neurotransmitters.  
Cell. Mol. Neurobiol. 13(6): 601-613
50. Madeja, M., Altrup, U., Speckmann, E.-J. (1989):  
Synchronization of epileptic discharges: temporal coupling of paroxysmal depolarizations in the buccal ganglia of *Helix pomatia*.  
Comp. Biochem. Physiol. 94: 585-590
51. Madeja, M., Musshoff, U., Kuhlmann, D., Speckmann, E.-J. (1991):  
Membrane currents elicited by the epileptic drug pentylenetetrazol in the native oocyte of *Xenopus laevis*.  
Brain Res. 553: 27-32
52. Matsumoto, H., Ajmone Marsan, C. (1964):  
Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy. Ictal manifestations.  
Exp. Neurol. 9: 305-326
53. Meisenheimer, J. (1912):  
Die Weinbergschnecke *Helix pomatia*.  
In: Ziegler, H. E., Woltereck, R. (Hrsg.): Monographien einheimischer Tiere.  
Verlag von Dr. Werner Klinkhardt, Leipzig, S. 1-139
54. Meng, K. (1960):  
Untersuchungen zur Steuerung der Herztätigkeit bei *Helix pomatia* L.  
Zool. Jahrb. 68: 539-566
55. Morris, R. G., Black, A. B., Harris, A. L. (1998):  
Lamotrigine and therapeutic drug monitoring: retrospective survey following the introduction of a routine service.  
Br. J. Pharmacol. 46: 547-551

56. Neher, E., Lux, H. D. (1969):  
Voltage clamp on *Helix pomatia* neuronal membrane; current measurement over a limited area of surface.  
*Pflügers Arch.* 311: 272-277
57. Niedermeyer, E., Lopes da Silva, F. H. (1993):  
Electroencephalography: basic principles, clinical applications and related fields.  
Williams and Wilkins (Hrsg.): Baltimore, Maryland, USA
58. Ootom, S. A., Nusier, M. K. (2001):  
Effect of lamotrigine on a novel model of epilepsy.  
*Cytobios.* 106: 75-83
59. Peters, M., Altrup, U. (1984):  
Motor organization in pharynx of *Helix pomatia*.  
*J. Neurophysiol.* 52: 389-409
60. Pisani, A., Bonsi, P., De Persis, C., Costa, C., Pisani, F., Bernardi, G., Calabresi, P. (2004):  
Intracellular Calcium Increase in Epileptiform Activity: Modulation by Levetiracetam and Lamotrigine.  
*Epilepsia* 45: 719-728
61. Poeck, K., Hacke, W. (2001):  
Epilepsien.  
In: Poeck, K., Hacke, W. (Hrsg.): *Neurologie*.  
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, S. 377-409
62. Poolos, N. P., Migliore, M., Johnston, D. (2002):  
Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites.  
*Nat. Neurosci.* 5: 767-774

63. Prince, D. A., Wong, R. K. S. (1981):  
Human epileptic neurons studied in vitro.  
Brain Res. 210: 323-333
64. Rayport, M. (1972):  
Single neuron studies in human epilepsy.  
In: Somjen, G. G. (Hrsg.): Neurophysiology studied in man.  
Excerpta Medica, Amsterdam, S. 100-109
65. Redecker, C., Altrup, U., Hoppe, D., Düsing, R., Speckmann, E.-J. (2000a):  
Effects of valproate derivatives I. Antiepileptic efficacy of amides, structural analogs  
and esters.  
Neuropharmacology 39: 254-266
66. Redecker, C., Altrup, U., Hoppe, D., Hense, T., Kreier, A., Rabe, A., Düsing, R.,  
Speckmann, E.-J. (2000b):  
Effects of valproate derivatives II. Antiepileptic efficacy in relation to chemical  
structures of valproate sugar esters.  
Neuropharmacology 39: 267-281
67. Remy, S., Urban, B. W., Elger, C. E., Beck, H. (2003):  
Anticonvulsant pharmacology of voltage-gated Na<sup>+</sup> channels in hippocampal neurons  
of control and chronically epileptic rats.  
Eur. J. Neurosci. 17: 2648-2658
68. Schulze-Bonhage, A., Wiemann, M., Altrup, U., Wittkowski, W., Speckmann, E.-J.  
(1995):  
Epileptic discharges induced by pentylenetetrazol: Ultrastructural alterations in  
identified neurons and glial cells (Helix pomatia).  
Epilepsy Res. 22: 23-34

69. Schulze, H., Speckmann, E.-J., Kuhlmann, D., Caspers, H. (1975):  
Topography and bioelectrical properties of identifiable neurons in the buccal ganglia of *Helix pomatia*.  
*Neurosci. Lett.* 1: 277-281
70. Schwartzkroin, P. A. (1982):  
Epilepsy: A result of abnormal pacemaker activity in central nervous system neurons?  
In: Carpenter, D. O. (Hrsg.): *Cellular pacemakers*, Vol. 2  
John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, S. 323-343
71. Spadoni, F., Hainsworth, A. H., Mercuri, N. B., Caputi, L., Martella, G., Lavaroni, F., Bernardi, G., Stefani, A. (2002):  
Lamotrigine derivatives and riluzole inhibit INa, P in cortical neurones.  
*Neuroreport.* 13: 1167-1170
72. Speckmann, E.-J., Caspers, H., Janzen, R.W. (1972):  
Relations between cortical DC shifts and membrane potential changes of cortical neurons associated with seizure activity.  
In: Petsche, H., Brazier, M. A. B. (Hrsg.): *Synchronization of EEG-activity in epilepsies*. Springer Verlag, Wien, New York, S. 93-111
73. Speckmann, E.-J., Caspers, H. (1973):  
Paroxysmal depolarization and changes in action potentials induced by pentylenetetrazol in isolated neurons of *Helix pomatia*.  
*Epilepsia* 14: 397-408
74. Speckmann, E.-J. (1986):  
Experimentelle Epilepsieforschung.  
Wissenschaftliche Buchgesellschaft, Darmstadt
75. Stafstrom, C. E. (2006):  
Epilepsy: a review of selected clinical syndromes and advances in basic science.  
*J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26(8): 983-1004

76. Stefani, A., Spadoni, F., Siniscalchi, A., Bernardi, G. (1996):  
Lamotrigine inhibits Ca<sup>2+</sup> currents in cortical neurons: functional implications.  
Eur. J. Pharmacol. 307:113-116
77. Steffens, H. (1980):  
The buccal ganglia of *Helix pomatia* L. (Gastropoda, Pulmonata).  
Zoomorphologie 95: 195-212
78. Tarner, I. H., Altrup, U., Speckmann, E.-J. (1997):  
Effects of heptanol on epileptic and non-epileptic activity of identified neurons in the  
buccal ganglia of *Helix pomatia*.  
Pflügers Arch.-Eur. J. Physiol. 433(6), Suppl.: R64
79. Tarner, I. H., Altrup, U., Speckmann, E.-J. (1999):  
Heptanol exerts epileptiform effects in identified neurons of the buccal ganglia of  
*Helix pomatia*.  
Neurosci. Lett. 264: 73-76
80. Tremblay, J. P., Schlapfer, W. T., Woodson, P. B., Barondes, S. H. (1974):  
Morphine and related compounds: evidence that they decrease available  
neurotransmitter in *Aplysia californica*.  
Brain Res. 81: 107-118
81. Üre, A., Altrup, U. (2006):  
Block of spontaneous termination of paroxysmal depolarizations by forskolin (buccal  
ganglia, *Helix pomatia*).  
Neurosci. Lett. 392: 10-15
82. Walden, J., Altrup, U., Reith, H., Speckmann, E.-J. (1993):  
Effects of valproate on early and late potassium currents of single neurons.  
Eur. Neuropsychopharmacol. 3: 137-141

83. Wang, S. J., Huang, C. C., Hsu, K. S., Tsai, J. J., Gean, P. W. (1996): Presynaptic Inhibition of Excitatory Neurotransmission by Lamotrigine in the Rat Amygdalar Neurons.  
Synapse 24: 248-255
84. Wang, S. J., Tsai, J. J., Gean, P. W. (1998):  
Lamotrigine inhibits depolarization-evoked Ca<sup>++</sup> influx in dissociated amygdala neurons.  
Synapse 29: 355-362
85. Wilson, W. A. (1982):  
Patterned bursting discharge of invertebrate neurons.  
In: Carpenter, D. O. (Hrsg.): Pacemaker potentials, Vol. 1  
John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, S. 219-235
86. Wong, R. K. S., Schwartzkroin, P. A. (1982):  
Pacemaker neurons in the mammalian brain: mechanisms and function.  
In: Carpenter, D. O. (Hrsg.): Pacemaker potentials, Vol. 1  
John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, S. 237-254
87. Xie, X., Lancaster, B., Peakman, T., Garthwaite, J. (1995):  
Interaction of the antiepileptic drug Lamotrigine with recombinant rat brain type IIA Na<sup>+</sup> channels and with native Na<sup>+</sup> channels in rat hippocampal neurones.  
Pflügers Arch. 430: 437-446
88. Zona, C., Avoli, M. (1997):  
Lamotrigine reduces voltage-gated sodium currents in rat central neurons in culture.  
Epilepsia 38: 522-525

## 7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die für die Erstellung dieser Arbeit unentbehrlich waren.

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Altrup für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit danken. Mit vielen wertvollen Ratschlägen und Tipps hat er mich in schwierigen Situationen immer wieder zum Weitermachen motiviert und die Arbeit wesentlich vorangebracht. Seine Diskussionsbereitschaft und Offenheit für neue Ideen haben eine Atmosphäre geschaffen, die die Forschung zu einer spannenden und angenehmen Tätigkeit gemacht haben. Herrn Prof. Dr. med. Speckmann gilt mein ganz besonderer Dank für die Weiterführung der Arbeit und die Erstellung des Erstgutachtens.

Bei Frau A. Klinge möchte ich mich für die geduldige Einführung in die Präparation, die praktische Hilfe bei Versuchen und die vielen kleinen Tipps am Rande bedanken. Vor allem aber haben die vielen unterhaltsamen Gespräche mit ihr, in denen sie mich zur rechten Zeit motiviert hat und die eine Form der Heiterkeit geschaffen haben, die das Arbeiten erst schön gemacht hat, einen großen Anteil zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Weiterhin sei den Mitarbeitern des Physiologischen Institutes für ihr freundliches Entgegenkommen, ihre Hilfsbereitschaft und die kompetente Beratung gedankt.

Großen Dank schulde ich Frau Dipl.-Psych. Sandra Miethe für die fachkundige Beratung in statistischen Fragen. Die vorliegende Arbeit hat durch ihre wertvollen Anregungen und Kritik Auffrischung und Ergänzung erfahren.

Ebenfalls meinen ehemaligen Mitbewohnern der „Schreckens-WG“ möchte ich herzlich danken, die mir gezeigt haben, dass es neben der neurologischen auch andere Betrachtungsweisen des Weltgeschehens gibt, und bei denen ich oft Ablenkung und Entspannung finden konnte.

Mein besonderes Dankeswort gilt meiner Freundin Hanna Kubitz, die mir mit Motivation, Kritik und Korrekturvorschlägen eine große Stütze war. Für die langen Stunden, in denen sie sich der Korrektur meiner Arbeit angenommen hat und für die noch viel längeren Stunden, in

denen sie sich geduldig meine Sorgen angehört und immer wieder aufmunternde Worte für mich gefunden hat, möchte ich ihr herzlich danken.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Familie und meinem lieben Freund Hamzah bedanken. Neben stilistischen und orthographischen Korrekturvorschlägen möchte ich ihnen vor allen Dingen für die Geduld danken, die sie meinen wechselhaften Stimmungen entgegengebracht haben, und die Unterstützung, die mir das notwendige Durchhaltevermögen gegeben haben. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht entstanden.

Viele Personen, die mir bei dieser Arbeit ebenfalls geholfen haben, sind ungenannt geblieben. Auch ihnen sei an dieser Stelle gedankt.

## 8. Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Helke Heskamp  
Adresse: Esperlohstr.29  
48429 Rheine  
Tel.: 05971/72002  
Geburtsdatum: 11.12.1980 in Emsdetten  
Eltern: Ingrid Heskamp-Gieselmann, geb.  
Gieselmann, und Ewald Heskamp  
Ehestand: ledig  
Konfession: evangelisch

### Schulbildung:

Grundschule: 1987 bis 1991, Grundschule Südeschule, Rheine  
Gymnasium: 1991 bis 2000, Kopernikusgymnasium, Rheine,  
Abschluss mit Abitur im Juni 2000

### Universitätsausbildung:

Vorklinisches Studium: 2000 – 2002, Westfälische Wilhelms-Universität  
Münster, Ärztliche Vorprüfung 2002,  
Klinisches Studium: 2002 – 2007, Westfälische Wilhelms-Universität  
Münster,  
Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 2003,  
Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 2005,  
Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 2007,  
Auslandsstudium: 2003 – 2004 Université Lille 2, Faculté de  
Médecine.  
Praktisches Jahr :  
1. Tertial 2006 : Neurologie,  
Universitätsklinikum Lille  
2. Tertial 2006/07: Abteilung für Innere Medizin,  
Herz-Jesu Krankenhaus, Hilstrup  
3. Tertial 2007: Chirurgie,  
Herz-Jesu Krankenhaus, Hilstrup  
Dissertation: 2002 – 2006, Dissertation mit dem Thema  
„Wirkungen von Lamotrigin auf neuronale  
Aktivität unter epileptischen und nicht-  
epileptischen Bedingungen in einem Modell-  
nervensystem (Buccalganglien von *Helix  
pomatia*)“ im Institut für Experimentelle  
Epilepsieforschung des Physiologischen Instituts  
der Westfälischen Wilhelms-Universität  
Münster, Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat.  
H.-C. Pape, unter Betreuung von Univ.-Prof.  
Dr. med. E.-J. Speckmann  
Stipendien: 2005, Moskopp-Spiegelberg-Stipendium  
2005, Stipendium der EFNS

Studentische Hilfstätigkeiten:

2002 - 2003, studentische Hilfskraft bei den Praktischen Übungen im Institut für Anatomie, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster

**Publikationen:**

Posterpräsentation:

Hesekamp, H., Horvath, L., Altrup, U. (2005): Lamotrigine strengthens natural defence of the single neuron against epileptiform activity in a model nervous system (buccal ganglia, *Helix pomatia*).

9th Congress of the European Federation of Neurological Societies, Athen, 17.09. – 21.09.05

Abstract-Publikation:

Hesekamp, H., Horvath, L., Altrup, U. (2005): Lamotrigine strengthens natural defence of the single neuron against epileptiform activity in a model nervous system (buccal ganglia, *Helix pomatia*).

European Journal of Neurology, Vol.12, Suppl.: 2

## 9. Anhang

Gliederung des Anhanges:

	Seite
Exemplarisches Versuchsprotokoll	I
Tabellarische Darstellung der Messwerte	II-XVIII

## Exemplarisches Versuchsprotokoll

Experiment Nr.: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

### I. Präparation:

Tier: Helix pomatia, Buccalganglien.

Präparationsbad: Rundbad mit kontinuierlicher Zufuhr frischer Meng-Lösung (NaCl 130 mM, KCl 4,5 mM, CaCl<sub>2</sub> 9 mM, Tris-Puffer 5 mM), pH \_\_\_\_\_, Temp. \_\_\_\_\_ °C, Flussrate \_\_\_\_\_ Trpf./min

Präparationsbeginn: \_\_\_\_\_ Uhr; Präparationsende: \_\_\_\_\_ Uhr; Dauer: \_\_\_\_\_ min

### II. Versuchsablauf:

Elektroden: Mikroelektroden aus Borosilikatglas mit Filament KCL (130 mM)/AgCl

Registrierelektroden: B1/B2/B3 Neuron links, an Verstärker 1, Spitzenwiderstand: \_\_\_\_\_ MΩ;  
B1/B2/B3 Neuron rechts, an Verstärker 2, Spitzenwiderstand: \_\_\_\_\_ MΩ.

Injektionselektrode: linkes/ rechtes B3 Neuron; Stromamplitude \_\_\_\_\_ nA, Pulsdauer 5 s,  
Frequenz 3/min.

Reizelektrode: vorderer Schlundkopfnerv; Stromamplitude \_\_\_\_\_ nA, Pulsdauer 5 s,  
Frequenz 3/min.

Referenzelektrode: Elektrode aus Borosilikatglas ohne Filament, gefüllt mit Agar-Agar-Gel.

Erdung: Silberdraht-Tauchelektrode

Anstich: Registrierelektrode, linkes B1/B2/B3 Neuron: \_\_\_\_\_ Uhr  
Registrierelektrode, rechtes B1/B2/B3 Neuron: \_\_\_\_\_ Uhr  
Injektionselektrode: \_\_\_\_\_ Uhr, mit \_\_\_\_\_ nA.

Stabilisierungsphase: Meng-Lösung: \_\_\_\_\_ Uhr bis \_\_\_\_\_ Uhr; Dauer: \_\_\_\_\_ min.

Kontrollphase 1 (CTRL 1): Kontrolllösung, pH \_\_\_\_\_, Temp. \_\_\_\_\_ °C, Flussrate \_\_\_\_\_ Trpf./min;  
Beginn: \_\_\_\_\_ Uhr; Dauer: \_\_\_\_\_ min.

Testphase (TEST): Kontrolllösung + Lamotrigin (20 µM/ 80 µM), pH \_\_\_\_\_,  
Temp. \_\_\_\_\_ °C, Flussrate \_\_\_\_\_ Trpf./min;  
Beginn: \_\_\_\_\_ Uhr; Dauer: \_\_\_\_\_ min.

Kontrollphase 2 (CTRL 2): Kontrolllösung, pH \_\_\_\_\_, Temp. \_\_\_\_\_ °C; Flussrate \_\_\_\_\_ Trpf./min;  
Beginn: \_\_\_\_\_ Uhr; Dauer \_\_\_\_\_ min.

Kontinuierliche Aufzeichnung mit Rikadenki 3-Kanal-Papierschreiber (Papiergeschwindigkeit 1 cm/min, Amplitude 1,25 cm/10 mV), intermittierende Aufzeichnung mit Nicolet Digitaloszilloskop und Diskettenspeicherung.

	Ruhemembranpotential (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	-52	-59	-57
V2	-64	-64	-64
V3	-50	-50	-56
V4	-53	-57	-55
V5	-45	-51	-47
V6	-50	-56	-56
V7	-50	-49	-49
V8	-55	-56	-56
V9	-54	-48	-44
V10	-55	-65	-63
V11	-56	-56	-55
V12	-58	-61	-61
V13	-57	-62	-57
V14	-40	-41	-39
V15	-60	-70	-69
V16	-58	-61	-58
V17	-60	-65	-68
V18	-67	-68	-71
V19	-70	-73	-68
V20	-52	-60	-66
V21	-54	-62	-62
V22	-59	-65	-62
V23	-74	-72	-72
V24	-61	-62	-62
V25	-65	-60	-60
V26	-65	-63	-60
<b>Summe</b>	-1484	-1556	-1537
<b>Mittelwert</b>	-57,1	-59,85	-59,12
<b>Standardabweichung</b>	± 7,6	± 7,6	± 8,1

**Tab. 1:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf das Membranpotential während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80 µM) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); **V1-V26:** Versuche 1-26.

	Membranpotential (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	-58	-54	-51
<b>V2</b>	-59	-63	-61
<b>V3</b>	-62	-68	-69
<b>V4</b>	-40	-42	-41
<b>V5</b>	-60	-61	-59
<b>V6</b>	-65	-68	-65
<b>V7</b>	-61	-63	-61
<b>V8</b>	-64	-66	-66
<b>V9</b>	-72	-73	-74
<b>V10</b>	-54	-51	-53
<b>V11</b>	-47	-57	-52
<b>V12</b>	-62	-68	-69
<b>V13</b>	-61	-62,5	-60
<b>Summe</b>	-765	-796,5	-781
<b>Mittelwert</b>	-58,85	-61,27	-60,1
<b>Standardabweichung</b>	± 8,1	± 8,42	± 9,02

**Tab. 2:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf das Membranpotential während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **V1-V13:** Versuche 1-13.

	Ruhemembranpotential (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	-55	-58	-64
<b>V2</b>	-53	-51	-53
<b>V3</b>	-67	-71	-67
<b>V4</b>	-55	-57	-56
<b>V5</b>	-55	-57	-60
<b>V6</b>	-69	-69	-70
<b>V7</b>	-50	-50	-53
<b>V8</b>	-60	-65	-65
<b>V9</b>	-57	-58	-70
<b>V10</b>	-55	-56	-58
<b>V11</b>	-62	-65	-65
<b>V12</b>	-67	-65	-63
<b>V13</b>	-66	-66	-66
<b>Summe</b>	-771	-788	-810
<b>Mittelwert</b>	-59,31	-60,62	-61,39
<b>Standardabweichung</b>	± 6,26	± 6,65	± 5,74

**Tab. 3:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf das Membranpotential während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ); **V1-V13:** Versuche 1-13.

	Membranwiderstand (M $\Omega$ m)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	7,2	6,15	6,4
V2	3,65	4	4
V3	4,9	5,95	5,9
V4	5,9	6,4	6,5
V5	7,35	7,5	7,5
V6	4,9	4,65	5
V7	4,2	4,2	4,3
V8	6,55	6,15	7,2
V9	4,35	3,9	3,9
V10	3,95	4,1	4,05
V11	9,75	8,15	9,3
V12	11,9	12,35	14
V13	7,65	7,4	8,15
V14	7,75	8,1	8,2
V15	6,3	6,8	7,25
V16	8,4	9	8,75
V17	6,4	6,95	7
V18	5,85	6,1	6,2
V19	14	13	15
V20	27,4	25,6	27
V21	4	4,1	4,4
V22	6,5	6,65	7,8
<b>Summe</b>	168,85	167,2	177,8
<b>Mittelwert</b>	7,68	7,6	8,08
<b>Standardabweichung</b>	$\pm 5,1$	$\pm 4,69$	$\pm 5,12$

**Tab. 4:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf den Membranwiderstand während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); **V1-V22:** Versuche 1-22.

	Membranwiderstand (M $\Omega$ )		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	6,7	6,5	7,55
<b>V2</b>	5,3	5	5,5
<b>V3</b>	8,15	7,45	8
<b>V4</b>	8,5	7,6	8,55
<b>V5</b>	5,25	5,2	5,35
<b>V6</b>	7,85	7	8,05
<b>V7</b>	12,05	11,95	12,9
<b>V8</b>	9,05	8,15	9,55
<b>V9</b>	6,8	6,3	7,8
<b>V10</b>	8,65	8,65	10,9
<b>Summe</b>	78,3	73,8	84,15
<b>Mittelwert</b>	7,83	7,38	8,42
<b>Standardabweichung</b>	$\pm 2$	$\pm 1,99$	$\pm 2,28$

**Tab. 5:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf den Membranwiderstand während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **V1-V10:** Versuche 1-10.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	91	81	90
<b>V2</b>	79	76	83
<b>V3</b>	71	65	70
<b>V4</b>	79,3	83,8	87
<b>V5</b>	82	73,7	95,7
<b>V6</b>	68,9	66,6	66,6
<b>V7</b>	74	74	74
<b>V8</b>	72	75	72
<b>V9</b>	93	93	90
<b>Summe</b>	710,2	688,1	728,3
<b>Mittelwert</b>	78,9	76,5	80,9
<b>Standardabweichung</b>	$\pm 8,6$	$\pm 8,6$	$\pm 10,5$

**Tab. 6:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); **V1-V9:** Versuche 1-9.

	<b>Dauer (ms)</b>		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	9,5	8,5	8
<b>V2</b>	11,5	9,5	9,5
<b>V3</b>	16,2	15,6	15,9
<b>V4</b>	12,5	13,2	12,5
<b>V5</b>	5	7,1	7,1
<b>V6</b>	6,4	8,6	8
<b>Summe</b>	61,1	62,5	61
<b>Mittelwert</b>	10,2	10,4	10,2
<b>Standardabweichung</b>	± 4,1	± 3,3	± 3,4

**Tab. 7:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Dauer des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); **V1-V6:** Versuche 1-6.

	<b>Amplitude (mV)</b>		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	70	75	78
<b>V2</b>	87	87	86
<b>V3</b>	64,7	62,6	65
<b>V4</b>	70	75,9	78,7
<b>V5</b>	52	64	65
<b>V6</b>	73	66,8	69,1
<b>V7</b>	64	64	59
<b>V8</b>	71,2	75,7	66,7
<b>V9</b>	50	53,4	55,7
<b>V10</b>	56,7	61	60,6
<b>V11</b>	61,3	61	60,3
<b>V12</b>	39	42,6	43,7
<b>V13</b>	37,5	41	42,8
<b>V14</b>	39	36,3	32,4
<b>V15</b>	72	64,8	58,5
<b>V16</b>	72,15	64	63,3
<b>V17</b>	72,15	67,4	61,8
<b>V18</b>	47	44,4	44,4
<b>Summe</b>	1098,7	1106,9	1091
<b>Mittelwert</b>	61	61,5	60,6
<b>Standardabweichung</b>	± 14,2	± 13,5	± 13,6

**Tab. 8:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) auf die Amplitude des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu\text{M}$ ) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **V1-V18:** Versuche 1-18.

	Dauer (ms)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	14,7	11	12,3
V2	11,6	11,1	10,5
V3	11,9	11,6	10,2
V4	11,5	9,6	9,6
V5	20	11	9,2
V6	9,6	9,2	9,2
V7	19,2	18,3	21
V8	7,7	7	7
V9	8,9	9,2	9,95
V10	9,5	9,5	9,95
V11	21,4	22,2	22,6
V12	7,9	7,6	5,9
V13	10,1	11,7	12,7
V14	5,8	5,8	6,1
V15	11,1	10,8	9,2
V16	16,3	15,7	10,9
V17	6,8	5,9	6,7
V18	13,5	11,2	11,9
<b>Summe</b>	217,5	198,4	194,9
<b>Mittelwert</b>	12,1	11,02	10,8
<b>Standardabweichung</b>	± 4,6	± 4,2	± 4,5

**Tab. 9:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf die Dauer des Aktionspotentials während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1** : Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test**: Lamotrigin (80 µM) in 16 mM PTZ; **CTRL 2**: Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **V1-V18**: Versuche 1-18.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	5,7	0	3,8
V2	6	0,8	3,4
V3	7,1	1,2	8,2
V4	3,3	0	*
V5	8,1	2,7	5,3
V6	5,8	0	1,5
V7	3,76	1,5	1,8
<b>Summe</b>	39,76	6,2	24
<b>Mittelwert</b>	5,86	0,57	4
<b>Standardabweichung</b>	± 1,7	± 1,4	± 2,08

**Tab. 10:** Wirkungen von 16 mM Pentylentetrazollösung (PTZ) auf die Amplitude der IPSP (B1-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1**: Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test**: 16 mM PTZ; **CTRL 2**: Kontrolle 2 (Meng-Lösung); \*: kein Messwert zu Kontrolle 2 vorhanden, da der Versuch vorzeitig beendet wurde; **V1-V7**: Versuche 1-7.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	7,6	7,4	*
<b>V2</b>	5,6	7,3	*
<b>V3</b>	4,86	6,3	5,12
<b>V4</b>	5	5,4	1,03
<b>V5</b>	5,38	7,1	7,9
<b>V6</b>	3,7	4,8	4,1
<b>V7</b>	3,13	3,7	3,2
<b>V8</b>	3,99	4,5	3
<b>V9</b>	1,18	3	0
<b>Summe</b>	40,44	49,5	24,35
<b>Mittelwert</b>	4,49	5,5	3,48
<b>Standardabweichung</b>	± 1,8	± 1,62	± 2,62

**Tab. 11:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B1-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); \*: kein Messwert zu Kontrolle 2 vorhanden, da der Versuch vorzeitig beendet wurde; **V1-V9:** Versuche 1-9.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	0,3	0,4	0,6
<b>V2</b>	0,8	0	0
<b>V3</b>	0	1,7	1,3
<b>V4</b>	2,7	3,6	0,8
<b>V5</b>	0	1,5	0,7
<b>V6</b>	1,5	2	0
<b>V7</b>	1,2	7,4	5
<b>V8</b>	5,2	4	5
<b>Summe</b>	11,7	20,6	13,4
<b>Mittelwert</b>	1,46	2,58	1,68
<b>Standardabweichung</b>	±1,76	± 2,39	± 2,1

**Tab. 12:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude der IPSP während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B1-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); **V1-V8:** Versuche 1-8.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	2,5	2,3	*
<b>V2</b>	6,6	3	*
<b>V3</b>	6,2	1,9	5,2
<b>V4</b>	6,8	4,7	6,4
<b>V5</b>	5	3,8	4,2
<b>V6</b>	3,8	0	6,1
<b>V7</b>	5,8	5,8	6
<b>V8</b>	2,5	1	2,9
<b>V9</b>	4,1	1,4	3,4
<b>V10</b>	3,7	2,1	4,3
<b>V11</b>	4,8	1,7	3,2
<b>Summe</b>	51,8	27,7	41,7
<b>Mittelwert</b>	4,71	2,52	4,63
<b>Standardabweichung</b>	± 1,53	± 1,69	± 1,34

**Tab. 13:** Wirkung von 16 mM Pentylentetrazol (PTZ) auf die Amplitude der EPSP (B2-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); \*: keine Messwerte zu Kontrolle 2 vorhanden, da der Versuch vorzeitig beendet wurde; **V1-V11:** Versuche 1-11.

	Amplitude (mV)	
	CTRL	Test
<b>V1</b>	3	0,4
<b>V2</b>	3,4	0,4
<b>V3</b>	3,4	2,7
<b>V4</b>	4,6	0,7
<b>V5</b>	1,5	0,2
<b>Summe</b>	15,9	4,4
<b>Mittelwert</b>	3,18	0,88
<b>Standardabweichung</b>	± 1,11	± 1,03

**Tab. 14:** Wirkung von 40 mM Pentylentetrazol (PTZ) auf die Amplitude der EPSP (B2-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL :** Kontrolle (Meng-Lösung); **Test:** 40 mM PTZ; Kontrolle 2 entfiel, da der Versuch mit einer weiteren Testphase fortgeführt wurde; **V1-V5:** Versuche 1-5.

	Amplitude (mV)	
	CTRL	Test
V1	2,5	6,4
V2	6,6	8,1
V3	1,4	2,86
V4	2,54	2,96
V5	6,6	7,3
V6	5,8	5,5
V7	3,4	3,7
V8	4,6	5,5
V9	3,4	5,5
V10	3	5,1
V11	1,5	5,6
<b>Summe</b>	41,34	58,52
<b>Mittelwert</b>	3,76	5,32
<b>Standardabweichung</b>	± 1,89	± 1,56

**Tab. 15:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf die Amplitude der EPSP während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL:** Kontrolle (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80 µM) in Meng-Lösung; Kontrolle 2 entfiel, da der Versuch mit einer weiteren Testphase fortgeführt wurde; **V1-V11:** Versuche 1-11.

	Amplitude (mV)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	2,3	3,8	2,8
V2	3	4,3	3,3
V3	1,9	3,4	1,4
V4	4,7	8	4,9
V5	3,8	6,57	4
V6	0	7	1,7
V7	0	2	*
V8	5,8	4,8	6,3
V9	1	2,5	1,1
V10	1,4	2,8	1,8
V11	2,1	3,5	2,4
V12	1,7	2	1,5
<b>Summe</b>	27,7	50,67	31,2
<b>Mittelwert</b>	2,31	4,22	2,84
<b>Standardabweichung</b>	± 1,77	± 2	± 1,65

**Tab. 16:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf die Amplitude der EPSP während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80 µM) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ); \*: kein Messwert zu Kontrolle 2 vorhanden, da der Versuch vorzeitig beendet wurde; **V1-V12:** Versuche 1-12.

	Amplitude (mV)	
	CTRL 1	Test
<b>V1</b>	0,4	0,6
<b>V2</b>	0,4	0,2
<b>V3</b>	2,7	2,6
<b>V4</b>	0,7	1,5
<b>V5</b>	0,2	0,8
<b>Summe</b>	4,4	5,7
<b>Mittelwert</b>	0,88	1,14
<b>Standardabweichung</b>	± 1,03	± 0,94

**Tab. 17:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Amplitude der EPSP während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL:** Kontrolle (40 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 40 mM PTZ; Kontrolle 2 entfiel, da der Versuch mit einer weiteren Testphase fortgeführt wurde; **V1-V5:** Versuche 1-5.

	Häufigkeit (x/10Min)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	99	11	48
<b>V2</b>	57	38	65
<b>V3</b>	78	5	30
<b>V4</b>	23	9	39
<b>V5</b>	130	6	8
<b>V6</b>	11	8	20
<b>V7</b>	22	10	32
<b>V8</b>	57	25	36
<b>V9</b>	150	32	77
<b>V10</b>	75	58	81
<b>V11</b>	39	24	49
<b>Summe</b>	741	226	485
<b>Mittelwert</b>	67,36	20,55	44,1
<b>Standardabweichung</b>	± 44,89	± 16,78	± 22,89

**Tab. 18:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Häufigkeit spontaner Schrittmacherpotentiale während kontinuierlicher Superfusion mit Meng-Lösung (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (Meng-Lösung); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in Meng-Lösung; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (Meng-Lösung); **V1-V11:** Versuche 1-11.

	Häufigkeit (x/10Min)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	11	10	11
<b>V2</b>	18	12	15
<b>V3</b>	13	11	15
<b>V4</b>	9	6	8
<b>V5</b>	11	9	11
<b>V6</b>	12	8	8
<b>V7</b>	10	13	11
<b>V8</b>	23	6	22
<b>V9</b>	35	37	34
<b>V10</b>	35	28	42
<b>V11</b>	36	38	40
<b>V12</b>	16	13	17
<b>V13</b>	28	11	23
<b>V14</b>	27	11	16
<b>Summe</b>	284	213	273
<b>Mittelwert</b>	20,29	15,21	19,5
<b>Standardabweichung</b>	± 10,16	± 10,81	± 11,42

**Tab. 19:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale in 10 Minuten während kontinuierlicher Superfusion mit 16 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (16 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 16 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (16 mM PTZ) ; **V1-V14:** Versuche 1-14.

	Häufigkeit (x/10 Min)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	13	12	12
V2	26	18	17
V3	25	18	19
V4	21	13	21
V5	20	13	21
V6	19	10	11
V7	12	10	6
V8	6	2	3
V9	8	7	11
V10	9	8	10
V11	9	8	9
V12	28	17	26
V13	15	11	15
V14	14	11	16
V15	12	8	9
V16	21	16	16
V17	10	5	4
V18	37	24	28
V19	14	8	8
V20	12	8	9
<b>Summe</b>	331	227	271
<b>Mittelwert</b>	16,55	11,35	13,55
<b>Standardabweichung</b>	± 7,94	± 5,2	± 6,92

**Tab. 20:** Wirkungen von Lamotrigin (80  $\mu$ M) auf die Häufigkeit der Schrittmacherpotentiale in 10 Minuten während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80  $\mu$ M) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ) ; **V1-V20:** Versuche 1-20.

	Anteil der Depolarisation (%)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
V1	80	15	22
V2	77	0	66
V3	77	0	66
V4	53	0	0
V5	23	0	9
V6	26	0	16
V7	41	21	32
V8	43	0	0
V9	24	7	8
V10	27	8	9
V11	17	10	22
V12	7	1	8
V13	9	2	10
V14	31	3	0
V15	75	0	0
V16	25	0	5
V17	40	25	28
V18	80	74	50
V19	48	32	48
V20	22	16	15
V21	25	10	13
V22	39	0	10
V23	20	0	3
V24	36	5	10
V25	28	8	12
V26	54	26	38
V27	7	0	20
V28	17	0	28
V29	86	14	59
<b>Summe</b>	1137	277	607
<b>Mittelwert</b>	39,21	9,55	20,93
<b>Standardabweichung</b>	± 24,07	± 15,46	± 19,92

**Tab. 21:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf epileptiforme Aktivität während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Epileptiforme Aktivität wurde als prozentualer Anteil der Depolarisation an dem PDS-Zyklus bestimmt (siehe Kapitel 2.7). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (80 µM) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ); **V1-V29:** Versuche 1-29.

	Anteil der Depolarisation (%)		
	CTRL 1	Test	CTRL 2
<b>V1</b>	45	32	40
<b>V2</b>	70	0	54
<b>V3</b>	93	20	25
<b>V4</b>	92	27	27
<b>V5</b>	20	12	11
<b>V6</b>	27	10	9
<b>V7</b>	28	13	14
<b>V8</b>	28	8	9
<b>V9</b>	68	32	28
<b>V10</b>	59	25	21
<b>V11</b>	13	4	64
<b>V12</b>	20	0	0
<b>V13</b>	54	39	43
<b>V14</b>	11	0	0
<b>V15</b>	28	0	0
<b>V16</b>	15	4	6
<b>Summe</b>	671	226	351
<b>Mittelwert</b>	41,94	14,13	21,94
<b>Standardabweichung</b>	± 27,46	± 13,27	± 19,76

**Tab. 22:** Wirkungen von Lamotrigin (20  $\mu$ M) auf epileptiforme Aktivität während kontinuierlicher Superfusion mit 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Epileptiforme Aktivität wurde als prozentualer Anteil der Depolarisation an dem PDS-Zyklus bestimmt (siehe Kapitel 2.7). **CTRL 1:** Kontrolle 1 (40 mM PTZ); **Test:** Lamotrigin (20  $\mu$ M) in 40 mM PTZ; **CTRL 2:** Kontrolle 2 (40 mM PTZ); **V1-V16:** Versuche 1-16.

	<b>Anteil der Depolarisation (%)</b>			
	<b>Phase I</b>	<b>Phase II</b>	<b>Phase III</b>	<b>Phase IV</b>
<b>V1</b>	85	70	45	36
<b>V2</b>	86	56	56	18
<b>V3</b>	66	42	24	20
<b>V4</b>	75	53	28	20
<b>V5</b>	56	52	27	16
<b>V6</b>	83	86	87	44
<b>V7</b>	94	70	26	19
<b>V8</b>	38	30	28	25
<b>V9</b>	87	86	66	81
<b>V10</b>	75	76	72	30
<b>V11</b>	50	39	29	24
<b>V12</b>	83	87	66	41
<b>Summe</b>	878	747	554	374
<b>Mittelwert</b>	73,17	62,25	46,17	31,17
<b>Standardabweichung</b>	± 17,19	± 19,7	± 22,24	± 18,24

**Tab. 23:** Wirkungen von Lamotrigin (80 µM) auf epileptiforme Aktivität, wenn es vor Auslösung epileptischer Aktivität appliziert wurde (B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Pentylentetrazol (40 mM) wurde zweimal appliziert. Zwischen 1. und 2. Gabe wurde für 60 Minuten Lamotrigin (80 µM) in Meng-Lösung gegeben. Die epileptiforme Aktivität während der 2. Gabe wurde mit der epileptischen Aktivität während der 1. Gabe verglichen, indem jeweils über eine 15-minütige Messphase der prozentuale Anteil der Depolarisation an dem PDS-Zyklus bestimmt wurde. **Phase I:** Anfangsaktivität der 1. Pentylentetrazol-Gabe (40 mM PTZ); **Phase II:** Endaktivität der 1. PTZ-Gabe; **Phase III:** Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe (40 mM PTZ); **Phase IV:** Endaktivität der 2. PTZ-Gabe. Die PTZ-Gaben dauerten jeweils 60 Minuten. **V1-V12:** Versuche 1-12.

	<b>Anteil der Depolarisation (%)</b>			
	Phase I	Phase II	Phase III	Phase IV
<b>V1</b>	38,6	31,5	27,7	15
<b>V2</b>	62,7	41,5	15,6	5,9
<b>V3</b>	44,8	33,6	28,2	12,1
<b>V4</b>	27,5	27,2	24,3	15,8
<b>V5</b>	50,8	33,8	45	22,7
<b>V6</b>	29,1	22,9	36,4	21,4
<b>V7</b>	42,1	37,3	32,3	21,8
<b>V8</b>	25,2	20,6	25,2	19,5
<b>V9</b>	33,6	16,5	21	10,6
<b>V10</b>	20,7	15,5	14,8	12
<b>V11</b>	94,7	48,7	24,1	16,2
<b>V12</b>	27,8	12,6	18,4	7,5
<b>Summe</b>	497,6	341,7	313	180,5
<b>Mittelwert</b>	41,45	28,48	26,1	15,04
<b>Standardabweichung</b>	± 20,64	± 11,2	± 8,74	± 5,6

**Tab. 24:** Kontrollexperimente zur Überprüfung der epileptiformen Aktivität bei wiederholter Gabe von 40 mM Pentylentetrazol (PTZ; B3-Neuron, Buccalganglien von *Helix pomatia*). Zwischen der 1. und 2. Gabe wurde für 60 Minuten Meng-Lösung appliziert. Die epileptiforme Aktivität während der 2. Gabe wurde mit der epileptischen Aktivität während der 1. Gabe verglichen, indem jeweils über eine 15-minütige Messphase der prozentuale Anteil der Depolarisation an dem PDS-Zyklus bestimmt wurde. **Phase I:** Anfangsaktivität der 1. Pentylentetrazol-Gabe (40 mM PTZ); **Phase II:** Endaktivität der 1. PTZ-Gabe; **Phase III:** Anfangsaktivität der 2. PTZ-Gabe (40 mM PTZ); **Phase IV:** Endaktivität der 2. PTZ-Gabe. Die PTZ-Gaben dauerten jeweils 60 Minuten; die Aktivitäten wurden über einen Zeitraum von ca. 15 Minuten erfasst. **V1-V12:** Versuche 1-12.



## Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

### Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn

Prof. Dr. med. Erwin-Josef Speckmann

Institut für Physiologie

-Institut für Experimentelle Epilepsie-  
forschung-

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Dienstgebäude:

Domplatz 1-3

Telefon: (0251) 411-0

Durchwahl: 2110

Telefax: 2115

Raum: 431

Auskunft erteilt:

Frau Möllers

E-Mail:

irmgard.moellers@bezreg-muenster.nrw.de

Aktenzeichen:

50.0835.1.0 (G 79/2002)

19. Dez. 2002

### **Tierschutz;**

### **Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren**

Ihr Antrag vom 10.10.2002, hier eingegangen am 06.11.2002

### **Genehmigungsbescheid:**

Sehr geehrter Herr Professor Speckmann,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) in der zur Zeit geltenden Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

**„Experimentelle Epilepsieforschung“. (10 Teilprojekte gem. Antrag)**

Leiter des Versuchsvorhabens und seine Stellvertreter sind:

Herr

Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann

Institut für Physiologie

-Institut für Experimentelle

Epilepsieforschung-

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Frau

Prof. Dr. rer. nat. Heidrun Straub

Institut für Physiologie

des Universitätsklinikums Münster

Robert-Koch-Str. 27 a

48149 Münster

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de

zentrale Telefaxnummer: (0251) 411-2525

Konten der Landeskasse Münster:

Deutsche Bundesbank - Filiale Münster - BLZ: 400 000 00 Konto: 40001 520

Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61820

ÖPNV ab Hbf: Linien 14 • 20 bis Haltestelle Domplatz, Linien 2 • 10 • 11 • 12 bis

1/3



Herr  
Prof. Dr. med. Ulrich Altrup  
Institut für Experimentelle  
Epilepsieforschung  
des Universitätsklinikums Münster  
Robert-Koch-Str. 27 a  
48149 Münster

Herr  
Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Mußhoff  
Institut für Physiologie  
des Universitätsklinikums Münster  
Robert-Koch-Str. 27 a  
48149 Münster

Diese Genehmigung gilt bis zum 31. 12. 2005.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

**100 Mäuse,  
500 Ratten,  
30 Frösche,  
500 Landschnecken.**

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder seine Stellvertreter wechseln, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

**Rechtsbehelfsbelehrung:**

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

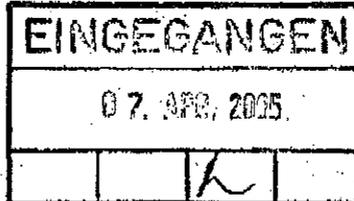
Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

**Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekennnisses.**

Mit freundlichen Grüßen  
Im Auftrag



Dr. Piontkowski



DER  
OBERBÜRGERMEISTER

STADT  MÜNSTER

Postanschrift: Stadt Münster • 48127 Münster

Universitätsklinikum Münster  
Institut für Physiologie und  
Institut für Experimentelle Epilepsieforschung  
Robert-Koch-Straße 27 a

48149 Münster

Veterinär- und Lebensmittel-  
Überwachungsamt

MS-Roxel, Schelmenstiege 1

Auskunft erteilt:  
Frau Feldkamp  
Zimmer: 105  
Telefon: 02534/971 - 304  
Telefax: 02534/971 - 398  
E-Mail:  
feldkamp@stadt-muenster.de  
Sprechzeiten:  
nach Vereinbarung

Datum und Zeichen Ihres Schreibens:  
01.03.2005

Mein Zeichen:  
39.32.5.4

Münster,  
01.04.2005

## Tierschutz

### 1. Änderung

**Tierversuch: G 79/2002**

**Versuchsleiter:**

Prof. Dr. Erwin-Josef Speckmann

**Stellvertreter:**

Prof. Dr. Hans-Christian Pape

Prof. Dr. Ulrich Altrup

Prof. Dr. Ulrich Mußhoff

Sehr geehrter Herr Prof. Dr. Speckmann,

gemäß § 11 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der zur Zeit gültigen Fassung erteile ich Ihnen die Erlaubnis zur Haltung und Zucht von

100 Mäusen  
500 Ratten  
30 Fröschen (*Xenopus laevis*) und  
500 Landschnecken

für das Versuchsvorhaben.

Diese Erlaubnis ergeht unter folgenden Nebenbestimmungen:

1. Die Tiere werden im Institut für Physiologie, Robert-Koch-Straße 27 a, und im Institut für Experimentelle Epilepsieforschung, Hüfferstraße 68, gehalten und gezüchtet.
2. Treten bei der Zucht und/oder Haltung von gentechnisch veränderten Tieren Anomalien auf, die besondere Haltungsbedingungen (Unterbringung, Ernährung, Pflege) erforderlich machen, ist dieses dem Veterinäramt der Stadt Münster umgehend mitzutellen.
3. Es ist dafür zu sorgen, dass den Tieren - ihrer Art entsprechend - ausreichende Beschäftigungsmöglichkeiten geboten werden.

#### Konten der Stadtkasse

Sparkasse Münster	Kto.-Nr. 752	(BLZ 400 601 60)	Commerzbank Münster	Kto.-Nr. 393 216 0/00	(BLZ 400 400 28)
Landeszentralbank Münster	Kto.-Nr. 40 001 700	(BLZ 400 000 00)	Deutsche Bank Münster	Kto.-Nr. 0470 000	(BLZ 400 700 00)
Postbank Dortmund	Kto.-Nr. 21 1 36-481	(BLZ 440 100 48)	Draxler Bank Münster	Kto.-Nr. 808 485 800	(BLZ 400 800 40)
Bank für Gemeinwirtschaft	Kto.-Nr. 1 010 305 100	(BLZ 400 101 11)	Volkbank Münster eG	Kto.-Nr. 4 200 800	(BLZ 401 800 50)
Bankhaus Lampe Münster	Kto.-Nr. 306 002	(BLZ 480 201 61)	Westdeutsche Landesbank Münster	Kto.-Nr. 61 228	(BLZ 400 500 00)

#### Zentrale Verbindungen

+ Hauptvermittlung (0251) 492-0  
Telefax (0251) 492-7700  
Telefax (0251) 492-7700  
E-Mail feldkamp@stadt-muenster.de  
Stadtverwaltung@stadt-muenster.de

- 2 -

4. Es ist ein Tierbestandsbuch zu führen. Sie haben über die Herkunft und den Verbleib der Tiere Aufzeichnungen zu machen und diese drei Jahre lang aufzubewahren. Außerdem sind die Wirbeltiere zu kennzeichnen.
5. Die Verantwortung für die Zucht, Haltung, Unterbringung und Pflege der Tiere liegt bei Ihnen. Bei einem Wechsel der verantwortlichen Person erlischt diese Erlaubnis.
6. Für die Pflege und Betreuung ist Herr Lemcken benannt.
7. Die medizinische Versorgung der Tiere hat durch Herrn Dr. M. Lücke, Leiter der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung des Universitätsklinikums Münster (ZTE), zu erfolgen. Über die Zucht und Haltung ist er ebenfalls zu informieren.
8. Änderungen und Erweiterungen im Personalbereich, bei der Tierart und der Tierzahl sowie der Unterbringung sind umgehend dem Veterinäramt der Stadt Münster mitzutellen.
9. Für den Fall von erheblichen oder wiederholten Verstößen gegen die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes behalte ich mir den Widerruf dieser Erlaubnis vor.
10. Die nachträgliche Aufnahme, Änderung und Ergänzung von Nebenbestimmungen behalte ich mir vor.
11. Diese Genehmigung gilt für die Versuchsdauer, längstens jedoch bis zum 31.12.2005.

**Hinweis:**

Bei Arbeiten mit genmanipulierten Tieren müssen die Vorschriften nach dem Gentechnikrecht eingehalten werden.

**Rechtsbehelfsbelehrung**

Gegen diese Erlaubnis können Sie innerhalb eines Monats, nachdem Ihnen die Erlaubnis bekannt gegeben worden ist, schriftlich oder zur Niederschrift bei dem Oberbürgermeister der Stadt Münster (Postanschrift: Der Oberbürgermeister, 48127 Münster) Widerspruch erheben. Der Nachbriefkasten befindet sich am Stadthaus I, Klemensstraße 10. Sie können den Widerspruch auch direkt beim Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt (Postanschrift: Der Oberbürgermeister, Amt 39, 48127 Münster, Hausanschrift: Schelmenstiege 1, 48161 Münster) erheben.

Mit freundlichen Grüßen  
Im Auftrag



Dr. Otto  
Städt. Veterinärdirektor