

Comparison of motor end-plate numbers, motor axons numbers, and average motor unit size between the normal and dystrophic soleus muscles of the mouse

	Number of motor end-plates	Number of myelinated axons	Estimated number of motor axons	Average motor unit size
Normal	237 ± 33 (9)	72 ± 5 (6)	25 ± 2 (6)	9
Dystrophic	210 ± 44 (6)	58 ± 2 (8)	20 ± 1 (8)	10
<i>t</i> -test (one-tailed)	N.S.	0.01	0.01	

Mean values are given with standard deviations. The numbers of muscles or nerves used are quoted in brackets. N.S., not significant.

and the dystrophic soleus muscles. The histochemical technique followed that of GINSBORG and MACKEY<sup>6</sup>. The numbers of nerve axons supplying the normal and the dystrophic soleus muscle were determined and compared, using a modification of RANVIER's gold chloride method<sup>7</sup>. These axons comprised myelinated somatic afferent and efferent fibres<sup>8,9</sup> of which 36% were estimated to be motor<sup>4,10</sup>.

*Results and discussion.* Some functionally denervated fibres which were impaled at several different places along their length showed localized end-plate potentials or abortive spikes when the nerve was stimulated. The amplitudes of these potentials decreased with increasing distance from the end-plate region. Abnormal neuromuscular transmission is indicated for such fibres.

The end-plates in the dystrophic soleus muscles were sometimes relatively irregular in size and shape, with a shrunken and granulated appearance. Individual muscle fibres with two end-plates were occasionally seen (Figure c).

The mean number of motor end-plates for the normal soleus muscle was slightly greater than that for the dystrophic soleus, although the difference was not statistically significant (Table). Since the numbers of muscle fibres reported for normal and dystrophic mouse soleus muscles are about 800 and 400 respectively<sup>11</sup>, it seems likely that not all end-plates were stained and counted in the present study. Thus, the figures represent comparative, rather than absolute values.

The nerve supplying the normal soleus muscle had significantly more axons than the nerve to the dystrophic muscle (Table). An estimate of the average size of the motor units, made by taking the ratio of observed motor end-plates to motor axons, gave a slightly greater motor unit size for the dystrophic muscle.

It is possible that in the dystrophic mouse, the motor nerve fibres which do not disappear during dystrophy, sprout in the terminal regions to provide nearby denervated fibres with trophically effective, but functionally incomplete, innervation. This would explain the previous finding that surgical denervation leads to change in membrane resistance in fibres throughout the muscle, while functional denervation does not<sup>5</sup>. The phenomenon of axonal sprouting has been reported in partially denervated muscle<sup>12</sup> and in humans with certain neuromuscular diseases<sup>13,14</sup>.

About 62% of the motor axons were estimated to have degenerated in the nerve supplying the 'fast' tibialis anterior muscle of the dystrophic mouse<sup>3,4</sup>, compared with only 20% for the 'slow' soleus muscle. This result indicates that the motoneurons innervating a 'fast' muscle degenerate faster than those innervating a 'slow' one during the course of dystrophy. This conclusion is consistent with fact that the 'red' muscles are less susceptible to dystrophy than the 'white' ones<sup>15</sup>.

*Zusammenfassung.* Nachweis, dass im M. soleus dystropher Mäuse die Zahl motorischer Endplatten normal ist, dass jedoch eine verminderte Zahl motorischer Axone vorhanden ist. Einige Muskelfasern zeigen anstelle von Aktionspotentialen lokale Endplattenpotentiale. Es wird angenommen, dass nach Verlust der ursprünglichen Innervation, dystrophische Muskelfasern von kollateralen Zweigen vorhandener Motoneuronen innerviert werden.

P. K. LAW and H. L. ATWOOD<sup>16</sup>

*Department of Zoology, University of Toronto,  
25 Harbord Street, Toronto 5, (Ontario, Canada),  
20 March 1973.*

<sup>6</sup> B. L. GINSBORG and B. MACKEY, *Bibl. Anat.* 2, 174 (1960).

<sup>7</sup> L. RANVIER, *Q. Jl microsc. Sci.* 20, 456 (1880).

<sup>8</sup> J. B. HARRIS, C. WALLACE and J. WING, *J. Neurol. Sci.* 15, 245 (1972).

<sup>9</sup> I. A. BOYD and M. R. DAVEY, in *Composition of Peripheral Nerves* (Livingstone; Edinburgh and London 1968), p. 1.

<sup>10</sup> I. A. BOYD and M. R. DAVEY, in *Composition of Peripheral Nerves* (Livingstone; Edinburgh and London 1968), p. 37.

<sup>11</sup> R. W. D. ROWE and G. GOLDSPIK, *J. Anat.* 104, 531 (1969).

<sup>12</sup> M. V. EDDS, JR., *J. exp. Zool.* 113, 517 (1950).

<sup>13</sup> C. COERS and A. L. WOLF, *The Innervation of Muscle: A Biopsy Study* (Blackwell Scientific Publications, Oxford 1959).

<sup>14</sup> R. E. P. SICA and A. J. MCCOMAS, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 34, 469 (1971).

<sup>15</sup> O. W. TIEGS, *Physiol. Rev.* 33, 90 (1953).

<sup>16</sup> We thank Dr. A. J. MCCOMAS for helpful discussion. This work was supported by grants and scholarships from the National Research Council of Canada and the Muscular Dystrophy Association of Canada. P. K. LAW is presently a MDAC postdoctoral fellow in the Department of Neurology, McMaster University Medical Centre, Hamilton 16, Ontario, Canada.

## Kreisende kortikale Potentialfelder beim epileptischen Anfall

Die bioelektrische Tätigkeit beim epileptischen Anfall zeichnet sich durch eine weitgehende Homogenität des elektrischen Musters über grösseren Hirnrindenarealen aus. Analysen der Phasenbeziehungen dieser Tätigkeit<sup>1-4</sup> haben jedoch ergeben, dass sich die den EEG-

Wellen zugrunde liegenden Potentialfelder mit Geschwindigkeiten im cm/sec bis dm/sec Bereich über die Hirnrinde verschieben. Die Ursache dieses Phänomens ist noch nicht geklärt. Zwei Möglichkeiten kommen in Betracht: Einerseits eine sukzessive Anregung von nur

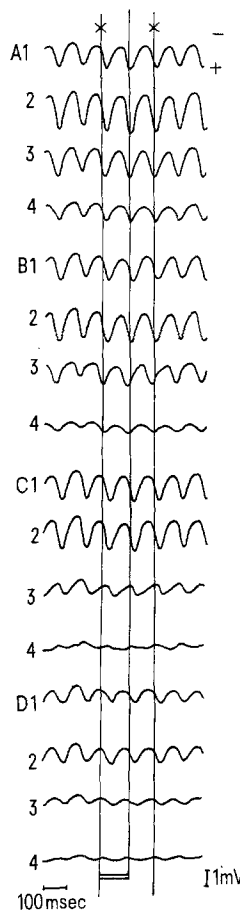
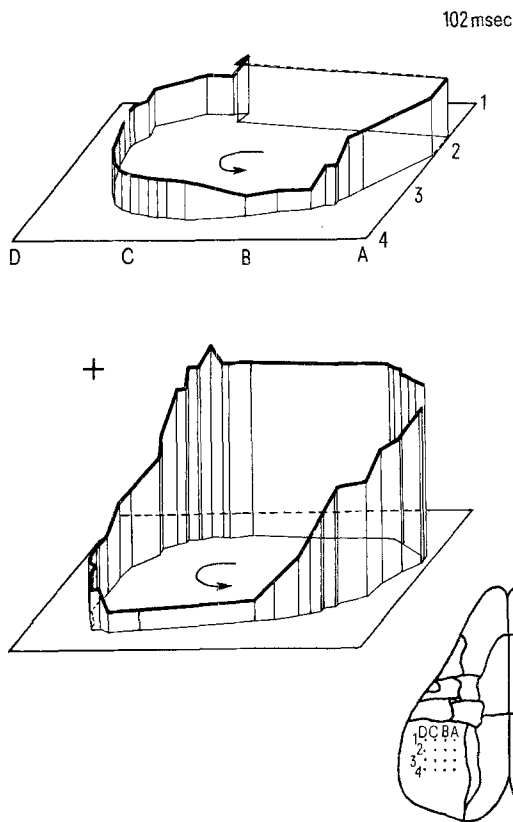


Fig. 1. Dreidimensionale Darstellung der kreisförmigen Bewegung negativer und positiver Potentialmaxima während des epileptischen Anfalls des Kaninchens. Rechts: EEG-Kurven (16-Kanal-Schwarzer-Gerät) und Elektrodenposition. Links: Darstellung der Bewegung des negativen (oben) und positiven Potentialmaximums (unten). Kreisbewegung gegen den Uhrzeigersinn. Die Amplitudenmaxima wurden alle 2 msec als Ordinaten perspektivisch über dem Ableitquadrat dargestellt. Das positive Maximum ändert seine Amplitude während der Bewegung, das negative bleibt annähernd gleich. Die Verschiebung erfolgt in transversaler Richtung rascher als in longitudinaler.

wenigen, räumlich voneinander getrennten Generatoren<sup>5</sup>, wodurch eine Wellenausbreitung vorgetäuscht wird, oder aber eine kontinuierliche Verschiebung der Potentialfelder in der Hirnrinde («travelling waves»<sup>3,4</sup>). Um diese Frage zu klären, wurde eine Methode zur Darstellung der Äquipotentiallinien von 16 im Quadrat angeordneten Elektroden entwickelt<sup>3,6</sup>. Um einheitliche morphologische Bedingungen zu haben, wurde mit diesen Elektroden (0.3 mm Ø) von einer Fläche von 9 mm<sup>2</sup> (Elektroden-

abstand 1 mm) von der Area striata gegen eine Referenzelektrode abgeleitet. Anfälle wurden am kurarisierten, künstlich beatmeten Kaninchen durch intrakortikale (2.0 mm Tiefe) Applikation von 0.05 cm<sup>3</sup> einer 1 M Lösung von Natrium Penicillin G in die Mitte der Ableitregion erzeugt. Untersucht wurden vorwiegend rhythmische Anfallstätigkeiten (tonisches Muster).

Figur 1 zeigt rechts einen Ausschnitt aus einer solchen, mit 12 cm/sec registrierten tonischen Tätigkeit, die aus sehr regelmässigen, arkadenförmigen Wellen von 10 Hz besteht. Bei dieser hohen Registriergeschwindigkeit sind die Phasenverschiebungen bereits in den EEG-Kurven deutlich zu sehen.

Der mit Stern markierte Zeitabschnitt der Registrierung wurde in 2 msec-Abschnitte zerlegt, die 16 analogen EEG-Kurven digitalisiert und diese Werte einem Computer (IBM 360/44) zur Berechnung und zum Ausdruck der Äquipotentiallinien zugeführt<sup>6</sup>.

Ein Beispiel eines Ausdruckes in räumlicher Darstellung bringt Figur 2. Sie zeigt jenen Augenblick, in dem sich das positive Maximum des Potentialfeldes etwa über

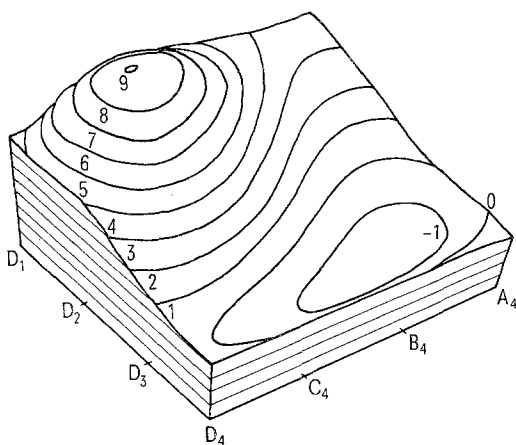


Fig. 2. Räumliche Darstellung eines positiven Potentialfeldes (Abstand zwischen zwei Äquipotentiallinien 120 µV). Das positive Maximum über Elektrode C2 ist annähernd kreisrund, während die negative Senke mit dem Maximum eine nierenförmige Konfiguration aufweist.

1 H. PETSCHÉ, *Ideggyógyászati Szemle* 22, 49 (1969).  
 2 H. PETSCHÉ und J. C. SHAW, *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* (Ed. H. PETSCHÉ; Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1972), vol. 5, part B.  
 3 H. PETSCHÉ, P. RAPPÉLSBERGER und R. TRAPPL, *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 29, 567 (1970).  
 4 H. PETSCHÉ und J. STERC, *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 25, 11 (1968).  
 5 A. REMOND, *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, suppl. 27, 7, 29 (1968).  
 6 R. TRAPPL, *Experientia* 26, 329 (1970).

Elektrode C2 befindet. Die Zahlenangaben der Äquipotentiallinien entsprechen Stufen von 120  $\mu$ V. Nach dieser Darstellung wird die positive Welle im EEG durch einen annähernd konzentrischen, relativ steilen Potentialberg gebildet, während die negative Senke einem flachen, nierenförmigen Trog entspricht.

Die zeitliche Verschiebung der positiven und negativen Potentialmaxima für eine Welle wurde in 2 msec-Intervallen, mit den entsprechenden Amplituden als Ordinaten räumlich dargestellt, auf der linken Seite von Figur 1 wiedergegeben. Sowohl das negative als auch das positive Potentialmaximum verschieben sich innerhalb einer Welle im Gegensinn des Uhrzeigers; diese Bewegungsrichtung bleibt konstant, solange sich die EEG-Tätigkeit nicht ändert. Dabei ist die topographische Verteilung der positiven und der negativen Maxima ungleich: Während sich die Höhe des negativen Potentialmaximums während seiner Kreisbahn nur wenig ändert, zeigen die positiven Feldgipfel Maxima über den anterioren Elektroden des Ableitequadrates und Minima posterior. Die Geschwindigkeit ist nicht gleichförmig. Sie beträgt im Durchschnitt 7.2 cm/sec. An einigen Orten bleibt das Potentialmaximum stationär oder verschiebt sich nur sehr langsam; an anderen wieder kommt es zu relativ raschen Verschiebungen (63 cm/sec), wobei jedoch die aufeinanderfolgenden Äquipotentialbilder eindeutig zeigen, dass es sich nicht um eine kontinuierliche Verschiebung handeln kann, sondern um die Anregung eines zweiten Potentialfeldes handelt. Solche Diskontinuitäten in der Ausbreitung sind besonders deutlich zu sehen, wenn sich der Gipfel des positiven Feldes von Elektrode B2 nach C2 und von C3 nach B3 verschiebt.

Dieser Befund gewährt einen Einblick in den Mechanismus der Synchronisierung der EEG-Tätigkeit im

epileptischen Anfall. Einerseits zeigt er, dass der regelmässigen EEG-Tätigkeit auch ein regelmässiges, spatio-temporales Verhalten von Potentialfeldern entspricht, ferner, dass dabei mehrere und relativ umschriebene Felder (der Durchmesser der positiven Felder beträgt 3 mm) sowohl stationär bleiben, als auch sich kontinuierlich verschieben («travelling waves») oder andere Potentialfelder zur Entstehung anregen können; die Gestalt der positiven Felder weicht von denen der negativen ab, und auch die topographische Amplitudenverteilung beider Felder ist nicht identisch (eine weitere Bestätigung für die bereits mehrmals geäusserte Vermutung, positiven und negativen Phasen des EEGs entsprechen verschiedene physiologische Phänomene)<sup>7</sup>.

Nach diesem Befund dürften bei der Synchronisierung selbst so regelmässiger Anfallsformen wie der tonischen Muster in morphologisch einheitlichen Strukturen komplexe Mechanismen zusammenwirken.

*Summary.* The circular movement of cortical potential fields during epileptic seizures of the rabbit, evoked by intracortical application of penicillin, is described.

R. VOLLMER, H. PETSCHKE, O. PROHASKA,  
P. RAPPELSBERGER und A. KAISER

*Hirnforschungsinstitut der Österreichischen Akademie der Wissenschaften und Neurologisches Institut der Universität, Schwarzspanierstrasse 17, A-1090 Wien (Österreich), 6. August 1973.*

<sup>7</sup> J. CALVET, M. C. CALVET und J. SCHERRER, *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 17, 109 (1964).

## The Effects of Lithium and Methacholine on the Intracellular Ionic Composition of Goose Salt Gland Slices: Relation to Sodium and Chloride Transport

The salt glands of euryhaline birds produce a hypertonic solution consisting mainly of sodium chloride. During secretion sodium is actively transported from the inside of the secretory cell across the apical cell membrane into the lumen of the tubule; chloride probably follows passively<sup>1,2</sup>. The entry of  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  into the secretory cell across the baso-lateral membrane may not be by a process of simple diffusion but rather by carrier-mediated exchanges of  $\text{Na}^+$  for  $\text{H}^+$  and  $\text{Cl}^-$  for  $\text{HCO}_3^-$ . If this is in fact the mechanism, then  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  influx would depend on the production of carbon dioxide and a close link between cellular respiration and  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  entry would be expected. Low concentrations of  $\text{Li}^+$  stimulate respiration of salt-gland slices *in vitro*<sup>3</sup> but do not stimulate salt-gland secretion when infused *i.v.* in anesthetized geese, which infers that  $\text{Li}^+$  does not stimulate the sodium pump on the luminal membrane of the cell. Therefore the presence of  $\text{Li}^+$  appears to dissociate cellular respiration from secretory activity and, under such conditions, changes in  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  movements into the cell might be evident; this we have found to be the case. Since secretion is induced by cholinergic nerves, the effects of the cholinomimetic drug methacholine also have been studied in slices incubated with low concentrations of  $\text{Li}^+$  in the medium.

The methods used for studying the intracellular composition of salt-gland slices *in vitro* have been described previously<sup>4</sup>. Slices of salt gland from each goose were divided into two batches and incubated separately. All were pre-incubated for 15 min in Krebs-bicarbonate

medium at 41°C and then <sup>14</sup>C-sucrose was added for the determination of extracellular space<sup>1</sup>. 20 min later (sufficient time for the labelled sucrose to reach equilibrium in the slices<sup>1</sup>)  $\text{LiCl}$  was added to achieve a concentration of 10 mM in the medium. In one series of experiments the tissue was exposed to  $\text{Li}^+$  for 10 min, and to one of each pair of tubes methacholine (0.33 mM<sup>4</sup>) was added at the same time as the  $\text{LiCl}$ . In the other series methacholine was added 10 min after the  $\text{LiCl}$  and incubation continued for a further 10 min. After incubation the tissue was treated and analysed as described previously<sup>4,5</sup>.

With 10 mM- $\text{LiCl}$  in the medium, intracellular  $[\text{Na}]$ ,  $[\text{K}]$  and  $[\text{Cl}]$  were all increased, the change being significant for  $[\text{Na}]$  and  $[\text{Cl}]$  but not significant for  $[\text{K}]$ . When methacholine was also present, intracellular  $[\text{Na}]$  and  $[\text{Cl}]$  were not significantly different compared with control slices incubated without  $\text{LiCl}$  (Table). In other words methacholine reversed the effect of the added  $\text{LiCl}$ . The changes observed with  $\text{LiCl}$  were not obtained with an additional 10 mmol/l  $\text{NaCl}$  in the medium. The mean differences for both intracellular  $[\text{Na}]$  and  $[\text{Cl}]$  between slices incubated in  $\text{LiCl}$  and  $\text{LiCl}$  plus methacholine

<sup>1</sup> M. PEAKER, *J. Physiol., Lond.* 213, 399 (1971).

<sup>2</sup> M. PEAKER, *Phil. Trans. R. Soc., B* 262, 289 (1971).

<sup>3</sup> A. BORUT and K. SCHMIDT-NIELSEN, *Am. J. Physiol.*, 204, 573 (1963).

<sup>4</sup> G. D. V. VAN ROSSUM, *Biochim. biophys. Acta* 126, 338 (1966).

<sup>5</sup> M. PEAKER and S. J. STOCKLEY, *Nature, Lond.* 243, 297 (1973).