

## Mikroelektroden-Untersuchung der neocorticalen paroxysmalen Vorgänge nach Hippocampus-Reiz bei der Katze

D. A. IONESCU\*, N. SOTIRESCU und V. VOICULESCU

Institut für Neurologie der Akademie der  
Sozialistischen Republik Rumänien, Bukarest

Eingegangen am 15. Juni 1967

Die genauen Beziehungen zwischen den langsamem EEG- oder ECG-Wellen (wobei wir die von AJMONE-MARSAN [2] den „langsamem Wellen“ [L.W.] gegebene Bezeichnung als sinnvoll übernehmen) und neuronaler Zellentladungen (N.E.) sind noch nicht abschließend geklärt. Jedenfalls stimmen immer mehr Autoren [2, 6, 9, 15—18, 20, 21] darin überein, daß zwischen diesen zwei elektrischen Vorgängen eine enge Beziehung besteht; diese Beziehung wurde auch im Falle der Epilepsie in verschiedenen experimentellen Ansätzen untersucht.

AJMONE-MARSAN u. ENOMOTO [1, 6] haben gezeigt, daß in neocorticalen epileptischen Herden die Entladungen von 99% der Neurone in einem bestimmten zeitlichen Verhältnis zu den paroxysmalen L.W. stehen, während im sekundären Herd des kontralateralen Neocortex, auf den die Paroxysmen über den Balken übertragen werden, eine zeitliche Beziehung der spikes zu den L.W. nur bei 38% der Neurone nachgewiesen wurde [1]. Ausgehend von diesem erheblichen Unterschied zwischen dem primären und dem sekundären epileptischen Herd erschien uns interessant zu klären, ob Unterschiede auch zwischen verschiedenen Arten von sekundären Herden nachweisbar sind. Nach bekannten Untersuchungen [5, 8, 10, 13, 16, 21—23] hat der Hippocampus bestimmte Besonderheiten in der Entstehung und Übertragung paroxysmaler Vorgänge. Im Hinblick auf diese Besonderheiten des Hippocampus haben wir experimentell einen epileptischen Herd im Hippocampus gesetzt, und im (entfernten) sekundären neocorticalen Herd, zu dem die Paroxysmen vom Hippocampus projiziert werden, die elektrischen Vorgänge untersucht und Beziehungen zwischen neuronalen Entladungen und langsamem Wellen aufgestellt. So haben wir Unterschiede zwischen dem sekundären transcallosal übertragenen Herd und dem aus einer entfernten Ammons-horn-Struktur projizierten neocorticalen Herd feststellen können.

\* Zur Zeit am Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Neuroanatomische Abteilung, Frankfurt am Main.

### Methode

22 Katzen wurden nach einer vorübergehenden Äthernarkose und nach Umspritzung der Weichteile mit Novocain operativ vorbereitet, dann mit Flaxedil gelähmt und unter Blutdruckdauermessung künstlich beatmet. Schädelknochen und Dura wurden über dem Gyrus ectosylvius medius entfernt. Die Hirnpulsationen beseitigten wir durch cisternale Drainage und durch leichtes Pressen des Cortex mit einem Kunststoffplättchen an der Ableitstelle.

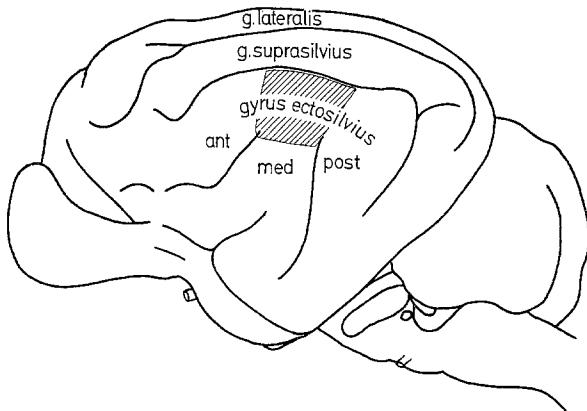


Abb. 1. Die schraffierte Fläche zeigt das Gebiet der Ableitungen im Gyrus ectosylvius medius

Die Makroelektrode bestand aus einem an der Unterfläche des Kunststoffplättchens eingelegten Silberdrahtring von  $2\text{ mm } \varnothing$  für die Ableitung der elektrischen Hirnoberflächengesamtorgänge. Zur extracellulären Ableitung benutzten wir mit 3M-KCl-Lösung gefüllte Glaspipetten von etwa  $1\text{ }\mu$  Spitzendurchmesser. Der Silberdrahtring lag um ein kleines in das Kunststoffplättchen gebohrtes Loch, durch welches die Mikroelektrode im Hirn eindrang, so daß jede untersuchte Zelle der durch die Ringelektrode abgeleiteten Zellengruppe angehörte. Die Ableitungen erfolgten unipolar von der Oberfläche und aus der Tiefe des Gyrus ectosylvius medius (Abb. 1) gegen eine indifferente Elektrode an der Nackenmuskulatur.

Das ECG und die durch eine Kathodenfolgeanlage vorverstärkte N.E. wurden gleichzeitig von einem Tönnies-Zweistrahl-Oscillographen fotografiert. Zur Erzeugung des epileptischen Herdes wurden 1000 IE Penicillin in  $0,1\text{ cm}^3$  Flüssigkeit gelöst; diese Menge spritzten wir stereotaktisch in den gleichzeitig zur Ableitung liegenden dorsalen Hippocampus, mit den Koordinaten  $A = 4$ ;  $L = 5,5 - 6$ ;  $T = 8 - 8,5$ , aus dem Atlas von JASPER u. AJMONE-MARSAN [12] (Abb. 2).

### Ergebnisse

Von den 421 untersuchten Neuronen konnten wir bei 345 (82%) Beziehungen zwischen den extracellulär abgeleiteten Entladungen und den epileptiformen langsamen Wellen aufdecken (Abb. 3).

1. Die größte Gruppe von 315 Neuronen (75%) entlud spikes in einem bestimmten zeitlichen Verhältnis zu den L.W., und zwar meistens einen einzigen spike gleichzeitig mit einer bestimmten Phase der elektrischen

Hirnoberflächenaktivität, sowohl der ictalen (Abb. 4 A und 4 B; Abb. 5 — Neuronen 1 und 2) als auch der interiktalen (Abb. 4 C) langsamten Wellen.

Andere Neurone entluden entweder mehrere spikes gleichzeitig mit den L.W. (Abb. 5 — Neuron 3 und 4) oder modulierten ihre Frequenz in Beziehung zum zeitlichen Ablauf der L.W. (Abb. 5 — Neuron 5).

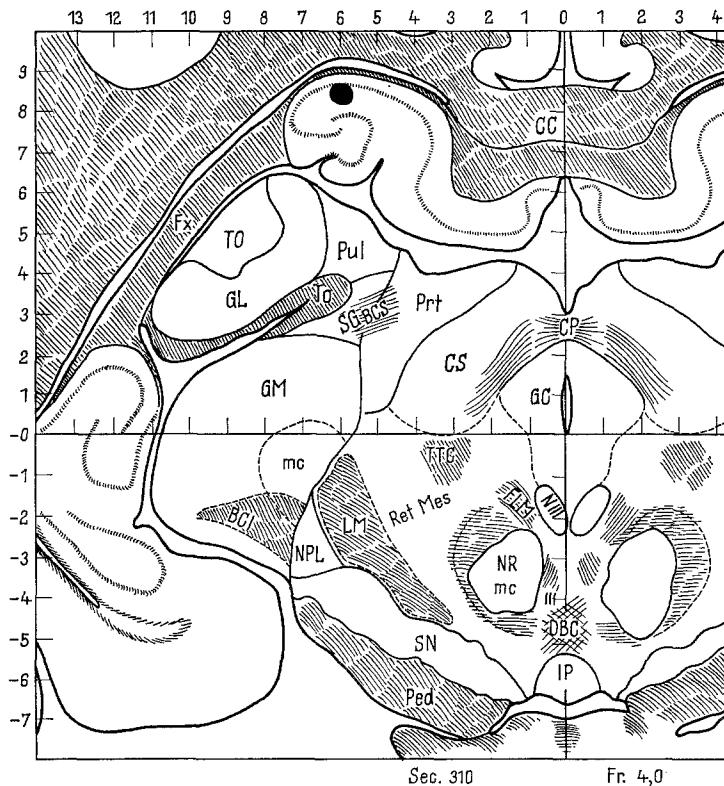


Abb. 2. Der Punkt zeigt die Lokalisation des primären Penicillin-Herdes im dorsalen Hippocampus; stereotaktische Koordinaten A = 4; L = 5,5–6; T = 8–8,5. Nach dem Atlas von JASPER u. AJMONE-MARSAN [12]

Eine übliche Erscheinung war die fortschreitende Synchronisierung der spikes mit den langsamten Wellen. Mit fortschreitender Entwicklung des Krampfes ging die Entladungsfrequenz der Neuronen zurück und rhythmisierte sich, bis schließlich, wie in der Mehrzahl der Fälle, ein spike mit jeder L.W. auftrat (Abb. 6 A—D).

2. Gegenüber dieser Mehrheit von 75% der untersuchten Neurone, die durch eine Synchronisierung ihrer Entladungen mit dem L.W. gekennzeichnet waren, fand sich eine Gruppe von 30 Neuronen (7%), die nicht durch Synchronisation gekennzeichnet war; sie wiesen während der Ent-

wicklung des epileptischen elektrischen Krampfes komplexere Änderungen ihres Entladungsmusters auf. Die Entladungen einiger Neurone dieser Gruppe, welche während des epileptischen Krampfes verhältnismäßig gleichzeitig mit den L.W. auftraten, liefen in einigen Salven auch während der inter- oder postkritischen sogenannten „elektrischen Stille“ fort, um später im Laufe dieser Stille ganz aufzuhören (Abb. 7 — Zeile 1 A und 1 B). Andere Neurone (Abb. 7 — Zeile 2 A und 2 B) entluden spikes

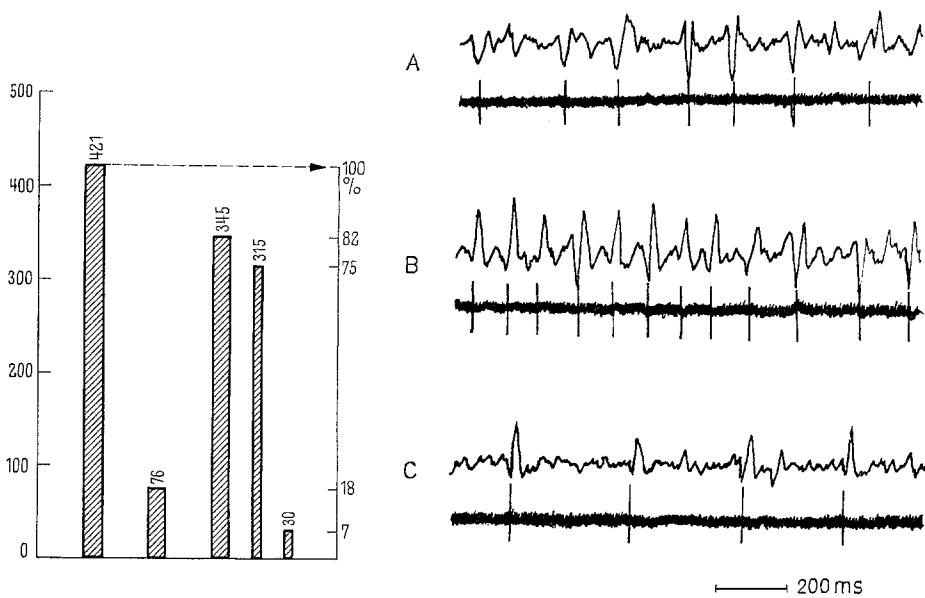


Abb. 3

Abb. 4

Abb. 3. Von den insgesamt 421 untersuchten Neuronen (100%) bestand bei 76 keine Beziehung zwischen N.E. und L.W. Bei 345 Neuronen bestand eine solche Beziehung: 315 Neurone entluden in bestimmtem zeitlichem Verhältnis zu den L.W., bei 30 Neuronen wurden verschiedene Beziehungen aufgedeckt (siehe Text)

Abb. 4. Drei neocorticale Neurone (A.B.C.), die je einen spike synchron mit den langen ECG-Wellen entladen. In dieser und den folgenden Abbildungen stellt jeweils die obere Spur die Hirnoberflächengesamttableitung, die untere Spur die extracelluläre Mikroelektrodenableitung von G. ectosylvius medius dar. Positive Schwankungen abwärts

in isolierten Salven eine gewisse Zeitlang während der Anfangsperiode des elektrischen Krampfes, entluden dann während der eigentlichen Krampfperiode nicht, und ihre Entladung setzte mit verhältnismäßig häufigen spikes ohne Gruppierung während der elektrischen postparoxysmalen Stille wieder ein. Die „spontanen“ Entladungen normaler Frequenz anderer Neurone (Abb. 7 — Zeile 3) setzten während der Entwicklung der interiktalen Welle für 200—280 msec aus und liefen dann unverändert,

manchmal mit einem „rebound“, fort. In allen Versuchen lagen die Einheiten, die dieses Verhalten zeigten, sämtlich tiefer als 1800  $\mu$ , wahrscheinlich gehörten sie zu den Schichten V und VI der Hirnrinde des Gyrus ectosylvius.

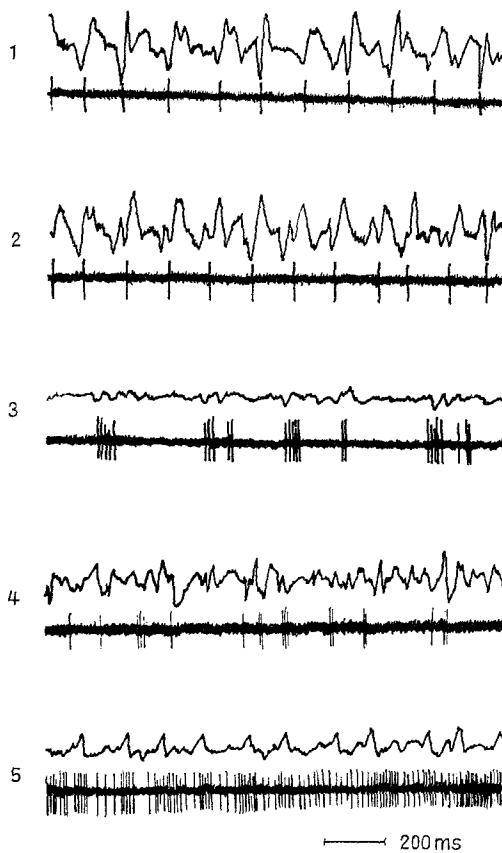


Abb. 5. Fünf vom epileptischen Vorgang verschieden beeinflußte Neurone, die folgendermaßen synchron mit den langsam Wellen entladen: Neuron 1 und 2 je einen spike, Neurone 3 und 4 spike-Gruppen, Neuron 5 entlädt frequenzmodulierte spikes

3. Die Spontanentladung einer Zahl von 76 (18%) der 421 untersuchten Neurone wurde offensichtlich während keiner Phase des epileptiformen Krampfes und auch nicht während der inter- oder postkrisischen Stille beeinflußt. Wir erwähnen, daß die Entladungen aller anderen Neurone während dieser elektrischen Stille aufhörten, ausgenommen die in diesem Sinne schon beschriebenen Neurone, die auch während der elektrischen Stille entluden (Abb. 7 — Neurone 1A, 1B und 2A, 2B).

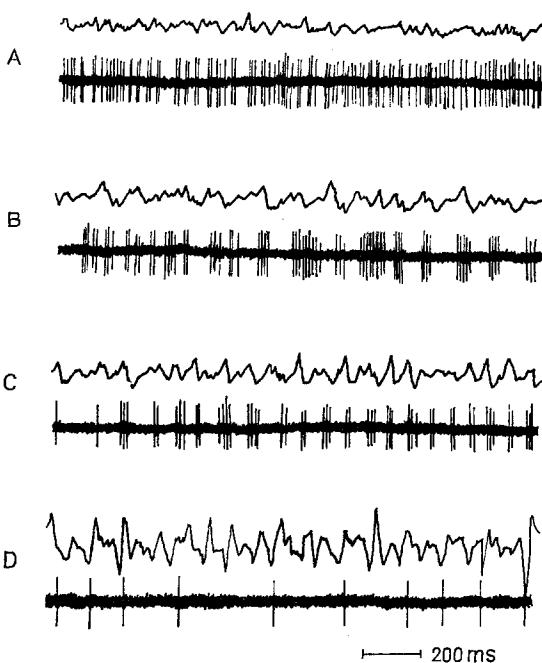


Abb. 6. Vier Stadien (A—D) in der Entwicklung eines epileptischen Krampfes (siehe Text)

4. Die Verteilung der Entladungsfrequenzen aller untersuchten Neurone in diesem experimentellen Muster der neocorticalen Epilepsie lag im Bereich von drei Gipfeln der Häufigkeit: 27% der Neurone entluden weniger als 10 spikes/sec, 53% entluden 10—25 spikes/sec und nur 20% mit höheren Frequenzen von 40—90 spikes/sec. Bei keiner der untersuchten unverletzten Einheiten lagen die Entladungen über 90/sec, weder die Spontanentladung noch die Frequenz während irgendeiner Phase der epileptischen Vorgänge oder in der elektrischen Stille.

5. Die paroxysmalen Vorgänge, über die wir berichtet haben, stammen nur aus einem der sekundären Herde; wir haben nur das epileptische Geschehen im Gyrus ectosylvius medius des Neocortex genau beschrieben. Stichprobenartige Ableitungen in anderen Strukturen haben gezeigt, daß in diesem experimentellen Modell der paroxysmisch gewordene Hippocampus auch zu anderen Hirngebieten projiziert; so fanden wir die Krampfentladungen im Gyrus marginalis und Gyrus suprasylvius des Neocortex und auch im Amygdala-Komplex, Nucleus reticularis und Centre medien des Thalamus und in der Formatio reticularis mesencephali. Schließlich führte das Krampfgeschehen des Hippocampus in fast allen Fällen zu einer Generalisierung.

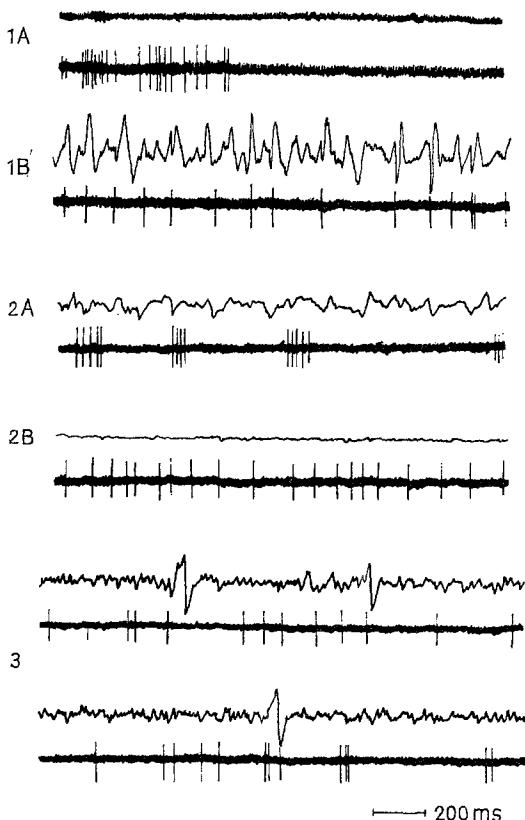


Abb. 7. Drei verschiedene Neurone mit langen ECG-Wellen. 1 A am Anfang der postkritischen elektrischen Stille; das Neuron entlädt zuerst in bursts, die dann aufhören; während des Krampfes in 1 B entlädt dasselbe Neuron je einen spike synchron mit den langen ECG-Wellen. In 2 A am Anfang der Aufbauphase des Krampfes entlädt ein anderes Neuron spike-bursts; es entlädt dann fortwährend während der interkritischen Stille in 2 B. Die spontanen Entladungen von Neuron 3 setzen während der Entwicklung der epileptischen langen Wellen für 200–280 msec aus; rebound der Entladungen auf der untersten Spur

### Diskussion

Der Vergleich verschiedener experimenteller Ansätze zur Klärung des epileptischen Geschehens ergibt bestimmte Unterschiede in der Zahl der vom paroxysmalen Ablauf ergriffenen Neurone im eigentlichen experimentell gesetzten Herd und in projizierten Herden. Im eigentlichen corticalen Herd werden 99% der Neurone von Krampfgeschehen ergriffen [1, 6], während im kontralateralen, über den Balken projizierten sekundären Herd nur 38% der Neurone Änderungen des Entladungsmusters zeigen [1]. Bei vom Hippocampus projizierten epileptischen Vorgängen wurden

gemäß der vorliegenden Arbeit im ipsilateralen sekundären neocorticalen Herd 82% der Neurone vom epileptischen Geschehen ergriffen. Die Zahl der veränderten Neurone im vom Hippocampus projizierten sekundären Herd war somit wesentlich höher als im transcallosal übertragenen sekundären Herd und ist eher dem primären corticalen Herd vergleichbar. Dieser Unterschied ist einerseits durch die ipsilaterale Projektion der epileptischen Tätigkeit vom Hippocampus, der bekanntlich Besonderheiten im epileptischen Geschehen hat [5, 8, 10, 13, 16, 21, 22, 23], erkläbar. Außerdem haben wir gefunden [11], daß die Projektion der epileptischen Tätigkeit vom Hippocampus zum Neocortex im wesentlichen durch galvanische und nicht durch synaptische Vorgänge zustande kommt (wenigstens, wenn es sich um die Projektion der interiktalen L.W. handelt), wobei der Hippocampus als ein Stromgenerator wirkt. So müssen wir andererseits annehmen, daß auch diese vorwiegend galvanische Übertragung vom Hippocampus zu dem prozentuell verschiedenen Verhalten der neocorticalen Neurone der beiden Arten von sekundären Herden beträgt, wobei dieser galvanische Vorgang wahrscheinlich das Membranpotential der betroffenen corticalen Zellen in Richtung einer Depolarisation beeinflußt.

Diejenigen Neurone, die spikes synchron mit den L.W. entluden (75% der gesamten Neuronenzahl), entluden meistens einen einzigen spike in genauer zeitlicher Beziehung zu den interiktalen und iktalen Wellen. Die Entladung eines einzigen spike (selten zwei und ausnahmsweise drei spikes) synchron mit den L.W., einen Vorgang, der auch in dem sekundären transcallosal projizierten Herd nachgewiesen wurde [1], scheint also ein Kennzeichen des sekundären projizierten Krampfherdes zu sein.

Die Entwicklung der zeitlichen Beziehung der N.E. mit den L.W. ist ein fortschreitender Vorgang (Abb. 6 A—D). In dem Maße, in dem sich der ECG-Krampf entwickelt, ändert sich auch das Entladungsmuster der Neurone ständig, bis schließlich das Neuron meistens einen spike in relativ stabilem zeitlichen Verhältnis mit derselben Phase der L.W. entlädt; im Beispiel der Abb. 6 D entlud dieses Neuron einen spike einige Millisekunden nach dem Höhepunkt der langsamen positiven Schwankung. Die relativ genaue zeitliche Beziehung zwischen einer bestimmten Phase der L.W. und der N.E., welche bei vielen der untersuchten Neurone vorlag (Abb. 4 A—C; Abb. 5 — Neurone 1 und 2; Abb. 6 D; Abb. 7 — Neuron 3), weist auf einen relativ konstanten Charakter der Beziehung zwischen spike und langsamer Welle hin. Wir sind jedoch der Meinung, daß die Anhaltspunkte für weitergehende Aussagen einstweilen nicht hinreichend sind, so daß wir uns der von AJMONE-MARSAN [2] geäußerten Zurückhaltung gegenüber dieser konstanten Beziehung zwischen L.W. und N.E. und den zugrunde liegenden Ursachen anschließen.

Entsprechend den wenigen Neuronen, deren Entladung ungefähr 200—280 msec während der Entwicklung der epileptischen L.W. unterbrochen ist, fanden auch andere Untersucher [4, 6, 14] in anderen experimentellen Modellen solche Neurone. Wir sind im Gegensatz zu anderen Forschern [1] der Ansicht, daß diese Neurone nicht von der Mikroelektrode verletzt sind, denn ihre Entladungsfrequenz ist nicht pathologisch erhöht. Unter Berücksichtigung der Dauer ihrer Entladungspause und des „rebounds“ (Abb. 7, Neuron 3 — untere Zeile) dürfen wir annehmen, daß es sich hierbei um Neurone handelt, deren Entladung während des Ablaufes der epileptischen Welle aktiv gehemmt wird.

Bei unseren Untersuchungen fanden wir im projizierten Herd keine Neurone, deren spike-Entladungsfrequenz über 90/sec lag; das Vorhandensein sogenannter „epileptischer“ Neurone mit hochfrequenter Entladung bis zu 1000/sec konnten auch wir nicht bestätigen und stehen damit in Einklang mit vielen anderen Untersuchern (Übersicht in [2]).

Auch in dem neocorticalen vom Hippocampus projizierten sekundären Herd wurde eine geringe Zahl von Neuronen gefunden, die, wie Neuron 2A und 2B in Abb. 7, vorwiegend während der elektrischen inter- oder postkritischen Stille entluden, oder andere, wie Neuron 1A und 1B in derselben Abbildung, die auch während dieser Stille entluden. Gemäß der schon geäußerten Meinungen [3, 7, 19] könnte man diese Neurone als solche ansprechen, welche durch ihre Tätigkeit bei einer etwaigen „Bremse“ des epileptischen Krampfes eine Rolle spielen.

### Zusammenfassung

1. Durch lokale Penicillininjektion in den dorsalen Hippocampus wurde ein primärer epileptischer Herd gesetzt. Dieser projizierte zum Neocortex, wo im Gyrus ectosylvius medius ein sekundärer Krampfherd entstand.

2. In diesem neocortical projizierten Krampfherd wurden die Beziehungen zwischen den epileptiformen langsamten Wellen und den neuronalen Zellentladungen untersucht.

3. Die Entladungen von 82% der Neurone standen in einem zeitlichen Verhältnis zu den langsamten Wellen: die Mehrzahl (75%) entlud meistens einen einzigen spike synchron mit einer bestimmten Phase der langsamten Wellen (die Entwicklung dieser Synchronisation entstand als ein fortschreitender Vorgang). Andere 7% der Neurone entluden synchron mit den langsamten Wellen während des Krampfes, oder auch während der postkritischen elektrischen Stille. Spontane Entladungen anderer Neurone sistierten während der Entwicklung der langsamten Wellen.

4. Die Spontanentladung von 18% der Neurone blieb während des Krampfgeschehens unverändert.

5. Einige Unterschiede und Ähnlichkeiten des Verhaltens der Neuronenentladungen aus dem sekundär vom Hippocampus und dem transkallosal projizierten Herd werden besprochen.

### Summary

1. A primary epileptic focus was produced by local injection of Penicillin in the dorsal hippocampus; the electric epileptic events projected to neocortex and resulted in the development of a secondary epileptic focus in the ectosilvius medius gyrus.

2. In this secondary neocortical focus the relationship was studied between the epileptic slow waves and neuronal extracellular discharges.

3. From 421 neurons, 82% discharged spikes in definite time-relation with the slow waves: the majority (75%) discharged mostly a single spike synchronous with a constant phase of the slow wave, the development of this synchronization being a progressive event; from the other group of neurons (7%), some discharged synchronous with the slow wave during the postictal period of electrical silence; other neurons, which started to discharge at onset of the seizure, stopped their discharges before the seizure ended.

4. The spontaneous discharge pattern in 18% of neurons were not affected by the epileptic events.

5. Some similarities and differences were discussed concerning the discharging manner of neocortical neurons belonging to a secondary focus, projected from hippocampus, versus the secondary focus projected via the corpus callosum.

### Literatur

1. AJMONE-MARSAN, C.: Unitary analysis of "projected" epileptiform discharges. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **15**, 197–208 (1963).
2. — Electrical activity of the brain: slow waves and neuronal activity. *Israel J. med. Sci.* **1**, 104–117 (1965).
3. BAUMGARTNER, G., u. R. H. JUNG: Hemmungsphänomene an einzelnen corticalen Neuronen und ihre Bedeutung für die Bremsung convulsiver Entladungen. *Arch. Sci. biol. (Bologna)* **30**, 474–487 (1955).
4. BUSER, P., et D. ALBE-FESSARD: Explorations intracellulaires au niveau du cortex sensorimoteur du chat. In: *Microphysiologie comparée des éléments excitables*. Coll. Int. Paris, C.N.R.S. **67**, 333–346 (1955).
5. CREUTZFELDT, O.: Die Krampfausbreitung im Temporallappen der Katze. Die Krampfentladungen des Ammonshorns und ihre Beziehungen zum übrigen Rhinencephalon und Isocortex. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* **77**, 163 bis 194 (1956).
6. ENOMOTO, T. F., and C. AJMONE-MARSAN: Epileptic activation of single cortical neurons and their relationship with electroencephalographic discharges. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **11**, 199–218 (1959).
7. GERIN, P.: Microelectrode investigations on the mechanisms of the electrically induced epileptiform seizure ("afterdischarge"). *Arch. ital. Biol.* **98**, 21–40 (1960).

8. GLOOR, P., C. L. VERA, L. SPERTI, and S. N. RAY: Investigations on the mechanism of epileptic discharge in the hippocampus. (A preliminary report.) *Epilepsia (Amsterdam)* **2**, 42—62 (1961).
9. GOLDENSOHN, E. S., and D. P. PURPURA: Intracellular potentials of cortical neurons during focal epileptogenic discharges. *Science* **139**, 840—842 (1963).
10. GREEN, J. D.: The Hippocampus. In J. FIELD (Ed.): *Handbook of Physiology* vol. 2, pp. 1373—1389, 1960. Washington: Amer. Physiol. Soc.
11. IONESCU, D. A., N. SOTTRESCU, and V. VOICULESCU: D.C. analysis of neocortical paroxysmal discharges induced by a hippocampal penicillin focus. In: *Comparative and cellular pathophysiology of Epilepsy*. Z. SERVIT (Ed.). *Excerpta Medica, International Congress series*, **124**, 164—169 (1966).
12. JASPER, H. H., and C. AJMONE-MARSAN: A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. *Nat. Res. Council of Canada*, Ottawa 1954.
13. KREINDLER, A., V. VOICULESCU, and I. VOINESCU: Experimental studies on centrencephalic epilepsy. *Rev. Roum. Neurol.* **3**, 77—82 (1966).
14. LI, C. L., and S. N. CHOU: Cortical intracellular synaptic potentials and direct cortical stimulation. *J. cell. comp. Physiol.* **60**, 1—16 (1962).
15. MATSUMOTO, H.: Intracellular events during the activation of cortical epileptiform discharges. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **17**, 294—307 (1964).
16. —, and C. AJMONE-MARSAN: Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations. *Exp. Neurol.* **9**, 286—304 (1964).
17. — — Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: ictal manifestations. *Exp. Neurol.* **9**, 305—326 (1964).
18. MORELL, F.: Microelectrode studies in chronic epileptic foci. *Epilepsia (Amsterdam)* **2**, 81—88 (1961).
19. SAWA, M., N. MARUYAMA, and S. KAJI: Intracellular potentials during electrically induced seizures. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **15**, 209—220 (1963).
20. SCHMIDT, R. P., L. B. THOMAS, and A. A. WARD jr.: The hyperexcitable neurone. Microelectrode studies of chronic epileptic foci in monkey. *J. Neurophysiol.* **22**, 285—296 (1959).
21. SPENCER, W. A., and E. R. KANDEL: Hippocampal neurone responses in relation to normal and abnormal function. In: *Physiologie de l'Hippocampe*, Ed.: Montpellier, pp. 70—100 (1962).
22. STERIADE, M.: Development of evoked responses into selfsustained activity within amygdala-hippocampal circuits. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **16**, 221—236 (1964).
23. VOICULESCU, V., I. VOINESCU, and R. BROSTEANU: Propagation of discharges generated by a thalamic penicillin focus. *Rev. Roum. Neurol.* **1**, 137—145 (1964).

Dr. D. A. IONESCU  
 Max-Planck-Institut für Hirnforschung  
 Neuroanatomische Abteilung  
 6 Frankfurt/M.-Niederrad  
 Deutscheschordenstraße 46