

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. BRÜCKE)

Beeinflußbarkeit der rhinencephalen Tätigkeit des Kaninchens

Von
S. SAILER und CH. STUMPF

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. März 1957)

Im Rahmen einer „arousal reaction“³¹ verändert sich die bioelektrische Tätigkeit verschiedener Gehirnteile in einer für bestimmte Regionen charakteristischen Weise. Bereits im Jahr 1939 konnten JUNG u. KORN-MÜLLER¹⁹ feststellen, daß insbesondere die Ammonshornformation mit dem Subiculum bei akustischer und nociceptiver Reizung völlig andersartige EEG-Veränderungen zeigt als die motorische Rinde, das Striatum und der mediale Thalamuskern. Während solche Reizungen in den letztgenannten Strukturen nach JUNG u. KORN-MÜLLER¹⁹ zu einer „Hemmung“ der Ruhetätigkeit führen, bewirken sie im Ammonshorn eine rhythmische Aktivierung der unregelmäßigen 2—5 Hz-Tätigkeit auf 5–6 Hz. Die genannten Autoren sprechen von einem funktionellen „Antagonismus“ zwischen der Tätigkeit des Striatum und der der Ammonshornformation. Eingehend untersucht wurde die Tätigkeit des Kaninchen-Rhinencephalon während der Ruhe und bei verschiedenen Reizungen mit Makroelektroden von GREEN u. ARDUINI^{12, 13}, sowie mit Mikroelektroden von GREEN u. MACHNE¹⁴. GREEN u. ARDUINI¹³ finden, daß „arousal or desynchronization of the neocortical record, whether induced by any one of a variety of afferent stimuli or by direct excitation of the activating mechanism in the brain stem, is invariably associated with the concomitant appearance of an undulating series of large slow waves in the hippocampal record“. In neuerer Zeit wird von verschiedenen Autoren (GANGLOFF u. MONNIER¹¹, LONGO²⁴, RINALDI u. HIMWICH³⁵) betont, daß während einer „arousal reaction“ im EEG sowohl Desynchronisierungs- als auch Synchronisierungserscheinungen beobachtet werden können, wobei letztere vor allem im Rhinencephalon, aber auch im Thalamus und im parieto-occipitalen Cortex nachweisbar sind. Uns interessierte zunächst die Frage, ob Substanzen, die eine Desynchronisierung im präzentralen Cortex verursachen, auch im Hippocampus die bioelektrische Tätigkeit in gleicher Weise verändern wie eine

afferente Reizung, bzw. ob die Analogie zwischen der Wirkung solcher Substanzen und einer „arousal reaction“ auf das Elektrocorticogramm beschränkt ist oder nicht. Wir haben für diese Untersuchungen drei cortical desynchronisierend wirkende Pharmaka ausgewählt, von denen auf Grund verschiedener Durchschneidungsversuche^{4-6, 9, 18, 36} angenommen werden kann, daß sie zumindest nicht identische Angriffspunkte im ZNS besitzen: Physostigmin, Methylanphetamin und Lysergsäurediäthylamid. Außerdem haben wir neuerlich — in ähnlicher Weise wie GREEN u. ARDUINI^{12, 13} — die Beeinflussbarkeit der Hippocampustätigkeit durch verschiedene Reize untersucht, wobei wir jedoch insbesondere die Abhängigkeit der Frequenz der Hippocampustätigkeit von der Art und Stärke des Reizes berücksichtigten.

Methodik

Die Versuche wurden an insgesamt 23 wachen, nicht curarisierten Kaninchen im Gewicht zwischen 2,0 und 2,5 kg durchgeführt. Das EEG wurde nach der von MONNIER u. LAUE³⁰ angegebenen stereotaktischen Methode abgeleitet und ~~den~~ Hilfe eines Schwarzer-Elektroencephalographen, Type E 502, registriert. Die ~~Ein-~~ legung des Schädeldaches erfolgte nach vorheriger Infiltration der Kopfhaut mit 2%iger Novocainlösung ohne Adrenalinzusatz. Zur Ableitung des Elektrocorticogrammes (ECG) wurden Silberelektroden in den Schädelknochen eingeschraubt; sie waren extradural über der Area praecentralis granularis, parietalis und striata (Nomenklatur nach ROSE³⁷) lokalisiert. Für die Ableitung aus subcorticalen Strukturen wurden sechs, in einem gemeinsamen Elektrodensockel in Abständen von je 3 mm befestigte, isolierte Nadelelektroden mit freien Spitzen und einer Länge von je 25 mm verwendet. Diese 6fach Tiefenreihenelektrode wurde 4,5 mm paramedian 5 mm subdural in das Gehirn eingeführt, wobei die vorderste Elektrode 1,5 mm vor der Coronarnaht und die hinterste Elektrode 13,5 mm hinter der Coronarnaht lokalisiert war. Bei dieser Lage der Tiefenelektrode kommt ~~ent-~~ sprechend dem Atlas des Kaninchengehirns von SAWYER et al.³⁸, sowie nach den Angaben von PETSCHÉ u. MONNIER³² und GANGLOFF u. MONNIER¹⁰ die Spitze der vordersten Elektrode im Caput nuclei caudati und die Spitzen der drei folgenden Elektroden im dorsalen Rhinencephalon (Hippocampus) zu liegen. Eine Kontrolle der Elektrodenlage wurde nur in einigen Versuchen durchgeführt; eine solche Kontrolle erweist sich im allgemeinen als nicht notwendig, da wir in Übereinstimmung mit GREEN u. MACHNE¹⁴ feststellen konnten, daß die bioelektrische Tätigkeit des Hippocampus beim Kaninchen so charakteristisch ist, daß ihr Auftreten als beweisend für die richtige Elektrodenlage gewertet werden kann. Außerdem konnten wir häufig die Beobachtung machen, daß an jenen Elektroden, ~~welche~~ deren Spitzen im dorsalen Rhinencephalon liegen, unmittelbar nach dem Einführen charakteristische Krampfstromabläufe nachweisbar sind. Diese Erscheinung findet darin ihre Erklärung, daß das Ammonshorn eine Struktur mit außerordentlich hoher Krampfbereitschaft darstellt (ANDY u. AKERT¹, JUNG¹⁸, KAADA²⁰, LIBERSON u. CADILHAC²¹, PETSCHÉ u. MONNIER³²), so daß offenbar die durch das Einführen der Elektroden gesetzten minimalen Läsionen genügen, um einen rhinencephalen Anfall auszulösen. In allen Versuchen wurde die corticale Tätigkeit von der ~~linken~~ die subcorticale Tätigkeit hingegen von der rechten Hemisphäre bipolar abgeleitet. Nach dem Einführen der Tiefenelektrode wurde eine Pause von etwa 30 min Dauer eingeschaltet und erst nach Ablauf dieser Zeit mit dem eigentlichen Versuch begonnen. Die Einschaltung einer solchen Pause ist insbesondere dann notwendig,

wenn das Einführen der Tiefenelektrode von einem rhinencephalen Krampfanfall gefolgt ist.

Zur Auslösung einer „arousal reaction“ wurden folgende Arten von Reizungen verwendet:

1. Proprioceptive Reizung: passive Beugung und Streckung einer hinteren Extremität. Dauer der Reizung: etwa 5—7 sec.

2. Elektrische Reizung des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems (im folgenden als „retikuläre Reizung“ bezeichnet). Für diese Reizung wurde eine Heßsche Nadelelektrode von 25 mm Länge und einem Elektrodenabstand von 0,8 mm verwendet. Entsprechend den Angaben von RINALDI u. HIMWICH³⁵ wurde diese Elektrode 12 mm hinter der Coronarnaht, 1,5 mm paramedian (rechts), in eine Tiefe von 13—14 mm unter der Schädeloberfläche eingeführt. Unter diesen Umständen liegen die Elektroden spitzen in der *Formatio reticularis* des Mittelhirns in der Höhe der vorderen Vierhügel. Gereizt wurde mit Impulsreihen von einer Gesamtdauer von 5 sec; die Dauer des Einzelimpulses betrug 1,5 msec und die Frequenz 250 Hz. Die gewählte Frequenz ist bezüglich der Auslösung einer „arousal reaction“ sowohl für Katzen als auch für Kaninchen optimal (MORUZZI u. MAGOUN³¹ bzw. RINALDI u. HIMWICH³⁵).

3. Periphere Reizung. Als Reizelektrode wurden zwei nicht isolierte Injektionsnadeln verwendet, die in einem Abstand von etwa 1 cm in den rechten *M. gastrocnemius* eingestochen wurden. Gereizt wurde mit Impulsreihen von einer Gesamtdauer von 5 sec; die Dauer des Einzelimpulses betrug 1,5 msec und die Frequenz 50 Hz.

Die elektrischen Reizungen wurden mit Hilfe eines Grass-Stimulators, Modell S 4A, durchgeführt. Reizartefakte konnten durch Zwischenschaltung einer Stimulus Isolation Unit, Grass, Modell SIU 4A, vollständig vermieden werden.

Folgende Substanzen wurden untersucht: Physostigminum salicylicum, 1-Phenyl-2-methylaminopropan (Methylamphetamin) und Lysergsäurediäthylamid (LSD*). Alle Substanzen wurden intravenös injiziert.

Die nachfolgend mitgeteilten Untersuchungsergebnisse betreffen vorwiegend Veränderungen der Hippocampusfrequenz unter verschiedenen Bedingungen. Bei allen diesen Versuchen wurde die Frequenz in der Weise ermittelt, daß die Anzahl der Potentialschwankungen in mehreren aufeinanderfolgenden 2 sec-Perioden ausgezählt wurde.

Ergebnisse

1. Effekte der Reizungen. Proprioceptive Reizung, sowie retikuläre und periphere Reizung mit Spannungen, die über dem Schwellenwert lagen, bewirkten im Hippocampus den typischen, von GREEN u. ARDUINI^{12, 13} bereits ausführlich beschriebenen Effekt. Abb. 1 zeigt die neocorticale und paläocorticale Tätigkeit während einer durch retikuläre Reizung ausgelösten „arousal reaction“. Während sich die „arousal reaction“ im präzentralen Cortex in einer Amplitudenabnahme und Frequenzzunahme äußert, zeigt der Hippocampus zur gleichen Zeit eine bis etwa 0,5 mV hohe, regelmäßige Tätigkeit mit einer bipolaren Phasenumkehr 4,5 mm hinter der Coronarnaht. Die gleiche Tätigkeit ist — allerdings mit wesentlich geringerer Amplitude — auch im parieto-occipitalen Cortex nachweisbar. Die „arousal reaction“ tritt unmittelbar nach Reizbeginn in Erscheinung und überdauert das Reizende, je nach Empfindlichkeit des Tieres und Stärke des Reizes, entweder überhaupt

nicht oder um einige bis mehrere Sekunden. Häufig konnten wir die Beobachtung machen, daß retikuläre oder periphere Reizungen mit niedrigen Spannungen wohl im Hippocampus die für die „arousal reaction“ charakteristischen Veränderungen verursachten, die Ruhe-tätigkeit des Neocortex jedoch völlig unbeeinflusst ließen. Die Schwellenwerte der Spannungen lagen bei den elektrischen Reizungen, von Tier zu Tier variierend, aber bei ein und demselben Tier meist weitgehend

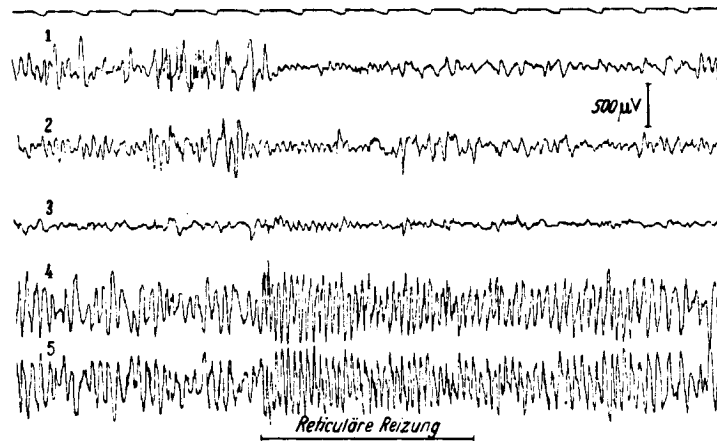


Abb. 1. Kaninchen-EEG. Ableitungen: 1: Präzentral — parietal, 2: Parietal — Area striata, 3: Caput nuclei caudati, 4: und 5: Hippocampus. „Arousal reaction“ bei elektrischer Reizung der Formatio reticularis des Mittelhirns (0,7 V)

konstant bleibend, für die retikuläre Reizung zwischen 0,5 und 5 V und für die periphere Reizung zwischen 2 und 5 V.

Die Frequenz der Hippocampustätigkeit während der durch eine der genannten Reizarten ausgelösten „arousal reaction“ zeigt 1. charakteristische Veränderungen während der Reizung und 2. eine typische Abhängigkeit von der Intensität der Reizung. Die Frequenz der regelmäßigen Hippocampustätigkeit ist unmittelbar nach Reizbeginn — genaue Latenzzeitbestimmungen wurden nicht durchgeführt — am höchsten und sinkt dann langsam, und zwar auch bei noch andauernder Reizung, ab. Abb. 2 zeigt dieses Verhalten während und nach proprioceptiven Reizungen. Die in Abb. 2 eingezeichneten Werte stellen Mittelwerte dar, die aus 32 proprioceptiven Reizungen an 7 verschiedenen Tieren gewonnen wurden.

Aus Abb. 2 geht hervor, daß die regelmäßige Hippocampusfrequenz innerhalb der ersten beiden Sekunden nach Beginn der Reizung im Mittel 6,2 Hz beträgt. Die eingezeichnete mittlere quadratische Abweichung ($\pm 0,54$) ist zu diesem Zeitpunkt praktisch ausschließlich auf die unterschiedliche Reaktion der einzelnen Tiere zu beziehen. Ein

bestimmtes Tier reagierte auf mehrmals wiederholte proprioceptive Reizungen trotz der bei dieser Reizart naturgemäß mehr oder weniger stark variierenden Intensität und Dauer des Reizes im wesentlichen immer mit der gleichen initialen Hippocampusfrequenz, die bei den einzelnen Tieren zwischen 5 und 6,5 Hz lag. Bereits in der zweiten 2 sec-Periode ist die Frequenz trotz anhaltender Reizung auf $5,48 \pm 0,55$ Hz abgesunken. Beim weiteren Absinken der Hippocampusfrequenz in den folgenden 2 sec-Perioden konnte konstant folgendes charakteristisches Verhalten beobachtet

werden: Nach etwa 7 bis 13 sec — diese Variationsbreite bezieht sich wiederum in erster Linie auf das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Tiere — sinkt die Hippocampusfrequenz auf 4,5 Hz, in vereinzelt Fällen sogar bis auf 4 Hz ab. Wenn diese kritische Frequenz (4—4,5 Hz) erreicht ist, zerfällt die regelmäßige Hippocampustätigkeit und geht in die

normalerweise während der Ruhe des Tieres zu beobachtende unregelmäßige Tätigkeit über. In der achten 2 sec-Periode nach Beginn der proprioceptiven Reizung war, wenn überhaupt noch eine regelmäßige Hippocampustätigkeit vorhanden war, nur eine solche von 4,5 Hz zu beobachten (s. Abb. 2). Der Hippocampus scheint somit beim normalen Kaninchen eine regelmäßige Tätigkeit unter 4—4,5 Hz nicht aufrecht erhalten zu können.

Ein völlig gleichartiges Verhalten der Hippocampusfrequenz, wie es in Abb. 2 für proprioceptive Reizungen dargestellt ist, konnte auch während und nach retikulären und peripheren Reizungen festgestellt werden. Auch hier sank die initiale Hippocampusfrequenz noch während der Reizung ab und zeigte einen Zerfall, sobald sie die kritische Frequenz von 4—4,5 Hz erreicht hatte.

Bei den retikulären und peripheren Reizungen konnte nun weiters beobachtet werden, daß zwischen der initialen Hippocampusfrequenz (das ist die Frequenz innerhalb der ersten 2 sec-Periode nach Reizbeginn) und der bei der Reizung angewendeten Spannung eine positive Korrelation besteht. Abb. 3 zeigt zunächst das Verhalten der Hippocampusfrequenz desselben Tieres bei retikulären Reizungen mit verschiedener

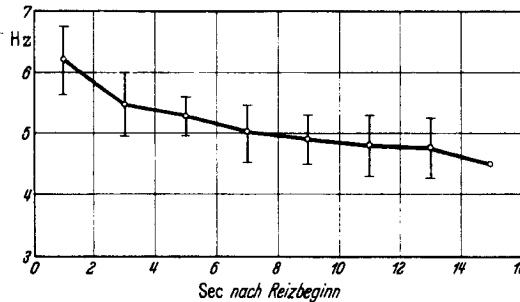


Abb. 2. Abnahme der Frequenz der Hippocampustätigkeit während und nach proprioceptiver Reizung. Abszisse: Zeit in Sekunden nach Reizbeginn; Ordinate: Hippocampusfrequenz in Hz. Dauer der Reizung: 5—7 sec. Mittelwerte und mittlere quadratische Abweichungen aus 32 Reizungen

Spannung. Zwischen dem Logarithmus der Spannung der Reizung und der initialen Hippocampusfrequenz konnte eine lineare Beziehung nachgewiesen werden. In Abb. 4 ist die an vier verschiedenen Tieren beobachtete Abhängigkeit der initialen Hippocampusfrequenz vom

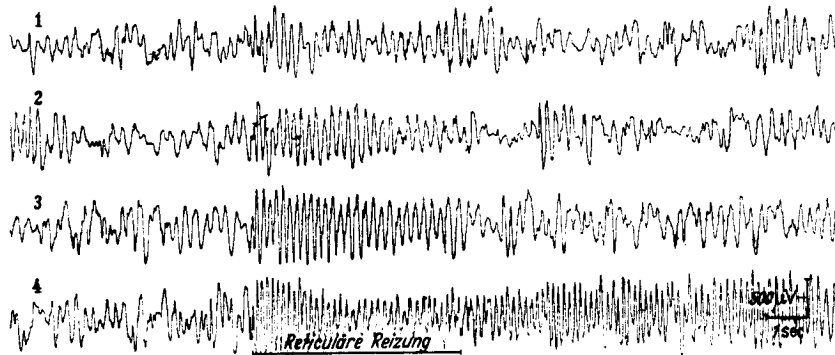


Abb. 3. Hippocampustätigkeit eines Kaninchens bei Reizung der Formatio reticularis des Mittelhirns mit verschiedenen Spannungen, und zwar 1: 0,9 V, 2: 1,0 V, 3: 1,2 V und 4: 1,5 V. Beachte Zunahme der initialen Hippocampusfrequenz bei Reizung mit steigender Spannung

Logarithmus der Reizspannung zusammen mit den berechneten Regressionsgeraden eingetragen.

Mit Hilfe von Korrelationsanalysen (nach LINDER²²) konnten für diese vier Regressionsgeraden folgende Werte der Regressionskoeffizienten und der Bestimmtheitsmaße ermittelt werden:

Anzahl der Werte pro Tier (n)	Regressions- koeffizient (b)	Bestimmtheits- maß (B)	P(B)
10	9,5	0,75	0,01 > P > 0,001
11	8,1	0,91	P < 0,001
11	9,9	0,93	P < 0,001
11	9,7	0,95	P < 0,001

Die Zahlen der obigen Tabelle sagen folgendes aus: 1. Bei Erhöhung der Spannung einer wirksamen retikulären Reizung um $\log V = 0,1$ (d. i. auf den 1,26fachen Wert) stieg die initiale Hippocampusfrequenz um 0,81–0,99 Hz an. 2. Bei den in Abb. 4 wiedergegebenen Versuchen lassen sich 75–95% der Streuung der initialen Hippocampusfrequenz aus Veränderungen der Reizspannung durch lineare Regression erklären. 3. Der Unterschied zwischen diesen Werten und dem Wert $B = 0$ ist statistisch gesichert ($P < 0,01$ bzw. $P < 0,001$). Wie aus Abb. 4 hervorgeht, ist diese Korrelation und insbesondere auch der Regressionskoeffizient unabhängig von der von Tier zu Tier variierenden Reizschwelle.

Ein völlig analoges Verhalten wurde auch bei peripheren Reizungen gefunden. Abb. 5 zeigt die lineare Korrelation zwischen dem Logarithmus der Reizspannung und der initialen Hippocampusfrequenz.

Die diesen Korrelationen zugehörigen Werte für n , b , B und $P(B)$ betragen:

n	b	B	$P(B)$
5	5,2	0,89	$0,05 > P > 0,01$
7	3,7	0,97	$P < 0,001$
8	3,0	0,89	$P < 0,001$
12	2,8	0,66	$0,01 > P > 0,001$

Bei den peripheren Reizungen stieg somit die initiale Hippocampusfrequenz bei Erhöhung der Spannung einer wirksamen Reizung auf den 1,26fachen Wert um 0,28 bis 0,52 Hz an. Die gefundenen linearen Korrelationen sind wiederum statistisch gesichert.

Wir können keine Aussage darüber machen, innerhalb welches Bereiches eine lineare Korrelation zwischen dem Logarithmus der Reizspannung und der initialen Hippocampusfrequenz besteht. Sicherlich sind jedoch die in den Abb. 4 u. 5 eingezeichneten höchsten Frequenzen nicht die höchst möglichen. Die höchste bisher von uns beobachtete initiale Hippocampusfrequenz bei einer starken retikulären Reizung betrug 11 Hz und lag noch im linearen Bereich der beschriebenen Korrelation.

2. Effekte der einzelnen Substanzen. Die verwendeten Substanzen wurden zunächst in folgender Dosierung i.v. verabreicht:

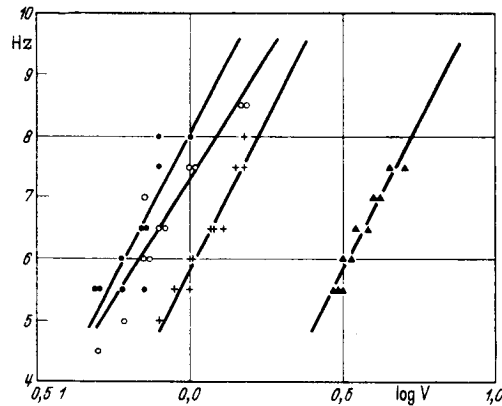


Abb. 4. Abhängigkeit der initialen Hippocampusfrequenz von der Reizspannung bei retikulärer Reizung. Abszisse: Logarithmus der Spannung; Ordinate: Hippocampusfrequenz in Hz. Werte von 4 verschiedenen Tieren. Regressionskoeffizienten und Bestimmtheitsmaße s. Text

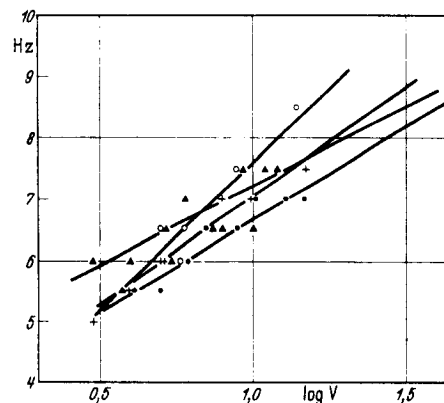


Abb. 5. Abhängigkeit der initialen Hippocampusfrequenz von der Reizspannung bei Reizung des M. gastrocnemius. Koordinaten wie in Abb. 4. Werte von 4 verschiedenen Tieren. Regressionskoeffizienten und Bestimmtheitsmaße s. Text

0,25 mg/kg Physostigmin, 20 mg/kg Methylamphetamin und 0,1 mg/kg LSD. Abb. 6 zeigt typische Ausschnitte aus EEG-Kurven, die bei diesen Versuchen gewonnen wurden.

Die in Abb. 6 wiedergegebenen EEG-Kurven wurden 5–10 min nach der Applikation der einzelnen Substanzen registriert. Die wesentlichen Unterschiede in der Wirkung der genannten Substanzen auf die bioelektrische Tätigkeit des Hippocampus lassen sich kurz wie folgt zusammenstellen:

	Physostigmin	Methylamphetamin	LSD
Hippocampustätigkeit bei Ruhe des Tieres	Außerordentlich regelmäßiger, hoher (bis 0,5 mV) 5 bis 5,5 Hz-Rhythmus	Unregelmäßigerer 4–5 Hz-Rhythmus, häufig überlagert von schnelleren Frequenzen	Unregelmäßige, niedrige, hochfrequente Tätigkeit
Hippocampustätigkeit bei Spontانبewegungen des Tieres, gelegentlich auch ohne solche auftretend	Frequenzzunahme auf etwa 6–6,5 Hz, völlig regelmäßig	Kein Effekt oder vorübergehender Zerfall der Tätigkeit	Regelmäßiger, hoher Rhythmus (etwa 5 Hz)

Es bestehen somit in der Wirkung der genannten Substanzen auf die Hippocampustätigkeit eindeutige und charakteristische Unterschiede. Auf die Tätigkeit des präzentralen Cortex wirkten alle drei Substanzen im Sinne einer Frequenzzunahme und Amplitudenabnahme, die jedoch

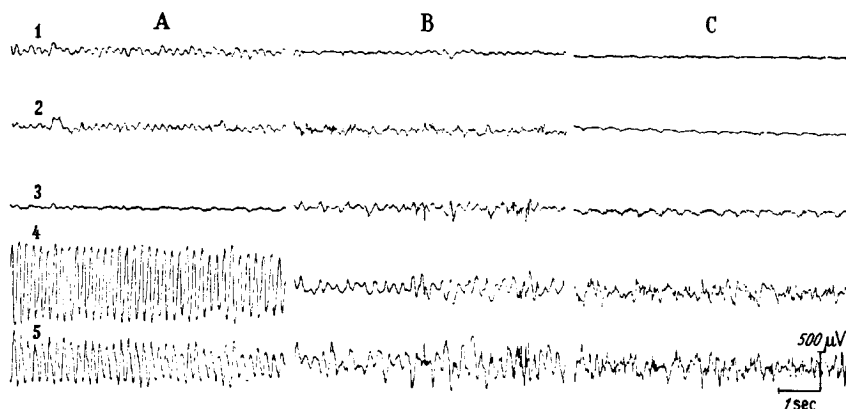


Abb. 6. Kaninchen-EEG. Ableitungen wie in Abb. 1. A Nach 0,25 mg/kg Physostigmin; B Nach 20 mg/kg Methylamphetamin; C Nach 0,1 mg/kg LSD. Gleiche Verstärkung in allen Teilen der Abbildung

bei Physostigmin und LSD meist stärker ausgeprägt war als bei Methylamphetamin. Im parieto-occipitalen Cortex war im allgemeinen ein mit der Hippocampustätigkeit synchroner, allerdings wesentlich niedrigerer

Grundrhythmus nachweisbar; dieser Grundrhythmus war nach Physostigmin-Verabreichung deutlicher ausgeprägt als nach der Applikation von Methylamphetamin. Nach LSD-Verabreichung konnten im parieto-occipitalen Cortex (und im Caput nuclei caudati) gelegentlich kurzdauernde (etwa 2 sec) Perioden eines regelmäßigen hohen 3,5—4 Hz-Rhythmus beobachtet werden, der zur Hippocampustätigkeit keine Beziehungen erkennen ließ. Wenn im Hippocampus eine auch nur halbwegs regelmäßige Tätigkeit nachzuweisen war, dann zeigte diese, unabhängig von der auslösenden Ursache, die gleiche bipolare Phasenumkehr wie nach proprioceptiver, retikulärer oder peripherer Reizung.

Die gegenseitige Beeinflussung der Wirkung der genannten Pharmaka auf die Hippocampustätigkeit wurde bisher nur orientierend untersucht. Immerhin konnte festgestellt werden, daß unter der Einwirkung von LSD (0,1 mg/kg) die durch Physostigmin-Verabreichung (0,25 mg/kg) ausgelöste regelmäßige Hippocampustätigkeit weitgehend desynchronisiert wird.

Da auf Grund der oben wiedergegebenen Versuchsergebnisse die Möglichkeit bestand, daß eine unterschiedliche Beeinflussung der Hippocampustätigkeit durch Physostigmin und Methylamphetamin nur durch die gewählte Dosierung vorgetäuscht wurde, haben wir in weiteren Versuchen die Veränderungen der Hippocampustätigkeit bei verschiedener Dosierung von Physostigmin bzw. Methylamphetamin untersucht. Die Tiere erhielten in 10 min-Intervallen je 10 mg/kg Methylamphetamin bzw. — ebenfalls in 10 min-Intervallen — nach zwei anfänglichen Dosen von je 0,1 mg/kg je 0,2 mg/kg Physostigmin. Physostigmin wurde bis zu einer Gesamtdosis von 0,6 mg/kg, Methylamphetamin bis zu einer solchen von 40 mg/kg gegeben; diese Methylamphetamin-Gesamtdosis überlebten die Tiere im allgemeinen nicht länger als etwa 10 min. Abb. 7 zeigt das Ergebnis von 4 typischen derartigen Versuchen: 2 Tiere hatten Gesamtdosen von 0,1, 0,2, 0,4 u. 0,6 mg/kg Physostigmin, 2 andere solche von 10, 20, 30 u. 40 mg/kg Methylamphetamin erhalten. Jeder der in Abb. 7 eingezeichneten Werte stellt einen Mittelwert aus je 20 unmittelbar aufeinanderfolgenden 2 sec-Perioden dar, die jeweils genau

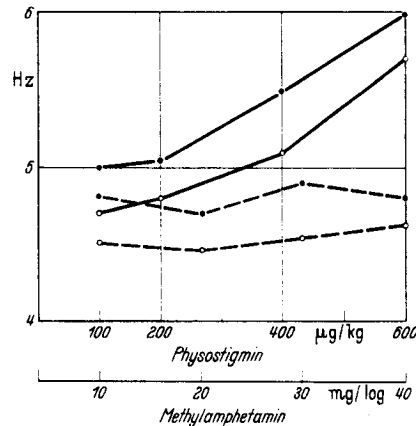


Abb. 7. Abhängigkeit der Hippocampusfrequenz von der Physostigmin- bzw. Methylamphetamin-Dosis. Abszisse: Dosis; Ordinate: Hippocampusfrequenz in Hz. — Physostigmin; - - - Methylamphetamin. Statistische Auswertung s. Varianzanalyse I und II

5 min nach der Zufuhr der betreffenden Dosis ausgezählt wurden. Wie Abb. 7 zeigt, steigt unter Physostigmin die regelmäßige Hippocampusfrequenz mit zunehmender Dosis an, während sie unter Methyldamphetamin unabhängig von der Dosierung und auch nach Verabreichung der letalen Gesamtdosis zwischen 4,4 und 5 Hz schwankt.

Die in Abb. 7 dargestellten Abhängigkeiten zwischen der Physostigmin- bzw. Methyldamphetamin-Dosis und der Hippocampusfrequenz wurden mit Hilfe von Varianzanalysen statistisch ausgewertet. Diese Varianzanalysen lieferten folgende Ergebnisse:

Varianzanalyse I (Physostigmin)

Streuung	Freiheitsgrade	Summe der Abweichungsquadrate	Mittleres Abweichungsquadrat
Dosen	3	27,8375	9,2792
Tiere	1	3,3063	3,3063
Dosen $\times$ Tiere	3	0,2062	0,0687
Rest	152	15,9250	0,1048
Gesamt	159	47,2750	

Varianzanalyse II (Methyldamphetamin)

Streuung	Freiheitsgrade	Summe der Abweichungsquadrate	Mittleres Abweichungsquadrat
Dosen	3	0,9545	0,3182
Tiere	1	2,3760	2,3760
Dosen $\times$ Tiere	3	0,2435	0,0812
Rest	152	32,5120	0,2139
Gesamt	159	36,0860	

Aus den obigen Varianzanalysen geht zunächst hervor, daß die beiden Wechselwirkungen Dosen $\times$ Tiere nicht signifikant sind; das bedeutet, daß die einzelnen Gesamtdosen bei den verschiedenen Tieren die Hippocampusfrequenz nicht in signifikant verschiedener Weise beeinflussten. Es kann daher in beiden Varianzanalysen die Summe der Abweichungsquadrate der Wechselwirkung mit der Summe der Abweichungsquadrate der Reststreuung vereinigt werden; es wurden auf diese Weise neue Reststreuungen erhalten, und zwar 0,1041 für Physostigmin und 0,2113 für Methyldamphetamin, somit Werte, die sich von den oben angegebenen praktisch nicht unterscheiden. Ein Vergleich des Tiere- und Dosen-Durchschnittsquadrates mit der zugeordneten Reststreuung zeigt nun, daß sowohl bei den Physostigmin-, als auch bei den Methyldamphetamin-Versuchen die beiden Tiere unter der Einwirkung dieser Substanzen signifikant verschiedene ($P < 0,001$) Hippocampusfrequenzen aufwiesen. Ein statistisch gesicherter Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Dosen auf die Hippocampusfrequenz läßt sich jedoch nur bei Physostigmin ($P < 0,001$), nicht hingegen bei Methyldamphetamin ($P > 0,2$) nachweisen.

Als Ergebnis der obigen Berechnungen kann somit zusammenfassend festgestellt werden, daß nach Physostigmin-Verabreichung die Hippocampusfrequenz

mit zunehmender Dosierung signifikant ansteigt, nach Methylamphetamin-Verabreichung hingegen nicht.

Ein Vergleich der beiden Reststreuungen ergibt, daß die Reststreuung (Methylamphetamin) mit $F = 2,05$ signifikant größer ist als die Reststreuung (Physostigmin), ein Befund, der auf die bereits erwähnte Tatsache hinweist, daß die Hippocampusfrequenz innerhalb von 20 aufeinanderfolgenden 2 sec-Perioden nach einer bestimmten Methylamphetamin-Dosis wesentlich unregelmäßiger ist, als nach einer bestimmten Physostigmin-Dosis. Beweisend ist dieses Resultat indessen nicht, da die Physostigmin-Versuche an anderen Tieren durchgeführt wurden als die Methylamphetamin-Versuche.

Um zu prüfen, ob sich die Hippocampusfrequenz durch hohe Physostigmin-Dosen in gleicher Weise wie durch starke retikuläre oder periphere Reizungen bis auf etwa 11 Hz steigern läßt, wurden in einigen Versuchen Physostigmin bis zu Gesamtdosen von 1,2—1,4 mg/kg verabreicht. Hierbei zeigte es sich, daß eine Frequenz von etwa 6—7 Hz die maximal mögliche Hippocampusfrequenz unter der Einwirkung von Physostigmin zu sein scheint. Wurde nach dem Erreichen dieser Frequenz die Physostigmin-Dosis weiter gesteigert, so blieb die Hippocampusfrequenz im allgemeinen praktisch unverändert; gelegentlich konnte hierbei jedoch auch eine Tendenz zur Frequenzabnahme beobachtet werden.

Diskussion

Physostigmin, das dem Methylamphetamin chemisch und wirkungsmäßig sehr nahe stehende Amphetamin und LSD bewirken eine Desynchronisierung der bioelektrischen Tätigkeit des präzentralen Cortex (BRADLEY⁴, BRADLEY u. ELKES^{5, 6}, ELKES et al.⁹, HIEBEL et al.¹⁶). Die Frage, ob dieser Effekt durch eine Erregung des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems nach MORUZZI u. MAGOUN³¹ zustande kommt, ist nur teilweise geklärt. BONVALLET, DELL u. HIEBEL³ halten Adrenalin für den physiologischen Aktivator dieses Systemes und auch nach der Ansicht von BRADLEY⁴ ist ein adrenerger Stoff, nämlich Amphetamin, als spezifischer Erregerstoff des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems zu bezeichnen. Andererseits vertreten vor allem RINALDI u. HIMWICH^{35, 36}, sowie LONGO^{23, 24} die Ansicht, daß der „arousal reaction“ ein cholinerges Mechanismus zugrunde liegt. Auf Grund umfangreicher Untersuchungen kommen schließlich MARRAZZI u. Mitarb.^{15, 25–29} zu dem Schluß, daß sich die humorale Reizübertragung im ZNS nicht prinzipiell von der Reizübertragung an peripheren autonomen Ganglien bzw. an der neuromuskulären Endigung unterscheidet. So finden die genannten Autoren, daß die synaptische Übertragung im ZNS durch cholinerge Pharmaka aktiviert und durch adrenerge Pharmaka (Adrenalin, Noradrenalin, Ephedrin, Amphetamin), sowie durch Atropin, d-Tubocurarin, Tetraäthylammonium, Mezkalin und durch Acetylcholin in hoher Dosierung blockiert wird. Diese Untersuchungen wurden allerdings nur am

optischen und teilweise auch am akustischen Cortex der Katze durchgeführt und müssen daher nicht unbedingt auch für die synaptische Übertragung im Bereich des ascendierenden retikulären Aktivierungssystemes Gültigkeit besitzen. Immerhin handelt es sich nach CHANG^{7, 8} sowohl bei den Synapsen des optischen Cortex, als auch bei denen der retikulären Formation um Synapsen des axodendritischen (paradendritischen) Typs, denen nach PURPURA³³ gemeinsame bioelektrische Eigenschaften zuzuschreiben sind. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen schließlich auch PURPURA u. GRUNDFEST³⁴. Diese Autoren konnten zeigen, daß depolarisierende Substanzen wie Acetylcholin „Synapsenaktivatoren“, nicht depolarisierende Kompetitoren wie d-Tubocurarin hingegen „Synapseninaktivatoren“ sind, wobei sich allerdings periphere und zentrale Synapsen nicht immer völlig identisch verhalten.

Unsere Untersuchungen haben nun gezeigt, daß zwischen der Frequenz der vor allem von JUNG u. KORNMÜLLER¹⁹, sowie von GREEN u. ARDUINI^{12, 13} beschriebenen, im Rahmen einer „arousal reaction“ auftretenden, regelmäßigen Hippocampusfrequenz und der Intensität der Reizung eine signifikante positive Korrelation besteht. Andererseits konnte festgestellt werden, daß eine cholinerge Substanz, nämlich Physostigmin, ebenfalls eine regelmäßige Hippocampustätigkeit bewirkt, deren Frequenz mit einer Erhöhung der Dosis signifikant ansteigt, während unter der Einwirkung von Methylamphetamin der Hippocampus eine unregelmäßigere und nicht dosisabhängige Frequenz aufweist. Wir möchten betonen, daß unsere Untersuchungen keinen Beitrag zur Klärung der an sich sehr interessanten Frage darstellen sollen, warum eine Erregung des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems im Neocortex zu einer Desynchronisierung, im Paleocortex hingegen zu einer Synchronisierung der bioelektrischen Tätigkeit führt; wir glauben lediglich, daß die Hippocampustätigkeit ein besserer, weil quantitativ leichter auswertbarer Indicator des Erregungszustandes des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems ist als etwa die Tätigkeit des präzentralen Cortex. Vergleicht man nun die Hippocampustätigkeit bei peripherer oder retikulärer elektrischer Reizung — d. h. also bei einem sicher vorliegenden Erregungszustand des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems — mit der Hippocampustätigkeit unter dem Einfluß von Physostigmin bzw. Methylamphetamin, so zeigt sich, daß sicherlich zwischen dem Effekt einer Reizung und dem einer Physostigmin-Applikation eine erheblich größere Ähnlichkeit besteht als zwischen dem Effekt einer Reizung und dem einer Methylamphetamin-Applikation. Wenn auf Grund einer reinen Analogie überhaupt ein Rückschluß auf den Funktionsmechanismus des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems gezogen werden darf, dann wohl der, daß eine cholinerge Reizübertragung zumindest sehr wahrscheinlich ist. Auffällig war nun der

Befund, daß sich die Hippocampusfrequenz durch starke Reizungen bis auf etwa 11 Hz und möglicherweise noch höher steigern läßt, unter der Einwirkung von Physostigmin jedoch nur auf maximal 6—7 Hz; unter der Einwirkung sehr hoher Physostigmin-Dosen scheint es eher wieder zu einem Absinken der Hippocampusfrequenz zu kommen. Es besteht hier vielleicht ebenfalls eine Analogie zu den Befunden von MARRAZZI²⁵ und MARRAZZI u. KING²⁹, wonach Acetylcholin die synaptische Übertragung im optischen Cortex in niedriger Dosierung aktiviert, in hoher Dosierung hingegen blockiert. Wenn nun eine Blockierung der Synapsen zu einer Abnahme der Hippocampusfrequenz führt, könnte man sich vorstellen, daß die niedrige Hippocampusfrequenz, die wir unter der Einwirkung von 10—40 mg/kg Methylamphetamin beobachten konnten, durch eine Hemmung der synaptischen Übertragung bedingt ist. Wie bereits erwähnt, ist ja Amphetamin nach MARRAZZI²⁵ als zentraler Synapsenblocker zu bezeichnen. Ungeklärt bleibt bei diesen Überlegungen freilich die Frage, wo diese Synapsen, durch deren pharmakologische Beeinflussung die von uns beobachteten Veränderungen der Hippocampustätigkeit zustande kommen, lokalisiert zu denken wären.

Die Wirkung von LSD auf die Hippocampustätigkeit erwies sich in unseren Versuchen als prinzipiell verschieden von der des Physostigmin und Methylamphetamin. LSD bewirkte nicht nur keine regelmäßige, hohe Hippocampustätigkeit, sondern war auch imstande, eine solche, durch Physostigmin ausgelöste Tätigkeit zu desynchronisieren. LSD wirkt zwar ebenso cortical desynchronisierend wie Physostigmin und Amphetamin, jedoch weisen schon die Durchschneidungsversuche von BRADLEY⁴, BRADLEY u. ELKES⁵ und von ELKES, ELKES u. BRADLEY⁹ auf eine völlig andersartigen Wirkungsmechanismus hin. Nach INGVAR u. SÖDERBERG¹⁷ wirkt LSD nicht auf das ascendierende retikuläre Aktivierungssystem, sondern vorwiegend auf den Cortex. Nach PURPURA³³ handelt es sich bei der durch LSD ausgelösten Amplitudenverringerung der corticalen Aktivität um keine „arousal reaction“; vielmehr sei dieser Effekt dadurch zu erklären, daß LSD die Summation von Dendritenpotentialen verhindert. Die mit Makroelektroden abgeleiteten langsamen Potentialschwankungen des Gehirns stellen ja nach der Ansicht von BISHOP u. CLARE², sowie von TASAKI, POLLEY u. ORREGO³⁹ summierte Dendritenpotentiale dar. Die Wirkung von LSD auf die normale und durch Physostigmin veränderte Hippocampustätigkeit könnte in der gleichen Weise gedeutet werden. Es müßte in diesem Fall angenommen werden, daß die Beeinflussung der Hippocampustätigkeit durch LSD nicht durch eine Wirkung dieser Substanz auf das ascendierende retikuläre Aktivierungssystem, sondern auf die nervösen Elemente im Hippocampus selbst zustande kommt.

Nach MARRAZZI u. HART²⁸ hemmt LSD die synaptische Übertragung im optischen Cortex der Katze und wirkt damit prinzipiell gleichartig wie Amphetamin. Der scheinbare Widerspruch dieses Befundes zu unseren Versuchsergebnissen scheint indessen lediglich darauf hinzuweisen, daß aus der Wirkung einer Substanz auf eine bestimmte zentralnervöse Struktur keine allzu weittragenden Schlüsse auf die wahrscheinlich äußerst komplexe Wirkung dieser Substanz auf das gesamte ZNS gezogen werden dürfen.

Zusammenfassung

Es wurde die bioelektrische Tätigkeit des dorsalen Rhinencephalons (Hippocampus) des wachen, nicht curarisierten Kaninchens unter der Einwirkung von verschiedenen Reizungen und Pharmaka untersucht. Es wurden dabei folgende Befunde erhoben:

1. Die „arousal reaction“ ist im Hippocampus durch eine regelmäßige, hohe Tätigkeit charakterisiert.
2. Zwischen der initialen Frequenz dieser Tätigkeit und der Intensität des auslösenden Reizes besteht eine signifikante positive Korrelation. Noch während des Reizes sinkt die Frequenz allmählich ab.
3. Physostigmin verursacht ebenfalls eine hohe, regelmäßige Tätigkeit im Hippocampus. Die Frequenz dieser Tätigkeit nimmt mit steigender Physostigmin-Dosis zu, überschreitet jedoch niemals ein Maximum von etwa 6—7 Hz.
4. Unter der Einwirkung von Methylamphetamin wird im Hippocampus eine etwas unregelmäßigere und langsamere Tätigkeit ausgelöst, deren Frequenz von der Methylamphetamin-Dosis unabhängig ist.
5. Nach LSD-Verabreichung zeigt der Hippocampus eine niedrige, unregelmäßige und höherfrequente Tätigkeit.

Die Analogie zwischen dem Effekt einer peripheren oder retikulären Reizung und der Physostigminwirkung auf die Hippocampustätigkeit scheint ein weiterer Hinweis für den cholinergen Mechanismus des ascendierenden retikulären Aktivierungssystems zu sein.

Wir danken der Sandoz A. G., Basel, für die Überlassung der nötigen Versuchsmengen LSD.

Literatur

- ¹ ANDY, O., and M. AKERT: Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. 5, 320 (1953). — ² BISHOP, G. H., and M. H. CLARE: Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. 4, 321 (1952). — ³ BONVALLET, M., P. DELL and G. HIEBEL: Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. 6, 119 (1954). — ⁴ BRADLEY, P. B.: Electroencephalog. Internat. III. Congr. p. 21, 1953. — ⁵ BRADLEY, P. B., and J. ELKES: J. of Physiol. 120, 13 P (1953). — ⁶ BRADLEY, P. B., and J. ELKES: J. of Physiol. 120, 14 P (1953). — ⁷ CHANG, H. T.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 17, 189 (1952). — ⁸ CHANG, H. T.: J. of Neurophysiol. 16, 117 (1953). — ⁹ ELKES, J., C. ELKES and P. B. BRADLEY: J. Ment. Sci. 100, 125 (1954). — ¹⁰ GANGLOFF, H.,

- u. M. MONNIER: Pflügers Arch. 261, 421 (1955). — ¹¹ GANGLOFF, H., and M. MONNIER: Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. 8, 623 (1956). — ¹² GREEN, J. D., and A. ARDUINI: 19. Internat. Physiol. Congr., Montreal, 1953. — ¹³ GREEN, J. D., and A. ARDUINI: J. of Neurophysiol. 17, 533 (1954). — ¹⁴ GREEN, J. D., and X. MACHNE: Amer. J. Physiol. 181, 219 (1955). — ¹⁵ HART, E. R., and A. S. MARRAZZI: Federat. Proc. 12, 329 (1953). — ¹⁶ HIEBEL, G., M. BONVALLET, P. HUVE et P. DELL: Semaine Hôp. 1954, 1880. — ¹⁷ INGVAR, D. H., u. U. SÖDERBERG: Experientia (Basel) 12, 427 (1956). — ¹⁸ JUNG, R.: Arch. f. Psychiatr. 183, 206 (1950). — ¹⁹ JUNG, R., u. A. E. KORNMÜLLER: Arch. f. Psychiatr. 109, 1 (1939). — ²⁰ KAADA, B. R.: Acta physiol. scand. (Stockh.) 23, Suppl. 83 (1951). — ²¹ LIBERSON, W. T., et J. CADILHAC: Montpellier médical 6, 515 (1954). — ²² LINDER, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure, 2. Aufl. Basel: Birkhäuser 1951. — ²³ LONGO, V. G.: Experientia (Basel) 11, 76 (1955). — ²⁴ LONGO, V. G.: J. of Pharmacol. 116, 198 (1956). — ²⁵ MARRAZZI, A. S.: Arzneimittelforsch. 8, 388 (1953). — ²⁶ MARRAZZI, A. S., and E. R. HART: Federat. Proc. 9, 85 (1950). — ²⁷ MARRAZZI, A. S., and E. R. HART: J. of Pharmacol. 103, 353 (1951). — ²⁸ MARRAZZI, A. S., and E. R. HART: Science 121, 365 (1955). — ²⁹ MARRAZZI, A. S., and E. E. KING: Amer. J. Physiol. 163, 732 (1950). — ³⁰ MONNIER, M., u. H. LAUE: Helvet. physiol. Acta 11, 73 (1953). — ³¹ MORUZZI, G., and H. W. MAGOUN: Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. 1, 455 (1949). — ³² PETSCH, H., u. M. MONNIER: Helvet. physiol. Acta 12, 123 (1954). — ³³ PURPURA, D. P.: A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. 75, 132 (1956). — ³⁴ PURPURA, D. P., and H. GRUNDFEST: J. of Neurophysiol. 19, 573 (1956). — ³⁵ RINALDI, F., and H. E. HIMWICH: A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. 73, 387 (1955). — ³⁶ RINALDI, F. and H. E. HIMWICH: A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. 73, 396 (1955). — ³⁷ ROSE, M.: J. of Psychol. 43, 353 (1931). — ³⁸ SAWYER, C. H., J. W. EVERETT and J. D. GREEN: J. Comp. Neur. 101, 801 (1954). — ³⁹ TASAKI, I., E. H. POLLEY and E. ORREGO: J. of Neurophysiol. 17, 454 (1954).

Dr. S. SAILER, Pharmakologisches Institut d. Univ. Wien/Österreich