

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie  
Studijní obor: Biologie



**Nela Černíková**

Úloha neurogeneze ve vzniku epilepsie a epileptických komorbidit  
Role of neurogenesis in development of epilepsy and epileptic co-morbidities

Typ závěrečné práce

Bakalářská

Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc.

Praha, 2016

### *Poděkování*

Ráda bych poděkovala své školitelce Haně Kubové za její vstřícnost, cenné rady a nekonečnou trpělivost.

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13.05.2016

Podpis

## Abstrakt

Produkce nových neuronů z proliferujících progenitorových buněk je v mozku savců zachována po celou dobu života a je významnou podmínkou normálního fungování mozku. Změny neurogeneze se podílejí na vzniku některých poruch nervového systému například epilepsie či psychiatrických onemocnění. Experimentální studie naznačují možné spojení mezi poruchami neurogeneze a změnami chování v epileptickém mozku. I když epilepsie začíná u 50% pacientů v dětství a výskyt některých psychiatrických problémů, zejména deprese, je vyšší u dětských pacientů s epilepsií, než u ostatní populace, je tato problematika studována především u dospělých jedinců.

**Klíčová slova:** gyrus dentatus, granulární buňka, neurogeneze, epilepsie, status epilepticus, komorbidity

## Abstract

Production of new neurons from stem/proliferating cells in the mammalian brain is maintained through all life and it is closely associated with formation of memory as well as other behavioural functions. In mature brain, changes in neurogenesis play critical role in development of some neuropsychiatric diseases like epilepsy, depression, anxiety and others. Even though epilepsy starts early in life in 50% of patients, possible association between impairment of neurogenesis seen in epileptic brain and occurrence of psychiatric diseases is studied only in adult brain.

**Key words:** dentate gyrus, granule cell, neurogenesis, epilepsy, status epilepticus, comorbidities

## Seznam zkratek

- TLE - epilepsie temporálního laloku (*temporal lobe epilepsy*)
- ADHD - porucha pozornosti s hyperaktivitou (*attention deficit hyperactivity disorder*)
- SGZ - subgranulární zóna (*subgranular zone*)
- CA - Amonův roh (*Cornu Ammonis*)
- DG - gyrus dentatus (*dentate gyrus*)
- SVZ - subventrikulární zóna (*subventricular zone*)
- DGC - granulární buňky (*dentate granule cells*)
- GABA - kyselina gama-aminomáselná (*gamma-Aminobutyric acid*)
- GCL - granulární vrstva (*granule cell layer*)
- NSC - neurální kmenová buňka (*neural stem cell*)
- GFAP - kyselý gliální astrocytický marker (*glial fibrillary acidic protein*)
- LTP - dlouhodobá potenciace (*long-term potentiation*)
- NPC - neurální progenitorová buňka (*neural progenitor cell*)
- SE - status epilepticus (*status epilepticus*)
- PILO - pilokarpin (*pilocarpine*)
- KA - kyselina kainová (*kainic acid*)
- NGF - nervový růstový faktor (*nerve growth factor*)
- BDNF - mozem derivovaný neurotrofní faktor (*brain-derived neurotrophic factor*)
- FGF2 - fibroblastový růstový faktor (*fibroblast growth factor*)
- VEGF - vaskulární endoteliální růstový faktor (*vascular endothelial growth factor*)
- NPY - neuropeptid Y (*neuropeptid Y*)
- iMCL - vnitřní molekulární vrstva (*inner molecular cell layer*)
- BrdU - bromodeoxyuridin (*bromodeoxyuridine*)
- PSA-NCAM - polysialylace neurální adhezni molekuly (*polysialylated-neural cell adhesion molecule*)
- MFS - rozšíření mechových vláken (*mossy fibers sprouting*)
- VPA - kyselina valproová (*valproic acid*)

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Neurogeneze.....	2
2.1 Hipokampus.....	2
2.2 Trisynaptický okruh.....	2
2.3 Gyrus dentatus .....	4
2.4 Proliferace.....	4
2.5 Migrace a maturace .....	5
3. Epilepsie.....	7
3.1 Epilepsie temporálního laloku .....	7
3.2 Modely.....	7
3.2.1 Kindling model .....	7
3.2.2 Status epilepticus .....	8
3.3 Epileptogeneze.....	8
4. Změny v epileptickém mozku .....	9
4.1. Akutní fáze.....	9
4.1.1. Proliferace .....	9
4.1.2. Zrychlená maturace a integrace nově vzniklých granulárních buněk.....	10
4.1.3. Ektopické granulární buňky .....	11
4.1.4. Basální dendrity v hilu .....	12
4.1.5 Mossy fibers sprouting.....	12
4.1.6. Možnosti snížení neurogeneze v akutní fázi a výsledky.....	12
4.1.7. Kritická perioda .....	13
4.2. Neurogeneze v chronickém TLE .....	14
5. Komorbidity .....	15
6. Závěr.....	16
7. Seznam použité literatury.....	17

# 1. Úvod

Mozek během vývoje organismu prochází extenzivním vývojem, kdy se tvoří základní mozkové struktury, tvořené nervovými a podpůrnými gliovými buňkami. Produkce nových neuronů se nazývá neurogeneze. Pojem sahající do počátku 20. století a nastolující neuronovou doktrínu o neměnnosti dospělého mozku, proslavenou Ramón y Cajalem, nositelem Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu (1906), která byla od té doby široce prozkoumána a z části vyvrácena již v 60. letech, kdy byly Altmanem a kolegy nalezeny první neuroblasty v mozku dospělého potkana (Altman & Das 1965). Později byl tento jev nalezen i u dalších druhů zvířat, například ptáků (Nottebohm 2002). V posledních několika dekádách byla v souvislosti s neurogenezí popsána možná souvislost mezi poruchou postnatální neurogeneze a vznikem některých neuropsychiatrických chorob.

Jedním z těchto onemocnění je epilepsie. Epilepsie je charakteristická generováním opakovaných a nevyprovokovaných epileptických záchvatů, projevujících se abnormálně excesivní nebo hypersynchronní neuronální aktivitou. Epilepsii lze nejlépe rozdělit podle její lokalizace. Generalizované záchvaty jsou bilaterální, zatímco záchvaty fokální mají ložisko v jedné hemisféře, jehož výboj se může šířit do okolní tkáně, nebo i sekundárně generalizovat. Toto onemocnění může být vrozené (existují formy dědičné), nebo získané na základě infekce, zranění, či nádoru. Podle Světové zdravotnické organizace WHO trpí touto nemocí přibližně 50 milionů lidí, tedy 1-1,5 % světové populace. Ale až 5 % populace někdy během života prožilo epileptický záchvat, který se neopakoval, tedy nesplňoval hlavní podmínku pro diagnózu tohoto onemocnění. S neurogenezí v postnatálním mozku je právě spojena epilepsie temporálního laloku TLE (z angl. temporal lobe epilepsy), které se budu v této práci věnovat.

S pojmy neurogeneze a epilepsie se pojí ještě jedno důležité téma – komorbidita. Během vzniku epilepsie dochází k morfologickým změnám, ztrátě buněk, synaptickým reorganizacím a změnám neurogeneze. Takové změny celkově ovlivňují nervovou síť a její komunikaci s okolní tkání, což modifikuje celé fungování hipokampu a může způsobit kognitivní poruchy. Mezi nejpočetnější poruchy patří – mentální retardace, poruchy učení, poruchy paměti, ADHD, autismus, úzkost, deprese a odchylky v chování. Všechny tyto komplikace se mohou a nemusí projevit a jsou velmi individuální. Jakékoliv z těchto problémů silně ovlivňují život pacientů a snižují kvalitu života. Nynějším záměrem výzkumných center pro neurogenezi spojenou s epilepsií, je mimo jiné prozkoumat souvislosti spojené s komorbiditami a najít způsob, jak řešit tento problém efektivněji a v širším měřítku.

## 2. Neurogeneze

Dnes již víme, že neurogeneze probíhá v mozku v průběhu celého života (Eriksson et al. 1998). Jedná se o vysoce dynamický proces, ovlivněný celou řadou faktorů, jako jsou podmínky prostředí, věk a některé patologické stavy. V dospělém mozku probíhá neurogeneze ve dvou hlavních oblastech - subgranulární zóně (SGZ) v gyru dentatu (DG) hipokampu a v subventrikulární zóně (SVZ) na bočních částech postranních komor předního mozku. V této práci se zaměřím na neurogenezi v gyrus dentatus hippocampi, a její možnou souvislost s epilepsií a epileptickými komorbiditami.

### 2.1 Hipokampus

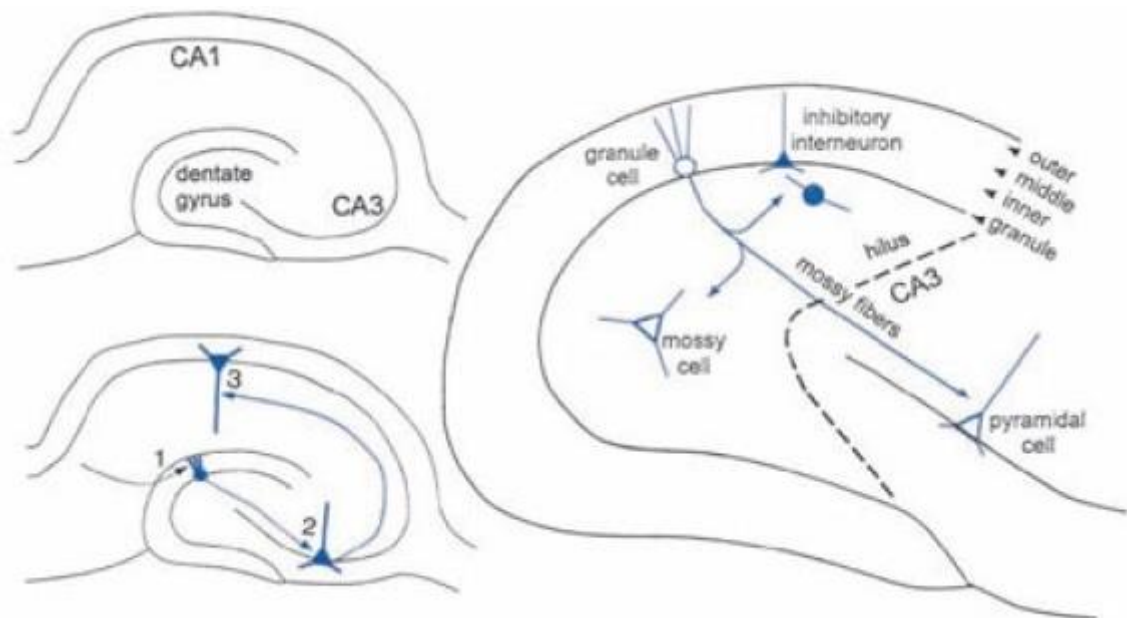
Hipokampus je párová mozková struktura nacházející se ve střední části temporálního laloku a je součástí limbického systému. Tvoří ho dva vzájemně propojené pruhy kortexu ve tvaru písmene C, gyrus dentatus a vlastní hipokampus (Obr. 1). Funguje jako centrum pro ukládání a vybavování informací. Posuzuje významnost přicházejících signálů a pomáhá je ukládat do podoby dlouhotrvající paměti tak, aby byly jednotlivé události od sebe odlišeny a vzájemně se nepřekrývaly. Tyto signály jsou v hipokampu přenášeny trisynaptickým okruhem. Hipokampus hraje důležitou roli v učení, paměti, nebo prostorové orientaci. Při poškození hipokampu jsou tyto procesy narušeny. V případě TLE se tedy nabízí možnost zkoumat nejen procesy epilepsie a její vztahy s neurogenézí, ale také její vztah s behaviorálními a kognitivními vlastnostmi jedince a neurální plasticitu.

### 2.2 Trisynaptický okruh

Hlavní hipokampální informační dráhou je tzv. trisynaptický okruh (viz Obr. 1), který vede excitační glutamatergní synapse po celém hipokampu:

- 1) Z entorhinální kůry je veden vzruch inervující dendrity granulárních buněk gyru dentatu tzv. perforující dráhou.
- 2) Axony DGCs (z angl. dentate granule cells) tvoří mechová vlákna (nemyelinizované axony pojmenované Ramón y Cajalem) končící na proximálních apikálních dendritech pyramidových buněk v oblasti CA3.
- 3) Axony pyramidových buněk v CA3 (tzv. Schafferovy kolaterály) vedou vzruch na apikální dendrity pyramidových buněk v CA1 oblasti.

Vedení vzruchů v tomto okruhu je regulováno interneurony, které mohou exprimovat inhibiční neurotransmitter GABA (Scharfman 2002). GABA neboli kyselina gama-aminomáselná je hlavním inhibičním neurotransmiterem v centrálním nervovém systému. Zapojení inhibičních neuronů do systému je důležité pro regulaci vedených excitačních vzruchů. Kolaterály mechových vláken příležitostně vstupují do granulární vrstvy, ale za normálních podmínek málokdy do vrstvy molekulární. Ztráta inervace mechových vláken molekulární vrstvy je přítomna za patologických podmínek a jejich rozšiřování je jedním z typických znaků epilepsie temporálního laloku (Amaral et al. 2007).



Obr. 1 – Vlevo nahoře – schématické zakreslení hlavních částí hipokampu: CA1 oblast, CA3 oblast a gyrus dentate. Vlevo dole – trisynaptický okruh. Vpravo – schématické zakreslení hlavních buněčných typů a strukturální organizace buněčných vrstev v gyrus dentatus (Převzato z - (Scharfman 2002).



## 2.3 Gyrus dentatus

Gyrus dentatus je silně neurogenní struktura v hipokampu. Skládá se ze tří buněčně diferenciovaných vrstev:

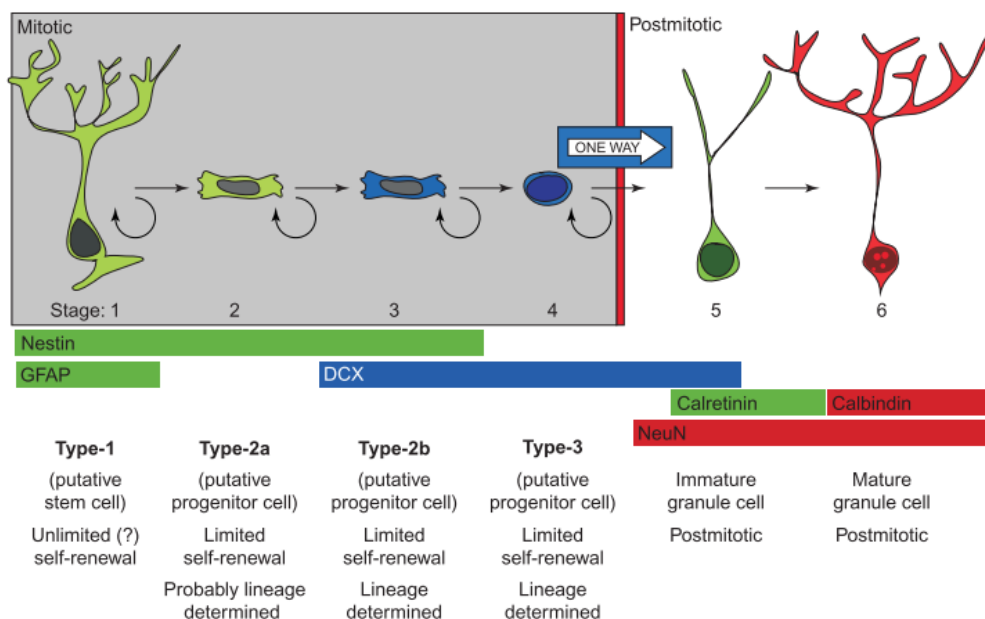
- 1) **molekulární vrstva** obsahující především dendrity granulárních buněk a filamenta z perforující dráhy z entorhinální kůry
- 2) **granulární vrstva GCL** (z angl. granule cell layer) je tvořena hustě uspořádanými granulárními buňkami
- 3) **polymorfní vrstva** se skládá z různých druhů buněk, převážně mechových glutamátergních buněk (Amaral et al. 2007)

Inhibiční interneurony jsou přítomny v celém gyrus dentatus. Mezi hilem a granulární vrstvou se nachází tzv. subgranulární zóna, která je hlavní nikou multipotentních neurálních kmenových buněk NSCs (z angl. neural stem cells), které mohou proliferovat a diferencovat v neurony (Gage 2000).

## 2.4 Proliferace

Neurogeneze je vznik a vývoj nových nervových buněk a začíná v subgranulární zóně DG, která se nachází mezi granulární vrstvou a hilem (Eriksson et al. 1998). Neurony vznikají dělením a diferenciací z neurálních kmenových buněk NSCs (z angl. neural granule cells), které se nacházejí v subgranulární zóně. Jedním z prekurzorů určujících osud těchto kmenových buněk jsou radiální buňky gliového typu, jinak také nazývány jako buňky 1. typu (Filippov et al. 2003). Tyto buňky mají dlouhý apikální výběžek procházející granulární vrstvou až do vnitřní molekulární vrstvy DG, kde se větví. Během této doby exprimují prekurzorové markery jako jsou GFAP (z angl. glial fibrillary acidic protein) či nestin, které jsou využívány pro určení typu buňky a stádia zralosti. Prekurzory se asymetricky dělí, čímž dávají vzniku intermediálním progenitorovým buňkám typu 2 (Filippov et al. 2003), (Fukuda et al. 2003), které se dále dělí a generují tak buňky typu 3 (Song et al. 2012), které fungují jako neuroblasty. Neuroblasty jsou již pevně spojené s neuronálním osudem a v postmitotické fázi z nich vznikají nezralé neurony (van Praag et al. 2002), (Kempermann 2002). V této přechodné fázi jsou buňky charakteristické expresí  $Ca^{2+}$  binding proteinu calretininu, který je ve zralých buňkách nahrazen calbindinem (Kempermann et al. 2004). Calretinin je modulátor neuronální excitability, včetně indukce dlouhodobé potenciace LTP (z angl. long-term potentiation) a nachází se i

v interneuronech. Nedávná studie poukazuje na možnost, že ztráta exprese calretininu by mohla souviset s epilepsií temporálního laloku (Tóth & Maglóczky 2014).



Obr 2. Schématický průběh neurogenese v dospělém hipokampu. Zleva doprava kmenová neurální buňka typu 1, intermediální progenitorové buňky typu 2, neuroblast typu 3, imaturované buňky exprimující calretinin, později změněn na calbindin a NeuN – neuronální marker často využívaný pro indikaci maturovaných buněk (Převzato z Kempermann a spol. 2004)

## 2.5 Migrace a maturace

Nezralé buňky popsané v předchozí sekci podstupují radiální migraci do granulární vrstvy (Kempermann 2002), (Zhao et al. 2006). Tam dozrávají a zapojují se do systému (van Praag et al. 2002). Maturace je proces, kdy buňky vzniklé diferenciací z neurálních progenitorů NPCs (z angl.. neural progenitor cells) dorůstají, zrají, získávají finální vlastnosti žádoucí pro danou buňku a jsou zapojeny do obvodů systému. Nezralé neurony tvoří dendritické výběžky směrem do molekulární vrstvy, která přijímá excitační aferentní vstupy z perforující dráhy, a axony do CA3 oblasti (Zhao et al. 2006).

To jak se nové buňky zapojí, závisí na synaptických vstupech a výstupech, které přijímají od okolních neuronů. Zrající buňky jsou v brzkém stádiu tonicky aktivovány GABA z okolních interneuronů. Ačkoliv ještě netvoří synaptické konexe, už exprimují GABA a glutamátové receptory. GABA nejdříve působí excitačně, protože nezralé buňky mají vysokou intracelulární koncentraci chloridových iontů a tato depolarizace je zřejmě esenciální pro vytvoření funkčních GABAergních a glutamátergních synaptických vstupů. GABA indukovaná depolarizace/excitace se mění na hyperpolarizaci/inhibici v závislosti na poklesu intracelulární aktivity  $Cl^-$  a tím na změně klidového membránového potenciálu, což vede

k synaptickým změnám a dendritickému růstu. Vzniklé dendritické trny mají terminální zakončení schopná tvořit synaptická spojení. Tedy začnou být inervovány GABAergními a glutamatergními synaptickými vstupy (Ge et al. 2006).

Navíc tyto nově vzniklé buňky se zdají mít elektrofyziologické vlastnosti velice podobné těm starým, jako jsou pasivní vlastnosti membrán, synaptické vstupy nebo akční potenciály (van Praag et al. 2002). Ale na rozdíl od buněk vzniklých během vývoje, kdy nově vzniklé buňky přetrvávají ve vnější části granulózní vrstvy oGCL, buňky vzniklé v dospělém mozku se častěji začlení do vnitřní části iGCL (Mathews et al. 2010). Ačkoliv vzniká neustále mnoho nových buněk, hodně z nich podléhá apoptóze a fagocytóze zprostředkované mikroglíemi (Kempermann 2002), (Overstreet-wadiche et al. 2014), a jen některé z nich se zapojí do systému.

Spolu s fyziologickými změnami, kterými mladý neuron prochází, tvoří tyto vlastnosti tzv. kritickou periodu, která je unikátním znakem mladých neuronů a pravděpodobně hraje důležitou roli v tvorbě paměti (Aimone et al. 2010), (Deng et al. 2010).

Ačkoliv na strukturální a morfologické úrovni nejsou příliš patrné rozdíly mezi buňkami vzniklými během embryonálního a neonatálního vývoje a buňkami vzniklými v dospělém mozku, maturace buněk dospělého mozku je zpožděná (Zhao et al. 2006), (Overstreet-Wadiche et al. 2006). Hlavní excitační vlna, která aktivuje nové maturované DGCs vychází z glutamatergních axonů perforující dráhy (Esposito et al. 2005), (Ge et al. 2006), (Toni et al. 2007).

#### Pozdní fáze maturace a přežití dospělých neuronů

V konečné fázi maturace je zapotřebí doladit zapojení nových neuronů do systému v reakci na hipokampální aktivitu. Jedním z charakteristických znaků je změna exprese z  $Ca^{2+}$  binding proteinu calretininu na calbindin. Dalších pár týdnů je potřeba k tomu, aby se neurony staly svými vlastnostmi nerozlišitelnými od již existujících zralých neuronů (van Praag et al. 2002). Během této doby vykazují neurony zvýšenou synaptickou plasticitu (Schmidt-Hieber et al. 2004), (Ge et al. 2007), což pravděpodobně souvisí s jejich schopností dlouhodobé potenciace LTP. Tím je zajištěna jejich dlouhodobá synaptická aktivita nezbytná k přežití a svým přínosem přispívají k celkové hipokampální plasticitě (Ge et al. 2007).

Na rozdíl od neuronů vznikajících během vývoje, neurony vzniklé v dospělém mozku cílí preferenčně na již existující synapse (Toni et al. 2007). Dalším rozdílem je menší příjem

inhibičních vstupů (Li et al. 2012), vyšší excitabilita a vyšší synaptická plasticita (Ge et al. 2007).

V konečné fázi to tedy vypadá tak, že máme jednu homogenní vnější granulární vrstvu, která vzniká během vývoje organismu a v dospělosti zůstává neměnná a jednu heterogenní vnitřní granulární vrstvu, kam se neustále přidávají nově vzniklé buňky. Zdá se, že dospělý hipokampus generuje nové neurony, aby podpořil už existující síť novými funkčními vlastnostmi, které jsou nezbytné pro zpracování informací, ale chybí v ostatních buňkách (Schinder & Gage 2004), (Ming & Song 2005).

Po celou dobu od proliferace, přes diferenciaci, migraci a integraci buněk zůstává celý systém vysoce plastický, dynamický a regulovaný neuronální aktivitou organismu (Aimone et al. 2014).

## **3. Epilepsie**

### **3.1 Epilepsie temporálního laloku**

Epilepsie temporálního laloku, neboli TLE je jeden z nejčastějších typů epilepsie a pacienti s tímto typem bývají často farmakorezistentní vůči běžně podávaným antikonvulsivům. Pacienti tak i přes léčbu trpí nekontrolovatelnými záchvaty. Jelikož se ohnisko nachází v hippocampu, je tím tedy ovlivněno i učení a tvorba paměti. Protože není možné v rámci klinických studií na lidské tkáni plně podchytit veškeré mechanismy zapojené do vývoje a progresu epilepsie, spolu se změnami spojenými s epilepsií, jsou k výzkumu používány modely na zvířatech, nejčastěji potkanech.

### **3.2 Modely**

Pro modelování epilepsie existuje řada různých postupů. V souvislosti s neurogenézí a strukturálními změnami epileptického mozku jsou nejčastěji používány kindling model a status epilepticus.

#### **3.2.1 Kindling model**

Kindling model je proces aplikování opakovaných sérií elektrických stimulů do mozku. Pokud je aplikace dlouhodobě opakovaná, excitační odpověď neuronů roste a zvyšuje se pravděpodobnost výskytu záchvatu, který následuje (Goddard et al. 1969). Není to optimální model epilepsie, protože nevede ke stavu opakujících se spontánních záchvatů, ale je to dobrý

model pro studium progresivních pochodů a abnormální excitability v mozku (Scharfman 2002).

### 3.2.2 Status epilepticus

Status epilepticus (SE) je stav dlouhodobé, nebo rychle se opakující epileptické aktivity vznikající na základě selhání mechanismu pro ukončení záchvatu, nebo na základě mechanismu vedoucímu k abnormálním, prodlouženým záchvatům. Tento stav může vést k dlouhodobým následkům, jako je neuronální poškození a alterace v neuronální síti. Tento stav se dá navodit dvěma způsoby. 1) Elektrická stimulace elektrodami implantovanými do hipokampu. 2) Chemickými křečovými látkami jako je pilokarpin PILO (agonista muskarinových receptorů), nebo kyselina kainová KA (agonista glutamátových receptorů). U modelů je takto navozeno poškození mozku, charakteristické akutním úbytkem buněk a zvýšenou excitabilitou. Navození SE je následováno latentní fází, během níž se záchvaty vůbec neobjevují, nebo jen zřídka. S přibývajícím časem se zvyšuje pravděpodobnost výskytu spontánního záchvatu, až do plného vývoje epilepsie (Williams et al. 2009).

### 3.3 Epileptogeneze

Epileptogeneze je proces mechanismů a změn v mozku vedoucí k vývoji epilepsie a její progresi. Zahrnuje nejen latentní periodu trvající od prvotního poškození do výskytu záchvatu, ale také neurobiologické změny pokračující po výskytu záchvatu (Sloviter & Bumanglag 2013), (Yin et al. 2013). Experimentální studie poukazují na několik potenciálních mechanismů epileptogeneze (Yin et al. 2013).

- Změny v neuronálním přenosu signalizačních drah – neuronální hyperexcitabilita jako disbalance mezi glutamátovou excitací a GABA inhibicí (Aroniadou-Anderjaska et al. 2008)
- Molekulární a genetické mechanismy - mutace v genech kódujících proteiny iontových kanálů a receptorů vedoucí k hyperexcitabilitě (Acharya 2002), (Hirose 2006), (Graves 2006)
- Strukturální, neurochemické a buněčné změny (neurogeneze) (Parent et al. 2006), (Scharfman et al. 2000)

## 4. Změny v epileptickém mozku

### 4.1. Akutní fáze

Jak již bylo řečeno, poškození mozku je následováno latentní periodou, během které se s přibývajícím časem zvyšuje pravděpodobnost výskytu záchvatu. Epileptický záchvat u TLE je v mozku vyvolán excesivní hypersynchronní nebo hyperexcitační aktivitou nervových buněk (Parent et al. 1997). Signál je dále přenášen trisynaptickým okruhem po celém hipokampu. Mnoho studií na potkanech s mTLE ukázalo, že SE má za následek disperzi granulární vrstvy, způsobenou rozšířením vrstvy a snížením buněčné hustoty (Houser et al. 1990), degeneraci tkáně a to především hilových neuronů gyrus dentatus a pyramidových buněk v CA1 a CA3 oblasti, ztrátu inhibičních GABA interneuronů (Kuruba et al. 2010) a silný nárůst neurogeneze, který trvá přibližně 1-2 týdny (Parent et al. 1997). A to jak na úrovni proliferace, tak i maturace a aberantní integrace nově generovaných granulárních buněk. Nárůst neurogeneze je také doprovázen strukturálními a substrukturálními abnormalitami buněk. Tyto změny, narušující normální funkci hipokampu ve spojení s nadměrnou excitační aktivitou, mohou hrát důležitou roli v epileptogenezi. Je to prokázáno u kindling modelu, SE po konvulzantech PILO a KA, elektrické stimulaci a elektrokonvulzním šoku (Benzon et al. 1997), (Parent et al. 1997), (Gray & Sundstrom 1998), (Scott et al. 1998). Vliv SE na neurony se liší podle toho, zdali neurony existovaly ještě před navozením SE, nebo vznikly až po tom, a na jejich maturačním stádiu.

#### 4.1.1. Proliferace

Neurální aktivita způsobená záchvatem nejen poškozuje zralé struktury hipokampu, ale také ovlivňuje dělení neurálních kmenových buněk (NSC) a nárůst proliferace v DG a SVZ. V DG je okamžitá proliferační odpověď zprostředkovaná radiálními gliovými buňkami typu 1, ačkoliv většina proliferačních buněk byla mitoticky aktivní ještě před navozením inzultu. (Parent et al. 1999), (Parent et al. 2006). Ačkoliv nejsou známy přesné molekulární mechanismy způsobující zvýšenou neurogenezi, bylo navrženo několik potenciálních mechanismů. Je možné, že NSCs jsou schopny vnímat elektrickou aktivitu (Deisseroth et al. 2004). Dle hypotézy Faigle a Songa může být proliferace neurálních kmenových buněk regulována geny a drahami, regulujícími neurogenezi během embryonálního vývoje, i během dospělosti (Faigle & Song 2013). Další mechanismy způsobující zvýšenou neurogenezi by mohly zahrnovat:

- 1) zvýšenou expresi neurotrofních faktorů navozujících proliferaci a přežití neuronů, jako jsou NGF (z angl. nerve growth factor), BDNF (z angl. brain-derived neurotrophic

factor), FGF2 (z angl. fibroblast growth factor) nebo VEGF (z angl. vascular endothelial growth factor)

- 2) pozitivní vliv zvýšené hladiny GABA na proliferaci, migraci a diferenciaci progenitorů a synaptickou integraci nově vzniklých neuronů, nebo
- 3) zvýšenou hladinu neuropeptidu Y (NPY), který zvyšuje proliferaci NSCs

Shrnuto v review (Andres-Mach et al. 2011).

Navíc se zdá, že agresivita a doba záchvatu nebude hlavním faktorem pro proliferaci (Benzon et al. 1997).

Ačkoliv epileptická aktivita po SE zvyšuje neurogenezi, část nově vzniklých granulárních buněk podléhá apoptóze, která je přiměřená agresivitě záchvatů (Ekdahl et al. 2003). U velmi intenzivních záchvatů zemře většina nově proliferujících buněk během 4 týdnů (Mohapel et al. 2004).

#### **4.1.2. Zrychlená maturace a integrace nově vzniklých granulárních buněk**

Vyšší počet nově vzniklých granulárních buněk je doprovázen jejich abnormální integrací. Modely s PILO ukázaly, že po záchvatu je zvýšen růst apikálních dendritů a již 2 týdny po záchvatu dendrity dosahují nejen vnitřní molekulární vrstvy, ale také střední a vnější molekulární vrstvy, kde se nacházejí primární aferentní excitační vstupy z perforující dráhy, na rozdíl od kontrolního vzorku, kde dendrity dosahovaly pouze vnitřní molekulární vrstvy. Stejně tak vykazovaly nezralé buňky nižší práh rezistence pro synaptické vstupy, která inverzně koreluje s maturitou (Liu et al. 2000) a měly více terminálních zakončení po tvorbu synapsí. Tento jev se často vyskytoval spolu s výskytem rozšíření mechových vláken. Tato zjištění poukazují na urychlené zrání a funkční integraci nových granulárních buněk vzniklých po záchvatu (Overstreet-Wadiche et al. 2006). Navíc u stejného modelu byl nalezen zvýšený dendritický růst i u již existujících zralých granulárních buněk, což také vedlo ke zvýšené excitační synaptogenezi. Všechny tyto změny by mohly být důkazem nadměrné excitační aktivity, která je proepileptogenní.

### 4.1.3. Ektopické granulórní buňky

Dalším příkladem změn v mozku po epileptickém inzultu je aberantní migrace nově vzniklých granulórních buněk. Zatímco v normálním dospělém mozku nově vzniklé granulórní buňky migrují do GCL, za jistých okolností mohou nově vzniklé buňky migrovat do jiných ektopických lokalizací. Říkáme jim ektopické granulórní buňky. Ty mohou vznikat z různých důvodů. V souvislosti s epilepsií, byla tato odchylka nalezena i u populací buněk v lidské epileptické tkáni (Parent et al. 2006). Část těchto buněk putuje do hilu nebo do vnitřní molekulární vrstvy, kde se integrují (Parent et al. 1997), (Scharfman et al. 2000) a jsou inervovány okolními mechovými vlákny granulórních buněk (Scharfman et al. 2000), (Pierce et al. 2005). Jejich axon je velmi podobný normálnímu (Scharmann et al. 2007), stejně jako jejich elektrofyziologické vlastnosti, ale na rozdíl od normálních granulórních buněk, tyto buňky často tvoří bazální dendrity (Ribak et al. 2000), (Scharfman et al. 2000), vykazují vyšší hladinu excitačních vstupů než inhibičních (Zhan et al. 2010) a jsou charakteristické svou rytmickou synchronní aktivitou s CA3 pyramidovými buňkami (Scharfman et al. 2000). Jedním z důvodů ektopické migrace by mohla být migrace progenitorů do hilu z důvodu pozměněné reelin signalizace. Reelin je extracelulární glykoprotein, jehož exprese je důležitá pro normální tvorbu GCL (Zhao et al. 2004) a nedávno byla objevena přímá korelace mezi stupněm disperze granulórní vrstvy a sníženou expresí reelin glykoproteinu (Haas et al. 2002). Další možností by mohla být migrace způsobená upregulací brain-derived neurotrofního faktoru BDNF po SE (Isackson et al. 1991), v návaznosti na nedávno prokázanou ektopickou migraci nových granulórních buněk po intrahipokampální infuzi BDNF (Scharfman et al. 2005). Tyto možnosti jsou příklady možností mechanismů abnormální integrace. Tyto buňky se, sice v menším měřítku, ale mohou vyskytovat i u zdravých jedinců (Jessberger, Zhao, et al. 2007), takže to nemusí nutně znamenat změnu indukující epilepsii, ale svou zvýšenou excitabilitou mohou zvýšit náchylnost k tvorbě opakovaných záchvatů.



#### **4.1.4. Basální dendrity v hilu**

Granulární buňky vzniklé v dospělém DG jsou vysoce polarizované neurony (Zhao et al. 2006), (Toni et al. 2007) a mají dendrity vznikající na apikální straně buněčného těla, které zasahují do granulární vrstvy, nebo proximální molekulární vrstvy. Tam přijímají excitační synapse z axonů perforující dráhy (van Praag et al. 2002), (Schmidt-Hieber et al. 2004), (Ge et al. 2006), (Zhao et al. 2006). Mnoho studií ale prokázalo díky BrdU značení (Parent et al. 2006), (Walter et al. 2007), (Murphy et al. 2011), že asi 20% granulárních buněk nově vzniklých po záchvatu tvoří aberantní dendrity na basální straně somatu směrem k hilu (Spigelman et al. 1998), (Ribak et al. 2000), kde tvoří synaptické spoje s mechovými vlákny granulárních buněk. Nejčastěji tvoří basální dendrity neurony, které jsou nezralé v době navození SE a to až 50% z nich (Walter et al. 2007). Tento jev je pravděpodobně spojen právě s vysokou excitabilitou nezralých neuronů a jejich synaptickou plasticitou. Molekulární mechanismus tvorby bazálních dendritů není doposud znám, ale mohl by zahrnovat změnu exprese některých růstových faktorů. Je možné, že neurony s basálními dendrity zůstávají dlouhou dobu excitační a tím mohou přispívat ke zvýšené excitabilitě DG a epileptogenezi (Ribak et al. 2000), ale není vyloučeno, že mezi tolika synaptickými vstupy nejsou žádné inhibiční vstupy zprostředkované interneurony. Navíc tuto změnu vykazuje jen část buněk, což vypovídá o heterogenitě tkáně.

#### **4.1.5 Mossy fiber sprouting**

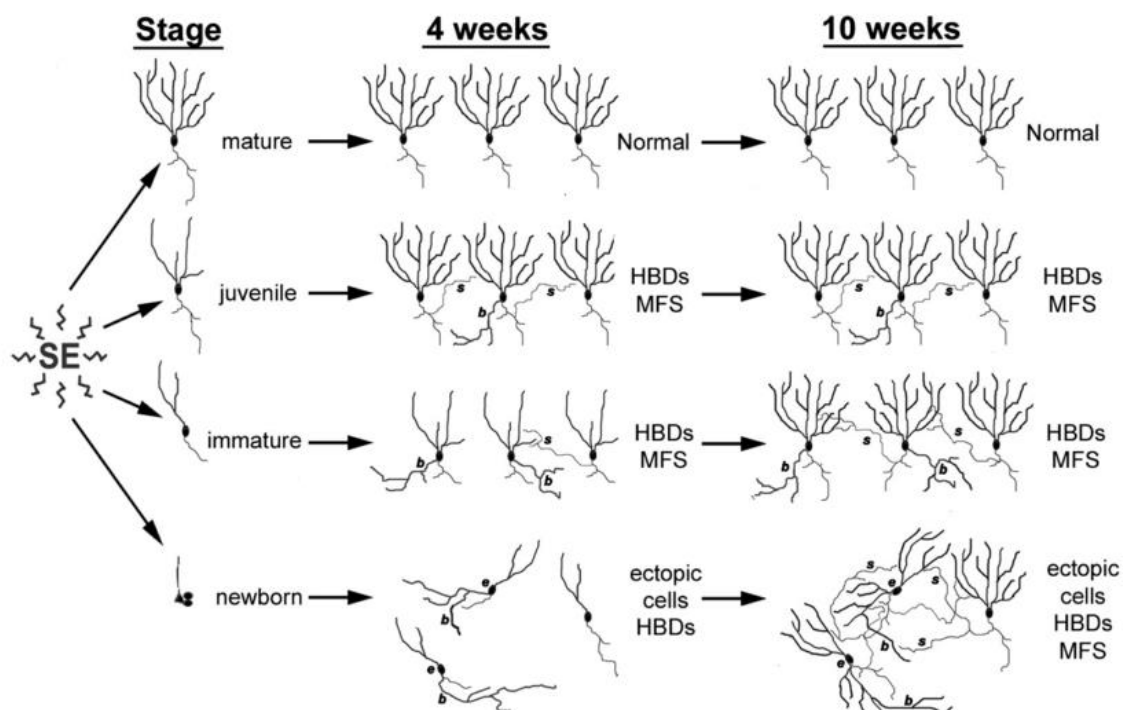
Jedním z dalších aberantních změn je tzv. mossy fiber sprouting, což je prorůstání mechových vláken gyrus dentatus granulárních buněk nově vzniklých po záchvatu do vnitřní molekulární vrstvy DG (Kron et al. 2010), namísto projekce na apikální dendrity pyramidových buněk CA3 oblasti. Toto rozšíření bylo potvrzeno u kindling modelu, KA, PILO i u lidí (Tauck & Nadler 1985), (Cavazos et al. 1991), (Sutula & Dudek 2007). Tyto axony poté tvoří opakované excitační synapse, což je důvodem hipokampální hyperexcitability. Normálně iMCL postrádá jakékoliv excitační vstupy od granulárních buněk a mechová vlákna tvoří spoje s CA3 pyramidovými buňkami a hilovými interneurony. Tato strukturální reorganizace by mohla být reakcí na záchvatem indukovanou aktivitu, na celkové poškození tkáně a úbytek mechových buněk (Bengzon et al. 1997), které jsou v hilu hlavním zdrojem excitací a za normálních podmínek projektují do iMCL. A to i v případě blokované neurogenese (Parent et al. 1999).

#### **4.1.6. Možnosti snížení neurogeneze v akutní fázi a výsledky**

Pokud by zvýšená neurogeneze a výše uvedené abnormality s ní spojené skutečně byly pro-epileptogenní, nabízí se možnost zamezit, či zredukovat neurogenezi. Jedna z možností redukce neurogeneze je depolysialylace NCAM. Polysialylace PSA je posttranslační modifikace neurální adhezní molekuly NCAM (z angl. neural cell adhesion molecule). Tento glykoprotein hraje roli ve zprostředkování buněčných interakcí, růstu axonů a plasticitě synapsí. Ztráta polysialylace skutečně snížila hladinu neurogeneze, ale nezamezila výskytu hilových bazálních dendritů, neměla vliv na zvýšenou excitabilitu, ani nezamezila vzniku opakovaných záchvatů (Pekcec et al. 2007). Další studie snížila neurogenezi pomocí blokace 1A receptoru serotoninu, který podporuje v gyrus dentatus vznik nových neuronů. Výsledkem byla sice snížená neurogeneze, ale to nezamezilo generování opakovaných záchvatů, ani rozšiřování mechových vláken granulórních buněk (Radley & Jacobs 2003).

#### **4.1.7. Zvýšená abilita k tvorbě abnormálních změn**

Z těchto informací vyplývá, že nově vzniklé buňky procházejí jakousi kritickou periodou, během které jsou selektivně náchylnější k vývoji výše uvedených abnormalit (viz. Obr. 3). Zralé buňky v době epileptického inzultu vykazovaly snížení počtu dendritických trnů, ale jinak byly relativně rezistentní vůči dalším patologickým změnám. Zato buňky vzniklé po SE, nebo buňky nezralé a juvenilní, vykazovaly selektivní náchylnost k vývoji výše uvedených, epilepsií indukovaných změn. Juvenilní granulórní buňky staré asi 4 týdny jsou zřejmě náchylnější k rozšiřování mechových vláken, které je v tuto dobu velmi intenzivní a objevují se i hilové bazální dendrity. Nezralé granulórní buňky (1-2 týdny) vyvíjejí především hilové bazální dendrity, ale MFS pomalu odeznívá. Granulórní buňky vzniklé po inzultu migrují ektopicky do hilu a tvoří bazální dendrity, opět s nízkou hladinou MFS (Murphy et al. 2011). Tyto změny by mohly být důvodem, proč uměle snížená neurogeneze po epileptickém inzultu nezabránila vzniku abnormalit. Navíc ty buňky, které byly stejně staré jako ty aberantní a migrovaly správným směrem do granulórní vrstvy, byly naopak méně excitační (Murphy et al. 2011). Jedna z možností je, že to je projev jakési snahy o zajištění homeostázy a projev prevence proti epileptogenním změnám v mozku (Jakubs et al. 2006).



Obr. 3 – Schématické znázornění vlivu jednotlivých fází maturace granulárních buněk na jejich náchylnost k tvorbě strukturálních abnormalit v čase 4 a 10 týdnů od SE. Buňky plně maturované jsou rezistentní. Juvenilní buňky, staré asi 4 týdny v době indukce SE vykazují HBD (basální dendrity v hilu) i MFS (rozšíření mechových vláken). Nezralé buňky, staré asi 2 týdny tvoří extenzivní tvorbu HBD ve 4. týdnu po SE, ale MFS už není tak agresivní. Nově vzniklé granulární buňky, staré 4 dny od SE vykazují jak HBD, tak ektopickou migraci bez MFS ve 4. týdnu po SE, ale v 10. týdnu opět narůstá tvorba MFS. Převzato z (Kron et al. 2010).

## 4.2. Neurogeneze v chronickém TLE

Zvýšená neurogeneze po akutním záchvatu se opět vrací do normálu během 3-4 týdnů (Parent et al. 1997), (Bonde et al. 2006). Nicméně dlouhodobý účinek dlouhého SE u chronické TLE má opačný efekt, a sice snížení neurogeneze v rozmezí 64-81%, doprovázené spontánními opakovanými záchvaty a neurodegenerací (Hattiangady et al. 2004). Neurodegenerace se projevuje jako ztráta hilových buněk, ztráta CA1 a CA3 pyramid. Během několika měsíců po SE se také navýšil počet spontánních záchvatů. Ačkoliv se v hilu zvýšil počet nově vzniklých ektopických granulárních buněk, integrace nových buněk do GCL byla průměrná. Tento jev byl doprovázen snížením proliferačních a progenitorových faktorů, jako jsou FGF2, či BDNF. Zatím není zcela jasné, zdali je tento defekt způsoben například redukcovanou neuronální diferenciací (Hattiangady & Shetty 2010), změněnou integrací nových neuronů, abnormální migrací a/nebo výskytem synaptogeneze na basálních dendritech projektujících do hilu.

Nedávné studie ukazují, že radiální neuronální kmenové buňky, v závislosti na jejich aktivaci, konvertují na astrocyty, což vede k redukci populace těchto kmenových buněk. V případě neuronální hyperaktivity tento proces dlouhodobě zhoršuje neurogenezi v gyrus dentatus jednak narušenou produkcí nových neuronů a jednak vyprázdněním neurogení niky kmenových buněk rNSCs, tím jak jsou konvertovány na astrocyty.

Snížená neurogeneze v chronické TLE byla zaznamenána i u lidí. Konkrétně u dětských pacientů s opakovanými záchvaty byla nalezena snížená populace PSA-NCAM (Mathern et al. 2002), stejně tak i u dospělých (Pirttilä et al. 2005).

Velká ztráta buněk by mohla vést k narušení neurogení niky, ve které jsou progenitorové buňky ztráceny pořád, nebo během buněčné proliferace, stejně tak narušení přežití a diferenciaci. Hattiangady a Shetty 2010 zjistili, že i při snížení či úplné redukci neurogeneze, tvorba buněk pokračovala. To ukazuje na setrvalou přítomnost progenitorových buněk. Potomstvo těchto progenitorových buněk ale diferenciovalo na glie spíše než na neurony.

Hipokampální neurodegenerace a snížená neurogeneze způsobená chronickou epilepsií temporálního laloku narušuje správnou funkci hipokampu a tím přispívá ke vzniku komorbidit a kognitivních deficitů.

## **5. Komorbidity**

Funkce hipokampu zasahují do několika různých funkcí, jako je prostorová orientace v dorzální oblasti a defenzivní chování, strach, anxieta a řízení nálad ve ventrální oblasti. Epilepsie je úzce spjatá se zhoršením paměti, zhoršením kognitivních schopností (Bell et al. 2011), úzkostnými stavy, nebo depresemi (O'Donoghue et al. 1999). Experimentální studie poukazují na možnost, že tyto komorbidity by mohly souviset právě s výše uvedenými změnami a abnormalitami v hipokampu, vzniklými na základě poškození způsobeným epileptickou hyperexcitační aktivitou. Hipokampus se podílí na tzv. pattern separation (Bakker et al. 2010), kdy jsou podobné informační vstupy transformovány na méně podobné výstupy. Tím umožňuje zpracování informací a rozlišení jednotlivých událostí (Sahay et al. 2011). Na tomto procesu se podílí i neurogeneze a nejvíce právě nezralé buňky svojí charakteristickou zvýšenou plasticitou a nižším prahem pro indukci LTP (Schmidt-Hieber et al. 2004), (Ge et al. 2007), (Li et al. 2012) a zvýšenou excitabilitou (Marin-Burgin et al. 2012). Tím, že jsou mladé neurony více excitační, mohou být také více senzitivní vůči přichozím vstupům (Schmidt-Hieber et al. 2004). Kognitivní deficity spojené s neurogenézí mohou mít základ jednak ve snížené neurogenézi u

chronické epilepsie tím, že bude narušena hipokampální funkce, a jednak narušením normální funkce hipokampu aberantními změnami následujícími po vzniku nových buněk. Ačkoliv není známo, jaký je přesný mechanismus těchto komorbidit, nabízí se několik možných terapeutických přístupů, které by mohly alespoň z části přispět k řešení tohoto problému. Jednou z možností je inhibice neurogeneze během brzké fáze po epileptickém inzultu, nebo stimulace neurogeneze v chronické fázi epilepsie. Jessberger a spol. 2007 inhibovali neurogenezi po SE pomocí VPA (z angl. valproic acid), což je antiepileptikum kyselina valproová s průkaznou redukcí počtu abnormálních buněk, což mělo za následek snížení kognitivních deficitů u hippocampus-dependent learning tasks, ale nemělo vliv na zvýšenou excitabilitu, ani nesnížilo výskyt opakovaných záchvatů (Jessberger, Nakashima, et al. 2007). Další možnosti terapeutické léčby jsou cvičení, obohacené prostředí, či antidepresiva a další prostředky, které jsou známy svým schopností zvýšit neurogenezi.

## 6. Závěr

Tato práce by měla shrnovat poznatky spojené s neurogenezí v epileptickém mozku, jejími změnami a jejím dopadem na kognitivní funkce spojené s hipokampem.

V akutní fázi po epileptickém inzultu je neurogeneze zvýšená. Tvoří více nervových buněk, které se buď začleňují normálně do granulární vrstvy gyrus dentatus, nebo migrují ektopicky do hilu. Nově vzniklé buňky mohou vykazovat strukturální a substrukturální abnormality, jako jsou hilové basální dendrity, nebo rozšiřování mechových vláken granulárních buněk. Tyto změny mohou přispívat k hyperexcitabilitě hipokampu a tvorbě spontánních opakovaných záchvatů, které mají negativní efekt na normální funkci hipokampu.

V chronické fázi TLE je hipokampus poškozen v důsledku záchvatů a neurogeneze je snižena, což by mohlo vést k poškození tvorby paměti, učení a dalším komorbiditám spojeným s hipokampální funkcí a psychickým stavem, jako jsou deprese, úzkosti, schizofrenie a jiné.

Jaké jsou přesné mechanismy vzniku spontánních opakovaných záchvatů a kognitivních poruch zatím není zcela jasné, ale poznatky, uvedené v této práci, umožňují lépe porozumět procesům spojeným s epilepsií a vytvořit adekvátní terapeutická opatření, která povedou k efektivnější léčbě tohoto onemocnění a komorbidit s ním spojených.

## 7. Seznam použité literatury

- Acharya, J.N., 2002. Recent advances in epileptogenesis. *Current Science*, 82(6), pp.679–688.
- Aimone, J.B. et al., 2014. Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. *Physiological Reviews*, 94(4), pp.991–1026. Available at: <http://physrev.physiology.org/cgi/doi/10.1152/physrev.00004.2014>
- Aimone, J.B., Wiles, J. & Gage, F.H., 2010. NIH Public Access. *Neuron*, 61(2), pp.187–202.
- Altman, J. & Das, G.D., 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *The Journal of comparative neurology*, 124(3), pp.319–335.
- Amaral, D.G., Scharfman, H.E. & Lavenex, P., 2007. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in Brain Research*, 163, pp.3–22.
- Andres-Mach, M., Fike, J.R. & Łuszczki, J.J., 2011. Neurogenesis in the epileptic brain: A brief overview from temporal lobe epilepsy. *Pharmacological Reports*, 63(6), pp.1316–1323.
- Aroniadou-Anderjaska, V. et al., 2008. Pathology and pathophysiology of the amygdala in epileptogenesis and epilepsy. *Epilepsy Research*, 78(2-3), pp.102–116.
- Bakker, A. et al., 2010. Pattern Separation in the Human Hippocampal CA3 and Dentate Gyrus. *Science (New York, N.Y.)*, 319(5870), pp.1640–1642.
- Bell, B. et al., 2011. The neurobiology of cognitive disorders in temporal lobe epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 7(3). Available at: <http://www.nature.com/nrneurol/journal/v7/n3/abs/nrneurol.2011.3.html>.
- Bengzon, J. et al., 1997. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(19), pp.10432–10437.
- Bonde, S., Ekdahl, C.T. & Lindvall, O., 2006. Long-term neuronal replacement in adult rat hippocampus after status epilepticus despite chronic inflammation. *European Journal of Neuroscience*, 23(4), pp.965–974.
- Cavazos, J.E., Golarai, G. & Sutula, T.P., 1991. Mossy fiber synaptic reorganization induced

- by kindling: time course of development, progression, and permanence. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 11(9), pp.2795–2803. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=1880549&retmode=ref&cmd=prlinks\papers3://publication/uuid/C67B441F-EE63-4B8C-B08C-EEB7512F5231>.
- Deisseroth, K. et al., 2004. Excitation-neurogenesis coupling in adult neural stem/progenitor cells. *Neuron*, 42(4), pp.535–552.
- Deng, W., Aimone, J.B. & Gage, F.H., 2010. NIH Public Access. *North*, 11(5), pp.339–350.
- Ekdahl, C.T. et al., 2003. Death mechanisms in status epilepticus-generated neurons and effects of additional seizures on their survival. *Neurobiology of Disease*, 14(3), pp.513–523.
- Eriksson, P.S. et al., 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature medicine*, 4(11), pp.1313–1317.
- Esposito, M.S. et al., 2005. Neuronal Differentiation in the Adult Hippocampus Recapitulates Embryonic Development. *Hippocampus*, 25(44), pp.10074 –10086.
- Faigle, R. & Song, H., 2013. Signaling mechanisms regulating adult neural stem cells and neurogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(2), pp.2435–2448.
- Filippov, V. et al., 2003. Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 23(3), pp.373–382.
- Fukuda, S. et al., 2003. Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(28), pp.9357–9366.
- Gage, F.H., 2000. Mammalian Neural Stem Cells. *Science*, 287(5457), pp.1433–1438.
- Ge, S. et al., 2007. A Critical Period for Enhanced Synaptic Plasticity in Newly Generated Neurons of the Adult Brain. *Neuron*, 54(4), pp.559–566.
- Ge, S. et al., 2006. GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature*, 439(7076), pp.589–593. Available at:



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16341203>  
<http://www.nature.com/nature/journal/v439/n7076/pdf/nature04404.pdf>.

- Goddard, G. V, McIntyre, D.C. & Leech, C.K., 1969. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental neurology*, 25(3), pp.295–330.
- Graves, T.D., 2006. Ion channels and epilepsy. *Q J Med*, 99(February), pp.201–217.
- Gray, W.P. & Sundstrom, L.E., 1998. Kainic acid increases the proliferation of granule cell progenitors in the dentate gyrus of the adult rat. *Brain Research*, 790(1-2), pp.52–59.
- Haas, C. a et al., 2002. Role for reelin in the development of granule cell dispersion in temporal lobe epilepsy. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(14), pp.5797–5802.
- Hattiangady, B., Rao, M.S. & Shetty, A.K., 2004. Chronic temporal lobe epilepsy is associated with severely declined dentate neurogenesis in the adult hippocampus. *Neurobiology of Disease*, 17(3), pp.473–490.
- Hattiangady, B. & Shetty, A.K., 2010. Decreased neuronal differentiation of newly generated cells underlies reduced hippocampal neurogenesis in chronic temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, 20(1), pp.97–112.
- Hirose, S., 2006. A new paradigm of channelopathy in epilepsy syndromes: Intracellular trafficking abnormality of channel molecules. *Epilepsy Research*, 70(SUPPL.1), pp.206–217.
- Houser, C.R. et al., 1990. Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(1), pp.267–282.
- Isackson, P.J. et al., 1991. BDNF mRNA expression is increased in adult rat forebrain after limbic seizures: Temporal patterns of induction distinct from NGF. *Neuron*, 6(6), pp.937–948.
- Jakubs, K. et al., 2006. Environment Matters: Synaptic Properties of Neurons Born in the Epileptic Adult Brain Develop to Reduce Excitability. *Neuron*, 52(6), pp.1047–1059.
- Jessberger, S., Nakashima, K., et al., 2007. Epigenetic Modulation of Seizure-Induced Neurogenesis and Cognitive Decline. *Journal of Neuroscience*, 27(22), pp.5967–5975.

Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.0110-07.2007>.

Jessberger, S., Zhao, C., et al., 2007. Seizure-Associated, Aberrant Neurogenesis in Adult Rats Characterized with Retrovirus-Mediated Cell Labeling. *Journal of Neuroscience*, 27(35), pp.9400–9407. Available at:

<http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.2002-07.2007>.

Kempermann, G. et al., 2004. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends in Neurosciences*, 27(8), pp.447–452.

Kempermann, G., 2002. Why New Neurons ? Possible Functions for Adult Hippocampal. *The Journal of Neuroscience*, 22(3), pp.635–638. Available at: <http://www.jneurosci.org/content/22/3/635.short>.

Kron, M.M., Zhang, H. & Parent, J.M., 2010. The Developmental Stage of Dentate Granule Cells Dictates Their Contribution to Seizure-Induced Plasticity. *Journal of Neuroscience*, 30(6), pp.2051–2059. Available at: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.5655-09.2010>.

Kuruba, R., Hattiangady, B. & Shetty, A.K., 2010. Hippocampal Neurogenesis and Neural Stem Cells in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Behaviour*, 14(Suppl 1), pp.65–73.

Li, Y. et al., 2012. Development of GABAergic inputs controls the contribution of maturing neurons to the adult hippocampal network. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(11), pp.4290–4295. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=22371596&retmode=ref&cmd=prlinks\papers3://publication/doi/10.1073/pnas.1120754109>.

Liu, X.S. et al., 2000. Morphologic and electrophysiologic maturation in developing dentate gyrus granule cells. *Brain Research*, 856(1-2), pp.202–212.

Marin-Burgin, A. et al., 2012. Unique Processing During a Period of High Excitation/Inhibition Balance in Adult-Born Neurons. *Science*, 335(6073), pp.1238–1242. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3385415&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

Mathern, G.W. et al., 2002. Seizures decrease postnatal neurogenesis and granule cell development in the human fascia dentata. In *Epilepsia*. pp. 68–73.

Mathews, E.A. et al., 2010. A distinctive layering pattern of mouse dentate granule cells is

- generated by developmental and adult neurogenesis. *Journal of Comparative Neurology*, 518(22), pp.4479–4490.
- Ming, G.-L. & Song, H., 2005. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annual Review of Neuroscience*, 28, pp.223–250. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=16022595&retmode=ref&cmd=prlinks\papers3://publication/doi/10.1146/annurev.neuro.28.051804.101459>.
- Mohapel, P., Ekdahl, C.T. & Lindvall, O., 2004. Status epilepticus severity influences the long-term outcome of neurogenesis in the adult dentate gyrus. *Neurobiology of Disease*, 15(2), pp.196–205.
- Murphy, B.L. et al., 2011. Heterogeneous integration of adult-generated granule cells into the epileptic brain. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(1), pp.105–117.
- Nottebohm, F., 2002. Why are some neurons replaced in adult brain? *The Journal of neuroscience*, 22(3), pp.624–628.
- O'Donoghue, M.F. et al., 1999. Assessing the psychosocial consequences of epilepsy: A community-based study. *British Journal of General Practice*, 49(440), pp.211–214.
- Overstreet-Wadiche, L.S., Bensen, A.L. & Westbrook, G.L., 2006. Delayed development of adult-generated granule cells in dentate gyrus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(8), pp.2326–2334.
- Overstreet-wadiche, L.S., Tsirka, S.E. & Maletic-savatic, M., 2014. NIH Public Access. , 7(4), pp.483–495.
- Parent, J.M. et al., 2006. Aberrant seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy. *Annals of Neurology*, 59(1), pp.81–91.
- Parent, J.M. et al., 1997. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(10), pp.3727–3738.
- Parent, J.M. et al., 1999. Inhibition of dentate granule cell neurogenesis with brain irradiation does not prevent seizure-induced mossy fiber synaptic reorganization in the rat. *The*

*Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(11), pp.4508–4519. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10341251&retmode=ref&cmd=prlinks\npapers3://publication/uuid/EAF2C345-AED3-4485-B55D-A263A07C560C>.

Pekcec, A. et al., 2007. Impact of the PSA-NCAM system on pathophysiology in a chronic rodent model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 27(1), pp.54–66.

Pierce, J.P. et al., 2005. Mossy fibers are the primary source of afferent input to ectopic granule cells that are born after pilocarpine-induced seizures. *Experimental Neurology*, 196(2), pp.316–331.

Pirttilä, T.J. et al., 2005. Cystatin C expression is associated with granule cell dispersion in epilepsy. *Annals of Neurology*, 58(2), pp.211–223.

van Praag, H. et al., 2002. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, 415(6875), pp.1030–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11875571>.

Radley, J.J. & Jacobs, B.L., 2003. Pilocarpine-induced status epilepticus increases cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats via a 5-HT1A receptor-dependent mechanism. *Brain Research*, 966(1), pp.1–12.

Ribak, C.E. et al., 2000. Status epilepticus-induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *Journal of Comparative Neurology*, 428(2), pp.240–253.

Sahay, A., Wilson, D.A. & Hen, R., 2011. Pattern Separation: A Common Function for New Neurons in Hippocampus and Olfactory Bulb. *Neuron*, 70(4), pp.582–588.

Scott, B.W. et al., 1998. Kindling-induced neurogenesis in the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience Letters*, 248(2), pp.73–76.

Scharfman, H. et al., 2005. Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Experimental Neurology*, 192(2), pp.348–356.

Scharfman, H.E., 2002. Epilepsy as an example of neural plasticity. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 8(2), pp.154–173.

- Scharfman, H.E., Goodman, J.H. & Sollas, A.L., 2000. Granule-Like Neurons at the Hilar / CA3 Border after Status Epilepticus and Their Synchrony with Area CA3 Pyramidal Cells : Functional Implications of Seizure-Induced Neurogenesis. , 20(15), pp.6144–6158.
- Scharmann, H., Goodman, J. & McCloskey, D., 2007. Ectopic Granule Cells of the Rat Dentate Gyrus. *Developmental neuroscience*, 29, pp.14–27.
- Schinder, A.F. & Gage, F.H., 2004. A hypothesis about the role of adult neurogenesis in hippocampal function. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 19, pp.253–261.
- Schmidt-Hieber, C., Jonas, P. & Bischofberger, J., 2004. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature*, 429(6988), pp.184–187.
- Sloviter, R.S. & Bumanglag, A. V., 2013. Defining “epileptogenesis” and identifying “antiepileptogenic targets” in animal models of acquired temporal lobe epilepsy is not as simple as it might seem. *Neuropharmacology*, 69, pp.3–15.
- Song, J. et al., 2012. Modification of hippocampal circuitry by adult neurogenesis. *Developmental Neurobiology*, 72(7), pp.1032–1043.
- Spigelman, I. et al., 1998. Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 86(1), pp.109–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9692747>.
- Sutula, T.P. & Dudek, F.E., 2007. Unmasking recurrent excitation generated by mossy fiber sprouting in the epileptic dentate gyrus: an emergent property of a complex system. *Progress in Brain Research*, 163(07), pp.541–563.
- Tauck, D.L. & Nadler, J. V, 1985. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 5(4), pp.1016–1022. Available at: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=3981241&retmode=ref&cmd=prlinks\npapers3://publication/uuid/E0AB67E6-5D74-4918-9DD2-99401E06A0A1>.
- Toni, N. et al., 2007. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nature neuroscience*, 10(6), pp.727–734.
- Tóth, K. & Maglóczy, Z., 2014. The vulnerability of calretinin-containing hippocampal interneurons to temporal lobe epilepsy. *Frontiers in neuroanatomy*, 8(September), p.100.

Available at:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4179514&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

Walter, C. et al., 2007. Pilocarpine-Induced Seizures Cause Selective Time- Dependent Changes to Adult-Generated Hippocampal Dentate Granule Cells. *Microscopy*, 27(28), pp.7541–7552.

Williams, P.A. et al., 2009. Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci*, 29(7), pp.2103–2112.

Yin, Y.H., Ahmad, N. & Makmor-Bakry, M., 2013. Pathogenesis of epilepsy: Challenges in animal models. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(11), pp.1119–1132.

Zhan, R.-Z., Timofeeva, O. & Nadler, J.V., 2010. High ratio of synaptic excitation to synaptic inhibition in hilar ectopic granule cells of pilocarpine-treated rats. *Journal of neurophysiology*, 104(6), pp.3293–3304.

Zhao, C. et al., 2006. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(1), pp.3–11.

Zhao, S. et al., 2004. Reelin is a positional signal for the lamination of dentate granule cells. *Development (Cambridge, England)*, 131(20), pp.5117–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15459104>.