

LAMINAIRE DISTRIBUTIE VAN DE
CELLEN VAN OORSPRONG VAN
DESCENDERENDE VEZELS UIT DE
MOTORISCHE CORTEX IN DE
KAT EN DE AAP

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE
AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
PROF. DR. J. SPERNA WEILAND
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP
WOENSDAG 24 FEBRUARI DES NAMIDDAGS
TE 3.45 UUR

DOOR

CORNELIA ELISABETH CATSMAN-BERREVOETS

GEBOREN TE WEMELDINGE

Promotor : Prof. Dr. H.G.J.M. Kuypers

Coreferenten : Prof. Dr. J. Voogd
Prof. Dr. A.H.M. Lohman

Zwar ist's mit der Gedankenfabrik
Wie mit einem Webermeisterstück
Wo ein Tritt tausend Fäden regt
Die Schiffflein herüber, hinüber schiessen
Die Fäden ungesehen fließen
Ein Schlag tausend Verbindungen schlägt.

Goethe

aan Willem
aan mijn ouders

Dit proefschrift is grotendeels gebaseerd op de volgende publicaties:

C.E. Berrevoets and H.G.J.M. Kuypers: Pericruciate cortical neurons projecting to brainstem medial reticular formation, dorsal column nuclei and spinal cord in the cat. *Neuroscience Letters* 1(1975) 257-262.

C.E. Catsman-Berrevoets and H.G.J.M. Kuypers: Cells of origin of cortical projections to dorsal column nuclei, spinal cord and bulbar medial reticular formation in the rhesus monkey. *Neuroscience Letters* 3 (1976) 245-252.

C.E. Catsman-Berrevoets and H.G.J.M. Kuypers: Differential laminar distribution of corticothalamic neurons projecting to the VL and the centermedian. An HRP study in the cynomolgus monkey. *Brain Research* 154 (1978) 359-365.

C.E. Catsman-Berrevoets, H.G.J.M. Kuypers and R.N. Lemon: Cells of origin of the frontal projections to magnocellular and parvocellular red nucleus and superior colliculus in cynomolgus monkey. An HRP study. *Neuroscience Letters* 12 (1979) 41-46.

C.E. Catsman-Berrevoets and H.G.J.M. Kuypers: A search for corticospinal collaterals to thalamus and mesencephalon by means of multiple retrograde fluorescent tracers in cat and rat. *Brain Research* 218 (1981) 15-31.

Sommige figuren zijn gereproduceerd uit vroegere publicaties met toestemming van de uitgever Elsevier/North Holland Biomedical Press.

Dit onderzoek werd mede mogelijk gemaakt door steun van de Stichting voor Medisch Wetenschappelijk Onderzoek FUNGO, die wordt gesubsidieerd door de Nederlandse Organisatie voor Zuiver Wetenschappelijk Onderzoek (Z.W.O.).

INDEX

ALGEMENE INLEIDING

- Hoofdstuk I: ANATOMISCHE KENMERKEN VAN DE CORTEX CEREBRI
- I.1. Inleiding
 - I.2. De cellagen van de neocortex
 - I.3. Cytoarchitectonische kaarten van de neocortex
 - I.4. Beschrijving van de somatosensibele, parietale en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat
- Hoofdstuk II: ORGANISATIE VAN HET MOTORISCHE SYSTEEM
- II.1. Inleiding
 - II.2. Organisatie van de descenderende banen naar het ruggemerg
 - II.3. Corticale projecties naar cellen van oorsprong van descenderende hersenstam banen
 - II.4. Overige descenderende projecties van de motorische cortex
- Hoofdstuk III: BESCHRIJVING VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT SOMATOSENSIBELE EN MOTORISCHE CORTICALE GEBIEDEN IN DE AAP EN DE KAT
- III.1. Corticale projecties naar het ruggemerg
 - III.2. Corticale projecties naar de medulla oblongata en de pons
 - III.3. Corticale projecties naar het mesencephalon
 - III.4. Corticale projecties naar het diencephalon
- Hoofdstuk IV: TECHNIEKEN VOOR HET IDENTIFICEREN VAN CELLEN VAN OORSPRONG VAN PROJECTIE VEZELS EN AXON COLLATERALEN
- IV.1. Inleiding
 - IV.2. De retrograde neuronale transport technieken
 - IV.3. Anatomische technieken om cellen van oorsprong van axon collateralen te identificeren

- Hoofdstuk V: CELLEN VAN OORSPRONG VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT DE
MOTORISCHE CORTEX IN DE KAT. - EEN HRP ONDERZOEK
- V.1. Samenvatting
 - V.2. Materiaal en methoden
 - V.3. Resultaten
 - V.4. Discussie
- Hoofdstuk VI: CELLEN VAN OORSPRONG VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT DE
MOTORISCHE CORTEX IN DE AAP. - EEN HRP ONDERZOEK
- VI.1. Samenvatting
 - VI.2. Materiaal en methoden
 - VI.3. Resultaten
 - VI.4. Discussie
- Hoofdstuk VII: ONDERZOEK NAAR CORTICOSPINALE AXON COLLATERALEN NAAR
THALAMUS EN MESENCEPHALON IN DE KAT EN DE RAT MET BEHULP
VAN VERSCHILLENDE RETROGRADE FLUORESCENTE MERKSTOFFEN
- VII.1. Samenvatting
 - VII.2. Materiaal en methoden
 - VII.3. Resultaten
 - VII.4. Discussie
- Hoofdstuk VIII: DE LAMINAIRE DISTRIBUTIE VAN DE CELLEN VAN OORSPRONG VAN
DESCENDERENDE VEZELS UIT DE MOTORISCHE CORTEX IN DE KAT
EN DE AAP: DISCUSSIE

SAMENVATTING

SUMMARY

LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN

LITERATUUROPGAVE

DANKWOORD

CURRICULUM VITAE

ALGEMENE INLEIDING

De cortex cerebri omvat een zeer grote populatie neuronen. Een deel van deze corticale neuronen distribueert vezels naar subcorticale structuren. De corticale gebieden waaruit deze vezels afkomstig zijn, het verloop en de eindigingsgebieden van deze corticale vezels werden aanvankelijk met anterograde degeneratie technieken en later ook met anterograde autoradiografische technieken bestudeerd. Met behulp van deze technieken werd aangetoond, dat descenderende vezels uit motorische corticale gebieden in de aap ^{97,98,335} en de kat ²⁴¹ in het striatum, ¹⁴⁰ in de thalamus, ^{163,261,278} in structuren in de hersenstam ^{168,174,185,259,279} en in het ruggemerg ^{50,172,174,208,244,245} eindigen.

Tot voor kort was weinig bekend over de anatomische kenmerken van de cellen van oorsprong van de descenderende corticale vezels. ^{118,201} De in het laatste decennium ontwikkelde retrograde transport technieken ^{23,24,155,156,157,158,178,179,181,193} maakten het echter mogelijk om deze neuronen door middel van retrograde neuronale labeling te identificeren.

In de experimenten die in de hoofdstukken V en VI van dit proefschrift zullen worden beschreven, werden de cellen van oorsprong van descenderende vezels uit motorische corticale gebieden van de kat (hoofdstuk V) en van de aap (hoofdstuk VI) met behulp van de retrograde HRP transport techniek ^{156,157,158,184,193} geïdentificeerd. Vervolgens werd in beide diersoorten de areale en laminaire distributie van de cellen van oorsprong van deze vezels bestudeerd.

Volgens electrofysiologische onderzoeken ^{73,90,123,313} bestaat een deel van de corticale vezels naar hersenstam kernen en thalamus in werkelijkheid uit collateralen van corticospinale-of pyramidebaanvezels. In hoofdstuk VII van dit proefschrift zullen experimenten worden beschreven, waarin in de kat en de rat het bestaan van dergelijke corticospinale axon collateralen naar het mesencephalon en de laterale thalamus anatomisch werd onderzocht door middel van de retrograde fluorescente neuronale dubbel labeling techniek. ^{178,181}

Om de bevindingen in deze te beschrijven experimenten in hun juiste perspectief te zien, zullen in hoofdstuk I cytoarchitectonische kenmerken van de cortex cerebri worden beschreven. Met name zal aan de cytoarchitectuur van de sensorimotorische gebieden in de aap en de kat aandacht worden besteed. Vervolgens zullen in hoofdstuk II de organisatie van het motorische systeem en in hoofdstuk III de anatomie van de descenderende corticale banen worden beschreven, met de nadruk op de situatie in de kat en de aap. In hoofdstuk IV zal aandacht worden besteed aan technieken, waarmee cellen van oorsprong van projectievezels en van axoncollateralen kunnen worden geïdentificeerd. De technieken die in de in dit proefschrift beschreven experimenten werden toegepast, zullen in dit hoofdstuk worden uiteengezet.

Hoofdstuk I: ANATOMISCHE KENMERKEN VAN DE CORTEX CEREBRI

- I.1. Inleiding
- I.2. De cellagen van de neocortex
- I.3. Cytoarchitectonische kaarten van de neocortex
- I.4. Beschrijving van de somatosensibele, parietale en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat
 - I.4.A. De aap
 - I.4.B. De kat
 - I.4.C. De rat

I.1. Inleiding

De hemisferen van de hersenen worden bedekt door de cortex cerebri. Deze bevat voornamelijk neuronen, efferente vezels en afferente vezels afkomstig uit andere delen van de hersenen. De cortex cerebri kan worden onderverdeeld in de neocortex en de allocortex. De allocortex bedekt een deel van het ventrale oppervlak van de hemisfeer (formatio hippocampi en olfactorische cortex). De neocortex bedekt het resterende deel van de hemisfeer. In de in dit proefschrift beschreven experimenten werden uitsluitend neuronen in de neocortex van de aap, de kat en de rat bestudeerd. Daarom zal voornamelijk aandacht worden besteed aan de anatomische kenmerken van de neocortex en wel van de somatosensibele en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat in het bijzonder.

I.2. De cellagen van de neocortex

De resultaten van het eerste microscopische onderzoek van de cortex cerebri werden in 1840 door Baillarger¹⁸ gepubliceerd. Hij bestudeerde ongekleurde coupes van de menselijke hersenschors en beschreef hierin zes evenwijdig aan het oppervlak van de hemisferen gelegen laminae. Meynert²²⁶ kleurde in zijn coupes van de menselijke hersenschors de perikaria van de neuronen. In tegenstelling tot Baillarger, kwam hij tot de conclusie, dat de neuronen in de cortex cerebri van de mens in vijf laminae waren gerangschikt, behalve in het occipitale gedeelte van de hemisferen. Hier onderscheidde hij acht verschillende laminae. Lewis²⁰² was het in grote trekken met hem eens. Volgens zijn waarnemingen waren in de precentrale gyrus van de mens echter slechts vijf laminae aanwezig. Lewis²⁰² beschreef bovendien de voor de precentrale gyrus zo kenmerkende reuspyramide cellen. Zijn waarnemingen waren in goede overeenstemming met de ontdekking van dergelijke reuspyramide cellen in de cortex cerebri van lagere diersoorten door Betz.²⁶ Fritsch en Hitzig⁷⁹ hadden eerder de elektrische prikkelbaarheid van de cortex cerebri in de frontaalkwab van de hond ontdekt. Beïnvloed door deze ontdekking suggereerde Lewis,^{202,203} dat bewegingen van het lichaam slechts konden worden opgewekt door dat deel van de cortex cerebri te prikkelen, dat zich door de aanwezigheid van vijf corticale laminae onderscheidt. De in dit gebied gelegen reuspyramide cellen (Betz cellen) zouden volgens hem een motorische functie vervullen.^{202,203}

Cajal⁴⁶ bestudeerde het probleem van de corticale laminae met nieuwe technieken. In aanvulling op de Nissl techniek, waarmee het cytoplasma van neuronen kan worden gekleurd, paste hij de in 1873 door Golgi⁸⁸ ontwikkelde zilver techniek toe. Deze laatste techniek impregneert niet alleen de somata,

maar ook de dendrietbomen en axonen van neuronen. Cajal⁴⁶ en zijn leerling Lorente de N6²⁰⁹ gaven op grond van op bovenstaande manieren bewerkt materiaal de eerste systematische beschrijvingen van de corticale neuronale cytoarchitectuur. Zij stelden onder andere vast, dat de hersenschors over het algemeen in zeven laminae kan worden onderverdeeld. Zij moesten echter erkennen, dat dit aantal voor sommige delen van de cortex varieert.

Brodmann⁴² benoemde de laminae in alle corticale gebieden volgens een eensluidend systeem. In alle neocorticale gebieden onderscheidde hij zes laminae, op grond van cytoarchitectonische criteria, zoals onder andere de vorm van de in de laminae aanwezige neuronen. Deze laminae verdeelde hij zo nodig in sublaminae. Hij benoemde de corticale laminae van buiten naar binnen als volgt:

- I. Lamina zonalis
- II. Lamina granularis externa
- III. Lamina pyramidalis externa
- IV. Lamina granularis interna
- V. Lamina ganglionaris
- VI. Lamina multiformis.

Lamina I wordt vrijwel volledig in beslag genomen door eindvertakkingen van dendrietbomen van in diepere laminae gelegen neuronen en door terminalia van ascenderende axonen. Zij vormen een vrij dicht plexus rondom het relatief geringe aantal in lamina I gelegen neuronen. In laminae II en IV liggen voornamelijk granulaire (globuliforme) neuronen,^{53,88} die aan deze lagen een granulaïr aspect verlenen. Laminae III en V danken hun naam aan de overwegend pyramidevormige neuronen^{53,88} in deze laminae. In lamina VI zijn voornamelijk spoelvormige neuronen (door Golgi⁸⁸ fusiforme neuronen genoemd) gelegen.

De onderverdeling van de corticale laminae, zoals deze is voorgesteld door Brodmann,⁴² wordt door de meerderheid van degenen die de hersenschors onderzoeken of hebben onderzocht, aanvaard. Zijn criteria⁴² werden derhalve in dit proefschrift gehanteerd.

I.3. Cytoarchitectonische kaarten van de neocortex

Op grond van de voor een bepaald gebied karakteristieke cytoarchitectonische kenmerken in de corticale laminae onderscheidde een aantal onderzoekers verschillende corticale velden. Campbell⁴⁷ beschreef in de menselijke hersenschors ongeveer twintig cytoarchitectonisch verschillende gebieden. Brodmann⁴² beschreef op grond van met de Nissl techniek gekleurde coupes 47 verschillende corticale gebieden, terwijl von Economo en Koskinas⁷¹ er 109 onderscheidden. Vogt en Vogt³¹⁷ verdeelden de cortex cerebri van de mens op

grond van cyto- en myeloarchitectonische criteria zelfs in 209 verschillende gebieden. Brodmann⁴² bestudeerde niet alleen de hersenschors van de mens. Hij breidde zijn onderzoek uit tot de cortex van de rhesus aap en van een aantal lagere diersoorten, die hij eveneens in cytoarchitectonisch verschillende velden verdeelde. De onderverdeling van de cortex cerebri in cytoarchitectonisch verschillende gebieden wordt gesteund door de bevinding van Myers,²³⁷ dat een nauwe correlatie bestaat tussen cytoarchitectonisch gedefiniëerde gebieden en de distributie van afferente vezels uit het corpus callosum. Von Bonin en Bailey³⁴ wezen er echter op, dat de grenzen tussen de verschillende corticale velden waarschijnlijk niet absoluut zijn, maar dat tussen deze velden overgangsgebieden zijn gelegen. Een aantal van dergelijke overgangsgebieden is in meer recente publicaties^{5,106,130} beschreven.

De cortex cerebri werd ook op grond van fysiologische criteria onderverdeeld in verschillende gebieden. Zoals eerder vermeld, ontdekten Fritsch en Hitzig,⁷⁹ dat in de hond bewegingen kunnen worden opgewekt door de cortex van de frontaalkwab electricisch te prikkelen. Prikkeling van een bepaald deel van deze cortex bleek te resulteren in een beweging van een bepaald deel van het lichaam. Met behulp van deze techniek werden in verschillende diersoorten vrij gedetailleerde fysiologische kaarten van de cortex cerebri samengesteld, waarin de motorische representatie van het lichaam in de cortex werd aangegeven.^{60,82,100,241,318,335,337} Behalve de bij de motoriek betrokken corticale velden, identificeerde men delen van de cortex cerebri met een overwegend receptieve functie of met een associatieve functie. In de cortex velden met een receptieve functie konden afferente somatosensibele, visuele of auditieve impulsen fysiologisch worden geregistreerd. Registratie van somatosensibele impulsen uit verschillende delen van het lichaam leidde tot een gedetailleerde kennis van de somatosensibele lichaamsrepresentatie in de cortex van verschillende diersoorten en tot herkenning van primaire en secundaire somatosensibele cortex velden.^{100,266,327,328,335}

In de in dit proefschrift beschreven experimenten werden de cytoarchitectonische criteria van Brodmann⁴² gehanteerd om verschillende gebieden te onderscheiden. In de aap worden bovendien de op het werk van Brodmann gebaseerde modificaties van Powell en Mountcastle,²⁶⁶ Peele,²⁵³ Roberts en Akert²⁸⁰ en Jones et al.¹³⁰ gevolgd. In de kat werden de eveneens op het werk van Brodmann⁴² gebaseerde criteria van Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ toegepast. In de rat werd gebruik gemaakt van de indelingscriteria van Krieg^{151,152} en Welker.³²⁷

I.4. Beschrijving van de somatosensibele, parietale en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat

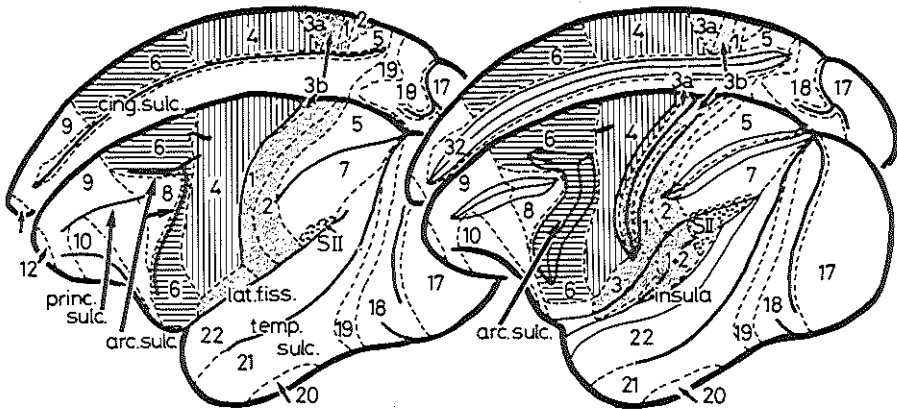
De cellen van oorsprong van de in het kader van deze studie in de aap, de kat en de rat onderzochte descenderende corticale vezels waren voornamelijk in motorische, somatosensibele en soms ook in parietale gebieden gelegen. De ligging van de cytoarchitectonische velden in deze gebieden en hun meest in het oog springende cytoarchitectonische kenmerken zullen in het kort worden beschreven.

Uit de huidige experimenten kwam naar voren dat de descenderende corticale vezels uit somatosensibele en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat voornamelijk afkomstig zijn van neuronen in laminae V en VI. Verder werd aangetoond, dat vooral lamina V cellen van oorsprong van descenderende vezels naar verschillende terminatie gebieden herbergt en dat deze neuronen, voor een deel, in verschillende delen van lamina V zijn gelocaliseerd. Om hun positie in lamina V van de somatosensibele en motorische gebieden in de aap, de kat en de rat te verduidelijken zal de cytoarchitectuur van deze lamina meer gedetailleerd worden beschreven dan die van lamina VI, waarin uitsluitend cellen van oorsprong van corticothalamische vezels werden aangetoond.

I.4.A. De aap (zie Fig. I.1)

Volgens Brodmann⁴² ligt in de aap de grens tussen de primaire somatosensibele (S1) en de motorische gebieden in de diepte van de centrale sulcus. Het grootste gedeelte van S1^{133,254,266} is caudaal van de centrale sulcus gelegen, terwijl de gebieden die een motorische functie hebben^{97,98} rostraal van deze sulcus zijn gelegen. Volgens sommige onderzoekers^{34,130,131,317} ligt tussen S1 en de precentrale motorische gebieden, op de bodem van de centrale sulcus een overgangszone, i.e. area 3a.

De primaire somatosensibele cortex kan worden onderverdeeld in areas 3b, 1 en 2. Deze gebieden onderscheiden zich onder andere door een duidelijke, granulaire lamina IV en een relatief slecht ontwikkelde lamina V met kleine en middel grote pyramide cellen.^{130,266} Area 3b ligt caudaal van area 3a en bedekt de caudale wand van de centrale sulcus. Caudaal van area 3b liggen achtereenvolgens area's 1 en 2, die samen de convexiteit van de postcentrale gyrus bedekken.²⁶⁶ De grenzen tussen die gebieden lopen min of meer parallel aan de centrale sulcus. Area's 3b, 1 en 2 grenzen mediaal aan de sulcus cinguli. Lateraal, ter plaatse van het laterale uiteinde van de centrale sulcus, breiden area's 3a, 3b, 1 en 2 zich naar rostraal uit langs de bovenrand van de sulcus lateralis. Deze gebieden bedekken hier het meest laterale deel



CYTOARCHITECTONIC SUBDIVISIONS (BRODMANN, ROBERTS AND AKERT)
IN MONKEY.

Figuur I.1.: Diagrammatische representatie van de cytoarchitectonische gebieden op het laterale en mediale (spiegelbeeldig) oppervlak van de linker hemisfeer in de aap. In de rechter afbeelding zijn de sulci principalis, arcuatus, cinguli, intraparietalis en centralis opengevouwen. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden (volgens Brodmann⁴²; Roberts en Akert²⁸⁰) zijn aangegeven met onderbroken lijnen. Precentrale agranulaire gebieden zijn met verticale (area 4) en horizontale (area 6) lijnen aangegeven. De primaire sensibele gebieden (SI) zijn met grijs aangegeven, terwijl de secundaire sensibele cortex (SII) gemerkt is met zwarte stippen.

Afkortingen: princ.sulc., sulcus principalis; arc.sulc., sulcus arcuatus; cing.sulc., sulcus cinguli; temp.sulc., sulcus temporalis; lat.fiss., laterale fissuur.

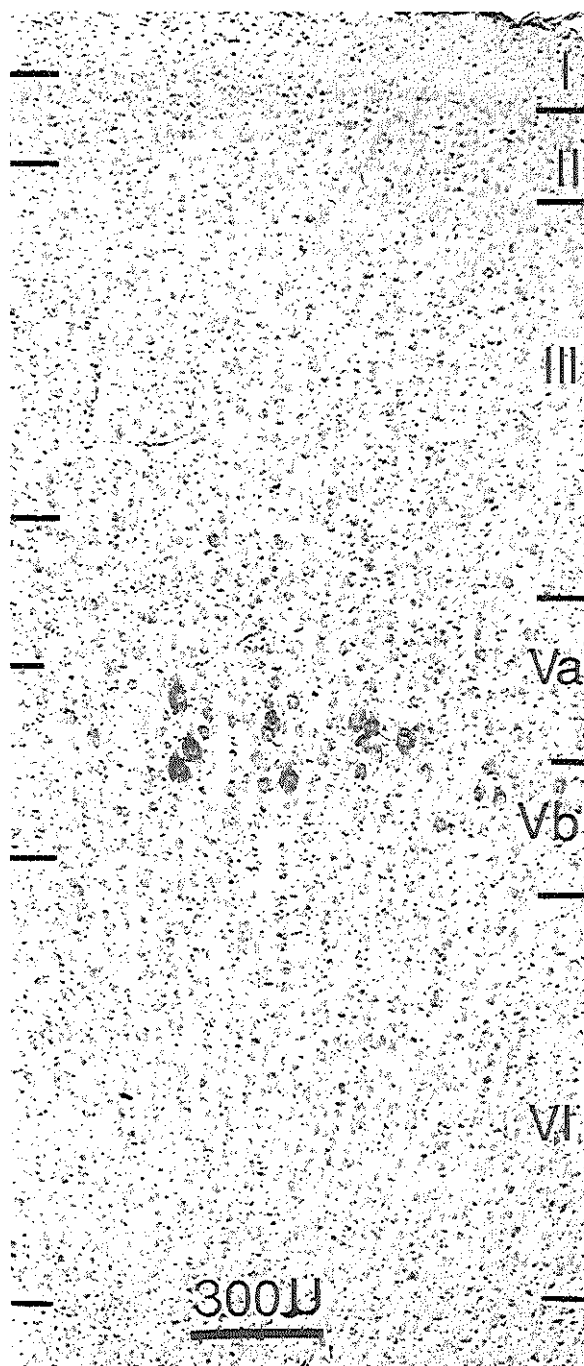
van de precentrale gyrus en het aangrenzende deel van het rostrale operculum.²⁸⁰

Zoals eerder vermeld, kenmerken de primaire somatosensibele gebieden zich door hun granulaire karakter, dat wil zeggen door een goed ontwikkelde lamina IV. In area's 1 en 2 tekent deze zich duidelijk af tegen laminae III en V. Volgens Powell en Mountcastle²⁶⁶ zou dit duidelijker zijn in area 2 dan in area 1. Jones et al.¹³⁰ bestudeerden eveneens de cytoarchitectonische kenmerken van area's 1 en 2. In tegenstelling tot Powell en Mountcastle²⁶⁶ concludeerden zij, dat de grens tussen deze beide gebieden zeer moeilijk is te trekken. Area 3b kenmerkt zich doordat laminae II, III en IV niet duidelijk van elkaar zijn te onderscheiden. Zij vormen in area 3b één karakteristieke brede band.²⁶⁶ Area 3a—het overgangsgebied tussen SI en de meer naar rostraal gelegen motorische gebieden—onderscheidt zich van area 3b doordat lamina IV van caudaal naar rostraal in hoogte afneemt, terwijl lamina V in die richting juist in hoogte toeneemt.¹³⁰

De parietale velden 5 en 7 grenzen caudaal aan area 2. Area 5 bedekt de gyrus parietalis superior en de aangrenzende mediale wand van de sulcus intraparietalis. Area 7 bedekt de gyrus parietalis inferior en de laterale wand van de sulcus intraparietalis.^{42,253} De hoogte van de corticale laminae in area's 5 en 7 is minder dan die in de primaire somatosensibele cortex. Deze area's bezitten echter een duidelijke, goed afgegrensde granulaire lamina IV. Verder liggen in lamina V van area 5 voor dit gebied karakteristieke grote pyramide cellen.^{253,266}

De secundaire somatosensibele cortex (SII) ligt in het caudale deel van het operculum parietale.²⁸⁰ De schors van SII onderscheidt zich van de primaire somatosensibele en de parietale velden door zijn hoogte. Volgens Roberts en Akert²⁸⁰ bezit SII een goed ontwikkelde en duidelijk afgegrensde, granulaire lamina IV en een brede goed ontwikkelde lamina V met kleine en middelgrote pyramide cellen.

De precentrale motorische gebieden kunnen worden onderverdeeld in een caudaal agranulair en een rostraal granulair deel. De frontale agranulaire cortex kenmerkt zich door een zeer goed ontwikkelde lamina V met kleine, middelgrote en grote pyramide cellen en een vrijwel afwezige lamina IV. De frontale granulaire cortex bezit een goed ontwikkelde granulaire lamina IV en een, in vergelijking met de agranulaire cortex, slecht ontwikkelde lamina V. Volgens Akert²⁸⁰ ligt tussen de agranulaire en granulaire frontale cortices een smalle overgangszone, die wordt gekenmerkt door een duidelijke, van caudaal naar rostraal in hoogte toenemende, lamina IV.



Figuur 1.2.: Microfoto van area 4 in de aap. De grenzen van de verschillende corticale laminae volgens Brodmann⁴² zijn aangegeven. In lamina Vb vallen de Betz cellen op.

De frontale agranulaire cortex grenst caudaal aan area 3a. Naar rostraal strekt zij zich uit langs de caudale wand van de beide benen van de sulcus arcuatus, tot aan de meest rostrale uiteinden van de beide benen van deze sulcus. Lateraal wordt de frontale agranulaire cortex begrensd door het precentraal gelegen deel van SI. Op het mediale oppervlak van de hemisfeer reikt de agranulaire cortex tot aan de sulcus cinguli.

De frontale agranulaire cortex kan worden onderverdeeld in een caudaal deel, i.e. area 4, en een rostraal deel, i.e. area 6. Cytoarchitectonisch onderscheidt area 4 (Fig. I.2.) zich van area 6 door de aanwezigheid van Betz cellen in lamina V. De grens tussen deze area's loopt ongeveer parallel aan de centrale sulcus en ligt ter hoogte van de bovenste precentrale "dimple". (Fig.I.1)

De frontale granulaire cortex bedekt dat deel van de frontale cortex, dat rostraal van de sulcus arcuatus is gelegen, met uitzondering van de rostrale punt van de hemisfeer. Deze frontale granulaire cortex kan worden onderverdeeld in area's 8, 9 en 10.⁴² Area 8 bedekt de gyrus arcuatus, de caudale eenderde delen van de wanden van sulcus principalis en strekt zich naar rostraal tot aan de rostrale uiteinden van de beide benen van de sulcus arcuatus uit. Area 8 bezit een goed ontwikkelde granulaire lamina IV. Lamina V is eveneens redelijk goed ontwikkeld en bevat middelgrote en grote pyramide cellen.

Cytoarchitectonische kenmerken van lamina V in motorische, somatosensibele en parietale corticale gebieden. Lamina V in de frontale agranulaire area's 4 en 6 is relatief goed ontwikkeld (Fig. I.2.). In deze gebieden kunnen binnen lamina V twee sublaminae worden onderscheiden, namelijk een oppervlakkig in lamina V gelegen lamina Va met relatief kleine pyramide cellen en daaronder een lamina Vb met relatief grote pyramide cellen.¹³⁰ In lamina Vb van area 4 bevinden zich naast middelgrote en grote pyramide cellen ook de Betz cellen (Fig. I.2.). Eenzelfde laminaire verdeling wordt door Jones et al.¹³⁰ voorgesteld voor lamina V in area's 3a, 3b, 1, 2 en SII, i.e. in een oppervlakkig gelegen lamina Va met relatief kleine pyramide cellen en een dieper gelegen lamina Vb met relatief grote pyramide cellen. Peele²⁵³ beschrijft twee sublaminae in lamina V van area's 5 en 7, terwijl Akert⁵ ook twee sublaminae onderscheidt in area 8. Volgens Akert⁵ liggen de voor area 8 zo kenmerkende relatief grote pyramide cellen in lamina V in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb, onder de kleinere pyramide cellen in lamina Va. Lamina V in area's 9 en 10 is relatief ongedifferentieerd en leent zich niet tot verdere onderverdeling in sublaminae.

I.4.B. De kat (zie Fig. I.3)

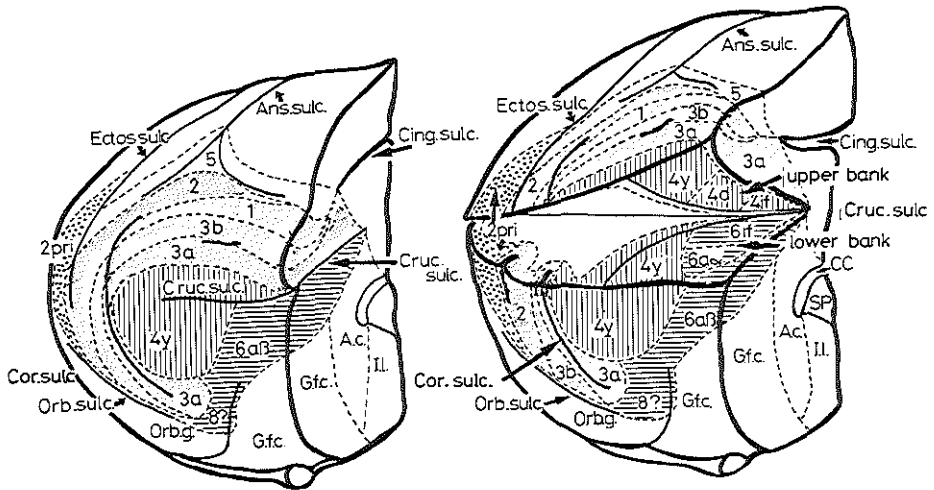
Oppervlakte anatomie van de somatosensibele en motorische cortex velden.¹⁰⁶

De somatosensibele en motorische corticale gebieden in de kat liggen in het rostrale deel van de hemisfeer. Zij zijn rondom de sulcus cruciatus gerangschikt. De wanden van de sulcus cruciatus liggen in het horizontale vlak. De diepte van deze sulcus neemt van lateraal naar mediaal geleidelijk toe en reikt tot het mediale oppervlak van de hemisfeer. Volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ zet de sulcus zich hier tot circa 1 cm in caudale richting voort.

De sulcus cruciatus wordt omgeven door de gyrus sigmoideus. Deze kan worden onderverdeeld in een caudaal gelegen gyrus sigmoideus posterior, een lateraal gelegen gyrus sigmoideus lateralis en een rostraal gelegen gyrus sigmoideus anterior. Op de gyrus sigmoideus posterior bevindt zich een kleine inzinking: de "posteruciate dimple"¹⁰⁶

Caudaal wordt de gyrus sigmoideus posterior begrensd door de zich splitsende uitlopers van de sulcus ansatus, i.e. de sulcus ansatus medialis en de sulcus ansatus lateralis. Lateraal van de gyrus sigmoideus lateralis bevinden zich de sulcus coronarius en de lateraal hieraan grenzende gyrus coronarius. Deze beide laatste structuren staan haaks op de sulcus cruciatus en vlijen zich van dorsaal naar ventraal om de gyrus sigmoideus lateralis heen. De gyrus coronarius wordt dorsaal en lateraal begrensd door de sulcus ectosylvius. Ventrolateraal wordt de gyrus coronarius begrensd door de sulcus orbitalis en de aangrenzende gyrus orbitalis. De gyrus sigmoideus anterior rijkt rostraal tot de rostrale uitloper van de sulcus presylvius. Deze is bijna haaks ten opzichte van de gyrus sigmoideus anterior gelegen. Mediaal van de sulcus presylvius gaat de gyrus sigmoideus anterior over in de gyrus proreus. Lateraal van de sulcus presylvius gaat de gyrus sigmoideus anterior over in de gyrus presylvius, welke aan de andere zijde wordt begrensd door de rostrale punt van de sulcus coronarius.

In de kat worden, net als in de aap somatosensibele en motorische gebieden onderscheiden. De ligging van deze gebieden wijkt echter af van die in de aap. De agranulaire motorische gebieden in de kat liggen in de wanden van de sulcus cruciatus en op de hieraan grenzende gyri sigmoidei anterior, lateralis en posterior.¹⁰⁶ De primaire somatosensibele gebieden liggen in een halve cirkel om de agranulaire motorische gebieden heen.¹⁰⁶ Caudaal wordt SI begrensd door de parietale gebieden¹⁰⁶ en ventrolateraal door de secundaire somatosensibele cortex.¹⁰⁶ Net als in de aap liggen de frontale granulaire gebieden rostraal van de agranulaire gebieden.¹⁰⁶ De frontale granulaire cortex bedekt ook een deel van het mediale oppervlak van de hemisfeer en wel rostraal van de sulcus



CYTOARCHITECTONIC SUBDIVISIONS (HASSLER AND MUHS-CLEMENT)
IN CAT FRONTAL CORTEX

Figuur I.3.: Diagrammatische representatie van de cytoarchitectonische gebieden op het oppervlak van de rechter frontaallob in de kat. In de rechter figuur werd in het vlak van de sulcus cruciatus een snede naar lateraal gemaakt. De sulcus cruciatus werd vervolgens opgevouwen om de cytoarchitectonische gebieden, die zich in de wanden van de sulcus cruciatus bevinden, zichtbaar te maken. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ zijn met onderbroken lijnen aangegeven. De frontale agranulaire gebieden zijn met verticale (area's 4γ, 4d, 4 i.f.) en horizontale (area's 6aα, 6aβ, 6 i.f.) lijnen aangegeven. De primaire sensibele gebieden (SI) zijn met grijs aangegeven, terwijl de secundaire sensibele cortex (SII) met zwarte stippen is gemerkt.

Afkortingen: Cing.sulc., sulcus cinguli; Cruc.sulc., sulcus cruciatus; Orb.g., gyrus orbitalis; Orb.sulc., sulcus orbitalis; Cor.sulc., sulcus coronarius; Ectos. sulc., sulcus ectosylvius; Ans.sulc., sulcus ansatus; G.f.c., granulaire frontale cortex; A.c., rostrale deel van de gyrus cinguli; I.l., infralimbische cortex.

cruciatus.²⁴⁴

De agrulaire motorische cortex in de kat¹⁰⁶ kan worden onderverdeeld in area's 4 en 6. Area 4 bedekt de bovenwand van de sulcus cruciatus, en het aangrenzende deel van de gyrus sigmoideus posterior rostraal van de "post-cruciate dimple". Area 4 strekt zich verder uit over de gyrus sigmoideus lateralis, over het laterale deel van de onderwand van de sulcus cruciatus en over het aangrenzende laterale deel van de gyrus sigmoideus anterior.¹⁰⁶ In een groot deel van area 4, i.e. in area 4 γ liggen in lamina V Betz cellen (Fig. I.4.). Deze zijn echter afwezig in dat deel van area 4 dat de caudale helft van de bovenwand van de sulcus cruciatus bedekt.¹⁰⁶ Hier treft men in lamina V slechts middelgrote en grote pyramidecellen aan.¹⁰⁶ Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ verdeelden dit deel van de sulcus cruciatus verder onder in area 4d, area 4 in fundo (4 fu.) en area 4 suprafundum (4 s.f.). Area 4d in de bovenwand van de sulcus cruciatus, onmiddellijk caudaal van area 4 γ , kenmerkt zich door een redelijk ontwikkelde lamina V met grote pyramide cellen.¹⁰⁶ Area 4 fu. en area 4 s.f. liggen in het meest caudale deel van de bovenwand van de sulcus cruciatus. In vergelijking met area's 4 γ en 4d bezitten zij beide een weinig gedifferentieerde lamina V.¹⁰⁶ Een grens tussen area 4 fu. en area 4 s.f. bleek vaak moeilijk te trekken. Derhalve worden zij in dit proefschrift als één enkel veld aangeduid, namelijk als area 4 i.f.

Area 6 ligt rostraal van area 4. Het bedekt het mediale deel van de onderwand van de sulcus cruciatus, het aangrenzende mediale deel van de gyrus sigmoideus anterior en de dorsale en caudale wanden van de sulcus presylvius.¹⁰⁶ Area 6 kenmerkt zich door zijn relatief grote hoogte. Door al zijn laminae heen zijn de neuronen in area 6 in een palissade structuur gerangschikt.¹⁰⁶ Ook area 6 wordt door Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ verder onderverdeeld in verschillende velden. In het caudale deel van de onderwand van de sulcus cruciatus onderscheiden zij area 6 infra fundum (area 6 i.f.), die wordt gekenmerkt door een relatief slecht ontwikkelde lamina V met middelgrote pyramide cellen. Het meer naar rostraal op de onderwand gelegen deel van area 6 noemen zij area 6 α . Het deel van area 6 op de rostrale rand van de onderwand van de sulcus cruciatus wordt, samen met het rostraal aangrenzende deel van area 6, area 6 β genoemd. Zowel in area 6 α als in area 6 β liggen middelgrote en grote pyramide cellen in een goed ontwikkelde lamina V. In area 6 β zijn laminae III en V goed van elkaar afgegrensd, terwijl in area 6 α de grens tussen laminae III en V niet duidelijk is.¹⁰⁶

De frontale granulaire cortex is in de kat, net als in de aap, rostraal van de agrulaire motorische gebieden gelegen. Het bedekt de mediale wand van de

gyrus presylvius, de gyrus proreus en het aangrenzende mediale oppervlak van de hemisfeer.²⁴⁴

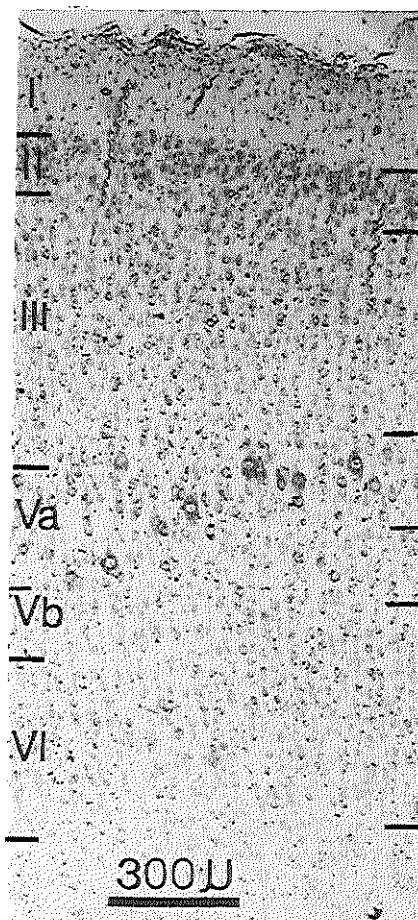
In de laterale wand van de sulcus presylvius bevindt zich een gebied dat zich volgens Akert⁵ histologisch onderscheidt van de aangrenzende agrulaire motorische en frontale granulaire velden. Dit gebied kenmerkt zich door een duidelijk ontwikkelde lamina IV en door grote pyramide cellen in laminae III en V.⁵ Door Akert⁵ wordt dit gebied aangeduid als area 8.

De somatosensibele cortex. Evenals in de aap onderscheidt men in de kat een primaire en een secundaire somatosensibele cortex. De primaire somatosensibele cortex (SI)³²⁵ vlijt zich in een halve cirkel om area 4 heen. Tussen de primaire somatosensibele cortex en area 4 ligt een smalle overgangszone, i.e. area 3a.¹⁰⁶ Op de gyrus sigmoideus posterior ligt area 3a ter hoogte van de "postcruciate dimple". Van hieruit zet area 3a zich voort naar lateraal in de diepte van de sulcus coronarius. Aan de rostrale punt van deze sulcus breidt area 3a zich uit naar dorsaal op de gyrus sigmoideus anterior en naar ventraal op de gyrus coronarius.¹⁰⁶ Kenmerkend voor area 3a zijn de grote pyramide cellen in lamina V onder een duidelijk ontwikkelde granulaire lamina IV.¹⁰⁶

De primaire somatosensibele cortex wordt door Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ onderverdeeld in area's 3b, 1 en 2. Op de gyrus sigmoideus posterior bevinden zij zich caudaal van area 3a. Area's 3b en 2 strekken zich naar lateraal uit op de convexiteit van de gyrus coronarius. Alle drie de area's zijn vooral herkenbaar aan hun goed ontwikkelde granulaire lamina IV en kunnen van elkaar worden onderscheiden volgens de criteria van Hassler en Muhs-Clement.¹⁰⁶

Ventrolateraal van de primaire somatosensibele gebieden bevindt zich de secundaire somatosensibele cortex (SII).³³⁵ Volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ komt SII³³⁵ histologisch overeen met hun area 2pri op de gyrus ectosylvius. Dit gebied kenmerkt zich door de grote pyramide cellen, die in een goed ontwikkelde lamina V onder een dichte granulaire lamina IV zijn gelegen.

De parietale velden 5 en ? liggen caudaal van SI. Area 5 ligt in de rostrale wanden van de sulci ansati lateralis en medialis.¹⁰⁶ Area 7 bedekt de caudale wanden van deze sulci en een deel van de caudaal aangrenzende gyri.¹⁰⁶ In area 5 zijn de neuronen door alle laminae heen in palissaden gerangschikt.¹⁰⁶ Dit gebied kenmerkt zich verder onder andere door een dunne granulaire lamina IV en een relatief goed ontwikkelde lamina V met grote pyramide cellen.¹⁰⁶ Area 7 is in vergelijking met area 5 minder hoog.¹⁰⁶ Evenals in area 5 is lamina IV zeer uitgesproken. In lamina V bevinden zich echter slechts kleine en middelgrote pyramide cellen.¹⁰⁶



Figuur I.4.: Microfoto van area 4 γ in de kat. De grenzen van de verschillende corticale laminae volgens Hassler en Muhs-Clement zijn aangegeven. In lamina Va vallen de Betz cellen op.

Cytoarchitectonische kenmerken van lamina V in motorische, somatosensibele en parietale corticale gebieden. Volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ kan

lamina V in area's 4 γ , 4d, 6a α , 6a β , 3a en 2pri worden onderverdeeld in twee sublaminae, i.e. in een oppervlakkig gelegen lamina Va die middelgrote en grote pyramide cellen herbergt en die in area 4 γ ook de Betz cellen (Fig. I.4.) bevat, en een dieper gelegen lamina Vb met relatief kleine pyramide cellen. Dit is dus in tegenstelling tot de situatie in de aap, waar de oppervlakkig gelegen lamina Va kleine cellen bevat en de dieper gelegen lamina Vb grote cellen (zie Fig. I.2, I.4).. Lamina V in de in de diepte van de sulcus cruciatus gelegen area's 4 i.f. en 6 i.f. is relatief slecht gedifferentieerd en wordt door Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ niet in sublaminae onderverdeeld.

Lamina V in de primair sensibele gebieden 1, 2 en 3b en in de parietale velden 5 en 7 kan volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ in drie sublaminae onderverdeeld worden, i.e. in sublaminae Va, Vb en Vc. In de meest oppervlakkige

sublamina, i.e. Va, en in de diepste sublamina, i.e. Vc, bevinden zich relatief kleine pyramide cellen. In de middelste sublamina, i.e. Vb, zijn daarentegen middelgrote en grote pyramide cellen gelegen.

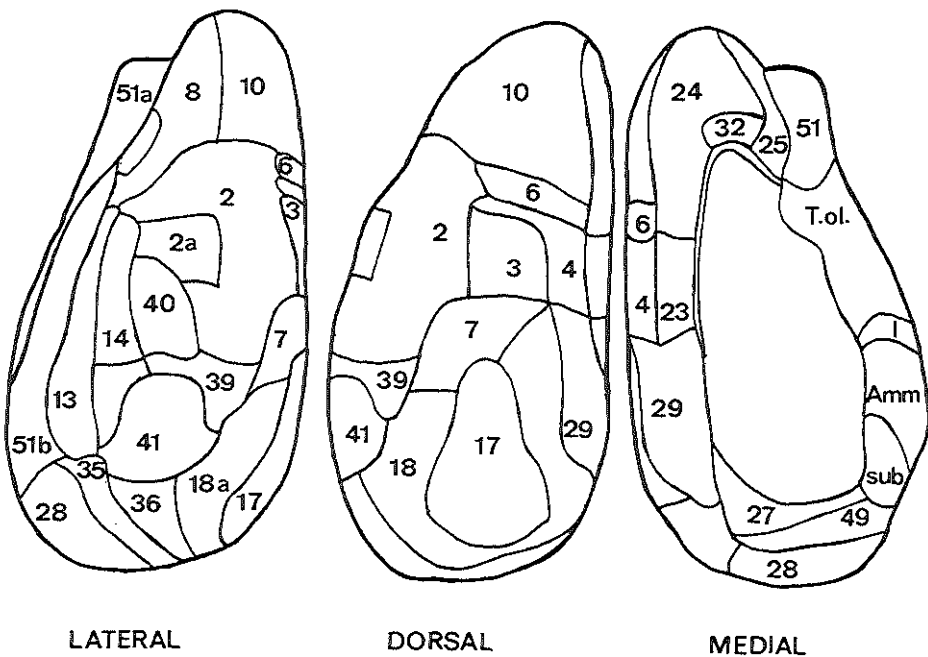
I.4.C. De rat (zie Fig. I.5)

Op iedere hemisfeer van de rat bevindt zich slechts één ondiepe sulcus. Deze ligt in het temporale deel van de hemisfeer en heeft een rostrocaudale orientatie. De gebieden die overeenkomen met de agranulaire motorische, frontale granulaire en somatosensibele gebieden in de aap, liggen in de rat respectievelijk in de frontale, anteromediale en parietale delen van de hemisfeer.¹⁵¹

Krieg¹⁵² verdeelt de *motorische cortex* onder in area's 4, 6, 8 en 10.

KRIEG

CORTICAL AREAS OF ALBINO RAT



Figuur I.5.: Diagrammatische representatie van de cytoarchitectonische gebieden op het oppervlak van de linkerhemisfeer in de rat volgens Krieg^{151,152} van lateraal (links), dorsaal (midden) en mediaal (rechts) gezien.

De cortex in deze gebieden is relatief hoog en wordt voor het grootste deel in beslag genomen door de goed ontwikkelde laminae V en VI. De motorische gebieden in de rat bezitten in tegenstelling met het homologe veld in de aap een duidelijk aanwezige lamina IV. Deze is het meest uitgesproken in area 4. In lamina V van area's 4, 6, 8 en 10 liggen middelgrote en grote pyramide cellen. Ondanks de afwezigheid van Betz cellen in de rat beschouwde Krieg¹⁵² area 4 in de rat toch homoloog aan area 4 in primaten (c.f. Hall en Lindholm¹⁰⁰).

De primaire somatosensibele cortex in de rat ligt lateraal van de motorische gebieden.^{151,152} Krieg¹⁵² onderscheidde hierin area's 3, 1, 2, 2a, 7, 39 en 40. Al deze gebieden kenmerken zich onder andere door een zeer goed ontwikkelde granulaire lamina IV, met dicht op elkaar gepakte neuronen, en daaronder een lamina V met relatief weinig neuronen. Volgens de fysiologische bevindingen van Welker³²⁷ komt de primaire somatosensibele cortex overeen met een corticaal gebied, waar de neuronen in lamina IV in groepen ("cell aggregates") zijn gerangschikt. Dit gebied met "cell aggregates" komt grotendeels overeen met de door Krieg¹⁵² als somatosensibel bestempelde gebieden.³²⁷

Hall en Lindholm¹⁰⁰ prikkelde de hersenschors van de rat met microelectroden en bestudeerden de hierdoor opgewekte bewegingen van de romp en de extremititeiten. Zij kwamen tot de conclusie dat dat deel van de cortex van waaruit men door prikkeling bewegingen kan opwekken, overeenkomt met de cytoarchitectonisch als motorisch bestempelde gebieden 4, 6, 8 en 10 van Krieg.¹⁵² Zij onderzochten eveneens de somatosensibele cortex door somatosensibele impulsen te registreren met in de cortex geïmplanteerde microelectroden. Op grond van hun bevindingen in dit onderzoek concludeerden zij, dat de gebieden waar zij somatosensibele impulsen konden registreren, goed overeenkwamen met het door Welker³²⁷ beschreven gebied met "cell aggregates". Volgens hun bevindingen bestaat er in de rat een zekere overlap tussen de motorische en somatosensibele velden. De primair motorische en somatosensibele voetgebieden overlappen geheel, terwijl de motorische en somatosensibele voorpootgebieden elkaar slechts ten dele overlappen.

Hoofdstuk II: ORGANISATIE VAN HET MOTORISCHE SYSTEEM

II.1. Inleiding

II.2. Organisatie van de descenderende banen naar
het ruggemerg

II.3. Corticale projecties naar cellen van oorsprong van descenderende hersenstam banen

II.4. Overige descenderende projecties van de
motorische cortex

II.1. Inleiding

In dit hoofdstuk zal in grote lijnen de organisatie van het motorische systeem worden beschreven. De nadruk zal worden gelegd op de rol, die cortico-spinale en descenderende hersenstam banen in de motoriek spelen. Een meer gedetailleerde beschrijving van de anatomie van de descenderende corticale banen zal in hoofdstuk III worden gegeven.

II.2. Organisatie van de descenderende banen naar het ruggemerg

Dwarsgestreepte spieren worden geïnnerveerd door motoneuronale celgroepen. Bewegingen van deze spieren zijn afhankelijk van de activiteit van de motoneuronen, die derhalve een centrale plaats in het motorische systeem innemen. De motoneuronale celgroepen in het ruggemerg zijn gelegen in de voorhoorn van het spinale grijs. In de aap en de kat zijn zij somatotopisch gerangschikt. Volgens retrograde degeneratie experimenten^{272,283,306} zijn in de lumbale en cervicale intumescenties van deze diersoorten de motoneuronen die naar axiale spieren en naar spieren in de proximale en de distale delen van de extremiteiten projecteren, in deze volgorde van ventromediaal naar dorso-lateraal in de voorhoorn gerangschikt.

De hersenen zijn in staat om bewegingen te besturen. Zij doen dit door middel van descenderende vezels die afkomstig zijn uit de cortex cerebri en uit hersenstam kernen en welke eindigen in de grijze stof van het ruggemerg.

De vezels die vanuit hersenstam kernen naar het ruggemerg afdalen kunnen naar hun eindigingsgebieden in het spinale grijs worden onderverdeeld in een laterale en een ventromediale groep.^{173,174,176} Zowel in de aap als in de kat zijn de vezels die behoren tot de *ventromediale groep van descenderende hersenstam banen* afkomstig uit de nucleus interstitialis van Cajal, de pontine en bulbaire mediale reticulaire formatie, de colliculus superior, de vestibulaire kernen en de nucleus subcoeruleus.^{45,182,183,186,187,243,259} De meeste vezels van deze groep betreden het spinale grijs vanuit de ventrale en ventrolaterale funiculi. Zij eindigen bilateraal in het ventromediale deel van de intermediaire zone en rond het centrale kanaal.^{182,183,243,259}

De vezels van de *laterale groep van descenderende hersenstam banen* komen voornamelijk uit het magnocellulaire deel van de nucleus ruber (MRN)^{52, 182,183,246,264} en uit het ventrolaterale deel van de pontine reticulaire formatie.^{45,174,186,187} Zowel in de aap als in de kat betreden de vezels van de laterale groep het spinale grijs vanuit de dorsolaterale funiculus en eindigen in de dorsale en dorsolaterale delen van de intermediaire zone.^{72,182,183,227, 259,292} De vezels van de pontospinale baan die afkomstig is uit het ventro-

laterale deel van de pontine reticulair formatie eindigen ook in de meest oppervlakkige lagen van de dorsale hoorn.^{119,218}

Volgens neurofysiologische onderzoekingen^{92,93,94,121,297,298,329,330} projecteren sommige hersenstam banen in de aap en de kat, met name de tractus vestibulospinales, de tractus rubrospinalis en de reticulospinale vezels direct op spinale motoneuronen. Anatomisch werd het bestaan van bovengenoemde verbindingen echter niet aangetoond. Anatomische onderzoekingen in de kat¹¹⁹ en de opossum²¹⁸ toonden echter wel aan, dat een groot aantal vezels uit de n. raphe magnus en het direct daaraan grenzende deel van de bulbaire (medullaire) mediale reticulair formatie, als ook een aantal vezels uit het gebied van de nuclei coeruleus en subcoeruleus eindigen op mediale en laterale motoneuronale celgroepen in het ruggemerg.

De eindigingsgebieden van de corticospinale vezels in de aap en de kat overlappen ten dele met die van de laterale en de ventromediale groepen van descenderende hersenstam banen. Zowel in de aap als in de kat eindigen de corticospinale vezels *contralateraal* voornamelijk in de dorsale hoorn en in het dorsolaterale deel van de intermediaire zone en *bilateraal* in het ventromediale deel van de intermediaire zone.^{50,56,78,172,174,176,180,208,243,244,245,259}

Volgens anatomische^{56,172,173,174,175,182,183,208} en neurofysiologische^{14,77,127,191,262,267} bevindingen eindigen in de aap sommige corticospinale vezels echter ook direct op de motoneuronen van distale extremitetsspieren. Ook in de mens werd een dergelijke verbinding aangetoond.^{173,292}

Experimenten^{3,4,196,207} waarbij in de aap en in de kat, of de ventromediale of de laterale groepen van hersenstam vezels selectief werden onderbroken wezen uit dat de ventromediale groep van descenderende banen voornamelijk betrokken is bij bewegingen van de romp, geïntegreerde bewegingen van romp en extremiteten en bij synergistische bewegingen van de extremiteten. Als resultaat van deze experimenten kwam eveneens naar voren, dat de laterale groep van descenderende hersenstam banen voornamelijk betrokken is bij het besturen van individuele bewegingen van de extremiteten.

Bilaterale doorsnijding van de pyramide banen in de aap,^{195,207} waardoor dus de corticospinale en sommige corticobulbaire vezels werden onderbroken, resulteerde aanvankelijk in een parese van de contralaterale extremiteten en met name van de distale delen. Na de operatie herstelde zich echter het vermogen om te lopen, te klimmen en voedsel te grijpen met de hele hand. Het vermogen om individuele vinger bewegingen uit te voeren bleek zich echter niet te herstellen.^{194,195} Volgens Kuypers^{174,176} wezen bovenstaande bevindingen er op dat directe corticospinale projecties op laterale motoneuronale celgroepen

essentieel zijn voor het maken van individuele vinger bewegingen. Deze uitspraak was mede gebaseerd op de overweging, dat zoogdieren die deze projecties niet bezitten niet in staat zijn om vingers individueel ten opzichte van elkaar te bewegen.^{174,176}

II.3. Corticale projecties naar cellen van oorsprong van descenderende hersenstam banen

Zowel bij de aap als in de kat projecteert de cortex cerebri naar hersenstam kernen van waaruit vezels afdalen naar het ruggemerg. De cortex is dus direct, via corticospinale vezels en indirect, via corticale projecties naar de cellen van oorsprong van descenderende hersenstam banen met het spinale grijs verbonden.

De aap. Zowel anatomische als fysiologische onderzoekingen (c.f. hoofdstuk III) tonen aan, dat de *corticale projecties naar de cellen van oorsprong van de laterale groep van descenderende hersenstam banen*, en met name die naar de MRN afkomstig zijn uit het caudale deel van area 4. Een deel van de corticospinale vezels eindigt in hetzelfde deel van de intermediaire zone als de vezels van de laterale groep van descenderende hersenstam banen, namelijk in het dorsolaterale gedeelte van de intermediaire zone van het spinale grijs. Deze corticospinale vezels zijn afkomstig uit die gebieden, waarin de hand en voet gerepresenteerd zijn.^{55,97,98,180,335} Volgens anatomische bevindingen¹⁸⁰ zijn ook de corticospinale vezels die direct op laterale motoneuronale celgroepen eindigen, afkomstig uit deze beide gebieden in het caudale deel van area 4.

De meerderheid van de *corticale vezels die naar de cellen van oorsprong van de ventromediale groep van descenderende hersenstam banen projecteren*, i.e. naar de colliculus superior, naar de pontine en naar de bulbair mediale reticulculaire formatie, is afkomstig uit het rostrale deel van area 4 en uit de rostraal daarvan gelegen area's 6, 8 en 9.^{55,174,176,180} Ook hier geldt dat vele corticospinale vezels in hetzelfde deel van de intermediaire zone eindigen als de vezels van de mediale groep van descenderende hersenstam banen, namelijk bilateraal in het ventromediale deel van de intermediaire zone en rond het centrale kanaal. Deze corticospinale vezels zijn eveneens afkomstig uit area 6 en het rostrale deel van area 4. Een deel komt echter uit het deel van area 4 dat gelegen is tussen de corticale hand en voet representatiegebieden.^{55,174,176}

Op grond van bovengenoemde bevindingen stelde Kuypers,^{174,176} dat het caudale deel van area 4 door zijn directe en indirecte verbindingen met het dorsolaterale deel van de intermediaire zone waarschijnlijk voornamelijk be-

trokken is bij het besturen van bewegingen van de distale delen van de extremititeiten en, dat de corticospinale vezels die direct eindigen op laterale motoneuronale celgroepen verantwoordelijk zijn voor het uitvoeren van individuele vinger bewegingen. Het cortex gebied dat gevormd wordt door het rostrale deel van area 4 en de rostraal aansluitende area's 6, 8 en 9 bestuurt dan waarschijnlijk, door middel van zijn directe en indirecte verbindingen met het ventromediale deel van de intermediaire zone bewegingen van de romp en van de proximale delen van de extremititeiten.^{174,176} Deze veronderstelling komt goed overeen met bevindingen in experimenten waarin het caudale deel van de precentrale gyrus^{97,98,335} of de rostraal daarvan gelegen gebieden^{206,318} electricisch werden geprikkeld.

De kat. De descenderende corticale vezelbundels in de kat zijn op eenzelfde manier georganiseerd als in de aap. De *corticale vezels naar de nucleus ruber* zijn voornamelijk afkomstig uit de motorische voor- en achterpoot gebieden in area 4.²⁷⁹ Volgens anterograde degeneratie experimenten⁵⁰ eindigen de uit deze gebieden afkomstige corticospinale vezels, evenals de rubrospinale vezels in het dorsolaterale deel van de intermediaire zone van het ruggemerg. De *corticale vezels naar de cellen van oorsprong van de ventromediale groep van descenderende hersenstam banen*, i.e. naar de colliculus superior en naar de pontine en de bulbaire mediale reticulair formatie zijn grotendeels afkomstig uit rostraal aan area 4 grenzende gebieden. Volgens bevindingen in anterograde degeneratie experimenten^{171,252,304} ontspringen zij aan het mediale deel van de onderwand van de sulcus cruciatus, van het aangrenzende mediale deel van de gyrus sigmoideus anterior, van de gyrus proreus en aan beide wanden van de sulcus presylvius. Dit is in overeenstemming met bevindingen in experimenten waarin dit deel van de cortex electricisch werd geprikkeld.^{60,241,291} Uit deze onderzoeken bleek dat dit deel van de cortex voornamelijk was betrokken bij bewegingen van axiale spiergroepen.

Bewegingen van axiale spieren en proximale extremititeitsspieren konden ook worden opgewekt door elektrische prikkeling van dat deel van area 4, dat gelegen is tussen de motorische representatiegebieden van voor- en achterpoot.²⁴¹ Dit is in overeenstemming met anatomische bevindingen^{9,10,11} dat na HRP injecties in de lumbale of de cervicale spinale intumescentie labeling optreedt van corticale neuronen in het centrale deel van de gyrus sigmoideus anterior, in het aangrenzende deel van de onderwand van de sulcus cruciatus en in het laterale deel van de bovenwand van de sulcus cruciatus. Verder toonden Hayes en Rustioni¹⁰⁹ aan, dat een zeer klein aantal corticospinale neuronen in dit gebied collateralen zendt naar de grijze stof van

de cervicale en de lumbale intumescenties.

II.4. Overige descenderende projecties van de motorische cortex

De motorische corticale gebieden in de aap en de kat sturen bovendien vezels naar sensibele relaiskernen, zoals de nuclei cuneatus en gracilis, de nucleus trigeminus principalis, het spinale trigeminus complex en de nucleus solitarius.^{36,171,172,185,242} Descenderende vezels uit de primair motorische cortexvelden eindigen verder in precerebellaire relaiskernen, zoals de oliva inferior, de nucleus reticularis lateralis en de ponskernen.^{37,38,39,40,41,170,171,286,302,303,319} Tenslotte ontvangen ook kerngebieden, die deel uitmaken van het zogenaamde extrapyramidale systeem vezels uit de motorische cortex.^{129,140,141,161,162,163,165,185,278,323} Tot deze kerngebieden behoren de nucleus caudatus, het putamen en de nuclei centromedianus, ventralis lateralis en ventralis anterior van de thalamus. De nuclei ventralis lateralis en ventralis anterior thalami nemen een centrale plaats in, in de ketens van verbindingen die impulsen vanuit het cerebellum of het striatum naar de motorische cortexvelden geleiden.

In een aantal overzichtsartikelen^{7,74,141,311} wordt aandacht besteed aan de invloed die het striatum, het cerebellum en de sensibele hersenstamkernen op de motoriek uitoefenen. Uit deze artikelen komt naar voren dat die invloed hoofdzakelijk een regulerend karakter heeft.

Volgens fysiologische onderzoekingen bestaat een deel van de corticale vezels naar hersenstamkernen, thalamus en striatum in werkelijkheid uit axoncollateralen van corticospinale of pyramidebaanvezels.^{51,73,90,123,313} Fysiologisch werd met name het bestaan van dergelijke axoncollateralen aangetoond naar de nuclei cuneatus en gracilis,^{73,90} de ponskernen,⁷³ de nucleus ruber^{73,123,313} en het striatum.⁷³ Over het wel of niet bestaan van axoncollateralen van pyramidebaanvezels naar de nucleus ventralis lateralis thalami lopen de meningen uiteen. Endo et al.⁷³ en Clare et al.⁵¹ toonden met behulp van antidrome stimulatie technieken, die overigens niet histologisch werden gecontroleerd, het bestaan van dergelijke axoncollateralen aan. In tegenstelling tot de bevindingen van bovengenoemde onderzoekers konden Blum et al.³³ in histologisch gecontroleerde antidrome stimulatie experimenten dergelijke collateralen niet aantonen. Dit laatste is in goede overeenstemming met de bevindingen van Steriade en Yossif³⁰⁵ die geen axoncollateralen van pyramidebaancellen konden aantonen naar het ventrobasaal complex van de thalamus.

Hoofdstuk III: BESCHRIJVING VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT SOMATOSENSIBELE
EN MOTORISCHE CORTICALE GEBIEDEN IN DE AAP EN DE KAT

- III.1. Corticale projecties naar het ruggemerg
 - III.1.A. oorsprong van corticospinale vezels
 - III.1.B. verloop van corticospinale vezels
 - III.1.C. eindigingsgebieden van corticospinale vezels

- III.2. Corticale projecties naar de medulla oblongata en de pons
 - III.2.A. corticale projecties naar de pontine en bulbaire mediale reticulaire formatie
 - III.2.B. corticale projecties naar de nuclei cuneatus en gracilis

- III.3. Corticale projecties naar het mesencephalon
 - III.3.A. corticale projecties naar de nucleus ruber
 - III.3.B. corticale projecties naar de mesencephale mediale reticulaire formatie
 - III.3.C. corticale projecties naar de colliculus superior

- III.4. Corticale projecties naar het diencephalon
 - III.4.A. corticale projecties naar de thalamus
 - III.4.B. corticale projecties naar het striatum

III.1. Corticale projecties naar het ruggemerg

III.1.A. Oorsprong van corticospinale vezels. In 1851 beschreef Tuerck³¹⁴ in menselijk pathologisch materiaal een vezelbundel die vanuit het telencephalon tot in het sacrale merg afdaalt. Men ontdekte echter pas in 1876 dat deze vezelbundel uit de cortex afkomstig is (Charcot 1876, Pitres 1876, zoals geciteerd door Nathan en Smith.³¹⁴)

Op grond van retrograde degeneratie experimenten werd door Holmes en May¹¹⁸ aanvankelijk aangenomen, dat deze corticospinale vezels uitsluitend afkomstig zijn uit de Betz cellen in area 4. Anterograde degeneratie bevindingen in de *mens*²¹⁸ en de *rhesus aap*^{114,142} toonden echter aan, dat corticospinale vezels eveneens afkomstig zijn uit area 6. In de *rhesus aap* werd verder aangetoond, dat corticospinale vezels afkomstig zijn uit de post-centrale gyrus,^{229,315} uit area 5²⁰¹ en uit area 7.^{192,253} Bovengenoemde anterograde degeneratie onderzoeken in de aap werden alle uitgevoerd met behulp van de Marchi techniek. De bevindingen in deze experimenten werden later bevestigd in anterograde degeneratie experimenten die met behulp van de zilver impregnatie techniek werden uitgevoerd.^{172,208}

Anterograde degeneratie experimenten in *de kat*^{50,246} toonden aan, dat corticospinale vezels in deze diersoort afkomstig zijn uit area's 6, 4, 3, 1 en 2. Volgens sommige anterograde degeneratie experimenten zijn corticospinale vezels in de kat eveneens afkomstig van de mediale zijde van de hemisfeer,²⁴⁴ uit area's 5 en 7²⁴⁵ en uit occipitale en temporale corticale gebieden.³²¹ Latere fysiologische^{190,265} en anatomische^{50,57,245} onderzoeken leverden echter geen aanwijzingen dat corticospinale of pyramidebaan vezels uit temporale of occipitale corticale gebieden ontspringen. Anatomische⁵⁰ en fysiologische^{1,16} onderzoeken toonden wel aan dat sommige corticospinale vezels in de kat afkomstig zijn uit SII. Deze bevinding werd in latere HRP experimenten^{10,96} bevestigd.

Tot voor kort was het gebied van waaruit vezels van de tractus corticospinalis in *de rat* afkomstig zijn niet nauwkeurig bekend. Bij onderzoek met behulp van anterograde degeneratie van corticospinale vezels in de rat werden namelijk uitsluitend grote lesies in de cortex van de hemisferen gemaakt.^{43,68,69,89} Met behulp van retrograad transport van HRP werd echter ontdekt,^{112,333} dat in de rat het merendeel van de cellen van oorsprong van corticospinale vezels is gelegen in de corticale gebieden 3, 4 en 6 van Krieg,¹⁵² als ook in een gebied rostraal daarvan dat correspondeert met het rostrale deel van area 10 van Krieg.¹⁵² Een klein aantal corticospinale neuronen werd aangetroffen in dat deel van de cortex, dat waarschijnlijk

correspondeert met SII.³³³

III.1.B. Verloop van de corticospinale vezels. In de aap, de kat en de rat dalen de corticospinale vezels naar het ruggemerg af via de corona radiata, de capsula interna, de pedunculus cerebri en de pyramide baan. Het merendeel van deze vezels kruist op de overgang van medulla oblongata naar ruggemerg. Zowel in de kat^{50,78,246,259} als in de aap^{172,208} dalen de gekruiste corticospinale vezels af in de contralaterale dorso-laterale funiculus van het ruggemerg, terwijl de ongekruiste corticospinale vezels in deze beide diersoorten voornamelijk in de ventrale funiculus descenderen. Slechts een zeer klein aantal ongekruiste corticospinale vezels descendert in de ipsilaterale dorsolaterale funiculus. In de rat descenderen zowel de gekruiste als het relatief kleine aantal niet gekruiste corticospinale vezels in het ventrale deel van de dorsale funiculus.^{43,68,69,89}

III.1.C. Eindigingsgebieden van corticospinale vezels. In de aap, de kat en de rat eindigen de corticospinale vezels in de grijze stof van alle ruggemerg segmenten.^{50,68,112,172,208,246} In de aap en de kat eindigen de corticospinale vezels contralateraal voornamelijk in de dorsale hoorn en in het dorsolaterale deel van de intermediaire zone en bilateraal in het ventromediale deel van de intermediaire zone.^{56,78,172,208} In de aap projecteren corticospinale vezels bovendien direct op contralateraal gelegen motoneuronale celgroepen die spieren in de distale delen van de extremiteiten innervieren. In de chimpanzee en de mens werd eveneens een uitgesproken directe corticomotoneuronale projectie gevonden.^{173,174,292} Een dergelijke directe corticale projectie op motoneuronen ontbreekt echter in lagere diersoorten zoals de kat en de rat.^{43,50,173,177} In de rat eindigen de corticospinale vezels voornamelijk contralateraal in de dorsale hoorn.^{43,68,112,199}

III.2. Corticale projecties naar de medulla oblongata en de pons

De motorische cortex distribueert vezels naar verschillende structuren in de pons en de medulla oblongata. Deze vezels eindigen onder meer in de pontine en bulbaire mediale reticulaire formatie en in sensibele relais-kernen zoals de nuclei cuneatus en gracilis en trigeminus principalis, het spinale trigeminus complex en de nucleus solitarius.^{56,171,172,230,242} Descenderende corticale vezels eindigen eveneens in precerebellaire relaiskernen, zoals de oliva inferior, de nucleus reticularis en de pons kernen.^{37,38,39,40,41,170,171,286,302,303,319} In de aap en de mens eindigen corticale vezels bovendien direct op motoneuronen van hersenzenuw kernen.^{169,170,173} In de in dit proefschrift beschreven experimenten werd de oorsprong van corticale

vezels naar de bulbaire mediale reticulaire formatie en de nuclei cuneatus en gracilis onderzocht. De anatomie van de corticale projectie naar deze structuren zal daarom ook in meer detail worden beschreven.

III.2.A. Corticale projecties naar de pontine en bulbaire mediale reticulaire formatie

werden voor het eerst beschreven in menselijk pathologisch materiaal, bewerkt volgens de Marchi techniek²⁸⁶. Voor een uitgebreid overzicht van deze experimenten zij verwezen naar het artikel van Rossi en Brodal²⁸⁶. In onderstaande beschrijving zal alleen aandacht worden besteed aan meer recente onderzoeken op dit gebied.

In de *rhesusaap* zijn de corticale vezels naar de pontine en bulbaire mediale reticulaire formatie voor een groot deel afkomstig uit het mediaal van de sulcus arcuatus gelegen deel van area 6 en uit het rostrale deel van area 4.^{172,185,219,255} In de *kat* zijn de corticoreticulair vezels voornamelijk afkomstig uit area's 6 en 8^{168,171,216,242,286} en uit de rostraal hiervan gelegen gyrus orbitalis.^{230,289}

De corticoreticulair vezels dalen samen met de corticospinale vezels in de pyramidebaan af. Volgens anterograde degeneratie bevindingen bij de aap¹⁸⁵ verlaat een deel van de corticoreticulair vezels de pedunculus cerebri ter hoogte van het rostrale deel van de pons. Deze vezels buigen af naar dorsaal en eindigen ipsilateraal in de nucleus reticularis pontis oralis. Zowel in de aap als in de kat buigen de overige corticoreticulair vezels meer caudaal, ter hoogte van de pyramis af naar dorsaal. Deze vezels eindigen bilateraal in de nucleus reticularis gigantocellularis.^{168,171,242,286} Een deel van deze corticobulbaire vezels eindigt in de raphe kernen.^{171,185}

III.2.B. Corticale projecties naar de nuclei cuneatus en gracilis

werden het eerst door Redlich²⁷¹ beschreven in de kat. Volgens anterograde degeneratie bevindingen in de aap^{172,208} en in de kat¹⁷¹ eindigen deze vezels contralateraal.

De aap. Volgens anterograde degeneratie bevindingen in de rhesusaap^{171,208} zijn corticale vezels naar de nuclei cuneatus en gracilis voornamelijk afkomstig uit area 4, de postcentrale sensibele gebieden en de parietale gebieden 5 en 7.^{171,208} Volgens Kuypers¹⁷¹ projecteren de corticale vezels die afkomstig zijn uit de voetgebieden in het bovenste of mediale een-derde gedeelte van de pre- en postcentrale gyri voornamelijk naar de nucleus gracilis, terwijl die uit de handgebieden in het middelste een-derde gedeelte van de pre- en postcentrale gyri voornamelijk in de nucleus cuneatus eindigen. Dit is in goede overeenstemming met de resultaten in fysiologische onderzoeken, waarin corticale neuronen antidroom vanuit de nuclei cuneatus en gracilis

werden gestimuleerd.^{29,76,104}

De kat. In de kat zijn de meeste vezels die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren afkomstig uit area's 3a en 4.^{35,90,138,171,326} Een relatief klein aantal vezels naar deze kernen ontspringt aan de area's 3b, 1, 2 en 5.³²⁶ Volgens anatomische^{138,326} en fysiologische^{8,16} bevindingen in de kat zijn corticale vezels naar deze kernen ook afkomstig uit SII.

Uit anterograde degeneratie experimenten^{50,168,171,243,326} komt naar voren, dat ook bij de kat de corticale vezels die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren somatotopisch zijn gerangschikt. De vezels naar de nucleus gracilis zijn voornamelijk afkomstig van het mediale deel van de gyrus sigmoides posterior. Dit gebied correspondeert met het achterpoot gebied in de kat.^{241,335} In tegenstelling hiermee ontspringen de corticale vezels naar de nucleus cuneatus voornamelijk van het meer lateraal op de gyrus sigmoides gelegen voorpoot gebied.^{50,241,271}

De corticale vezels naar de nuclei cuneatus en gracilis in de kat bereiken de medulla oblongata via de pyramidebanen. Nadat deze vezels de kruising van de pyramidebanen zijn gepasseerd buigen zij om naar dorsaal en rostraal.^{171,320} In de nuclei cuneatus en gracilis eindigen zij voornamelijk in het gebied waarin neuronen zijn gelegen met lange uitstralende dendrieten.¹⁸⁹ Volgens Weisberg en Rustioni³²⁶ eindigt een klein deel van de corticonucleaire vezels in de nucleus gracilis echter ook in de meer dorsaal gelegen "cell clusters".

III.3. Corticale projecties naar het mesencephalon

III.3.A. Corticale projecties naar de nucleus ruber. De nucleus ruber van de aap kan worden onderverdeeld in een rostraal parvocellulair deel en een caudaal magnocellulair deel.¹⁰⁷ In de nucleus ruber van de kat en de rat bevinden zich in het rostrale deel eveneens voornamelijk relatief kleine neuronen terwijl in het caudale deel voornamelijk relatief grote neuronen zijn gelocaliseerd. In tegenstelling tot de situatie in de aap zijn deze neuronale populaties in de nucleus ruber van de kat en de rat niet streng gescheiden, zodat men niet van een pars parvocellularis en pars magnocellularis mag spreken.^{44,}

²⁷⁹ Het bestaan van corticale vezels naar de nucleus ruber werd voor het eerst in menselijk pathologisch materiaal beschreven door Déjerine en Déjerine.⁵⁹ In de aap werden corticorubrale vezels aangetoond door middel van de Marchi degeneratie techniek.^{200,224,229}

De aap. Systematische anatomische onderzoeken^{105,185} toonden aan, dat het merendeel van de corticorubrale vezels in de aap afkomstig is uit de precentrale gyrus. Een bescheiden en uitsluitend ipsilaterale corticorubrale

projectie eindigt in het magnocellulaire deel van de nucleus ruber (MRN). Deze vezels ontspringen van het caudale deel van area 4 in het bovenste of mediale tweederde deel van de precentrale gyrus.^{105,185} Het grootste deel van de corticorubrale vezels projecteert echter naar het parvocellulaire deel van de nucleus ruber (PRN) en wel voornamelijk ipsilateraal.^{105,185,212} Deze vezels naar de PRN zijn afkomstig uit area's 4 en 6.^{105,165,185,260} Volgens de antero-grade degeneratie bevindingen van Kuypers en Lawrence¹⁸⁵ is een klein deel van de corticorubrale vezels naar de PRN ook afkomstig uit area 8.

De corticorubrale vezels naar de PRN en de MRN zijn in de aap somato-topisch gerangschikt.^{105,185} De corticorubrale vezels uit de bovenste (mediale), middelste en onderste (laterale) gedeelten van de precentrale gyrus eindigen in deze volgorde van ventrolateraal naar dorsomediaal in de PRN.^{105,165,185} In deze gebieden in de precentrale gyrus bevinden zich respectievelijk de motorische representatie gebieden van voet, hand en gezicht.^{97,98,335} De vezels uit area's 6 en 8 eindigen nog meer mediaal, en wel in de subnucleus dorso-medialis van de PRN.^{105,165,185} De vezels naar het ventrolaterale deel van de MRN zijn afkomstig uit het caudale deel van area 4 in het bovenste eënderde deel van de precentrale gyrus. De corticorubrale vezels naar het dorsomediale deel van de MRN zijn daarentegen afkomstig uit het caudale deel van area 4 in het middelste eënderde deel van de precentrale gyrus.^{105,185}

De kat. De corticorubrale vezels in de kat zijn voornamelijk afkomstig uit area 4.²⁷⁹ Zij ontspringen echter ook uit SI^{168,213,251} en uit SII.²⁷³ Volgens Rinvik²⁷³ is een aantal corticorubrale vezels ook afkomstig uit area 6 en uit de rostraal hiervan gelegen gyrus proreus. Deze laatste bevinding kon echter in andere anatomische^{168,213} en in fysiologische²¹⁵ onderzoeken niet worden bevestigd. De corticorubrale vezels in de kat projecteren voornamelijk naar de ipsilaterale nucleus ruber, waarin zij over de hele rostrocaudale lengte eindigen.^{252,279} Volgens Rinvik en Walberg²⁷⁹ zijn ook in de kat deze vezels somatotopisch gerangschikt. Volgens hun bevindingen eindigen de vezels uit het corticale motorische achterpoot gebied in het ventrolaterale gedeelte van de nucleus ruber, terwijl die uit het corticale motorische voorpoot gebied in het dorsomediale gedeelte van deze kern eindigen.

De rat. Volgens antero-grade degeneratie bevindingen^{44,99} eindigen corticorubrale vezels in de rat uitsluitend in dat deel van de ipsilaterale nucleus ruber, dat overwegend relatief kleine neuronen bevat, i.e. in het rostrale deel van de nucleus ruber. In deze onderzoeken werd een groot deel van de hemisfeer, inclusief de motorische cortex^{44,99} gelaedeerd, zodat de oorsprong van de corticorubrale vezels niet nauwkeurig kon worden beschreven. Volgens de

anterograde degeneratie bevindingen van Krieg¹⁵³ zijn de corticale vezels naar het mesencephaal tegmentum voornamelijk afkomstig uit de frontale gebieden 2 en 2a.

III.3.B. Corticale projecties naar de mesencephale mediale reticulair formatie. De structuren rondom de nucleus ruber, zoals de mesencephale mediale reticulair formatie, het aangrenzende deel van het centrale grijs en de nucleus van de commissura posterior, ontvangen eveneens corticale vezels. Zowel in de aap, de kat als in de rat zijn zij voornamelijk afkomstig uit de ipsilaterale hemisfeer.

De aap. In de aap zijn deze vezels afkomstig uit area's 6 en 9.^{154,165,185,200,224} Volgens onderzoekingen met anterograde degeneratie¹⁸⁵ en autoradiografische¹⁰⁵ technieken zijn de corticoreticulair vezels naar het mesencephalon eveneens afkomstig uit het rostrale deel van area 4 en uit een gebied in het caudale deel van area 4, dat tussen de hand en voet representatie gebieden ligt. De vezels die uit dit laatste gebied afkomstig zijn eindigen juist dorsaal van de nucleus ruber.¹⁰⁵

De kat. De corticale vezels naar de mesencephale mediale reticulair formatie in de kat, zijn afkomstig uit het mediale deel van de gyrus sigmoides anterior, de gyrus proreus en de gyrus orbitalis.^{230,252}

De rat. In de rat zijn deze vezels voornamelijk afkomstig van het meest rostrale deel van de hemisfeer, met name van het anteromediale oppervlak, het orbitale oppervlak en het meest rostrale deel van de sulcus rhinalis.^{19,197,316} Volgens Krieg¹⁵³ zijn zij echter uitsluitend afkomstig uit area's 2 en 2a.

III.3.C. Corticale projecties naar de colliculus superior. Een groot deel van de corticale vezels, naar de colliculus superior is afkomstig uit ipsilaterale occipitale en temporale gebieden.^{81,185} Met behulp van anterograde degeneratie en autoradiografische technieken werd echter zowel in de aap als in de kat een uitgesproken ipsilaterale corticocolliculair projectie aangetoond uit de frontale cortex.^{81,86,166,167,185,200,224,236,304}

De aap. De frontocolliculair vezels in de aap zijn voornamelijk afkomstig uit area 8.^{15,166,167,185} en uit de wanden van de sulcus principalis, i.e. area 9.^{86,165} Zij zijn eveneens afkomstig uit area 6 mediaal van het bovenste been van de sulcus arcuatus.¹⁶⁵ Een relatief klein aantal van deze vezels daalt eveneens af uit area 6 lateraal van het onderste been van de sulcus arcuatus.^{75,165} en uit area 4.¹⁸⁵

Het frontale gebied in de aap, dat corticale vezels naar de colliculus superior zendt komt ongeveer overeen met het gebied waar men door elektrische prikkeling oogbewegingen kan opwekken.³¹⁸

Met anterograde degeneratie methoden^{15,185} blijkt het merendeel van de frontocolliculaire vezels in de diepe en de middelste grijze lagen van de colliculus superior te eindigen. Volgens recente autoradiografische bevindingen^{166,167} eindigen frontocolliculaire vezels uit area 8 echter zowel in de diepe, de middelste als de oppervlakkige lagen van de colliculus superior.

De kat. De oorsprong van de frontocolliculaire vezels in de kat is tot nu toe nog niet nauwkeurig bestudeerd. Onderzoek met anterograde degeneratie³⁴ wijst echter uit, dat zij uit dat deel van de cortex afkomstig zijn dat rostraal van het oorsprongsgebied van de corticospinale vezels is gelegen. Volgens Garey et al.⁸¹ is een klein deel van de corticocolliculaire vezels in de kat echter ook afkomstig uit de primaire somatosensibele en motorische corticale gebieden. Bovenstaande anatomische bevindingen zijn in goede overeenstemming met de fysiologische bevinding van Schlag en Schlag-Rey²⁹¹, dat elektrische prikkeling van de laterale wand van de sulcus presylvius in de kat bewegingen van de ogen tot gevolg heeft.

III.4. Corticale projecties naar het diencephalon

III.4.A. Corticale projecties naar de thalamus. Een anatomische relatie tussen de hersenschors en de thalamus werd voor het eerst door von Monakov²³⁴ in het konijn beschreven. Sindsdien zijn vele anatomische publicaties verschenen, die aan dit onderwerp zijn gewijd. Rinvik²⁷⁸ en Mettler²²⁵ geven beiden een uitgebreid overzicht van de anterograde degeneratie bevindingen ten aanzien van de corticothalamische projecties uit somatosensibele en motorische gebieden in verschillende diersoorten. In onderstaande beschrijving van de corticothalamische vezels in de aap, de kat en de rat zal uitsluitend worden verwezen naar de meer recente onderzoeken op dit gebied.

Anatomie van de thalamus. De thalamus wordt rostraal, lateraal en ventraal als door een schaal omgeven door de nucleus reticularis.²⁹⁰ Deze vormt de afscheiding tussen de thalamus en de capsula interna. De thalamus kan ruwweg in een mediodorsaal en een ventrolateraal deel worden onderverdeeld. Zij worden gescheiden door de nucleï anteriores, de lamina medullaris interna en de intralaminare kernen, i.e. de nucleus centralis lateralis (CL), de nucleus paracentralis, de nucleus centromedianus (CM) en de nucleus parafascicularis (Pf). Het ventrolaterale deel van de thalamus kan van rostraal naar caudaal in de volgende thalamische kernen worden onderverdeeld: de nucleus ventralis

anterior (VA), de nucleus ventralis lateralis (VL), de nucleus ventralis posterolateralis (VPL), de nucleus ventralis posteromedialis (VPM), de nucleus lateralis posterior (LP), de nucleus lateralis dorsalis (LD) en de nucleus posterior (PO). De VPL en de VPM worden ook wel aangeduid als het ventrobasaal complex. Caudaal van bovengenoemde kernen treft men het pulvinar en de corpora geniculata mediale en laterale aan. Het dorsomediale deel van de thalamus wordt geheel in beslag genomen door de nucleus medialis dorsalis (MD). De thalamische kernen in de dorsomediale en ventrolaterale delen van de thalamus kunnen op grond van locale cytoarchitectonische kenmerken nog verder worden onderverdeeld.^{143,274}

De aap.

Corticothalamische vezels uit de postcentrale sensibele gebieden.

Vezels uit deze gebieden eindigen caudaal in het ipsilaterale ventrolaterale deel van de thalamus. Het grootste deel van deze vezels eindigt in de VPL pars caudalis (VPLc) en in de VPL pars medialis (VPLm).^{66,134,163,288} Daarnaast projecteert een aantal van deze vezels naar de VPL pars inferior (VPLi), het rostrale deel van het pulvinar, het corpus geniculatum laterale en de nucleus reticularis.^{134,163} Een zeer klein aantal corticothalamische vezels uit de primaire somatosensibele cortex eindigt in de ipsilaterale CM en CL.^{134,163,258} Over het wel of niet bestaan van postcentrale corticothalamische vezels naar de VPL pars oralis, de PO en de LP^{66,134,163,288} lopen de meningen uiteen.

Corticothalamische vezels uit area 4. Vezels uit dit gebied eindigen voornamelijk rostraal in het ipsilaterale ventrolaterale deel van de thalamus. Het grootste deel van deze vezels projecteert naar de VL pars oralis (VLo), de VPL pars oralis (VPLo)^{162,188} en de CM.^{162,185} Zij eindigen echter eveneens in de VL pars medialis (VLM), de VL pars caudalis (VLc), de VPLi, de VPLm,¹⁶² de nucleus reticularis, de MD pars paralaminaris en de CL.^{6,64,162,185}

Corticothalamische vezels uit area's 6, 8 en 9. Deze vezels eindigen grotendeels ipsilateraal in de VA, de MD en de nucleus reticularis.^{15,67,165,185,257,258} Volgens Künzle¹⁶⁵ eindigt een deel van de corticothalamische vezels uit area's 6 en 9 in de ipsilaterale VLc, terwijl een klein deel van deze vezels uit area 6 ipsilateraal naar area X (in het mediale deel van de VPLo en de VLM) projecteert. Verder werd aangetoond, dat van area's 6 en 9 een bilaterale projectie naar de Pf ontspringt.^{15,64,165}

Oorsprong van corticale projecties naar de VL en de CM van de aap.

In de experimenten die in dit proefschrift worden beschreven werden de cellen van oorsprong van corticothalamische vezels naar de VL en de CM geïdentificeerd. Volgens de reeds eerder genoemde anatomische bevindingen zijn de

corticale vezels, die in de aap naar de VL en de CM projecteren voornamelijk afkomstig uit area 4.^{64,162,185,258,261,288} Een klein aantal corticothalamische vezels naar de VLc en naar area X is echter afkomstig uit area 6.

De corticothalamische vezels die in de VL en de CM eindigen zijn somatotopisch gerangschikt. In onderzoeken waarbij gebruik werd gemaakt van anterograde degeneratie en autoradiografische technieken werd namelijk aangetoond, dat de eindigingen van de corticothalamische vezels uit de corticale been-, arm en gezichtsgebieden in area 4, van dorsolateraal naar ventromediaal in de VL en de CM zijn gerangschikt.^{64,162,163,185,188,258,260,261}

De kat

Corticothalamische vezels uit de somatosensibele gebieden en uit area 4. Volgens anterograde degeneratie bevindingen^{132,168,275,278} eindigen de corticothalamische vezels uit de somatosensibele gebieden en uit area 4 in deze diersoort diffuus in alle kernen van het ipsilaterale ventrolaterale deel van de thalamus. Het grootste deel van de vezels uit de primaire en secundaire somatosensibele cortex gebieden eindigt echter *caudaal* in het ventrolaterale deel van de thalamus, met name in de VPL en de VPM, in het caudale deel van de nucleus reticularis en in de PO.^{63,128,132,133,144,275,277,278} In tegenstelling hiermee eindigt het merendeel van de corticothalamische vezels uit area 4 *rostraal* in het ventrolaterale deel van de thalamus, met name in de VL, in de CM en in het rostrale deel van de nucleus reticularis.^{242,275,278}

Corticothalamische vezels uit area 6 en uit de frontale granulaire gebieden. Volgens Rinvik^{276,278} eindigen de vezels uit area 6 diffuus in de VL, de VPM, de PO, de Pf en de nucleus reticularis. Vezels uit de frontale granulaire corticale gebieden en uit de gyrus proreus eindigen echter voornamelijk in de MD en in de Pf.²⁷⁸

Oorsprong van corticale projecties naar de VL en de CM van de kat. Het merendeel van de corticothalamische vezels, die in de VL eindigen is afkomstig uit area 4. Relatief minder van deze vezels is afkomstig uit de primaire somatosensibele gebieden en uit area 6.^{132,168,275,278} De corticothalamische vezels naar de CM zijn uitsluitend afkomstig uit area 4.^{242,275,278}

Volgens anterograde degeneratie experimenten zijn de eindigingen van vezels uit de corticale achterpoot-, voorpoot- en gezichtsgebieden ook in de VL van de kat van lateraal naar mediaal gerangschikt.^{275,278} In tegenstelling tot de aap kon in de CM van de kat geen somatotopische rangschikking van corticothalamische vezels worden vastgesteld.²⁷⁸

De route van de corticothalamische vezels in de kat. Volgens anatomische onderzoeken^{168,278} in de kat bereiken vezels uit somatosensibele en motorische corticale gebieden de thalamus via verschillende routes. Alle cortico-

thalamische vezels dalen af in de capsula interna. De vezels die naar de VA, de VL, de VPL, de VPM en de PO projecteren, dringen rostraal door de nucleus reticularis heen de thalamus binnen. De vezels naar de CM en de PO dalen daarentegen verder af en bereiken de pedunculus cerebri. Op het niveau van de diencephalomesencephale overgang verlaten zij de pedunculus cerebri en buigen in een rostradorsale richting af naar de CM en de PO.

De rat

Corticothalamische vezels uit SI van de rat eindigen voornamelijk in de nucleus reticularis, in het ventrobasaal complex, de PO en de intralaminaire kernen.^{279,332} Het rostraal en dorsaal van het corpus callosum gelegen deel van het mediale oppervlak van de hemisfeer distribueert voornamelijk corticothalamische vezels naar de MD.^{19,197} De MD ontvangt ook vezels uit de orbitale cortex en de cortex in het rostrale deel van de sulcus rhinalis. Met de Marchi methode¹⁵³ konden geen corticothalamische vezels worden geïdentificeerd uit de primair motorische gebieden 4 en 6. Dit werd echter niet nader onderzocht met moderne technieken.

III.4.B. Corticale projecties naar het striatum. Uit onderzoekingen met behulp van anterograde degeneratie methoden blijkt, dat de corticostriatale vezels in de aap¹⁴⁰ en de kat³²³ afkomstig zijn uit alle neocorticale gebieden. Recente onderzoekingen *in de aap* met behulp van het anterograde transport van getritieerde aminozuren^{129,161} toonden aan, dat corticostriatale vezels uit area 4 en uit de postcentrale primaire sensibele gebieden voornamelijk in het putamen eindigen. Vezels uit area 4 vertonen hierbij een bilaterale distributie.^{140,161} In tegenstelling hiermee eindigen de corticostriatale vezels uit area's 8 en 9 bij voorkeur ipsilateraal in de nucleus caudatus.^{87, 338} Corticostriatale vezels uit area 6, een gebied dat gelegen is tussen area 4 en de meer rostraal gelegen area's 8 en 9, eindigen zowel in het ipsilaterale putamen als de ipsilaterale nucleus caudatus.¹⁶⁵

In de kat werd een dergelijk distributiepatroon van corticale vezels naar nucleus caudatus en het putamen niet aangetoond.^{80,85,323} In deze diersoort eindigen de vezels uit de somatosensibele cortex, de primair motorische cortex en de premotorische velden gelijkelijk in de nucleus caudatus en het putamen aan beide zijden van de mediaanlijn.

Hoofdstuk IV: TECHNIEKEN VOOR HET IDENTIFICEREN VAN CELLEN VAN
 OORSPRONG VAN PROJECTIEVEZELS EN AXON COLLATERALEN

IV.1. Inleiding

IV.1.A. Technieken voor het identificeren van
 cellen van oorsprong van projectie-
 vezels

IV.1.B. Technieken voor het identificeren van
 cellen van oorsprong van axon collateralen

IV.2. De retrograde neuronale transport technieken

IV.2.A. De HRP retrograde neuronale transport
 techniek

IV.2.B. De retrograde fluorescente neuronale
 labeling techniek

IV.3. Anatomische technieken om cellen van oorsprong van
 axon collateralen te identificeren

IV.3.A. De fluorescente retrograde neuronale
 dubbel labeling techniek

IV.3.B. Andere retrograde neuronale dubbel
 labeling technieken

IV.1. Inleiding

IV.1.A. Technieken voor het identificeren van cellen van oorsprong van projectievezels. In de in dit proefschrift beschreven experimenten werden de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels geïdentificeerd. Hierbij werd gebruik gemaakt van *retrograde neuronale transport technieken* (zie Hoofdstuk IV.2.). Een aantal stoffen wordt door axon terminalia en/of gelaedeerde axonen opgenomen en vervolgens getransporteerd naar de cellen van oorsprong van deze axonen. Tot deze groep van stoffen behoort het enzym mierikswortel peroxidase (Horseradish peroxidase: HRP)^{156,193} en de nog niet zo lang geleden ontdekte fluorescente merkstoffen.^{22,23,24,179,181}

Tot het tijdstip van de ontdekking van bovengenoemde stoffen konden cellen van oorsprong van vezels anatomisch worden geïdentificeerd door middel van de *retrograde cel degeneratie techniek*. Deze techniek is gebaseerd op de waarneming dat neuronen, na het onderbreken van hun axonen, karakteristieke veranderingen gaan vertonen (c.f. Liebermann²⁰⁴). Deze veranderingen worden echter minder kenmerkend naar mate het axon op een grotere afstand van het neuron is doorsneden.^{204,231} Dit komt waarschijnlijk, omdat dan relatief veel axon collateralen intact blijven. Bovengenoemde bezwaren maken de retrograde cel degeneratie techniek minder bruikbaar om cellen van oorsprong van relatief lange vezels te identificeren. Deze techniek raakte dan ook snel op de achtergrond toen bleek, dat HRP adequaat over korte en relatief lange afstanden in axonen wordt getransporteerd (cf. Molenaar²³¹).

Cellen van oorsprong van vezels kunnen ook fysiologisch worden geïdentificeerd door middel van de *antidrome stimulatie techniek*. Wanneer een axon namelijk elektrisch wordt geprikkeld kan in of bij zijn cel van oorsprong met macro- of micro elektroden een antidrome impuls worden geregistreerd.^{30,336} Antidrome impulsen hebben een kenmerkende constante latentie tijd en zijn in staat, om snel achter elkaar aan het axon aangeboden elektrische prikkels te volgen.²⁶³ Men kan controleren of een neuron werkelijk antidroom wordt gestimuleerd door het toepassen van de "*collission*" techniek.⁵⁸ Deze techniek is gebaseerd op het principe dat wanneer een neuron orthodroom wordt geprikkeld juist voordat een antidrome elektrische prikkel aan zijn axon wordt toegediend, de orthodrome en de antidrome impuls zullen botsen. Door deze botsing zullen beide impulsen worden uitgedoofd, zodat in deze situatie geen antidrome prikkel in het neuron kan worden geregistreerd.

IV.1.B. Technieken voor het identificeren van cellen van oorsprong van axon collateralen.

Het bestaan van axon collateralen werd reeds door Cajal⁴⁶ beschreven in materiaal, dat hij bewerkt had met de *Golgi techniek*. Later slaagde men er in axon collateralen met behulp van fysiologische technieken aan te tonen. Wanneer men in een neuron antidrome impulsen kan registreren die afkomstig zijn uit meerdere structuren, is dit een aanwijzing dat dit neuron axon collateralen zendt naar deze structuren. Men kan dit bewijzen met behulp van de "*collision*" techniek.^{2,299,300} Wanneer namelijk twee collateralen vlak na elkaar antidroom worden geprikkeld zullen de hierdoor in iedere collateraal opgewekte antidrome impulsen met elkaar in botsing komen voor ze het neuron bereiken. Door deze botsing zullen beide impulsen worden gedoofd. In het desbetreffende neuron wordt dan derhalve geen antidrome impuls geregistreerd.^{263,299}

Het is op dit moment ook mogelijk om neuronen, die axon collateralen naar verschillende terminatie gebieden zenden anatomisch te identificeren met behulp van *retrograde neuronale dubbel labeling technieken*.^{49,108,178,181,249,308,309} In een aantal in dit proefschrift beschreven experimenten werden cellen van oorsprong van axon collateralen geïdentificeerd met behulp van fluorescente merkstoffen. De retrograde fluorescente neuronale dubbel labeling techniek zal derhalve in dit hoofdstuk meer gedetailleerd worden beschreven. (Zie Hoofdstuk IV.3.A.)

IV.2. De retrograde neuronale transport technieken

Deze technieken maken gebruik van stoffen, die door axon terminalia en/of door gelaedeerde axonen worden opgenomen en die retrograad naar de cellen van oorsprong van deze axonen worden getransporteerd.

De eerste stap in de ontwikkeling van deze technieken werd door Kristensson en zijn medewerkers gedaan. Zij injecteerden in de muis exogene eiwitten in de musculus gastrocnemius en in de tong.^{155,156,159} Zij toonden aan dat HRP en fluorescent gelabeld Bovien Albumine (BA) retrograad naar de motoneuronen die deze spieren innerveren, worden getransporteerd. Zij maakten BA zichtbaar door het te merken met Evans Blue (EBBA). De aldus retrograad gelabelde neuronen kunnen in de fluorescentie microscoop worden waargenomen, omdat EBBA bij opvallend licht met een excitatie golflengte van 550 nm rood fluoresceert. HRP werd zichtbaar gemaakt door dit enzym een histochemische reactie te laten catalyseren met diaminobenzidine (DAB) als substraat.⁹¹ Dit resulteert in een granulaire reactie product, dat in de microscoop bij lichtveld belichting licht- tot donkerbruin gekleurd is, maar dat bij donkerveld belichting zichtbaar is als witte tot geel-oranje korrels.

Aanvankelijk was de aandacht geconcentreerd op het verder ontwikkelen van de HRP transport techniek.^{184,193,239} Kuypers en medewerkers¹⁸¹ zochten echter naar andere stoffen die retrograad in het axon worden getransporteerd. Zij bestudeerden om deze reden wederom de retrograde transport mogelijkheden van EBBA. Daarnaast zochten zij naar andere fluorescente stoffen, die in axonen retrograad naar hun cellen van oorsprong worden getransporteerd. Dit was een eerste stap tot de ontwikkeling van de retrograde neuronale fluorescente labeling techniek door Kuypers en medewerkers.^{22,23,24,178,179,181}

Ook de aminozuren uridine²⁹⁴ en adenosine^{124,160,284,294,295} en het eiwit proline¹⁶⁴ bleken retrograad in axonen te worden getransporteerd. Deze stoffen kunnen zichtbaar worden gemaakt door ze in getritieerde vorm te injiceren en het weefsel vervolgens te behandelen met autoradiografische technieken. Ook "nerve growth factor",¹¹¹ tetanus toxine,^{268,296} "wheat germ agglutinin"³¹⁰ en nog enkele andere lecthinen en toxinen⁷⁰ worden retrograad getransporteerd. Deze laatste stoffen hebben met elkaar gemeen dat zij slechts dan in het axon worden geïncorporeerd, wanneer zij zich aan specifieke bindplaatsen in het membraan van de axon terminalia hebben gebonden.⁷⁰ De HRP en de fluorescente retrograde neuronale labeling techniek, die in de experimenten in dit proefschrift werden toegepast zullen hieronder uitgebreider worden beschreven.

IV.2.A. De HRP retrograde neuronale transport techniek

Opname en transport: HRP (opgelost in water) wordt zowel door terminalia van axonen^{156,157} als ook door gelaedeerde axonen opgenomen.^{65,110,157,158,186} Vervolgens wordt het HRP retrograad door het axon getransporteerd naar de cellen van oorsprong van deze axonen. Volgens Kristensson en Olsson¹⁵⁸ wordt het retrograde axonale transport van HRP bevorderd door de aanwezigheid van een hoge concentratie van het enzym rond de axon terminalia of rond de gelaedeerde axonen. Volgens Trachtenberg en Hadley³¹² doet poly-L-Ornithine, geïnjecteerd in combinatie met HRP, het retrograde transport van HRP toenemen. Ook elektrische prikkeling van het neuron kan de opname en het retrograde transport van HRP gunstig beïnvloeden.^{205,301} Volgens Keefer et al.¹³⁹ verkrijgt men een meer uitgesproken retrograde labeling van het neuron, wanneer HRP opgelost in dimethylsulfoxide (DMSO) wordt gebruikt. Dit berust waarschijnlijk op het feit, dat DMSO de permeabiliteit van de cel membraan aanmerkelijk verhoogd, waardoor meer HRP in het axon wordt opgenomen.¹³⁹

Injectieplaats: De HRP reactie producten op de injectie plaats zijn vaak niet beperkt tot het distale deel van het steekkanaal en het

direct daaromheen liggende weefsel. De diffusie van HRP op de injectie plaats is afhankelijk van de concentratie en de hoeveelheid HRP, die wordt geïnjecteerd en van de manier waarop het wordt geïnjecteerd. Aanvankelijk trachtte men de diffusie van HRP op de injectie plaats zo veel mogelijk te beperken, door een relatief lage concentratie of een relatief kleine hoeveelheid HRP te injecteren. Zo werden onder andere verschillende technieken ontwikkeld om kleine hoeveelheden HRP te injecteren met behulp van micropipetten²⁹³ Kawamura et al.¹³⁶ injecteerden HRP, opgelost in 20% polivinyl pyrrolidon (PVP). Zij verkregen op deze wijze een kleine welomschreven injectie plaats. In een aantal in dit proefschrift beschreven experimenten werd HRP, opgelost in PVP geïnjecteerd (Zie Hoofdstuk VI). De concentratie PVP werd echter tot 5% of 10% teruggebracht, omdat uit eerdere experimenten bleek dat met deze lagere concentraties de intensiteit van de labeling en het aantal retrograad gelabelde neuronen toenamen, terwijl de diffusie van de HRP reactie producten toch zeer beperkt bleef. Volgens Beitz en King²⁰ kan men afzetting van HRP langs het proximale deel van het steekkanaal voorkomen door dit, na het injecteren van de HRP, op te vullen met "High Speed Oil".

Incubatie procedures: De retrograad met HRP gelabelde neuronen zijn na incubatie volgens de procedure van Graham en Karnovsky⁹¹ gemakkelijk in de microscoop, met lichtveld belichting te herkennen aan de diffuus in het celsoma en soms ook in de proximale dendrietten aanwezige licht- tot donkerbruine granulae. Bij donkerveld belichting zijn deze granulae hel wit tot fel oranje-geel gekleurd.

In de afgelopen jaren zijn verscheidene modificaties van de originele incubatie procedure volgens Graham en Karnovsky⁹¹ gepubliceerd.^{62,101,102,217,221,222} Mesulam en Rosene²²³ vergeleken de verschillende incubatie methoden. Zij kwamen tot de conclusie, dat met de tetramethyl benzidine incubatie methode zoals voorgesteld door Mesulam,²²¹ meer en relatief intensiever retrograad gelabelde neuronen konden worden aangetoond dan met andere incubatie methoden.

Procedures zoals die in de in dit proefschrift beschreven experimenten werden toegepast: In de experimenten, die in dit proefschrift worden beschreven werd 30% HRP (Sigma VI, Boehringer, Miles Laboratories S.A.) opgelost in water gebruikt, om de cellen van oorsprong van descenderende vezels uit de motorische cortex in de aap en de kat te identificeren. Na een overlevingstijd van drie à vier dagen werden alle dieren in een diepe narcose gebracht met nembutal. Zij werden vervolgens transcardiaal gefundeerd met een oplossing van 6% dextraan in fysiologisch zout, ten einde

zo veel mogelijk erythrocyten uit de hersenvaten te verwijderen. Hierna werden de dieren geperfundeed met een mengsel van 0.5% glutaraldehyde en 2.5% paraformaldehyde. Hersenen en ruggemerg werden vervolgens één tot drie dagen in een met cacodylaat gebufferde 30% sucrose oplossing (pH 7.2) geïmpregneerd. Vervolgens werd het weefsel op een vriesmicrotoom in coupes van 40 μ dik gesneden. De coupes werden geïncubeerd in een medium bestaande uit 3.3 diamino-benzidine en waterstof peroxyde opgelost in cacodylaat buffer (pH 7.2⁹¹). In een aantal gevallen werden de coupes, voordat zij in het medium van Graham-Karnovsky⁹¹ werden geïncubeerd, gedurende vijf minuten voorbehandeld met 0.5% cobalt chloride. Alle coupes werden opgeplakt met chroomaluin en vervolgens door een ontwateringscyclus gevoerd. Hierna werden ze licht tegengekleurd met 0.3% thionine of 0.3% cresyl violet. De coupes werden microscopisch onder donkerveld en lichtveld belichting bestudeerd en de positie van de retrograad gelabelde neuronen werd in kaart gebracht met behulp van een X-Y plotter.

IV.2.B. De retrograde fluorescente neuronale labeling techniek.

Er zijn een aantal fluorescente stoffen beschreven, die retrograad door axonen naar de bijbehorende cellen van oorsprong worden getransporteerd.^{22,23,24,178,179,181}

Neuronen die retrograad met fluorescente stoffen zijn gelabeld kunnen zichtbaar worden gemaakt door middel van de fluorescentie microscoop. In de Leitz Ploemopack fluorescentie microscoop die in ons laboratorium wordt gebruikt, wordt de in de coupe aanwezige fluorescente stof door opvallend licht geëxciteerd. De spiegel-filter combinatie die hiervoor in de experimenten, die in dit proefschrift worden beschreven werden gebruikt voorzien in opvallend licht van 550 nm (spiegel-filter combinatie N2), van 390 nm (spiegel-filter combinatie D) en van 360 nm (spiegel-filter combinatie A). Deze spiegel-filter combinaties zijn in de Ploemopack fluorescentie microscoop gemakkelijk onderling uitwisselbaar.

De fluorescente stoffen waarvan het eerst werd beschreven, dat zij in het centraal zenuwstelsel worden getransporteerd zijn Evans Blue en diamidino phenylindol (DAPI).

Evans Blue. Kuypers en medewerkers¹⁸¹ toonden aan dat Evans Blue in pure vorm (EB) evengoed retrograad naar de cellen van oorsprong van de nervus hypoglossus wordt getransporteerd als EBBA.^{155,156} Zij toonden ook aan, dat EB retrograad in nigrostriatale vezels in de rat wordt getransporteerd. Zij injecteerden EB in het striatum en vonden na een overlevingstijd van 2-4 dagen retrograad gelabelde neuronen in de substantia nigra pars compacta (SNC). Uit deze experimenten in de rat¹⁸¹ bleek ook, dat retrograad met EB gelabelde neuronen in de SNC brillianter rood fluorescent waren dan retrograad met EBBA

gelabelde neuronen. In latere experimenten in de kat kon dit echter niet worden bevestigd.

In de fluorescentie microscoop vallen de retrograad met EB of EBBA gelabelde neuronen op door een vlamvend rode fluorescentie, wanneer zij met opvallend licht van 550 nm worden geëxciteerd. De rode, door EB en EBBA veroorzaakte fluorescentie is diffuus in de kern, het cytoplasma en de proximale dendrieten van retrograad gelabelde neuronen aanwezig. De intensiteit van de brilliant rode fluorescentie van EB en EBBA in neuronen neemt na verloop van tijd af. Een ander nadeel van EB en EBBA is, dat deze stoffen minder goed over relatief lange afstanden worden getransporteerd. Zowel in de kat als in de rat konden de cellen van oorsprong van corticospinale en van descenderende hersenstam vezels niet consistent worden gelabeld na injecties met EB of EBBA in het cervicale ruggemerg.

DAPI/Primuline. Kuypers en medewerkers¹⁸¹ beschrijven eveneens het retrograde axonale transport van diamidino phenylindol (DAPI) in het nigrostriatale systeem. Retrograad met DAPI gelabelde neuronen vertonen, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd een lichtblauwe fluorescentie van de kern en een donkerblauwe fluorescentie van het cytoplasma. Wanneer DAPI wordt gecombineerd met primuline (Pr) verschijnen in het cytoplasma van de retrograad met DAPI gelabelde neuronen goudkleurige fluorescente granulae.¹⁸¹ De neuronen die retrograad met het DAPI-Pr mengsel waren gelabeld waren duidelijk brillianter fluorescent dan de neuronen, die retrograad met DAPI waren gelabeld.¹⁸¹ Echter evenmin als EB en EBBA wordt DAPI-Primuline retrograad over relatief lange afstanden getransporteerd.¹⁷⁹

Overige fluorescente merkstoffen. Verder onderzoek bracht andere fluorescente stoffen aan het licht, die retrograad in axonen worden getransporteerd.^{22,23,24,179} Zij kunnen op grond van de structuren, die zij in het neuron bij voorkeur labelen, worden onderverdeeld in:

1. Stoffen die bij voorkeur het cytoplasma labelen en
 - a. rood fluoresceren bij opvallend licht van 550 nm: Propidium Iodide
 - b. blauw fluoresceren bij opvallend licht van 360 nm: "True Blue", "Granular Blue", "Fast Blue"
2. Stoffen die bij voorkeur de kern labelen: Bisbenzimidide, "Nuclear Yellow".

ad 1a. Stoffen die het cytoplasma labelen en rood fluoresceren. Propidium Iodide (PI) fluoresceert oranje-rood, wanneer het met opvallend licht van 550 nm wordt geëxciteerd.¹⁷⁹ Het cytoplasma van retrograad met Propidium Iodide gelabelde neuronen is kenmerkend diffuus, oranje fluorescent. In het cytoplasma en de proximale dendrieten zijn bovendien brilliant oranje

fluorescente granulae aanwezig. De kern van retrograad met Propidium Iodide gelabelde neuronen bevat zelf geen Propidium Iodide, maar de nucleolus wordt wel brilliant rood fluorescent gelabeld.

Na injecties van Propidium Iodide in het putamen van de rat konden retrograad gelabelde neuronen worden aangetoond in de SNC.¹⁷⁹ Ook na injecties van Propidium Iodide in het cervicale ruggemerg van de rat werden de cellen van oorsprong van de descenderende hersenstam banen en van de corticospinale vezels altijd gelabeld.¹⁷⁹ Dit was ook het geval met de cellen van oorsprong van de descenderende hersenstam banen in de kat, na injecties van Propidium Iodide in het cervicale ruggemerg.¹⁷⁹ De cellen van oorsprong van de corticospinale vezels werden in deze gevallen echter niet of nauwelijks met Propidium Iodide gelabeld.¹⁷⁹ Dit betekent dat ook Propidium Iodide minder geschikt is, om in de kat na een relatief korte overlevingstijd cellen van oorsprong van relatief lange vezels te identificeren.

Propidium Iodide injectie plaats: Het onmiddellijk om het steekkanaal gelegen weefsel is brilliant rood fluorescent. De intensiteit van het vlamvend oranje-rood fluorescent debris in het weefsel rondom de steekkanalen neemt geleidelijk naar perifeer af. Het injectie gebied is derhalve vaak moeilijk af te grenzen van het omgevende niet-fluorescente weefsel.¹⁷⁹

ad 1b. Stoffen die het cytoplasma labelen en blauw fluoresceren.

Alle fluorescente stoffen die bij voorkeur het cytoplasma blauw labelen zijn, net als DAPI, diamidino derivaten. Hun vermogen om retrograad te worden getransporteerd schijnt gerelateerd te zijn aan hun sterke affiniteit voor adenine en thymine bevattend DNA.²³ De meest bruikbare retrograde merkstoffen die werden ontdekt zijn: "True Blue"²³ (TB: diamidino compound 150/129), "Fast Blue"²⁴ (FB: diamidino compound 253/50) en "Granular Blue"²³ (GB: diamidino compound 186/134). De met laatstgenoemde stoffen retrograad gelabelde neuronen fluoresceren blauw, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd (spiegel-filter combinatie A) en groenachtig, wanneer zij met opvallend licht van 390 nm worden geëxciteerd (spiegel-filter combinatie D).^{23,24}

Na het injiceren van één van deze fluorescente stoffen is het weefsel rond de steekkanalen brilliant blauw fluorescent en het injectie gebied kan nauwkeurig worden afgegrensd.^{23,24} De kenmerken van de injectie gebieden van TB, FB en GB, die onderling in details verschillen, zullen worden beschreven in Hoofdstuk VII.3.A.

"True Blue". Neuronen die retrograad met TB zijn gelabeld vertonen een diep blauw fluorescent cytoplasma en een eveneens intens blauw fluorescente nucleolus, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd. Om een brilliant blauwe fluorescentie van retrograad met TB gelabelde neuron te bereiken, is over het algemeen een vrij lange overlevingstijd nodig. Na injecties van TB in het cervicale ruggemerg van de rat waren de cellen van oorsprong van corticospinale vezels pas na een overlevingstijd van zeven dagen brilliant blauw gelabeld.²³ Hierbij moet worden opgemerkt, dat de intensiteit van de blauwe fluorescentie van retrograad met TB gelabelde neuron met de duur van de overlevingstijd toeneemt.²³ Na injecties van TB in het cervicale ruggemerg van de kat waren daarentegen zelfs na een overlevingstijd van vijfendertig dagen relatief weinig corticospinale neuron retrograad gelabeld.²³ Uit bovenstaande bevindingen werd geconcludeerd, dat een brilliant blauwe fluorescente retrograde labeling met TB in de kat, slechts verkregen kan worden wanneer een relatief korte transport afstand samengaat met een relatief lange overlevingstijd.²⁴

"Granular Blue". Retrograad met GB gelabelde neuron vertonen een blauw fluorescent cytoplasma met zilver en gouden fluorescente granulae, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd.²³ Deze granulae zijn uitsluitend aanwezig in het cytoplasma en niet in de kern. In de rat wordt GB goed over relatief lange afstanden getransporteerd. Na injecties van GB in het cervicale ruggemerg in de rat waren na drie tot vier dagen overlevingstijd corticale neuron brilliant gelabeld.²³ In de kat kon echter geen duidelijke labeling van cellen van oorsprong van relatief lange vezels worden verkregen.²³

"Fast Blue". Neuronen die retrograad met FB zijn gelabeld vertonen een blauwe fluorescentie van het cytoplasma en van de proximale dendrieten. In het cytoplasma zijn eveneens fijne zilverkleurige fluorescente granulae zichtbaar.²⁴ Over het algemeen is de kern van een retrograad met FB gelabeld neuron weinig fluorescent.²⁴ Evenals TB accumuleert FB in retrograad gelabelde neuron. De intensiteit van de blauwe fluorescentie in retrograad met FB gelabelde neuron neemt dan ook toe bij een relatief lange overlevingstijd. Na zeer lange overlevingstijden worden bovendien brilliant oranje fluorescente granulae in het cytoplasma zichtbaar. Volgens Bentivoglio en medewerkers²⁴ wordt FB in de kat en in de rat adequaat over relatief lange afstanden getransporteerd. Volgens hun bevindingen kan FB, na injecties in het thoracale ruggemerg van de kat na een overlevingstijd van twee-en-twintig dagen in corticale neuron die met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd, worden aangetoond.

ad 2. Stoffen die bij voorkeur de kern labelen. Zowel Bisbenzimidide (Bb: Hoechst 33258) als de in structuur hieraan verwante fluorescente stof "Nuclear Yellow" (NY: Hoechst S769121) worden adequaat over relatief lange afstanden getransporteerd.^{24,179}

De neuronen die retrograad met Bb of NY worden gelabeld vallen op door een briljant fluorescente nucleaire membraan, een fijn netwerk van fluorescente draden in de kern en een briljant fluorescente ring rond de nucleolus.^{24,179} Deze ring is zeer kenmerkend voor retrograad gelabelde neuronen en is afwezig in gelabelde glia kernen, die soms rond retrograad gelabelde neuronen voorkomen.²² In het cytoplasma van retrograad met NY Bb gelabelde neuronen zijn soms dof fluorescente granulae aanwezig. Deze granulae kunnen zeer storend zijn, wanneer NY of Bb samen met een andere tracer wordt gebruikt om neuronen te identificeren, die axon collateralen zenden naar twee terminatie gebieden. Het ontstaan van deze granulae kan worden voorkomen door het weefsel uitsluitend met gebufferde oplossingen met een neutrale pH te behandelen.¹¹³

Retrograad met NY of Bb gelabelde neuronen fluoresceren zowel, wanneer zij worden geexciteerd met opvallend licht van 360 nm (spiegel-filter combinatie A) als wanneer zij worden geexciteerd met opvallend licht van 390 nm (spiegel-filter combinatie D). De kernen van neuronen die retrograad met Bb zijn gelabeld, zijn briljant zilver fluorescent bij een excitatie golflengte van 360 nm en groenig fluorescent bij een excitatie golflengte van 390 nm. De kernen van neuronen die retrograad met NY zijn gelabeld, zijn zowel bij een excitatie golflengte van 390 nm als bij een excitatie golflengte van 360 nm briljant geel fluorescent.

22

Zowel Bb als NY kunnen uit retrograad gelabelde neuronen migreren. Een zeker teken hiervan is de aanwezigheid van met NY of Bb gelabelde glia kernen rondom retrograad met NY of Bb gelabelde neuronen. Vanuit deze glia kernen kunnen Bb en NY zelfs naar in de buurt liggende neuronen migreren, waarvan de kernen dan dof fluorescent oplichten. Deze migratie kan zowel in vivo als in vitro optreden. De in vivo migratie kan worden vermeden door de overlevingstijd zorgvuldig te berekenen (d.w.z. een zodanige overlevingstijd te kiezen, dat de brilliantie van de retrograad gelabelde neuronen optimaal is, terwijl nog juist geen NY of Bb naar de omgevende glia kernen is gemigreerd). De juiste overlevingstijd is afhankelijk van de transport afstand en zal voor ieder vezel systeem opnieuw moeten worden vastgesteld. De in vitro migratie treedt op, wanneer het weefsel in waterige oplossingen wordt bewaard. Dit kan worden voorkomen door het weefsel direct na het snijden op het object-glas te monteren, waardoor het contact van het weefsel met water zo veel

mogelijk wordt vermeden.

NY wordt langzamer in retrograde richting getransporteerd dan Bb. Ook de tijd die verloopt tussen het moment waarop NY in de retrograad gelabelde neuronen verschijnt en het moment waarop het buiten het retrograad gelabelde neuron migreert is langer dan voor Bb. Praktisch blijkt inderdaad, dat de juiste overlevingstijd voor een met NY geïnjecteerd dier gemakkelijker kan worden vastgesteld, dan bij gebruik van Bb. Derhalve werd NY in de in Hoofdstuk VII beschreven experimenten als merkstof geprefereerd boven Bb.

IV.3. Anatomische technieken om cellen van oorsprong van axon collateralen te identificeren

IV.3.A. De fluorescente retrograde neuronale dubbel labeling techniek.

Kuypers et al.¹⁸¹ toonden aan, dat wanneer EB en DAPI-Primuline ieder in het zelfde caudatus-putamen complex van de rat werden geïnjecteerd, beide tracers tegelijkertijd in de neuronen van de substantia nigra pars compacta (SNC) kunnen worden aangetoond. Vander Kooy et al.¹⁴⁵ injecteerden EB en DAPI/Primuline ieder aan één zijde in de nuclei anteriores van de thalamus van de rat. Zij observeerden, na een overlevingstijd van drie tot vier dagen, retrograad met EB en DAPI/Primuline dubbel gelabelde neuronen in de nuclei mammillaria laterales beiderzijds. Met andere woorden, in de rat konden neuronen die axon collateralen naar meer dan één terminatie gebied distribueren, worden geïdentificeerd door EB in één terminatie gebied en DAPI/Primuline in het andere te injecteren. Met behulp van deze twee fluorescente merkstoffen werden cellen van oorsprong van axon collateralen geïdentificeerd in de SNR²⁵ en de dorsale raphe kernen^{146,147,148} van de rat en in de pons kernen van de kat.²⁸⁵

Uit latere onderzoeken^{22,23,24,178} bleek dat ook PI, Bb, NY, TB, GB en FB konden worden gebruikt, om cellen van oorsprong van axon collateralen te identificeren. Volgens Kuypers en medewerkers¹⁷⁸ is het van groot belang dat fluorescente stoffen, die worden gebruikt om cellen van oorsprong van axon collateralen te identificeren ieder in een andere kleur fluoresceren, hetzij wanneer zij worden geëxciteerd door opvallend licht van verschillende golflengten hetzij wanneer zij worden geëxciteerd door opvallend licht van één golflengte. Wanneer dit laatste het geval is, moeten de twee fluorescente stoffen bij voorkeur verschillende structuren in het neuron labelen.¹⁷⁸

PI en EB fluoresceren rood wanneer zij met opvallend licht van 550 nm worden geëxciteerd. Beide kunnen dus met één van de merkstoffen worden gecombineerd, die oplichten wanneer zij met opvallend licht van 360 nm of 390

nm worden geëxciteerd. Wanneer PI of EB in één terminatie gebied en TB, GB, FB, NY of Bb in een ander terminatie gebied wordt geïnjiceerd, fluoresceren de neuronen die axon collateralen zenden naar deze beide terminatie gebieden oranje-rood (PI), c.q. rood (EB), wanneer zij met opvallend licht van 550 nm worden geëxciteerd en blauw (TB, GB, FB), c.q. geel (NY) of groen-wit (Bb), wanneer zij met opvallend licht van 360 nm of 390 nm worden geëxciteerd.

Wanneer twee merkstoffen worden gecombineerd, die bij verschillende golflengten fluoresceren ondervindt men het nadeel, dat bij het bestuderen van het materiaal ieder neuron met opvallend licht van twee verschillende golflengten moet worden geëxciteerd. Kuypers et al.¹⁷⁸ bevelen daarom aan, om fluorescente stoffen te gebruiken die ieder in een verschillende kleur fluoresceren, wanneer zij met licht van één en dezelfde golflengte worden geëxciteerd en die ieder bij voorkeur verschillende structuren in het neuron labelen. Aan beide voorwaarden voldoen TB, GB of FB in combinatie met NY of Bb. Neuronen die retrograad met TB, GB of FB zijn gelabeld, hebben een blauw fluorescent cytoplasma en een weinig of geen fluorescente kern, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd. Neuronen die retrograad met Bb of NY zijn gelabeld, tonen bij dezelfde golflengte een briljant fluorescente labeling van de nucleaire membraan, de nucleus en een karakteristieke fluorescente halo rond de nucleolus. Wanneer TB, GB of FB in één terminatie gebied wordt geïnjiceerd en Bb of NY in het andere, zijn neuronen die axon collateralen zenden naar beide terminatie gebieden herkenbaar aan een blauw met TB, GB of FB gelabeld cytoplasma en een met Bb of NY gelabelde kern, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd. Wanneer de kern retrograad met Bb is gelabeld is deze groen of wit fluorescent, maar wanneer de kern met NY is gelabeld geel of wit fluorescent.¹⁷⁸ Met behulp van merkstoffen, die verschillende structuren in het neuron labelen en die fluorescent oplichten wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd werd in de rat²¹ en de kat²⁷ aangetoond, dat een deel van de neuronen in de cerebellaire kernen axon collateralen zendt naar ruggemerg en thalamus.

Kuypers et al.¹⁷⁸ benadrukken het belang van het nauwkeurig berekenen van de overlevingstijd en het vermijden van contact van het weefsel met waterige oplossingen, om migratie van NY en Bb uit retrograad gelabelde neuronen te voorkomen. Dit is belangrijk, omdat migratie van NY of Bb uit retrograad gelabelde neuronen naar nabij gelegen glia kernen en vervolgens naar kernen van nabij gelegen neuronen valse dubbel labeling van neuronen zou kunnen veroorzaken.

Het retrograad transport van NY en Bb geschiedt sneller dan dat van FB, TB of GB. Aangezien NY en Bb na een relatief lange overlevingstijd

uit retrograad gelabelde neuronen migreren, moeten de injectie procedures in de experimenten waarin NY of Bb wordt gecombineerd met FB, TB of GB, in twee tempi worden uitgevoerd. Tijdens een eerste operatie wordt TB, GB of FB geïnjecteerd en tijdens een tweede operatie Bb of NY. De overlevingstijd wordt vervolgens vastgesteld op grond van de afstand waarover Bb of NY in het vezel systeem moet worden getransporteerd. Voor een uitgebreide beschrijving van de perfusie methode en histologische bijzonderheden zij verwezen naar Hoofdstuk VII.2.

Fluorescente merkstoffen worden sinds een aantal jaren ook voor andere dan bovenstaande toepassing gebruikt. De fluorescente retrograde neuronale transport techniek wordt met name gecombineerd met histofluorescente^{31,32} 115,150 en immunofluorescente technieken.¹¹⁶ Deze ontwikkeling maakt het mogelijk, om de distributie van cellen van oorsprong van vezels, die specifieke transmitters bevatten nader te bestuderen.

IV.3.B. Andere retrograde neuronale dubbel labeling technieken.

Anatomische onderzoeken hebben aangetoond, dat ook andere combinaties van stoffen tegelijkertijd in een neuron kunnen worden aangetoond, namelijk:

- HRP en Apo-HRP¹⁰⁸
- HRP en getritieerd Albumine³⁰⁹
- HRP en ijzerdextraan complex^{49,249}
- EBBA en getritieerd Bovien Albumine³⁰⁸
- HRP en EB 181

Al deze combinaties zijn met succes toegepast, om cellen van oorsprong van axon collateralen te identificeren. Er kleven echter een aantal bezwaren aan het gebruik van bovengenoemde combinaties. Wanneer HRP met ijzerdextraancomplex of EB/EBBA wordt gecombineerd, kan in retrograad dubbel gelabelde neuronen het blauw granulaire reactie product c.q. de rode fluorescentie van EB/EBBA volledig worden overschaduwed door het bruin granulaire reactie product van HRP.^{49, 181} Wanneer HRP met getritieerde stoffen wordt gecombineerd, moet men tijdrovende autoradiografische procedures op het weefsel toepassen. Een belangrijk nadeel is, dat de met de getritieerde merkstof retrograad gelabelde of dubbel gelabelde neuronen slechts in de meest oppervlakkige drie μm van een coupe kunnen worden aangetoond. Met deze methode zal dus slechts een deel van de neuronen die axon collateralen naar verschillende gebieden distribueren kunnen worden opgespoord. Dit stemt overeen met de bevindingen van Huisman en medewerkers¹²² in de kat, dat na injecties van NY en FB in de grijze stof van de spinale intumescenties meer neuronen in de RN en de nucleus raphe magnus retrograad zijn gelabeld, c.q. retrograad dubbel zijn gelabeld, dan na injecties van HRP en Apo-HRP.¹⁰⁹

Hoofdstuk V: CELLEN VAN OORSPRONG VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT DE
MOTORISCHE CORTEX IN DE KAT. - EEN HRP ONDERZOEK

V.1. Samenvatting

V.2. Materiaal en methoden

V.2.A. HRP injecties in het ruggemerg

V.2.B. HRP injecties in de medulla oblongata,
i.e. in de nuclei cuneatus en gracilis
en de bulbaire mediale reticulair
formatie

V.2.C. HRP injecties in het mesencephalon, i.e.
in de colliculus superior en het mesen-
cephaal tegmentum

V.2.D. HRP injecties in het diencephalon, i.e.
in de laterale thalamus en de nuclei
centromedianus en parafascicularis thalami

V.2.E. Histologische procedure

V.3. Resultaten

V.3.A. HRP injecties in het ruggemerg

V.3.B. HRP injecties in de nuclei cuneatus en
gracilis en de bulbaire mediale reticulair
formatie

V.3.C. HRP injecties in het mesencephaal tegmentum
en de colliculus superior

V.3.D. HRP injecties in de laterale thalamus en de
nuclei centromedianus en parafascicularis
thalami

V.4. Discussie

V.1. Samenvatting

In dit hoofdstuk wordt een aantal experimenten beschreven, waarin de cellen van oorsprong van descenderende vezels uit de motorische corticale velden in de kat werden geïdentificeerd met behulp van het retrograde axonale transport van HRP.

Areale distributie: De cellen van oorsprong van corticale vezels naar het ruggemerg en de nuclei cuneatus en gracilis (DCN) zijn in area's 4, 3a, 3b, 1, 2, 5 en SII gelegen. Die, welke naar de bulbaire mediale reticulair formatie (BMRF) projecteren, bevinden zich voornamelijk in area's 6 en 8 en een klein deel eveneens in area 4γ. Een groot deel van de cellen van oorsprong van corticocolliculaire vezels bevindt zich in area's 6, 8 en de frontale granulaire cortex. Behalve in deze gebieden zijn de cellen van oorsprong van corticale vezels naar het mesencephaal tegmentum, inclusief de nucleus ruber ook in area's 4, 3a, 3b, 1, 2, 5, 7 en SII gelegen. De distributie van de corticale neuronen die naar de nuclei centromedianus (CM) en parafascifascicularis (Pf) thalami projecteren, is beperkt tot area's 4,6,8,3a en de frontale granulaire cortex.

Laminaire distributie: De corticale neuronen die naar het ruggemerg, de nuclei cuneatus en gracilis, de bulbaire mediale reticulair formatie, de colliculus superior, het mesencephaal tegmentum en de nuclei centromedianus en parafascifascicularis projecteren liggen alle in lamina V. In area's 4γ 4d, 3a, 6α, 6β en SII liggen zij oppervlakkig in lamina V, i.e. in lamina Va. In area 4γ liggen zij derhalve op het niveau van de Betz cellen. Een groot aantal van de Betz cellen zelf projecteert naar het ruggemerg. Slechts een zeer beperkt aantal van hen distribueert vezels naar het mesencephaal tegmentum, inclusief de nucleus ruber. In area's 3b, 1, 2, 5 en 7 zijn zij midden in lamina V gesitueerd, i.e. in lamina Vb. In area 3a is een zeer klein aantal van de corticale neuronen, die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren in het diepe deel van lamina V gesitueerd, i.e. in lamina Vb. In area 4γ zijn ook een zeer beperkt aantal neuronen, die naar het mesencephaal tegmentum projecteren in lamina Vb gesitueerd, i.e. onder het niveau van de Betz cellen.

De corticale neuronen die naar de laterale thalamus, inclusief de nucleus ventralis lateralis (VL) projecteren, zijn voornamelijk in het diepe deel van lamina V en in lamina VI gesitueerd, i.e. in area 4γ in laminae Vb en VI, onder het niveau van de Betz cellen. Een beperkt aantal van deze neuronen ligt meer oppervlakkig in lamina V, i.e. in area 4γ in lamina Va, op het niveau van de Betz cellen.

V.2. Materiaal en methoden

V.2.A. HRP injecties in het ruggemerg

In zes katten werd 30% HRP (Boehringer grade I of Sigma VI) unilateraal in het ruggemerg geïnjecteerd. In drie katten werd het in het cervicale segment C1 geïnjecteerd. In de drie andere katten werd 30% HRP in L1 geïnjecteerd. In alle katten werden drie tot vier transversale rijen, dicht naast elkaar liggende steekkanalen gemaakt, door de witte en de grijze substantie heen. In ieder steekkanaal werd ongeveer om de 0.25 mm een hoeveelheid van 0.2 µl geïnjecteerd (in totaal 30 µl per kat).

V.2.B. HRP injecties in de medulla oblongata, i.e. in de nuclei cuneatus en gracilis en de bulbaire mediale reticulaire formatie.

In acht katten werd 0.3-0.6 µl 30% HRP (Boehringer grade I of Sigma VI) in de DCN geïnjecteerd. In al deze dieren werd een occipitale craniotomie verricht. Door vervolgens het cerebellum voorzichtig op te lichten werd het dorsale oppervlak van de hersenstam zichtbaar gemaakt. In zeven van de katten werd HRP door middel van loodrecht op het oppervlak van de hersenstam staande steekkanalen geïnjecteerd. In één kat gebeurde de injectie door middel van min of meer parallel aan het oppervlak gemaakte steekkanalen. In vier van bovengenoemde katten werd het enzym in de nucleus cuneatus en in de nucleus gracilis geïnjecteerd. In de overige vier dieren werd het uitsluitend in de nucleus gracilis geïnjecteerd. In één van deze laatste katten werd twee weken voordat HRP in de nucleus gracilis werd geïnjecteerd de ipsilaterale pyramidebaan chirurgisch onderbroken.

In twee katten werd 1 µl 30% HRP (Boehringer grade I) op vier verschillende rostrocaudale niveaus in de BMRF geïnjecteerd. Hiertoe werd de hersenstam vanaf ventraal benaderd. Na het à vue brengen van de pyramidebanen, werd de injectienaald lateraal van de pyramidebaan onder een hoek van 30° met de mediaanlijn in de BMRF geplaatst.

V.2.C. HRP injecties in het mesencephalon, i.e. in de colliculus superior en het mesencephaal tegmentum

In zes katten werd 30% HRP (Boehringer grade I) opgelost in 2% DMSO stereotactisch geïnjecteerd in structuren in het mesencephalon. In twee van deze dieren werd 1.6 µl HRP unilateraal in de colliculus superior geïnjecteerd.

In vier andere katten werd het hele mesencephaal tegmentum met behulp van meerdere steekkanalen opgevuld met HRP. In ieder steekkanaal werd 0.05 - 0.1 µl HRP geïnjecteerd. Uit economische overwegingen werd in drie van bovengenoemde vier katten HRP aan beide zijden van de middellijn in het mesen-

cephaal tegmentum geïnjecteerd. In één van deze katten werd in totaal 2.8 µl HRP in 2% DMSC aan iedere zijde van de middellijn geïnjecteerd. In de twee andere dieren werd in totaal 0.4 µl HRP in 2% DMSO aan iedere zijde in het mesencephaal tegmentum geïnjecteerd. In de vierde kat werd in totaal 2.5 µl HRP unilateraal in het mesencephaal tegmentum geïnjecteerd. Om te voorkomen, dat HRP langs het steekkanaal terug zou lekken, werden in alle katten met injecties in mesencephale structuren de steekkanalen na het injiceren van het enzym met "high speed oil" opgevuld.²⁰

V.2.D. HRP injecties in het diencephalon, i.e. in de laterale thalamus en de nuclei centromedianus en parafascicularis thalami.

In vier katten werd 30% HRP (Miles Lab S.A.) in de thalamus geïnjecteerd. In twee van deze dieren werd 0.25 µl HRP in de laterale thalamus geïnjecteerd. Contralateraal van deze injecties werd in beide katten een zeer kleine injectie in het mesencephaal tegmentum geplaatst. In de twee andere katten werd aan één zijde 0.8-1.2 µl HRP in 10% PVP geïnjecteerd in de CM en Pf. In een van deze beide dieren werd contralateraal aan de CM/Pf injectie 1.2 µl HRP in 10% PVP dorsaal van het CM/Pf complex, in de LD en de LP geïnjecteerd. In de andere kat werd geen HRP contralateraal van de CM/Pf injecties geïnjecteerd.

V.2.E. Histologische procedure

Na drie dagen overlevingstijd werden de dieren transcordiaal geperfundeed zoals in het vorige hoofdstuk werd beschreven. De hersenen en het ruggemerg werden gedurende één nacht in een met cacodylaat gebufferde 30% sucrose oplossing (pH 7.2) geïmpregneerd. De injectie gebieden werden op een vriesmicrotoom in 40 µm dikke transversale coupes gesneden. De frontaal-kwabben werden echter in 40 µm dikke sagittale coupes gesneden. Iedere derde coupe werd vervolgens behandeld volgens Graham en Karnovsky,⁹¹ opgeplakt met chroom-aluin, ontwaterd en licht tegengekleurd met 0.3% cresyl violet. Zij werden in de lichtmicroscop onder licht- of donkerveld belichting bestudeerd. De distributie van de met HRP gelabelde neuronen in de cortex van de frontaal-kwab werd in iedere vijftiende coupe met behulp van een X-Y plotter in kaart gebracht. De cytoarchitectonische gebieden werden volgens de criteria van Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ afgebakend.

V.3. Resultaten

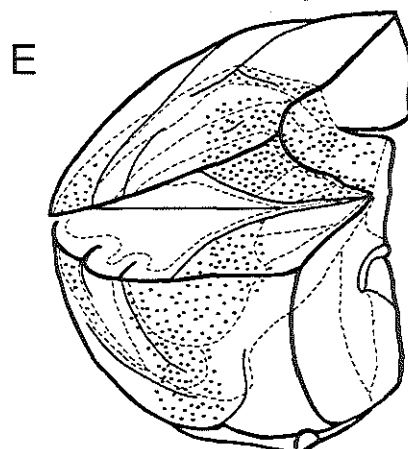
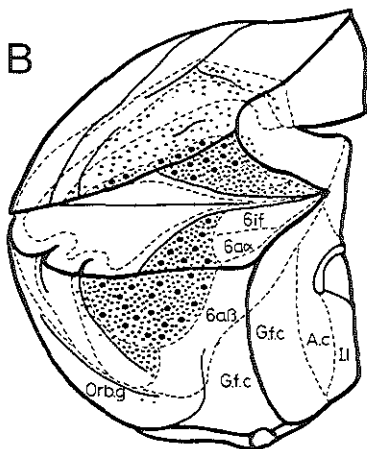
V.3.A. HRP injecties in het ruggemerg

Injectie plaatsen ruggemerg: In de zes katten met HRP injecties in C1 of L1 waren aan één zijde in het ruggemerg steekkanalen aanwezig. Deze steekkanalen en het HRP reactie producten bevattende weefsel rondom de steekkanalen, omvatten zowel de grijze als de witte substantie (Fig. V.1.A.). De HRP reactie producten breidden zich uit tot in de contralaterale grijze substantie. Daarin bevonden zich naast diffuus bruin gekleurde ook enkele gelabelde neuronen.

Distributie van retrograad gelabelde corticospinale neuronen: De retrograad vanuit het cervicale en lumbale ruggemerg gelabelde corticale neuronen waren overwegend in de frontale cortex van de contralaterale hemisfeer gelegen. Zij waren het talrijkst in area 4, terwijl relatief minder retrograad gelabelde corticospinale neuronen aanwezig waren in area's 3a, 3b, 1, 2 en 5.

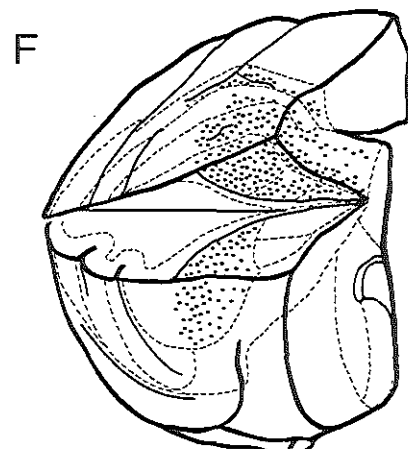
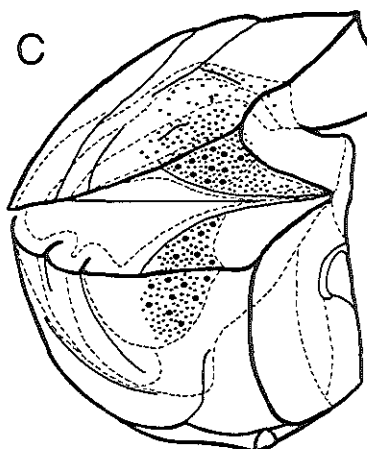
Figuur V.1.: A,D: Lichtveld microfoto's van de HRP injectie plaatsen in het spinale segment C1 (A, x 5,2) en in de nuclei cuneatus en gracilis (D) in de kat. B,C,E,F: Diagrammatische representatie van de distributie van de retrograad gelabelde neuronen in de cortex van de rechter frontaalkwab van de kat, na injecties in het spinale segment C1 (B), in het spinale segment L1-L2 (C), in de nuclei cuneatus en gracilis (E) en in de nucleus gracilis (F). In het verlengde van de sulcus cruciatus werd een snede naar lateraal gemaakt. De sulcus cruciatus werd vervolgens opgevouwen, om de cytoarchitectonische gebieden die zich in de wanden van deze sulcus bevinden zichtbaar te maken. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁸ zijn met onderbroken lijnen aangegeven.

Afkortingen: DCN, nuclei cuneatus en gracilis; spin.V, spinale trigeminus complex; LRN, nucleus reticularis lateralis; PT, pyramidebaan; I.O, oliva inferior; Orb.g., gyrus orbitalis; G.f.c., granulaire frontale cortex; A.c., rostrale deel van de gyrus cinguli; I.l., infralimbische cortex.



HRP: SPIN.SEGMENT C1

HRP:CUNEATE AND GRACILE NUCL.



HRP: SPIN.SEGMENT L1

HRP:GRACILE NUCL.

Na HRP injecties in het lumbale merg, bevonden de retrograad gelabelde corticospinale neuronen zich voornamelijk in het mediale deel van area 4 op de gyrus sigmoideus anterior, in het mediale deel van area 4 op de gyrus sigmoideus posterior en in dat deel van area 4, dat in de diepte van de sulcus cruciatus is gelegen. Zij waren ook aanwezig in de mediale delen van area's 3a, 3b, 1 en 2 op de gyrus sigmoideus posterior en in area 5 in de voorwand van de sulcus ansatus medialis (Fig. V.1.C.).

Na HRP injecties in het ruggemerg segment C1 waren retrograad gelabelde corticospinale neuronen ook lateraal in bovengenoemde gebieden aanwezig, evenals in area 3a in de diepte van de sulcus coronarius (Fig. V.1.B.) De lateraal van de sulcus coronarius gelegen corticale gebieden (area 2pri) werden in deze dieren niet bestudeerd.

De retrograad gelabelde corticospinale neuronen waren zowel na lumbale als na cervicale HRP injecties het talrijkst in area 4 γ , terwijl relatief minder HRP positieve neuronen aanwezig waren in area's 4d en 4 i.f.

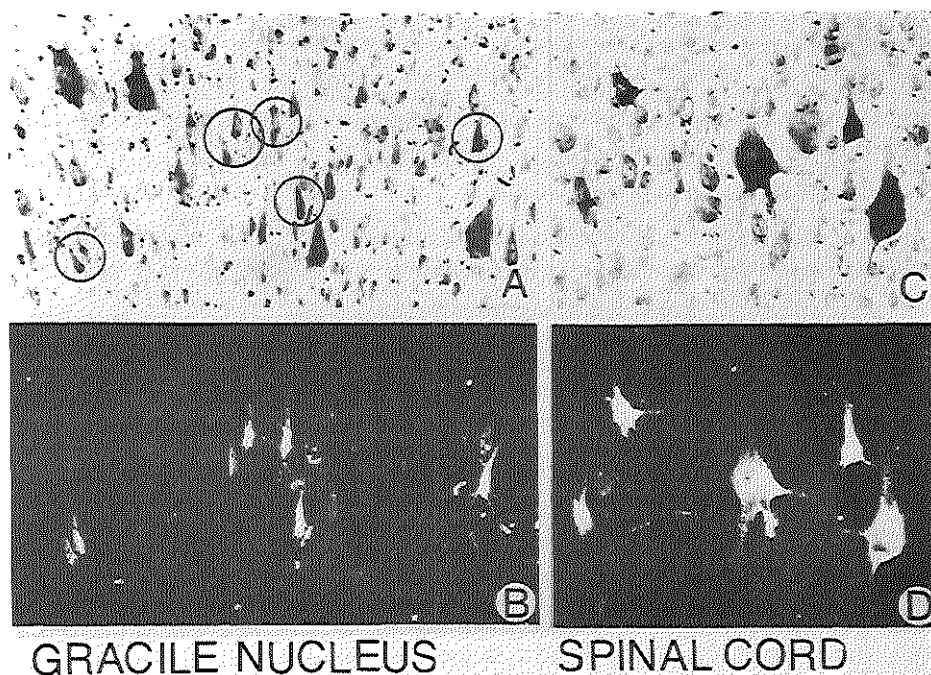
In alle katten waren de retrograad vanuit het ruggemerg gelabelde corticale neuronen pyramidevormig. Zowel in de motorische als in de sensibele gebieden waren zij in dat deel van lamina V geconcentreerd, dat relatief grote neuronen bevat. In area's 4 γ , 4d en 3a waren zij derhalve in lamina Va gesitueerd en in area's 3b, 1, 2 en 5 in lamina Vb. De populatie retrograad gelabelde corticospinale neuronen bestond dan ook voornamelijk uit middelgrote en grote pyramide cellen. In area 4 γ waren bovendien, zeer veel Betz cellen retrograad met HRP gelabeld (Fig.V.2.C,D).

Figuur V.2.: Lichtveld (A,C) en donkerveld (B,D) microfoto's van retrograad gelabelde neuronen in area 4 γ van de kat (vergroting x136). A en B: retrograad gelabelde neuronen na HRP injecties in de contralaterale nucleus gracilis. C en D: Retrograad gelabelde neuronen na HRP injecties contralateraal in het cervicale ruggemerg. Merk op, dat na injecties in de nucleus gracilis slechts relatief kleine neuronen zijn gelabeld, terwijl na ruggemerg injecties ook Betz cellen retrograad zijn gelabeld.

V.3.B. HRP injecties in de nuclei cuneatus en gracilis en de bulbaire mediale reticulaire formatie.

Injectie plaatsen DCN: In de katten met HRP injecties in de nucleus gracilis beperkte het HRP injectie gebied zich niet tot deze kern, maar breidde zich op sommige niveaus uit in de nucleus gracilis aan de contralaterale zijde. In de vier katten waarin niet alleen de nucleus gracilis maar ook de nucleus cuneatus was geïnjecteerd, omvatte het HRP injectiegebied deze beide kernen. In al deze katten breidde het gebied, dat HRP reactie producten bevatte zich echter uit in het dorsale deel van het ipsilaterale spinale trigeminus complex (Fig.V.1.D.).

Distributie van de retrograad vanuit de DCN gelabelde corticale neuronen: De retrograad vanuit bovenstaande injectie plaatsen gelabelde corticale neuronen waren voor het merendeel in de contralaterale hemisfeer gelegen. Na injecties in de nuclei cuneatus en gracilis waren retrograad gelabelde neuronen het talrijkst in area's 4 en 3 (Fig.V.1.E). De meeste



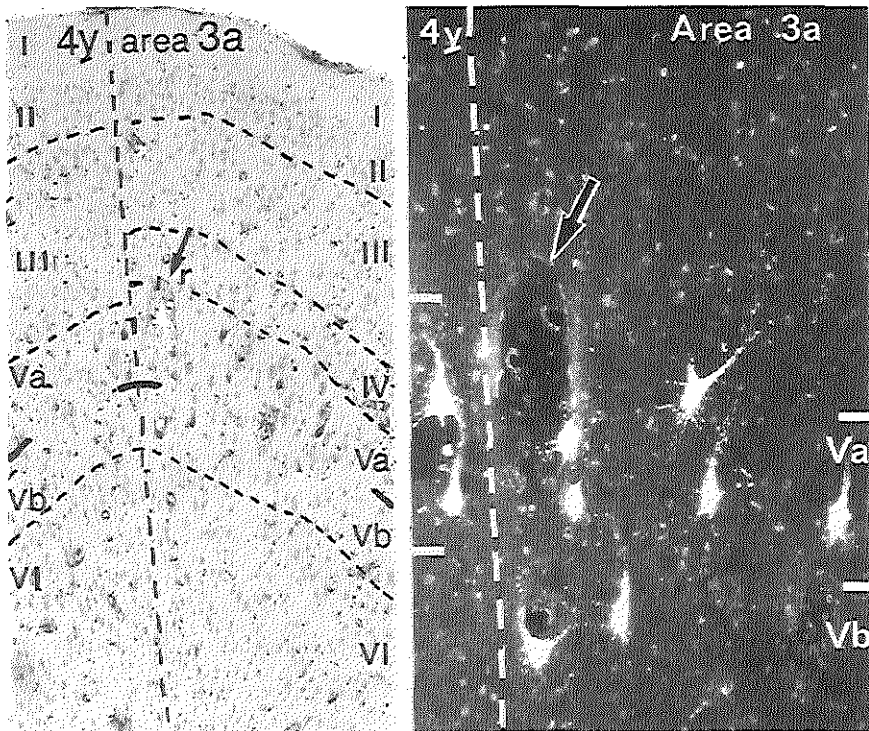
retrograad gelabelde neuronen in area 4 bevonden zich in area 4 γ . In area 3 bevond de meerderheid van de retrograad vanuit de DCN gelabelde neuronen zich in area's 3a en 3b op de gyrus sigmoideus posterior en in area 3a in de diepte van de sulcus coronarius. Een relatief gering aantal retrograad gelabelde neuronen bevond zich ook in area 3b bij het rostrale uiteinde van de sulcus coronarius, in area's 2 en 5 en in area 6a β . In slechts één van de katten met DCN injecties werd ook de lateraal van de sulcus coronarius gelegen frontale cortex bestudeerd. In dit dier was ook een aantal retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 2pri (SII).

In de vier katten met HRP injecties in de nucleus gracilis waren de retrograad gelabelde neuronen in de contralaterale hemisfeer slechts in de mediale gedeelten van bovengenoemde gebieden aanwezig. Hun distributie leek dus sterk op die na HRP injecties in het lumbale ruggemerg. Zij waren met name gelegen in het mediale deel van area 4 op de gyri sigmoidei posterior en anterior, in area 4 in de diepte van de sulcus cruciatus en in het mediale deel van area's 3a, 3b, 2 en 5 op de gyrus sigmoideus posterior (Fig.V.1.F.)

In alle katten waren mediaal in area's 4 γ , 3a en 3b in de hemisfeer ipsilateraal aan de DCN injectie retrograad gelabelde corticale neuronen aanwezig, behalve in de kat waarin de ipsilaterale pyramidebaan twee weken voor de injectie in de nucleus gracilis was doorsneden. Hieruit kan de conclusie worden getrokken, dat de retrograad gelabelde neuronen in de ipsilateraal aan de DCN injecties gelegen hemisfeer waarschijnlijk vanuit de contralaterale niet geïnjecteerde nucleus gracilis werden gelabeld. Dit is zeer wel mogelijk, omdat deze ook HRP reactie producten bevatte.

De corticale neuronen, die retrograad vanuit de nuclei cuneatus en gracilis werden gelabeld waren pyramidevormig en, in vergelijking met de corticospinale neuronen, relatief klein en slank van vorm (Fig.V.2.A,B.). Zij waren echter voor het merendeel wel in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als de retrograad vanuit het ruggemerg gelabelde neuronen, i.e. in area's 4 γ , 4d, 3a, 2pri in lamina Va en in area's 3b, 2 en 5 in lamina Vb. In area 3a waren enkele retrograad vanuit de DCN gelabelde neuronen ook in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb, gesitueerd (Fig.V.3.A,B.). In area 4 γ waren de retrograad vanuit de DCN gelabelde neuronen dus in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als de Betz cellen, i.e. in lamina Va. De Betz cellen bevatten na HRP injecties in de DCN echter zelf nooit HRP reactie producten (Fig.V.2.A,B.)

Injectie plaatsen BMRF: In de twee katten met bulbaire injecties omvatte het HRP injectie gebied de BMRF, de oliva superior en de nuclei facialis en abducens (Fig.V.4.B.). In één van deze katten waren echter ook de vezels in het laterale deel van de ipsilaterale pyramidebaan egaal bruin gekleurd.



Figuur V.3.: Lichtveld (A, x45) en donkerveld (B, x108) microfotografen van retrograad gelabelde neuronen in area 3a van de kat, na HRP injecties in de contralaterale nuclei cuneatus en gracilis. De grenzen van de corticale laminae zijn aangegeven met onderbroken lijnen. De meerderheid van de retrograad gelabelde neuronen is in lamina Va gesitueerd, maar enkele retrograad gelabelde neuronen zijn ook in lamina Vb gelegen.

Dit wees er op, dat ook zij HRP hadden getransporteerd.

Distributie van retrograad vanuit de BMRF gelabelde corticale neuronen: In beide katten waren veel pyramide cellen aanwezig in area's 6 i.f., 6a β en in de laterale wand van de sulcus presylvius (area 8¹⁰⁶) van beide hemisferen. In beide hemisferen waren ook enkele middelgrote pyramide cellen aanwezig in area 4 γ in de onderwand van de sulcus cruciatus en in het laterale deel van area 4d in de bovenwand van de sulcus cruciatus (Fig.V.4.A.)

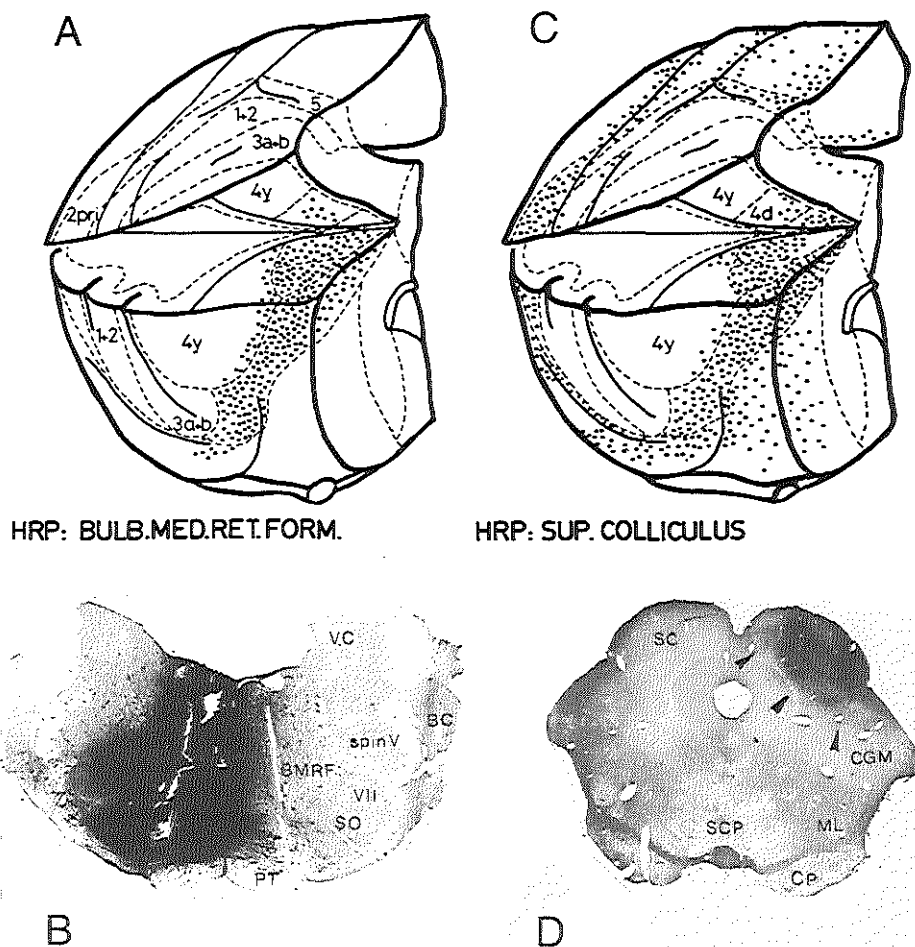
Alle retrograad gelabelde neuronen in area's 4 en 6 waren in het oppervlakkige deel van lamina V (lamina Va) gesitueerd. Deze populatie retrograad vanuit de BMRF gelabelde neuronen bestond voornamelijk uit middelgrote en grote pyramide cellen. Hierbij dient te worden opgemerkt, dat in area's 6a α en 6a β vrijwel al de voor deze gebieden karakteristieke grote pyramide cellen in lamina Va waren gelabeld met HRP.

In de kat waarin de vezels van de pyramidebaan in de buurt van de injectie plaats bruin waren gekleurd, waren ook zeer veel retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area's 4 en 3 van de ipsilaterale hemisfeer, met inbegrip van Betz cellen in area 4 γ . Rekening houdend met de bevindingen ten aanzien van de injectie plaats en met de bevindingen na HRP injecties in het ruggemerg werd aangenomen, dat deze neuronen retrograad vanuit gelaedeerde pyramidebaan vezels waren gelabeld.

V.3.C. HRP injecties in de colliculus superior en het mesencephaal tegmentum.

Injectie plaatsen colliculus superior: In de twee katten met HRP injecties in de colliculus superior bevonden zich, mediaal en lateraal, steekkanalen door alle lagen van deze structuur heen. Het injectie gebied met HRP reactie producten omvatte alle lagen van de colliculus superior en breidde zich naar ventraal uit in het dorsolaterale tegmentale veld (Fig.V.4.D.). Naar caudaal breidde het zich uit in het rostrale deel van de colliculus inferior.

Injectie plaatsen mesencephaal tegmentum: In de drie katten met bilaterale en in de ene kat met unilaterale HRP injecties in het mesencephaal tegmentum (Fig.V.5.) was het injectie gebied zeer groot. Rostrocaudaal door het hele mesencephalon heen waren twee rijen verticaal geörienteerde steekkanalen aanwezig, welke door de colliculus superior en het mesencephale tegmentale veld heen tot in de nucleus ruber (RN) reikten. Het gebied dat HRP reactie producten bevatte, omvatte in al deze mesencephale injectie plaatsen de colliculus superior, het mesencephale tegmentale veld, de RN, het ventrale tegmentale gebied (VTA) en de substantia nigra pars compacta (SNC: Fig.V.5.).



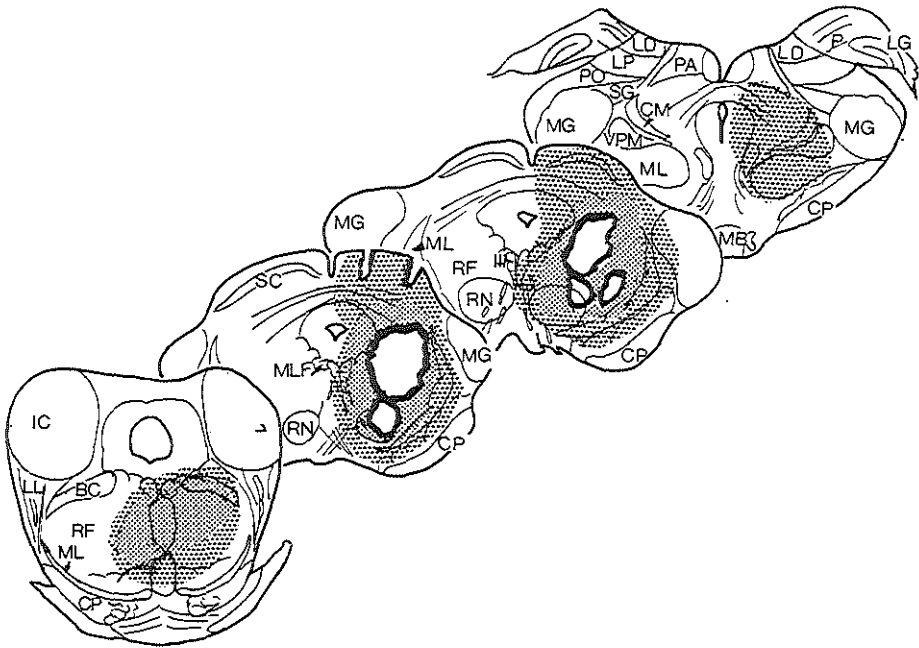
Figuur V.4.:

Diagrammatische representatie van de distributie van retrograad gelabelde neuronen in de cortex van de rechter frontaal-kwab in de kat, na injecties in de contralaterale BMRF (A) en de ipsilaterale colliculus superior (C). De sulcus cruciatus is opengevouwen. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ zijn met onderbroken lijnen aangegeven. B: Helderveld microfoto van de HRP injectie plaats in de BMRF links (x4,4). D: Helderveld microfoto van de HRP injectie plaats in de colliculus superior rechts (x3,2). Pijlen wijzen naar de injectie plaats in de colliculus superior.

Afkortingen:

VC, vestibulair complex; BC, brachium conjunctivum; spin V, spinale trigeminus complex; BMRF, bulbaire mediale reticulair formatie; SO, oliva superior; VII, nucleus facialis; PT, pyramidebaan; SC, colliculus superior; CGM, corpus geniculatum mediale; ML, lemniscus medialis; SCP, pedunculus cerebellaris superior; CP, pedunculus cerebri.

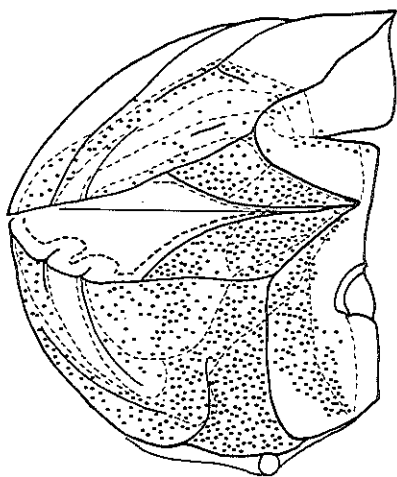
HRP MESENCEPHAAL TEGMENTUM



Figuur V.5.: Representatie van de HRP injectie plaats in het mesencephaal tegmentum van de kat. Het gebied, dat intens donkerbruine HRP reactie producten bevatte, is aangegeven met een raster met kleine punten. Het gebied met lichtbruin gekleurde HRP reactie producten is aangegeven met een raster met grotere punten.

Afkortingen: IC, colliculus inferior; LL, laterale lemniscus; BC, brachium conjunctivum; ML, mediale lemniscus; CP, pedunculus cerebri; SC, colliculus superior; MLF, fasciculus medialis longitudinalis; RN, nucleus ruber; MG, corpus geniculatum medialis; RF, reticulair formatie; MB, corpora mammillaria; VPM, nucleus ventralis posteromedialis; CM, nucleus centromedianus; PO, nucleus posterior; LP, nucleus lateralis posterior; LD, nucleus lateralis dorsalis; PA, area postrema; P, pulvinar; LG, corpus geniculatum laterale.

Distributie van retrograad vanuit de colliculus superior en het mesencephaal tegmentum gelabelde corticale neuronen: In de drie katten met bilateraal injecties in het mesencephaal tegmentum waren zeer veel retrograad gelabelde neuronen aanwezig in de beide frontale cortices. In de kat met de unilaterale injecties in het mesencephaal tegmentum en in de twee dieren waarin het injectie gebied beperkt was tot de colliculus superior aan één kant, bevonden de retrograad gelabelde neuronen zich voornamelijk in de ipsilaterale frontale cortex, terwijl slechts een zeer beperkt aantal contralateraal gelegen was, en wel in area 6a β . In alle dieren met HRP injecties in het mesencephaal tegmentum of in de colliculus superior waren retrograad gelabelde



HRP MESENCEPHAAL TEGMENTUM

Figuur V.6.: Diagrammatische representatie van de distributie van de retrograad gelabelde neuronen in de cortex van de rechter frontaalkwab in de kat na HRP injecties ipsilateraal in het mesencephalon. De sulcus cruciatus is opgevouwen. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ zijn aangegeven met onderbroken lijnen.

neuronen aanwezig in de orbitale cortex, de frontale granulaire cortex⁵, in area 6, in de laterale wand van de sulcus presylvius (area 8)¹⁰⁶ en in area 2pri (SII). In area 4 ipsilateraal aan de injecties in het mesencephaal tegmentum met inbegrip van de RN bevonden zich eveneens zeer veel retrograad gelabelde neuronen en wel voornamelijk in het laterale deel van area 4 in boven- en onderwanden van de sulcus cruciatus. Bovendien waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area's 3a, 3b, 1, 2 en 5 (Fig.V.6.). In tegenstelling hiermee waren in de frontale cortex ipsilateraal aan de colliculus superior injectie plaats, slechts zeer weinig retrograad gelabelde neuronen aanwezig in het laterale deel van area 4d en in dat deel van area 4 γ , dat grenst aan area 6a β . In alle zes katten met mesencephale injecties bevonden zich ook retrograad gelabelde neuronen meer caudaal en wel in area 7 en in visuele en auditore ge-

bieden (Fig.V.4.C,V .6.).

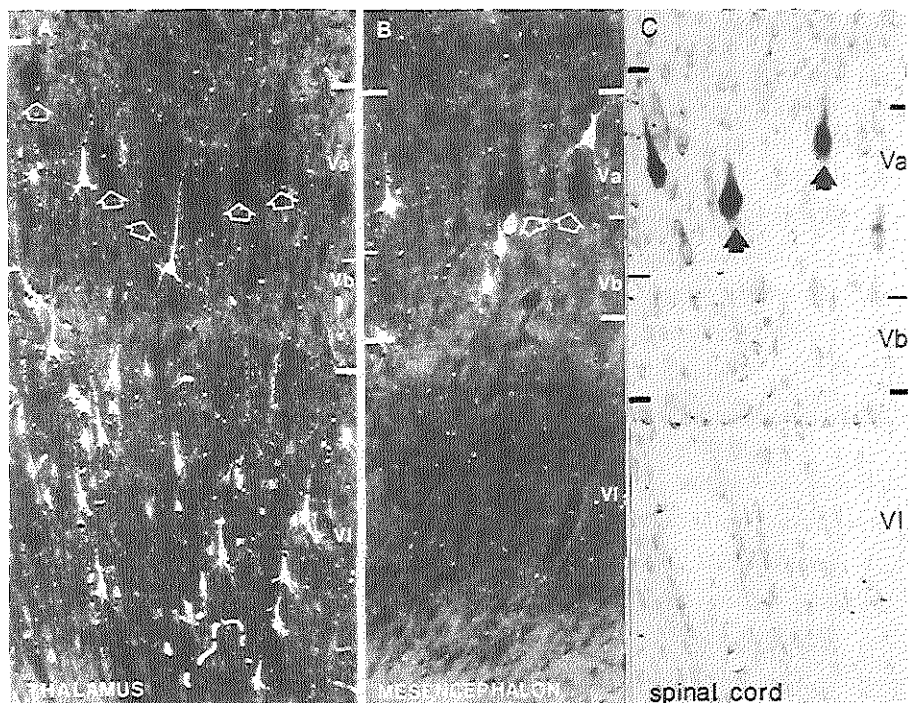
De retrograad vanuit het mesencephalon gelabelde neuronen waren middelgrote en grote pyramide cellen. In area's 4 γ , 4d, 6a α , 6a β , 3a en 2pri (SII) waren zij in lamina Va gesitueerd. In area's 3b, 1, 2 en 5 waren zij in lamina Vb gesitueerd. De retrograad vanuit het mesencephalon, c.q. colliculus superior gelabelde neuronen waren dus op hetzelfde niveau in lamina V gelegen als het merendeel van de neuronen, die naar het ruggemerg (Fig.V.7.), de DCN en de BMRF projecteren. In area 4 γ waren zij dus op het zelfde niveau in lamina V als de Betz cellen gelegen namelijk in lamina Va. In de frontale cortex ipsilateraal aan de injectie plaats in het mesencephale tegmentale veld inclusief de RN, waren in area 4 γ ook enkele Betz cellen retrograad gelabeld. In deze hemisfeer werden in area 4 γ ook enkele relatief kleine retrograad gelabelde pyramide cellen gezien, die dieper in lamina V waren gelegen, i.e. in lamina Vb. Verder viel het op dat in area's 6a α en 6a β ipsilateraal aan de HRP injecties in het mesencephalon, c.q. de colliculus superior, het grootste deel van de voor deze area's karakteristieke grote pyramide cellen in lamina Va retrograad met HRP was gelabeld, even als na HRP injecties in de BMRF.

V.3.D. HRP injecties in de laterale thalamus en in de nuclei centromediarus en parafascicularis thalami:

Injectie plaatsen laterale thalamus: In de twee katten met HRP injecties in de laterale thalamus was van rostraal naar caudaal een rij steekkanalen aanwezig. Noch de steekkanalen, noch het gebied met de HRP reactie producten breidden zich uit tot in de capsula interna. In één van beide injectie plaatsen besloeg het HRP injectie gebied de AV, AD, VA, VL, VPL, VPM en de rostrale delen van de LD en LP. Het injectie gebied in de andere kat was kleiner en breidde zich slechts uit in de AV, AD, het mediale deel van de VL, de CL en in het meest laterale deel van de MD.

Distributie van retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties in de laterale thalamus: In de frontale cortex ipsilateraal aan de grote thalamische injectie plaats waren vele retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area's 4, 3, 1, 2, 5, 6 en 2 pri (SII). Na de kleinere thalamische injectie waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 6, in area 4 in de onderwand van de sulcus cruciatus en in de aangrenzende gyri sigmoidei lateralis en anterior.

De retrograad gelabelde neuronen in deze gebieden waren voornamelijk in lamina VI gesitueerd, maar sommige ook in lamina V. In area's 4 γ , 4d, 6a α , 6a β en 3a was het merendeel van deze laatste neuronen in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb gesitueerd terwijl relatief weinig van hen



Figuur V.7.:

Donkerveld (A,B) en lichtveld (C) microfoto's (x104) van retrograad met HRP gelabelde neuronen in area 4 γ van de kat, na injecties in de ipsilaterale laterale thalamus inclusief de VL (A), het ipsilaterale mesencephaal tegmentum (B) en in de contralaterale witte en grijze stof van het spinale cervicale segment C1. De corticomesecephale neuronen (B) zijn voor een zeer groot deel op hetzelfde niveau in lamina V gesitueerd als de corticospinale neuronen (C), i.e. in lamina Va. Het merendeel van de retrograad gelabelde corticothalamische neuronen (A) is echter dieper in de cortex gesitueerd, i.e. in laminae Vb en VI.

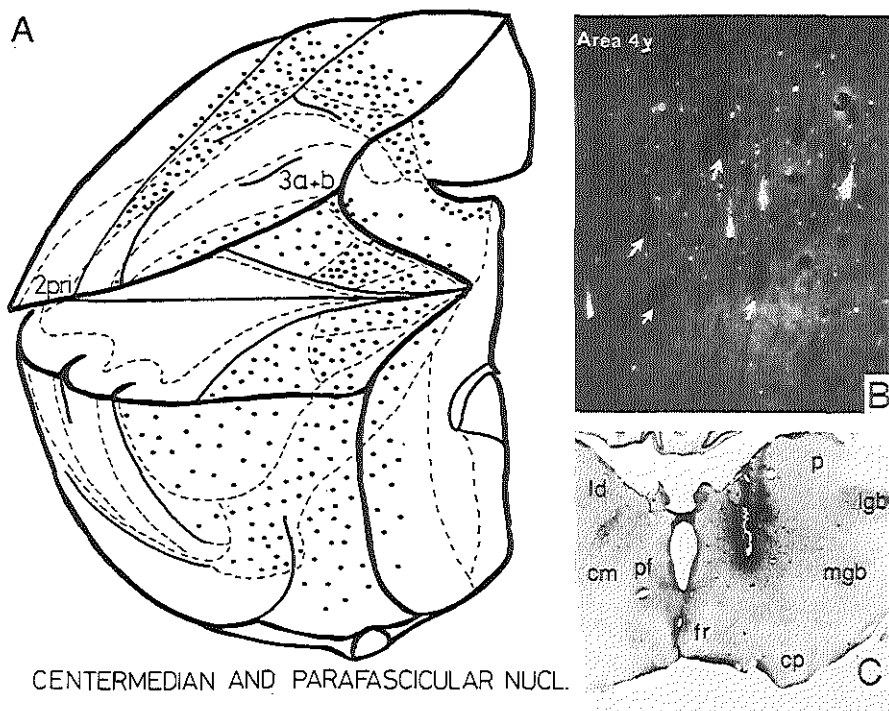
in lamina Va waren gelegen, i.e. in area 4 γ op het niveau van de Betz cellen (Fig.V.7.). In lamina V van area's 3b, 1, 2 en 5 waren deze retrograad uit de thalamus gelabelde neuronen eveneens in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vc geconcentreerd, terwijl relatief weinig van hen aanwezig waren in lamina Vb. In deze gebieden werden in het meest oppervlakkige deel van lamina V, i.e. in lamina Va geen retrograad gelabelde corticothalamische neuronen aangetroffen.

De retrograad gelabelde neuronen in lamina VI waren fusiform. In het oppervlakkige deel van lamina VI waren zij middelgroot tot groot, maar naar mate zij dicht bij de witte substantie waren gelegen, namen zij in grootte af (Fig.V.7.). De retrograad gelabelde neuronen in lamina V waren pyramidevormig en relatief klein. In beide gevallen waren in de frontale cortices contralateraal aan de thalamus injecties enkele retrograad gelabelde neuronen aanwezig, waarschijnlijk als gevolg van de kleine HRP injectie in het ipsilaterale mesencephale ventrale tegmentale veld. Hun aantal was echter zeer beperkt en zij waren in lamina V van area's 4 en 6 gedistribueerd, zoals eerder in dit hoofdstuk werd beschreven.

Injectie plaatsen CM/Pf: De beide injectie plaatsen van de HRP injecties in de CM/Pf, i.e. de steekkanalen en het hier omheen liggende reactie producten bevattende injectie gebied, omvatten de Pf, het mediale deel van de CM en de dorsaal van deze kern gelegen LD en LP (Fig.V.8.B.). Het injectie gebied van de controle injectie contralateraal aan één van beide CM/Pf injecties, beperkte zich tot de dorsaal van de CM en de Pf gelegen LD en LP.

Distributie van retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties in CM/Pf: In de frontale cortex ipsilateraal aan beide CM/Pf injectie gebieden waren veel retrograad gelabelde neuronen aanwezig in de frontale granulaire en agranulaire gebieden. In beide katten was contralateraal aan de CM/Pf injectie plaats een zeer beperkt aantal retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 6a β . De retrograad gelabelde neuronen in de ipsilaterale hemisfeer waren gelegen in de frontale granulaire cortex, in area 6, in de laterale wand van de sulcus presylvius (area 8⁵), in area 4 en zeer weinige ook in area 3a (Fig.V.8.A.). In area 4 was het merendeel van de retrograad vanuit de CM/Pf injectie plaats gelabelde neuronen gelegen in area's 4d en 4 i.f. Alle retrograad vanuit de CM/Pf gelabelde neuronen waren relatief klein en pyramidevormig. In area's 4 γ , 4d, 6a α , 6a β en 3a waren zij in lamina Va gelegen, i.e. in area 4 γ op het niveau van de Betz cellen.

In de ipsilateraal aan de CM/Pf injectie gebieden gelegen frontale cortex waren retrograad gelabelde neuronen eveneens aanwezig in area's 5 en 7. Deze neuronen waren voor het merendeel fusiform en waren gesitueerd in



CENTERMEDIAN AND PARAFASCICULAR NUCL.

Figuur V.8.:

A: Diagrammatische representatie van de distributie van de retrograad gelabelde neuronen in de rechter frontaalkwab van de kat na injecties in het ipsilaterale CM/Pf complex. De sulcus cruciatus is opengevouwen. De cytoarchitectonische gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶ zijn aangegeven met onderbroken lijnen.

B: Donkerveld microfoto (x56) van retrograad gelabelde neuronen in area 4 γ na HRP injecties in het CM/Pf complex. Witte pijlen wijzen naar niet gelabelde Betz cellen.

C: Lichtveld microfoto van de HRP injectie plaats in het CM/Pf complex (x4).

Afkortingen:

ld, nucleus lateralis dorsalis; cm, nucleus centromedianus; pf, nucleus parafascicularis; fr, fasciculus retroflexus; p, pulvinar; lgb, corpus geniculatum laterale; mgb, corpus geniculatum mediale; cp, pedunculus cerebri.

lamina VI. Enkele retrograad gelabelde neuronen in area's 5 en 7 waren pyramidevormig. Deze neuronen waren in laminae Vb en Vc gesitueerd. Ook in het controleexperiment, met HRP injecties in de LD en LP waren in de cortex ipsilateraal aan de injectie plaats retrograad gelabelde neuronen aanwezig in laminae V en VI van area's 5 en 7. Hieruit werd geconcludeerd, dat de met HRP gelabelde neuronen in area's 5 en 7 ipsilateraal aan de CM/Pf injectie retrograad waren gelabeld door opname van HRP in de langs het steekkanaal gelegen LD en LP.

De HRP positieve neuronen in de frontale granulaire cortex en in area's 4,6,8 en 3a, waarvan werd aangenomen dat zij waren gelabeld vanuit de CM/Pf, waren dus in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als de neuronen die naar cel groepen in het mesencephalon, de lagere hersenstam en het ruggemerg projecteren. Dit is in tegenstelling tot de laminaire distributie van het merendeel van de corticale neuronen die naar de laterale thalamus, met inbegrip van de VL projecteren. Deze neuronen zijn in lamina VI en in het diepe deel van lamina V gelegen, i.e. in area 4 in lamina Vb.

V.4. Discussie

Cellen van oorsprong van corticospinale vezels: De huidige bevinding dat het grootste gedeelte van de corticospinale neuronen in de kat in area's 4, 3, 1, 2 en 5 is gelegen, is in goede overeenstemming met bevindingen in anterograde degeneratie,^{50,245,246} retrograde HRP transport^{10,96} en fysiologische¹² onderzoeken. De bevinding dat neuronen, die naar het lumbale ruggemerg projecteren in de meer mediale delen van bovenstaande gebieden zijn gelegen, terwijl neuronen die naar het cervicale ruggemerg projecteren meer lateraal zijn gelegen, is in goede overeenstemming met andere anatomische bevindingen.^{10,50,78,96} De bevindingen in andere experimenten waarin gebruik werd gemaakt van retrograad transport van HRP^{10,96} wezen uit, dat ook een beperkt aantal neuronen in area 2pri (SII) en in de laterale wand van de sulcus presylvius naar het ruggemerg projecteert.

In de huidige experimenten bevonden de retrograad gelabelde corticospinale neuronen in de kat zich uitsluitend in dat deel van lamina V, dat relatief grote pyramide cellen bevat, i.e. in area's 4 γ , 4d, 3a, 6a α , 6a β in lamina Va en in area's 3b, 1, 2 en 5 in lamina Vb (Fig.V.9.). De bevinding dat voornamelijk middelgrote en grote pyramidecellen met inbegrip van de Betz cellen in area 4 γ naar het ruggemerg projecteren, is in goede overeenstemming met bevindingen in andere HRP experimenten in de kat.^{10,96}

KAT AREA 4 γ

	VL	Rugge- merg	BMRF	Mesencepale Tegmentum	CM	DCN
Va	△△△ ▲	▲▲▲▲▲ ▲▲▲▲▲	△△△ ▲▲▲	▲▲△△ ▲▲△△ ▲▲△△	▲▲△△ ▲▲△△	▲▲△△ ▲▲△△
Vb	▲▲ ▲▲▲			▲		
VI	◆◆◆ ◆◆◆ ◆◆◆					

Figuur V.9.: Schematische representatie van de laminaire distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen in laminae V en VI van area 4 γ na HRP injecties in de VL, het ruggemerg, de BMRF, het mesencephaal tegmentum inclusief de rode kern, de CM en de DCN.

- ▲▲ Retrograad gelabelde pyramidecellen
- ◆◆ Retrograad gelabelde fusiforme neuronen
- ▲ Retrograad gelabelde Betz cellen
- △ Niet gelabelde Betz cellen

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de DCN: De bevindingen in de katten met HRP injecties in de DCN wijzen er op, dat de corticale neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren voornamelijk in area's 3a, 3b en 4 zijn gelegen en dat zich relatief minder van deze neuronen in area's 2, 5 en 2pri (SII) bevinden. Dit is in goede overeenstemming met bevindingen in anterograde degeneratie,^{168,171,326} retrograde HRP transport³²⁴ en fysiologische^{35,90} experimenten.

In de katten met HRP injecties in de DCN was een deel van de retro-

graad gelabelde neuronen gelegen in de aan het ventrale uiteinde van de sulcus coronarius gelegen delen van area's 3a en 3b en in de sulcus orbitalis. Dit komt ongeveer overeen met het corticale gezichtsveld van Garol.⁸² Op basis van anterograde degeneratie bevindingen dat corticale projecties naar het spinale trigeminus complex voornamelijk afkomstig zijn uit dit corticale gezichtsveld^{168,171,230} wordt verondersteld, dat bovengenoemde neuronen retrograad werden gelabeld vanuit dat deel van het spinale trigeminus complex dat zich in het HRP injectie gebied bevond.

In overeenstemming met bevindingen in antidrome stimulatie^{35,90} en retrograde HRP transport³²⁴ experimenten bevonden de neuronen, die naar de DCN projecteren zich in lamina V. De bevindingen in de huidige experimenten in de kat tonen aan, dat het merendeel van de corticale neuronen die naar de DCN projecteren in hetzelfde deel van lamina V is gesitueerd als de corticospinale neuronen, i.e. in area's 4γ, 4d, 3a in lamina Va en in area's 3a, 1, 2 en 5 in lamina Vb (Fig.V.9.). Zij waren echter relatief kleiner dan de corticospinale neuronen. Op grond van deze waarneming zou men kunnen veronderstellen, dat de corticale vezels die in de kat naar de DCN en het ruggemerg projecteren, tenminste ten dele uit verschillende neuronen afkomstig zijn. Deze veronderstelling wordt gesteund door het feit, dat na DCN injecties geen enkele Betz cel in area 4γ retrograad werd gelabeld, terwijl na HRP injecties in het ruggemerg zeer veel Betz cellen retrograad waren gelabeld. Dit is in goede overeenstemming met de bevinding van Gordon en zijn medewerkers,^{35,90} dat corticale neuronen die naar de DCN projecteren niet antidroom kunnen worden gestimuleerd vanuit het ruggemerg. Volgens de antidrome stimulatie bevindingen van Endo et al.⁷³ zenden echter sommige corticospinale neuronen axon collateralen naar de DCN. Deze laatste bevinding werd echter niet histologisch gecontroleerd.

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de BMRF: In goede overeenstemming met eerdere anterograde degeneratie bevindingen¹⁷¹ waren de retrograad vanuit de BMRF gelabelde corticale neuronen in area 6 van beide hemisferen gelegen. De distributie van de corticale neuronen, die naar de BMRF projecteren overlapt ten dele die van de neuronen, die naar het mesencephaal tegmentum, c.q. de colliculus superior, projecteren. Het was zeer opvallend, dat zowel na HRP injecties in de BMRF als na injecties in het mesencephaal tegmentum inclusief de RN, c.q. in de colliculus superior, het merendeel van de grote pyramide cellen in lamina Va van area's 6α en 6β retrograad werd gelabeld. Dit wijst er op, dat deze neuronen zeer waarschijnlijk axon collateralen zenden naar de BMRF en naar het mesencephale tegmentale veld, c.q. de colliculus superior.

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar het mesencephaal

tegmentum en de colliculus superior: De distributie van de retrograad vanuit het mesencephale tegmentale veld gelabelde corticale neuronen stemt goed overeen met bevindingen in eerdere anterograde degeneratie experimenten.^{213,230,242,252,279} De retrograad vanuit de colliculus superior gelabelde neuronen bevonden zich echter in een groter gebied in de frontale cortex dan in eerdere anatomische experimenten was aangetoond.^{81,168} Deze frontocolliculaire neuronen waren gelegen in de wanden van de sulcus presylvius (area 8⁵), in de frontale granulaire cortex en in area 6. Zij zijn dus ook gelegen buiten het gebied, waaruit door elektrische prikkeling oogbewegingen kunnen worden opgewekt²⁹¹ (frontale oogveld⁵).

In overeenstemming met eerdere anterograde degeneratie bevindingen^{213,279} bleek, dat het merendeel van de neuronen die naar het mesencephale tegmentale veld inclusief de RN projecteren voornamelijk in area 4 is gelegen. Relatief weinig van dergelijke corticomesecephale neuronen bevindt zich in area's 3, 1, 2 en 5. Na injecties in het mesencephale tegmentale veld, inclusief de RN waren ook relatief weinig neuronen in het mediale deel van area 4 γ op de gyrus sigmoideus anterior gelabeld. Dit is in overeenstemming met bevindingen in anterograde degeneratie experimenten,^{213,279} dat het merendeel van de corticale vezels naar de RN afkomstig is uit de gyri sigmoidei posterior en lateralis en uit het laterale deel van de gyrus sigmoideus anterior. Dit is eveneens in goede overeenstemming met de bevindingen van Padel en medewerkers,²⁵¹ dat neuronen in de RN die naar het ruggemerg projecteren niet vanuit area 6 en het daaraan grenzende mediale deel van area 4 γ kunnen worden geëxciteerd.

In de kat waren de corticomesecephale neuronen in dat deel van lamina V geconcentreerd, dat relatief grote pyramide cellen bevat. In area 4 γ waren zij dus in lamina Va, op het niveau van de Betz cellen gesitueerd (Fig.V.9.), terwijl ook enkele Betz cellen zelf naar het mesencephale tegmentale veld projecteren. In area 4 γ waren echter enkele neuronen die naar het mesencephale tegmentale veld projecteren, ook in het diepe deel van lamina V gelegen, i.e. in lamina Vb (Fig.V.9.).

De huidige HRP bevindingen tonen dus aan, dat het merendeel van de cellen van oorsprong van corticale vezels naar het mesencephale tegmentale veld in hetzelfde deel van lamina V is gesitueerd als de corticospinale neuronen. Dit is in goede overeenstemming met de fysiologische bevindingen van Tsukuhara en medewerkers³¹³ en Endo en medewerkers⁷³, die suggereren dat sommige corticorubrale vezels collateralen zijn van pyramidebaan, c.q. corticospinale vezels. Om het bestaan van collateralen van corticospinale vezels naar het mesencephalon anatomisch te onderzoeken werden in de kat en de rat fluorescente

merkstoffen in het mesencephaal tegmentum en in het ruggemerg geïnjiceerd. Deze experimenten zullen in hoofdstuk VII worden beschreven.

Cellen van oorsprong van corticothalamische vezels naar CM/Pf en laterale thalamus: De distributie van de retrograad vanuit de CM/Pf gelabelde neuronen in de frontale granulaire cortex, de laterale wand van de sulcus presylvius en area's 4 en 6 is in goede overeenstemming met de anterograde degeneratie bevindingen van Rinvik.^{275,276,278} In goede overeenstemming met andere HRP bevindingen²²⁰ zijn de neuronen in area's 4 en 6 in het oppervlakkige deel van lamina V (Va) gelegen, i.e. in hetzelfde deel van lamina V als de neuronen, die naar het ruggemerg, de DCN, de BMRF en het mesencephalon projecteren (in area 4γ op het niveau van de Betz cellen)

Volgens de huidige experimenten zijn corticale neuronen die naar de laterale thalamische kernen inclusief de VL projecteren, voornamelijk in lamina VI en in het onderste deel van lamina V gesitueerd (in area 4γ onder het niveau van de Betz cellen, Fig.V.9.). Deze bevindingen zijn in goede overeenstemming met die van Romagnano en Maciewicz.²⁸² Na HRP injecties in de laterale thalamus inclusief de VL werd echter ook een klein aantal corticale neuronen in het oppervlakkige deel van lamina V gelabeld. In area 4γ zijn deze neuronen in lamina Va gesitueerd, i.e. in hetzelfde deel van lamina V als de neuronen die naar het ruggemerg, de DCN, de BMRF, de CM en het mesencephale tegmentale veld projecteren. Gezien de bevindingen na de HRP injectie in het CM/Pf complex is het zeer wel mogelijk, dat deze laatstgenoemde neuronen retrograad werden gelabeld vanuit de in het HRP injectie gebied gelegen CL.²⁸⁷

De bevinding, dat het merendeel van de corticale neuronen die naar de laterale thalamus inclusief de VL projecteren een andere positie in de infragranulaire laminae V en VI inneemt dan de corticospinale neuronen is in goede overeenstemming met de fysiologische bevindingen van Blum en medewerkers³³ en van Steriade en Yossif.³⁰⁵ Volgens deze onderzoekers kunnen cellen van oorsprong van pyramidebaan vezels niet antidroom vanuit de VL of het VB complex worden geactiveerd. Andere fysiologische bevindingen, die echter niet histologisch werden gecontroleerd, suggereren dat sommige corticospinale neuronen wel axon collateralen naar de VL zenden.^{51,73} Om een mogelijke discrepantie tussen bevindingen in HRP en fysiologische experimenten te verklaren, werd het bestaan van corticospinale axon collateralen naar de laterale thalamische kernen inclusief de VL, in de kat en in de rat onderzocht met behulp van de fluorescente neuronale retrograde dubbel labeling techniek. Deze experimenten zullen eveneens in hoofdstuk VII worden beschreven.

Hoofdstuk VI:

CELLEN VAN OORSPRONG VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT DE
MOTORISCHE CORTEX IN DE AAP. - EEN HRP ONDERZOEK

VI.1. Samenvatting

VI.2. Materiaal en methoden

VI.2.A. HRP injecties in het ruggemerg

VI.2.B. HRP injecties in de medulla oblongata,
i.e. in de nuclei cuneatus en gracilis
en de bulbaire mediale reticulair
formatieVI.2.C. Procedure van HRP injecties in mesen-
cephale en diencephale structurenVI.2.D. HRP injecties in het mesencephalon, i.e.
in de colliculus superior, de nucleus
ruber pars parvocellularis, de nucleus
ruber pars magnocellularis en de mesen-
cephale mediale reticulair formatieVI.2.E. HRP injecties in het diencephalon, i.e.
in de nucleus ventralis lateralis, de
nucleus centromedianus en de nucleus
parafascicularis thalami

VI.2.F. Histologische procedure

VI.3. Resultaten

VI.3.A. HRP injecties in het cervicale ruggemerg

VI.3.B. HRP injecties in de nuclei cuneatus en
gracilis en de bulbaire mediale reticu-
laire formatieVI.3.C. HRP injecties in de nucleus ruber pars
parvocellularis, de nucleus ruber pars
magnocellularis, de colliculus superior
en de mesencephale mediale reticulair
formatieVI.3.D. HRP injecties in de nucleus ventralis
lateralis, de nucleus centromedianus en
de nucleus parafascicularis thalami

VI.4. Discussie

VI.1. Samenvatting

In dit hoofdstuk wordt een aantal experimenten beschreven, waarin de cellen van oorsprong van descenderende vezels uit motorische corticale velden van de aap (*Macaca Rhesus* en *Macaca Cynomolgus*) met behulp van het retrograde transport van HRP werden geïdentificeerd.

Areale distributie: De cellen van oorsprong van corticospinale vezels zijn in het caudale deel van area 6 en in area's 4, 3, 1, 2 en 5 gelegen. Die, welke naar de nucleus cuneatus en gracilis (DCN) projecteren hebben ongeveer een zelfde distributie gebied. Zij bevinden zich in het caudale deel van area 4 en in area's 4, 3, 1, 2, 5, 7 en SII. De corticale neuronen die naar de bulbaire mediale reticulaire formatie (BMRF) projecteren zijn meer rostraal op de hemisfeer gelegen, in area's 8 en 6 en in het rostrale deel van area 4. De corticale neuronen die naar de nucleus ruber pars magnocellularis (MRN) projecteren zijn uitsluitend in het caudale deel van area 4 gelegen, terwijl de neuronen die naar de nucleus ruber pars parvocellularis (PRN) projecteren, zowel in area 4 als in area 6 zijn gedistribueerd. De cellen van oorsprong van de corticale vezels naar de colliculus superior zijn nog meer rostraal, namelijk in area's 9, 8 en 6 gesitueerd. De neuronen die naar de nuclei centro-medianus (CM) en ventralis lateralis (VL) thalami projecteren liggen voornamelijk in area 4. De neuronen die naar de nucleus parafascicularis thalami (Pf) projecteren bevinden zich weer meer rostraal op de hemisfeer, in area's 9, 8 en 6.

Laminaire distributie: De corticale neuronen die naar het ruggemerg, de bulbaire mediale reticulaire formatie (BMRF), de nucleus ruber pars magnocellularis (MRN) en de colliculus superior projecteren zijn alle in het diepe deel van lamina V(Vb) gesitueerd, i.e. in area 4 op het niveau van de Betz cellen. Een groot aantal van de Betz cellen zelf projecteert naar het ruggemerg. Een zeer beperkt aantal van hen distribueert vezels naar de nucleus ruber pars magnocellularis (MRN). De corticale neuronen die naar de nucleus ruber pars parvocellularis (PRN), de nuclei cuneatus en gracilis (DCN) en de nuclei centromedianus (CM) en parafascicularis (Pf) thalami projecteren zijn alle in het oppervlakkige deel van lamina V(Va) gelegen, i.e. in area 4 boven het niveau van de Betz cellen. De corticale neuronen die naar de nucleus ventralis lateralis thalami (VL) projecteren zijn dieper in de cortex gesitueerd dan bovengenoemde neuronen. Zij liggen in lamina VI en in het diepe deel van lamina V(Vb). In area 4 zijn zij voor het merendeel onder het niveau van de Betz cellen gelegen.

VI.2. Materiaal en Methoden

VI.2.A. HRP injecties in het ruggemerg

In twee apen werd 30% HRP (Boehringer grade I) unilateraal in de grijze en witte stof van het spinale segment C2 geïnjecteerd. HRP wordt niet alleen door terminalia maar ook door gelaedeerde axonen opgenomen. De injecties werden daarom zō gemaakt, dat zo veel mogelijk descenderende vezels werden gelaedeerd. Om dit te bereiken werden drie transversale rijen, zeer dicht op elkaar staande steekkanalen gemaakt. In ieder steekkanaal werd om de 0.25 mm een kleine hoeveelheid HRP geïnjecteerd, tot een totaal van ongeveer 70 μ l in iedere aap.

VI.2.B. HRP injecties in de medulla oblongata, i.e. in de nuclei cuneatus en gracilis en de bulbaire mediale reticulaire formatie.

In zes apen werd 30% HRP unilateraal geïnjecteerd in structuren in de lagere hersenstam. Ten einde deze injecties zo nauwkeurig mogelijk te kunnen plaatsen werd in alle dieren een occipitale craniotomie verricht. Door vervolgens voorzichtig het cerebellum op te lichten werd het dorsale oppervlak van de hersenstam zichtbaar gemaakt.

In drie van de apen werd in totaal 12 μ l 30% HRP geïnjecteerd in de nuclei cuneatus en gracilis. In twee van deze dieren werd HRP in deze beide nuclei geïnjecteerd door middel van min of meer parallel aan het dorsale oppervlak van de medulla oblongata geplaatste steekkanalen. In de derde aap werd op vijf verschillende rostrocaudale niveaus HRP in de nuclei cuneatus en gracilis geïnjecteerd door middel van loodrecht op het dorsale oppervlak van de medulla oblongata staande steekkanalen.

In elk van de drie andere apen werd in totaal 0.8 μ l 30% HRP geïnjecteerd in de BMRF. De injecties in de BMRF werden vanaf dorsaal, op vier rostrocaudale niveaus tussen de kern van de motorische trigeminus en de obex gemaakt.

VI.2.C. Procedure van HRP injecties in mesencephale en diencephale structuren.

De stereotactische coördinaten van anatomische structuren in het diencephalon en het mesencephalon kunnen van aap tot aap sterk verschillen. Om de positie van te injecteren structuren in het mesencephalon en het diencephalon zo nauwkeurig mogelijk vast te stellen werden hun coördinaten, zoals die zijn beschreven door Olszewski,²⁵⁰ gecorrigeerd op basis van de in ieder dier door ons gemeten stereotactische coördinaten van de commissura posterior. Dit gebeurde op de volgende manier: In alle apen, waarin injecties zouden worden gemaakt in structuren in het mesencephalon of het diencephalon werd

de commissura posterior zichtbaar gemaakt door het caudale deel van het corpus callosum door te snijden. Vervolgens werden de stereotactische coördinaten van de commissura posterior bepaald. In de dieren, waarin HRP geïnjecteerd zou worden in structuren in het mesencephalon werden bovendien de stereotactische coördinaten van de nucleus oculomotorius bepaald door de verschillende subnuclei van deze kern electrisch te prikkelen. De punt van de stalen electrode werd geacht zich in een subnucleus van de nucleus oculomotorius te bevinden wanneer een prikkel van 10 micro amp. of minder de voor deze subnucleus juiste oogbeweging veroorzaakte.³²² Vervolgens werden voor elk dier de atlas coördinaten van de te injecteren mesencephale of diencephale structuren op basis van de gemeten coördinaten van de commissura posterior en de nucleus oculomotorius gecorrigeerd.

Uit economische overwegingen werden in sommige apen HRP injecties gemaakt in structuren aan beide zijden van de middellijn. In al deze dieren werd het caudale deel van het corpus callosum gekliefd, voordat HRP werd geïnjecteerd. Dit had als voordeel, dat neuronen in de precentrale cortex niet retrograad door sporen HRP in een in de contralaterale hemisfeer verlopend steekkanaal konden worden gelabeld.

Om retrograde labeling van precentrale corticale neuronen door spoortjes HRP in het ipsilaterale steekkanaal te voorkomen, werden alle mesencephale injecties van caudaal af onder een hoek van 45° met het horizontale vlak gemaakt, zodat de injectie naald niet door de precentrale, maar door de postcentrale gyrus heen ging. Om de zelfde reden werden alle thalamische injecties van caudaal af onder een hoek van 60° met het horizontale vlak gemaakt. Wanneer HRP werd geïnjecteerd in de VL, werd de naald bovendien nog onder een hoek van 30° met het sagittale vlak in de hersenen geïntroduceerd.

In alle apen met HRP injecties in mesencephale of diencephale structuren werd 30% HRP (Miles Lab S.A.) gebruikt, opgelost in 5% of 10% polyvinyl pyrrolidone (PVP). Zoals in hoofdstuk IV.2.A. reeds werd vermeld, beperkt PVP de spreiding van HRP in het weefsel rondom de injectie plaats en het teruglekken van HRP langs het steekkanaal.¹³⁶

VI.2.D. HRP injecties in het mesencephalon, i.e. in de colliculus superior, de nucleus ruber pars parvocellularis, de nucleus ruber pars magnocellularis en de mesencephale mediale reticulaire formatie.

In één aap werd HRP unilateraal in de colliculus superior geïnjecteerd, terwijl in zeven andere apen HRP injecties werden geplaatst in de verschillende delen van de nucleus ruber (RN), i.e. nucleus ruber pars magno-

cellularis (MRN) en nucleus ruber pars parvocellularis (PRN) en in de aangrenzende mesencephale mediale reticulaire formatie (MMRF).

Uit economische overwegingen werd in vijf van de zeven dieren HRP in mesencephale structuren aan beide zijden van de middellijn geïnjecteerd. Er werd aangenomen, dat corticale neuronon uitsluitend retrograad werden gelabeld vanuit de injectie plaats in de ipsilaterale RN. Deze veronderstelling is gebaseerd op anatomische bevindingen,^{105,185} dat het *grootste deel* van de corticorubrale vezels naar de PRN ipsilateraal eindigt en dat *alle* corticorubrale vezels naar de MRN ipsilateraal projecteren.

In de onderstaande opsomming van experimenten wordt iedere aap met injecties in het mesencephalon aangeduid als casus M en daarna een volgnummer. Wanneer HRP bilateraal in het mesencephalon werd geïnjecteerd zal de injectie plaats aan de linker zijde en de bijbehorende ipsilaterale hemisfeer aangeduid worden met A, terwijl de injectie plaats aan de rechter zijde en de bijbehorende ipsilaterale hemisfeer zal worden aangeduid met B (Zie ook Tabel 1).

In casus M1A werd 1.4 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de PRN en de MRN. In casus M1B werd 0.4 μ l 30% HRP in 5% PVP uitsluitend in de PRN geïnjecteerd. In casus M2A werd 0.8 μ l 30% HRP in 5% PVP in de PRN en de MRN geïnjecteerd, terwijl in casus M2B een controle injectie van 0.2 μ l werd geplaatst in de MMRF, lateraal van de RN. In casus M3A werd 0.4 μ l 30% HRP in 5% PVP in de MRN en de PRN geïnjecteerd. In casus M3B werd 0.4 μ l 30% HRP in 5% PVP alleen in de PRN geïnjecteerd. In casus M4 werd een unilaterale injectie van 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP in de MRN gemaakt. In casus M5A werd eveneens 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP uitsluitend in de MRN geïnjecteerd. In casus M5B waren op de plaats van injectie contralateraal in het mesencephalon geen HRP reactie producten aanwezig en deze hersenhelft wordt daarom niet verder genoemd. In casus M6 werd een unilaterale injectie van 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP mediaal van de nucleus ruber geplaatst. Een zelfde injectie van 0.5 μ l 30% HRP in 5% PVP werd in casus M7A gemaakt. In casus M7B waren op de plaats van injectie contralateraal in het mesencephalon geen HRP reactie producten zichtbaar en daarom wordt ook deze hersenhelft niet verder genoemd. In casus M8 werd 1.2 μ l 30% HRP in 5% PVP unilateraal in de colliculus superior geïnjecteerd.

VI.2.E. HRP injecties in het diencephalon, i.e. in de nucleus ventralis lateralis de nucleus centromedianus en de nucleus parafascicularis thalami

In zes apen werd HRP in de VL of in verschillende delen van het CM/Pf complex geïnjecteerd. Corticale neuronon die naar de VL of het CM/Pf complex projecteren, kunnen slechts selectief worden gelabeld, wanneer het HRP

injectie gebied in één van deze nucleï de corticale vezels naar de andere structuur niet beschadigt. Rinvik²⁷⁸ toonde aan, dat corticale vezels de VL en de CM via verschillende wegen bereiken. De corticale vezels naar de VL verlaten de capsula interna op een vrij rostraal niveau. Zij gaan door de nucleus reticularis en de VA heen en verlopen in de thalamus in een caudale en mediale richting. De corticothalamische vezels naar de CM/Pf bereiken deze kernen via de "cerebral peduncle loop". De hierin verlopende corticothalamische vezels dalen via de capsula interna in de pedunculus cerebri af en verlaten deze structuur bij de diencephalo-mesencephale overgang. Zij buigen vervolgens om naar dorsaal en eindigen in het CM/Pf complex. Wanneer de VL vanaf dorsaal met HRP wordt geïnjecteerd kan dus geen HRP transport optreden vanuit beschadigde corticale vezels bestemd voor de CM en vice versa.

Uit economische overwegingen werden in vijf van de zes apen bilateraal HRP injecties in de thalami gemaakt. Er werd aangenomen, dat corticale neuronen uitsluitend retrograad vanuit de ipsilaterale thalamus werden gelabeld. Deze veronderstelling is gebaseerd op anatomische bevindingen,^{64,162,165,185,258} dat corticothalamische vezels uitsluitend naar de ipsilaterale VL en CM projecteren.

In onderstaande opsomming van experimenten wordt iedere aap met HRP injecties in de thalamus aangeduid als casus T en dan een volgnummer. Wanneer in een aap HRP bilateraal in de thalami werd geïnjecteerd zal de linker hersenhelft, bestaande uit een injectie plaats en de ipsilaterale hemisfeer, worden aangegeven met A en de rechter hersenhelft met B.

In casus T1A werd 0.2 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de VL. In casus T1B werd eveneens 0.2 μ l 30% HRP in 5% PVP in het pulvinar lateraal van de CM geïnjecteerd. In casus T2A werd 0.3 μ l 30% HRP in 10% PVP geïnjecteerd in de CM, terwijl in casus T2B 0.3 μ l 30% HRP in 10% PVP in het VB complex werd geïnjecteerd. In casus T3A werd 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de CM. In casus T3B werd een even grote hoeveelheid HRP geïnjecteerd in de VL. In casus T4 werd 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de CM. In casus T5A werd 0.3 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de Pf juist mediaal van de CM en in casus T5B werd een even grote hoeveelheid geïnjecteerd in de VL. In casus T6A en casus T6B werd 0.2 μ l 30% HRP in 5% PVP geïnjecteerd in de Pf. Casus T3B en casus T5B werden niet bestudeerd, omdat sporen HRP aanwezig waren over de hele lengte van het steekkanaal.

VI.2.F. Histologische procedure

Alle dieren werden drie tot vier dagen na de HRP injecties, onder diepe narcose, transcardiaal geperfundeed met een oplossing van 6% dextraan in fysiologisch zout gevolgd door een met cacodylaat gebufferd mengsel

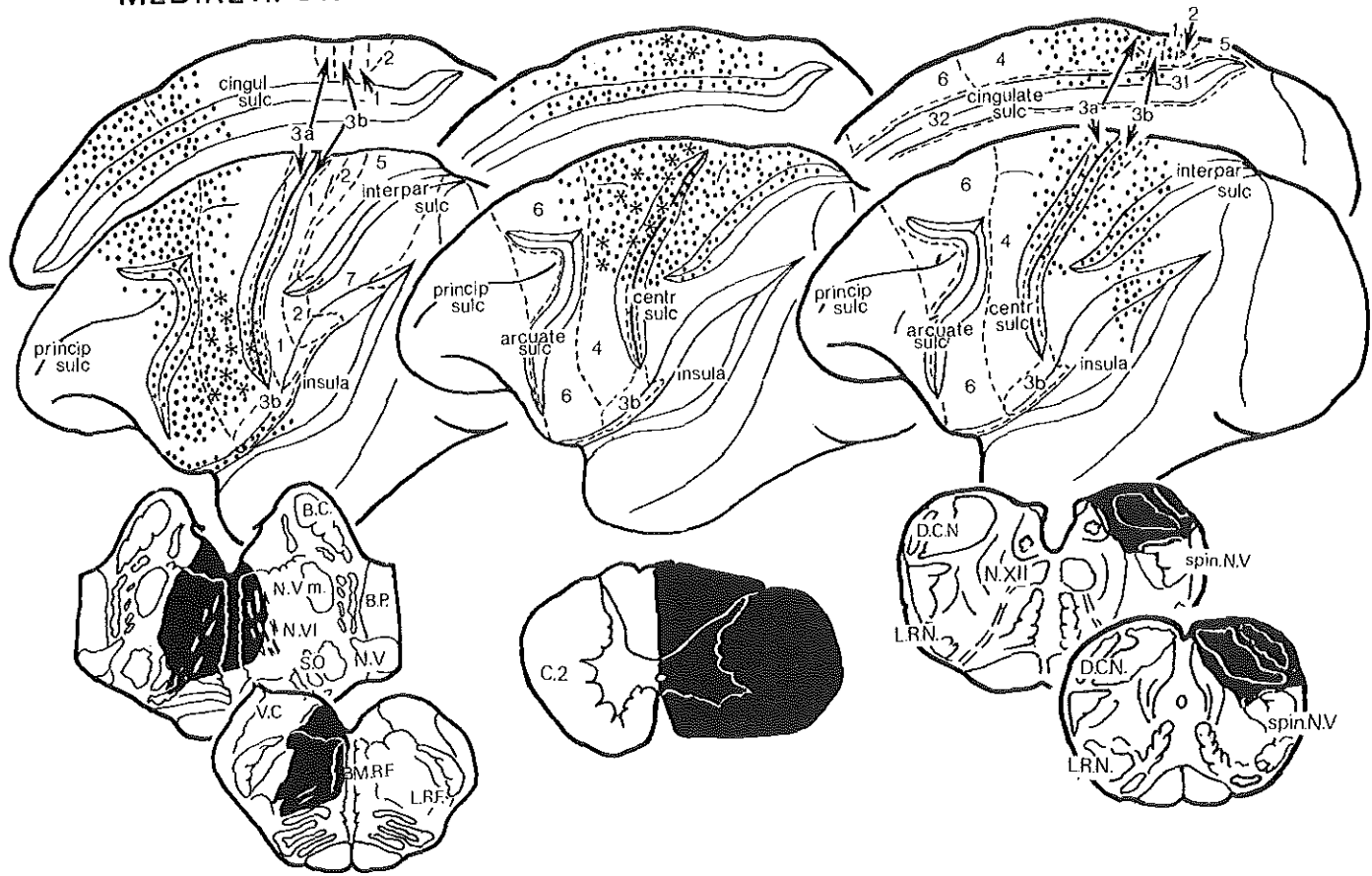
Figuur VI.1.: Diagrammatische representatie van de distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen op het laterale en mediale (spiegelbeeldig) oppervlak van de linker hemisfeer in de aap na HRP injecties ipsilateraal in de bulbair mediale reticulair formatie (links) en contralateraal in het ruggemerg op het niveau van C2(midden) en in de nucleï cuneatus en gracilis (rechts).
Retrograad met HRP gelabelde Betz cellen zijn met sterren aangegeven. De sulci arcuatus, centralis, cinguli en intraparietalis zijn opgevouwen. De grenzen van de cytoarchitectonische gebieden volgens Brodmann⁴² zijn met onderbroken lijnen aangegeven.

Afkortingen: BC, brachium conjunctivum; BP, brachium pontis; DCN, nucleï cuneatus en gracilis; LRF, laterale reticulair formatie; MRF, mediale reticulair formatie; nV, nervus trigeminus; nVm, motorische kern van de trigeminus; nVI, nervus abducens; n XII, nervus hypoglossus; SO, oliva superior; spin.nV, spinale trigeminus complex; VC, vestibulair complex; princip. sulc., sulcus principalis; cing.sulc., sulcus cinguli; interpariet.sulc., sulcus interparietalis; centr.sulc., sulcus centralis.

MED. RET. FORM.

SPIN. SEGMENT C2

CUN. AND GRAC.



(pH 7.2) van 2.5% glutaraldehyde en 0.5% paraformaldehyde. De hersenen en het ruggemerg werden vervolgens gedurende een tot drie dagen in een met cacodylaat gebufferde suikeroplossing van 30% (pH 7.2) geïmpregneerd. Vervolgens werden de hemisferen, de hersenstam en de bovenste cervicale segmenten op een vriesmicrotoom in transversale coupes van 40 µm dik gesneden. Iedere derde coupe werd geïncubeerd in het medium van Graham en Karnovsky.⁹¹ In casus M5, casus M6 en casus M7 werden de coupes gedurende vijf minuten voorbehandeld met 0.5% cobalt chloride, voordat zij werden geïncubeerd. Na de incubatie werden alle coupes opgeplakt met chroomaluin, ontwaterd en tegengekleurd met 0.3% thionine of 0.3% cresyl violet. Het materiaal werd in de lichtmicroscop bestudeerd onder lichtveld en donkerveld belichting. De distributie van de retrograad met HRP gelabelde corticale neuronen werd in kaart gebracht met behulp van een X-Y plotter.

VI.3. Resultaten

VI.3.A. HRP injecties in het cervicale ruggemerg

Injectie plaatsen C2: In de twee apen met HRP injecties in het cervicale ruggemerg ter hoogte van C2 waren slechts aan één zijde in het ruggemerg steekkanalen aanwezig. Het bruine reactie product van HRP was aan deze zijde zowel in de witte als in de grijze stof van het ruggemerg aanwezig. Het was eveneens aanwezig in de grijze stof contralateraal aan de injectie plaats. De neuronen waren hier overwegend diffuus bruin gekleurd.

Distributie van retrograad gelabelde corticospinale neuronen: Een groot aantal retrograad gelabelde neuronen was aanwezig in de cortex van de hemisfeer contralateraal van de cervicale injectie plaats. Zij bevonden zich in de bovenste twee-derde delen van de pre- en postcentrale gyri en op het aangrenzende mediale oppervlak van de hemisfeer, tot in de bovenwand van de sulcus cinguli (Fig.VI.1.).

In de precentrale gyrus waren veel retrograad gelabelde pyramide cellen aanwezig in area 4 en in het caudale deel van area 6. Enkele retrograad gelabelde neuronen waren ook aanwezig in de supplementaire motorische cortex op het mediale oppervlak van de hemisfeer. Postcentraal was een groot aantal retrograad gelabelde pyramide cellen aanwezig in area's 3a, 3b, 1, 2 en 5 (Fig.VI.1.). Ook in de pericentrale cortex van de ipsilateraal aan de cervicale injectie gelegen hemisfeer was een aantal pyramide cellen retrograad gelabeld. De distributie van deze neuronen werd echter niet bestudeerd.

Alle retrograad gelabelde corticospinale neuronen waren gelegen in lamina V en wel uitsluitend in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb. In alle gebieden varieerden zij in grootte van middelgroot tot groot (Fig.VI.2.D.). In area 4 was ook een groot aantal Betz cellen retrograad met HRP gelabeld (Fig.VI.2.D.).

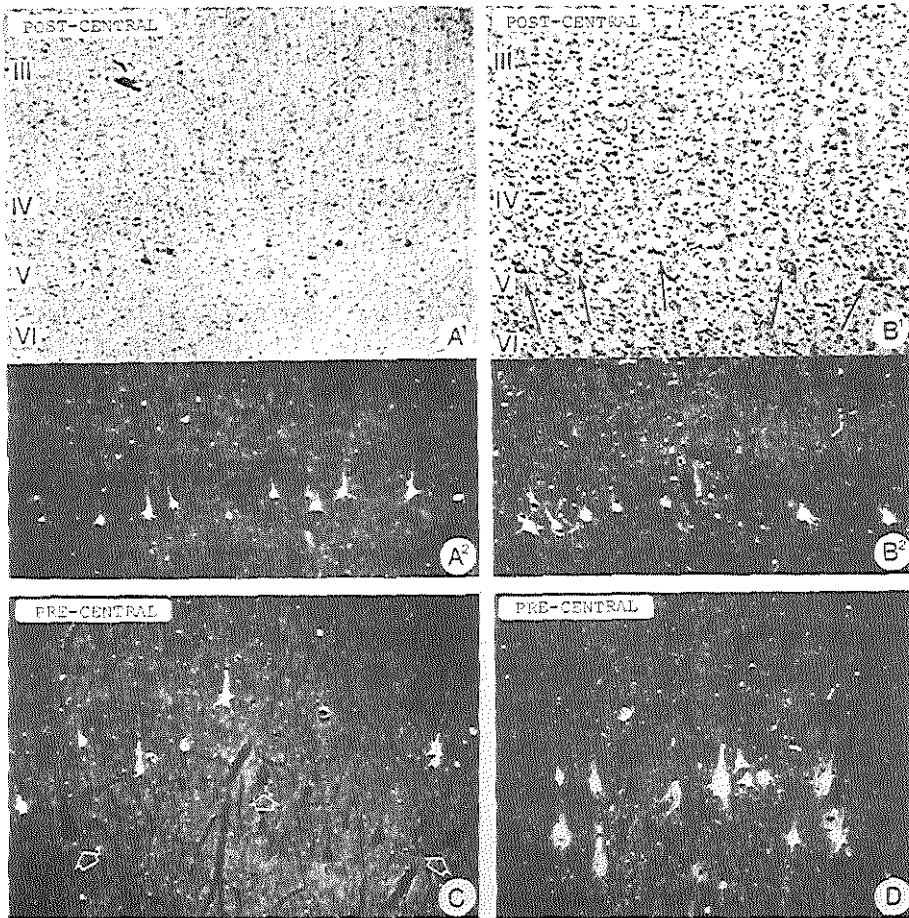
Conclusie: Corticospinale neuronen zijn gelegen in het caudale deel van area 6 en in area's 4, 3, 1, 2 en 5. In al deze gebieden zijn zij in het diepe deel van lamina V (Vb) gesitueerd, i.e. in area 4 op het niveau van de Betz cellen, waarvan vele eveneens naar het ruggemerg projecteren.

VI.3.B. HRP injecties in de nuclei cuneatus en gracilis en in de bulbair mediale reticulaire formatie

Injectie plaatsen DCN: Na HRP injecties in de DCN waren zowel de nucleus cuneatus als de nucleus gracilis gevuld met HRP reactie producten. In alle drie apen breidde dit injectie gebied zich ipsilateraal uit in het dorsale deel van het spinale trigeminus complex en contralateraal in de nucleus gracilis (Fig.VI.1.D.)

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronnen na DCN injecties: Het merendeel van de retrograad gelabelde corticale neuronnen bevond zich in de contralaterale hemisfeer. Zij waren gelegen in de bovenste twee-derde delen van de pre- en postcentrale gyri, op het aangrenzende mediale oppervlak van de hemisfeer en in de bovenwand van de sulcus cinguli. In area 4 waren retrograad gelabelde neuronnen uitsluitend in het caudale deel aanwezig (Fig.VI.1.). Postcentraal waren zij gelegen in area's 3a, 3b, 2, in het rostrale deel van area 5 en in de beide wanden van het aangrenzende deel van de sulcus intraparietalis (Fig.VI.1.). Een relatief gering aantal retrograad gelabelde neuronnen was aanwezig in area 1 en in het rostrale deel van area 7. Retrograad gelabelde pyramide cellen waren eveneens in het parietale operculum gelegen, i.e. in de onmiddellijke omgeving van SII²⁸⁰ in het caudale deel van de insula (Fig.VI.1.).

Alle retrograad vanuit de DCN gelabelde neuronnen waren pyramidevormig. In vergelijking met de corticospinale neuronnen waren zij relatief klein en slank van vorm. Zowel pre- als postcentraal waren zij gesitueerd in lamina V en wel voornamelijk in het oppervlakkige deel, i.e. in lamina Va. Dit laatste kwam vooral tot uiting in area 4, waar de retrograad vanuit de DCN gelabelde neuronnen in lamina Va in een rij boven de niet gelabelde Betz cellen in lamina Vb waren gesitueerd. In area 4 was de laminaire distributie van de retrograad uit de DCN gelabelde neuronnen dus duidelijk verschillend van de retrograad gelabelde corticospinale neuronnen, die in lamina Vb - op het



Figuur VI.2.: Lichtveld (A^1 , B^1) en donkerveld (A^2 , B^2 , C, D) microfoto's (x56) van retrograad gelabelde corticale neuronen in de rhesusaap; postcentraal in area 2 (A^1 en A^2) en precentraal in area 4 (C) na HRP injecties in de contralaterale nucleï cuneatus en gracilis. In area 2 (B^1 en B^2) en area 4 (D) na HRP injecties contralateraal in de witte en grijze stof van het ruggemerg (C2). Na HRP injecties in het ruggemerg zijn in area 4 Betz cellen en andere middelgrote en grote pyramide cellen retrograad gelabeld (D). Na HRP injecties in de nucleï cuneatus en gracilis zijn relatief kleine pyramide cellen retrograad gelabeld, welke in area 4 in een rij boven de niet gelabelde Betz cellen zijn gelegen (in C aangegeven met witte pijlen).

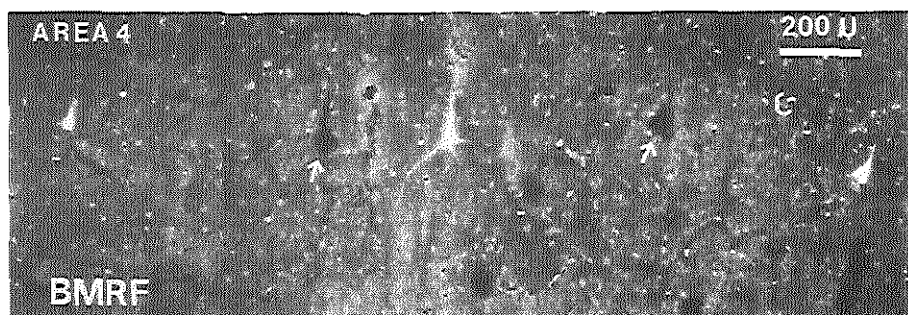
niveau van de Betz cellen - waren gesitueerd.

In lamina V van de cortex ipsilateraal aan de DCN injecties was ook een aantal pyramide cellen retrograad gelabeld. Deze neuronen waren uitsluitend in het bovenste een-derde gedeelte van de pre- en post-centrale gyri gelegen. Zij werden daarom waarschijnlijk retrograad gelabeld door sporen HRP in de contralaterale nucleus gracilis.

Conclusie: Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de nuclei cuneatus en gracilis zijn gelegen in het caudale deel van area 4 en in area's 3a, 3b, 1, 2, 5, 7 en SII. In deze gebieden zijn zij in het oppervlakkige deel van lamina V (Va) gesitueerd, i.e. in area 4 boven het niveau van de Betz cellen.

Injectie plaatsen BMRF: Het injectie gebied in de drie apen met HRP injecties in de BMRF beperkte zich voornamelijk tot de ipsilaterale BMRF en het aangrenzende mediale deel van het vestibulaire complex. Rostraal breidde het gebied met HRP reactie producten zich echter ook uit in de contralaterale BMRF (Fig.VI.1.)

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na BMRF injecties: In deze drie apen waren vele retrograad gelabelde neuronen aanwezig in de frontale cortex van beide hemisferen. Zij bevonden zich in area 6 en in het rostrale deel van area 4, op het laterale en mediale oppervlak van de hemisferen (Fig.VI.1.). Zij waren eveneens aanwezig in de boven- en onderwanden van het aangrenzende deel van de sulcus cinguli. Ook in beide wanden



Figuur VI.3.: Donkerveld microfoto van retrograad gelabelde corticale neuronen na HRP injecties in de ipsilaterale bulbaire mediale reticulair formatie (BMRF) in de rhesus aap. De retrograad gelabelde neuronen zijn middelgrote pyramide cellen en zijn op hetzelfde niveau in de cortex gelegen als de niet gelabelde Betz cellen (aangegeven met witte pijlen).

van de sulcus arcuatus en in het caudale deel van area 8 (Fig.VI.1.) bevonden zich retrograad gelabelde neuronen.

Alle retrograad vanuit de BMRF gelabelde neuronen waren pyramidevormig. Zij waren gesitueerd in lamina V en wel uitsluitend in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb (Fig. VI.3.). In area 8 en in area's 4 en 6 in het bovenste twee-derde deel van de precentrale gyrus waren uitsluitend middelgrote pyramide cellen retrograad gelabeld. In area's 4 en 6 in het onderste een-derde deel van de precentrale gyrus en in area's 3a en 3b in het onderste een-derde deel van de centrale sulcus waren niet alleen middelgrote pyramide cellen, maar ook grote pyramide cellen retrograad gelabeld. Vooral in de contralaterale hemisfeer bevatte area 4 hier ook een aantal retrograad gelabelde Betz cellen. In geen van beide hemisferen waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in de precentrale cortex aan de bovenrand van de fissura lateralis, i.e. in area 3.²⁸⁰ In beide hemisferen waren wel retrograad gelabelde neuronen aanwezig in het meest rostrale deel van de insula, in het meest rostrale deel van de precentrale operculum en in het aangrenzende caudale deel van de orbitofrontale cortex.

Conclusie: De cellen van oorsprong van corticale vezels naar de bulbaire mediale reticulair formatie zijn in area's 8 en 6 en in het rostrale deel van area 4 gelegen. In deze gebieden zijn zij in het diepe deel van lamina V (Vb) gedistribueerd, i.e. op het niveau van de Betz cellen.

VI.3.C. HRP injecties in de nucleus ruber pars parvocellularis, de nucleus ruber pars magnocellularis, de colliculus superior en de mesencephale mediale reticulair formatie.

Injectie plaatsen RN: De hersenhelften met HRP injecties in de verschillende delen van de RN kunnen worden onderverdeeld in de volgende drie groepen.

Groep I (tabel 1) bestaat uit casus M1B en casus M3B. Hierin bleven de injecties beperkt tot de PRN. In casus M3B (Fig.V.6.C.) was het mediale deel van de PRN betrokken in het HRP injectie gebied. In casus M1B breidde het met HRP reactie producten gevulde injectie gebied zich vanaf dorsaal uit in het middelste gedeelte van de PRN.

Groep II (tabel 1) bestaat uit casus M1A, casus M2A en casus M3A. Hierin waren zowel het caudale deel van de PRN als de dorsale helft van de MRN in het injectie gebied betrokken.

Groep III (tabel 1) bestaat uit casus M4 en casus M5A. In casus M4 omvatte het injectie gebied de gehele MRN en breidde zich eveneens uit in de onmiddellijk aan de MRN grenzende reticulair formatie (Fig.VI.6.D.). In

casus M5A beperkte het injectie gebied zich uitsluitend tot de ventrale helft van de MRN en waren er geen HRP reactie producten aanwezig in de reticulaire formatie rondom de RN.

Behalve in casus M5A, waarin het injectie gebied beperkt was tot de MRN, diffundeerde HRP in alle andere RN injecties in de rondom het steekkanaal gelegen delen van de MMRF en de colliculus superior. In geen van de hemisferen waren echter sporen HRP aanwezig rondom de steekkanalen.

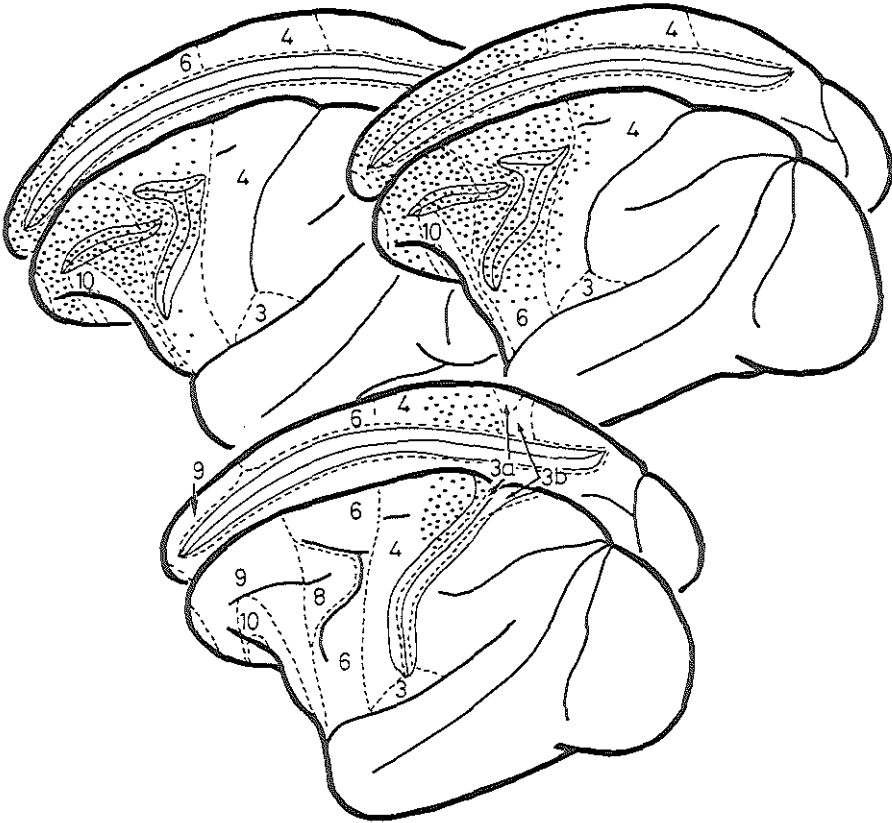
Tabel 1: Overzicht van de localisatie van de retrograad met HRP gelabelde neuronen in lamina V van Brodmann's area's 9, 8, 6 en 4 in de (M) esencephale Casus.

- retrograad gelabeld neuron oppervlakkig in lamina V (Va)
- ▲ retrograad gelabeld neuron in het diepe deel van lamina V (Vb)
- ▲ retrograad gelabelde Betz cellen

Afkortingen: coll.sup., colliculus superior; MMRF, mesencephale mediale reticulaire formatie; PRN, nucleus ruber pars parvocellularis; MRN, nucleus ruber pars magnocellularis; ant.4, rostrale deel van area 4; post. 4, caudale deel van area 4; L, lamina; G, groep

G	(M) esencephale CASUS	INJECTIEPLAATS	UITBREIDING HRP	L	CORTICALE GEBIEDEN			
					8+9	6	ANT.4	POST.4
	CASUS M8	SUP.COLL.		Va Vb	- ▲▲	- ▲▲	- - - -	- - - -
	CASUS M2B	MMRF	SUP.COLL.	Va Vb	- ▲▲	- ▲▲	- ▲▲	- - - -
I	CASUS M1B+M3B	PRN	SUP.COLL.+ MMRF	Va Vb	- ▲▲	●● ▲▲	●●●● ▲▲	●●●● - - - -
II	CASUS M1A+M2A+M3A	PRN+ MRN	SUP.COLL.+ MMRF	Va Vb	- ▲▲	●● ▲▲	●●●● ▲▲	●●●● ▲▲▲▲
	CASUS M4	MRN	SUP.COLL.+ MMRF	Va Vb	- ▲▲	- ▲▲	- ▲▲	- ▲▲▲▲
III	CASUS M5A	MRN		Va Vb	- -	- -	- - - -	▲▲▲▲

CASE M8: SUPERIOR COLLICULUS CASE M2B: SUPERIOR COLLICULUS+MMRF



CASE M5A: MAGNOCELLULAR RED NUCLEUS

Figuur VI.4.: Diagrammatische representatie van de retrograad gelabelde neuronen in de precentrale corticale gebieden van de aap na HRP injecties in de ipsilaterale colliculus superior (casus M8), de ipsilaterale mesencephale mediale reticulaire formatie en colliculus superior (casus M2B) en het ipsilaterale magnocellulaire deel van de nucleus ruber (casus M5A). De retrograad gelabelde neuronen in area's 4, 6 en 8 in deze M casus zijn alle in het diepe deel van lamina V (Vb) gelegen. Het mediale oppervlak van de hemisfeer is spiegelbeeldig voorgesteld.

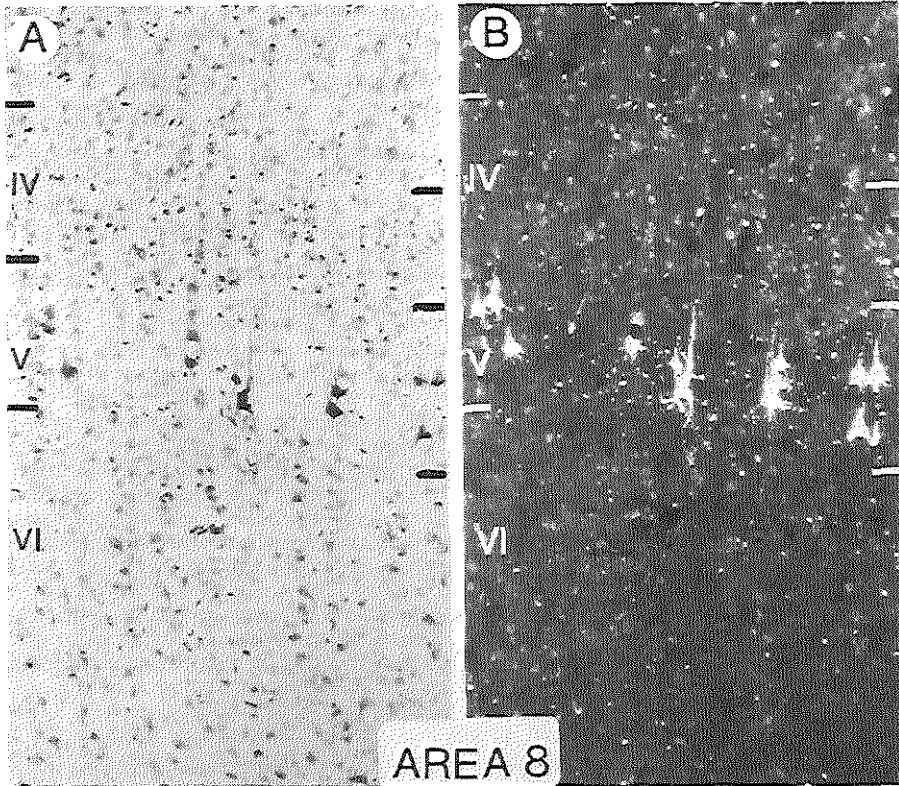
Injectie plaatsen in de colliculus superior en de MMRF: In casus M8 waren HRP reactie producten in alle delen van de colliculus superior aanwezig. Het HRP injectie gebied breidde zich vanuit de colliculus superior uit in het dorsale deel van het centrale grijs en in het rostrale deel van de colliculus inferior (Tabel I). In casus M2B was het HRP injectie gebied beperkt tot de MMRF lateraal van de RN, terwijl in casus M6 en casus M7A het HRP injectie gebied uitsluitend in de MMRF mediaal van de RN was gelegen.

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties in het mesencephalon: Alle retrograad vanuit het mesencephalon gelabelde corticale neuronen waren pyramidevormig en waren gesitueerd in lamina V. Zij bevonden zich voornamelijk in de precentrale cortex, behalve na HRP injecties in de colliculus superior (casus M8). In casus M8 werden gelabelde neuronen ook in lamina V van de parietale, de temporale en de occipitale cortex aangetroffen. In casus M2B en de tot groep I (HRP injecties in de PRN) en groep II (HRP injecties in de PRN en de MRN: tabel 1) behorende gevallen werden sporadisch retrograad gelabelde neuronen in de postcentrale gebieden waargenomen.

Na injecties in de colliculus superior (casus M8) waren in de frontale cortex uitsluitend retrograad gelabelde neuronen aanwezig in areas 9, 8 en 6, in beide wanden van het rostrale deel van de sulcus cinguli en in het aangrenzende deel van de gyrus cinguli (Fig.VI.4.). Geen retrograad gelabelde neuronen werden waargenomen in area 4 (Fig.VI.4.)

Na injecties in de MMRF, lateraal van de RN (casus M2B) bevonden de retrograad gelabelde corticale neuronen in de frontale cortex zich eveneens in area's 9, 8 en 6. Bovendien waren gelabelde neuronen op het laterale en het mediale oppervlak van de hemisfeer aanwezig in het rostrale deel van area 4 (Fig.VI.4.).

Alle retrograad gelabelde corticale neuronen in casus M8 (HRP injecties in de colliculus superior) en in casus M2B (HRP injecties in de MMRF) waren middelgrote pyramide cellen. Zij waren alle in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb (tabel 1) gesitueerd. Dus de retrograad gelabelde neuronen in het rostrale deel van area 4 na HRP injecties in de MMRF (casus M2B) waren tussen de Betz cellen gelegen. Na injecties in de MMRF waren echter geen Betz cellen retrograad gelabeld. In casus M6 en casus M7A, met injecties in de MMRF mediaal van de RN, werden vrijwel geen retrograad gelabelde neuronen in de cortex van de ipsilaterale hemisfeer aangetroffen.



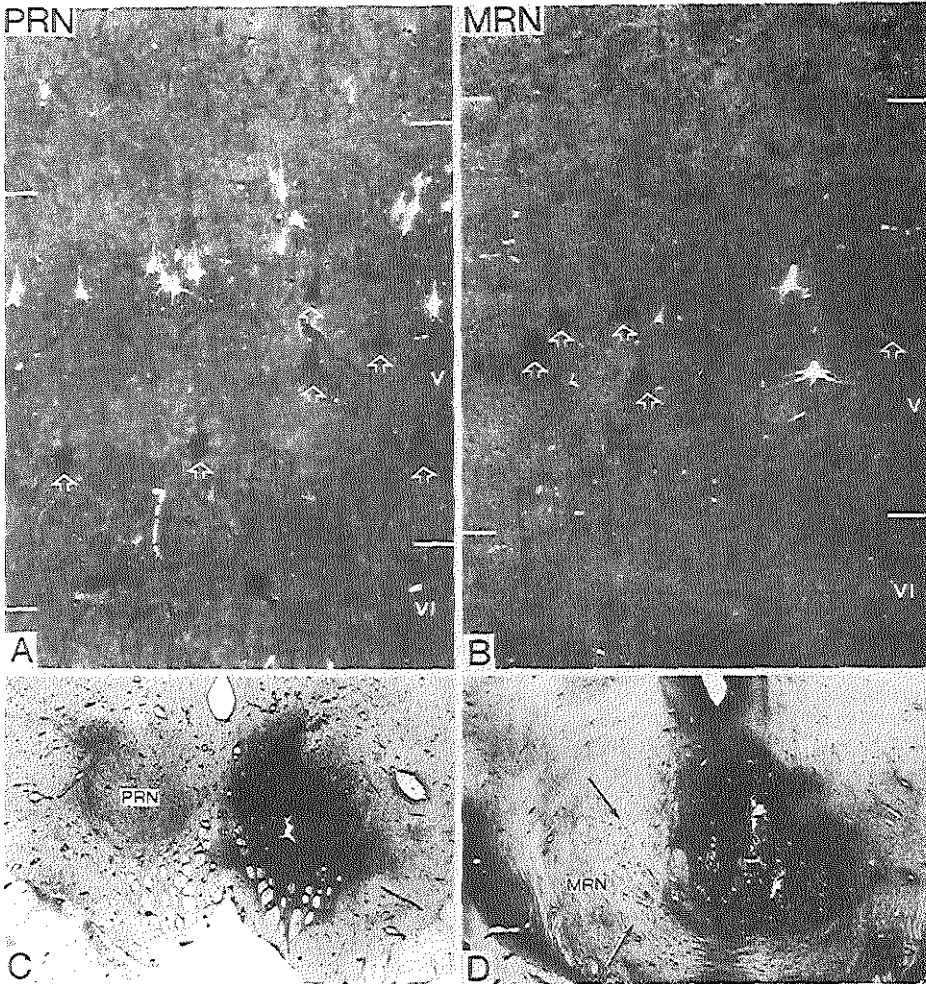
Figuur VI.5.: Lichtveld (A) en donkerveld (B) microfoto's (x118) van retrograad gelabelde corticale neuronen in lamina Vb van area 8 na HRP injecties in de ipsilaterale colliculus superior van *Macaca cynomolgus* (Casus M8).

Verder moet worden opgemerkt dat in casus M8 (HRP injecties in de colliculus superior) en in casus M2B (HRP injecties in de MMRF) het merendeel van de middelgrote en grote pyramide cellen in lamina Vb van area 8 retrograad was gelabeld (Fig.VI.5.)

In alle hersenhelften van de groepen I (HRP injecties in de PRN), II (HRP injecties in de PRN en MRN) en III (HRP injecties in de MRN: tabel 1) waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area's 9, 8, 6 en 4 en in het aan deze gebieden grenzende deel van de sulcus en gyrus cinguli, behalve in casus M5A. In deze casus was het injectie gebied beperkt tot de MRN en breidde zich niet uit in de MMRF of in de colliculus superior (Tabel 1).

Op grond van de bevindingen in casus M8 (HRP injecties in de colliculus superior) en in casus M2B (HRP injecties in de MMRF) wordt aangenomen, dat de gelabelde neuronen in lamina Vb van area's 9, 8, 6, het rostrale deel van area 4 en in lamina V in de cortex van de wanden van de sulcus cinguli en in de gyrus cinguli in deze hersenhelften waarschijnlijk door sporen HRP in het steekkanaal werden gelabeld.

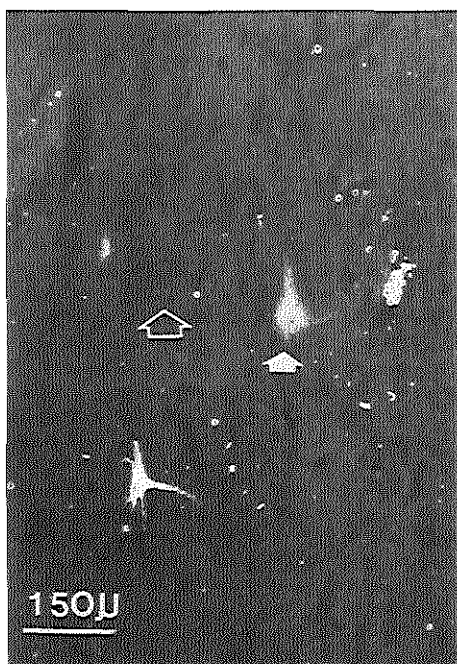
In ieder van de hersenhelften van de groepen I, II en III (tabel 1) breidde het injectie gebied zich uit in de RN. In deze hersenhelften waren ook retrograad gelabelde neuronen aanwezig in het caudale deel van area 4. In de hersenhelften van groep I, waarin het HRP injectie gebied zich beperkte tot de PRN, waren zeer veel retrograad gelabelde neuronen in area's 6 en 4 gesitueerd in het oppervlakkige deel van lamina V, i.e. in lamina Va (tabel 1). In area 4 waren deze neuronen derhalve boven het niveau van de Betz cellen gelegen (Fig.VI.6.A.). De Betz cellen waren zelf echter niet gelabeld. In casus M3B van groep I, waarin het mediale deel van de PRN in het HRP injectie gebied was betrokken (Fig.VI.6.C.) waren de neuronen in lamina Va voornamelijk aanwezig in het onderste twee-derde deel van de precentrale gyrus. In casus M1A van groep I, waarin het injectie gebied voornamelijk beperkt was tot het dorsale middelste deel van de PRN waren deze neuronen voornamelijk in het middelste een-derde deel van de precentrale gyrus gelegen. In de hersenhelften, waarin het HRP injectie gebied in de RN beperkt was tot de PRN (groep I) waren in het rostrale deel van area 4 retrograad gelabelde neuronen derhalve aanwezig in lamina Va (boven het niveau van de Betz cellen) en in lamina Vb (op hetzelfde niveau als de Betz cellen). In het caudale deel van area 4 waren zij echter uitsluitend gelegen in lamina Va (boven het niveau van de Betz cellen: tabel 1).



Figuur VI.6.: A en B: Donkerveld microfotografen (x77) van retrograad met HRP gelabelde corticale neuronen in area 4 van *Macaca cynomolgus*. A: Na injecties in de nucleus ruber pars parvocellularis (PRN, Casus M3B). B: Na injecties in de nucleus ruber pars magnocellularis (MRN, Casus M4). Witte pijlen wijzen naar niet gelabelde Betz cellen. C en D: Lichtveld microfotografen van de injectie plaatsen in de PRN (Casus M3B, x10) en de MRN (Casus M4, x13). Pijlen wijzen naar de niet geïnjecteerde MRN.

In de hersenhelften behorende tot groep II, waarin het HRP injectie gebied zich zowel in de PRN als de MRN uitbreidde, waren eveneens retrograad gelabelde corticale neuronen aanwezig in het caudale deel van area 4. In deze hersenhelften waren retrograad gelabelde neuronen niet alleen in lamina Va boven het niveau van de Betz cellen gesitueerd, zoals na HRP injecties in de PRN (groep I), maar ook in lamina Vb, i.e. op het niveau van de Betz cellen (tabel 1). In het rostrale deel van area 4 en in area 6 waren de retrograad gelabelde neuronen in lamina Va en lamina Vb over de hele lengte van de precentrale gyrus aanwezig. In het caudale deel van area 4 waren de retrograad gelabelde neuronen in lamina Va eveneens over de hele lengte van de precentrale gyrus aanwezig. De retrograad gelabelde neuronen in lamina Vb waren hier echter tot het middelste een-derde gedeelte van de precentrale gyrus beperkt.

In casus M4 van groep III, waarin het injectiegebied in de RN beperkt was tot de MRN en zich niet uitbreidde in de PRN waren retrograad gelabelde neuronen eveneens aanwezig in het caudale deel van area 4. Deze neuronen waren echter uitsluitend in het bovenste twee-derde deel van de precentrale gyrus gelegen. Alle gelabelde neuronen in area's 6 en 4 waren uitsluitend in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb gesitueerd. In area 4 waren zij derhalve zowel rostraal als caudaal op het niveau van de Betz cellen gelegen (Fig.VI.6.B.). In casus M5A van groep III, waarin het HRP



Figuur VI.7.: Donkerveld microfoto van retrograad met HRP gelabelde neuronen in area 4, na injecties in de ipsilaterale MRN in *Macaca cynomolgus*. De dichte witte pijl wijst naar een retrograad met HRP gelabelde Betz cel. De open witte pijl wijst naar een niet gelabelde Betz cel.

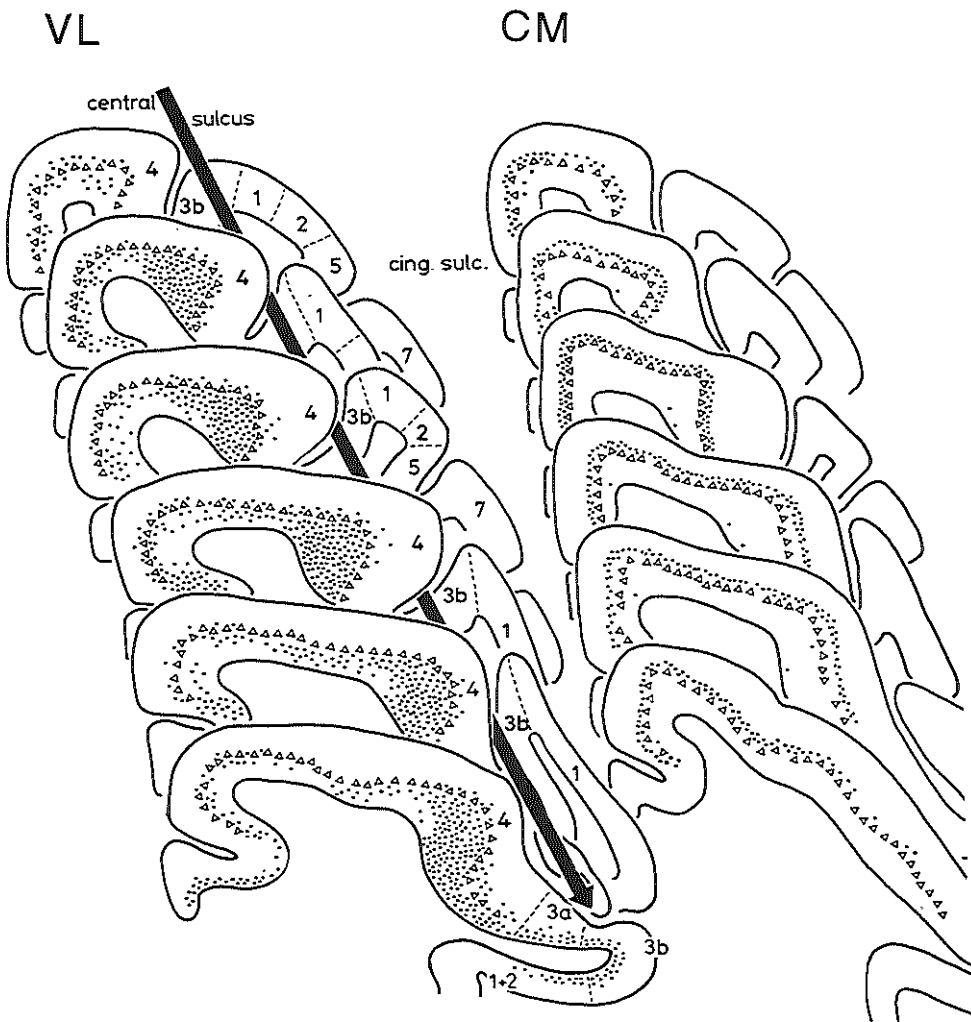
injectie gebied was beperkt tot het ventrale gedeelte van de MRN, waren retrograad gelabelde neuronen uitsluitend aanwezig in het caudale deel van area 4 (Fig.VI.4.). Deze neuronen waren beperkt in aantal en bevonden zich in dat deel van area 4, dat gelegen is in het bovenste een-derde deel van de precentrale gyrus. Op grond van de bevindingen in casus M5A (HRP injecties in de MRN), casus M2B (HRP injecties in de MMRF) en casus M8 (HRP injecties in de colliculus superior) wordt verondersteld, dat in casus M4 (HRP injecties in de MRN) uitsluitend de neuronen in lamina Vb in het caudale deel van area 4, retrograad vanuit de MRN werden gelabeld. De retrograad gelabelde neuronen in lamina Vb van meer rostraal gelegen gebieden werden verondersteld te zijn gelabeld door sporen HRP langs het steekkanaal in de MMRF en colliculus superior. In casus M1A, casus M2A, casus M3A (groep II, HRP injecties in de PRN en de MRN) en in casus M4 en casus M5A (groep III, HRP injecties in de MRN) (tabel 1), waarin het HRP injectie gebied zich uitbreidde in de MRN waren in het caudale deel van area 4 ook enkele Betz cellen retrograad met HRP gelabeld (Fig.VI.7.).

Conclusie: De cellen van oorsprong van corticale vezels naar de colliculus superior liggen in area's 9, 8 en 6. In area's 8 en 6 zijn zij in het diepe deel van lamina V (Vb) gesitueerd. De neuronen die naar de nucleus ruber pars parvocellularis projecteren zijn voornamelijk in area's 6 en 4 gelegen. In deze gebieden zijn zij in het oppervlakkige deel van lamina V (Va) gesitueerd, i.e. in area 4 boven het niveau van de Betz cellen. De neuronen die naar de nucleus ruber pars magnocellularis projecteren zijn uitsluitend in het caudale deel van area 4 gelegen. Zij zijn echter in het diepe deel van lamina V (Vb) gelegen i.e. op hetzelfde niveau als de Betz cellen.

VI.3.D. HRP injecties in de nucleus ventralis lateralis, de nucleus centromedianus en de nucleus parafascicularis thalami

Injectie plaats in VL en de distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties in de VL: In casus T1A was het injectie gebied met HRP reactie producten beperkt tot het middelste gedeelte van de VL (Fig.VI.9.C.).

In de ipsilaterale cortex waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 4 in het middelste een-derde deel van de precentrale gyrus. Een beperkt aantal retrograad gelabelde neuronen was ook aanwezig in area 4 in het bovenste een-derde deel van de precentrale gyrus, op het aangrenzende mediale oppervlak van de hemisfeer, alsook in de beide wanden van het aangrenzende deel van de sulcus cinguli en in het daar aangrenzende deel van de gyrus cinguli (Fig.VI.8.). Een groot aantal retrograad gelabelde



Figuur VI.8.: Diagrammatische representatie van retrograad gelabelde corticale neuronen in transversale coupes van een hemisfeer van twee cynomolgus apen. Iedere getekende coupe is samengesteld uit zes opeenvolgende coupes van de hersenen. Links: Na HRP injecties in de VL in Casus T1A. Rechts: Na HRP injecties in de CM in Casus T4. De niet gelabelde Betz cellen zijn aangegeven met open driehoekjes.

neuronen was ook aanwezig in area's 3a en 3b in de diepte van het meest laterale deel van de centrale sulcus en precentraal in area's 3, 1 en 2, aan de bovenrand van de sulcus lateralis (Fig.VI.8).

Het grootste deel van de retrograad gelabelde neuronen in casus T1A was gesitueerd in lamina VI en in lamina Vb. In area 4 waren zij echter bijna uitsluitend onder het niveau van de Betz cellen gelegen. Slechts een enkel retrograad gelabeld neuron bevond zich in lamina Va boven de Betz cellen (Fig.VI.8,VI.9). Geen van de Betz cellen bevatte HRP reactie producten (Fig.VI.9.A.). In het meest oppervlakkige deel van lamina VI waren voornamelijk middelgrote fusiforme neuronen retrograad met HRP gelabeld. Naarmate zij echter dichterbij de witte substantie waren gelegen namen zij in grootte af (Fig.VI.9.A.). In lamina V waren relatief kleine pyramide cellen gelabeld.

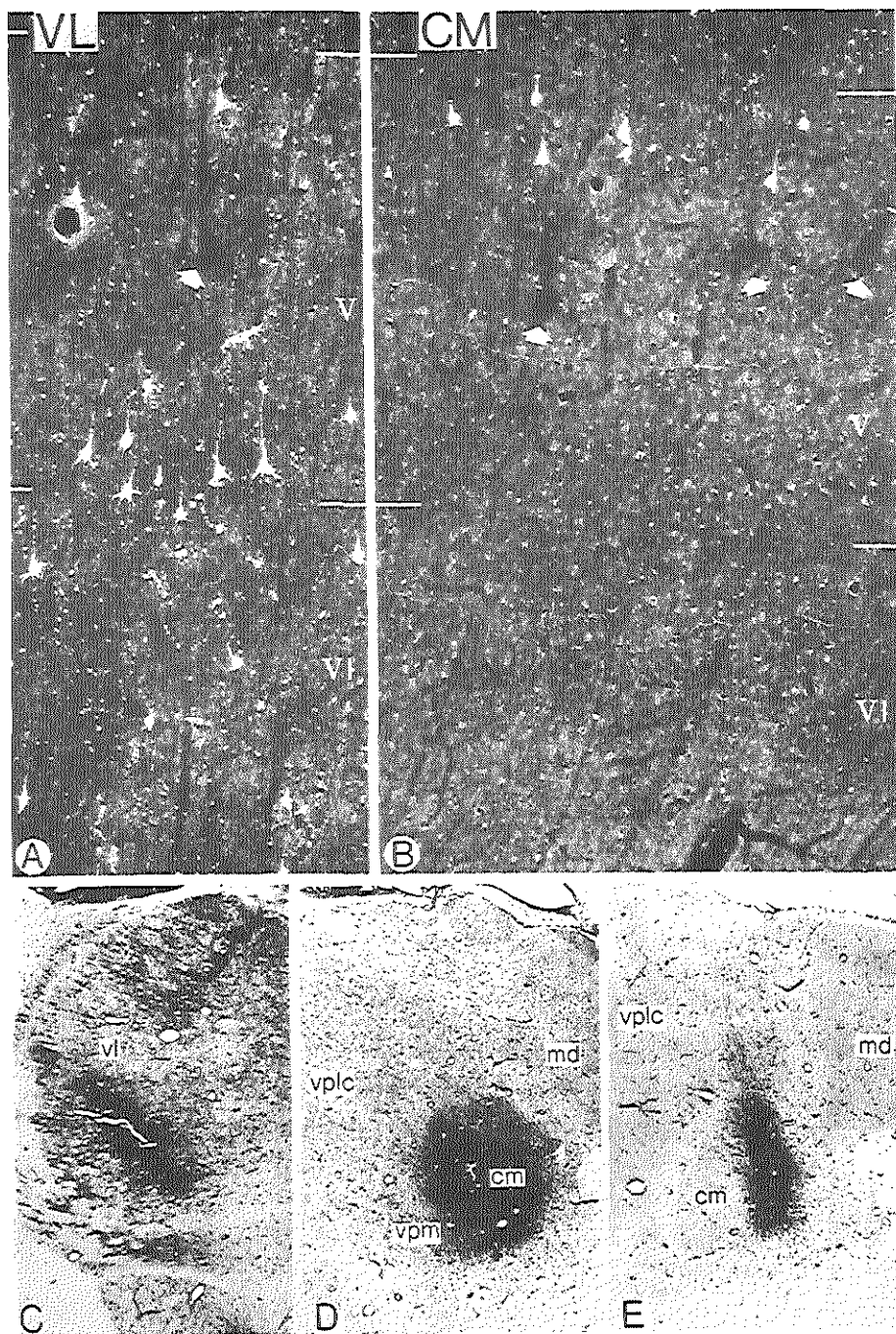
Conclusie: De cellen van oorsprong van de corticale neuronen die naar de nucleus ventralis lateralis thalami projecteren, zijn voornamelijk in area 4 gelegen. Hier zijn zij voornamelijk in laminae VI en Vb gesitueerd, en wel onder het niveau van de Betz cellen.

Injectie plaatsen in de CM en de distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties in de CM. In casus T2A, casus T3A en casus T4 werd HRP in de CM geïnjecteerd. In casus T2A was het HRP reactie product bevattende gebied beperkt tot het dorsomediale gedeelte van de CM en het aangrenzende dorsolaterale gedeelte van de Pf.

De retrograad gelabelde neuronen in de ipsilaterale hemisfeer waren voornamelijk gelegen in area 4 in het bovenste twee derde deel van de precentrale gyrus, in area 6 en in de wanden van het bovenbeen van de sulcus arcuatus. Op het mediale oppervlak van de hemisfeer waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 4, in het caudale deel van area 6 en in de hieraan grenzende boven- en onderwanden van de sulcus cinguli.

Figuur VI.9.: A en B: Donkerveld microfoto's (x104) van retrograad met HRP gelabelde neuronen in area 4. A: Na injecties in de nucleus ventrolateralis thalami (VL) en B: Na injecties in de nucleus centromedianus thalami (CM). C, D en E: Lichtveld microfoto's van de injectie plaats in Casus T1A met de HRP injectie in de VL (C, x13,6) en in Casus T3A (D, x13,6) en T4 (E, x 16) met HRP injecties in de CM.

Afkortingen VL, n. ventrolateralis thalami; CM, nucleus centromedianus thalami; MD, nucleus medialis dorsalis thalami, VPM, nucleus ventralis posteromedialis; VPLc, nucleus ventralis posterolateralis pars caudalis thalami.



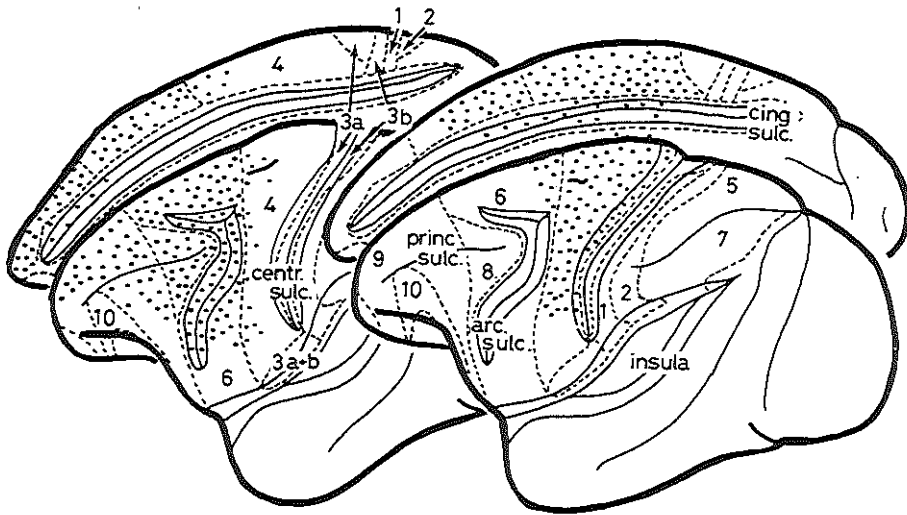
Al deze retrograad gelabelde neuronen waren relatief klein en pyramidevormig. Zij bevonden zich vrijwel alle in het oppervlakkige deel van lamina V, i.e. in lamina Va. In area 4 waren zij in een enkele of dubbele rij boven de Betz cellen gesitueerd. Slechts sporadisch werd in bovengenoemde gebieden een retrograad gelabeld fusiform neuron waargenomen in lamina VI.

In casus T3A was het injectie gebied met HRP reactie producten groter dan in casus T2A. Het omvatte bijna de hele CM, behalve het meest dorsolaterale gedeelte en eveneens het dorsale deel van de VPM (Fig.VI.9.D.).

In de ipsilaterale hemisfeer waren retrograad gelabelde neuronen aanwezig in area 4 op het laterale en mediale oppervlak van de hemisfeer, in area's 3a en 3b in de diepte van het meest laterale deel van de sulcus centralis en precentraal in area's 3, 1 en 2 langs de bovenrand van de sulcus lateralis.²⁸⁰ Op het mediale aspect van de hemisfeer waren retrograad gelabelde neuronen niet alleen aanwezig in area 4, maar ook in de beide wanden van het aangrenzende deel van de sulcus cinguli en het daaraangrenzende deel van de gyrus cinguli.

In casus T3A waren meer corticale neuronen retrograad gelabeld dan in casus T2A. In area's 4 en 6 vertoonden zij dezelfde laminaire distributie, i.e. zij waren gesitueerd in lamina Va. In casus T3A waren de retrograad gelabelde neuronen in area's 3a en 3b in de centrale sulcus en in area's 3, 1 en 2 langs de fissura lateralis echter in lamina Vb en lamina VI gesitueerd. Zij werden waarschijnlijk retrograad gelabeld vanuit de VPM^{134,162}

In casus T4 was het gebied dat HRP reactie producten bevatte erg klein. Het beperkte zich tot het mediale deel van de CM (Fig VI.9.E.). Retrograad gelabelde neuronen waren in de ipsilaterale hemisfeer voornamelijk gelegen in area 4 in het bovenste twee-derde deel van de precentrale gyrus. Een klein aantal bevond zich echter ook in area 6 op het laterale en het mediale oppervlak van de hemisfeer en in de hieraan grenzende delen van de sulcus cinguli en de gyrus cinguli (Fig.VI.10.). In de hemisfeer contralateraal aan de CM injectie in casus T4 was een zeer klein aantal corticale neuronen retrograad gelabeld. Deze bevonden zich in area 4 in het bovenste twee-derde gedeelte van de precentrale gyrus. In allebei de hemisfeeren waren de retrograad gelabelde neuronen in area 4 in het oppervlakkige deel van lamina V gesitueerd, i.e. in lamina Va boven het niveau van de Betz cellen (Fig.VI.8,VI.9.B.)

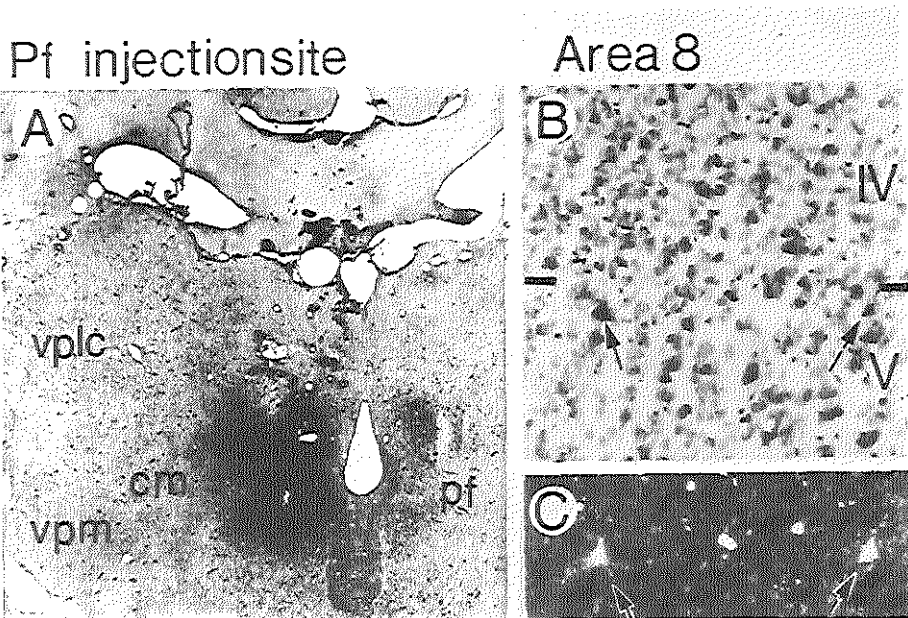


CASE T6A: PARAFASCICULAR
NUCLEUS

CENTERMEDIAN: CASE T4

Figuur VI.10.: Diagrammatische representatie van de retrograad met HRP gelabelde neuronen op het laterale en mediale oppervlak (spiegelbeeldig) van de linkerhemisfeer in de aap, na injecties in de ipsilaterale nucleus parafascicularis (links, Casus T6A) en de ipsilaterale nucleus centromedianus (rechts, Casus T4).

Injectie plaats Pf en de distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na Pf injecties: In casus T5A (Fig.VI.11.A), casus T6A en in casus T6B beperkte het HRP injectie gebied zich tot de Pf. Ipsilateraal aan deze injecties waren veel retrograad gelabelde neuronen in area's 6, 8 en 9 op het laterale oppervlak van de hemisfeer gelegen. Op het mediale oppervlak waren zij eveneens aanwezig in area's 6 en 9, maar ook in beide wanden van het rostrale deel van de sulcus cinguli en in het aangrenzende deel van de gyrus cinguli. Slechts zeer weinig retrograad gelabelde neuronen bevonden zich in het rostrale deel van area 4. Alle retrograad vanuit de Pf gelabelde neuronen waren klein en pyramidevormig. In area's 6 en 8 waren zij in lamina Va gesitueerd (Fig.VI.10.B,C.).



Figuur VI.11.: Lichtveld microfoto (A) van de injectie plaats in de nucleus parafascicularis in casus T5A (x16). Helderveld (B) en donkerveld (C) microfoto's van retrograad met HRP gelabelde corticale neuronen in area 8 (x120) na injecties in de nucleus parafascicularis (casus T5A). Pijlen wijzen naar retrograad gelabelde neuronen, die oppervlakkig in lamina V zijn gelegen.

Injectie plaatsen en distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen na injecties lateraal van de CM: Zowel in casus T1B als in casus T2B werd HRP lateraal van de CM geïnjecteerd. In casus T1B bevonden de HRP reactie producten zich in het pulvinar. In de hemisfeer ipsilateraal aan deze injectie werden uitsluitend retrograad gelabelde neuronen aangetroffen in parietale en temporale gebieden. In casus T2B was het HRP injectie gebied beperkt tot het VB complex. Het overgrote deel van de retrograad gelabelde

neuronen in de ipsilaterale hemisfeer bevond zich in de postcentrale gyrus. Een enkel retrograad gelabeld neuron werd echter ook aangetroffen in area 4. Gezien de bevindingen in casus T4 is het echter zeer wel mogelijk, dat deze neuronen retrograad werden gelabeld vanuit de HRP injectie plaats in de contralaterale CM.

Conclusie: De cellen van oorsprong van corticale vezels naar de nucleus centromedianus thalami zijn voornamelijk in area 4 gelegen. Zij zijn oppervlakkig in lamina V (Va) gesitueerd, i.e. boven het niveau van de Betz cellen. De cellen van oorsprong van corticale vezels naar de nucleus parafascicularis thalami liggen in area's 9, 8 en 6. In area's 8 en 6 zijn zij eveneens oppervlakkig in lamina V (Va) gesitueerd.

VI.4. Discussie

Cellen van oorsprong van corticospinale vezels: De areale distributie van de corticospinale neuronen in het caudale deel van area 6 en in area's 4, 3a, 3b, 1, 2 en 5, is in goede overeenstemming met eerdere anatomische^{55,172,180,208,287} en fysiologische bevindingen.^{1,13,262,336} Onze huidige bevindingen zijn met name ook in goede overeenstemming met de resultaten van andere HRP experimenten.^{28,54} In dergelijke experimenten werd bovendien aangetoond, dat corticale neuronen in de dorsale wand van de laterale fissuur, i.e. in SII, een bijdrage leveren aan de corticospinale projectie naar het cervicale ruggemerg.^{28,135,235} Na HRP injecties in het lumbale ruggemerg werden echter geen neuronen in SII retrograad gelabeld.⁵⁴

De bevindingen in de huidige experimenten bevestigen de resultaten van Levin en Bradford²⁰¹ in retrograde degeneratie experimenten, dat corticospinale neuronen in lamina V van de cortex zijn gesitueerd. Hun positie in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb (Fig.VI.12.), stemt goed overeen met de bevindingen van Jones en Wise.¹³⁵ In het huidige onderzoek werd voorts aangetoond dat de populatie corticale neuronen, die naar het ruggemerg projecteert voornamelijk bestaat uit middelgrote en grote pyramide cellen en dat in area 4 een groot aantal Betz cellen naar het ruggemerg projecteert.^{28,54,135,235} Dit stemt goed overeen met de bevindingen van Jones en Wise.¹³⁵ Zij vergeleken de grootte van retrograad vanuit het cervicale ruggemerg met HRP gelabelde neuronen in elk gebied met die van niet gelabelde corticale neuronen. Zij kwamen tot de conclusie dat corticospinale neuronen zowel in de pre- als in de postcentrale gebieden relatief groter zijn dan alle andere corticale neuronen.

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de DCN: De bevinding dat corticale neuronen, die naar de DCN projecteren postcentraal in area's 3, 1 en 2 en precentraal in area 4 zijn gelegen, is in goede overeenstemming met anterograde degeneratie^{172,208} en antidrome stimulatie experimenten.^{29,76,104} Zij stemmen eveneens overeen met de bevinding in andere HRP experimenten,^{135,325} dat het merendeel van de corticale neuronen die naar de DCN projecteren, in de postcentrale gebieden inclusief SII, is gelegen. Onze bevinding dat een deel van de corticale neuronen die naar de DCN projecteren in area 4 is gelegen, stemt eveneens goed overeen met eerdere HRP bevindingen.^{135,325}

De retrograad vanuit de DCN gelabelde corticale neuronen waren relatief klein en slank van vorm.³²⁵ Hun laminaire distributie in het oppervlakkige deel van lamina V, i.e. in lamina Va (in area 4 in een rij boven de Betz cellen), stemt goed overeen met de bevinding van Jones en Wise,¹³⁵ dat zowel in de post- als in de precentrale corticale gebieden de neuronen die naar de DCN projecteren meer oppervlakkig in lamina V zijn gesitueerd dan de neuronen die naar het ruggemerg projecteren (Fig.VI.12.).

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de BMRF: Na HRP injecties in de BMRF werden in de onderste een-derde delen van de precentrale gyri relatief grotere neuronen retrograad gelabeld dan in de bovenste twee-derde delen van beide precentrale gyri. De neuronen in de onderste een-derde gedeelten van de precentrale gyri werden waarschijnlijk gelabeld, doordat precentrale vezels naar de bulbaire laterale reticulair formatie (BLRF) en naar de bulbaire motorische kernen¹⁷² door de HRP injecties in de BMRF werden gelaedeerd. Deze veronderstelling is gebaseerd op de HRP bevindingen van Hopkins et al. (Hopkins et al. zoals geciteerd door Kuypers¹⁷⁷) welke aantonen, dat de corticobulbaire vezels naar de trigeminus kernen en naar de BLRF voornamelijk uit de onderste een-derde gedeelten van de pre- en postcentrale gyri afkomstig zijn. Volgens deze experimenten projecteren voornamelijk middelgrote en grote pyramide cellen, inclusief enkele Betz cellen, naar de BLRF. De HRP reactie producten bevattende middelgrote neuronen in de bovenste twee-derde delen van de precentrale gyri zouden dan uitsluitend vanuit de BMRF zijn gelabeld. De areale distributie van deze neuronen, i.e. in het rostrale deel van area 4 en in area's 6 en 8, is in goede overeenstemming met eerdere anatomische^{165,172,185} en fysiologische bevindingen.^{219,255} Volgens de huidige bevindingen zijn zij in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb, gesitueerd (Fig.VI.12.). De laminaire distributie van de corticale neuronen, die naar de BMRF projecteren, vertoont derhalve een zeer grote overeenkomst met die van de corticospinale neuronen.

AAP AREA 4

	VL	Rugge- merg	BMRF/ MMRF	MRN	PRN	CM	DCN
Va							
Vb							
VI							

Figuur VI.12.: Schematische representatie van de laminaire distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen in laminae V en VI van area 4 na HRP injecties in de VL, het ruggemerg, de BMRF, de MRN, de PRN, de CM en de DCN.

- ▲▲ Retrograad gelabelde pyramidecellen
- ◆◆ Retrograad gelabelde fusiforme cellen
- ▲ Retrograad gelabelde Betz cellen
- △ Niet gelabelde Betz cellen

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de colliculus superior en de MMRF: De huidige bevinding dat de frontale neuronen, die naar de colliculus superior projecteren in area's 9, 8 en 6 zijn gelegen, is in goede overeenstemming met bevindingen waarbij gebruik werd gemaakt van het anterograde transport van getritiëerde aminozuren.^{86,166,167} Volgens de huidige bevindingen zijn de neuronen die naar de MMRF projecteren, tenminste voor een deel, in het rostrale deel van area 4 gelegen. Dit stemt goed overeen met eerdere anatomische bevindingen.^{105,185} In area's 8 en 6 waren de neuronen die naar de colliculus superior en die, welke naar de MMRF projecteren alle in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb gelegen¹⁰³ (Fig.VI.12.). Zij zijn dus in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als de neuronen die naar de BMRF projecteren. Zij liggen eveneens in hetzelfde deel van lamina V als de neuronen die naar het ruggemerg projecteren.

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de nucleus ruber: De neuronen die naar de MRN projecteren zijn beperkt in aantal. In overeenstemming met eerdere anatomische bevindingen^{105,185} liggen zij in het caudale deel van area 4. Hier zijn zij in lamina Vb, i.e. op het niveau van de Betz cellen gesitueerd (Fig.VI.12.). Volgens de huidige bevindingen projecteren ook enkele Betz cellen naar de MRN.

Uit de experimenten van groep I, waarin HRP in de PRN was geïnjecteerd, bleek dat een relatief groot aantal precentrale corticale neuronen naar de PRN projecteert. In overeenstemming met eerdere anatomische bevindingen^{105,185} waren zij in area's 6 en 4 gelegen. In area 4 zijn zij in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als de neuronen die naar de DCN projecteren, i.e. in lamina Va (Fig.VI.12.). De resultaten in de huidige experimenten tonen aan, dat in area 4 de neuronen die naar de PRN projecteren boven het niveau van de Betz cellen zijn gesitueerd, in tegenstelling tot de neuronen die naar de MRN projecteren. Deze zijn namelijk in lamina Vb, i.e. op het niveau van de Betz cellen gelegen.

De areale distributie van de retrograad vanuit de PRN en uit de MRN gelabelde neuronen steunt bovenstaande conclusie. Deze distributie komt namelijk zeer goed overeen met de anterograde degeneratie bevindingen van Kuypers en Lawrence.¹⁸⁵ Volgens deze onderzoekers zijn de corticorubrale vezels naar de MRN uitsluitend uit het bovenste twee-derde gedeelte van de precentrale gyrus afkomstig. De neuronen in het middelste een-derde gedeelte projecteren naar het dorsomediale gedeelte van de MRN. De vezels, die afkomstig zijn uit het bovenste een-derde gedeelte van de precentrale gyrus, projecteren naar het ventrolaterale deel van de MRN. In casus M4, waarin het injectie gebied zich uitbreidde in de gehele MRN, bevonden de neuronen die

naar werd aangenomen retrograad uit de MRN waren gelabeld, zich in het bovenste twee-derde gedeelte van de precentrale gyrus. In casus M1A, casus M2A en casus M3A, waarin het HRP injectie gebied zich slechts in het dorsale gedeelte van de MRN uitbreidde, waren de retrograad gelabelde neuronen in lamina Vb van area 4 voornamelijk in het middelste gedeelte van de precentrale gyrus, gelegen. In casus M5A, waarin het HRP injectie gebied zich beperkte tot het ventrale deel van de MRN, bevonden zij zich echter uitsluitend in het bovenste een-derde gedeelte van de precentrale gyrus.

De corticorubrale projectie naar de PRN is afkomstig uit area 4 in de gehele precentrale gyrus.^{105,185} Volgens Kuypers en Lawrence¹⁸⁵ eindigen de corticorubrale vezels uit area 4 in het bovenste een-derde gedeelte van de precentrale gyrus in het ventrolaterale deel van de PRN. Die uit area 4 in het onderste een-derde deel van de precentrale gyrus eindigen in het dorsomediale deel van de PRN. De corticorubrale vezels, die afkomstig zijn uit area 4 in het middelste een-derde deel van de precentrale gyrus eindigen in het centrale deel van de PRN. De huidige bevindingen betreffende de neuronen in lamina Va waarvan werd aangenomen dat zij naar de PRN projecteren, zijn in goede overeenstemming met bovengenoemde anterograde degeneratie bevindingen. In casus M1A, casus M2A en casus M3A, waarin het HRP injectie gebied de gehele PRN omvatte, waren in lamina Va van area 4 over de hele lengte van de precentrale gyrus retrograad gelabelde neuronen aanwezig. In casus M3B, waarin het HRP injectie gebied zich beperkte tot de mediale helft van de PRN, bevonden zij zich voornamelijk in area 4 in het onderste twee-derde gedeelte van de precentrale gyrus. In casus M1A, waarin het HRP injectie gebied zich vanaf dorsaal in het middelste gedeelte van de PRN uitbreidde, waren zij voornamelijk in het middelste een-derde deel van de precentrale gyrus gelegen.

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de CM en Pf: In goede overeenstemming met eerdere anatomische bevindingen,^{64,67,162,165,185,188, 288} waren in de huidige experimenten retrograad vanuit de CM gelabelde neuronen voornamelijk in area 4 gelegen, terwijl na HRP injecties in de Pf retrograad gelabelde neuronen voornamelijk in area's 6, 8 en 9 waren gedistribueerd.

Volgens anterograde degeneratie bevindingen in de aap¹⁸⁵ zijn de corticothalamische vezels naar de CM topografisch gerangschikt. Dit is in goede overeenstemming met onze bevinding, dat na HRP injecties in het dorsomediale (casus T2A) of mediale (casus T4) gedeelte van de CM retrograad gelabelde corticale neuronen aanwezig waren in area 4 in het bovenste twee-derde gedeelte van de precentrale gyrus. In casus T3A, waarin het HRP injectie gebied zich in heel de CM uibreidde, waren de retrograad gelabelde corticale neuronen in area

4 over de hele lengte van de precentrale gyrus gedistribueerd.

De neuronen in area 4, die naar de CM projecteren, zijn evenals de neuronen in area's 6 en 8, die naar de Pf projecteren in het oppervlakkige deel van lamina V, i.e. in lamina Va gelegen. In area 4 waren de corticale neuronen die naar de CM projecteren in een rij boven het niveau van de Betz cellen gelegen, samen met de neuronen die naar de DCN en de PRN projecteren (Fig.VI.12.).

Cellen van oorsprong van corticale vezels naar de VL: De laminaire distributie van de corticale neuronen die naar de VL projecteren, blijkt volledig te verschillen van de laminaire distributie van de corticale neuronen, die naar de CM projecteren. In goede overeenstemming met andere HRP bevindingen in de aap,¹³⁵ zijn zij voornamelijk in lamina VI en lamina Vb gesitueerd: in area 4 onder het niveau van de Betz cellen (Fig.VI.12.). De laminaire distributie van de corticale neuronen, die naar de VL projecteren is uniek in vergelijking met die van de overige cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels, omdat zij dieper in de cortex zijn gelegen dan de corticale neuronen die naar het ruggemerg, de BMRF, de MMRF, de MRN, de PRN, de DCN en de CM projecteren.

Hoofdstuk VII:

ONDERZOEK NAAR CORTICOSPINALE AXON COLLATERALEN NAAR
THALAMUS EN MESENCEPHALON IN DE KAT EN DE RAT MET
BEHULP VAN VERSCHILLENDE RETROGRADE FLUORESCENTE
MERKSTOFFEN

VII.1. Samenvatting

VII.2. Materiaal en methoden

VII.2.A. De fluorescente retrograde merk-
stoffen die in de katten en de
ratten werden gebruikt

VII.2.B. Experimenten in de katten

VII.2.C. Experimenten in de ratten

VII.2.D. Histologische procedure

VII.3. Resultaten

VII.3.A. Injecties van fluorescente merk-
stoffen in de thalamus en het rugge-
merg

VII.3.B. Injecties van fluorescente merk-
stoffen in het mesencephalon en
het ruggemerg

VII.4. Discussie

VII.1. Samenvatting

In de experimenten die in dit hoofdstuk worden beschreven werd in katten en ratten onderzocht, of de corticale vezels naar de nucleus ventralis lateralis thalami en naar het mesencephalon ten dele uit collateralen van corticospinale axonen bestaan. Hiertoe werd Nuclear Yellow unilateraal in het ruggemerg geïnjecteerd, terwijl contralateraal in de laterale thalamus of in het mesencephalon 'Fast Blue' of 'True Blue' werd geïnjecteerd. Uitsluitend in de rat werd in een aantal experimenten Evans Blue in combinatie met Granular Blue gebruikt. Na injecties van merkstoffen in de thalamus en het ruggemerg werden twee verschillende populaties retrograad gelabelde corticale neuronen gevonden, die op verschillende niveaus in de hersenschors waren gedistribueerd. De corticospinale neuronen waren namelijk uitsluitend in lamina V gesitueerd, terwijl de corticothalamische neuronen voornamelijk in lamina VI waren gelegen. Na injecties in het ruggemerg en het mesencephalon werden eveneens twee populaties retrograad gelabelde corticale neuronen gevonden, die beide op hetzelfde niveau in de hersenschors waren gesitueerd, namelijk in lamina V. Bovendien waren sommige neuronen retrograad dubbel gelabeld. Hieruit werd de conclusie getrokken, dat corticospinale neuronen in de kat en de rat geen axon collateralen naar de specifieke thalamische kernen zenden, maar dat sommige wel axon collateralen naar het mesencephalon distribueren. De areale distributie in de cortex van de retrograad dubbel gelabelde neuronen doet bovendien vermoeden, dat corticospinale neuronen die axon collateralen naar het mesencephalon distribueren in die gebieden zijn geconcentreerd, die voornamelijk bij het besturen van bewegingen van het hoofd, de nek en de romp zijn betrokken.

VII.2. Materiaal en methoden

VII.2.A. De fluorescente retrograde merkstoffen die in de katten en de ratten werden gebruikt

In de in dit hoofdstuk beschreven experimenten werden twee combinaties van fluorescente retrograde merkstoffen gebruikt:

1) "Evans Blue" (EB)¹⁸¹ en "Granular Blue" (GB).²³ Deze combinatie werd alleen in ratten gebruikt. Retrograad met EB gelabelde neuronen onderscheiden zich door een brilliant rode fluorescentie van de kern, het cytoplasma en de proximale dendrieten, wanneer zij worden geëxciteerd met opvallend licht van 550 nm. Neuronen die retrograad met GB zijn gelabeld onderscheiden zich door een blauw fluorescent cytoplasma gevuld met zilver fluorescente granulae en weinig of geen labeling van de kern, wanneer zij worden geëxciteerd met opvallend licht van 360 nm. Neuronen die dubbel ge-

labeld zijn met GB en EBBA fluoresceren rood, wanneer zij met opvallend licht van 550 nm worden geëxciteerd en blauw, wanneer zij met opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd.

2) "*Nuclear Yellow*" (NY) gecombineerd met "*True Blue*" (TB, een combinatie die alleen in ratten werd gebruikt) of met "*Fast Blue*" (FB, een combinatie die alleen in katten werd gebruikt.^{23,24,178}) Retrograad met NY gelabelde neuronen onderscheiden zich door een briljant gele fluorescentie van de kern, wanneer zij door opvallend licht met een golflengte van 360 nm worden geëxciteerd. Retrograad met TB of FB gelabelde neuronen zijn herkenbaar aan hun blauw fluorescent cytoplasma wanneer zij door opvallend licht van 360 nm worden geëxciteerd. Retrograad met NY en TB of FB dubbel gelabelde neuronen zijn bij een excitatie golflengte van 360 nm herkenbaar aan een NY geel fluorescente kern en aan TB of FB blauw fluorescent cytoplasma.¹⁷⁸

VII.2.B. Experimenten in de katten

In vijf katten werd, met behulp van een Hamilton injectiespuit met een 22 gauge naald, FB unilateraal in de laterale thalamus (twee katten) of in het mesencephalon (drie katten) geïnjecteerd (Tabel II). Er werden grote injecties gemaakt, om zo veel mogelijk corticale neuronen retrograad te labelen. In al deze katten werd bovendien NY met behulp van een glazen micropipet in de witte en grijze stof van het cervicale ruggemerg segment C2 geïnjecteerd, contralateraal aan de FB injectie plaats. Omdat NY sneller retrograad wordt getransporteerd dan FB, werden de merkstoffen tijdens twee verschillende operaties geïnjecteerd. FB tijdens de eerste operatie en NY gedurende de tweede operatie kort voordat het dier werd geperfundeed. Omdat NY ook wordt opgenomen en retrograad wordt getransporteerd door gelaedeerde axonen,²⁴ werden met de glazen micropipet, zeer veel steekkanalen in de spinale witte en grijze stof gemaakt, om zo veel mogelijk in het cervicale segment C2 verlopende corticospinale vezels te onderbreken. De tijd die verliep tussen de FB injecties en het moment van perfusie zal "de totale FB overlevingstijd" worden genoemd, terwijl het interval tussen de NY injecties en de perfusie "de NY overlevingstijd" zal worden genoemd.

In vier inleidende experimenten werd in de kat de overlevingstijd bepaald, waarbij geen migratie van NY uit retrograad vanuit C2 gelabelde corticospinale neuronen optrad. Uit deze experimenten bleek, dat retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen na een overlevingstijd van 49 uren een briljante fluorescentie van de kern vertoonden, terwijl om de gelabelde neuronen heen slechts sporadisch fluorescente glia kernen aanwezig waren. Dit wijst er op, dat na deze overlevingstijd slechts een minimale hoeveelheid NY uit de retrograad gelabelde corticospinale neuronen is gemigreerd. In de vijf

TABEL II

INJECTIES VAN FLUORESCENTE MERKSTOFFEN

Dieren	% Merkstof μ l	Injectie plaats	% Merkstof μ l	Injectie plaats	Overlevings- tijd	Overlevings- tijd
1 kat	3% FB 3.0 μ l	thalamus rechts	1% NY 10 μ l	C2 links	FB 4 dagen	NY 47 uren
1 kat	3% FB 4.0 μ l	thalamus rechts	1% NY 10 μ l	C2 links	FB 8 dagen	NY 49 uren
3 katten	3% FB 6.0 μ l	mesencephalon rechts	1% NY 11-13 μ l	C2 links	FB 8 dagen	NY 46 uren
1 rat	2% TB 0.1 μ l	thalamus rechts	1% NY 1.0 μ l	C2 links	TB 4 dagen	NY 21 uren
1 rat	2% TB 0.2 μ l	thalamus rechts	1% NY 2.5 μ l	C2 links	TB 4 dagen	NY 25 uren
1 rat	2% TB 0.2 μ l	thalamus rechts	1% NY 2.5 μ l	C2 links	TB 4 dagen	NY 27 uren
1 rat	2% TB 0.2 μ l	thalamus rechts	1% NY 1.5 μ l	C2 links	TB 3 dagen	NY 28 uren
1 rat	10% EB 0.2 μ l	thalamus rechts	5% GB 0.4 μ l	C2 links	EB 4 dagen	GB 4 dagen
1 rat	2% TB 1.0 μ l	mesencephalon rechts	1% NY 1.5 μ l	C2 links	TB 5 dagen	NY 24 uren
1 rat	2% TB 0.4 μ l	mesencephalon rechts	1% NY 1.8 μ l	C2 links	TB 5 dagen	NY 26 uren
2 ratten	2% TB 0.4 μ l	mesencephalon rechts	1% NY 2.0 μ l	C2 links	TB 4 dagen	NY 27 uren
2 ratten	2% TB 0.4 μ l	mesencephalon rechts	1% NY 2.0 μ l	C2 links	TB 5 dagen	NY 30 uren
1 rat	10% EB 0.1 μ l	mesencephalon rechts	5% GB 0.4 μ l	C2 links	EB 5 dagen	GB 5 dagen

hier beschreven katten werd daarom een overlevingstijd van 46 tot 48 uren aangehouden (voor hoeveelheden en concentraties van de fluorescente merkstoffen alsook voor de overlevingstijden van de individuele gevallen, zie tabel II).

VII.2.C. Experimenten in de ratten

In tien ratten werd met behulp van een Hamilton injectiespuit met een 22 gauge naald TB unilateraal in de thalamus (vier ratten) of in het mesencephalon (zes ratten: zie tabel II) geïnjecteerd. Gedurende een tweede operatie werd in alle ratten met een glazen micropipet NY in het cervicale spinale ruggemerg op het niveau van C2 geïnjecteerd, contralateraal aan de TB injectie plaatsen. Net als in de katten werden met de glazen micropipet zeer veel steekkanalen in het ruggemerg gemaakt, om zo veel mogelijk corticospinale vezels te laederen. De dieren werden na een NY overlevingstijd die varieerde van 21 tot 30 uren geperfundeed. Deze overlevingstijden waren gebaseerd op eerdere bevindingen van Bentivoglio en medewerkers.²⁴

In twee andere ratten werd met een glazen micropipet GB unilateraal in het cervicale segment C2 geïnjecteerd. Tijdens dezelfde operatie werd in één van beide ratten met een Hamilton injectiespuit met een 22 gauge naald EB contralateraal in de laterale thalamus geïnjecteerd, terwijl in de andere rat EB contralateraal in het mesencephalon werd geïnjecteerd (zie tabel II).

De thalamus en het mesencephalon zijn in de rat voor een groot deel direct onder de corticale sensorimotorische gebieden gelegen. Om te vermijden, dat deze gebieden werden beschadigd door de TB of EB injecties in de thalamus of het mesencephalon, werden de injecties in deze structuren gemaakt via een steekkanaal door de andere hemisfeer. De injecties in de thalamus werden onder een hoek van 45° met het sagittale vlak gemaakt, die in het mesencephalon onder een hoek van 30° met het sagittale vlak.

VII.2.D. Histologische procedure

Na de overlevingstijden zoals vermeld in tabel II, werden de katten en de ratten in een diepe narcose gebracht met behulp van Nembutal. Vervolgens werden zij transcardiaal geperfundeed met een zoutoplossing¹⁾ en vervolgens met een met cacodylaat gebufferde oplossing van 10% formaline (pH 7.2). In de katten werd de formaline perfusie gevolgd door een perfusie met een met cacodylaat gebufferde oplossing van 8% sucrose (pH 7.2).

De hersenen en het ruggemerg van de katten werden vervolgens uitge-

1) In alle katten werd een oplossing van 2.7% NaCl opgelost in water gebruikt. In de ratten werden oplossingen van 0.9%-1.2% NaCl in water gebruikt. In de katten leidde de perfusie met de hypertone zoutoplossing tot een betere conservering van het weefsel en tot een meer brillante fluorescentie in de retrograad gelabelde neuronen.

prepareerd en onmiddellijk op een vriesmicrotoom in coupes gesneden. De hersenen van de ratten werden gedurende 12 tot 15 uren in een met cacodylaat gebufferde oplossing van 30% sucrose (pH 7.2) geïmpregneerd en vervolgens ingevroren. Het weefsel van de katten en de ratten, met inbegrip van de bovenste cervicale segmenten, werd op een vriesmicrotoom in coupes van 30 μm dik gesneden. De frontaalkwabben van de katten werden echter in sagittale coupes gesneden. Iedere derde coupe werd na het snijden onmiddellijk opgeplakt in water en aan de lucht gedroogd. De coupes werden niet afgedekt. De coupes werden onder een Leitz Ploemopack fluorescentie microscoop bestudeerd met behulp van filterspiegel combinaties met excitatie golflengten van 550 nm (filter-spiegel combinatie N2), 390 nm (filter-spiegel combinatie A) en 360 nm (filter-spiegel combinatie D). Van iedere vijfde sagittale coupe van de frontaalkwab van de kat en van iedere vijfde transversale coupe van de hemisferen van de rat werd de distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen met behulp van een X-Y plotter in kaart gebracht. Van de hemisferen van de katten en de ratten en van de verschillende injectie plaatsen in de katten en de ratten werd een parallel serie coupes opgeplakt met chromaluin. Deze coupes werden allen tegengekleurd met 0.2% cresyl violet.

VII. Resultaten

VII.3.A. Injecties van fluorescente merkstoffen in de thalamus en het ruggemerg

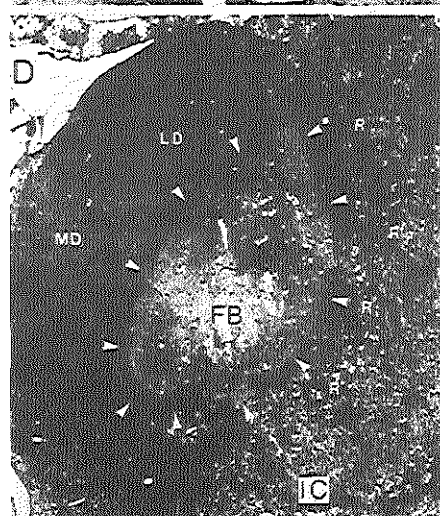
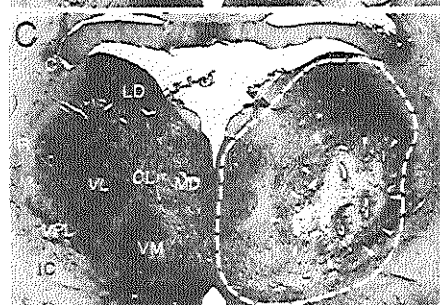
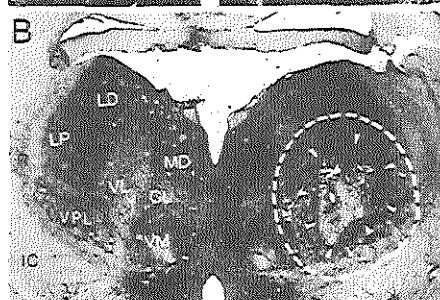
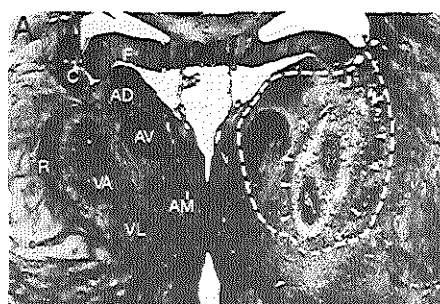
FB injecties in de thalamus van de katten: De FB injectie gebieden in de twee katten met FB injecties in de thalamus waren voornamelijk in het laterale deel van de thalamus gelocaliseerd (Fig.VII.1A-D). Rostraal gingen de steekkanalen door de nucleus caudatus. De capsula interna bleef echter gespaard. Vooral in de thalamus bevatten de steekkanalen brilliant fluorescent oranje materiaal. In het weefsel rond ieder steekkanaal waren drie concentrische FB fluorescente zones te onderscheiden.

1) De binnenste zone was scherp afgegrensd. Het weefsel in deze zone was ongelooflijk blauw fluorescent en bevatte concentraties oranje fluorescente granulae. In de fluorescentie microscoop waren in het weefsel in deze zone weinig structuren zichtbaar, terwijl in de met cresyl violet tegengekleurde coupes het weefsel in deze zone een bleek en structuurloos aspect had.

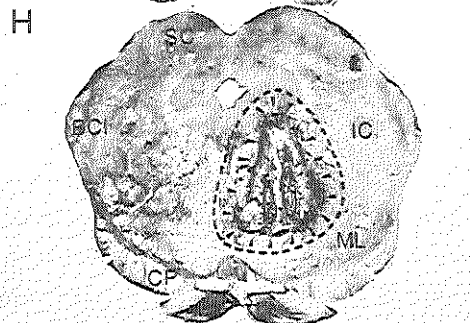
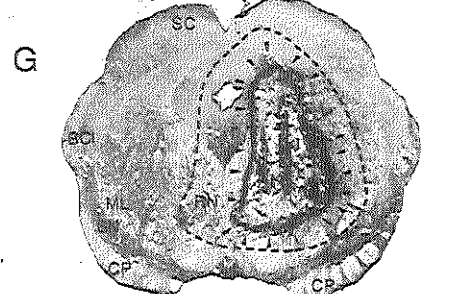
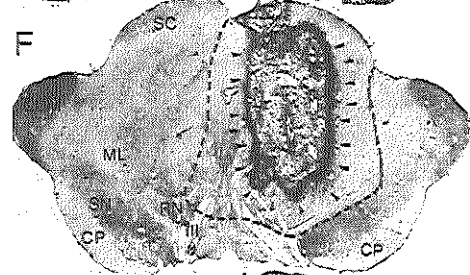
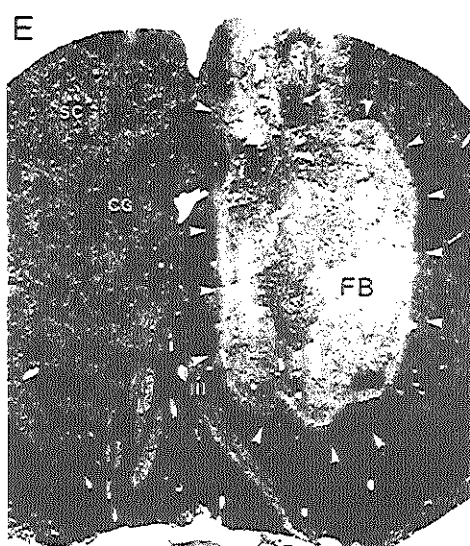
2) Het weefsel in de tweede zone was minder brilliant fluorescent dan in de eerste zone. Zone 2 bevatte diffuus blauw fluorescente neuronen en een diffuus blauw fluorescente neuropil evenals vele blauw fluorescente gliakernen. Deze concentratie van gliakernen was in de met cresyl

Figuur VII.1.: A-C, F-H: Lichtveld microfoto's van met cresyl violet tegengekleurde coupes van de FB injectie plaatsen in de thalamus (A-C) en het mesencephaal tegmentum (F-H) in de kat. D,E: Fluorescentie microfoto's van de FB injectie plaatsen in de thalamus (D) en in het mesencephaal tegmentum (E) bij opvallend licht met een golflengte van 360 nm. In A-C en F-H is het binnenste deel van de tweede FB fluorescente zone door de vele hierin aanwezige gliakernen donker gekleurd. Dit is aangegeven met pijlpunten. In D, E is het corresponderende deel van de tweede zone aangegeven met witte pijlpunten. In A-C en F-H is de uiterste grens van de derde FB fluorescente zone aangegeven met onderbroken lijnen.

Afkortingen: F, fornix; C, nucleus caudatus; R, nucleus reticularis; VA, nucleus ventralis anterior; AD, nucleus anterior dorsalis; AV, nucleus anterior ventralis; AM, nucleus anterior medialis; LD, nucleus lateralis dorsalis; LP, nucleus lateralis posterior; VL, nucleus ventralis lateralis; MD, nucleus medialis dorsalis; VPL, nucleus ventralis posterolateralis; VM, nucleus ventromedialis; CL, nucleus centralis lateralis; CG, centrale grijs; SC, colliculus superior; ML, mediale lemniscus; SN, substantia nigra; RN, nucleus ruber; CP, pedunculus cerebri; III, nervus oculomotorius; BCI, brachium conjunctivum inferior; IC, colliculus inferior.



FB THALAMUS



FB MESENCEPHALON

violet tegengekleurde coupes duidelijk zichtbaar, als een donker gekleurd granulair gebied rond de bleke binnenste zone (Fig.VII.1.A-C).

3) Het weefsel in de derde en buitenste zone was lichtblauw fluorescent en ging in vele gevallen geleidelijk over in het niet-fluorescente weefsel. Vaak, maar niet altijd, bevatte deze zone dof fluorescente gliakernen, terwijl in zijn periferie vaak fluorescente zenuwvezels zichtbaar waren.

De twee binnenste zones (Fig.VII.1.A-C) namen een groot deel van de thalamus in beslag, i.e. het rostrale deel van de nucleus reticularis, de nuclei ventralis anterior (VA), anteriores (A), ventralis lateralis (VL), lateralis posterior (LP) en lateralis dorsalis (LD). Zij breidden zich eveneens uit in de nucleus ventralis posterolateralis (VPL) en in de nucleus ventralis posteromedialis (VPM). De derde zone (Fig.VII.1.A-C) breidde zich naar ventraal uit in de zona incerta. Lateraal breidde het zich uit in het meest mediale deel van de capsula interna en mediaal in de nuclei centralis lateralis (CL) en medialis dorsalis (MD). De caudale grens van deze zone reikte tot de overgang van diencephalon naar mesencephalon. In het weefsel rond het in de hemisferen gelegen deel van de steekkanalen waren enkele fluorescente gliakernen zichtbaar. In één kat werd om de steekkanalen ook weefsel aangetroffen, dat een fluorescentie bezat zoals beschreven is voor de tweede zone.

NY injecties in het ruggemerg van de katten: De steekkanalen van de micropipet waarmee NY unilateraal in het ruggemerg segment C2 was geïnjecteerd, beschadigden de laterale funiculus en het laterale deel van de dorsale en ventrale funiculi contralateraal aan de thalamische injecties. Het weefsel van deze funiculi, evenals het weefsel van het ipsilaterale spinale grijs, was brilliant geel fluorescent met daarin vele fluorescente gliakernen. Het weefsel van het contralaterale spinale grijs en van de contralaterale witte substantie was niet fluorescent maar bevatte evenwel brilliant fluorescente gliakernen. De laterale funiculus aan deze zijde bevatte dof fluorescente gliakernen. De pia en de archnoidea op het niveau van de spinale injecties bevatten vooral aan de ventrale zijde van het ruggemerg vele brilliant fluorescente kernen. Deze fluorescentie zette zich echter niet voort langs het ventrale oppervlak van de hersenstam, maar bleef beperkt tot het ventrale oppervlak van het cervicale ruggemerg.

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen in de katten: In de twee katten met thalamus en ruggemerg injecties waren de retrograad met FB gelabelde *corticothalamische neuronen* in het rostrale deel van de hemisfeer gelegen (Fig.VII.2.), met name in area's 4γ, 4d, 6α, 6β, 3a, 3b, 1, 2, 5 en 2pri (SII) van Hassler en Muhs-Clement.¹⁰⁶ Deze gelabelde neuronen waren voornamelijk in lamina VI gesitueerd (Fig.VII.4.E.). Sommige waren

echter in lamina V gesitueerd. In area's 4γ, 4d, 6α, 6β, 3a en 2pri (SII) waren deze laatste neuronen in het diepe deel van lamina V gesitueerd, i.e. in lamina Vb,¹⁰⁶ terwijl een zeer beperkt aantal van deze laatste retrograad met FB gelabelde neuronen tussen de relatief grote neuronen in het oppervlakkige deel van lamina V was gelegen, i.e. in lamina Va.¹⁰⁶ In area 4γ waren zij dus op hetzelfde niveau als de Betz cellen gelegen. In area's 3b, 1, 2 en 5 waren zij eveneens in het diepe deel van lamina V gelegen, i.e. in lamina Vb en Vc.¹⁰⁶ In de laatste genoemde gebieden waren in lamina Va geen retrograad met FB gelabelde neuronen aanwezig.

De populatie van de retrograad met NY gelabelde *corticospinale neuronen* was voor een groot deel in dezelfde gebieden gelegen (Fig.VII.2.5.) als de retrograad met FB gelabelde corticothalamische neuronen. Het merendeel van deze retrograad met NY gelabelde neuronen was aanwezig in area 4γ, in de laterale delen van area's 4d, 4 i.f., in area's 6α en 6β en in de laterale en caudale wanden van de sulcus presylvius. Retrograad gelabelde corticospinale neuronen waren ook aanwezig in area's 3a, 3b, 1, 2, 5 en 2pri (SII), terwijl een zeer beperkt aantal ook voorkwam in de wanden van de sulcus orbitalis, in de gyrus orbitalis en in area 6 i.f. De retrograad met NY gelabelde neuronen in area's 4γ, 4d, 6α, 6β, 3a en 2pri (SII) waren gesitueerd in lamina Va, welke relatief grote cellen bevat. In area 4γ waren vele Betz cellen retrograad met NY gelabeld. In area's 3b, 1, 2 en 5 waren de retrograad gelabelde neuronen eveneens in dat deel van lamina V gelegen, dat relatief grote neuronen bevat, i.e. in lamina Vb. In lamina V waren de met NY gelabelde corticospinale neuronen dus op hetzelfde niveau gelegen als de oppervlakkig liggende met FB gelabelde corticothalamische neuronen. Hoewel de populaties corticothalamische en corticospinale neuronen in lamina V in zekere mate met elkaar waren vermengd, werden geen retrograad dubbel gelabelde neuronen waargenomen.

TB en EB injecties in de thalamus van de ratten: De thalamische steekkanalen in de vijf ratten met injecties in de thalamus en het ruggemerg doorboorden één hemisfeer en de contralateraal daaraan gelegen MD en laterale thalamische kernen. Zij spaarden echter de aangrenzende capsula interna (Fig. VII.8). De distale delen van de steekkanalen in de vier met TB geïnjecteerde ratten bevatten brilliant geel fluorescent materiaal. In de thalamus werden zij omgeven door twee welomschreven fluorescente zones:

1) Het weefsel in de binnenste zone was brilliant blauw fluorescent en bevatte vele blauwzilver fluorescente gliakernen. In de met cresyl violet tegengekleurde coupes waren geen histologische structuren in deze zone zichtbaar. In plaats daarvan waren veel donker gekleurde gliakernen aanwezig.

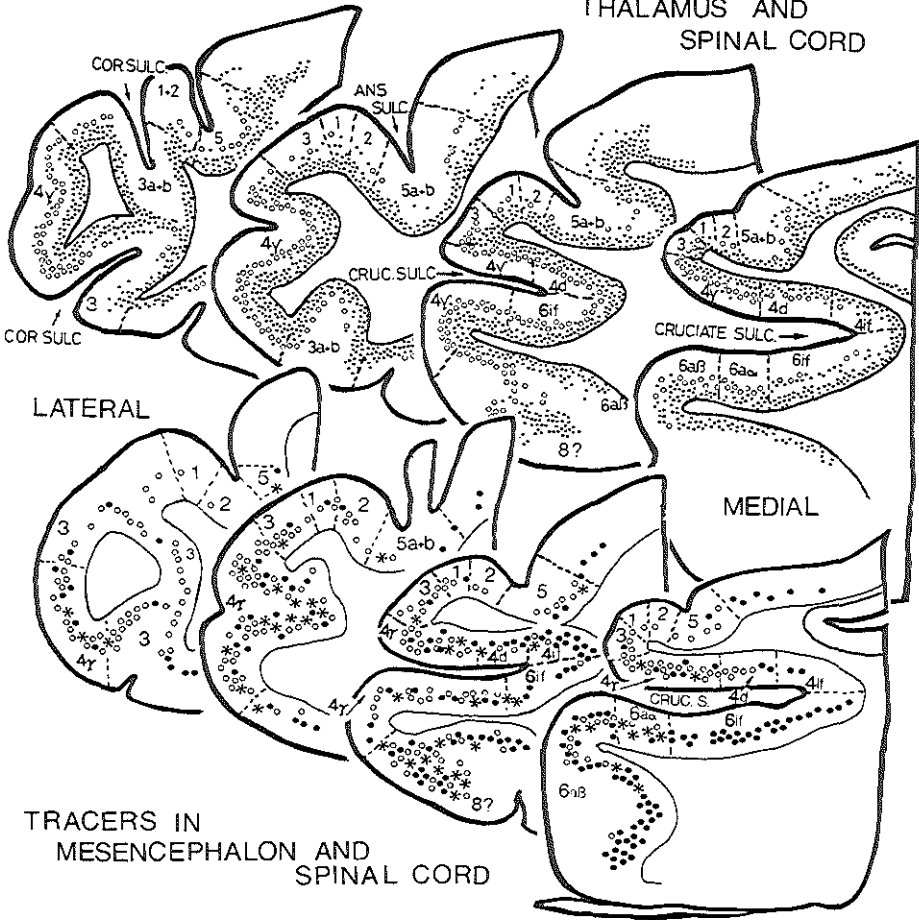
2) Het weefsel in de tweede zone was minder brilliant blauw fluo-

Figuur VII.2.: *Bovenste rij*: laminaire distributie van retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen (open cirkels) en met FB gelabelde corticothalamische neuronen (kleine punten) in sagittale coupes door de frontaallob in de kat. De retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen liggen meer oppervlakkig in de cortex dan het merendeel van de met FB gelabelde corticothalamische neuronen. Er zijn geen retrograad dubbel gelabelde neuronen aanwezig. *Onderste rij*: laminaire distributie van retrograad met NY gelabelde neuronen (open cirkels) en retrograad met FB gelabelde corticomesencephale neuronen (grote punten) in sagittale coupes door de frontaallob in de kat. De retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen en de retrograad met FB gelabelde corticomesencephale neuronen zijn ongeveer op hetzelfde niveau in de cortex gesitueerd. Op dit zelfde niveau is ook een aantal retrograad dubbel gelabelde neuronen (asteriks) gelegen.

Afkortingen: cor.sulc., sulcus coronarius; cruc.s., sulcus cruciatus; ans.sulc., sulcus ansatus.

RIGHT HEMISPHERE
CAT

TRACERS IN
THALAMUS AND
SPINAL CORD



TRACERS IN
MESENCEPHALON AND
SPINAL CORD

- NEURONS LABELED WITH:
- NY FROM SPINAL CORD
 - ⋯ FB FROM THALAMUS
 - FB FROM MESENCEPHALON
 - * NY-FB FROM SPINAL CORD AND MESENCEPHALON

rescent dan in de eerste zone. Het bevatte diffuus blauw fluorescente neuronen en slechts weinig dof fluorescente gliakernen.

De twee fluorescente zones breidden zich uit in de MD, in de VL, in de nuclei anteriores en in het rostrale deel van het ventrobasaal complex van de thalamus, maar niet in de capsula interna (Fig.VII.8.).

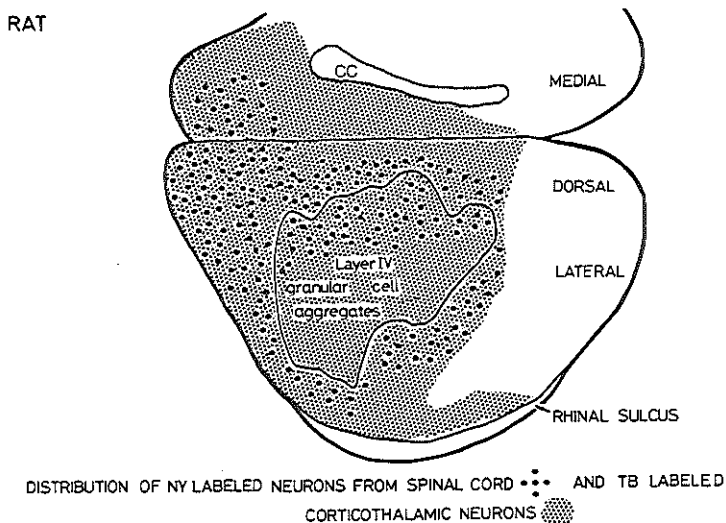
In de met EB geïnjecteerde rat was het weefsel rondom het steekkanaal in de thalamus vlamvend rood fluorescent. De fluorescentie breidde zich uit in de MD, de VL, de nuclei anteriores en het rostrale deel van het ventrobasaal complex. De zona incerta en het mediale deel van de capsula interna aan deze zijde waren niet of slechts dof rood fluorescent.

NY en GB injecties in het ruggemerg van de ratten: De door de micropipet gemaakte steekkanalen beschadigden in het ruggemerg segment C2 van alle vijf ratten de dorsale funiculus, het dorsale deel van de laterale funiculus en het aangrenzende deel van het spinale grijs, contralateraal aan de thalamische injecties. In de vier met NY geïnjecteerde ratten was het weefsel van zowel de witte als de grijze stof aan beide zijden van de mediaanlijn brilliant geel fluorescent met vele brilliant fluorescente gliakernen. De fluorescentie bleef beperkt tot het ruggemerg en breidde zich niet uit in de hersenstam (Fig.VII.8.). Ter hoogte van de injectie plaats waren in de pia en de arachnoidea op het ventrale oppervlak van het ruggemerg sommige kernen brilliant geel fluorescent gelabeld. De pia en de arachnoidea op het ventrale oppervlak van de medulla oblongata waren echter niet geel fluorescent.

In de rat met een EB injectie in de thalamus en GB injecties in het ruggemerg waren rond de steekkanalen in het ruggemerg twee GB fluorescente zones aanwezig, die vrijwel overeen kwamen met de eerder beschreven TB fluorescente zones. Deze zones breidden zich uit in de grijze en witte stof van het ruggemerg contralateraal aan de EB injectie in de thalamus, maar ook in de funiculus dorsalis en in de intermediaire zone aan de andere zijde.

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen in de ratten: De distributie van de retrograad vanuit de thalamus en het ruggemerg gelabelde neuronen in de vijf ratten was in principe hetzelfde als in de twee katten (Fig.VII.3.).

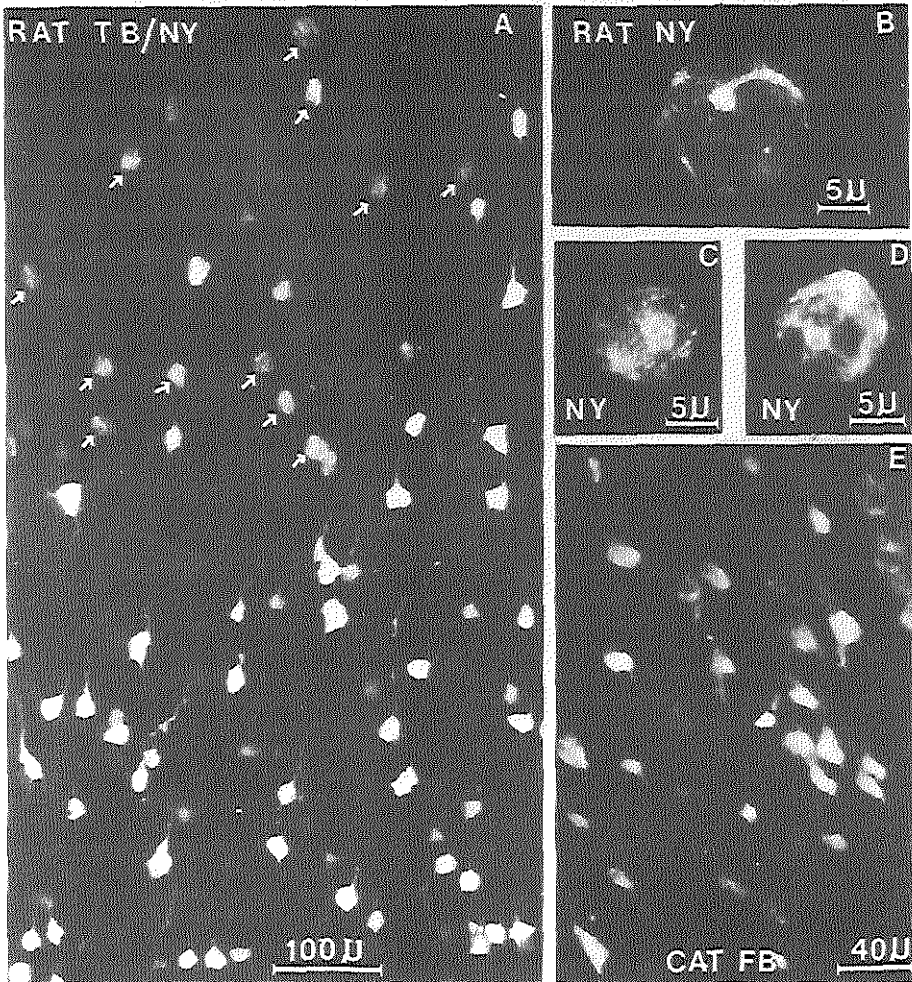
De met TB of EB gelabelde *corticothalamische neuronen* waren gelegen in de orbitale cortex, rostraal op het mediale oppervlak van de hemisfeer, in de somatosensorische en motorische gebieden en in area's 13 en 14.¹⁵¹,¹⁵² Zij waren voornamelijk in lamina VI gesitueerd. Hier waren zij uitermate talrijk (Fig.VII.4.A.). Veel gelabelde neuronen waren ook in lamina V gelegen. In deze lamina waren zij over het algemeen talrijker in het diepe deel dan in het oppervlakkige deel (Fig.VII.4.A.,VII.8.).



Figuur VII.3.: Diagrammatische representatie van de distributie van retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen (grote punten) en van retrograad met TB gelabelde corticothalamische neuronen (kleine punten) op het laterale en mediale oppervlak van de linker hemisfeer in de rat. De buitenste omgrenzing van de in lamina IV gelegen "granular cell aggregates" (SI)³²⁷ is aangegeven met een ononderbroken lijn.

De met NY of GB retrograad gelabelde *corticospinale neuronen* vormden op het dorsale oppervlak van de hemisfeer een ononderbroken band. Deze band reikte van het niveau van het splenium van het corpus callosum tot de rostrale pool van de hemisfeer. Hier breidde deze band van corticospinale neuronen zich ook op het mediale en laterale oppervlak van de hemisfeer uit (Fig.VII.3, VII.7.). Lateraal breidde de band zich uit in het mediale deel van het gebied, dat karakteristieke granulaire "cell aggregates" in lamina IV bevat. In de rat komt dit gebied waarschijnlijk overeen met SI.^{327,332} Op het niveau van het splenium van het corpus callosum was de laterale uitbreiding van de band zodanig, dat deze juist caudaal en lateraal van SI was gelegen. Dit laatstgenoemde gebied komt zeer waarschijnlijk overeen met SII.^{328,333}

THALAMUS AND SPINAL CORD



Figuur VII.4.: Microfoto's van met fluorescente merkstoffen retrograad gelabelde neuronen in de cortex cerebri van de rat en de kat. De foto's zijn opgenomen bij opvallend licht met een golflengte van 360 nm. A: Uitsluitend met TB retrograad gelabelde corticothalamische neuronen en uitsluitend met NY retrograad gelabelde corticospinale neuronen (aangegeven met witte pijlen) in de cortex cerebri van de rat. De corticospinale neuronen zijn meer oppervlakkig in de cortex gesitueerd dan het merendeel van de corticothalamische neuronen. B, C, D: Uitsluitend met NY retrograad gelabelde corticospinale neuronale nuclei in lamina V van de cortex cerebri in de rat. E: Uitsluitend met FB retrograad gelabelde corticothalamische neuronen in lamina VI van de cerebrale cortex in de rat.

De retrograad met NY of GB gelabelde corticospinale neuronen (Fig.VII.4.B-D) waren relatief groot. Zij waren in het diepe deel van lamina V gesitueerd (in area 4 en in SI in lamina Vb¹⁵²). De opbouw van deze lamina in area 4 in de rat verschilt van die in area 4 in de kat. In de rat zijn de grote pyramide cellen in het diepe deel van lamina V geconcentreerd, i.e. in lamina Vb,¹⁵² terwijl relatief kleine pyramide cellen in het oppervlakkige deel van lamina V zijn gelegen, i.e. in lamina Va.¹⁵² In area 4 in de kat¹⁰⁶ zijn relatief grote pyramide cellen in het oppervlakkige deel van lamina V geconcentreerd, i.e. in lamina Va, terwijl relatief kleine pyramide cellen dieper in lamina V zijn gelegen, i.e. in lamina Vb. In area 4 in de ratten was derhalve de populatie retrograad gelabelde corticospinale neuronen in lamina Vb vermengd met de in lamina Vb gelegen corticothalamische neuronen. Vooral op het dorsale oppervlak van de hemisfeer waren sommige retrograad gelabelde corticothalamische neuronen echter ook aanwezig in het bovenste deel van lamina V, i.e. in area 4 in lamina Va, oppervlakkig van de retrograad gelabelde corticospinale neuronen (Fig.VII.8.).

In de vijf ratten met NY injecties in het ruggemerg werden verschillende NY overlevingstijden gebruikt (zie tabel II). In alle gevallen waren de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen even talrijk. Ook hun fluorescentie was in alle gevallen even brilliant. In de rat met de langste NY overlevingstijd (28 uren) waren rondom de retrograad gelabelde corticale neuronen dof fluorescente gliakernen zichtbaar. In alle ratten waren zowel de corticothalamische als corticospinale neuronen slechts met één fluorescente stof gelabeld. In geen van de ratten werden na injecties in thalamus en ruggemerg retrograad dubbel gelabelde neuronen in de cortex gezien.

De huidige bevindingen tonen aan, dat zowel in de kat als in de rat de corticale vezels naar het ruggemerg en de laterale thalamische kernen van twee verschillende groepen neuronen afkomstig zijn, i.e. corticospinale vezels in de kat en de rat distribueren geen axon collateralen naar de laterale thalamische kernen.

VII.3.B. Injecties van fluorescente merkstoffen in het mesencephalon en het ruggemerg

FB injecties in het mesencephalon van de katten: De steekkanalen en de binnenste twee FB fluorescente zones (zie hoofdstuk VII.2.A.) waren in de drie katten met mesencephalon en ruggemerg injecties aanwezig in de volgende mesencephale structuren: de colliculus superior, het centrale grijs, de nucleus ruber en in een groot deel van de mesencephale mediale reticulair formatie (MMRF) (Fig.VII.E-H). De twee binnenste zones breidden zich echter ook uit in

de lemniscus medialis, het ventrale tegmentale gebied (VTA) en in één kat ook in het mediale deel van de substantia nigra pars compacta (SNC). De derde zone (Fig.VII.1.F-G) breidde zich uit in het resterende deel van de MMRF. Ventraal breidde deze zone zich uit in het dorsomediale deel van de substantia nigra pars reticulata (SNR), maar reikte nooit tot in de pedunculus cerebri. Rostraal reikte de derde zone tot aan het prerubrale veld en caudaal tot in de mediale reticulaire formatie ter hoogte van de colliculus inferior.

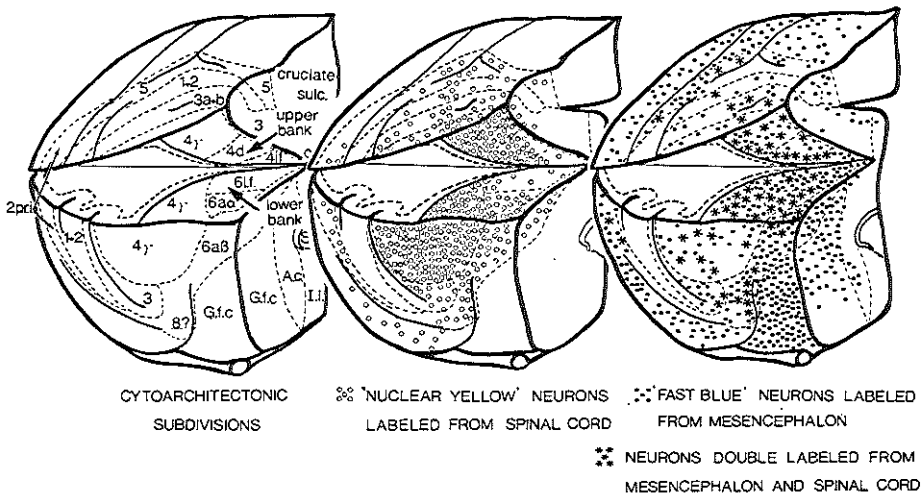
In deze drie katten waren retrograad met FB gelabelde neuronen aanwezig in de nucleus accumbens. Neuronen in deze kern distribueren vezels naar de SNC en het VTA.^{95,240} Deze structuren waren beide in de binnenste twee FB fluorescente zones gelegen. In geen van deze katten werden retrograad gelabelde neuronen in het caudatus-putamen complex gezien. Neuronen in dit complex distribueren vezels naar de SNR.²⁵ Deze was in de huidige experimenten in de derde FB fluorescente zone gelegen. Hieruit werd de conclusie getrokken, dat vrijwel geen FB was opgenomen door vezels of terminalia in de buitenste, derde zone en verder, dat geen FB was opgenomen door vezels in de nog meer ventraal en buiten de derde zone gelegen pedunculus cerebri (Fig.VII.1.F-H).

NY injecties in het ruggemerg van de katten: De NY injectie gebieden in het ruggemerg van deze drie katten zagen er ongeveer hetzelfde uit als in de katten met FB injecties in de thalamus en NY injecties in het ruggemerg (zie hoofdstuk VII.3.A.)

Distributie van de retrograad gelabelde corticomesecephale neuronen in de katten: De met FB retrograad gelabelde corticomesecephale neuronen waren in de frontaalkwabben van de drie katten als volgt gedistribueerd (Fig.VII.2., VII.5.): in de orbitale cortex, in de frontale granulaire cortex, in de wanden van de sulcus presylvius (area 8⁵) en in area's 4 en 6. De retrograad gelabelde corticomesecephale neuronen in area 4 bevonden zich voornamelijk in het laterale deel van dit gebied in de boven- en de onderwanden van de sulcus cruciatus. Retrograad met FB gelabelde neuronen waren echter ook aanwezig in area's 3a 3b, 1, 2, 5, 7 en 2pri (SII) alsook meer caudaal in occipitale en temporale corticale gebieden.

De retrograad gelabelde corticomesecephale neuronen in area's 4 en 6 waren in lamina V gesitueerd. In deze gebieden waren zij geconcentreerd in de oppervlakkige sublamina Va, welke relatief grote neuronen bevat. In area 4 γ waren zij dus op hetzelfde niveau in lamina V gelegen als de Betz cellen, waarvan sommige eveneens vanuit het mesencephalon waren gelabeld. In area 4 γ was een zeer klein aantal met FB vanuit het mesencephalon gelabelde neuronen gelegen in het diepe deel van lamina V, i.e. in lamina Vb. In area's

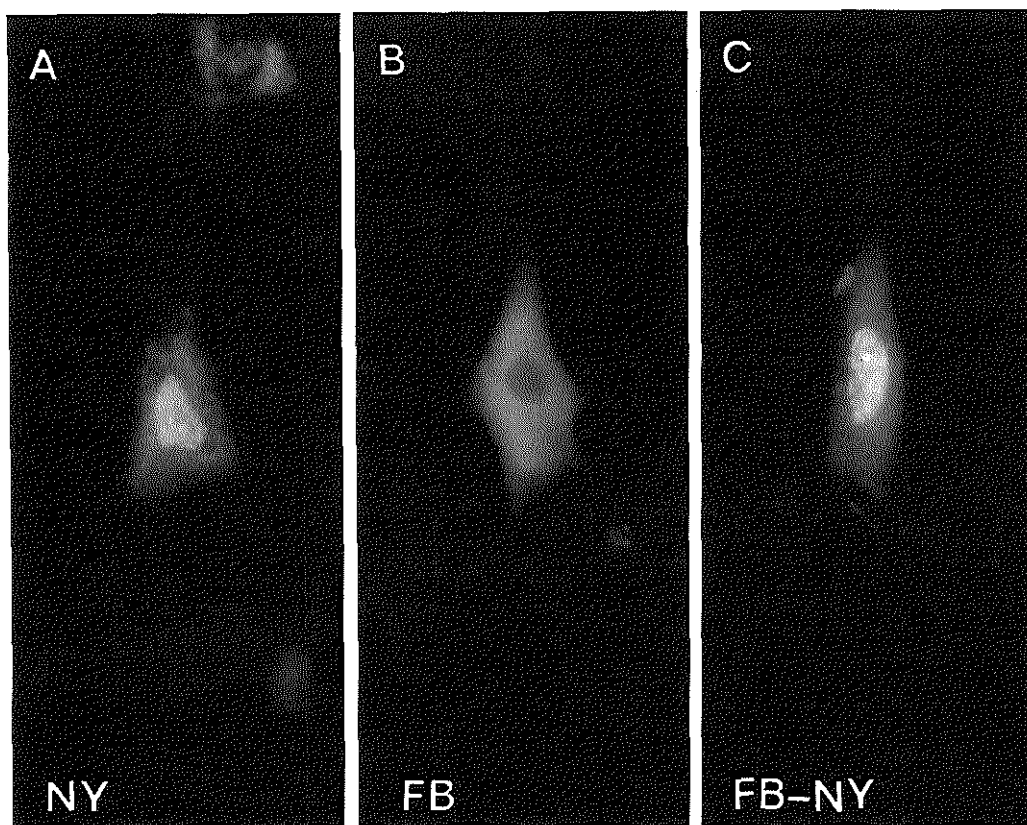
3b, 1, 2, 5 en SII waren de met FB gelabelde neuronen gelegen in het middelste deel van lamina V, i.e. in lamina Vb.



Figuur VII.5.: Het linker diagram toont de onderverdeling van de rechter frontaallob in de kat in cytoarchitectonisch verschillende gebieden volgens Hassler en Muhs-Clement¹⁰⁶. De sulcus cruciatus is opengevouwen. Het middelste en het rechter diagram tonen de resultaten in één en hetzelfde experiment, waarin NY contralateraal in het spinale segment C2 en FB ipsilateraal in het mesencephalon werden geïnjecteerd. Het middelste diagram toont de distributie van de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen. Het rechter diagram toont de distributie van de retrograad met FB gelabelde corticomesecephale neuronen en van de retrograad met NY-FB dubbel gelabelde neuronen.

Afkortingen: G.f.c., granulaire frontale cortex; I.l., infralimbische cortex; A.c., rostrale deel van de gyrus cinguli.

De met NY retrograad gelabelde *corticospinale neuronen* waren in dezelfde gebieden gedistribueerd als in de katten met injecties in de thalamus en het ruggemerg (Fig.VII.2.,VII.5.). Bovendien waren deze met NY gelabelde corticospinale neuronen in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd als het merendeel van de met FB gelabelde corticomesecephale neuronen (Fig.VII.2.). Dus zowel de met FB gelabelde corticomesecephale neuronen als de met NY gelabelde corticospinale neuronen waren in area's 4γ, 4d, 6α, 6β, 3a en 2pri (SII) in lamina Va gesitueerd. Beide populaties neuronen waren hier met elkaar



Figuur VII.6.: Microfoto's van fluorescente retrograad gelabelde neuronen in lamina Va van area 4 γ in de kat na NY injecties in het ruggemerg en FB injecties in het mesencephaal tegmentum. De foto's zijn genomen bij opvallend licht met een golflengte van 360 nm. A: Retrograad uit het ruggemerg met NY gelabelde Betz cel. B: Retrograad vanuit het mesencephaal tegmentum met FB gelabelde Betz cel. C: Retrograad met FB en NY vanuit het mesencephaal tegmentum en het ruggemerg dubbel gelabelde Betz cel

vermengd. Bovendien was een deel van de neuronen in lamina Va, waaronder een aantal Betz cellen retrograad dubbel gelabeld vanuit het mesencephalon en het ruggemerg (Fig.VII.2,VII.6,VII.5). De met FB retrograad gelabelde cortico-mesencephale neuronen en de met NY retrograad gelabelde corticospinale neuronen in area's 3b, 1, 2 en 5 waren alle in lamina Vb gesitueerd. Ook hier bevond zich een aantal dubbel gelabelde neuronen (Fig.VII.2,VII.5.).

De retrograad dubbel gelabelde neuronen in area 4, met inbegrip van de retrograad dubbel gelabelde Betz cellen, waren voornamelijk in het laterale deel van area's 4 γ en 4d in de wanden van de sulcus cruciatus gelegen (Fig.VII.5.). De dubbel gelabelde neuronen waren verder geconcentreerd in area's 6a α , 6a β en in de laterocaudale wand van de sulcus presylvius (area 8⁵). In één van de drie katten werden 1500 retrograad vanuit het ruggemerg met NY gelabelde corticale neuronen geteld in de verschillende coupes door area's 4, 6 en 8⁵. Hiervan werd vervolgens het percentage van de retrograad vanuit het mesencephalon dubbelgelabelde corticospinale neuronen berekend op basis van de op de X-Y plotter uitgewerkte gegevens. Het percentage retrograad vanuit het mesencephalon en het ruggemerg dubbel gelabelde corticospinale neuronen bedroeg in area 4 op de gyrus sigmoideus lateralis 4-6%. In het meer mediale deel van area 4 in de onder- en bovenwanden van de sulcus cruciatus varieerde dit percentage in de verschillende coupes van 9-15%, terwijl het in area 6 tussen de 15 en 20% bedroeg. Dit percentage liep in de laterocaudale wand van de sulcus presylvius (area 8⁵), welke relatief weinig corticospinale neuronen bevat, op tot 36 à 40%.

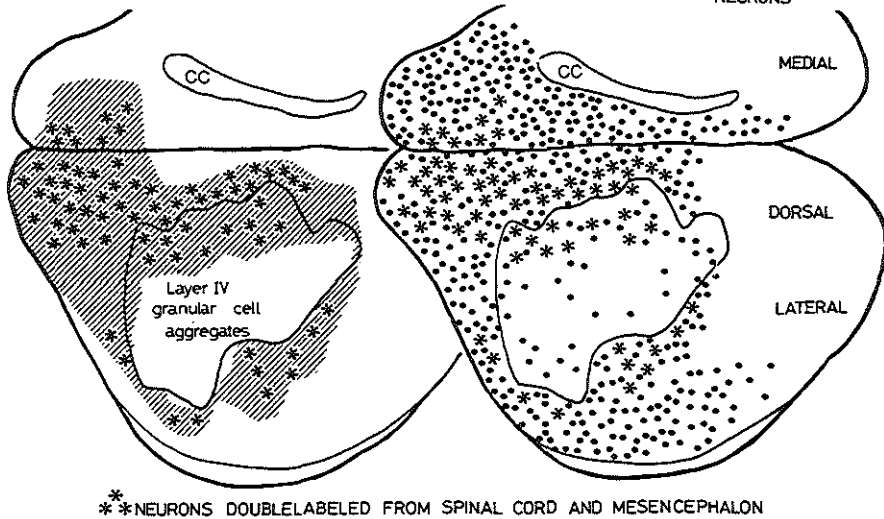
TB en EB injecties in het mesencephalon van de ratten: De mesencephale steekkanalen in de zeven ratten met injecties in het mesencephalon en het ruggemerg doorboorden de cortex, de hippocampus en de colliculus superior aan één zijde en zetten zich over de middellijn voort in de contralaterale nucleus ruber en in de hier omheen liggende MMRF (Fig.VII.8.). In de zes ratten met TB injecties in het mesencephalon besloegen de twee fluorescente zones de nucleus ruber, de MMRF, het dorsale deel van de lemniscus medialis en de VTA. Zij breidden zich echter niet uit in de pedunculus cerebri (Fig.VII.8.). In de rat waarin EB werd geïnjecteerd, was de fluorescentie het meest vlammend rood in de structuren rondom de steekkanalen in het mesencephalon. De pedunculus cerebri was echter ook in deze rat niet fluorescent. In alle ratten waren retrograad met TB of EB gelabelde neuronen aanwezig in de nucleus accumbens, welke vezels distribueert naar de SNC en de VTA.^{95,240} In geen van deze ratten werden echter retrograad gelabelde neuronen aangetroffen in het caudatus-putamen complex, dat vezels naar de SNR distribueert.²⁵ Uit laatstgenoemde bevindingen werd geconcludeerd, dat in geen van deze ratten TB of EB

was opgenomen door vezels in de nog meer ventraal gelegen pedunculus cerebri (zie discussie van hoofdstuk VII).

NY en GB injecties in het ruggemerg van de ratten: De spinale injectie plaatsen in de zeven ratten met injecties in het mesencephalon en het ruggemerg waren ongeveer hetzelfde als de injectie plaatsen in het ruggemerg van de ratten met injecties in de thalamus en het ruggemerg (zie hoofdstuk VII.3.A.).

RAT

DISTRIBUTION OF NY LABELED CORTICOSPINAL  AND TB LABELED CORTICOMESENCEPHALIC  NEURONS



Figuur VII.7.: Diagrammatische representatie op het laterale en mediale oppervlak van de linker hemisfeer van de rat van de distributie van retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen (links) en van retrograad met TB gelabelde corticomesecephale neuronen (rechts) en van retrograad met NY-TB dubbel gelabelde neuronen (links en rechts). De omgrenzing van de "granular cell aggregates" (SI)³²⁷ in lamina IV is door een ononderbroken lijn aangegeven.

Afkorting: CC, corpus callosum.

Distributie van de retrograad gelabelde corticale neuronen in de ratten: De met NY of GB retrograad gelabelde *corticospinale* neuronen waren in dezelfde gebieden gedistribueerd als in de ratten met injecties in de thalamus en het ruggemerg. De retrograad met TB of EB gelabelde *corticomesencephale neuronen* waren in alle ratten in het rostrale twee-derde deel van de hemisfeer gedistribueerd. Zij waren dus in het gebied gelegen, dat ook retrograad gelabelde corticospinale neuronen bevat (Fig.VII.7). Er waren echter relatief weinig retrograad gelabelde corticomesencephale neuronen aanwezig in area S1.

De corticomesencephale neuronen waren door de gehele lamina V heen gedistribueerd (Fig.VII.8). Zij waren echter het talrijkst in het meest oppervlakkige deel van lamina V. In deze ratten bevonden de populaties retrograad gelabelde corticomesencephale neuronen en retrograad gelabelde corticospinale neuronen zich beide dus in lamina V. Vooral in het diepe deel van lamina V (in area 4 in lamina Vb) waren zij innig met elkaar vermengd. In het diepe deel van lamina V (in area 4 in lamina Vb) waren ook veel retrograad dubbel gelabelde neuronen aanwezig.

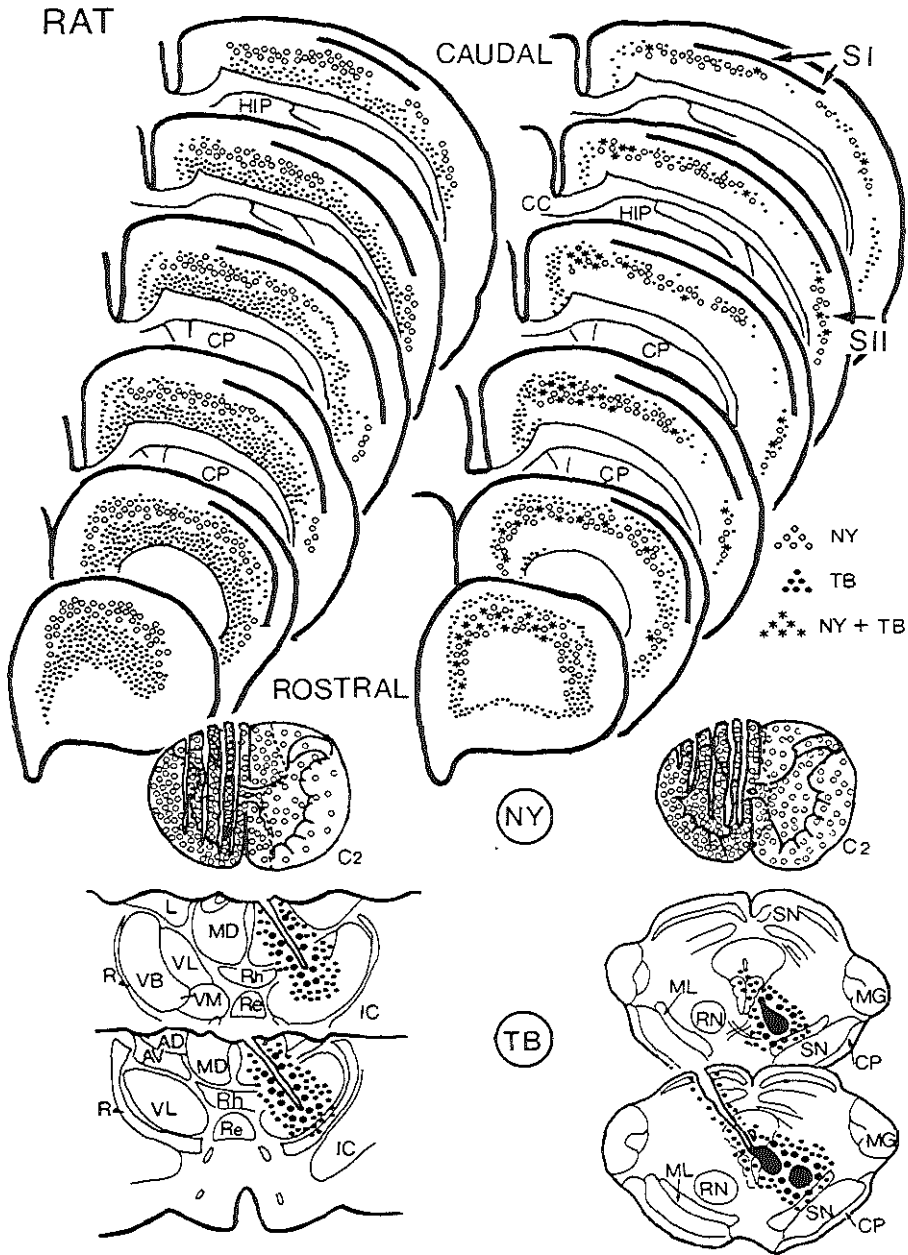
De overlevingstijden na de NY injecties in het ruggemerg varieerden van 24 tot 30 uren (zie tabel II). In alle dieren, dus ook in die met de kortste overlevingstijd, waren veel retrograad dubbel gelabelde neuronen aanwezig in lamina V van het corticospinale neuronen bevattende gebied. Zij waren in het mediale en in het rostrale deel van dit corticale gebied geconcentreerd (Fig.VII.8,VII.7.). In twee ratten werd het percentage van de retrograad vanuit het mesencephalon en het ruggemerg dubbel gelabelde corticospinale neuronen berekend, op basis van de op de X-Y plotter uitgewerkte gegevens. In het meest mediale en rostrale deel van het corticospinale distributie gebied waren 26 tot 35% van de retrograad gelabelde corticospinale neuronen dubbel gelabeld. Het aantal retrograad vanuit het mesencephalon en het ruggemerg dubbel gelabelde corticospinale neuronen in area S1 was zeer klein, omdat in dit gebied slechts zeer weinig retrograad gelabelde corticomesencephale neuronen aanwezig waren. Een klein aantal retrograad dubbel gelabelde neuronen was ook aanwezig in het gebied dat waarschijnlijk overeenkomt met area SII (Fig.VII.8,VII.7.).

De bovenstaande bevindingen tonen aan, dat in de kat en de rat een aantal corticale neuronen axon collateralen distribueert naar het mesencephalon en het ruggemerg, i.e. zowel in de kat als de rat bestaat een deel van de corticale vezels naar het mesencephalon uit collateralen van corticospinale vezels.

Figuur VII.8.: *Linker diagram:* laminaire distributie van de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen en van de retrograad met TB gelabelde corticothalamische neuronen in transversale coupes door de linker hemisfeer van de rat na NY injecties contralateraal in C2 en TB injecties ipsilateraal in de laterale thalamus (zie tekening links onder). De retrograad met NY gelabelde neuronen liggen meer oppervlakkig dan het merendeel van de retrograad met TB gelabelde neuronen. Retrograad dubbel gelabelde neuronen komen niet voor.

Rechter diagram: laminaire distributie van de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen en van de retrograad met TB gelabelde corticomesecephale neuronen in transversale coupes door de linker hemisfeer van de rat na NY injecties contralateraal in C2 en TB injecties ipsilateraal in het mesencephaal tegmentum (zie tekening rechts onder). Vooral in de frontaalpool van de hemisfeer zijn zeer veel dubbel gelabelde neuronen aanwezig. In beide diagrammen geven de dik getrokken zwarte lijnen in de cortex de plaats aan waar de "granular cell aggregates" in lamina IV (SI) zijn gelegen.

Afkortingen: Hip, hippocampus; CP, caudatus-putamen complex; CC, corpus callosum; SI, primaire somatosensibele cortex; SII, secundaire somatosensibele cortex; R, nucleus reticularis; VB, ventro-basaal complex; VL, nucleus ventralis lateralis; L, nucleus lateralis; VM, nucleus ventralis medialis; Rh, nucleus rhomboideus; Re, nucleus reuniens; I.c., capsula interna; AV, nucleus anterior ventralis; AD, nucleus anterior dorsalis; SC, colliculus superior; ML, mediale lemniscus; RN, nucleus ruber; SN, substantia nigra; MG, corpus geniculatum mediale; CP, pedunculus cerebri.



VII.4. Discussie

Distributie van corticothalamische, corticospinale en corticomesencephale neuronen

De laminaire distributie van de retrograad met FB, TB en EB gelabelde corticothalamische neuronen in lamina VI en in het diepe deel van lamina V in de door ons bestudeerde katten en ratten (Fig.VII.2,VII.3,VII.6) is in goede overeenstemming met bevindingen in HRP experimenten^{126,282,332} (hoofdstuk VI van dit proefschrift). Gezien de afmetingen van de injectie gebieden zijn de retrograad gelabelde corticothalamische neuronen, die in het oppervlakkige deel van lamina V waren gelegen (in area's 4 en 6 in lamina Va), wellicht neuronen die naar niet specifieke thalamische kernen projecteren, zoals de²⁷⁸ nucleus centralis lateralis, die ook vezels uit de motorische cortex ontvangt. De distributie van de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen in de katten is in goede overeenstemming met de bevindingen met de HRP transport techniek^{10,96} (zie hoofdstuk VI van dit proefschrift).

Retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen waren echter ook aanwezig in area's 6aα en 6aβ, in de wanden van de sulcus orbitalis en in de cortex van de gyrus orbitalis. De aanwezigheid van corticospinale neuronen in bovenstaande gebieden was nog niet eerder aangetoond met retrograde transport technieken, maar is wel in goede overeenstemming met anterograde degeneratie bevindingen.^{244,245}

De retrograad met NY of GB gelabelde corticospinale neuronen in de ratten waren over een groter oppervlak van de hemisfeer gedistribueerd dan in eerdere HRP experimenten was beschreven^{112,333} (Fig.VII.7,VII.8). In de huidige experimenten vormden de corticospinale neuronen een ononderbroken band op het dorsale oppervlak van de hemisfeer. Deze band, die zich voortzette op het anteromediale en op het laterale oppervlak van de hemisfeer komt ongeveer overeen met het corticale motorische gebied dat Hall en Lindholm¹⁰⁰ met behulp van elektrische prikkeling hebben afgebakend. Retrograad gelabelde corticospinale neuronen werden verder aangetroffen in het gebied, dat waarschijnlijk^{328,333} correspondeert met SII.

Zowel in de katten als in de ratten waren de retrograad met NY gelabelde corticospinale neuronen talrijker dan in de met behulp van HRP uitgevoerde experimenten (zie hoofdstuk VI van dit proefschrift). In beide diersoorten waren de retrograad gelabelde corticospinale neuronen in area 4 in een ononderbroken in lamina V liggende band gerangschikt. Dit is in tegenstelling tot de rangschikking in groepjes zoals is beschreven in HRP experimenten.^{96,332} De om de met NY gelabelde corticospinale neuronen gelegen gliakernen waren

niet of slechts dof fluorescent. Dit wijst er op dat geen of slechts minimale migratie van NY uit retrograad gelabelde neuronen heeft plaats gevonden.²² Derhalve kunnen eerder vermeldde kwantitatieve verschillen tussen bevindingen in NY en HRP experimenten niet zijn veroorzaakt door valse labeling van neuronen met NY.

De distributie van de *retrograad gelabelde corticomesencephale neuronen* (Fig.VII.2,VII.4,VII.5,VII.8) is, zowel in de katten als in de ratten, in goede overeenstemming met bevindingen in eerdere experimenten.^{19,44,137,168,197,213,251} In beide diersoorten waren zij alle in lamina V gesitueerd (Fig.VII.2,VII.8).

De retrograad gelabelde corticospinale neuronen waren in area's 4 en 6 van zowel de katten als de ratten in dat deel van lamina V gesitueerd, dat relatief grote neuronen bevat, i.e. in area 4 in de rat in lamina Vb, en in area 4 in de kat in lamina Va. Het merendeel van de retrograad gelabelde corticomesencephale neuronen in beide diersoorten was oppervlakkig, in lamina Va, gesitueerd, terwijl relatief minder corticomesencephale neuronen in lamina Vb waren gelegen. De corticomesencephale neuronen waren in lamina Vb in de ratten relatief talrijker dan in lamina Vb in de katten. In area 4 van de ratten bevatte lamina Va dus voornamelijk corticomesencephale neuronen, terwijl in lamina Vb zowel corticomesencephale neuronen als corticospinale neuronen waren gelegen. In de katten bevatte lamina Va echter zowel corticomesencephale als corticospinale neuronen, terwijl in lamina Vb uitsluitend een relatief zeer klein aantal corticomesencephale neuronen was gelegen.

Distributie van retrograad dubbel gelabelde neuronen

Na gecombineerde injecties van fluorescente merkstoffen unilateraal in het cervicale ruggemerg en contralateraal hiervan in de laterale thalamus waren in de katten en de ratten de retrograad gelabelde corticospinale en corticothalamische neuronen ten dele in hetzelfde deel van lamina V gesitueerd. Er werden echter geen retrograad dubbel gelabelde neuronen geobserveerd (Fig. VII.2,VII.8). Volgens de huidige experimenten bestaan dus in de cortex van de kat en de rat twee elkaar enigszins overlappende populaties neuronen, die of naar het ruggemerg of naar de laterale thalamus projecteren, i.e. corticospinale neuronen distribueren geen axon collateralen naar de laterale thalamische kernen. Dit is in goede overeenstemming met antidrome stimulatie bevindingen,^{33,305} welke histologisch werden gecontroleerd.

Na injecties van fluorescente merkstoffen unilateraal in het cervicale ruggemerg en contralateraal hiervan in het mesencephalon waren zowel in de ratten als in de katten neuronen in de cortex retrograad dubbel gelabeld (VII.2,VII.5,VII.6,VII.7,VII.8). De mogelijkheid bestaat, dat deze neuronen

retrograad dubbel gelabeld werden door opname van de in het mesencephalon geïnjecteerde fluorescente merkstof in corticale vezels, die in de pedunculus cerebri descenderen.¹⁸¹ Deze mogelijkheid kan echter vrijwel worden uitgesloten. In alle dieren waren retrograad vanuit het mesencephalon gelabelde neuronen slechts aanwezig in de nucleus accumbens welke vezels distribueert naar de SNC en de VTA,^{95,240} terwijl zij niet aanwezig waren in het caudatus-putamen complex dat vezels distribueert naar de meer ventraal gelegen SNR.²⁵ Hieruit kan men afleiden dat de corticospinale vezels, die in de nog meer ventraal gelegen pedunculus cerebri descenderen, geen fluorescente merkstoffen hebben opgenomen. Uit de resultaten in de huidige experimenten mag derhalve de conclusie worden getrokken, dat sommige corticale neuronen in de kat en de rat axon collateralen zenden naar het ruggemerg en het mesencephalon. Een deel van de corticomesencephale vezels in de kat en de rat bestaat dus uit collateralen van corticospinale vezels. Dit is in goede overeenstemming met eerdere electrofysiologische bevindingen.^{123,313} Na injecties van fluorescente merkstoffen in het mesencephalon en het ruggemerg van de ratten waren de dubbele gelabelde neuronen in het mediale deel van de corticospinale distributie gebied geconcentreerd. In dit gebied was 25 tot 40% van de retrograad gelabelde corticospinale neuronen dubbel gelabeld. Het percentage vanuit het mesencephalon en het ruggemerg retrograad dubbel gelabelde corticospinale neuronen in de kat was kleiner dan in de rat. Deze dubbel gelabelde neuronen waren geconcentreerd in de volgende gebieden (Fig.VII.5.):

(1) in area 4, in de laterale delen van de boven- en onderwanden van de sulcus cruciatus. Dit gebied komt ongeveer overeen met de "common zone" van Armand,^{9,10,109} die neuronen bevat welke naar beide spinale intumescenties projecteren; (2) in area 6α en het aangrenzende deel van area 6β. Electriche prikkeling van dit gebied veroorzaakt voornamelijk bewegingen van spieren van de rug en de nek;²⁴¹ (3) in de laterale wand van de sulcus presylvius. Waarschijnlijk bevindt zich in de laterale wand van de sulcus presylvius het frontale oogveld van de kat. Volgens fysiologische onderzoeken kunnen uit dit gebied bewegingen van het oog worden opgewekt.^{5,60,291} De corticospinale neuronen, die in de kat collateralen distribueren naar het mesencephalon lijken dus voornamelijk in die gebieden te zijn geconcentreerd, die betrokken zijn bij bewegingen van ogen, hoofd, nek en romp.

Hoofdstuk VIII: DE LAMINAIRE DISTRIBUTIE VAN DE CELLEN VAN OORSPRONG
VAN DESCENDERENDE VEZELS UIT DE MOTORISCHE CORTEX IN
DE KAT EN DE AAP: DISCUSSIE

In de in dit proefschrift beschreven experimenten werd de laminaire distributie van de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in de kat en de aap bestudeerd. Dit was mogelijk door middel van de in de zeventiger jaren ontwikkelde retrograde axonale transport techniek.^{156,157,158,159,184,239} Hierbij wordt gebruik gemaakt van het feit, dat het enzym mierikswortelperoxidase (horseradish peroxidase: HRP) door axonterminalia en gelaedeerde axonen wordt opgenomen en retrograad door het axon naar het cellichaam wordt getransporteerd.^{156,157,158,159,184,239} Vervolgens kan het enzym met een histochemische reactie⁹¹ in het cellichaam worden aangetoond. In de discussies van de hoofdstukken V en VI werd reeds uitvoerig aandacht besteed aan de areale distributie van de cellen van oorsprong van de op deze wijze onderzochte vezelverbindingen in de kat en de aap. Hierbij kwam naar voren dat de desbetreffende resultaten in de huidige experimenten goed overeenkwamen met bevindingen in andere anatomische en in fysiologische studies. Het laminaire distributiepatroon van de oorsprongscellen van de bestudeerde vezelbundels verdient echter een nadere beschouwing.

Met behulp van fysiologische technieken werd reeds eerder een andere organisatievorm in de cortex cerebri aangetoond. Zo beschreef Mountcastle³⁴¹ voor het eerst in 1957 het bestaan van vertikaal georiënteerde kolommen in de somatosensibele cortex van de kat. Deze kolommen zijn opgebouwd uit neuronen, die ieder door eenzelfde groep somatosensibele afferenten worden geëxciteerd. Het bestaan van dergelijke kolommen werd door Hubel en Wiesel¹²⁰ ook in de visuele cortex van de kat aangetoond. Ook op basis van anatomische gegevens waren dezelfde verticale kolommen aantoonbaar. Zo beschreven Woolsey en van der Loos³⁴⁴ de "barrels" in de somatosensibele cortex van de muis. Zij toonden aan dat iedere "barrel" afferenten van een individuele snorhaar ontvangt. Verder toonden Wiesel en zijn medewerkers³⁴³ door middel van het trans-neuronale transport van getritieerd leucine aan dat in de aap afferenten uit een oog, via het corpus geniculatum laterale met verticale kolommen neuronen in de visuele cortex verbonden zijn. In het licht hiervan is het van belang om nogmaals te onderstrepen, dat de bevindingen in de in dit proefschrift beschreven experimenten de *laminaire* structuur van de cortex belichten, welke diametraal staat ten opzichte van de eerder aangetoonde^{120,341,344} kolomnaire structuur.

De resultaten van de in dit proefschrift beschreven experimenten laten zien dat in de motorische en somatosensibele corticale gebieden van de aap, de kat en de rat, de cellen van oorsprong van descenderende vezels in laminae V en VI zijn geconcentreerd. Dit is in goede overeenstemming met de resultaten in andere onderzoeken met behulp van het retrograde transport

van HRP, waarin eveneens de cellen van oorsprong van deze vezels werden geïdentificeerd.^{135,282,325,326,331,332}

Ter verduidelijking is het van belang te onderstrepen, dat deze laminaire distributie van de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in laminae V en VI verschilt van de laminaire distributie van de cellen van oorsprong van intra- en interhemisferische vezels. Dit is gebaseerd op retrograde transport bevindingen in de aap,¹³⁵ de kat³³⁴ en de rat¹²⁵ die aantonen, dat corticale neuronen die naar de cortex van de ipsilaterale of de contralaterale hemisfeer projecteren voornamelijk in laminae II en III zijn gesitueerd. Volgens bevindingen van Jones en Wise¹³⁵ is in de sensorimotorische cortex van de aap bovendien nog een verdere differentiatie aanwezig. De corticale neuronen die naar de cortex van dezelfde hemisfeer projecteren zijn namelijk in lamina II en lamina IIIa gesitueerd. Zij liggen derhalve meer oppervlakkig in de cortex dan de neuronen, die naar de cortex van de contralaterale hemisfeer projecteren in lamina IIIb. Zowel in de aap, de kat als de rat zijn cortico-corticale neuronen ook in laminae V en VI gesitueerd, waar zij vooral in de rat vrij talrijk zijn.^{125,135,334} Volgens Wise en Jones³³² zou de meer beperkte laminaire distributie van cortico-corticale neuronen in de aap in vergelijking met de rat zijn ontstaan door een ander migratie patroon van neuronen naar de cortex gedurende de ontwikkeling. Een deel van de cortico-corticale neuronen, inclusief de neuronen die via het corpus callosum naar de schors van de contralaterale hemisfeer projecteren, zijn dus op dezelfde hoogte in de cortex gesitueerd, als de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels. De cortico-corticale neuronen die via het corpus callosum naar de contralaterale hemisfeer projecteren, zijn echter duidelijk van de oorsprongscellen van descenderende vezels te onderscheiden, omdat met fysiologische en anatomische onderzoeksmethoden kon worden aangetoond dat corticospinale neuronen geen axoncollateralen via het corpus callosum naar de schors van de contralaterale hemisfeer zenden.⁴⁸

Met betrekking tot de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels laten de resultaten in de huidige experimenten zien, dat de neuronen die naar de thalamus, de hersenstam en het ruggemerg projecteren in de aap, de kat en in zekere mate ook in de rat voor een deel op verschillende niveaus in laminae V en VI zijn gerangschikt. Deze verschillen in laminaire distributie van de neuronen die naar deze subcorticale structuren projecteren, zijn echter meer uitgesproken in de aap.

Teneinde de bespreking van de gegevens te vergemakkelijken, moet opnieuw worden benadrukt, dat volgens de klassieke beschrijvingen^{42,106,130} lamina V in de frontale agranulaire gebieden 4 en 6 in de kat een andere in-

wendige structuur vertoont, dan in de aap. In area's 4 en 6 van beide diersoorten kan lamina V in twee sublaminae worden onderverdeeld, te weten in een oppervlakkige lamina Va en in een dieper gelegen lamina Vb. In de oppervlakkige lamina Va van de kat zijn relatief grote pyramidecellen, inclusief de Betz cellen in area 4 γ gelegen, terwijl de diepe lamina Vb relatief kleine neuronen bevat.⁹¹ In de aap daarentegen zijn de relatief grote pyramidecellen, inclusief de Betz cellen in area 4 in de diepe lamina Vb gelegen, terwijl de oppervlakkige lamina Va hoofdzakelijk relatief kleine pyramidecellen bevat.^{42,130} Zoals wij later zullen bespreken is deze omkering in structuur van lamina V in de aap ten opzichte van de kat, waarschijnlijk meer schijn dan werkelijkheid. De huidige gegevens suggereren namelijk, dat het oppervlakkige deel van lamina Vb in de aap overeenkomt met lamina Va in de kat en dat lamina Vb, zoals die in de kat is beschreven, in de aap tot nu toe niet als een aparte sublamina werd aangeduid. Voor we echter hier verder op in gaan is het nodig om de resultaten in de huidige experimenten, voor zover zij de laminaire distributie van de oorsprongscellen van descenderende corticale vezels betreffen, in het kort te bespreken.

De gegevens in de huidige retrograde transport experimenten tonen aan dat in de motorische cortex van de aap, de kat en de rat de cellen van oorsprong van corticale vezels naar de laterale thalamus inclusief de nucleus ventralis lateralis, voornamelijk in het diepe deel van lamina V en in lamina VI zijn gelegen. In lamina V van area 4 γ in de kat zijn de relatief kleine corticothalamische neuronen in lamina Vb, dus onder het niveau van de Betz cellen gelegen. In area 4 van de aap is deze groep relatief kleine neuronen in lamina Vb, echter voornamelijk in het meest diepe deel van deze sublamina gelegen, en wel eveneens onder het niveau van de Betz cellen. Dit is in goede overeenstemming met resultaten in experimenten, waarin de cellen van oorsprong van corticothalamische vezels in de sensorimotorische cortex van de aap,¹³⁵ de kat²⁸² en de rat¹²⁶ werden bestudeerd. De huidige bevindingen zijn echter ook in goede overeenstemming met de, met behulp van het retrograad axonaal transport van HRP gevonden laminaire distributie van corticothalamische neuronen in andere corticale gebieden, zoals in de visuele cortex van de kat,⁸⁴ de aap²¹⁰ de rat^{126,332} en de eekhoorn²⁸¹ en in de auditore corticale gebieden van de rat¹²⁶ en de hamster.²⁷⁰

De bevindingen in de huidige experimenten tonen verder aan, dat in area's 4 en 6 van de kat, de aap en de rat de corticospinale neuronen in grote meerderheid onmiddellijk boven het niveau van de cellen van oorsprong van de corticale vezels naar de specifieke thalamische kernen zijn gelegen. Dit is in goede overeenstemming met de bevindingen van Jones en Wise.^{135,332} In alle drie

diersoorten zijn de corticospinale neuronen in dat deel van lamina V gelegen, dat relatief grote neuronenvaat.^{10,54,135,332} In area 4 van de aap en de kat liggen zij dus in dat deel van lamina V dat de Betz cellen bevat, welke cellen na injecties in het ruggemerg voor de overgrote meerderheid retrograad gelabeld waren. Dit betekent, dat de corticospinale neuronenv in de kat in lamina Va zijn gelegen. In de aap zijn de corticospinale neuronenv in lamina Vb gesitueerd, en wel uitsluitend op het niveau van de Betz cellen.

De huidige experimenten in de aap en de kat tonen verder aan, dat de cellen van oorsprong van corticale vezels naar de mediale reticulaire formatie van de pons en de medulla oblongata en de cellen van oorsprong van frontale vezels naar de colliculus superior op hetzelfde niveau in de cortex zijn gelegen als de corticospinale neuronenv. In area 4 γ van de kat liggen zij in lamina Va en in area 4 van de aap in lamina Vb, en wel uitsluitend op het niveau van de Betz cellen. Met betrekking tot de ligging van de frontocolliculaire neuronenv valt op, dat zowel in de kat als in de aap hun laminaire distributie goed overeenkomt met die van corticocolliculaire neuronenv in de occipitaalschors (area 17),^{84,210} waar zij eveneens in lamina V zijn gesitueerd.

In de huidige experimenten in de kat waren de cellen van oorsprong van corticale vezels naar het ventrale deel van het mesencephaal tegmentum inclusief de nucleus ruber, eveneens bijna uitsluitend in dat deel van lamina V gesitueerd, dat relatief grote neuronenv bevat, i.e. in area 4 γ op het niveau van de Betz cellen. Dit impliceert dat in de kat het merendeel van deze neuronenv op hetzelfde niveau in de cortex is gelegen, als de corticospinale neuronenv. In area 4 van de aap is slechts een relatief klein deel van de corticomesencephale neuronenv en wel de neuronenv die naar de nucleus ruber pars magnocellularis projecteren en de neuronenv die naar de mesencephale mediale reticulaire formatie projecteren op het niveau van de Betz cellen gesitueerd. In tegenstelling tot de situatie in de kat, bevindt echter een zeer groot deel van de corticomesencephale neuronenv in de aap, te weten die neuronenv die naar de nucleus ruber pars parvocellularis projecteren, zich boven het niveau van de Betz cellen in lamina Va.

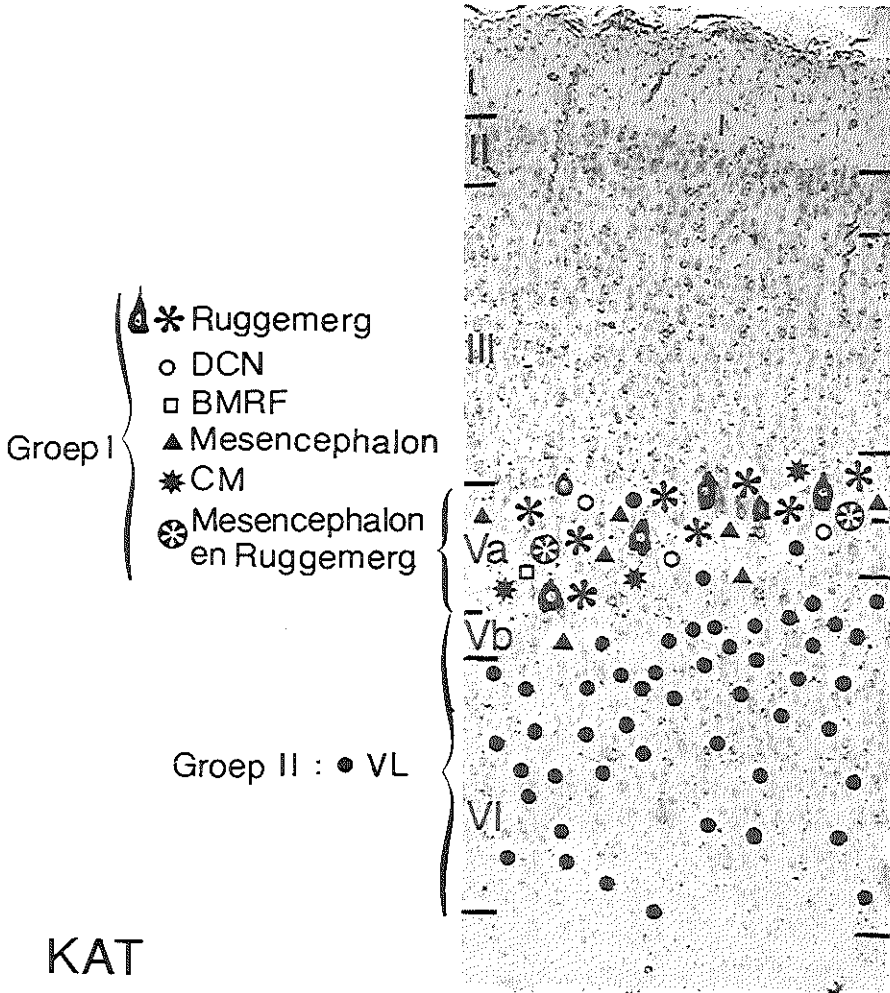
Uit de in dit proefschrift beschreven experimenten kwam verder naar voren, dat de cellen van oorsprong van corticale vezels naar de nuclei cuneatus en gracilis en naar de nuclei centromedianus en parafascicularis thalami, zowel in area 4 van de kat als van de aap, in de oppervlakkige sublamina Va waren gesitueerd. Deze bevinding was in goede overeenstemming met de resultaten in andere experimenten, waarin het retrograde axonale transport van HRP werd toegepast.^{135,325,326} Alhoewel deze neuronenv in de kat en de aap in een gelijkbenoemde sublamina van lamina V zijn gelegen is hun werkelijke

positie in deze beide diersoorten duidelijk verschillend. In area 4 γ van de kat zijn deze neuronen namelijk op het niveau van de Betz cellen gelegen, terwijl zij in de aap boven het niveau van de Betz cellen zijn gesitueerd. In dit verband is het van belang om te vermelden, dat volgens Jones en zijn medewerkers^{129,135} de corticale neuronen in de aap die naar de ponskernen projecteren en de neuronen die naar het striatum projecteren eveneens in lamina Va, i.e. in area 4 boven het niveau van de Betz cellen zijn gesitueerd. Volgens Oka²⁴⁸ zijn in de kat de cellen van oorsprong van corticale vezels naar het striatum echter niet alleen in lamina V, maar voor een groot deel ook in lamina III gelegen.

Op grond van de huidige bevindingen kunnen de cellen van oorsprong van descenderende vezels, in de motorische gebieden 4 en 6 van *de kat* dus in *twee groepen* worden onderverdeeld, die op verschillende niveaus in laminae V en VI zijn gelegen. Eén groep (groep I in de kat) is geconcentreerd in het oppervlakkige deel van lamina V (Va), waarin relatief grote neuronen, inclusief de Betz cellen in area 4 γ zijn gelegen. (Fig. VIII.1.). Deze groep omvat onder andere de corticospinale neuronen, de neuronen die naar het ventrale deel van het mesencephaal tegmentum inclusief de nucleus ruber projecteren, de neuronen die naar de colliculus superior projecteren, de neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren en de neuronen die naar de nuclei centromedianus en parafascicularis thalami projecteren. De tweede groep van neuronen (groep II in de kat) ligt voor het merendeel diep in de cortex en sluit bij de vorige groep aan. (Fig. VIII.1.). Deze groep neuronen is namelijk in het diepe deel van lamina V (Vb) en in de eronder gelegen lamina VI gesitueerd. Deze groep omvat de corticothalamische neuronen die naar de specifieke thalamische kernen, inclusief de nucleus ventralis lateralis thalami projecteren. Deze twee groepen die op verschillende niveaus in de cortex zijn gelegen, overlappen elkaar enigszins, in die zin dat een klein deel van de corticothalamische neuronen (groep II in de kat) met de in lamina Va gelegen neuronen van groep I zijn vermengd.

Uit de resultaten van de in dit proefschrift beschreven experimenten blijkt echter, dat in de motorische corticale gebieden 4 en 6 van *de aap*, *drie groepen* neuronen kunnen worden onderscheiden, die op verschillende niveaus in laminae V en VI zijn gesitueerd. (Fig. VIII.2.). In de aap kunnen de neuronen, die in de kat samen in groep I zijn gerangschikt, namelijk in *twee* boven elkaar gelegen groepen worden verdeeld. Eén groep neuronen (groep IA in de aap) is in dat deel van lamina V geconcentreerd, dat relatief grote neuronen bevat, i.e. in lamina Vb. In lamina Vb van area 4 zijn zij echter uitsluitend op het niveau van de Betz cellen gelegen. Groep IA in de aap omvat de corticospinale

Schematische representatie van de distributie van neuronen in area 4 \sqrt , die projecteren naar:



Figuur VIII.1. : Lichtveld microfoto van area 4 γ in de kat, waarin de laminaire distributie van de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels semidiagrammatisch is gerepresenteerd. Deze neuronen kunnen in twee verschillende groepen worden onderverdeeld.

De neuronen van groep I zijn oppervlakkig in lamina V gelegen, i.e. in lamina Va op het niveau van de Betz cellen. Tot deze groep behoren de neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis (DCN), de bulbaire mediale reticulaire formatie (BMRF), de nucleus centromedianus thalami (CM), het mesencephaal tegmentum en het ruggemerg projecteren.

De neuronen van groep II zijn dieper in de cortex gelegen dan die van groep I. Zij zijn in lamina Vb en in lamina VI gesitueerd, i.e. onder het niveau van de Betz cellen. Deze neuronen projecteren naar de laterale thalamus, inclusief de nucleus ventralis lateralis (VL).

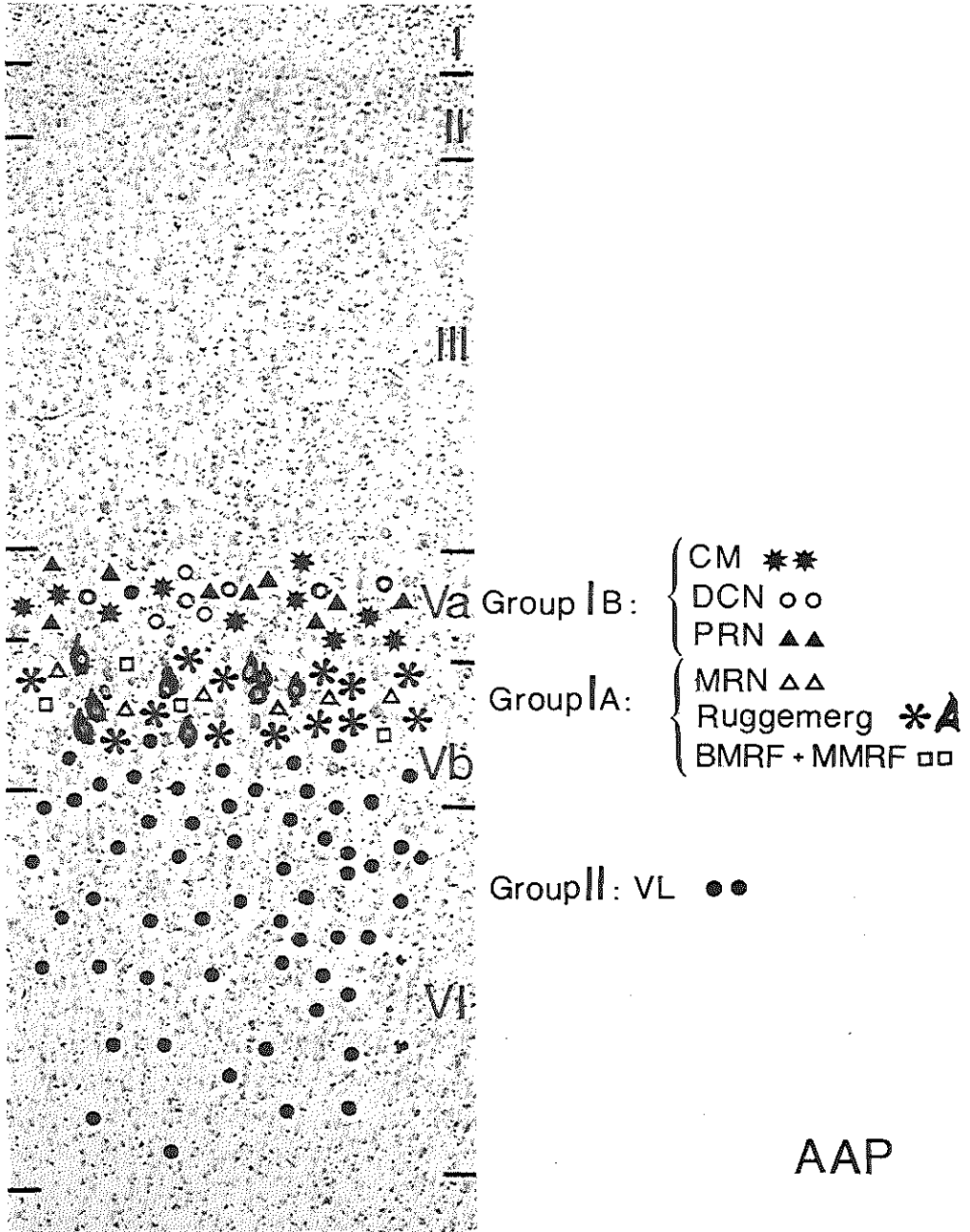
Figuur VIII.2. : Lichtveld microfoto van area 4 in de aap, waarin de laminaire distributie van de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels semidiagrammatisch is gerepresenteerd. Deze neuronen kunnen in drie verschillende groepen worden verdeeld.

De neuronen van groep IA zijn in lamina Vb gesitueerd op het niveau van de Betz cellen. Tot deze groep behoren de neuronen die naar het ruggemerg, de nucleus ruber pars magnocellularis (MRN), de bulbaire mediale reticulaire formatie (BMRF), en de mesencephale mediale reticulaire formatie (MMRF) projecteren.

De neuronen van groep IB zijn meer oppervlakkig in lamina V gesitueerd, i.e. in lamina Va boven het niveau van de Betz cellen. Tot deze groep, behoren de neuronen die naar de nucleus centromedianus thalami (CM), de nucleus ruber pars parvocellularis (PRN) en de nuclei cuneatus en gracilis (DCN) projecteren.

De neuronen van groep II zijn in lamina Vb en VI geconcentreerd, i.e. onder het niveau van de Betz cellen. Zij projecteren naar de nucleus ventralis lateralis thalami (VL).

Schematische representatie van de distributie van neuronen
in area 4 van de aap, die projecteren naar



neuronen, de neuronen die naar de mediale reticulaire formatie van pons en medulla oblongata projecteren, de neuronen die naar de nucleus ruber pars magnocellularis projecteren en de neuronen die naar de colliculus superior projecteren. Een andere groep neuronen (groep IB in de aap) is meer oppervlakkig in lamina V gelegen, namelijk in lamina Va boven het niveau van de populatie grote neuronen in lamina Vb. Deze groep omvat de neuronen, die naar de nucleus ruber pars parvocellularis projecteren, de neuronen die naar de nuclei centromedianus en parafascicularis thalami projecteren en de neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren. Waarschijnlijk behoren ook de neuronen die naar het striatum projecteren en de neuronen die naar de ponskernen projecteren^{129,135} tot deze groep. Groep II in de aap is dieper in de cortex gelegen dan de groepen IA en IB. De neuronen die tot deze groep behoren zijn in het diepe deel van lamina Vb en in lamina VI gesitueerd. Tot deze groep neuronen behoren de cellen van oorsprong van de corticale vezels naar de specifieke thalamische kernen, inclusief de nucleus ventralis lateralis.

Een vergelijking van het laminaire distributiepatroon van de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in de kat en de aap laat dus zien, dat in de motorische corticale gebieden 4 en 6 van de aap een verdere differentiatie optreedt in vergelijking met de kat, in die zin dat in lamina V van de aap een ruimtelijke scheiding is opgetreden tussen de neuronen die naar het ruggemerg en de cellen van oorsprong van descenderende hersenstambanen projecteren en de neuronen, die naar andere subcorticale bestemmingen projecteren. In de aap komen de cellen van de laatste groep (groep IB in de aap) oppervlakkig van de eerste groep (groep IA in de aap) te liggen.

Op dit punt is het zinvol om terug te keren naar de paradoxen in de interne cytoarchitectonische onderverdeling van lamina V in de motorische cortexvelden 4 en 6 van de kat en de aap. In de kat liggen de grote pyramidecellen, inclusief de Betz cellen in area 4γ hoofdzakelijk in de oppervlakkige lamina Va, terwijl zij in de aap hoofdzakelijk in de diepe lamina Vb zijn gesitueerd. Gezien het feit, dat echter in beide diersoorten de specifieke corticothalamische neuronengroepen (Groepen II in de aap en de kat) onmiddellijk onder het niveau van de grote pyramidecellen in lamina V zijn gelegen, is het waarschijnlijk dat lamina Vb in de kat overeenkomt met het meest diepe deel van lamina Vb (lamina Vb "pars profunda") in de aap. De oppervlakkige lamina Va in de kat, welke in area 4γ de Betz cellen herbergt, zou dan analoog zijn aan het bovenste deel van lamina Vb (lamina Vb "pars superficialis") in de aap, welk deel immers eveneens Betz cellen bevat. Het enige verschil tussen lamina V in de kat en de aap zou er dan uit bestaan, dat in de aap lamina V naar boven is uitgebreid met een populatie relatief kleine neuronengroepen, welke in area 4 boven

het niveau van de Betz cellen zijn gelegen en die aangeduid worden als behorend tot lamina Va. In de kat is deze groep neuronen verscholen tussen de relatief grote neuronen in het oppervlakkige deel van lamina V (Va).

Met betrekking tot het distributiepatroon van eindigingen van afferente corticale vezels uit de nucleus ventralis lateralis thalami werd in anterograde degeneratie³⁴² en in anterograde transport^{126,340} experimenten in de rat,¹²⁶ de kat³⁴² en de aap,³⁴⁰ in deze volgorde, eveneens een verschuiving van de distributie van deze thalamocorticale projecties naar meer oppervlakkige corticale laminae waargenomen. In de motorische cortex van de rat eindigen deze vezels namelijk voor het merendeel in lamina V en voor een groot deel ook in lamina VI.¹²⁶ In area 4 van de kat eindigen deze thalamocorticale vezels echter in laminae I en III en voor een deel eveneens in lamina VI.³⁴² In area 4 van de aap eindigen de thalamocorticale vezels uit de nucleus ventralis lateralis thalami daarentegen uitsluitend in laminae I en III.³⁴⁰

Volgens Asanuma en zijn medewerkers (c.f. Asanuma³³⁹) bestaat er een nauwe relatie tussen de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in de motorische cortex en de afferente vezels, die prikkels uit andere delen van het zenuwstelsel naar de hersenschors geleiden. Zij beschreven in de motorische cortex van de aap groepen neuronen, welke in verticale kolommen van ongeveer 1 mm doorsnede zijn gerangschikt. In deze kolommen bevinden zich neuronen welke door eenzelfde groep van afferenten worden geëxciteerd en die, volgens hun fysiologische bevindingen in laminae II en III zijn gerangschikt.³³⁹ Deze neuronen staan in nauw contact met de in dezelfde kolom gelegen neuronen in laminae V en VI. Volgens de bevindingen van Asanuma en Rosén¹³ beïnvloeden corticospinale neuronen in zo'n kolom direct een groep spinale motoneuronen, die alle naar dezelfde spiergroep in het distale deel van de voorpoot projecteren. Behalve corticospinale neuronen, kunnen dergelijke kolommen in de motorische cortex ook cellen van oorsprong van andere descenderende corticale vezels bevatten. Volgens de bevindingen in de huidige experimenten zouden de efferente neuronen binnen zo'n kolom echter ten dele verschillende posities innemen in laminae V en VI. Met name de laminaire distributie van deze neuronen in de aap is zodanig gedifferentieerd, dat de cellen van oorsprong van corticospinale vezels, tesamen met de neuronen die naar de cellen van oorsprong van descenderende hersenstambanen projecteren een aparte plaats in lamina V innemen. Zoals de huidige bevindingen aanduiden liggen zij in zulk een kolom ingepast tussen de diep gelegen neuronen, die naar de specifieke thalamische kernen projecteren en de meer oppervlakkig in zulk een kolom gelegen neuronen die naar andere subcorticale structuren projecteren.

De tweede groep experimenten die in dit proefschrift wordt be-

schreven had ten doel, om vast te stellen of descenderende corticale vezels naar thalamus en hersenstam, althans voor een deel axoncollateralen van corticospinale vezels representeren. Hierbij werd gebruik gemaakt van de dubbel labeling techniek door middel van fluorescente merkstoffen.^{22,23,24,178,179,181} De anatomische gegevens die in deze experimenten werden verkregen tonen aan, dat corticothalamische vezels in de kat en de rat niet door corticospinale axoncollateralen worden onderhouden, hetgeen in goede overeenstemming is met de antidrome stimulatie bevindingen van Blum en zijn medewerkers³³ en van Steriade en Yossif.³⁰⁵ Dit is eveneens in overeenstemming met de eerder in dit hoofdstuk besproken gegevens, die laten zien dat corticospinale en corticothalamische neuronen op verschillende diepte in de cortex zijn gelegen. De dubbellabeling experimenten lieten ook zien, dat in de kat en de rat een deel van de corticale vezels naar het mesencephaal tegmentum inclusief de nucleus ruber, wel axoncollateralen van corticospinale vezels representeren. Deze anatomische gegevens zijn in goede overeenstemming met resultaten in fysiologische experimenten.^{73,123,313} Bovendien is dit in goede overeenstemming met de andere anatomische gegevens, die aantonen dat corticospinale en cortico-mesencephale neuronen in de kat op dezelfde hoogte in lamina V zijn gelegen.

De anatomische gegevens die in de fluorescentie experimenten werden verkregen, tonen verder aan dat corticospinale neuronen die axoncollateralen naar het mesencephalon distribueren voornamelijk in die gebieden zijn geconcentreerd, die betrokken zijn bij bewegingen van ogen, hoofd, nek en romp (zie ook discussie hoofdstuk VII.). Dit was minder duidelijk in de rat, waar veel van deze neuronen ook in die corticale gebieden waren gelegen, waar volgens de elektrische stimulatie experimenten van Hall en Lindholm¹⁰⁰ de voor- en achterpoot zijn gerepresenteerd. Het percentage retrograad vanuit het mesencephalon dubbelgelabelde corticospinale neuronen was volgens de huidige bevindingen dan ook groter in de rat dan in de kat. Hieruit kan de conclusie worden getrokken, dat de graad van collateralisatie in de rat relatief groter is dan in de kat. Dit sluit aan bij de gegevens van Huisman en medewerkers,¹²² dat de graad van collateralisatie van rubrospinale neuronen in de rat relatief groter is dan in de kat.

De resultaten in de dubbellabeling experimenten tonen aan, dat de fluorescente merkstoffen 'Nuclear Yellow' en 'Fast Blue' minstens even effectief zijn als HRP om cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels te identificeren, tenminste wanneer bij de laatste techniek de incubatieprocedure volgens Graham en Karnovsky⁹¹ wordt toegepast. Verder steunen zij de bevindingen van Kuypers en medewerkers¹⁷⁸ dat de retrograde fluorescente neuronale dubbellabeling techniek een betrouwbare anatomische methode is, om het

bestaan van axoncollateralen van neuronen aan te tonen. Uit de bevindingen in de in dit proefschrift beschreven experimenten mag de conclusie worden getrokken, dat de fluorescente merkstoffen 'Nuclear Yellow' en 'Fast Blue' geschikt zijn om anatomische relaties tussen cellen van oorsprong van verschillende vezelsystemen te analyseren. De kennis hieromtrent is een voorwaarde om een beter inzicht te krijgen in het "bedradingsstelsel" van de hersenen, d.w.z. in de wijze waarop de verschillende populaties neuronen in de hersenen met elkaar zijn verbonden.

Samenvatting

Uit de literatuur was reeds bekend dat vezels uit de cortex cerebri van de aap en de kat naar het ruggemerg, naar structuren in de hersenstam, naar de thalamus en naar het striatum projecteren (zie hoofdstuk III). Uit eerdere onderzoekingen bleek, dat deze vezels direct of indirect zijn betrokken bij het sturen van bewegingen (zie hoofdstuk II). Er waren echter weinig anatomische details bekend over de ligging en vorm van de cellen van oorsprong van deze vezels. In de experimenten die in dit proefschrift worden beschreven, werden derhalve de laminaire en de areale distributie van de cellen van oorsprong van deze vezels in katten (zie hoofdstuk V) en apen (zie hoofdstuk VI) onderzocht. Dit werd gedaan met behulp van het retrograde axonale transport van mierikswortel peroxidase (horseradish peroxidase: HRP). In aanvulling hierop werd in katten en ratten het bestaan van corticospinale axoncollateralen naar het mesencephalon en de laterale thalamus onderzocht. Hierbij werd gebruik gemaakt van de dubbellabeling techniek met behulp van fluorescente merkstoffen (zie hoofdstuk VII). Teneinde de resultaten in bovengenoemde experimenten in hun juiste perspectief te zien, werd tevens aandacht besteed aan de cytoarchitectonische kenmerken van de sensorimotorische cortex in de aap, de kat en de rat (zie hoofdstuk I). De technieken waarmee cellen van oorsprong van projectievezels kunnen worden geïdentificeerd, werden eveneens beschreven (zie hoofdstuk IV). Hierbij werd de nadruk gelegd op de technieken, die in de in dit proefschrift beschreven experimenten werden toegepast.

In de huidige experimenten was de areale distributie van de cellen van oorsprong van de onderzochte descenderende corticale vezels in de aap, de kat en de rat in goede overeenstemming met bevindingen in andere anatomische en in fysiologische studies. Wat betreft de laminaire distributie van deze neuronen tonen de resultaten in de in dit proefschrift beschreven experimenten aan, dat cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in de aap, de kat en de rat in laminae V en VI van de cortex zijn geconcentreerd. De meest opvallende bevinding in de retrograde HRP transport experimenten was, dat de cellen van oorsprong van descenderende vezels in de motorische corticale gebieden 4 en 6 van de kat in twee groepen kunnen worden onderverdeeld, die op verschillende niveaus in laminae V en VI zijn gelegen (Fig. VIII.1.). Eén groep neuronen (groep I in de kat) is in het oppervlakkige deel van lamina V (Va) geconcentreerd, waarin relatief grote neuronen, inclusief de Betz cellen in area 4Y zijn gelegen. Deze groep omvat onder andere de corticospinale neuronen, de neuronen die naar het ventrale deel van het mesencephaal tegmentum inclusief de nucleus ruber projecteren, de neuronen die naar de colli-

culus superior projecteren, de neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren en de neuronen die naar de nuclei centromedianus en parafascicularis thalami projecteren. De tweede groep neuronen (groep II in de kat) ligt voor het merendeel diep in de cortex en sluit bij de vorige groep aan. Deze groep is namelijk in het diepe deel van lamina V (Vb) en in lamina VI gesitueerd. Groep II in de kat omvat de corticothalamische neuronen, die naar de specifieke thalamische kernen, inclusief de nucleus ventralis lateralis projecteren. Deze twee groepen die op verschillende niveaux zijn gelegen overlappen elkaar enigszins, in die zin dat een klein deel van de corticothalamische neuronen (groep II in de kat) met de in lamina Va gelegen neuronen van groep I zijn vermengd.

In de motorische velden 4 en 6 van *de aap* kunnen echter *drie* groepen neuronen worden onderscheiden, die op verschillende niveaux in laminae V en VI zijn gelegen (Fig. VIII.2.). In de aap kunnen de neuronen die in de kat samen in groep I zijn gerangschikt namelijk in twee boven elkaar gelegen groepen worden verdeeld. Eén groep neuronen (groep IA in de aap) is in dat deel van lamina V geconcentreerd dat relatief grote neuronen bevat, namelijk in lamina Vb. In lamina Vb van area 4 zijn zij uitsluitend op het niveau van de Betz cellen gelegen, in lamina Vb 'pars superficialis'. Groep IA in de aap omvat de corticospinale neuronen, de neuronen die naar de mediale reticulaire formatie van de pons en de medulla oblongata projecteren, de neuronen die naar de nucleus ruber pars magnocellularis projecteren en de neuronen die naar de colliculus superior projecteren. Een andere groep neuronen (groep IB in de aap) is meer oppervlakkig in lamina V gelegen, namelijk in lamina Va boven het niveau van de populatie grote neuronen in lamina Vb. Deze groep omvat de neuronen die naar de nucleus ruber pars parvocellularis projecteren, de neuronen die naar de nuclei cuneatus en gracilis projecteren en de neuronen die naar de nuclei centromedianus en parafascicularis projecteren. Neuronen van groep II in de aap zijndieper in de cortex gelegen dan de neuronen van de groepen IA en IB. Zij zijn in het diepe deel van lamina Vb (lamina Vb 'pars profunda') en in lamina VI gesitueerd. Tot deze groep neuronen behoren de cellen van oorsprong van de corticale vezels naar de nucleus ventralis lateralis thalami.

Uit bovengenoemde gegevens werd de conclusie getrokken, dat in de motorische corticale velden 4 en 6 van de aap een verdere differentiatie optreedt van het laminaire distributiepatroon van de oorsprongscellen van descenderende corticale vezels, dan in deze gebieden in de kat, in die zin dat in de aap een ruimtelijke scheiding is opgetreden tussen de neuronen die naar het ruggemerg en de cellen van oorsprong van descenderende hersenstambanen projecteren en de neuronen die naar andere subcorticale bestemmingen

projecteren. In de aap komen de cellen van de laatste groep (groep IB in de aap) oppervlakkig van de eerste groep (groep IA in de aap) te liggen.

De anatomische gegevens die in de fluorescentie experimenten werden verkregen, bevestigen de bevindingen in de retrograde HRP transport experimenten, dat in de kat en de rat corticospinale en corticothalamische neuronen op verschillende niveaus in de cortex cerebri zijn gelegen, in die zin dat corticospinale neuronen in lamina V zijn gelegen, terwijl corticale neuronen die naar de laterale thalamus projecteren voornamelijk in lamina VI zijn gesitueerd. In deze experimenten werd bovendien aangetoond, dat corticospinale neuronen geen axoncollateralen naar de laterale thalamus inclusief de nucleus ventralis lateralis zenden. Volgens de resultaten in deze experimenten bestaat in de kat en de rat een deel van de corticale vezels naar het mesencephaal tegmentum inclusief de nucleus ruber echter wel uit axoncollateralen van corticospinale vezels. In de kat zijn de corticale neuronen, die axoncollateralen naar het ruggemerg en het mesencephalon zenden voornamelijk in die corticale gebieden gelegen, die bij bewegingen van ogen, hoofd, nek en romp zijn betrokken. Dit was minder duidelijk in de rat waar veel van deze neuronen ook in de motorische voor- en achterpoot gebieden zijn gelegen. Het percentage retrograad vanuit het mesencephalon gelabelde corticospinale neuronen was volgens de huidige bevindingen in de rat dan ook groter dan in de kat. Hieruit werd de conclusie getrokken, dat de graad van collateralisatie van corticospinale vezels in de rat relatief groter is dan in de kat.

Summary

Earlier anatomical and physiological findings demonstrated, that in monkey and cat descending fibers from cerebral cortex terminate in the spinal grey, throughout the brain stem as well as in thalamus and striatum (c.f. chapter III). These fibers directly or indirectly play an important role in the generation and the control of movement (c.f. chapter II). However, little was known about the exact location or the anatomical characteristics of the cells of origin of these fibers. Therefore in the present study an attempt was made to determine the areal and laminar distribution of parent cell bodies of fibers from motor cortical areas in cats (c.f. chapter V) and monkeys (c.f. chapter VI), with the help of the retrograde HRP transport technique. In addition, in cats and rats the existence of corticospinal axon collaterals to mesencephalon and lateral thalamic nuclei was studied, by means of the retrograde fluorescent neuronal double labeling technique (c.f. chapter VII). Further attention was paid to the cytoarchitectonic characteristics of the motor cortical areas in monkey, cat and rat (c.f. chapter I). In addition, techniques which are available to identify cells of origin of fiber projections were described (chapter IV) with emphasis on the techniques, which were used in the present study.

In the present experiments the areal distribution of the parent cell bodies of the investigated descending cortical fibers was in general agreement with other anatomical and with physiological findings. In respect to their laminar distribution the findings in the HRP and fluorescent experiments suggest, that in monkey, cat and rat the cells of origin of descending cortical fibers are concentrated in infragranular layers V and VI. According to the findings in the HRP experiments the parent cell bodies of descending cortical pathways *in cat motor cortex* can be subdivided in *two* more or less separate groups, on the basis of their laminar distribution within layers V and VI. Neurons, projecting to spinal cord and brainstem nuclei of descending spinal pathways, i.e. bulbar medial reticular formation, superior colliculus and mesencephalic tegmentum including the red nucleus, together with the neurons projecting to dorsal column nuclei, centermedian and parafascicular nucleus are situated superficially in layer V (group I in the cat). In area 4 γ they are situated in layer Va, at the level of the Betz cells. Neurons, which give rise to descending cortical fibers to specific thalamic nuclei including the ventrolateral thalamic nucleus, are concentrated deep in layer V and in layer VI (group II in the cat). In area 4 γ they are thus situated in layers Vb and VI, deep to the Betz cells.

In monkey motor cortex three groups of neurons can be discerned in layers V and VI. Cortical neurons, projecting to spinal cord and brainstem nuclei of descending spinal pathways, i.e. magnocellular red nucleus, pontine and bulbar medial reticular formation and superior colliculus are grouped together in large celled layer V sublayer Vb (group IA in the monkey). In area 4 they are, however, exclusively situated in lamina Vb 'pars superficialis', at the level of the Betz cells. The group IA neurons, which directly or indirectly project to the spinal cord are sandwiched between neurons which exert a more indirect, corrective influence on motor function. Deep to them in layer Vb 'pars profunda' and layer VI, neurons projecting to the specific ventrolateral thalamic nucleus are situated (group II in the monkey). Neurons projecting to the dorsal column nuclei, the parvocellular red nucleus, centermedian and parafascicular nucleus are situated more superficially in small celled layer V sublayer Va (group IB in the monkey). From these findings it was concluded, that in monkey the laminar distribution of the parent cell bodies of descending cortical fibers is relatively more differentiated than in cat, such that in monkey the neurons projecting to spinal cord and brainstem nuclei of descending spinal pathways are situated in a different part of layer V (in layer Vb 'pars superficialis'), than the neurons projecting to other subcortical structures.

The fluorescent findings confirm the findings in the HRP experiments, that in cat and rat corticospinal and corticothalamic neurons are concentrated in different parts of infragranular layers V and VI. In addition they demonstrate, that corticospinal neurons in cat and rat do not send axon collaterals to the lateral thalamic nuclei, including the ventrolateral thalamic nucleus. According to these findings corticomesecephalic and corticospinal neurons in both cat and rat are, however, strongly intermixed. The most striking finding was, that in cat some layer V neurons, including some Betz cells, send divergent axon collaterals to both spinal cord and mesencephalon.

The fluorescent findings in cat further demonstrate, that neurons sending axon collaterals to mesencephalon and spinal cord are preferentially situated in cortical regions, which function in relation to movements of the eyes, head, neck and trunk. Such a preferential distribution was less clear in rat, in which species many of these neurons are also situated in motor hind- and forelimb regions. According to the present findings in rat the percentage of the labeled corticospinal neurons, which were doublelabeled from the mesencephalon was lower than in cat. From this it was concluded, that corticospinal fibers in rat display a higher degree of collateralisation than in cat.

Lijst van gebruikte afkortingen

A.c. = rostrale deel van de cortex cinguli
 AD = nucleus anterior dorsalis thalami
 AM = nucleus anterior medialis thalami
 AV = nucleus anterior ventralis thalami
 BA = Bovien Albumine
 Bb = Bisbenzimidide
 BC = brachium conjunctivum
 BP = brachium pontis
 BMRF = bulbaire mediale reticulaire formatie
 C = nucleus caudatus
 CC = corpus callosum
 CGM = corpus geniculatum mediale
 CI = colliculus inferior
 CL = nucleus centralis lateralis thalami
 CM = nucleus centromedianus thalami
 CP = pedunculus cerebri
 CS = colliculus superior
 DCN = nuclei cuneatus en gracilis
 EB = Evans Blue
 EBBA = Evans Blue/Bovien Albumine
 FB = "Fast Blue"
 GB = "Granular Blue"
 G.f.c. = frontale granulaire cortex
 H = habenula
 HRP = Horseradish Peroxidase (mierikswortel peroxidase)
 IC = capsula interna
 I.L = infralimbische cortex
 LD = nucleus dorsalis lateralis thalami
 LL = laterale lemniscus
 LP = nucleus lateralis posterior thalami
 LRF = laterale reticulaire formatie
 MB = corpora mammillaria
 MD = nucleus medialis dorsalis thalami
 ML = mediale lemniscus
 MMRF = mesencephale mediale reticulaire formatie
 MRN = nucleus ruber pars magnocellularis

NY = "Nuclear Yellow"
P = pulvinar
Pf = nucleus parafascicularis thalami
PI = Propidium Iodide
PO = nucleus posterior thalami
PRN = nucleus ruber pars parvocellularis
PVP = Polyvinyl Pyrrolidone
R = nucleus reticularis thalami
Re = nucleus reuniens thalami
Rh = nucleus rhomboideus thalami
RN = nucleus ruber
SCP = pedunculus cerebellaris superior
SG = nucleus suprageniculatus
SO = oliva superior
SN = substantia nigra
SNC = substantia nigra pars compacta
SNR = substantia nigra pars reticulata
Spin nV = spinale trigeminus complex
TB = "True Blue"
VA = nucleus ventralis anterior thalami
VB = ventrobasaal complex thalami
VC = vestibulair complex
VL = nucleus ventralis lateralis thalami
VPI = nucleus ventralis posterior inferior thalami
VPL = nucleus ventralis posterior lateralis thalami
VPM = nucleus ventralis posterior medialis thalami

L I T E R A T U U R

1. ABDELMOUMÈME, M., J. BESSON and P. ALÉONARD: Cortical areas exerting presynaptic inhibitory action on the spinal cord in cat and monkey. *Brain Res.* 20 (1970) 327-329.
2. ABZUG, C., M. MAEDA, B.W. PETERSON and V.J. WILSON: Cervical branching of lumbar vestibulo-spinal axons. *J. Physiol. (Lond.)* 243 (1974) 499-522.
3. AFELT, Z: Functional significance of ventral descending pathways in the spinal cord in the cat. *Acta Neurobiol. Exp.* 34 (1974) 393-409.
4. AFELT, Z., S. KASICKI, E. SYBIRSKA and J. ZAGRODZKA: Limb coordination during locomotion in amygdalar, rubral and funicular cats. *Acta Neurobiol. Exp.* 35 (1975) 379-389.
5. AKERT, K: Comparative anatomy of frontal cortex and thalamofrontal connections. In: *The frontal granular cortex and behaviour.* Eds. J. Warren and K. Akert. McGraw-Hill Book Inc. (1964) 372-396.
6. AKERT, K., K. HARTMANN-VON MONAKOW and H. KUNZLE: Projection of precentral motor cortex upon nucleus medialis dorsalis thalami in the monkey. *Neurosci. Lett.* 11 (1979) 103-106.
7. ALLEN, G.I. and N. TSUKUHARA: Cerebrocerebellar communication systems. *Physiol. Rev.* 54 (1974) 957-1006.
8. ANDERSEN, P., J.C. ECCLES, R.F. SCHMIDT and T. YOKOTA: Slow potential waves produced in the cuneate nucleus by cutaneous volleys and by cortical stimulation. *J. Neurophysiol.* 1 (1964) 77-91.
9. ARMAND, J: Topical versus diffuse organization of the corticospinal tract in the cat. *J. Physiol. (Paris)* 74 (1978) 227-230.
10. ARMAND, J. and R. AURENTY: Dual organization of motor corticospinal tract in the cat. *Neurosci. Lett.* 6 (1977) 1-7.
11. ARMAND, J. and H.G.J.M. KUYPERS: Cells of origin of crossed and uncrossed corticospinal fibers in the cat. A quantitative Horse Radish Peroxidase Study. *Exp. Brain Res.* 40 (1980) 23-34.
12. ARMAND, J., Y. PADEL and A.M. SMITH: Somatotopic organization of the corticospinal tract in cat motor cortex. *Brain Res.* 74 (1974) 209-227.
13. ASANUMA, H. and I. ROSÉN: Topographical organization of cortical efferent zones projecting to distal forelimb muscles in the monkey. *Exp. Brain Res.* 14 (1972) 243-256.

14. ASANUMA, H., P. ZARZECKI, E. JANKOWSKA, T. HONGO and S. MARCUS: Projection of individual pyramidal tract neurons to lumbar motor nuclei of the monkey. *Exp. Brain Res.* 34 (1979) 73-89.
15. ASTRUC, J: Corticofugal connections of area 8 (frontal eye field) in macaca mulatta. *Brain Res.* 33 (1971) 241-256.
16. ATKINSON, D.H., J.J. SEGUIN and M. WIESENDANGER: Organization of corticofugal neurones in somatosensory area II of the cat. *J. Physiol.* 236 (1974) 663-679.
17. BALEYDIER, C: A bilateral cortical projection to the superior colliculus in the cat. *Neurosci. Lett.* 4 (1977) 9-14.
18. BAILLARGER, J.G.F: Recherches sur la structure de la couche corticale des circonvolutions du cerveau. *Mem. Acad. R. Med. Bel.* 8 (1840) 149-183.
19. BECKSTEAD, R.M: An autoradiographic examination of corticocortical and subcortical projections of the mediodorsal projection (pre-frontal) cortex in the rat. *J. comp. Neurol.* 184 (1979) 43-62.
20. BEITZ, A.J. and G.W. KING: An improved technique for the micro-injection of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 108 (1976) 175-179.
21. BENTIVOGLIO, M., and H.G.J.M. KUYPERS: Divergent axon collaterals from deep cerebellar nuclei to thalamus, brainstem and cervical cord in the rat. In preparation.
22. BENTIVOGLIO, M., H.G.J.M. KUYPERS and C.E. CATSMAN-BERREVOETS: Retrograde neuronal labeling by means of bisbenzimidazole and nuclear yellow (Hoechst S 769121) Measures to control diffusion of the tracers out of retrogradely labeled neurons. *Neurosci. Lett.* 18 (1980) 19-24.
23. BENTIVOGLIO, M., H.G.J.M. KUYPERS, C.E. CATSMAN-BERREVOETS and O. DANN: Fluorescent retrograde neuronal labeling in rat by means of substances binding specifically to adenine-thymine rich DNA. *Neurosci. Lett.* 12 (1979) 235-240.
24. BENTIVOGLIO, M., H.G.J.M. KUYPERS, C.E. CATSMAN-BERREVOETS, H. LOEWE and O. DANN: Two new fluorescent retrograde neuronal tracers which are transported over long distances. *Neurosci. Lett.* 18 (1980) 25-30.
25. BENTIVOGLIO, M., D. VAN DER KOOP and H.G.J.M. KUYPERS: The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat. A retrograde fluorescent double labeling study. *Brain Res.* 174 (1979) 1-17.

26. BETZ, V: Anatomischer Nachweiss zweier Gehirn Centra. Centralblatt f.d. Med. Wissensch. 12 (1954) 578-595. Cited by A.M. Lassek. In: The pyramidal tract. Res. Publ. Ass. F. Pies. Ment. Dis. 27 (1948) 146-162.
27. BHAROS, T.B., H.G.J.M. KUYPERS, R.N. LEMON and R.B. MUIR: Divergent collaterals from deep cerebellar neurons to thalamus and tectum, and to medulla oblongata and spinal cord: Retrograde fluorescent and electrophysiological studies. Exp. Brain Res. 42 (1981) 399-410.
28. BIBER, M.P., L.W. KNEISLEY and J.H. LAVAIL: Cortical neurons projecting to the cervical and lumbar enlargements of the spinal cord in young and adult rhesus monkeys. Exp. Neurol. 59 (1978) 492-508.
29. BIEDENBACH, M.A., S.J. JABBUR and A.L. TOWE: Afferent inhibition in the cuneate nucleus of the rhesus monkey. Brain Res. 27 (1971) 179-183.
30. BISHOP, P.O., W. BURKE and R. DAVIS: Single-unit recording from antidromically activated optic radiation neurones. J. Physiol. 162 (1962) 432-450.
31. BJÖRKLUND, A. and G. SKAGERBERG: Simultaneous use of retrograde fluorescent tracers and fluorescence histochemistry for convenient and precise mapping of monoaminergic projections and collateral arrangements in the CNS. J. Neurosci. Meth. 1 (1979) 261-277.
32. BJÖRKLUND, A. and G. SKAGERBERG: Evidence for a major spinal cord projection from the diencephalic AII dopamine cell group in the rat using transmitter specific fluorescent retrograde tracing. Brain Res. 177 (1979) 170-176.
33. BLUM, B., L.M. HALPERN and A.A. WARD, Jr.: Microelectrode studies at the afferent connections and efferent projections of neurons in the sensorimotor cortex of the cat. Exp. Neurol. 20 (1968) 156-173.
34. BONIN, G. VON and P. BAILEY: The neocortex of macaca mulatta. Urbana Ill. The University of Ill. Press 1947.
35. BRECH, A.J., G. GORDON and T.P.S. POWELL: Corticofugal cells responding antidromically to stimulation of the cuneate or gracile nuclei of the cat. Brain Res. 128 (1977) 39-52.
36. BRODAL, A., T. SZABO and A. TORVIK: Corticofugal fibers to sensory trigeminal nuclei and nucleus of solitary tract. An experimental study in the cat. J. comp. Neurol. 106 (1956) 527-555.
37. BRODAL, P: The corticopontine projection in the cat. I. Demonstration of a somatotopically organized projection from the sensory motor cortex. Exp. Brain Res. 5 (1968) 210-234.

38. BRODAL, P: The corticopontine projection in the cat. I. The projection from the proreatae gyrus. *J. comp. Neurol.* 142 (1971) 127-140.
39. BRODAL, P: The corticopontine projection in the cat. II. The projection from the orbital gyrus. *J. comp. Neurol.* 142 (1971) 141-152.
40. BRODAL, P: The corticopontine projection in the Rhesus monkey. Origin and principles of organization. *Brain* 101 (1978) 251-283.
41. BRODAL, P., J. MARSALA and A. BRODAL: The cerebral cortical projection to the lateral reticular nucleus in the cat, with special reference to the sensorimotor cortical areas. *Brain Res.* 6 (1967) 252-274.
42. BRODMANN, K: Vergleichender, Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Principien dargestellt auf Grund der Zellenbaues. Barth, Leipzig (1909)
43. BROWN, L.T: Projections and termination of the corticospinal tract in rodents. *Exp. Brain Res.* 13 (1971) 432-450.
44. BROWN, L.T: Corticorubral projections in the rat. *J. comp. Neurol.* 154 (1974) 149-168.
45. BUSCH, H.F.M: An anatomical analysis of the white matter in the brain stem of the cat. Van Gorcum Assen. Thesis (1961).
46. CAJAL, S. Ramon y: *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés.* vol. 2. Madrid (1972).
47. CAMPBELL, A.W: *Histological studies on the localization of cerebral function.* University Press Cambridge Mass. (1905).
48. CATSMAN-BERREVOETS, C.E., R.N. LEMON, C.A. VERBURGH, M. BENTIVOGLIO and H.G.J.M. KUYPERS: Absence of callosal collaterals derived from rat corticospinal neurons. A study using fluorescent retrograde tracing and electrophysiological techniques. *Exp. Brain Res.* 39 (1980) 433-440.
49. CESARO, P., J. NGUYEN-LEGROS, B. BERGER, C. ALVAREZ and D. ALBE-FESSARD: Double labeling of branched neurons in the central nervous system of the rat by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase and iron dextran complex. *Neurosci. Lett.* 15 (1979) 1-7.
50. CHAMBERS, W.W. and C.N. LIU: Corticospinal tract of the cat. An attempt to correlate the pattern of degeneration with deficits in reflex activity following neocortical lesions. *J. comp. Neurol.* 108 (1957) 23-55.

51. CLARE, M.H., W.M. LANDAU and G.H. BISHOP: Electrophysiological evidence of a collateral pathway from the pyramidal tract to the thalamus in the cat. *Exp. Neurol.* 9 (1964) 262-267.
52. COLLIER, J. and F. BUZZARD: Descending mesencephalic tracts in cat, monkey and man. *Brain* 24 (1901) 177-221.
53. COLLONNIER, M.L: The structural design of the neocortex. In: *Brain and conscious experience*. Ed. J.C. Eccles. Springer Verlag, New York. (1966) 1-23.
54. COULTER, J.D., L. EWING and C. CARTER: Origin of primary sensorimotor cortical projections to lumbar spinal cord of cat and monkey. *Brain Res.* 103 (1976) 366-372.
55. COULTER, J.D. and E.G. JONES: Subcortical projections from cytoarchitectonic fields of the somatosensory cortex in monkey. *Neurosci. Abstracts* 2 (1976) 906.
56. COULTER, J.D. and E.G. JONES: Differential distribution of corticospinal projections from individual cytoarchitectonic fields in the monkey. *Brain Res.* 129 (1977) 335-340.
57. CREVEL, VAN H. and W.J.C. VERHAART: The exact origin of the pyramidal tract. A quantitative study in the cat. *J. Anat. (Lond.)* 97 (1963) 495-515.
58. DARIAN-SMITH, I., G. PHILLIPS and R.D. RYAN: Functional organization in the trigeminal main sensory and rostral spinal nuclei of the cat. *J. Physiol.* 168 (1963) 129-146.
59. DEJERINE and DEJERINE: Sur les connexions du noyau rouge avec la corticalité cérébrale. *Soc. Biol.* 47 (1895) 226-230.
60. DELGADO, J.M.R. and R.B. LIVINGSTON: Motor representation in the frontal sulci of the cat. *Yale Journal of Biol. and Med.* 28 (1955) 245-252.
61. DE OLMOS, J.S: An improved HRP method for the study of central nervous connections. *Exp. Brain Res.* 29 (1977) 541-551.
62. DE OLMOS, J.S. and L. HELMER: Mapping of collateral projections with the HRP method. *Neurosci. Lett.* 6 (1977) 107-114.
63. DE VITO, J.L: Thalamic projection of the anterior ectosylvian gyrus (somatic area II) in the cat. *J. comp. Neurol.* 131 (1967) 67-78.
64. DE VITO, J.L: Projections from the cerebral cortex to intralaminar nuclei in monkey. *J. comp. Neurol.* 136 (1969) 193-201.
65. DE VITO, J.L., K.W. CLAUSING and O.A. SMITH: Uptake and transport of horseradish peroxidase by cut end of the vagus nerve. *Brain Res.* 82 (1974) 269-271.

66. DE VITO, J.L. and D.M. SIMMONS: Some connections of the posterior thalamus in monkey. *Exp. Neurol.* 51 (1976) 347-362.
67. DE VITO, J.L. and O.A. SMITH: Projections from the mesial frontal cortex (supplementary motor area) to the cerebral hemispheres and brainstem of the macaca mulatta. *J. comp. Neurol.* 111 (1959) 261-277.
68. DONATELLE, J.M: Growth of the corticospinal tract and the development of placing reactions in the postnatal rat. *J. comp. Neurol.* 175 (1977) 207-232.
69. DUNKERLEY, G.B. and D. DUNCAN: A light and electron microscopic study of the normal and the degenerating corticospinal tract in the rat. *J. comp. Neurol.* 137 (1969) 155-184.
70. DUMAS, M., M.B. SCHWAB and H. THOENEN: Retrograde axonal transport of specific macromolecules as a tool for characterizing nerve terminal membranes. *J. Neurobiol.* 10 (1979) 175-197.
71. ECONOMO, VON C. and G.N. KOSKINAS: Die Cytoarchitectonik der Hirnrinde des Erwachsenen Menschen. Springer Vienna (1925).
72. EDWARDS, S.B: The ascending and descending projections of the red nucleus in the cat: an experimental study using an autoradiographic tracing method. *Brain Res.* 48 (1972) 45-63.
73. ENDO, K., T. ARAKI and N. YAGI: The distribution and pattern of axon branching of pyramidal tract cells. *Brain Res.* 57 (1973) 484-491.
74. EVARTS, E.V. and W.T. THATCH: Motor mechanisms of the CNS: cerebro-cerebellar interrelations. *Ann. Rev. Physiol.* 31 (1969) 451-498.
75. FALLON, J.H. and L.A. BENEVENTO: Projections of lateral orbital cortex to sensory relay nuclei in the Rhesus monkey. *Brain Res.* 144 (1978) 149-154.
76. FELIX, D. and M. WIESENDANGER: Cortically induced inhibition in the dorsal column nuclei of monkeys. *Pflügers Arch.* 320 (1970) 285-288.
77. FETZ, E.E., P.D. CHENEY and D.C. GERMAN: Corticomotoneuronal connections of precentral cells detected by post-spike averages of EMG activity in behaving monkeys. *Brain Res.* 114 (1976) 505-510.
78. FLINDT-EGEBAK, P: Autoradiographical demonstration of the projections from the limb areas of the feline sensorimotor cortex to the spinal cord. *Brain Res.* 136 (1977) 153-156.
79. FRITSCH, G.T. and E. HITZIG: Über die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns. *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.* 37 (1870) 300-332.

80. GARCIA-RILL, E., A. NIETO, A. ADINOLFI, C.D. HULL and N.A. BUCHWALD: Projections to the neostriatum from the cat precruciate cortex. *Anatomy and Physiology. Brain Res.* 170 (1979) 393-407.
81. GAREY, L.J., E.G. JONES and T.P.S. POWELL: Interrelationships of striate and extrastriate cortex with the primary relay sites of the visual pathways. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 31 (1968) 135-157.
82. GAROL, H.W: The motor cortex of the cat. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1 (1942) 139-145.
83. GEISERT Jr. E.E: The use of tritiated horseradish peroxidase for defining neuronal pathways. *Brain Res.* 117 (1976) 130-135.
84. GILBERT, C.D. and J.P. KELLY: The projection of cells in different layers of the cat's visual cortex. *J. comp. Neurol.* 163 (1975) 81-106.
85. GLEES, P: The anatomical basis of corticostriate connexions. *J. Anat.* 78 (1944) 47-51.
86. GOLDMAN, P.S. and W.J.H. NAUTA: Autoradiographic demonstration of a projection from prefrontal association cortex to the superior colliculus in the rhesus monkey. *Brain Res.* 116 (1976) 145-149.
87. GOLDMAN, P.S. and W.J.H. NAUTA: An intricately patterned prefronto-caudate projection in the Rhesus monkey. *J. comp. Neurol.* 171 (1977) 369-386.
88. GOLGI, C: Sultra struttura della sostanza grigia dell cervello. *Gazetta medica Italiana Lombardia* 33 (1873) 244-246.
89. GOODMAN, D.C., L.E. JARRARD and J.F. NELSON: Corticospinal pathways and their sites of termination in the albino rat. *J. Anat. Rec.* 154 (1966) 462.
90. GORDON, G. and R. MILLER: Identification of cortical cells projecting to the dorsal column nuclei of the cat. *Q. Jl. exp. Physiol.* 54 (1969) 85-98.
91. GRAHAM, R.C. and M.J. KARNOVSKY: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidase and protein tracers. *J. Exp. Med.* 124 (1966) 1123-1134.
92. GRILLNER, S., T. HONGO and S. LUND: Reciprocal effects between two descending bulbo-spinal systems with monosynaptic connections to spinal motoneurons. *Brain Res.* 10 (1968) 477-480.
93. GRILLNER, S., T. HONGO and S. LUND: The vestibulo spinal tract. Effects on motoneurons in the lumbosacral spinal cord in the cat. *Exp. Brain Res.* 10 (1970) 94-120.

94. GRILLNER, S. and S. LUND: The origin of a descending pathway with monosynaptic action on flexor motoneurons. *Acta Physiol. Scand.* 74 (1968) 274-284.
95. GROENEWEGEN, H.J., N.E.H. BECKER and A.H.M. LOHMAN: Subcortical afferents of the nucleus accumbens septi in the cat, studied with retrograde axonal transport of horseradish peroxidase and bisbenzimid. *Neuroscience* 5 (1980) 1903-1916.
96. GROOS, W.P., L.K. EWING, C.M. CARTER and J.D. COULTER: Organization of corticospinal neurons in the cat. *Brain Res.* 143 (1978) 393-419.
97. GRÜNBAUM, A.S.F. and C.S. SHERRINGTON: Observations on the physiology of the cerebral cortex of some of the higher apes. *Proc. roy. Soc. B* 69 (1902) 206-209.
98. GRÜNBAUM, A.S.F. and C.S. SHERRINGTON: Observations on the physiology of the anthropoid apes. *Proc. roy. Soc. B* 72 (1903) 152-155.
99. GWYN, D.G. and B.A. FLUMERFELT: A comparison of the distribution of cortical and cerebellar afferents in the red nucleus of the rat. *Brain Res.* 69 (1974) 130-135.
100. HALL, R. and E.P. LINDHOLM: Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat. *Brain Res.* 66 (1974) 23-38.
101. HANKER, J.S., P.E. YATES, C.B. METZ and A. RUSTIONI: A new, specific, sensitive and non-carcinogenic reagent for the demonstration of horseradish peroxidase. *Histochem. Journal* 9 (1977) 789-792.
102. HARDY, H. and L. HEIMER: A safer and more sensitive substitute for diaminobenzidine in the light microscopic demonstration of retrograde and anterograde axonal transport of HRP. *Neurosci. Lett.* 5 (1977) 235-240.
103. HARDY, S.G.P. and G.R. LEICHNETZ: Cortical projections to the periaqueductal gray in the monkey: A retrograde and orthograde horseradish peroxidase study. *Neurosci. Lett.* 22 (1981) 97-101.
104. HARRIS, F., S.J. JABBUR, R.W. MORSE and A.L. TOWE: Influence of the cerebral cortex on the cuneate nucleus of the monkey. *Nature* 208 (1965) 1215-1216.
105. HARTMANN- VON MONAKOW, K., K. AKERT and H. KÜNZLE: Projections of precentral and premotor cortex to the red nucleus and other mid-brain areas in *Macaca Fascicularis*. *Exp. Brain Res.* 34 (1979) 91-105.
106. HASSLER, R. and K. MUHS-CLEMENT: Architektonischer Aufbau des sensorischen und parietalen Cortex der Katze. *J. Hirnforsch.* 6 (1964) 377-420.

107. HATSCHKEK, R: Zur vergleichenden Anatomie des Nucleus Ruber Tegmenti Arb. Neurol. Inst. Ald. Wiener Univ. 15 (1907) 89-136.
108. HAYES, N.L. and A. RUSTIONI: Dual projections of single neurons are visualized simultaneously. Use of enzymatically inactive ³HRP. Brain Res. 165 (1979) 321-326.
109. HAYES, N. and A. RUSTIONI: Descending projections from brainstem and sensorimotor cortex to spinal enlargements in the cat. Single and double retrograde tracer studies. Exp. Brain Res. 41 (1981) 89-107.
110. HEDREEN, J.C. and S. McGRATH: Observations on labeling of neuronal cell bodies, axons, and terminals after injection of horseradish peroxidase into rat brain. J. comp. Neurol. 176 (1977) 225-246.
111. HENDRY, I.A., K. STÖCKEL, H. THOENEN and I.L. IVERSEN: The retrograde axonal transport of nervegrowth factor. Brain Res. 68 (1974) 103-121.
112. HICKS, S.P. and C.J.D'AMATO: Locating corticospinal neurons by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Exp. Neurol. 56 (1977) 410-420.
113. HILWIG, J. and A. GROPP: A pH dependant fluorescence of DNA and RNA in cytologic staining with "33258 Hoechst". Exp. Cell Res. 91 (1979) 457-460.
114. HOFF, E.C: Corticospinal fibers arising in the premotor area of the monkey. Arch. Neurol. Psychiat. Chicago 33 (1935) 687-697.
115. HÖKFELT, T., O. PHILLIPSON and M. GOLDSTEIN: Evidence for a dopaminergic pathway in the rat descending from the AII cell group to the spinal cord. Acta Physiol. Scand. 107 (1979) 393-395.
116. HÖKFELT, T., L. TERENIUS, H.G.J.M. KUYPERS and O. DANN: Evidence for enkephalin immunoreactive neurons in the medulla oblongata projecting to the spinal cord. Neurosci. Lett. 14 (1979) 55-60.
117. HOLLÄNDER, H: On the origin of the corticotectal projections in the cat. Exp. Brain Res. 21 (1974) 433-439.
118. HOLMES, G. and W.P. MAY: On the exact origin of the pyramidal tracts in man and other mammals. Brain 32 (1909) 1-43.
119. HOLSTEGE, G., H.G.J.M. KUYPERS and R.C. BOER: Anatomical evidence for direct brain stem projections to the somatic motoneuronal cell groups and autonomic preganglionic cell groups in cat spinal cord. Brain Res. 171 (1979) 329-333.
120. HUBEL, D.H. and T.N. WIESEL: Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat striate cortex. J. Physiol. 160 (1962) 106-154.

121. HONGO, T. E. JANKOWSKA and A. LUNDBERG: The rubrospinal tract. I. Effect on alpha motoneurons innervating hindlimb muscles in cats. *Exp. Brain Res.* 7 (1969) 344-364.
122. HUISMAN, A.M. and H.G.J.M. KUYPERS: Differences in collateralization of the descending spinal pathways from red nucleus and other brain stem cell groups. *Progress in Brain Research*. Elsevier Publ. Co. Amsterdam (in press).
123. HUMPHREY, D.R. and R.R. RIETZ: Cells of origin of corticorubral projections from the arm area of primate motor cortex and their synaptic action in the red nucleus. *Brain Res.* 110 (1976) 162-169.
124. HUNT, S.P. and H. KÜNZLE: Bidirectional movement of label and transneuronal transport phenomena after injection of ^3H adenosine into the central nervous system. *Brain Res.* 112 (1976) 127-132.
125. JACOBSON, S. and J.Q. TROJANOWSKI: The cells of origin of the corpus callosum in rat, cat and rhesus monkey. *Brain Res.* 74 (1974) 149-155.
126. JACOBSON, S. and J.Q. TROJANOWSKI: Corticothalamic neurons and thalamocortical terminal fields. An investigation in rat using horseradish peroxidase and autoradiography. *Brain Res.* 85 (1975) 385-401.
127. JANKOWSKA, E., Y. PADEL and R. TANAKA: Projections of pyramidal tract cells to α motoneurons innervating hind-limb muscles in the monkey. *J. Physiol.* 249 (1975) 637-667.
128. JONES, E.G. and H. BURTON: Cytoarchitecture and somatic sensory connectivity of thalamic nuclei other than the ventrobasal complex in the cat. *J. comp. Neurol.* 154 (1974) 395-432.
129. JONES, E.G., J.D. COULTER, H. BURTON and R. PORTER: Cells of origin and terminal distribution of corticostriatal fibers, arising in the sensory-motor cortex of monkeys. *J. comp. Neurol.* 173 (1977) 53-80.
130. JONES, E.G., J.D. COULTER and S.H.C. HENDRY: Intracortical connectivity of architectonic fields in the somatic sensory, motor and parietal cortex of monkeys. *J. comp. Neurol.* 181 (1978) 291-348.
131. JONES, E.G. and R. PORTER: What is area 3a. *Brain Res. Rev.* 2 (1980) 1-43.
132. JONES, E.G. and T.P.S. POWELL: The projection of the somatic sensory cortex upon the thalamus in the cat. *Brain Res.* 10 (1968) 369-391.

133. JONES, E.G. and T.P.S. POWELL: An electron microscopic study of the mode of termination of cortico-thalamic fibers within the sensory relay nuclei of the thalamus. *Proc. roy. Soc. B* 172 (1969) 173-185.
134. JONES, E.G. and T.P.S. POWELL: Connexions of the somatic sensory cortex of the Rhesus monkey. III Thalamic Connexions. *Brain Res.* 93 (1970) 37-56.
135. JONES, E.G. and S.P. WISE: Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys. *J. comp. Neurol.* 175 (1977) 391-438.
136. KAWAMURA, S., N. FUKUSHIMA, S.A. HATTORI and T. TASHIRO: A ventral lateral geniculate projection to the dorsal thalamus and the mid-brain in the cat. *Exp. Brain Res.* 31 (1978) 95-106.
137. KAWAMURA, K., T. KONNO and M. CHIBA: Cells of origin of cortico-pontine and corticotectal fibers in the medial and lateral banks of the middle suprasylvian sulcus in the cat. An experimental study with the horseradish peroxidase method. *Neurosci. Lett.* 9 (1978) 129-135.
138. KAWANA, E: Projections of the anterior ectosylvian gyrus to the thalamus, the dorsal column nuclei, the trigeminal nuclei and the spinal cord in cats. *Brain Res.* 14 (1969) 117-136.
139. KEEFER, D.A., W.B. SPATZ and U. MISGELD: Golgilike staining of neocortical neurons using retrograde transported horseradish peroxidase. *Neurosci. Lett.* 3 (1976) 233-237.
140. KEMP, J.M. and T.P.S. POWELL: The corticostriate projection in the monkey. *Brain* 93 (1970) 525-546.
141. KEMP, J.M. and T.P.S. POWELL: The connexions of the striatum and globus pallidus: Synthesis and speculation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 262 (1971) 441-457.
142. KENNARD, M.A: Corticospinal fibers arising in the premotor area of the monkey. *Arch. Neurol. Psychiat. Chicago* 33 (1935) 698-711.
143. KIEVIT, J: Cerebellothalamische projecties en de afferente verbindingen naar de frontaalschors in de Rhesusaap. Proefschrift. (1979)
144. KISS, J., F. HAJDU and E. LANG: Projections of somatosensory areas SI and SII to the VB complex studied by combined experimental degeneration and autoradiography. *Activitas Nerv. Sup.* 19 (1977) 74-76.
145. KNEISLEY, L.W., M.P. BIBER and J.H. LAVAIL: A study of the origin of brainstem projections to monkey spinal cord, using the retrograde HRP transport method. *Exp. Neurol.* 60 (1978) 116-139.

146. KOOY, D. VAN DER: The organization of the thalamic, nigral and raphe cells projecting to the medial vs. lateral caudate-putamen in rat. A fluorescent retrograde double labeling study. *Brain Res.* 169 (1979) 381-387.
147. KOOY, D. VAN DER and T. HATTORI: Doral raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra: a fluorescent retrograde double labeling study in the rat. *Brain Res.* 186 (1980) 1-8.
148. KOOY, D. VAN DER and H.G.J.M. KUYPERS: Fluorescent retrograde double labeling: axonal branching in the ascending raphe and nigral projections. *Science* 204 (1979) 873-875.
149. KOOY, D. VAN DER, H.G.J.M. KUYPERS and C.E. CATSMAN-BERREVOETS: Single mammillary body cells with divergent axon collaterals. Demonstration by a simple fluorescent retrograde double labeling technique in the rat. *Brain Res.* 158 (1978) 189-196.
150. KOOY, D. VAN DER and R.A. WISE: Retrograde fluorescent tracing of substantia nigra neurons combined with catecholamine histofluorescence. *Brain Res.* 183 (1980) 447-452.
151. KRIEG, W.J.S: Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas. *J. comp. Neurol.* 84 (1946) 221-276.
152. KRIEG, W.J.S: Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. B. Structure of cortical areas. *J. comp. Neurol.* 84 (1946) 277-324.
153. KRIEG, W.J.S: Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. C. Extrinsic connections. *J. comp. Neurol.* 86 (1947) 267-394.
154. KRIEG, W.J.S: Connections of the frontal cortex of the monkey. Springfield J. Thomas (1954).
155. KRISTENSSON, K: Transport of fluorescent protein tracer in peripheral nerves. *Acta Neuropath.* 16 (1970) 293-300.
156. KRISTENSSON, K. and Y. OLSSON: Retrograde axonal transport of protein. *Brain Res.* 29 (1971) 363-365.
157. KRISTENSSON, K. and Y. OLSSON: Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. I. Time relationships between transport and induction of chromatolysis. *Brain Res.* 79 (1974) 101-109.

158. KRISTENSSON, K. and Y. OLSSON: Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. 3. Entry into injured axons and subsequent localization in perikaryon. *Brain Res.* 115 (1976) 201-213.
159. KRISTENSSON, K., Y. OLSSON and J. SJÖSTRAND: Axonal uptake and retrograde transport of exogenous proteins in the hypoglossal nerve. *Brain Res.* 32 (1971) 399-406.
160. KRUGER, L. and S. SAPORTA: Axonal transport of ^3H adenosine in visual and somatosensory pathways. *Brain Res.* 122 (1977) 132-136.
161. KÜNZLE, H: Bilateral projections from precentral motor-cortex to the putamen and other parts of the basal ganglia. An autoradiographic study in macaca fascicularis. *Brain Res.* 88 (1975) 195-209.
162. KÜNZLE, H: Thalamic projections from the precentral motor cortex in macaca fascicularis. *Brain Res.* 105 (1976) 253-267.
163. KÜNZLE, H: Projections from the primary somatosensory cortex to basal ganglia and thalamus in the monkey. *Exp. Brain Res.* 30 (1977) 481-492.
164. KÜNZLE, H: Evidence for selective axon-terminal uptake and retrograde transport of label in cortico- and rubrospinal systems after injection of ^3H proline. *Exp. Brain Res.* 28 (1977) 125-132.
165. KÜNZLE, H: An autoradiographic analysis of the efferent connections from premotor and adjacent prefrontal regions (areas 6 and 9) in macaca fascicularis. *Brain behav. Evol.* 15 (1978) 185-234.
166. KÜNZLE, H. and K. AKERT: Efferent connections of cortical area 8 (frontal eye field) in macaca fascicularis. A reinvestigation using the autoradiographic technique. *J. comp. Neurol.* 173 (1977) 147-166.
167. KÜNZLE, H., K. AKERT and R.H. WURTZ: Projection of area 8 (frontal eye field) to superior colliculus in the monkey. An autoradiographic study. *Brain Res.* 117 (1976) 487-492.
168. KUSAMA, T., K. OTANI and E. KAWANA: Projections of the motor, somatic sensory, auditory and visual cortices in cats. In: *Progress in Brain Research* vol. 21A, T. Tokizane and J.P. Schadé (Eds.), Elsevier, Amsterdam, p. 292-322 (1966).
169. KUYPERS, H.G.J.M: Pericentral cortical projections to motor and sensory nuclei. *Science* 128 (1958) 662-663.
170. KUYPERS, H.G.J.M: Some projections from the pericentral cortex to the pons and lower brain stem in monkey and chimpanzee. *J. comp. Neurol.* 110 (1958) 221-255.
171. KUYPERS, H.G.J.M: An anatomical analysis of corticobulbar connections to the pons and lower brain stem in the cat. *J. Anat.* 92 (1958) 198-218.

172. KUYPERS, H.G.J.M: Central cortical projections to motor and somato-sensory-cell groups. *Brain* 83 (1960) 161-184.
173. KUYPERS, H.G.J.M: The descending pathways of the spinal cord. *Sec. Symp. Parkinson's Dis. suppl. J. neurosurg.* (1966) 200-208.
174. KUYPERS, H.G.J.M: The anatomical organization of the descending pathways and their contributions to motor control, especially in primates. In: *New Developments in EMG and Clinical Neuropsychology* vol. III, J.E. Desmedt (Eds.), Karger, Basel (1973) 38-68.
175. KUYPERS, H.G.J.M: The descending pathways to the spinal cord, their anatomy and function. In: *Organization of the spinal cord, Progress in Brain Res. Vol. 11*, J.C. Eccles and J.P. Schadé (Eds.), Elsevier, Amsterdam (1974) 178-200.
176. KUYPERS, H.G.J.M: From motor control to conscious experience. In: *Cerebral correlates of conscious experience*, P. Buser and R. Buser (Eds.), INSERM Symposium no 6, Elsevier, Amsterdam/North Holland Biomedical Press (1978) 95-110.
177. KUYPERS, H.G.J.M: Anatomy of the descending pathways. In: *Handbook of Physiology*, V.B. Brooks (Ed.), in press.
178. KUYPERS, H.G.J.M., M. BENTIVOGLIO, C.E. CATSMAN-BERREVOETS and A.T. BHAROS: Double retrograde neuronal labeling through divergent axon collaterals using two fluorescent tracers with same excitation wavelength which label different features of the cell. *Exp. Brain Res.* 40 (1980) 383-392.
179. KUYPERS, H.G.J.M., M. BENTIVOGLIO, D. VAN DER KOOY and C.E. CATSMAN-BERREVOETS: Retrograde transport of bisbenzimidazole and propidium iodide through axons to their parent cell bodies. *Neurosci. Lett.* 12 (1979) 1-7.
180. KUYPERS, H.G.J.M. and J. BRINKMAN: Precentral projections to different parts of the spinal intermediate zone in the Rhesus monkey. *Brain Res.* 24 (1970) 29-48.
181. KUYPERS, H.G.J.M., C.E. CATSMAN-BERREVOETS and R.E. PADT: Retrograde axonal transport of fluorescent substances in rat's forebrain. *Neurosci. Lett.* 6 (1977) 127-135.
182. KUYPERS, H.G.J.M., W.R. FLEMING and J.W. FARINHOLT: Descending projections to spinal motor and sensory cell groups in the monkey: cortex versus subcortex. *Science* 132 (1960) 38-40.
183. KUYPERS, H.G.J.M., W.R. FLEMING and J.W. FARINHOLT: Subcorticospinal projections in the Rhesus monkey. *J. comp. Neurol.* 118 (1962) 107-137.

184. KUYPERS, H.G.J.M., J. KIEVIT and A.C. GROEN-KLEVANT: Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in rat's forebrain. *Brain Res.* 67 (1974) 211-218.
185. KUYPERS, H.G.J.M. and D.G. LAWRENCE: Cortical projections to the red nucleus and the brain stem in the Rhesus monkey. *Brain Res.* 4 (1967) 151-188.
186. KUYPERS, H.G.J.M. and V.A. MAISKY: Retrograde axonal transport of HRP from spinal cord to brain stem cell groups. *Neurosci. Lett.* 1 (1975) 9-14.
187. KUYPERS, H.G.J.M. and V.A. MAISKY: Funicular trajectories of descending brainstem pathways. *Brain Res.* 136 (1977) 159-165.
188. KUYPERS, H.G.J.M. and D. PANDYA: Comments on the cortical projections to the center median in the chimpanzee. In: *The Thalamus*, D.P. Purpura and M.D. Yahr (Eds.), New York, Columbia University Press (1966) 122-127.
189. KUYPERS, H.G.J.M. and J.D. TUERCK: The distribution of cortical fibers within the nuclei cuneatus and gracilis in the cat. *J. Anat. (Lond.)*, 98 (1964) 143-162.
190. LANCE, J.W. and R.L. MANNING: Origin of the pyramidal tract in the cat. *J. Physiol.* 124 (1954) 385-399.
191. LANDGREN, S., C.G. PHILLIPS and R. PORTER: Cortical fields of origin of the monosynaptic pyramidal pathways to some alpha- motoneurons of the baboons hand and forearm. *J. Physiol.* 161 (1962) 112-125.
192. LASSEK, A.M: The pyramidal tract: Basic considerations of cortico-spinal neurons. *Res. Publ. Ass. F. Res. Ment. Dis.* 27 (1948) 106-162.
193. LaVAIL, J.H. and M.M. LaVAIL: Retrograde axonal transport in the central nervous system. *Science* 176 (1972) 1416-1417.
194. LAWRENCE, D.G. and D.A. HOPKINS: The development of motor control in the rhesus monkey: evidence concerning the role of corticomotoneuronal connections. *Brain* 99 (1976) 235-254.
195. LAWRENCE, D.G. and H.G.J.M. KUYPERS: The functional organization of the motor system in the monkey. I. The effects of bilateral pyramidal lesions. *Brain* 91 (1968) 1-14.
196. LAWRENCE, D.G. and H.G.J.M. KUYPERS: The functional organization of the motor system in the monkey. II. The effects of lesions of the descending brain stem pathways. *Brain* 91 (1968) 15-36.
197. LEONARD, C.M: The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Res.* 12 (1969) 321-343.

198. LEONARD, C.M: The connections of the dorsomedial nuclei. *Brain* *behav. Evol.* 6 (1972) 524-541.
199. LEONG, S.L: An experimental study of the corticofugal system, following cerebral lesions in the albino rats. *Exp. Brain Res.* 26 (1976) 235-247.
200. LEVIN, P.M: The efferent fibers of the frontal lobe of the *Macaca mulatta*. *J. comp. Neurol.* 63 (1936) 369-419.
201. LEVIN, P.M. and F.K. BRADFORD: The exact origin of the corticospinal tract in the monkey. *J. comp. Neurol.* 68 (1938) 411-422.
202. LEWIS, W.B: On the comparative structure of the cortex cerebri. *Brain* 1 (1878) 79-86.
203. LEWIS, W.B. and H. CLARKE: The cortical lamination of the motor area of the brain. *Proc. roy. Soc.* 27 (1878) 38-49.
204. LIEBERMAN, A.R: The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axotomy. *Int. rev. Neurobiol.* 14 (1971) 50-124.
205. LITCHY, W.J: Uptake and retrograde transport of horseradish peroxidase in frog sartorius nerve in vitro. *Brain Res.* 56 (1973) 377-381.
206. LILLY, J.C: Correlations between neurophysiological activity in the cortex and short term behaviour in the monkey. In: *Biological and biochemical basis of behaviour*, H.F. Harlow and C.N. Woolsey (Eds.), The University of Wisconsin Press, Madison Wi. (1958) p. 83.
207. LIU, C.N: Instrumental conditioned movements of the forelimbs of cats with rubrospinal and corticospinal tractotomy. *Anat. Rec.* 175 (1973) 373.
208. LIU, C.N. and W.W. CHAMBERS: An experimental study of the corticospinal system in the monkey (*Macaca mulatta*). *J. comp. Neurol.* 123 (1965) 257-284.
209. LORENTE DE NÓ, R: *Architectonics and structure of the cerebral cortex* In: *physiology of the nervous system*, 1st edition, J.F. Fulton, Oxford University Press, London (1938).
210. LUND, J.S., R.D. LUND, A.E. HENDRICKSON, A.H. BUNT and A.F. FUCHS: The origin of efferent pathways from the primary visual cortex, area 17, of the Macaque monkey as shown by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J. comp. Neurol.* 164 (1975) 287-303.
211. LUND, S. and O. POMPEIANO: Monosynaptic excitation of alpha motoneurons from supraspinal structures in the cat. *Acta Physiol. Scand.* 73 (1968) 1-21.

212. MABUCHI, M: Corticofugal projections to the subthalamic nucleus, the red nucleus and the adjacent areas in monkey. Proc. jap. Acad. 43 (1967) 818-821.
213. MABUCHI, M. and T. KUSAMA: The corticorubral projection in the cat. Brain Res. 2 (1966) 254-273.
214. MACIEWICZ, R.J: Afferents to the lateral suprasylvian gyrus of the cat traced with horseradish peroxidase. Brain Res. 78 (1974) 139-143.
215. MAGELHAES-CASTRO, H.H., P.E. SARAIVA and B. MAGELHAES-CASTRO: Identification of corticotectal cells of the visual cortex of cats by means of horseradish peroxidase. Brain Res. 83 (1975) 474-479.
216. MAGNI, F. and W.D. WILLIS: Identification of reticular formation neurons by intracellular recording. Arch. ital. Biol. 101 (1963) 681-702.
217. MALMGREN, L. and Y. OLSSSEN: A sensitive method for histochemical demonstration of horseradish peroxidase in neurons following retrograde axonal transport. Brain Res. 148 (1978) 279-294.
218. MARTIN, G.F., A.O. HUMBERTSON, L.C. LAXON, W.M. PANNETON and I. TSCHISMADIA: Spinal projections from mesencephalic and pontine reticular formation in North American opossum. A study using axonal transport techniques. J. comp. Neurol. 187 (1979) 373-400.
219. McCULLOCH, W.S., C. GRAF and H.W. MAGOUN: A corticobulbo-reticular pathway from area 4-S. J. Neurophysiol. 9 (1946) 127-132.
220. McGUINNESS, C.M. and G.M. KRAUTHAMER: The afferent projections to the centrum medianum as demonstrated by retrograde transport of Horseradish Peroxidase. Brain Res. 184 (1980) 255-269.
221. MESULAM, M.M: Tetramethylbenzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: A non carcinogenic blue reactionproduct with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. J. Histochem. Cytochem. 26 (1978) 106-117.
222. MESULAM, M.M. and D.L. ROSENE: Differential sensitivity between blue and brown reaction procedures for HRP neurohistochemistry. Neurosci. Lett. 5 (1977) 7-14.
223. MESULAM, M.M. and D.L. ROSENE: Sensitivity in horseradish peroxidase neurohistochemistry: A comparative and quantitative study of nine methods. J. Histochem. Cytochem. 27 (1979) 763-773.
224. METTLER, F.A: Extracortical connections of the primate frontal cerebral cortex. II. Corticifugal connections. J. comp. Neurol. 86 (1947) 119-166.

225. METTLER, F.A: The corticothalamic projection: The structural substrate for the control of the thalamus by the cerebral cortex. In: Corticothalamic projections and sensorimotor activities, T.L. Frigyesi, E. Rinvik and M.N. Yahr (Eds.), Raven Press, New York (1972) 1-19.
226. MEYNERT, T: Der Bau der Gross- Hirnrinde und seine örtliche Verschiedenheiten nebst einem pathologisch-anatomischen Corollarium. *Vierteljahrschr. Psychiatrie*. 1 (1867) 77-93 and 125-217, 1 (1868) 381-403 and 2 (1868) 88-113.
227. MILLER, R.A. and N.L. STROMINGER: Efferent connections of the red nucleus in the brainstem and spinal cord of the Rhesus monkey. *J. comp. Neurol.* 152 (1973) 327-347.
228. MINCKLER, J., R.M. KLEMM and D. MINCKLER: The course of efferent fibers from the human premotor cortex. *J. comp. Neurol.* 81 (1944) 259-277.
229. MINKOWSKY, M: Etude sur les connexions anatomiques des circonvolutions rolandiques, pariétales et frontales. *Schweiz. arch. Neurol. Psychiat.* 12 (1923) 71-104.
230. MIZUNO, N., E.K. SAUERLAND and C.D. CLEMENTE: Projections from the orbital gyrus in the cat. I. To brain stem structures. *J. comp. Neurol.* 133 (1968) 463-476.
231. MOLENAAR, I: An anatomical study of the propriospinal connections in the cat. Thesis. Bronder, Rotterdam (1977).
232. MOLENAAR, I. and H.G.J.M. KUYPERS: Cells of origin of propriospinal fibers and of fibers ascending to supraspinal levels. A HRP study in cat and Rhesus monkey. *Brain Res.* 152 (1978) 429-450.
233. MOLENAAR, I., A. RUSTIONI and H.G.J.M. KUYPERS: The location of cells of origin of the fibers in the ventral and the lateral funiculus of the cat's lumbosacral. *Brain Res.* 78 (1974) 239-254.
234. MONACOV, C. VON: Über einige durch Exstirpation circumscriperten Hirnrindenregionen bedingte Entwicklungshemmungen des Kaninchen Gehirns. *Arch. f. Psychiat.* 12 (1881) 141-156.
235. MURRAY, E.A. and J.D. COULTER: Origins of cortical projections to cervical and lumbar spinal cord in monkey. *Neurosci. Abstr.* 2 (1976) 917.
236. MYERS, R.E: Cortical projections to midbrain in monkey. *Anat. Rec.* 45 (1963) 337-338.
237. MYERS, R.E: In: *Interhemispheric relations and cerebral dominance*, V.B. Mountcastle (Ed.), Baltimore, Johns Hopkins Press (1962).

238. NATHAN, P.W. and M.C. SMITH: Long descending tracts in man. I. Review of present knowledge. *Brain* 78 (1955) 248-303.
239. NAUTA, H.J.W., M.B. PRITZ and R.J. LASEK: Afferents to the rat caudoputamen studied with horseradish peroxidase. An evaluation of a retrograde neuroanatomical research method. *Brain Res.* 67 (1964) 219-238.
240. NAUTA, W.J.H., G.P. SMITH, R.L.M. FAULL and V.B. DOMESICK: Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience* 3 (1978) 385-401.
241. NIEOULLON, A. and L. RISPAL-PADEL: Somatotopic localization in cat motor cortex. *Brain Res.* 105 (1976) 405-422.
242. NIIMI, K., S. KISHI, M. MIKI and S. FUJITA: An experimental study of the course and termination of the projection fibers from cortical areas 4 and 6 in the cat. *Fol. psych. Neurol. jap.* 17 (1963) 167-215.
243. NYBERG-HANSEN, R: Functional organization of descending supraspinal fiber systems to the spinal cord. Anatomical observations and physiological correlations. *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.* 39 (1966) 6-47.
244. NYBERG-HANSEN, R: Corticospinal fibers from the medial aspect of the cerebral hemisphere in the cat. An experimental study with the Nauta method. *Exp. Brain Res.* 7 (1969) 120-132.
245. NYBERG-HANSEN, R: Further studies on the origin of corticospinal fibers in the cat. An experimental study with the Nauta method. *Brain Res.* 16 (1969) 39-54.
246. NYBERG-HANSEN, R. and A. BRODAL: Sites of termination of corticospinal fibers in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *J. comp. Neurol.* 120 (1963) 369-391.
247. NYBERG-HANSEN, R. and A. BRODAL: Sites and modes of termination of rubrospinal fibers in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *J. Anat. (Lond.)*, 98 (1964) 235-253.
248. OKA, H: Organization of the cortico-caudate projections. A Horseradish Peroxidase study in the cat. *Exp. Brain Res.* 40 (1980) 203-208.
249. OLSSON, T. and K. KRISTENSSON: A simple histochemical method for double labeling of neurons by retrograde axonal transport. *Neurosci. Lett.* 8 (1978) 265-268.
250. OLSZEWSKI, J: The thalamus of the *Macaca mulatta*. An atlas for use with the stereotaxic instrument. Karger, New York (1952).

251. PADEL, Y., A.M. SMITH and J. ARMAND: Topography of projections from the motorcortex to rubrospinal units in the cat. *Exp. Brain Res.* 17 (1973) 315-332.
252. PEARCE, G.W: Some cortical projections to the midbrain reticular formation. In: *Structure and Function of the cerebral cortex*, D.B. Tower and S.P. Schadé (Eds.), Elsevier, Amsterdam (1960) 131-137.
253. PEELE, T.L: Cytoarchitecture of individual parietal areas in the monkey (*macaca mulatta*) and the distribution of the efferent fibers. *J. comp. Neurol.* 77 (1942) 693-737.
254. PENFIELD, W. and R. RASMUSSEN: *The cerebral cortex of man*. Mac Millan, New York (1950).
255. PETERSON, E.W. and D.S. BICKERS: Projections of cortical area 6 to brain stem in monkey. *J. Neurophysiol.* 15 (1952) 87-90.
256. PETERSON, B.W., R.A. MAUNZ, N.G. PITTS and R.G. MACKEL: Patterns of projection and branching of reticulospinal neurons. *Exp. Brain Res.* 23 (1975) 333-351.
257. PETRAS, J.M: Some fiber connections of the precentral (areas 4 and 6) with the diencephalon in the monkey (*macaca mulatta*). *Anat. Rec.* 148 (1964) 322.
258. PETRAS, J.M: Some fiber connections of the precentral and post-central cortex with the basal ganglia thalamus and subthalamus. *Transact. Am. Neurol. Ass.* 90 (1965) 274-275.
259. PETRAS, J.M: Cortical, tectal and tegmental fiber connections in the spinal cord of the cat. *Brain Res.* 6 (1967) 275-324.
260. PETRAS, J.M: Some efferent connections of the motor and somato-sensory cortex of simian primates and felid, canid and procyonid carnivores. *Ann. NY Acad. Sci.* 167 (1969) 469-505.
261. PETRAS, J.M: Corticostriate and corticothalamic connections in the chimpanzee. In: *Corticothalamic projections and sensorimotor activities*, T.L. Frigyesi, E. Rinvik and M.P. Yahr (Eds.), Raven Press, NY (1972) 201-216.
262. PHILLIPS, C.G. and R. PORTER: The pyramidal projection to motoneurons of some muscle groups of the baboon's forelimb. In: *Physiology of spinal neurones*, J.C. Eccles and J.P. Schadé (Eds.), *Progress in Brain Research* vol. 12 (1964) 222-242, Elsevier Publ. Co., Amsterdam.
263. PHILLIPS, C.G. and R. PORTER: Corticospinal neurones. Their role in movement. *Monographs of the physiological society* no. 34 (1977), Academic Press Inc. London.

264. POMPEIANO, O. and A. BRODAL: Experimental demonstration of a somatotopical origin of rubrospinal fibers in the cat. *J. comp. Neurol.* 108 (1957) 225-252.
265. PORTER, R: Antidromic conduction of volleys in pyramidal tract. *J. Neurophysiol.* 18 (1955) 138-150.
266. POWELL, T.P.S. and V.B. MOUNTCASTLE: The cytoarchitecture of the postcentral gyrus of the macaca mulatta. *Johns Hopkins Bull.* 105 (1959) 108-131.
267. PRESTON, J.B. and D.G. WHITLOCK: Intracellular potentials recorded from motoneurons following precentral gyrus stimulation in primate. *J. Neurophysiol.* 24 (1961) 91-100.
268. PRICE, D.L., J.W. GRIFFIN and K. PECK: Tetanus toxin: evidence for binding at presynaptic nerve endings. *Brain Res.* 121 (1977) 379-384.
269. PRICE, T.R. and K.E. WEBSTER: The corticothalamic projection from the primary somatosensory cortex of the rat. *Brain Res.* 44 (1972) 636-640.
270. RAVIZZA, R.J., R.B. STRAW and P.D. LONG: Laminar origin of efferent projections from auditory cortex in the golden syrian hamster. *Brain Res.* 114 (1976) 497-500.
271. REDLICH, E: Über die anatomische Folgeerscheinungen ausgedehnten Extirpationen der Motorischen Rindencentern bei der Katze. *Neurol. Zbl.* 16 (1897) 818-833.
272. REED, A.F: The nuclear masses in the cervical spinal cord of macaca mulatta. *J. comp. Neurol.* 72 (1940) 187-206.
273. RINVIK, E: The corticorubral projection in the cat. Further observations. *Exp. Neurol.* 12 (1965) 278-291.
274. RINVIK, E: A reevaluation of the cytoarchitecture of the ventral nuclear complex of the cat's thalamus on the basis of corticothalamic connections. *Brain Res.* 8 (1968) 237-254.
275. RINVIK, E: The corticothalamic projection from the pericruciate and coronal gyri in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *Brain Res.* 10 (1968) 79-119.
276. RINVIK, E: The corticothalamic projection from the gyrus proreus and the medial wall of the rostral hemisphere in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *Exp. Brain Res.* 5 (1968) 129-152.
277. RINVIK, E: The corticothalamic projection from the second somatosensory cortical area in the cat. An experimental study with silver impregnation methods. *Exp. Brain Res.* 5 (1968) 153-172.

278. RINVIK, E: Organization of thalamic connections from motor and somatosensory cortical areas in the cat. In: Corticothalamic projections and sensorimotor activities, T. Frigyesi, E. Rinvik and M.D. Yahr (Eds.), Raven Press, NY (1972) 57-90.
279. RINKVIK, E. and F. WALBERG: Demonstration of a somatotopically arranged corticorubral projection in the cat. An experimental study with silver methods. *J. comp. Neurol.* 120 (1963) 393-407.
280. ROBERTS, T.S. and K. AKERT: Insular and opercular cortex and its thalamic projection in macaca mullatta. *Schweizer Archiv. Neurol. Psychiat.* 92 (1963) 1-43.
281. ROBSON, J.A. and W.C. HALL: Connections of layer VI in striate cortex of the grey squirrel (*Sciurus-carolinensis*). *Brain Res.* 93 (1975) 133-139.
282. ROMAGNANO, M.A. and R.J. MACLEWICZ: Peroxidase labeling of motor cortex neurons projecting to the ventrolateral nucleus in the cat. *Brain Res.* 83 (1975) 469-473.
283. ROMANES, G.J: The motor cell columns of the lumbosacral spinal cord of the cat. *J. comp. Neurol.* 94 (1951) 313-363.
284. ROSE, G. and P. SCHUBERT: Release and transfer of ^3H adenosine derivatives in the cholinergic septal system. *Brain Res.* 121 (1977) 353-358.
285. ROSINA, A., L. PROVINI, M. BENTIVOGLIO and H.G.J.M. KUYPERS: Ponto-neocerebellar axonal branching as revealed by double fluorescent retrograde labeling technique. *Brain Res.* 195 (1980) 461-466.
286. ROSSI, G.F. and A. BRODAL: Corticofugal fibers to the brain stem reticular formation. An experimental study in the cat. *J. Anat. (Lond.)* 90 (1956) 42-62.
287. RUSSEL, J.R. and W. DE MYER: The quantitative cortical origin of pyramidal axons of macaca rhesus. *Neurology* 11 (1961) 96-108.
288. SAKAI, S: Some observations on the corticothalamic fiber connections in the monkey. *Proc. Jap. Acad.* 43 (1967) 822-826.
289. SAUERLAND, E.K., Y. NAKAMURA and C.D. CLEMENTE: The role of the lower brain stem in cortically induced inhibition of somatic reflexes in the cat. *Brain Res.* 6 (1967) 164-180.
290. SCHEIBEL, M.E. and A.B. SCHEIBEL: The organization of the nucleus reticularis thalami. A Golgi study. *Brain Res.* 1 (1966) 43-62.
291. SCHLAG, J. and M. SCHLAG-REY: Induction of oculomotor responses by electrical stimulation of the prefrontal cortex in the cat. *Brain Res.* 22 (1970) 1-13.

292. SCHOEN, J.H.R: Comparative aspects of the descending fiber systems in the spinal cord. In: Organization of the spinal cord, J.C. Eccles and J.P. Schädé (Eds.), Elsevier Publ. Co. Amsterdam. Progress in Brain Res. (1964) 203-222.
293. SCHUBERT, P. and H. HOLLÄNDER: Methods for delivery of tracers to the central nervous system. In: The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity, W. Cowan and M. Cuénod (Eds.), Elsevier, Amsterdam (1975) 113-125.
294. SCHUBERT, P. and G.W. KREUTZBERG: Axonal transport of adenosine and uridine derivatives and transfer to postsynaptic neurons. Brain Res. 76 (1974) 526-530.
295. SCHUBERT, P. and G.W. KREUTZBERG: ^3H adenosine, a tracer for neuronal connectivity. Brain Res. 85 (1975) 317-319.
296. SCHWAB, M., Y. AGID, J. GLOWINSKI and H. THOENEN: Retrograde axonal transport of ^{125}I -tetanus toxin as a tool for tracing fiber connections in the central nervous system: Connections of the rostral part of the rat neostriatum. Brain Res. 126 (1977) 211-224.
297. SHAPOVALOV, A.I: Extrapyramidal monosynaptic and disynaptic control of mammalian alpha-motoneurons. Brain Res. 40 (1972) 105-115.
298. SHAPOVALOV, A.I., O.A. KARAMJAN, C.G. KURCHAVYI and Z.A. REPINA: Synaptic actions evoked from the red nucleus on the spinal alpha-motoneurons in the Rhesus monkey. Brain Res. 32 (1971) 325-348.
299. SHINODA, Y., A.P. ARNOLD and H. ASANUMA: Spinal branching of corticospinal axons in the cat. Exp. Brain Res. 26 (1976) 215-234.
300. SHINODA, Y., P. ZARZECKI and H. ASANUMA: Spinal branching of pyramidal tract neurons in the monkey. Exp. Brain Res. 34 (1979) 59-72.
301. SINGER, W., H. HOLLÄNDER and H. VANEGAS: Decreased peroxidase labeling of lateral geniculate neurons following deafferentation. Brain Res. 120 (1977) 133-137.
302. SOUSA-PINTO, A: Experimental anatomical demonstration of a corticoolivary projection from area 6 (supplementary motor area?) in the cat. Brain Res. 16 (1969) 73-83.
303. SOUSA-PINTO, A: The cortical projection onto the paramedian reticular and perihypoglossal nuclei (nucleus praepositus hypoglossi, nucleus intercalatus and nucleus of Roller) of the medulla oblongata of the cat. An experimental anatomical study. Brain Res. 18 (1970) 77-91.
304. SPRAGUE, J.M: Corticofugal projections to the superior colliculus in the cat. J. Anat. Rec. 145 (1963) 288.

305. STERLADE, M. and G. YOSSIP: Afferent and recurrent collateral influences on cortical somatosensory neurons. *Exp. Neurol.* 56 (1977) 334-360.
306. STERLING, P. and H.G.J.M. KUYPERS: Anatomical organization of the brachial spinal cord of the cat. II. The motoneuron plexus. *Brain Res.* 4 (1967) 16-32.
307. STERLING, P. and H.G.J.M. KUYPERS: Anatomical organization of the brachial spinal cord of the cat. III. The propriospinal connections. *Brain Res.* 7 (1968) 419-443.
308. STEWARD, O. and S.A. SCOVILLE: Retrograde labeling of central nervous pathways with tritiated or Evansblue-labeled bovine serum albumin. *Neurosci. Lett.* 3 (1976) 191-196.
309. STEWARD, O., S.A. SCOVILLE and S.L. VINSANT: Analysis of collateral projections with a double retrograde labeling technique. *Neurosci. Lett.* 5 (1977) 1-5.
310. STÖCKEL, M., M. SCHWAB and H. THOENEN: Role of gangliosides in the uptake and retrograde axonal transport of cholera and tetanus toxin as compared to nerve growth factor and wheat germ agglutinin. *Brain Res.* 132 (1977) 273-285.
311. TOWE, A.L: Somatosensory cortex: Descending influences on ascending systems. In: *Somatosensory system. Handbook of Sensory Physiology* vol II, A. Iggo (Ed.), Springer Verlag, Berlin (1971) 701-718.
312. TRACHTENBERG, M.C. and R.T. HADLEY: Poly-L-Ornithine improves light microscopic visualization of horseradish peroxidase. *Soc. Neurosci.* 3 (1977) 32.
313. TSUKAHARA, N., D.R.G. FULLER and V.B. BROOKS: Collateral pyramidal influences on the corticorubrospinal system. *J. Neurophysiol.* 31 (1968) 467-484.
314. TUERCK (1851), zoals geciteerd door P.W. Nathan en M.C. Smith, Long descending tracts in man. I. Review of the present knowledge. *Brain* 78 (1955) 248-303.
315. UESUGI, M. VON: Über die corticalen extrapyramidalen Fasern aus den sog. sensibelen Rindenfeldern (areae 1 und 2) beim Affen. *Anat. Anz.* 84 (1937) 179-197.
316. VALVERDE, F: Reticular formation of the albino's rat's brain stem cytoarchitecture and corticofugal connections. *J. comp. Neurol.* 119 (1962) 25-53.
317. VOGT, C. and O. VOGT: Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. *J. Psychol. Neurol.* 25 (1919) 277-462.

318. WAGMAN, I.H., H.P. KRIEGER, C.A. PAPTAEODOROU and M.B. BENDER:
Eye movements elicited by surface and depth stimulation of the
frontal lobe of macaque mulatta. *J. comp. Neurol.* 117 (1961)
179-188.
319. WALBERG, F: Descending connections to the inferior olive. An experi-
mental study in the cat. *J. comp. Neurol.* 104 (1956) 77-174.
320. WALBERG, F: Corticofugal fibers to the nuclei of the dorsal columns
An experimental study in the cat. *Brain* 80 (1957) 273-287.
321. WALBERG, F. and A. BRODAL: Pyramidal tract fibers from temporal and
occipital lobes. An experimental study in the cat. *Brain* 76 (1953)
491-508.
322. WARWICK, R: Representation of the extraocular muscles in the oculo-
motor nuclei of the monkey. *J. comp. Neurol.* 98 (1953) 449-504.
323. WEBSTER, K.E: The corticostriatal projection in the cat. *J. Anat.*
99 (1965) 329-337.
324. WEISBERG, J.A. and A. RUSTIONI: Cortical cells projecting to the
dorsal column nuclei of cats. An anatomical study with the horse-
radish peroxidase technique. *J. comp. Neurol.* 168 (1976) 425-438.
325. WEISBERG, J.A. and A. RUSTIONI: Cortical cells projecting to the
dorsal column nuclei of rhesus monkeys. *Exp. Brain Res.* 28 (1977)
521-528.
326. WEISBERG, J.A. and A. RUSTIONI: Differential projections of corti-
cal sensorimotor areas upon the dorsal column nuclei of cats. *J.*
comp. Neurol. 184 (1979) 401-422.
327. WELKER, C: Microelectrode delineation of fine gain somatotopic
organization of Sm I cerebral neocortex in albino rat. *Brain Res.*
26 (1971) 259-275.
328. WELKER, C. and M.M. SINHA: Somatotopic organization of Sm II cere-
bral neocortex in albino rat. *Brain Res.* 37 (1972) 132-136.
329. WILSON, V.J. and M. YOSHIDA: Comparison of effects of stimulation
of Deiter's nucleus and medial longitudinal fasciculus on neck,
forelimb and hindlimb motoneurons. *J. Neurophysiol.* 32 (1969)
743-758.
330. WILSON, V.J., M. YOSHIDA and R.H. SCHOR: Supraspinal monosynaptic
excitation and inhibition of thoracic back motoneurons. *Exp. Brain*
Res. 111 (1970) 282-295.
331. WISE, S.P. and E.G. JONES: Somatotopic and columnar organization
in the corticotectal projection of the rat somatic sensory cortex.
Brain Res. 133 (1977) 223-235.

332. WISE, S.P. and E.G. JONES: Cells of origin and terminal distribution of descending projections of the rat somatic sensory cortex. *J. comp. Neurol.* 175 (1977) 129-158.
333. WISE, S.P., E.A. MURRAY and J.D. COULTER: Somatotopic organization of corticospinal and corticotrigeminal neurons in the rat. *Neurosci.* 4 (1979) 65-78.
334. WONG-RILEY, M.T.T: Demonstration of geniculocortical and callosal projection neurons in the squirrel monkey by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 79 (1974) 267-272.
335. WOOLSEY, C.N: Organization of somatic sensory and motor areas of the cerebral cortex. In: *Biological and biochemical bases of behaviour*, H.F. Harlow and C.N. Woolsey (Eds.), University of Wisconsin Press, Madison Wisc. (1958) 63-81.
336. WOOLSEY, C.N. and H.T. CHANG: Activation of the cerebral cortex by antidromic volleys in the pyramidal tract. *Res. Publ. Nerv. Ment. Dis.* 27 (1948) 146-162.
337. WOOLSEY, C.N., P.H. SETTLAGE, D.R. MEYER, W. SPENCER, T.P. HAMUY and A.M. TRAVIS: Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area. *Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis.* 30 (1950) 238-264.
338. YETERIAN, E.H. and G.W. HOESEN: Corticostriate projections in the Rhesus monkey: The organization of certain corticocaudate connections. *Brain Res.* 137 (1978) 43-63.
339. ASANAUMA, H: Recent developments in the study of columnar arrangements of neurons within the motorcortex. *Physiol. Rev.* 55 (1975) 143-156.
340. JONES, E.G: Lamination and differential distribution of thalamic afferents within the sensorymotor cortex of the squirrel monkey. *J. comp. Neurol.* 160 (1975) 167-204.
341. MOUNTCASTLE, V.B: Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J. Neurophysiol.* 20 (1957) 408-434.
342. STRICK, P.L. and P. STERLING: Synaptic termination of afferents from the ventrolateral nucleus of the thalamus in the cat motorcortex. A light and electron microscopic study. *J. comp. Neurol.* 153 (1974) 77-105.

343. WIESEL, T.N., D.H. HUBEL and D.M.K. LAM: Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey striate cortex by means of transneuronal transport. *Brain Res.* 79 (1974) 273-279.
344. WOOLSEY, T.A. and H. VAN DER LOOS: The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. *Brain Res.* 17 (1970) 205-242.

Dankwoord

Het schrijven van dit proefschrift zou niet mogelijk zijn geweest zonder de hulp en medewerking van anderen. Dank ben ik speciaal verschuldigd aan mijn promotor Prof. Hans Kuypers, onder wiens deskundige en enthousiaste leiding het onderzoek, waarop dit proefschrift is gebaseerd, werd verricht. Verder aan coreferent Prof. A.H.M. Lohman, die een groot deel van de eindredactie van de tekst voor zijn rekening nam en aan coreferent Prof. J. Voogd, die met zijn suggesties en commentaar een waardevolle bijdrage leverde aan de uiteindelijke vorm van de tekst. Ik ben eveneens dank verschuldigd aan:

Roger Lemon en Hans van der Burg voor hun fysiologische arbeid, die het mogelijk maakte om de positie van structuren in het mesencephalon en het dien-cephalon nauwkeurig te bepalen.

Eddie Dalm voor zijn hulp bij de operaties en de postoperatieve zorg van de dieren.

Bob Verhoeven voor zijn zorg voor de dieren.

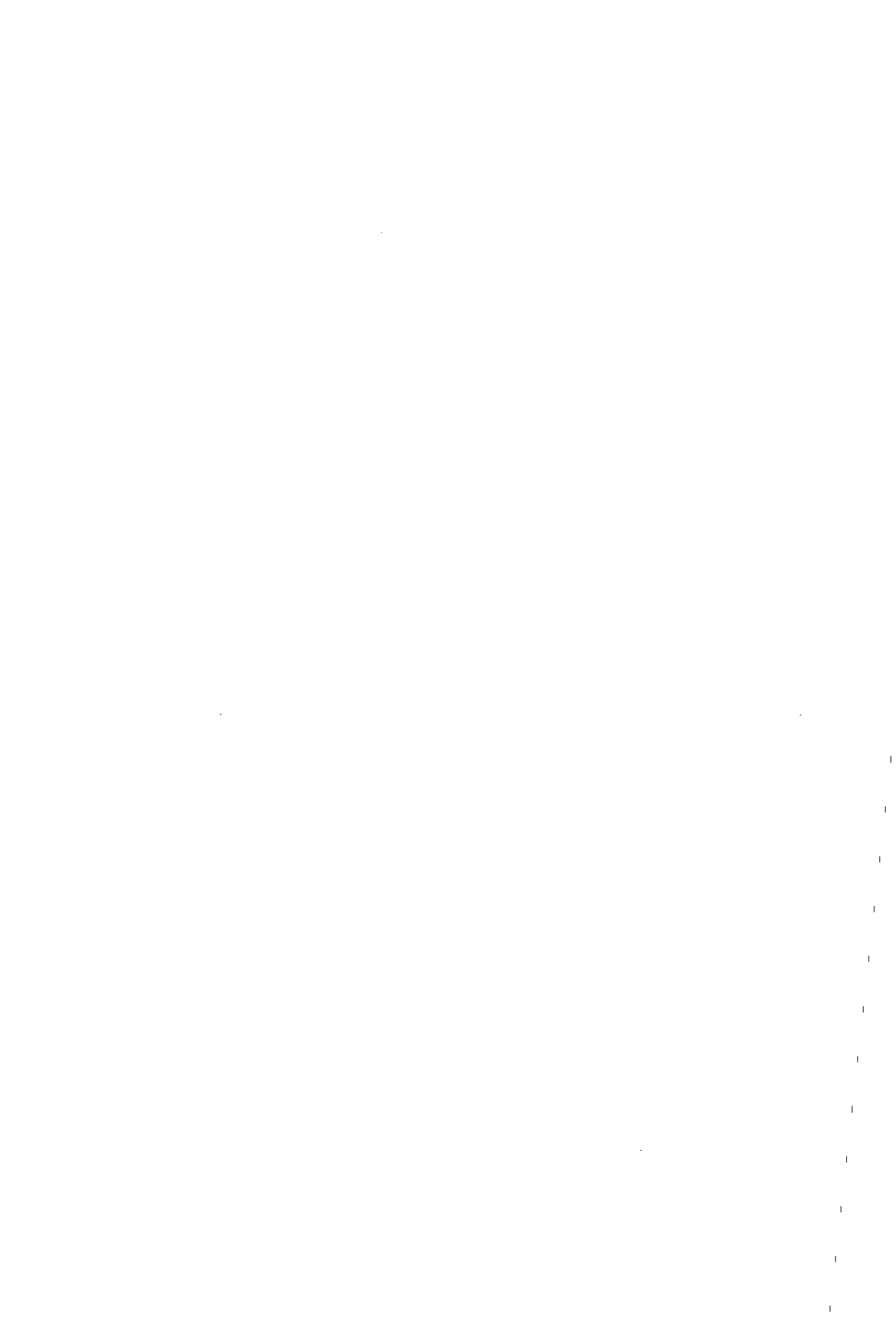
Henny Klink en Ellen Kegge voor het histologisch bewerken van grote hoeveelheden materiaal.

Dhr. W. van den Oudenalder, Paula van Alphen en Paula Delfos voor hun hulp bij de fotografie en hun adviezen bij het vervaardigen van de tekeningen.

Mevr. A. Peters-Wessels voor het geduldig uittypen van vele eerdere versies van het manuscript.

Edith Klink, die de definitieve versie van de tekst op voortreffelijke wijze uittipte.

Tenslotte wil ik graag alle vrienden en collega's bedanken voor hun morele steun tijdens het werken aan dit proefschrift.



Curriculum Vitae

De schrijfster van dit proefschrift werd op 12 augustus 1953 te Wemeldinge geboren. Na de opleiding gymnasium β aan het Petrus Hondius Lyceum te Terneuzen volgde in 1971 de medische studie aan de Erasmus Universiteit te Rotterdam. In het derde jaar van deze studie werd de keuzepraktikumtijd besteed op de afdeling neuroanatomie van deze Universiteit. In het kader van dit keuzepraktikum werd een stageperiode van drie maanden doorgebracht op de afdeling neuroanatomie van het Einstein College of Medicine te New York. Tijdens de keuzepraktikumperiode werd een aanvang gemaakt met het onderzoek naar de cellen van oorsprong van descenderende corticale vezels in de motorische cortex van de kat. Als student-assistent werd dit onderzoek voortgezet in de aap. Na het doctoraal examen geneeskunde in 1976 volgde een aanstelling als wetenschappelijk assistent op de afdeling neuroanatomie via een FUNGO positie. Deze aanstelling eindigde in het voorjaar van 1980. In deze jaren werd het in dit proefschrift beschreven onderzoek afgerond. Na deze periode werd de medische studie voortgezet en in september 1981 afgesloten met het artsexamen.

