Mélyagyi stimuláció hatása a magas frekvenciájú oszcillációkra krónikus epilepsziamodelben

Mihály István, Bod Réka-Barbara, Orbán-Kis Károly, Berki Ádám-József, Szilágyi Tibor

Marosvásárhelyi Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológia Egyetem

AUTHOR AFFILIATION

University of Medicine, Pharmacy,
Science and Technology of Tîrgu Mureș

CORRESPONDING AUTHOR

Bod Réka-Barbara

University of Medicine, Pharmacy,
Science and Technology of Tîrgu Mureș,
Department of Physiology
Gheorghe Marinescu street 38, 540142
Tîrgu Mureș, România
Email: bod.reka@yahoo.com;
bod.reka-barbara@stud16.umftgm.ro

The Effect of Deep Brain Stimulation on High Frequency Oscillations in a Chronic Epilepsy Model

ABSTRACT

Temporal lobe epilepsy (TLE) is a severe neurological disease which is often pharmacoresistant. Deep brain stimulation (DBS) is a novel method for treating epilepsy; however, its mechanism of action is not fully understood. We aimed to study the effect of amygdala DBS in the pilocarpine model of TLE. Status epilepticus was induced by pilocarpine in male Wistar rats, and spontaneous seizures occurred after a latency period. A stimulating electrode was inserted into the left basolateral amygdala and two recording electrodes into the left and right hippocampus. A stimulus package consisted of 0.1 ms-long biphasic pulses applied regularly at 4 Hz for 50 seconds. This package was repeated four times a day, with 5-minute pauses, for 10 days. We also used an age-matched healthy control group of stimulated animals and another one of sham-operated rats. From the hippocampal local field potentials high frequency oscillations (HFOs) were analyzed as these are promising epilepsy biomarkers. HFOs are short oscillatory events between 80-600 Hz which were detected offline using an open-source application of MATLAB, the RIPPLELAB system. We found that the HFO rate was significantly higher in pilocarpine-treated rats compared to the control groups (0.41 ± 0.14 HFO/min vs. 0.006 ± 0.003 in the stimulated control group and no HFO in the sham-operated group). In the pilocarpine group an instantaneous decrease in HFO rate was observed while the stimulation was on (0.44 ± 0.15 HFO/min vs 0.07 ± 0.03 HFO/min, $p=0.017$). The effect was short-lived because the frequency of HFOs did not change significantly in the time windows between stimulus packages or during the ten-day stimulation period.

The difference of HFO rates between epileptic and control groups could be used in the electrographic assessment of epilepsy. The decreased frequency of HFOs during stimulation may be useful to study the efficacy of DBS.

Keywords: temporal lobe epilepsy, deep brain stimulation, high frequency oscillations, local field potential

KIVONAT

A temporális lebeny-epilepszia (TLE) súlyos idegrendszeri kórkép, mely gyakran farmakorezisztens, így kezeléséhez új módszerek szükségesek. Egyik lehetőség a mélyagyi stimuláció (deep brain stimulation, DBS), melynek hatásmechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Kutatásunk során az

DOI: 10.2478/orvostudert-2020-0014

Orvostudományi Értesítő 2020, 93(2): 63-70

amygdala DBS hatását vizsgáltuk temporálislebeny-epilepsziamodellben. Hím Wistar patkányoknál pilokarpinnal váltottunk ki status epilepticust, mely után spontán epilepsziás rohamok jelentkeztek. Ezt követően stimulálóelektrodot ültettünk a bal bazolaterális amygdalába, valamint mérőelektrodot a jobb és bal hippocampusba. A mélyagyi bifázisos stimulusok időtartama 0,1 ms volt, a stimulussorozat frekvenciája 4 Hz, tartama 50 másodperc volt. Tíz napon át naponta négy stimuluscsomagot alkalmaztunk, ötperces szünetek közbeiktatásával. A stimuláció teljes tartamát rögzítettük a hippocampus mérőelektrodok segítségével. Kontrollként a pilokarpin csoport mellett egészséges, hasonló korú állatokat is alávetettünk elektródbeültetésnek, ezen állatok egy részét stimuláltuk is. Az így nyert helyi mezőpotenciál-felvételeken magas frekvenciájú oszcillációkat (high frequency oscillations, HFOs) tanulmányoztuk, mivel ezek ígéretes epilepszia-biomarkerek. A HFO-k rövid, 80-600 Hz-es frekvenciatartományban észlelt elektrofiziológiai jelenségek, melyek azonosításához a MATLAB nyílt

forráskódú alkalmazását, a RIPPLELAB rendszert használtuk. A HFO-k gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a pilokarpinnal indukált csoportban a kontrollcsoportokéhoz képest ($0,41 \pm 0,14$ HFO/perc vs. $0,006 \pm 0,003$ a stimulált egészséges és nulla az áloperált csoportban). A pilokarpin csoportban a stimuluscsomagok alatt a HFO-k frekvenciája szignifikánsan csökkent ($0,44 \pm 0,15$ HFO/perc vs. $0,07 \pm 0,03$ HFO/perc, $p=0,017$). A hatás rövid tartamú volt, mert sem a stimuluscsomagok közötti időablakokban, sem a tíz napos stimuláció során nem változott szignifikánsan a HFO-k gyakorisága.

Az epilepsziás és kontrollcsoportok közötti HFO előfordulási gyakoriságok különbsége hasznos eszköz lehet az epilepszia elektrográfias vizsgálatára. Ezentúl, a HFO gyakoriság csökkenése stimulálás alatt felhasználható lehet a DBS hatékonyságának vizsgálatára.

Kulcsszavak: temporálislebeny-epilepszia, mélyagyi stimuláció, magas frekvenciájú oszcillációk, helyi mezőpotenciál

Bevezetés / Kérdésfeltevés / Célkítűzés

Az epilepszia súlyos idegrendszeri megbetegedés, melyet az idegsejtek kóros ingerlékenysége jellemez [1, 2]. A temporálislebeny-epilepszia (TLE) gyakran farmakorezisztens epilepsziatípus [3], így kezelési módszerként olyan alternatív eljárások is felmerültek, mint a mélyagyi stimuláció (*deep brain stimulation* – DBS) [4, 5]. A DBS eszköz beültetése invazív eljárás [6], ennek ellenére biztonságos és hatékony kezelésnek bizonyult számos neurológiai kórképben [7]. Hatásmechanizmusa nem teljesen tisztázott, viszont általánosan elfogadott, hogy rövid, illetve hosszú távon egyaránt kifejti hatását [8]. Hatékonyságát TLE-ben a rohamok súlyosságának és gyakoriságának csökkenése jelzi [9]. Emellett, az interiktális epileptiform kisülések (*interictal epileptiform discharges* – IED) gyakorisága is csökken DBS kezelés közben, habár ezek rohamokkal való viszonya vitatott [10]. A klasszikus IED-k elektroencefalogramon (EEG) megjelenő tüskeszerű jelek, jelenlétükben az epilepszia valószínűsíthető, azonban egy újabb típusú IED, a magas frekvenciájú oszcilláció (*high frequency oscillation* – HFO) nagy érzékenységgel képes kimutatni a roham gócpontját is [11, 12].

A HFO-k *gamma* (60-150 Hz), *ripple* (150-250 Hz) és *fast ripple* (250-600 Hz) frekvenciatartományokban mozgó, rövid elektromos tevékenységek [13], és leginkább a TLE-ben is kulcsszerepet játszó hippocampus szintjén észlelhetők [14]. A HFO-kat magas frekvenciatartományuk és szűk tovaterjedési területük miatt jobban

lehet helyi mezőpotenciál felvételeken tanulmányozni [15]

Az amygdalának (mandulamag) a limbikus rendszer révén számos afferens-efferens kapcsolata van a hippocampuszal, mint például a bazolaterális amygdala-ventrális hippocampus CA1 monoszintaptikus excitatorikus bemenet [16]. Az amygdala bizonyos temporális lebenyből származó információk előfeldolgozásáért is felelős, mielőtt azokat a hippocampusba továbbítaná [17]. Ezen tulajdonságai miatt az amygdalát TLE-ben ígéretes mélyagyi stimulációs célpontként tartják számon [18].

Tanulmányunk során a DBS hippocampalis elektromos aktivitásra kifejtett hatását igyekeztünk jobban megérteni. Feltételeztük, hogy a DBS nemcsak a rohamok számát és az EEG-n rendszerint megjelenő IED-ket, hanem a HFO-kat is befolyásolja. Célkítűzésünk tehát a hippocampalis HFO-k vizsgálata és az amygdala DBS HFO-kra kifejtett hatásának feltérképezése volt krónikus patkány epilepsziamodellben.

Anyag és módszer

Kísérleteink során betartottuk az Európai Parlament állatkísérletekre vonatkozó 2010/63/EU számú előírását, illetve a Marosvásárhelyi Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológiai Egyetem etikai bizottságának helyi szabályozásait (340/2017. november 17. iktatószámú etikai bizottsági engedély, hosszabbítva: 54/2019. április 2.). Száz gramm körüli testsúlyú, 6-8 hetes hím

Wistar patkányoknál pilokarpin által status epilepticust idéztünk elő a következőképpen: 20 órával a pilokarpin beadása előtt intraperitoneálisan (i.p.) lítium-kloridot (127 mg/kg, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) fecskendeztünk be, majd szintén a pilokarpin adagolás előtt 20 perccel metilszkopolamint adtunk be (1 mg/kg, i.p., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A pilokarpin-hidroklorid beadásától fogva ezt a csoportot folyamatos videómegfigyelés alatt tartottuk, és a status epilepticust 2 óra múlva diazepámmal (5 mg/kg, i.p., Terapia-Ranbaxy, Cluj-Napoca, Románia) állítottuk le. Ezt követően külön plexiketrebe, szobahőmérsékletű környezetbe (~20°C) helyeztük az állatokat, ahol *ad libitum* táplálék- és vízellátást kaptak, 12 órás éjjeli-nappali ciklusban. A kontrollcsoportok lítium-kloridot, fiziológiás sóoldatot és egy adag diazepámot kaptak. A pilokarpinnal kezelt csoportban a status epilepticus után 2-3 héttel spontán, visszatérő epilepsziás rohamok jelentkeztek, ezeket utólag, videófelvételeken igazoltuk.

A patkányokat 14-16 hetes korukban vetettük alá a DBS-hez szükséges elektródbeültetésnek. Az érzéstelenítést 5%-os izofluránnal, majd ketamin-xilazin keverékkel (100 mg/kg LeVet. Beheer B.V., Oudewater, Hollandia; 10 mg/kg, Bioveta, Ivanovice na Hané, Csehország) végeztük. A mérő- és stimulálóelektródokat (Plastics One Inc., Roanoke, VA, USA) sztereotaxiás eszköz segítségével ültettük be, a bregmához viszonyítva, a Paxinos–Watson atlasz alapján [19], a következő koordináták szerint: hippocampus mérőelektróda: AP: -3,6 mm, ML: $\pm$ 2,6 mm, mélység: 3,6 mm; stimulálóelektróda (bal bazolaterális amygdala): AP: -2,8 mm; ML +5 mm, mélység: 8,4 mm, a helyes elektródapozíciókat a kísérlet végén Nissl-festéssel ellenőriztük. Az elektródákat fogászati akrillal rögzítettük a koponyához (Duracryl, Spofa Dental, Markova, Csehország). A beavatkozást 9 pilokarpinnal kezelt (DBS-Pilo) és 7 kontroll állaton végeztük el, stimulálásnak 9 pilokarpin kezelt és 4 kontroll állatot (DBS-Kontroll) vetettünk alá, míg 3 kontroll állat az áloperált csoportba került (Álop).

Az elektródbeültetés utáni 10. napon a patkányokat Faraday-ketrecbe helyeztük, ahol az eddigiekben leírtakhoz hasonló körülményeket biztosítottunk. Az elektródok konnektoraljzatához rögzített kábeleket forgócsatlakozón keresztül kötöttük be a stimuláló- és mérőrendszerbe, így az állatok szabadon tudtak mozogni. Az elektromos aktivitást 8 csatornás előerősítő és erősítő segítségével mértük (SUPERTECH Multiamp SMA-4a, Supertech, Pécs,

Magyarország). Az erősített jelet 0,16 Hz - 8kHz sávszűrőn és 50 Hz-es keskenysávú tompító szűrőn (*notch filter*) vezettük át. A hippocampusban mért mezőpotenciált 5 kHz-es mintavételezési frekvenciával rögzítettük (PCI 6036E A/D konverter, National Instruments, Austin, TX, USA).

A mélyagyi stimuláláshoz egy impulzusmintázat-generátor (STC-8b) és elektromosan leválasztott bipoláris végfokozat (BSE-3b; Supertech, Pécs, Magyarország) segítségével leadott 0,1 ms időtartamú, 500 μ A amplitúdójú bifázisos négyszögimpulzusokat használtunk. Az impulzusok között 250 ms-os intervallumok voltak (4 Hz). Ezt a stimulussorozatot minden nap 50 másodpercen keresztül alkalmaztuk (stimuluscsomag), majd 5 perces szünetekkel váltva még háromszor megismételtük. Az elektromos aktivitás mérését a stimulálás előtt 5 perccel kezdtük és az utolsó csomag után 5 perccel állítottuk le.

A tanulmány során közel 75 órányi adatot rögzítettünk. A helyimezőpotenciál-felvételen a MATLAB nyílt forráskódú alkalmazása, a RIPPLELAB segítségével azonosítottuk a HFO-kat [20]. A HFO-k automatikus keresésére a *Montreal Neurological Institute* (MNI) algoritmusát használtuk fel, melynek érzékenysége a HFO-k felismerésére legalább 91% [21]. Az MNI detektor 80-600 Hz közötti sáváteresztő szűrőt alkalmaz a bevitt jelre, majd kiszámolja az alapaktivitást. Amennyiben az algoritmus talál olyan elemet, amely ebben a frekvenciatartományban legalább 10 ms időtartamú, és meghaladja az alapaktivitás empirikus eloszlásfüggvényének egy előre meghatározott küszöbértékét, az elem nagy valószínűséggel HFO. Az így felismert HFO-kat vizuálisan is ellenőriztük, a hamis pozitív elemeket pedig eltávolítottuk. Az így azonosított HFO-kból adatbázist készítettünk, feljegyezve ezek időtartamát, megjelenési időpontját és a *gamma*, *ripple* és *fast ripple* frekvenciatartományok teljesítménysűrűségét (1. ábra).

A statisztikai számításokhoz a GraphPad Prism 8 szoftvercsomagot használtuk (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA). A kivüleső értékek (*outliers*) azonosítására Grubbs tesztet, a normalitásvizsgálatokhoz Shapiro–Wilk és Kolmogorov–Smirnov teszteket alkalmaztunk. A többcsoportos összehasonlításnál egyszempontos ANOVA-t alkalmaztunk, kivéve ha nem hasonló szórása volt az adatoknak, mely esetben a Brown–Forsythe-korrekciót használtuk. Nem normál eloszlás esetén Kruskal–Wallis tesztet alkalmaztunk. Az eredményeket átlagérték $\pm$ standard hiba (SEM) formában tüntettük fel.

1. ábra. A RIPPLELAB elemzőablak egy HFO-val (magas frekvenciájú oszcillációval).

2. ábra. A HFO gyakorisága. **A.** a kísérleti csoportok összehasonlítása **B.** a DBS-Pilo csoport HFO gyakorisága stimuluscsomagon kívül (Stim KI) és közben (Stim BE). Csoportátlag és standard hiba, minden pont egy állat átlagértékét jelöli. * - szignifikáns különbség, ns - nem szignifikáns.

Eredmények

DBS-Pilo csoportban 1001, DBS-Kontroll csoportban 5, Álop csoportban pedig 0 HFO-t azonosítottunk. A csoportok HFO számait elosztva a felvételek összidejével, megkaptuk a HFO frekvenciát: a DBS-Pilo csoportban $0,41 \pm 0,14$ HFO/perc (átlag $\pm$ standard hiba), a DBS-Kontroll csoportban $0,006 \pm 0,003$ HFO/perc, illetve az Álop csoportban nulla volt a HFO előfordulása. A három csoport egymástól szignifikánsan különbözött ($p < 0,001$, Kruskal–Wallis-teszt). A DBS-Pilo csoport és a DBS-Kontroll csoport értékei között szignifikáns különbség volt ($p = 0,03$, Dunn post-hoc teszt), a DBS-Pilo és az Álop csoportok értékei ugyancsak szignifikánsan különböztek ($p = 0,012$). A két kontrollcsoport (DBS-Kontroll és Álop) között nem volt szignifikáns különbség (**2.A ábra**).

A DBS-Pilo csoportban 22 HFO az 50 s-os stimuluscsomagok alatt (Stim BE) jelent meg, 979 pedig a stimuluscsomagokon kívül (Stim KI) eső 5 perces szünetek valamelyikében. Ez alapján a következő HFO frekvenciákat mértük: stimuluscsomagok alatt (Stim BE) $0,07 \pm 0,03$ HFO/perc, míg stimuluscsomagon kívül (Stim KI) $0,44 \pm 0,15$ HFO/perc. A két HFO frekvencia között szignifikáns különbség volt ($p = 0,017$, páros t-teszt) (**2.B ábra**). A 9 patkányból egy állat esetében volt magasabb a stimuluscsomag alatti HFO előfordulás, mint a stimulussorozaton kívül eső érték.

3. ábra. HFO gyakoriság a DBS-Pilo csoportban napok szerint.

A DBS-Kontroll csoportban az összes HFO stimulus-sorozaton kívül jelent meg. A stimuluscsomagokon kívül a gyakoriság $0,006 \pm 0,004$ HFO/perc volt.

A DBS-Pilo csoportban a tíz nap során mért HFO frekvenciák közt nem volt szignifikáns különbség ($p = 0,13$, egyszempontos ANOVA, **3. ábra**). A stimuluscsomagokon kívül eső szünetekben mért (1. stimuluscsomag előtti, valamint az 1., 2., 3., 4. stimuluscsomag után) HFO-k gyakoriságában sem volt szignifikáns különbség (**4. ábra**).

A DBS-Kontroll csoport 4 patkányából 2 állatban fordult elő az 5 HFO. Az 5 HFO-t túl kevésnek ítéltük ahhoz,

4. ábra. HFO gyakoriság a DBS-Pilo csoportban a stimuluscsomagokhoz viszonyított időpont szerint vizsgálva.

5. ábra. A HFOk oldal szerinti gyakoriságainak átlaga a DBS-Pilo csoportban.

6. ábra. A HFO frekvenciatartományok változása 10 nap alatt DBS-Pilo csoportban.

7. ábra. Jobb és bal oldali HFO frekvenciatartományok (gamma, ripple, fast ripple) összehasonlítása a DBS-Pilo csoportban. *** - szignifikáns különbség: $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ ns - nem szignifikáns.

hogy további statisztikát készítsünk a DBS-Kontroll csoportban.

A HFO-kat aszerint is elemeztük, hogy azokat a jobb vagy bal hippocampusból mértük. A jobb oldalon $0,25 \pm 0,08$ HFO/perc, a bal oldalon $0,16 \pm 0,08$ HFO/perc volt az átlag gyakoriság, a különbség azonban nem volt szignifikáns ($p = 0,34$, páros t-teszt, **5. ábra**).

A DBS-Pilo csoportban az átlag HFO időtartam $13,89 \pm 0,57$ ms volt, a DBS-Kontroll csoportban pedig $11,40 \pm 0,24$ ms, a különbség nem számottevő ($p = 0,62$). A DBS-Pilo csoportban Stim BE alatt $12,85$ ms, Stim KI alatt pedig $13,9$ ms volt a HFO-k időtartamának átlaga, a különbség nem szignifikáns.

A HFO-k teljesítménysűrűségét a fent leírt gamma, ripple és fast ripple frekvenciasávok részarányával vizsgáltuk. Nincs szignifikáns különbség az első nap és az ezt követő többi nap átlaga közti teljesítménysűrűségekben

(gamma: 18% vs. 20%, $p = 0,45$; ripple: 41% vs. 40%, $p = 0,7$; fast ripple: 39% vs. 38%, $p = 0,79$; páros t-teszt, **6. ábra**).

Megvizsgáltuk a frekvenciasávok teljesítménysűrűségét külön a jobb és a bal hippocampusban. Az átlag gamma teljesítménysűrűség aránya jobb oldalon $21,14\% \pm 0,9\%$, bal oldalon $19,86\% \pm 0,4\%$ volt, ($p = 0,1$, páros t-teszt). Ripple: bal oldalon $44,1 \pm 0,73\%$, jobb oldalon $37,7 \pm 1,11\%$, ($p < 0,001$, páros t-teszt). Fast ripple: jobb oldalon $41,2 \pm 1,64\%$, bal oldalon $35,9 \pm 0,64\%$, ($p = 0,008$, páros t-teszt), **(7. ábra)**.

Megbeszélés

Jelen tanulmányban a pilokarpin által indukált epilepsziás állatok HFO jellegzetességeit, illetve az alacsony frekvenciájú mélyagyi stimuláció HFO-ra gyakorolt hatásait próbáltuk felderíteni. A HFO gyakorisága a csoportok között eltérő volt, szignifikánsan nagyobb értékeket mutatva a pilokarpinkezelt állatokban. Ez az eredmény összhangban van a Salami és mtsai. által közöltekkel [13]. A HFO-k gyakoriságának elemzése így megfelelő klinikai validálás után akár a temporálislebeny-epilepszia kóris-mezésére is alkalmas lehet, ahogyan azt először Zijlmans és mtsai. felvetették [22, 23].

A DBS-Pilo és DBS-Kontroll csoportok HFO-i sem időtartamban, sem a frekvenciatartományok arányaiban nem térnek el, ami a két csoport magasfrekvenciás oszcillációinak hasonló jellegére is utalhat.

Megfigyeléseink során az epilepsziás állatok csoportjában (DBS-Pilo) a stimuluscsomagok alatt azonnal lecsökkent a HFO-k gyakorisága, a stimuluscsomagokon kívül ez a gyakoriságszökkenés viszont nem állt fenn. Ez a jelenség a DBS egyik rövid távú antiepileptikus hatására is utalhat, ahogyan erre Wang és mtsai. is rámutattak [24]. A tény, hogy a hosszabb időablakok vizsgálata során nem mutatkozott meg ez a hatás, indokoltá teheti a stimuluscsomagok hosszának további növelését vagy a zárt körű stimulációt [25]. Ez utóbbi fokozott epileptikus aktivitás melletti stimulálást feltételez, és jóval hatékonyabb rohamszám-csökkenést ér el ugyanannyi stimulációs idő alatt [26]. Emellett szól, hogy nemcsak a zárt körű, hanem az időszakos stimuláció hatékonysága is növelhető a stimuluscsomag időtartamának nyújtásával. A magas frekvenciájú hippocampalis stimuláció hosszabban tartó elektrofiziológiai hatást ért el, ha 1 perc helyett 6 percig tartott a stimuluscsomag [27].

A stimulálás alatti 10 nap során nem változott számottevően a HFO-k gyakorisága, ez az időtartam valószínűleg túl rövid ahhoz, hogy hosszú távú változásokat figyelhessünk meg. Erre utal Costard és mtsai. megfigyelése, akik 97 napon át rögzítették mélyagystimulált epilepsziás patkányok hippocampus helyi mezőpotenciáljait, és a rohamok számának csökkenése mellett az epileptogenezis lassítását is kimutatták [28].

Abban az esetben, ha a TLE mindkét oldali lebenyt érinti, a kétoldali HFO gyakoriságok is hasonlóak. Esetünkben a *ripple* teljesítménysűrűség a DBS első napjától fogva bal oldalon, vagyis a stimulálóelektrod oldalán volt magasabb. Ezen különbség kialakulásában szerepet játszhat a két agyfélteke TLE általi különböző fokú érintettsége [29–31].

Mivel az első nap és az ezt követő napok átlaga közt egyik frekvenciasáv esetében sincs számottevő különbség, feltételezhető, hogy a HFO-k altípusai arányaiban nem változnak DBS során. Szintén emellett szól, hogy a Stim BE és Stim KI alatt észlelt HFO-k időtartama sem különbözik szignifikánsan.

Annak érdekében, hogy az egyoldali stimuláció *ripple* oldalpreferenciájában játszott szerepét vizsgálhassuk, mindkét oldali amygdala stimulációjára lenne szükség, így kizárva az egyoldali stimuláció okozta aszimmetrit. A kétoldali amygdalo-hippocampalis stimuláció, habár fokozottabb antiepileptikus hatással bír, és az interiktális kisülések gyakoriságát hatékonyabban csökkenti magas és alacsony frekvenciájú stimuláció esetén egyaránt, nem ismert, milyen módon befolyásolja a magas frekvenciájú oszcillációk eloszlását [32–34]. A további stimulációs célpontok és a stimulusok paramétereinek megállapításához hasznos lehet a McIntyre és Foutz által kidolgozott DBS számítógépes modell alkalmazása, mely a stimulációs célpont függvényében számítja ki az aktivált idegszövet térfogatát, és ezáltal optimizálja az alkalmazandó stimulus paramétereit [35]. A hippocampusok között észlelt *ripple-fast ripple* különbségek felvetik annak szükségességét, hogy a DBS hatását a HFO-k domináns frekvenciatartománya szerinti altípusokra osztva is érdemes tanulmányozni [36].

A szakirodalomban felvetődött, hogy szabálytalan DBS impulzusmintázattal esetleg jobb terápiás eredményeket lehet elérni [37], ezért ennek alkalmazása újabb ismereteket nyújthatna a HFO-k gyakoriságának és altípusainak változásával kapcsolatban.

Következtetés

A pilokarpin temporálislebeny-epilepsziamodellemben megnő a hippocampusban észlelt magas frekvenciájú oszcillációk gyakorisága a kontrollcsoportokhoz képest. Az amygdala DBS csökkentette a magas frekvenciájú oszcillációk gyakoriságát az epilepsziás állatokban, ez a hatás viszont a stimuluscsomagok idejére korlátozódott. Egészséges állatokban a HFO-k nagyon kis gyakorisággal jelentek meg, és ezt nem befolyásolta a mélyagyi stimuláció.

A HFO-k gyakoriságának elemzése újszerű eszköz lehetne az epilepszia elektrográfias vizsgálatában és a mélyagyi stimuláció hatékonyságának felmérésében.

Irodalom

1. Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and Epilepsy: An Overview for Neuroscientists. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;1–18.
2. Behr C, Lévesque M, Stroh T, Avoli M. Time-dependent evolution of seizures in a model of mesial temporal lobe epilepsy. Neurobiol Dis. 2017;106:205–13.
3. Rosa María Querol Pascual. Temporal Lobe Epilepsy: Clinical Semiology and Neurophysiological Studies. Semin Ultrasound MRI. 2007;416–23.
4. Zangabadi N, Ladino LD, Sina F. Deep Brain Stimulation and Drug-Resistant Epilepsy: A Review of the Literature. Front Neurol. 2019;10:1–18.
5. Klinger N, Mittal S. Deep brain stimulation for seizure control in drug-resistant epilepsy. Neurosurg Focus. 2018;45(2):1–8.
6. Sprengers M, Vonck K, Carrette E, Ag M, Boon P, Sprengers M, et al. Deep brain and cortical stimulation for epilepsy (Review). Cochrane Database Syst Rev. 2017;7(7).
7. Lozano AM, Lipsman N, Bergman H, Brown P, Chabardes S, Chang JW, et al. Deep brain stimulation: current challenges and future directions. Nat Rev Neurol. 2019;15(3):148–60.
8. Herrington TM, Cheng JJ, Eskandar EN. Mechanisms of deep brain stimulation. J Neurophysiol. 2016;115:19–38.
9. Fisher R, Salanova V, Witt T, Worth R, Henry T, Gross R, et al. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. Epilepsia. 2010;51:899–908.
10. de Curtis M, Jefferys JGR, Avoli M. Interictal Epileptiform Discharges in Partial Epilepsy: Complex Neurobiological Mechanisms Based on Experimental and Clinical Evidence. 4th editio. Noebels JL, Avoli M, Rogawski M, Olsen R, Delgado-Escueta A, editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. 213–227 p.
11. Staba RJ, Stead M, Worrell GA. Electrophysiological Biomarkers of Epilepsy. Neurotherapeutics. 2014;11:334–46.
12. Pitkänen A, Löscher W, Vezzani A, Becker AJ, Simonato M, Lukasiuk K, et al. Advances in the development of biomarkers for epilepsy. Lancet Neurol. 2016;15(8):843–56.

13. Salami P, Lévesque M, Benini R, Behr C, Gotman J, Avoli M. Dynamics of interictal spikes and high-frequency oscillations during epileptogenesis in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2014;67:97–106.
14. Li L, Patel M, Almajano J, Engel J, Bragin A. Extrahippocampal high-frequency oscillations during epileptogenesis. *Epilepsia.* 2018;59(4):51–5.
15. Ewell LA, Fischer KB, Leibold C, Leutgeb S, Leutgeb JK. The impact of pathological high-frequency oscillations on hippocampal network activity in rats with chronic epilepsy. *Elife.* 2019;
16. Yang Y, Wang J. From Structure to Behavior in Basolateral Amygdala-Hippocampus Circuits. *Front Neural Circuits.* 2017;11:1–8.
17. Tyrand R, Seeck M, Spinelli L, Pralong E, Vulliémot S, Foletti G, et al. Effects of amygdala — hippocampal stimulation on interictal epileptic discharges. *Epilepsy Res.* 2012;99(2):87–93.
18. Langevin JP, Chen JWY, Koek RJ, Sultzer DL, Mandelkern MA, Schwartz HN, et al. Deep brain stimulation of the basolateral amygdala: Targeting technique and electrodiagnostic findings. *Brain Sci.* 2016;6(3):28.
19. Paxinos G, Charles Watson. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates Sixth Edition. 6th Editio. Paxinos G, Watson C, editors. Elsevier Academic Press. Academic Press; 2007. 456 p.
20. Navarrete M, Alvarado-Rojas C, Quyen ML Van. RIPPLELAB : A Comprehensive Application for the Detection , Analysis and Classification of High Frequency Oscillations in Electroencephalographic Signals. *PLoS One.* 2016;
21. Zelmann R, Mari F, Jacobs J, Zijlmans M, Dubeau F, Gotman J. Clinical Neurophysiology A comparison between detectors of high frequency oscillations. *Clin Neurophysiol.* 2012;123(1):106–16.
22. Zijlmans M, Jiruska P, Zelmann R, Leijten FSS, Jefferys JGR, Gotman J. High-frequency oscillations as a new biomarker in epilepsy. *Ann Neurol.* 2012;71(2):169–78.
23. Jacobs J, Staba R, Asano E, Otsubo H, Wu JY, Zijlmans M, et al. High-frequency oscillations (HFOs) in clinical epilepsy. *Prog Neurobiol.* 2012;98(3):302–15.
24. Wang Y, Liang J, Xu C, Wang Y, Kuang Y, Xu Z, et al. Low-frequency stimulation in anterior nucleus of thalamus alleviates kainate-induced chronic epilepsy and modulates the hippocampal EEG rhythm. *Exp Neurol.* 2015;276:22–30.
25. Salam MT, Luis J, Velazquez P, Genov R, Member S. Seizure Suppression Efficacy of Closed-loop Versus Open-loop Deep Brain Stimulation in a Rodent Model of Epilepsy. *IEEE.* 2015;4320.
26. Sprengers M, Raedt R, Emil L, Jan W, Paul W, Kristl B. Deep brain stimulation reduces evoked potentials with a dual time course in freely moving rats : Potential neurophysiological basis for intermittent as an alternative to continuous stimulation. *Epilepsia.* 2020;61(5):903–13.
27. Deng J, Luan G. Mechanisms of Deep Brain Stimulation for Epilepsy and Associated Comorbidities. *Neuropsychiatry (London).* 2017;1:31–7.
28. Costard LS, Neubert V, Venø MT, Su J, Kjems J, Connolly NMC, et al. Brain Stimulation Electrical stimulation of the ventral hippocampal commissure delays experimental epilepsy and is associated with altered microRNA expression. *Brain Stimul.* 2019;12(6):1390–401.
29. Thomschewski A, Hincapié A, Frauscher B. Localization of the Epileptogenic Zone Using High Frequency Oscillations. *Front Neurol.* 2019;10.
30. Pastor J, Vega-Zelaya L. Clinical Neurophysiology A new potential specifically marks the sensory thalamus in anaesthetised patients. *Clin Neurophysiol.* 2019;130:1926–36.
31. Cimbáľník J, Pail M, Chrastina J, Hermanová M, Brázdil M, Pavel R. Hippocampal high frequency oscillations in unilateral and bilateral mesial temporal lobe epilepsy. *Clin Neurophysiol.* 2019;130(7):1151–9.
32. Carla J, Oliveira D, Castro D De, Henrique G, Souza D, Flávio M, et al. Epilepsy & Behavior Temporally unstructured electrical stimulation to the amygdala suppresses behavioral chronic seizures of the pilocarpine animal model. *Epilepsy Behav.* 2014;36:159–64.
33. de Oliveira JC, Maciel RM, Moraes MFD, Rosa Cota V. Asynchronous, bilateral, and biphasic temporally unstructured electrical stimulation of amygdalae enhances the suppression of pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Epilepsy Res.* 2018;146:1–8.
34. Nieuwenhuys B Van, Raedt R, Delbeke J, Wadman WJ, Boon P, Vonck K. Brain Stimulation In Search of Optimal DBS Paradigms to Treat Epilepsy : Bilateral Versus Unilateral Hippocampal Stimulation in a Rat Model for Temporal Lobe Epilepsy. *Brain Stimul.* 2015;8(2):192–9.
35. McIntyre C, Foutz T. Computational modeling of deep brain stimulation. *Handb Clin Neurol.* 2013;116(216):55–61.
36. Wendling F. Modulation of epileptic activity by deep brain stimulation : a model-based study of frequency-dependent effects. *Front Comput Neurosci.* 2013;7(July):1–16.
37. Wyckhuys T, Boon P, Raedt R, Nieuwenhuys B Van, Vonck K. Suppression of hippocampal epileptic seizures in the kainate rat by Poisson distributed stimulation. 2010;51(11):2297–304.