

6. Zusammenfassung

Kürzlich wurde mit der rampenförmigen direkten kortikalen Stimulation ein neues Krampfschwellenmodell in der Ratte vorgestellt, das trotz wiederholter Bestimmung einer lokalisierten klonischen Krampfaktivität keine postiktalen Schwellenveränderungen aufwies und damit als ein vielversprechendes Screeningverfahren von Antikonvulsiva erscheint. Zur Überprüfung dieser Eigenschaften sollten die Vor- und Nachteile dieser Methode durch eine Bestimmung der antikonvulsiven Effektivität von Standardantikonvulsiva im Vergleich zum transkornealen Minimalen und Maximalen Elektroschockkrampfschwellentest (EST) untersucht werden. Die Etablierung einer geeigneten Elektrodenlokalisierung war ebenfalls Teil dieser Arbeit.

Bei der direkten kortikalen rampenförmigen Stimulation wurden weibliche Wistar-Ratten über chronisch implantierte Schrauben über dem rechten und linken primär motorischen Kortex mit rampenförmig ansteigenden Stromimpulsen bis zum Auftreten einer minimalen Krampfaktivität elektrisch stimuliert. Die Krampfschwelle für diese lokalisierte minimale klonische Krampfaktivität (TLS) konnte wiederholt in demselben Tier ohne postiktalen Schwellenanstieg reproduziert werden. Dies erlaubte die Bestimmung des Zeitverlaufes anti- und prokonvulsiver Substanzeffekte innerhalb eines Experiments. Mit wiederholter täglicher Stimulation zeigte die TLS bis zum 20.-40. Stimulationstag einen kindling-ähnlichen Schwellenabfall, aber ohne eine gleichzeitige deutliche Zunahme der Krampfschwere aufzuweisen. Das Hauptmerkmal der ausgelösten minimalen Krampfaktivität war ein unilateraler Klonus der Vorderextremitäten mit einer Adversion des Kopfes und einer tonischen Anhebung der gegenüberliegenden Gliedmaße. Diese Krampfaktivität ähnelte Anfällen, die als charakteristisch für humane Frontallappenepilepsie gelten. Zusätzlich zur TLS wurde in der direkten kortikalen Stimulation eine Krampfschwelle für generalisierte Anfälle (TGS) bestimmt, die als bilateraler Klonus der Vorderextremitäten unter Aufrichten des Körpers und anschließendem Verlust der Stellreflexe definiert war. Die antikonvulsive Effektivität gängiger Antiepileptika wurde in allen Modellen anhand der Dosis bestimmt.

die zu einem 20%igen oder 50%igen Anstieg der Krampfschwelle führte, der TID_{20} oder TID_{50} .

In der TLS wurde eine signifikante antikonvulsive Effektivität anhand der TID_{20} für Valproat (VPA), Phenobarbital (PHB) und Carbamazepin (CBZ) gefunden, während Phenytoin (DPH) und Diazepam (DZP) nur einen schwachen signifikanten Krampfschwellenanstieg zeigten. Die TID_{20} der untersuchten Antikonvulsiva war in der TGS im Vergleich zur TLS deutlich niedriger, was auf eine stärkere Wirkung der untersuchten Antikonvulsiva bei generalisierten Krämpfen hindeutet. Im Vergleich zur TID_{20} im EST lag die TID_{20} in TLS und TGS deutlich höher. Im Minimalen EST konnte eine TID_{20} für alle untersuchten Substanzen gezeigt werden, während eine TID_{50} nur für VPA, PHB und CBZ bestimmt werden konnte. Im Gegensatz dazu fand sich mit der Ausnahme von Ethosuximid im Maximalen EST eine TID_{20} und eine TID_{50} für alle untersuchten Substanzen. Im Maximalen EST lag die TID_{50} durchweg deutlich niedriger als im Minimalen EST, was erneut eine stärkere Wirkung der untersuchten Antikonvulsiva bei tonisch-klonisch Krämpfen demonstriert. Übereinstimmend zur im frontalen Kortex lokalisierten TLS werden beim Menschen ebenfalls niedrigere therapeutische Plasmaspiegel bei generalisierten tonisch-klonischen Anfällen als bei Frontallappenanfällen benötigt. VPA, PHB und CBZ, die in der TLS die stärkste antikonvulsive Wirksamkeit aufwiesen, gelten als Mittel der Wahl bei humanen Frontallappenepilepsien.

Durch die Übereinstimmungen von TLS und humanen Frontallappenepilepsien bezüglich der Krampfsymptomatik und der antikonvulsiven Effektivität von VPA, PHB und CBZ, insbesondere bei lokalisationsbezogenen Anfällen, läßt sich postulieren, daß die TLS ein Tiermodell für lokalisationsbezogene Frontallappenanfälle darstellt. Die geringe Effektivität von Antikonvulsiva in der TLS und der hohe operative Zeitaufwand stellen im Vergleich zu etablierten Krampfmodellen einen Nachteil dar. Der Vorteil der Evaluierung des antikonvulsiven Zeitverlaufes in Einzeltieren und eine dadurch ermöglichte Reduzierung von notwendigen Tierversuchen sowie der neuartige Modellcharakter lassen eine Anwendung der direkten kortikalen rampenförmigen Stimulation für das Screening von Antikonvulsiva vielversprechend erscheinen.

Methods for determination of seizure threshold: advantages and disadvantages of a new model with direct cortical ramp-shaped stimulation in rats

Eckart Krupp

Recently a new seizure threshold model in rats employing direct ramp-shaped cortical stimulation was described. It exhibits promising features for anticonvulsant drug screening, e.g. the ability of repetitive determination of localized clonic seizure activity. In the present study advantages and disadvantages of this model were investigated by determination of anticonvulsant drug efficacy of common anticonvulsants in comparison to other seizure threshold models, i.e. transcorneal minimal clonic and maximal tonic-clonic electroshock seizure threshold tests (EST). The determination of an appropriate electrode position was another part of this work.

In this new direct cortical stimulation model in rats electrical pulse trains which increase in amplitude in a ramp-shaped manner were applied through screw electrodes implanted chronically on the surface of the left and right primary motor cortex. The bilateral stimulation was manually interrupted at the onset of an obvious minimal seizure which ceases immediately after end of stimulation. The seizure threshold for this localized minimal clonic seizure activity (TLS) could be determined repeatedly in the same animal without postictal threshold increase, thus allowing the evaluation of the time course of anti- and proconvulsant drug effects in individual rats. With daily testing TLS showed a kindling-like decline in threshold without apparent increase of seizure severity. After 20-30 stimulation sessions the threshold was stabilized and testing could commence. The core symptom of the provoked minimal seizure activity was an unilateral forelimb clonus with adversion of the head and tonic elevation of the other forelimb. This seizure activity resembled seizures which are considered characteristic for human frontal lobe epilepsy.

In addition to the TLS, the threshold for generalized seizures (TGS), defined as bilateral forelimb clonus with rearing and falling, was determined in order to compare anticonvulsant drug efficacy in localized TLS and in generalized clonic seizures.

Significant anticonvulsant efficacy determined as the dose for 20% threshold increase (TID_{20}) was found for valproate, phenobarbital and carbamazepine in TLS, while phenytoin and diazepam showed only a weak increase in seizure threshold. The TID_{20} for TGS of each drug tested was clearly lower compared to TLS demonstrating higher anticonvulsant efficacy in generalized seizure activity. In comparison to TID_{20} in EST both the TID_{20} for TLS and TGS were clearly higher in the ramp model.

In the Minimal EST a TID_{20} could be determined for all drugs, while a dose for 50% threshold increase (TID_{50}) was only determined for valproate, phenobarbital and carbamazepine. In contrast, with exception of ethosuximide Maximal EST allowed determination of TID_{20} and TID_{50} for all drugs under investigation. The TID_{50} in Maximal EST was clearly lower than in Minimal EST demonstrating higher anticonvulsant efficacy of drugs in tonic-clonic seizures. In striking agreement with frontally localized TLS, lower therapeutic drug levels are needed in generalized tonic-clonic seizures in human beings compared to frontal lobe seizures. Valproate, phenobarbital and carbamazepine which could be shown as most effective in TLS are also known to be most effective in human frontal lobe seizures.

Seizure symptomatology and profile of efficacious anticonvulsants in TLS are in accordance with human frontal lobe epilepsies, especially to localization related seizures. It is therefore hypothesized that TLS is an animal model for localization related frontal lobe seizures. However, the time consuming surgery for electrode implantation and the weak anticonvulsant efficacy in TLS limit the usefulness for primary drug screening. Due to the advantage of evaluation of anticonvulsant time course in individual animals and the possible reduction in number of experimental animals, TLS is a promising test for anticonvulsant drug screening.