

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einfluss der Hochfrequenzstimulation des Nucleus subthalamicus auf die
dopaminerge Transmission im Nucleus accumbens core und shell**

zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christoph Lemke

aus Bremen

Datum der Promotion: 11.12.2015

Für Lore

Inhaltsverzeichnis	Seite
Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
1. Zusammenfassung	1
Abstract	2
2. Einleitung	3
2.1 Das idiopathische Parkinsonsyndrom	4
2.2 Basalganglien	4
2.3 Pathophysiologie des idiopathischen Parkinsonsyndroms	7
2.4 Therapie des idiopathischen Parkinsonsyndroms	9
2.5 Hochfrequenzstimulation	9
2.6 Nebenwirkungen der HFS	11
2.7 Herleitung der Aufgabenstellung	13
3. Methodik	14
3.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen	14
3.2 Experimentelles Design	14
3.3 Chirurgische Eingriffe	15
3.4 Läsionen in der Substantia nigra pars compacta bzw. im ventralen Tegmentum	16
3.5 Mikrodialyse	16
3.6 Hochfrequenzstimulation	18
3.7 Quantitative Analysen der extrazellulären Konzentrationen von Dopamin und seiner Metabolite	18
3.8 Histologische Befunde und Analysen	19
2.8.1 Fixierung und Präparation der Gehirne	19
2.8.2 Immunhistochemie - Kresylviolett-Färbung	20
2.8.3 Immunhistochemie – Tyrosinhydroxylase (TH)-Färbung	21
3.9 Auswertungen der Daten	22

4. Ergebnisse	
4.1 Platzierungen der Stimulationselektrode und der Mikrodialysesonde	23
4.2 Experimenteller Ansatz 1: Effekte der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission im NAc core	25
4.3 Experimenteller Ansatz 1: Effekte der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission im NAc shell	30
4.4 Experimenteller Ansatz 2: Effekte der STN-HFS auf die GABAerge Transmission im VTA	35
4.5 Experimenteller Ansatz 3: Einfluss der SNc und der VTA auf die dopaminerge Transmission nach STN-HFS im NAc	37
4.5.1 Immunhistochemie	37
4.5.2 Mikrodialyse	39
5. Diskussion	43
6. Literatur	50
7. Abbildungsverzeichnis	67
8. Danksagung	70
9. Eidesstattliche Erklärung	71
10. Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen	72
11. Lebenslauf	73

Abkürzungsverzeichnis

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
Abb.	Abbildung
Ach	Acetylcholin
ANOVA	analysis of variance, Varianzanalyse
AP	Anterior posterior
BG	Basalganglien
CE	coefficient of error, Fehlerkoeffizient
COMT	Catechol-O-methylaminotransferase
DA	Dopamin
DBS	Deep Brain Stimulation, Tiefenhirnstimulation
DOPAC	3,4-Dihydrophenylelessigsäure
EEC	European Economic Community
EPN	Nucleus entopeduncularis
GABA	Gammaaminobuttersäure
Glu	Glutamat
GPe	Globus pallidus externus
GPi	Globus pallidus internus
HFS	Hochfrequenzstimulation
HPLC	high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatografie
HVA	homovanillic acid, Homovanillinsäure
i.p.	intra peritoneal
IPS	Ideopathisches Parkinsonsyndrom
ISPS	Inhibitorisches postsynaptisches Peptid
KG	Körpergewicht
L-DOPA	Levodopa
LH	lateraler Hypothalamus
MAO-B	Monoaminoxidase B
MPTP	1-Methyl-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin
NAc	Nucleus accumbens

NIH	National Institutes of Health (Bethesda, Maryland, USA)
6-OHDA	6-Hydroxydopamin
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
PS	Parkinson-Syndrom
RM	repeated measures, Wiederholungsmessung
SEM	standard error of the mean, Standardfehler des Mittelwerts
SN	Substantia nigra
SNC	Pars compacta der Substantia nigra
STN	Nucleus subthalamicus
Tab.	Tabelle
TH	Tyrosin-Hydroxylase
VTA	ventrale tegmentale Area

1. Zusammenfassung

Neben den positiven Auswirkungen der Hochfrequenzstimulation (HFS) des Nucleus subthalamicus (STN) auf die Therapie der L-Dopa-sensitiven motorischen Symptome des fortgeschrittenen IPS, zeigen klinische und tierexperimentelle Studien, dass die HFS des STN auch Einfluss auf nicht motorische Erscheinungen des Verhaltens hat. Dieser Einfluss könnte in der Einbindung des STN in ein Geflecht parallel verlaufender, funktionell abgetrennter Schaltkreise, welche kortikale und subkortikale motorische und limbische Regionen integrieren, begründet liegen.

In der vorliegenden Studie wurde der Effekt der akuten SNT-HFS auf Metabolismus und Transmission von Dopamin im Nucleus accumbens core und shell in narkotisierten Ratten unter Verwendung der in vivo Mikrodialyse untersucht. Die Ratten waren entweder nicht vorbehandelt oder selektiv vorbehandelt durch die Schädigung der Substantia nigra pars compacta oder des VTA.

STN-HFS führte dabei zu einem sofortigen und reversiblen Anstieg von Dopamin und seinen Metaboliten. Dieser Anstieg konnte hauptsächlich im NAc shell aber auch im NAc Core nachgewiesen werden. Die Erhöhung der Konzentration im NAc shell fiel dabei höher aus, als im NAc core. Gleichzeitig wurde beobachtet, dass die STN-HFS zu einer erniedrigten Konzentration von GABA in der VTA führte. Eine vorausgehende Läsion des SNc beeinflusste den Effekt der STN-HFS auf die DA-Transmission im Accumbens nicht. Die Auswirkung auf Metabolismus und Transmission konnte auch bei vorheriger Schädigung der Substantia nigra pars compacta (Snc) nachgewiesen werden. Bei vorheriger Schädigung des ventralen Tegmentums hingegen fielen die Werte unter die Nachweisgrenzen. Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, dass sich die STN-HFS signifikant auf die dopaminerge Transmission und den dopaminergen Metabolismus der motorisch-limbischen Nahtstellen auswirkt. Diese Ergebnisse könnten dazu beitragen, den gleichzeitigen Effekt der STN-HFS auf motorische und limbische Systeme zu erklären.

Abstract

Despite the benefit high frequency stimulation (HFS) of the subthalamic nucleus (STN) has on motor symptoms of Parkinson's Disease (PD), accumulating data also suggest effects of STN-HFS on non-motor behavior. This may be related to the involvement of the STN in the limbic basal ganglia-thalamocortical loops. In the present study we investigated the effect of acute STN-HFS on neurotransmission in associated structures of these pathways, i.e. the nucleus accumbens (NAc) core and shell as well as the ventral tegmental area (VTA) using in vivo microdialysis. Experiments were performed in anaesthetized naïve rats and rats selectively lesioned in the substantia nigra pars compacta (SNc) or VTA. We demonstrate that: 1. STNHFS leads to an increase in DA in the NAc, 2., these effects are more pronounced in the NAc shell than in the NAc core, 3. STN-HFS leads to a decrease in GABA in the VTA, 4. preceding lesion of the SNc does not seem to affect the effect of STN-HFS on accumbal DA transmission whereas 5. preceding lesion of the VTA seems to prohibit further detection of DA in the NAc. We conclude that STNHFS significantly affects neurotransmission in the limbic system, which might contribute to explain the non-motor effects of STN-HFS.

2 Einleitung

2.1 Das idiopathische Parkinsonsyndrom

Das idiopathische Parkinsonsyndrom (IPS) wurde erstmals im Jahre 1817 durch James Parkinson beschrieben. Es ist heute mit einer Prävalenz von ca. 100 – 200/100.000 Einwohner eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen in Deutschland. Diese Prävalenz steigt mit zunehmendem Alter kontinuierlich an (de Rijk et al. 2000).

Klinisch äußert sich IPS durch eine Symptomtrias, welche sich aus Rigor, einer Muskelsteifigkeit, Ruhetremor, einem Muskelzittern in Ruhe, und Bradykinese, einem insgesamt verlangsamten Bewegungsbild zusammensetzt. Außerdem zeigen sich eine gestörte Körperhaltung, Störungen der posturalen Reflexe und kognitive sowie psychische Veränderungen. Unter den psychiatrischen Störungen zählen dabei Depressionen mit ca. 40% zu den häufigsten Ereignissen (Aarsland et al. 2011).

Vegetative Krankheitszeichen sind gekennzeichnet durch eine vermehrte Talgproduktion im Gesicht (Seborrhoe; Salbengesicht) sowie Kreislauf-Regulationsstörungen, die sich beispielsweise in Schwindel bei raschem Aufstehen äußern. Typisch ist das Maskengesicht, ausgelöst durch eine Verarmung der Mimik, die sich im fortgeschrittenen Stadium in starren und ausdruckslosen Gesichtszügen widerspiegelt. Sprechstörungen zeigen sich in Form einer zunehmend leisen und monotonen Sprache. Von einer Festination wird dann gesprochen, wenn der Patient am Anfang eines Satzes stoppt, dann aber immer schneller wird.

Innervationsstörungen des Herzens und des Gastrointestinaltraktes können ebenfalls im Rahmen eines IPS auftreten (Alves et al. 2008; Jankovic 2008; Lerner et al. 2008).

Die Ursachen des IPS sind im Detail nicht geklärt. Genetische Faktoren, aber auch Umweltfaktoren werden als potentielle Auslöser der Erkrankung diskutiert. Darüber hinaus existieren Hypothesen, welche Störungen des Eisenstoffwechsels, der Radikalbildung, der Superoxidation sowie Veränderungen des Zellgerüsts als Ursache des Zelluntergangs heranziehen (Kienzl et al. 1995; Gerlach et al. 1996). Gleichwohl nicht als primäre Ursache ist die Rolle neurotoxischer Ereignisse gesichert.

2.2 Die Basalganglien

Das IPS ist eine neurodegenerativ verlaufende Systemerkrankung, die verschiedene Hirnregionen, aber auch das periphere und hier insbesondere das autonome Nervensystem befällt. Primär manifestiert sich IPS jedoch in den Basalganglien, die maßgeblich für die Steuerung der Motorik verantwortlich zeichnen. Dies beinhaltet die Regulation der unwillkürlichen Muskelbewegungen, des Muskeltonus sowie die Modifizierung der Willkürmotorik. Neuroanatomisch liegen unterhalb des Cortex die Kerngebiete Nucleus caudatus und Putamen (zusammengefasst als Striatum) sowie dem Pallidum mit dem Globus pallidus externus (GPe) und Globus pallidus internus (GPi), Dem Diencephalon wird der Nucleus subthalamicus (STN) und die Substantia nigra (Substantia nigra pars compacta (SNc) und Substantia nigra pars reticulata (SNr)) zugeordnet. Das Basalgangliensystem steht über exzitatorische und inhibitorische Regelkreise in enger Beziehung zueinander.

Da physiologischerweise Informationen aus dem Cortex über die Basalganglien zum Thalamus und von dort wieder zum Cortex geleitet werden, spricht man auch vom Basalganglien-thalamo-kortikalen Regelkreis.

Es handelt sich dabei um ein aus mindestens 6 Schleifen bestehendes Kontrollsystem; das die für die motorische, die kognitive (assoziative) und emotionale (limbische) Funktion verantwortlichen Areale miteinander verbindet. Für die Basalganglienanteile wird dabei ein doppelter Regelkreis postuliert (Abb. 1). Am Eingang dieses doppelten Regelkreises findet sich das Striatum. Es erhält Afferenzen aus dem prämotorischen und dem assoziativen Kortex. Diese Impulse sind glutamaterg und somit exzitatorisch. Das Striatum ist über zwei Neuronenbahnen, einen „direkten“ und einen „indirekten“ Weg mit dem internen Pallidumsegment (GPi) und der Substantia nigra pars reticulata (SNr), welche die Austrittsstruktur zum Thalamus darstellt, verbunden. Direkter und indirekter Weg sind antagonistisch zueinander.

Der „direkte Weg“ (striato-nigraler Weg) leitet inhibitorische, GABA-erge Impulse vom Striatum zum GPi. Die eigene inhibitorische Aktivität des Pallidum-Komplexes auf den Thalamus wird unterdrückt, so dass der Cortex aktiviert wird und seine Motorik-fördernde Funktion zum Tragen kommt.

Der „indirekte Weg“ (striato-pallidaler Weg) führt vom Striatum über die Umschaltstationen Globus pallidus externus (GPe) und Nucleus subthalamicus (STN) zum GPi. Über den Neurotransmitter Glutamat wird die Aktivität der Ausgangskerne (GPi/Substantia nigra)

gesteigert und so eine hemmende Wirkung (über GABA) auf den Thalamus und letztendlich den Cortex ausgelöst (Motorik hemmende Funktion).

Neuere Daten belegen die Existenz eines hyperdirekten Weges, bei dem der STN unter Umgehung des Striatums zusätzlich exzitatorische glutamaterge Afferenzen aus dem Cortex und Thalamus erhält (Nambu et al., 2002). Mittels dieser hyperdirekten Projektion können motorische Abläufe weiter reguliert werden.

Dopamin wirkt über zwei unterschiedliche Rezeptoren, den Rezeptortyp D1 und D2, auf die Striatumzellen. Ausgehend von der SNc induzieren dopaminerge Afferenzen über D1 eine Aktivierung von GPi über den direkten Weg. Über D2-Rezeptoren hingegen bewirkt Dopamin eine Hemmung von GPe über den indirekten Weg. Letztendlich fördert Dopamin so über beide Mechanismen die Aktivierung des Thalamus bzw. des Cortex (Motorik fördernde Funktion). Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass den Basalganglien nicht nur die Bewegungskontrolle obliegt, sondern auch im Rahmen von kognitiven und emotionalen Prozessen eine bedeutende Rolle zukommt (Obeso et al. 2008), die hier jedoch nicht näher angesprochen wurde.

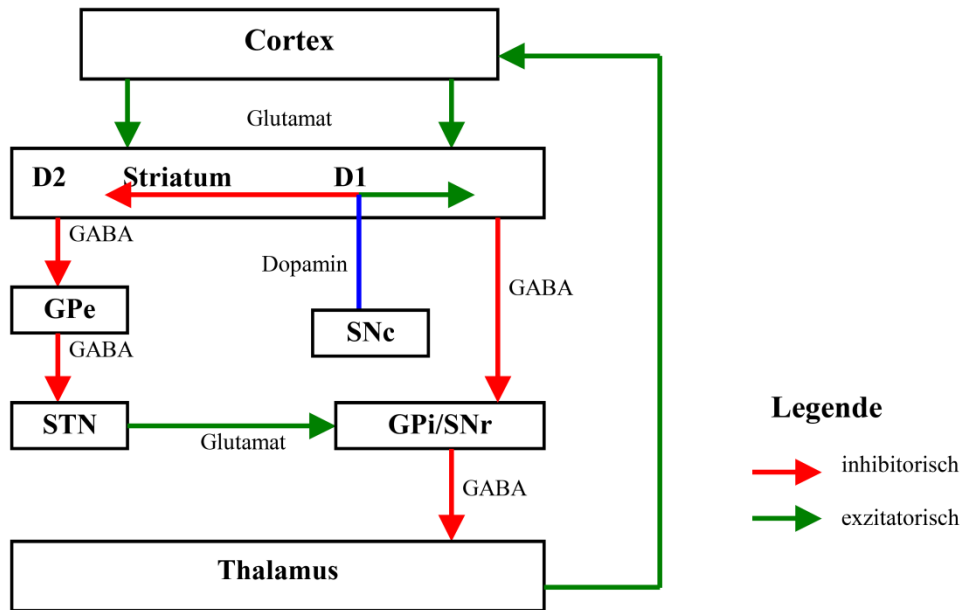


Abb. 1: Funktionelle Basalganglien-Anatomie modifiziert nach Alexander und Crutcher (1990) unter normalen Bedingungen. Dargestellt ist der doppelte Regelkreis zwischen der Eingangsstruktur Striatum und der Ausgangsstruktur Globus pallidus internus (Gpi) bestehend aus dem „direkten Weg“: Striatum_GPi und dem „indirekten Weg“: Striatum_Globuspallidus externus (GPe)_Nucleus subthalamicus (STN)_GPi unter Berücksichtigung der Neurotransmitter. Das Dopamin aus der Substantia nigra pars compacta (SNe) wirkt über D1- und D2-Rezeptoren modulierend auf beide Wege.

2.3 Pathophysiologie des idiopathischen Parkinsonsyndroms

Der progrediente Untergang der Dopamin produzierenden Neurone der Substantia nigra wird als pathophysiologische Ursache für die motorischen Symptome des IPS angesehen. Durch den Dopaminmangel verschiebt sich das Gleichgewicht exzitatorischer und inhibitorischer Regelkreise der Basalganglien insofern, als der direkte Weg nicht mehr supprimiert, der indirekte Weg nicht mehr aktiviert wird. Über den direkten Weg wird vermehrt GABA ausgeschüttet und folglich GPi inhibiert. Über den indirekten Weg kommt es zu einer Abnahme der GPe-Aktivität und, dadurch ausgelöst, zu einer erhöhten Exzitation des GPi und der SNr. Beide Ereignisse sind mit einer Überaktivität des STN und verstärkter Hemmung thalamokortikaler Neurone gekoppelt. Die zunehmende Unterdrückung der Erregbarkeit thalamokortikaler Schaltkreise wird für viele motorische Symptome des IPS verantwortlich gemacht (Bernheimer et al. 1973; Fearnley und Lees 1991; Calabresi et al. 2006).

Neueren Untersuchungen zufolge treten die Zellveränderungen nicht ausschließlich in der Substantia nigra auf. Beschrieben ist die Degeneration von Zellen in aminergen Hirnstammkernen (z.B. Raphe-Kerne), im Nucleus basalis Meynert (cholinerg), in bestimmten kortikalen und hypothalamischen Arealen sowie in Ganglien des sympathischen und parasymphatischen Nervensystems (Lang and Lozano 1998). Hervorgehoben werden soll die medial der Substantia nigra gelegene Zellpopulation der Area tegmentalis ventralis (VTA), die im Rahmen der vorliegenden Arbeit berücksichtigt wurde.

Der Zellverlust in weiteren Arealen könnte assoziierte Symptome aus dem psychiatrischen Formenkreis bedingen. Betroffen ist beispielsweise die Gedächtnisleistung, Aufmerksamkeit und Stimmungslage. Insgesamt ist das IPS somit als Multisystemerkrankung zu verstehen (Braak et al. 2002).

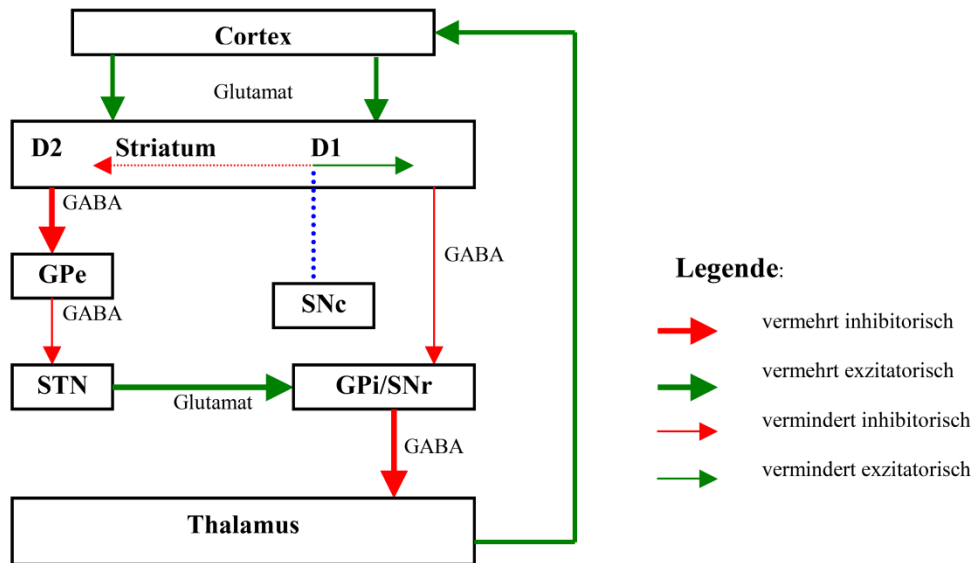


Abb. 2: Funktionelle Basalganglien-Anatomie modifiziert nach Alexander und Crutcher (1990) unter Parkinson-Bedingungen. Der striatale Verlust von Dopamin führt zu einer Verlagerung der Impulsgabe über den „indirekten Weg“: die vermehrte Inhibition des GPe führt zur Überaktivität des STN, der seinerseits den inhibitorischen Output des GPi zum Thalamus verstärkt. Die Folge ist eine reduzierte Aktivierung des Cortex.

2.4 Therapie des idiopathischen Parkinsonsyndroms

Die medikamentöse Therapie des IPS erfolgt zum einen durch die Gabe der Dopamin-Vorstufe Levodopa (L-Dopa). Levodopa vermag, im Gegensatz zu Dopamin, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Es wird am Wirkort in Dopamin umgewandelt. Der Dopaminspiegel im Striatum erhöht sich und kompensiert den pathologisch vorherrschenden Dopaminmangel. L-Dopa stellt durch die L-Dopa-Sensitivität des IPS auch gleichzeitig ein wichtiges diagnostisches Kriterium dar. Durch den sogenannten L-Dopa-Test lässt sich durch die Gabe von L-Dopa eine Verbesserung der Kardinalsymptome zeigen. Ein positiver Test stützt die Diagnose, beweist sie jedoch nicht.

Eine therapeutische Variante sieht vor, durch die Gabe von Dopamin-Agonisten die Wirkung des Dopamins nachzuahmen. Zur Verfügung stehen zwei Medikamentengruppen, aus Mutterkornalkaloiden gewonnene Ergot-Präparate (Bromocriptin, Lisurid, Pergolid) oder die Gruppe der Nicht-Ergot-Präparate (Ropinirol, Pramipexol).

Ein weiterer therapeutischer Ansatz verfolgt die Strategie, den Dopaminmangel durch die Hemmung des Dopamin-Abbaus im synaptischen Spalt auszugleichen. MAO-B-Hemmer blockieren das dopaminabbauende Enzym Monoaminoxidase-B (z.B. Selegilin, Rasagilin), während COMT-Hemmer das Enzym Catechol-O-Methyl-Transferase supprimieren (z.B. Entacapon).

Obwohl der Einsatz der genannten Substanzen die Lebenserwartung von Menschen mit IPS beträchtlich gesteigert hat, so verliert unter chronischer Anwendung die medikamentöse Therapie dennoch ihre Wirkung. Zusätzlich resultiert eine langjährige Behandlung mit L-Dopa in sogenannten Wirkungsfluktuationen. Diese zeichnen sich durch nachlassendes („wearing off“) oder wechselndes Ansprechen („on/off“), durch die Bewegungsblockade („freezing“) oder das Wirkversagen („no on“) aus.

2.5 Hochfrequenzstimulation

Nicht zuletzt auf Grund der Resistenzentwicklung unter medikamentöser Langzeittherapie ist in den letzten Jahren die Hochfrequenzstimulation (HFS) als neue Behandlungsoption entwickelt und etabliert worden (Limousin et al. 1998). Die Ausarbeitung des Konzeptes basierte auf der Beobachtung, dass sich im Rahmen des IPS die Entladungseigenschaft des STN verändert (Bergman et al. 2002).

Unter Behandlung mit MPTP entwickelten Affen ein dem IPS vergleichbares Krankheitsbild, begleitet von distinkten Abweichungen des Oszillationsmusters (Bergman et al. 1994; Langston et al. 1983; Raz et al. 1996, 2000; Ruskin et al. 2003; Goldberg et al. 2004; Rivlin-Etzion et al. 2006).

Die am Affenmodell herausgearbeitete Assoziation zwischen IPS und veränderter STN-Feuerungsaktivität wurde nachfolgend auch bei Parkinsonpatienten nachgewiesen (Steigerwald et al. 2008). Wichmann und Mitarbeiter wiederum konnten experimentell am MPTP-Modell aufzeigen, dass die Ausschaltung des STN durch Subthalamatomie zu einer signifikanten Verbesserung der Parkinsonsymptome führt (Wichmann et al. 1994).

Grundsätzlich lässt sich die Feuerungsaktivität der Neurone in Form oszillatorischer Muster aufzeichnen (Buzsaki et al. 2012), wobei diese wiederum in unterschiedliche Frequenzbänder unterteilt werden, die in Phase, Frequenz und Amplitude in unterschiedlichster Art und Weise miteinander gekoppelt sein können (Jensen et al. 2007). Das sogenannte Beta-Band mit Oszillationen zwischen 13-30 Hz (Referenz: Engel et al. 2010) ist nachweislich in die Regulation der motorischen Aktivität eingebunden (Khanna et al. 2014; Stein et al. 2013)

Typischerweise findet sich in IPS-Patienten unter Ruhebedingungen eine erhöhte Beta-Band-Oszillation (oszillatorische Synchronisation), (Woerd et al. 2014). Unter Therapie verringert sich die Amplitude von Oszillationen im Beta-Band (Kühn et al. 2009). Interessanterweise lassen sich auch hochfrequente Oszillationen innerhalb des STN um 300 Hz, insbesondere unter L-Dopa Therapie sowie unter Bewegung, detektieren (Foffani et al. 2003). Ihre Bedeutung ist im Detail noch nicht klar. So existieren Berichte, nach denen die hochfrequenten Oszillationen auch ohne medikamentöse Therapie und unter Ruhebedingungen auftreten (Lopez-Azcarate et al. 2010, Homburger 2014).

Mittlerweile repräsentiert die HFS ein klinisch etabliertes Therapiekonzept bei zahlreichen neurologischen Erkrankungen. Neben der Behandlung des IPS und des essentiellen Tremors wird die HFS bei der generalisierten und segmentalen Dystonie sowie der fokalen Epilepsie eingesetzt. Weitere Therapiemöglichkeiten sind derzeit Gegenstand klinischer Fallstudien (z.B. Chorea Huntington). Technisch werden bei der HFS über eine stereotaktisch durchgeführte Operation Elektroden im Zielgebiet implantiert, welche über einen im Unterhautfettgewebe implantierten Schrittmacher stimuliert werden. Die Wirkung dieses Schrittmachers ist über ein separates Steuergerät variierbar. Bei der Therapie des IPS erfolgt die elektrische Stimulation im

Nucleus subthalamicus (STN-HFS). Gegebenenfalls kann auch eine Stimulation im GPI durchgeführt werden, insbesondere zur Reduktion von Dyskinesien. (The Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease Study Group, 2001). Die Impulsfrequenz beträgt grundsätzlich mehr als 100Hz.

Die Wirkmechanismen der STN-HFS sind zwar im Detail nicht klar. Kühn et al. konnten jedoch nachweisen, dass die mittels STN-HFS erzielte Verbesserung der Motorik von einer Suppression der Beta-Band-Aktivität begleitet ist (Kühn et al. 2008).

Angewendet wird die HFS entsprechend zur Verbesserung der L-Dopa sensitiven motorischen Symptome sowie bei Dyskinesien des fortgeschrittenen IPS (Benabid et al. 2000) und Motorfluktuationen austerapiertter Patienten (Herzog et al. 2010).

Verschiedene Studien konnten eindrucksvoll die positiven Auswirkungen der HFS auf die genannten Parkinson-Symptome sowie die Lebensqualität der Patienten belegen. (Deuschl et al. 2006; Alamri et al. 2015).

Beachtenswert ist, dass unter HFS auch die L-Dopa-Dosis drastisch reduziert werden kann, was mit einer Abnahme der unter L-Dopa-Langzeittherapie induzierten Dyskinesien assoziiert ist (Abbruzzese et al. 2012).

2.6 Nebenwirkungen der HFS

Neben chirurgischen und systembedingten Komplikationen z.B. Dislokation der Elektroden (Benabid et al. 2009), sind insbesondere stimulationsbedingten Komplikationen anzuführen, die unter HFS zu beobachten sind. Hierzu zählen Dysarthrie, Gewichtszunahme und – neben einer initialen manischen Phase (Ulla et al. 2006) - Depressionen (Kleiner-Fisman et al. 2006). So beobachteten Temel et al. nach HFS deutliche Verhaltens- und Stimmungsänderungen unter den Parkinson-Patienten (Temel et al. 2007). In 8% der Fälle traten depressive Episoden auf (Temel et al. 2006). Eine drastische Erhöhung der Suizidrate unter HFS ist von zahlreichen Autoren belegt (Hilker et al. 2009; Okun et al. 2009; Strutt et al. 2012).

Die Ursachen für das Auftreten unerwünschter psychiatrischer Nebeneffekte sind im Einzelnen nicht geklärt. Zu berücksichtigen ist jedoch die Rolle des STN als zentraler Modulierungs- und

Verbindungskern im Verschaltungsnetzwerk der motorischen, assoziativen und emotionalen Schleifen (Thobois et al. 2010; Voon et al. 2008).

Wahrscheinlich werden unter HFS auch Anteile außerhalb des motorischen Regelkreises direkt beeinflusst, also auch die assoziativen und limbischen Schleifen. Es wird postuliert, dass das limbische System durch die HFS moduliert wird und dadurch die beobachteten psychiatrischen Symptome ausgelöst werden. PET-Studien ergaben diesbezüglich, dass STN-HFS die Aktivität im anterioren Cingulum und präfrontalen Kortex (Limousin et al. 1997; Ceballos-Baumann et al. 1999; Stefurak et al. 2003) sowie im temporalen und parietalen Kortex (Hilker et al. 2004) erhöht (bzw. anormales Hintergrundrauschen reduziert, Payoux et al. 2004). Die Veränderungen im limbischen System sind im Kontext mit Störungen im Neurotransmitter-Haushalt zu sehen (Bennett et al. 2011). Möglicherweise lassen sich Depressionen und repetitive Verhaltensweisen auf durch HFS induzierte Modulationen im serotonergen und dopaminergen System zurückführen (Koo et al. 2010; Creed et al. 2013).

Für die Hypothese spricht, dass das aus dem VTA stammende meso-striatale Dopamin, die Aktivität im limbisch-emotionalen System reguliert, und zwar über Projektionen zum ventralen Striatum und zum Ncl. accumbens (Stein et al. 2008). Grundsätzlich gilt jedoch, dass die Hintergründe, die zu den psychiatrischen Erscheinungsbildern führen, nicht vollständig geklärt sind.

2.7 Herleitung der Aufgabenstellung

Frühere experimentelle Studien ergaben, dass STN-HFS das extrazelluläre Niveau von GABA und Glutamat im Striatum und der Substantia nigra verändert (Windels et al. 2000; Bruet et al. 2003; Windels et al. 2003) sowie die Dopamin-Transmission im dorsolateralen Striatum von gesunden und hemiparkinsonischen Ratten erhöht. Es wird vermutet, dass dieser Effekt zur klinischen Verbesserung der Motorik sowie zur Herabsetzung der dopaminergen Medikation bei IPS-Patienten unter anhaltender STN-HFS beiträgt (Paul et al. 2000; Meissner et al. 2001; Meissner et al. 2003; Lee et al. 2006).

Gleichzeitig ist zu berücksichtigen, dass auf Grund der funktionalen Unterteilung des STN und seiner Integration in motorische und limbische Regelkreise die HFS möglicherweise

neurochemische Veränderungen im limbischen System hervorruft, welche mit denen unter HFS zu beobachtenden psychiatrischen Nebenwirkungen in Verbindung stehen könnten.

Die vorliegende Studie sollte den psychischen Aspekt in den Vordergrund rücken. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss von STN-HFS auf die DAerge Transmission im NAc und die GABAerge Transmission im VTA als Bestandteil des limbischen Systems mithilfe von Mikrodialyse in vivo bei Ratten zu evaluieren. Um die Bahnen, entlang denen die STN-HFS-gebundenen Wirkung auf die DA-Transmission im NAc auftritt, genauer zu bestimmen, wurden zusätzlich zwei getrennte Gruppen in die Analyse einbezogen. In einer Gruppe sollten ausgewählte Tiere 6-Hydroxydopamin-(6-OHDA-)-Läsionen an der Pars compacta der Substantia nigra (SNc) erhalten; die andere Gruppe Läsionen am VTA vor Durchführung der STN-HFS und Mikrodialyse-Test.

3. Methodik

3.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Die durchgeführten Tierversuche oblagen den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes § 8 Absatz 1 und wurden von der Senatsverwaltung für Gesundheit genehmigt. Die Zahl der Versuchstiere beschränkte sich auf die statistisch benötigte Mindestzahl; die operativen Eingriffe wurden so rasch wie möglich durchgeführt.

Für die Tierversuche wurden männliche Wistar-Ratten ($n = 78$; 280 bis 320 g zum Zeitpunkt des Experiments) des Stammes HSDWIN:WU verwendet. Bezugsquelle der Tiere war die Versuchstierzuchtanstalt H. Winkelmann, Borchten.

Die Haltung der Tiere erfolgte bis zum Zeitpunkt der Stimulationsversuche in standardisierten Käfigen in Gruppen von jeweils fünf Tieren. Die Versuchstiere wurden mit ALTROMIN 1324 Standard (Altromin, Lage) in pelletierter Form gefüttert. Wasser und Futter standen ad libitum zur Verfügung. Die Tiere unterlagen einem Tag-Nacht-Rhythmus von jeweils 12 Stunden (Helligkeitsphase von 6:00 bis 18:00 Uhr). Es herrschte eine konstante Temperatur von 18° C und die Luftfeuchtigkeit betrug etwa 50%. Alle Experimente wurden tagsüber und ausschließlich mit anästhesierten Ratten durchgeführt.

3.2 Experimentelles Design

Die Experimente erfolgten gestaffelt in 3 Ansätzen. Die Tiere ($n=78$) wurden dabei wie folgt den Versuchen zugeführt:

Versuchsansatz 1 ($n=41$ Tiere): Analysen zum Einfluss der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission; Evaluation des extrazellulären DA.
2 Subgruppen:
Gruppe 1 ($n=22$): Analyse im NAc core (HFS-Gruppe: $n=13$; Kontrollgruppe: $n=9$).
Gruppe 2 ($n=19$): Analyse im NAc shell (HFS-Gruppe: $n=12$; Kontrollgruppe: $n=7$).

Versuchsansatz 2 (n=16 Tiere): Analysen zum Einfluss der STN-HFS auf die GABAerge Neurotransmission in der VTA (Evaluation des extrazellulären GABA).

HFS-Gruppe: n=8; Kontrollgruppe: n=8.

Versuchsansatz 3 (n=21 Tiere): Analysen zur Relevanz des SNc und der VTA als Modulatoren der dopaminergen Neurotransmission im NAc unter STN-HFS.

3 Subgruppen:

Gruppe 1 (n=8): Läsion der SNc durch 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) 2 Wochen vor HFS.

Gruppe 2 (n=8): Läsion der VTA durch 6-OHDA 2 Wochen vor HFS.

Gruppe 3 (n=5): Keine Läsion.

Probenentnahme im NAc core und NAc shell.

Das Probenmaterial wurde zur Ermittlung des extrazellulären DA, DOPAC, HVA und GABA Gehalts anschließend der HPLC zugeführt. Die in Versuchsansatz 3 gesetzten Läsionen wurden immunhistochemisch kontrolliert und quantifiziert.

3.3 Chirurgische Eingriffe

Nachdem die Ratten mit Chloralhydrat (400 mg/kg Körpergewicht, intraperitoneal; Merck, Darmstadt) narkotisiert wurden, erfolgte die Platzierung im stereotaktischen Operationsrahmen (David Kopf Instruments, Tujunga, USA). Die Tiere wurden dabei mittels Interauralstiften und einem Incisorstift in den Rahmen eingespannt. Die Narkose wurde während des gesamten Experiments aufrechterhalten. Die Tiefe der Narkose wurde durch Auslösen des Kornealreflexes überprüft. Konnte dieser ausgelöst werden, erfolgte die erneute intraperitoneale Applikation von Chloralhydrat. Die Ratten wurden während des gesamten Experiments durch eine Heizmatte (Temperature Control CMA 150, Stockholm, Schweden) warmgehalten. Die Körpertemperatur wurde mit einer rektal applizierten Messsonde überwacht (Sollwert: 37,5° Celsius) und über die Heizmatte gesteuert.

Nachdem die Kopfhaut rasiert und desinfiziert wurde, erfolgten der Hautschnitt und die Darstellung der Knochenhaut. Nach Freilegen des Bregmas wurden die Trepanationspunkte für die unter 2.2 gelisteten Zielgebiete eingestellt. Auf der Kalotte wurden die Zielpunkte markiert und im Anschluss mit einem Dentalbohrer (Durchmesser 1 mm) eröffnet.

Es wurde ein 2 cm langer Hautschnitt mittels Scherenschlag in der Mitte des Kopfes gemacht und die Schädeldecke freipräpariert. Zur Nullpunkteinstellung wurde die Spitze der Injektionskanüle auf das Bregma eingestellt. Anschließend wurde die Kanüle 4,4 mm nach posterior und 1,1 mm nach lateral ausgerichtet. Mit Hilfe eines Dentalbohrers wurde ein ca. 1 mm großes Loch in die Schädeldecke gebohrt. Im Anschluss wurden die Stimulationselektrode (SNEX 100, Rhode Medical Instruments, Woodland Hills, USA), die Mikrodialyse-sonde (CMA, Stockholm, Schweden) oder die Injektionskanüle anhand der Koordinaten nach dem Ratten-Hirnatlas von Paxinos und Watson im Zielgebiet platziert (Paxinos G, Watson C (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego).

3.4 Läsionen in der Substantia nigra pars compacta bzw. im ventralen Tegmentum

Die gezielte Läsion in der Substantia nigra pars compacta (SNc) bzw. im ventralen Tegmentum wurde zwei Wochen vor der HFS und Mikrodialyse gesetzt.

Die Läsion erfolgte bei den mit Pentobarbital (50 mg/kg i.p.; Sigma Aldrich, Taufkirchen) narkotisierten Tieren durch 7 µg 6-OHDA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), aufgelöst in 2 µl physiologischer Kochsalzlösung mit 0,1 % Ascorbinsäure. Die 6-OHDA-Lösung wurde stereotaktisch über eine 25 Gauge Kanüle aus rostfreiem Stahl, welche mit einer 20 µl Mikroliterspritze des Typs CR 400 -20 (Hamilton Company, Reno, USA) verbunden war, appliziert. Die Läsion wurde entweder in der linken SNc (A: -5,3; L: 2,3; V: -7,2) oder im linken VTA (A: -5,3; L: 0,6; V: -7,8) gesetzt. Zur Ermittlung der Koordinaten diente der stereotaktische Atlas nach Paxinos und Watson (Paxinos und Watson).

3.5 Mikrodialyse

Für die Mikrodialyse wurden Sonden vom Typ CMA 12 (für die simultane Kollektion; Membrandurchmesser 0.5 mm, Membranlänge 2 mm; CMA, Stockholm, Schweden) oder CMA 11 (für die separate Kollektion; Membrandurchmesser 0.24 mm, Membranlänge 2 mm; CMA, Stockholm, Schweden verwendet (Abb. 3)).

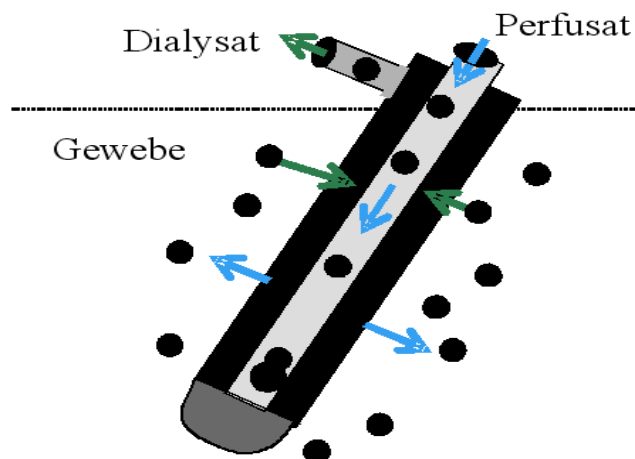


Abb. 3: Mikrodialyse-sonde (Abbildung der Firma CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden)

Als Dialysierflüssigkeit wurde eine der Extrazellulärflüssigkeit der Ratte angepasste glukosefreie Pufferlösung [(cerebrospinal fluid; CSF)-Puffer] eingesetzt, mit folgender Zusammensetzung:

125 mM Natriumchlorid, 1 mM Calciumchlorid, 1mM Magnesiumchlorid, 0,5 mM Natriumsulfat, 2,5 mM Kaliumchlorid, 27 mM Natriumhydrogencarbonat, 0,5 mM Natriumdihydrogenphosphat, 2,4 mM Dinatriumhydrogenphosphat, 1 M Phosphorsäure.

Der zuführende Schenkel der Mikrodialyse-sonde wurde über einen Polyethylenschlauch mit einer Perfusorspritze verbunden, die zuvor im Ultraschallbad entlüfteten CSF-Puffer enthielt. Am abführenden Schenkel war ein gleichartiger Schlauch befestigt, der in einem kleinen Sammelgefäß endete. Die Mikrodialyse-sonden wurden mit einer konstanten Flussrate von 1,1 $\mu\text{l}/\text{min}$ umspült.

Unter allgemeiner Anästhesie (400 mg/kg i.p.; Chloralhydrat, Merk, Darmstadt) wurden die Mikrodialyse-sonden entweder in den linken NAc core (1,6; L: 1,4; V: -7,4; CMA 11), den linken NAc shell (A: 1,6; L: 0,7; V: -7,7; CMA 11) oder – im Rahmen der Läsionsstudien - gleichzeitig im linken NAc core und shell (A: +1,7; L: 1,3; V: -8,2; CMA 12) implantiert.

Die erste Probeabnahme erfolgte 60 Minuten nach Implantation der Mikrodialyse-sonde. Die Dialysate wurden über 20 Minuten in eiswassergekühlten Eppendorf-Röhrchen, die als Vorlage je 5,5 μl 1 M Perchlorsäure enthielten, gesammelt und sofort im Anschluss mittels HPLC (Phenomenex, Aschaffenburg) analysiert. Die HPLC-Methodik ist unter 3.7 beschrieben.

3.6 Hochfrequenzstimulation

Bei allen narkotisierten Versuchstieren wurde eine konzentrische, bipolare Stimulationselektrode (SNEX 100; Rhode Medical Instruments, Woodland Hills, CA, USA) im linken STN implantiert (A: -3,6; L: 2,5; V: -7,6) (Paxinos and Watson, 1998). Mit der HFS wurde begonnen, wenn mindestens vier konsekutive stabile, mittels Mikrodialyse (siehe 3.5) erhobene Basiswerte der zu messenden Parameter vorlagen. Als Impulsgenerator für die Stimulation wurde ein programmierbarer, isolierter Stimulator (A 13-65, Coulbourn Instruments, Allentown, USA) verwendet und ein konstanter Strommodus mit alternierenden Impulsen festgelegt. Folgende Stimulationsparameter wurden gewählt: Gleichstrom mit 300 μ A, Frequenz 130 Hz, Pulsweite 60 μ s, Stimulationsdauer 20 min. Die Überprüfung einer effektiven elektrischen Stimulation erfolgte durch ein parallel geschaltetes Oszilloskop (DSO 2211, Tektronix, Heerenveen, Niederlande). Die Probenentnahme erfolgte in 20minütigen Intervallen. 4 Proben wurden vor HFS, 1 Probe während der HFS und 5 Proben nach HFS entnommen.

3.7 Quantitative Analysen der extrazellulären Konzentrationen von Dopamin und seiner Metabolite

Die Analyse der extrazellulären Konzentrationen von Dopamin und seiner Metabolite 3,4-Dihydroxyphenylacetat (DOPAC) und Homovanillinsäure (HVA) erfolgte mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC, high performance liquid chromatography) (Synergi 4 μ Hydro-RP 80A, 150x2 mm, Phenomenex, Aschaffenburg).

Die mittels Mikrodialyse (siehe 3.5) gewonnenen Proben wurden mit der in den Eppendorfröhrchen vorgelegten Perchlorsäure gemischt. Ein Aliquot von 20 μ l wurde über manuelle Probenaufgabeeventile (RH 7725, Rheodyne, Cotati, USA) aufgetragen. Die chromatographische Trennung erfolgte an einer Säule des Typs Ultrasep ES 100 RP 18 (Sepserv, Berlin) (Korngröße 4 μ m, Länge 125 mm, Durchmesser 2 mm bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,2 ml/min). Die mobile Phase wurde mit einer Pumpe des Typs Rheos 4000 (Flux Instruments, Basel, Schweiz) gefördert, wobei die Förderrate 250 μ l/min betrug (Druck: ca. 170 bar).

Das Laufmittel für die HPLC hatte folgende Zusammensetzung: 100 mM Natriumhydrogenphosphat, 0,8 mM EDTA, 1,3 mM Octasulfonsäure, 30 g 2-Propanol/1000g Lösung, pH-Wert: 2,8.

Das an die Arbeitselektrode angelegte Potential betrug 0,8 Volt gegen die Ag/AgCl-Referenzelektrode. Die Detektion der Substanzen innerhalb der Probe erfolgte durch zwei in Reihe geschaltete, amperometrische, elektrochemische Messzellen (Zelle 1: Chromosystems Instruments & Chemicals GmbH, Typ 41000, München; Zelle 2: BAS LC-4C, Bioanalytical Systems Inc., West Lafayette, USA) bei den Strommessbereichen 5 nA (für Dopamin) und 50 nA (für die Dopaminmetabolite). Die aufgezeichneten Chromatogramme wurden über Berechnung der Peak-Flächen mit Hilfe der Software CSW 1.7 (DataApex Ltd., Prag, Tschechische Republik) ausgewertet.

Die Tageseichung und Kontrolle der Retentionszeiten erfolgte mit Hilfe von Standards für Dopamin, DOPAC und HVA.

3.8 Histologische Befunde und Analysen

Mit der histologischen Aufarbeitung der Rattengehirne wurden folgende Ziele verfolgt:

1. Verifikation der Lokalisation von Elektrode im STN und Mikrodialyse sonde im NAc core bzw. shell.
2. Quantifizierung der 6-OHDA-Läsion durch Zellzählung der dopaminergen Neurone der SNc bzw. der VTA.

Die Gehirne wurden zunächst fixiert und später Kryostatschnitte der interessierenden Hirnregionen angefertigt. Anschließend erfolgte die entsprechende Färbung der Gehirne.

3.8.1 Fixierung und Präparation der Gehirne

Nach Abschluss der Mikrodialyse und HFS erfolgte die tiefe Betäubung der jeweiligen Versuchstiere mit Chloralhydrat (500 mg/kg KG in 0,9 % NaCl-Lösung). Den Tieren wurde der Thorax eröffnet und das Herz sowie die Aorta ascendens freigelegt. Der rechte Vorhof sowie die linke Kammer wurden inzidiert.

Über die eröffnete Kammer wurde eine Knopfkanüle bis in die Aorta ascendens vorgeschoben. Diese Kanüle war mit einer Förderpumpe verbunden. Die Perfusion erfolgte zuerst mit 80 ml PBS-Puffer und danach direkt im Anschluss mit 200 ml einer 4%-igen Paraformaldehydlösung.

Der PBS-Puffer war ein 0,1 M Phosphatpuffer mit 8 g/l Natriumchlorid, 0,2 g/l Kaliumchlorid, 1,4 g/l Natriumdihydrogenphosphatmonohydrat und einem pH-Wert von 6,81.

Das Gehirn der Versuchstiere wurde nach Dekapitation aus dem Schädelknochen herauspräpariert. Anschließend erfolgte die Fixierung der Gehirne in einer 4%-igen Paraformaldehydlösung über 24 Stunden. Im Anschluss wurden die Gehirne zwecks Kryoprotektion in eine 20%-ige Saccharoselösung bei 4° C dehydriert. Die Proben konnten bei -80° C bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt werden.

Die histologischen Präparate wurden folgendermaßen angefertigt: Das fixierte Gehirn wurde mit in Stickstoff gekühltem 2-Propanol (Merck, Darmstadt) auf Korkplättchen bei -80°C aufgefroren. Anschließend erfolgte die Anfertigung von koronaren Serienschnitten der entnommenen Gewebstücke (SNc und der VTA – der Abstand zwischen den beiden Regionen betrug 240µm) mit einer Dicke von 40µm mit Hilfe eines Gefriermikrotoms (Cryostat 1800, Reichert-Jung). Jeder zweite Schnitt pro Schnittserie wurde der Kresylviolett-Färbung zugeführt (siehe 3.8.2). Jeder sechste Schnitt wurde immunhistochemisch nach dem Tyrosinhydroxylase (TH)-Färbeprotokoll gefärbt (siehe 3.8.3). Untersucht wurden Präparate von allen Tieren, denen zwei Wochen vor HFS 6-OHDA injiziert worden war (inklusive Kontrollen). Je Tier wurden Schnittserien der entnommenen Gewebstücke (SNc und der VTA – der Abstand zwischen den beiden Regionen betrug 240µm) angefertigt (Schnittdicke: 40 µm), wobei jeder zweite Schnitt der Kresylviolett-Färbung zugeführt wurde (siehe 3.8.1). Jeder sechste Schnitt wurde immunhistochemisch nach dem TH-Färbeprotokoll gefärbt

3.8.2 Immunhistochemie - Kresylviolett-Färbung

Mikroskopische Analysen wurden durchgeführt, um die exakte Lage der Stimulationselektrode, Mikrodialysetsonde und Injektionskanüle zu verifizieren. Dazu wurden die histologischen Präparate (siehe 3.8.1) der Regionen NAc (+2,9 bis +0,5), STN (-3,4 bis -4,3), SNc (-4,8 bis -6,3), und VTA (-4,52 bis -6,3) auf Objektträger aufgezogen und die Orientierungsschnitte nach dem Nissl-Protokoll gefärbt. Dazu wurden die Gewebeschnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe und im Anschluss in einer absteigenden Alkoholreihe dehydriert. Danach erfolgte die Färbung mit dem Nissl-Reagens (Kresylviolett, Merck, Darmstadt), 1%ig in Aqua dest.) und eine Spülung mit destilliertem Wasser. Der Färbeprozess endete in einer aufsteigenden Alkoholreihe und einer 15-minütigen Spülung in Xylol mit nachfolgender Lufttrocknung der Präparate. Abschließend wurden die Präparate in Entellan (Merk, Darmstadt) eingebettet und somit auf einem Deckglas fixiert.

3.8.3 Immunhistochemie – Tyrosinhydroxylase (TH)-Färbung

Das Ausmaß der durch 6-OHDA induzierten Gewebs-Läsionen wurde mit Hilfe der immunhistochemischen TH-Färbemethode bestimmt. TH steuert die Katecholaminsynthese und lässt sich entsprechend im Zellkörper und in den Axontermini von katecholaminergen Nervenzellen nachweisen (Nagatsu et al., 2000). Die durch 6-OHDA nicht zerstörten dopaminergen Neurone können somit durch die TH-Immunreaktion visualisiert und quantifiziert werden (siehe unten).

In einem ersten Schritt wurden die Präparate mit einem monoklonalen Maus-Anti-Ratten TH Antikörper inkubiert (Calbiochem, Bad Soden; verdünnt auf 1:500; 72h bei 4°C). Nach einem 30minütigen Waschschrift in PBS erfolgte die Zugabe des zweiten, biotinylierten Antikörpers (Ziege anti-Maus, 1:200; 60 min bei 37°C).

Nach erneutem Waschen in PBS wurde der Avidin-Biotin-Komplex hinzugefügt (Sigma Chemie, Deisenhofen; 1:200, 60 min bei 37°C). Der Färbevorgang wurde abgeschlossen mit Diamino-benzidin (0,05% in 0,05M TBS (Tris-(Hydroxymethyl)-aminomethan)-Puffer (89 mM TRIS Base; 89 mM Borsäure; 2 mM EDTA-Na₂; pH 8.0)) und 0,03%igem Wasserstoffperoxid (3 min).

Nach Beendigung der Farbreaktion erfolgte dreimaliges Waschen mit Aquadest und das Aufziehen der frei flottierenden Schnitte. Sie wurden in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und anschließend mit Entellan eingedeckelt.

Zur quantitativen Analyse der gefärbten Neurone wurde die „optical fractionator“-Methode des halbautomatischen Stereologiesystems StereoInvestigator (MicroBrightfield, Colchester, VT, USA) verwendet. Der Aufbau beinhaltete eine Hitachi HV-C20A Videokamera, die an ein Leica DM-RXE Mikroskop gekoppelt war.

Positive Zellen, die den oberen oder seitlichen Rand des Zählrahmens überschritten, wurden nicht mitgezählt. Die Zellzahlen wurden als Prozentangaben in Relation zu dem unbeschädigten Gewebe der kontralateralen Seite ausgedrückt.

3.9 Auswertungen der Daten

In die Auswertungen wurden nur die Daten von Tieren einbezogen, bei denen die akkurate Lage der Instrumente mittels histologischer Präparation (siehe 3.8) nachgewiesen werden konnte.

Die Basislinie für die Mikrodialyseproben wurde über den Mittelwert der letzten vier gesammelten Dialysate vor Beginn der HFS bzw. vor der Schein-HFS definiert. Alle Messwerte wurden in Prozentangaben bezogen auf die Basislinie umgewandelt. Die Basislinie wurde als 100% definiert.

Die statistische Auswertung der extrazellulären Konzentration von Dopamin und seinen Metaboliten erfolgte mittels Two-Way-Anova-Test mit wiederholten Messungen. Die Stimulationstests (HFS versus Kontrolle) und Läsionsexperimente (VTA/SNc/Kontrolle) dienten der Bestimmung des „Between-Subjects“ Faktor, die zeitabhängig ermittelten Daten bei den wiederholten Messungen zur Bestimmung des „Within-Subjects“ Faktor. Bei statistisch signifikanten Unterschieden wurde anschließend ein Post-Hoc T-Test korrigiert für multiple Vergleiche nach der Methode von Holm Sidak durchgeführt. Ein Wahrscheinlichkeitsniveau von $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen. Die Messwerte wurden als Mittelwert +/- Standardabweichung graphisch dargestellt. Die Basislinien-Werte wurden als fmol/20 μ l Dialysat für DA und pmol/20 μ l Dialysat für DOPAC und HVA angegeben.

4. Ergebnisse

4.1 Platzierungen der Stimulationselektrode und der Mikrodialysesonde

Für die Versuche wurden insgesamt 78 Tiere eingesetzt. Zur Auswertung kamen nur Tiere mit exakt gesetzter Elektrode innerhalb des STN. Abbildung 4A zeigt diesbezüglich repräsentativ die Mikrophotographie eines Koronarschnittes des STN einer Ratte mit korrekt implantierter Elektrode (Abb. 4 A). Das histologische Präparat demonstriert die Lokalisation der Elektrodenspitze im STN (Cresyl-Violett-Färbung).

Die nachfolgenden Abbildungen 4B bis 4G stellen schematische Rekonstruktionen der histologischen Schnitte dar. Die schwarzen Punkte symbolisieren jeweils die Lage der Elektrodenspitzen im Kerngebiet des STN. Seitlich angefügt finden sich Angaben zur Platzierung der Sonden, die mit Hilfe des Atlanten von Paxinos und Watson erfolgten.

Post mortem konnte die korrekte Lage für 13 Platzierung im NAc core (Abb. 4 B) histologisch gesichert werden sowie für 12 Platzierungen im NAc shell (Abb. 4 C), für 8 Platzierungen im VTA (Abb. 4 D), für 8 Platzierungen im NAc core/shell vor der Läsion im VTA (Abb. 4 E), für 8 Platzierungen im NAc core/shell vor Läsion der SNc (Abb. 4 F) und für 5 Platzierungen im VTA ohne vorherige Läsion (Abb. 4 G).

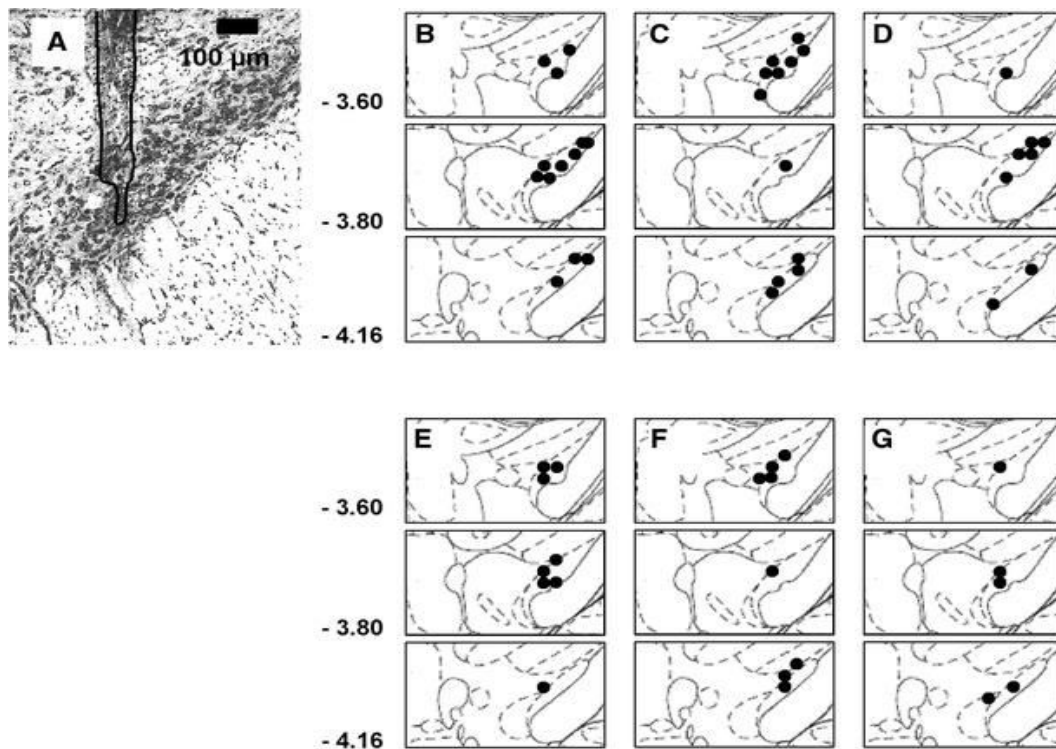


Abb. 4: Post-mortem-Histologie. A Repräsentative Mikroaufnahme der Spitze der Elektrode in Bezug zum Bregma in der koronaren Sektion nach Cresyl-Violett-Färbung (Verdichtung: kleines Insertionstrauma). B–G Schematische Rekonstruktion der Lage der Elektroden im STN von Versuchstieren des folgenden Experimentdesigns: B HFS, Mikrodialyse im NAc-core, C HFS, Mikrodialyse in NAc-shell, D HFS, Mikrodialyse im VTA, E HFS, Mikrodialyse in NAc-core-/vor Läsion des VTA, F: HFS, Mikrodialyse in NAc-core und -shell vor Läsion der SNc, G: HFS, Mikrodialyse im VTA, ohne vorherige Läsion.

Die Tiere mit korrekt implantierter Elektrode (n=78) wurden in folgende Gruppen unterteilt:

Gruppe 1/experimenteller Ansatz 1: Zur Analyse der Effekte der STN-HFS auf extrazelluläres DA wurden 41 Tiere eingesetzt. In Untergruppe 1 (n=13 für HFS, n=9 für die Kontrollen) erfolgte die Sammlung der Mikrodialyse-Proben im NAc core. Untergruppe 2 (n=12 für HFS, n=7 für die Kontrollen) beinhaltete Mikrodialyse-Proben entnommen aus dem NAc shell.

Gruppe 2/experimenteller Ansatz 2: Ermittelt wurde in diesem Fall die Effekte der STN-HFS auf extrazelluläres GABA im VTA. Die Studienpopulation bestand aus insgesamt 16 Tieren, 8 Tiere unter HFS sowie 8 Kontrolltiere.

Gruppe 3/experimenteller Ansatz 3: Gegenstand der Untersuchungen war es, modulatorische Effekte des SNc und der VTA auf die dopaminergen Neurotransmission im NAc unter STN-HFS zu evaluieren. Aus 21 Tieren wurden hierzu 3 Subgruppen gebildet:

Subgruppe 1 (n=8 Tiere): Läsion der SNc durch 6-OHDA zwei Wochen vor HFS.

Subgruppe 2 (n=8 Tiere): Läsion der VTA durch 6-OHDA zwei Wochen vor HFS.

Subgruppe 3 (n=5): Keine Läsion.

Die Probenentnahme erfolgte parallel sowohl im NAc core als auch im NAc shell.

4.2 Experimenteller Ansatz 1: Effekte der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission im NAc core

Quantifiziert wurde nicht nur die Konzentration von DA, sondern auch die Konzentration der Hauptmetabolite HVA und DOPAC. Der Two-Way-Anova-Test mit wiederholten Messungen belegte diesbezüglich eine signifikante stimulations- und zeitabhängige Differenz der DOPAC- und HVA-, nicht jedoch der DA-Konzentration. Gleichermaßen ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Stimulation und Scheinstimulation für DOPAC und HVA, aber nicht für DA. So induzierte die STN-HFS lediglich einen reversiblen, nicht signifikanten Anstieg des extrazellulären DA-Spiegels (max. 107.55 ± 4.16) im Sinne eines Trends, im Vergleich zur Basislinie ($F(12,129) = 2,59$, $p > 0,05$; n=13) und den an unstimulierten Ratten ermittelten Werten (Abb. 5).

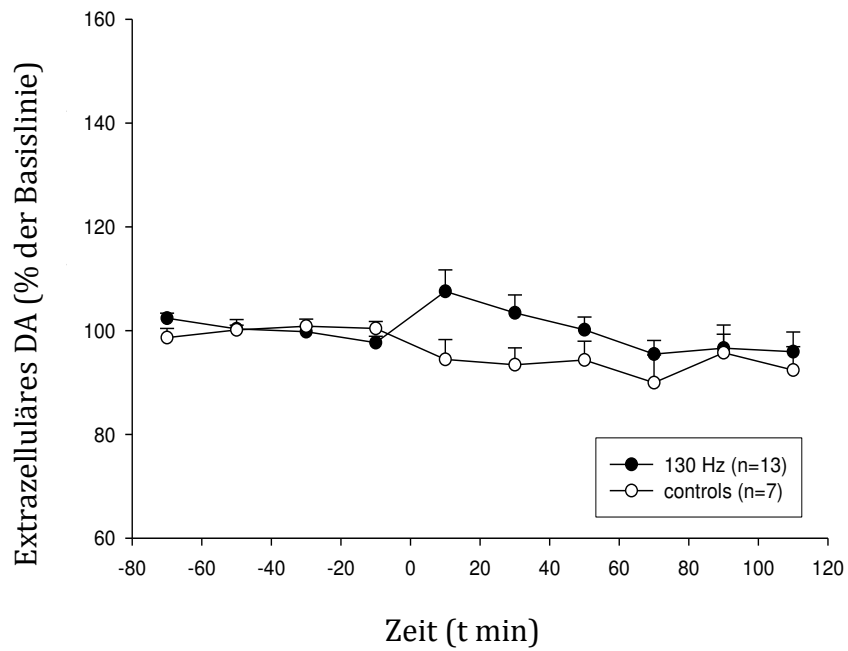


Abb. 5: Extrazelluläre Konzentration von Dopamin des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

Abb. 6 und 7 hingegen demonstrieren eine durch STN-HFS ausgelöste signifikante und reversible Erhöhung des extrazellulären DOPAC- (max. $114,81 \pm 3,07$; Abb. 6) sowie des extrazellulären HVA-Gehalts (max. $116,82 \pm 5,03$; Abb. 7), verglichen zur jeweiligen Basislinie (DOPAC: $F(12,129) = 18,97$, $t = 0-40$ min, $p < 0,05$, $n = 13$; HVA: $F(12,129) = 10,25$, $t = 20-60$ min $p < 0,05$, $n = 13$) und verglichen zu den unstimulierten Kontrollen ($t = 0-60$ Minuten (DOPAC) bzw. $t = 20-60$ Minuten (HVA)). Die Basal-Konzentrationen der gemessenen Neurotransmitter im NAc core betragen für DA $21,15 \pm 1,05$ fmol/20 μ l, für DOPAC $14,36 \pm 0,35$ pmol/20 μ l und für HVA $8,57 \pm 0,37$ pmol/20 μ l (MW \pm SD).

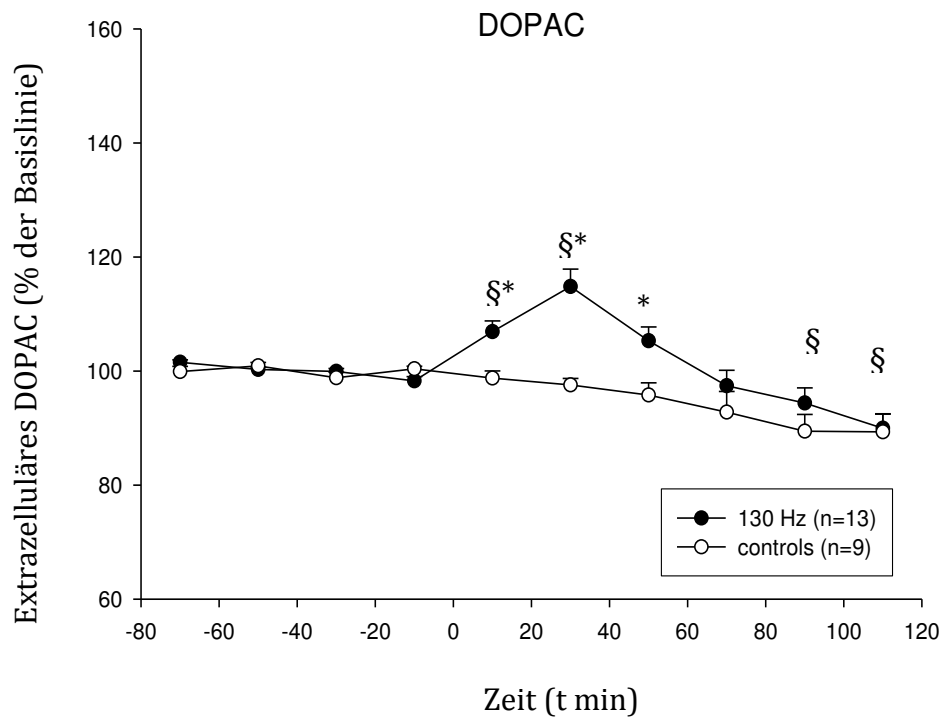


Abb. 6:

Extrazelluläre Konzentration von DOPAC des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

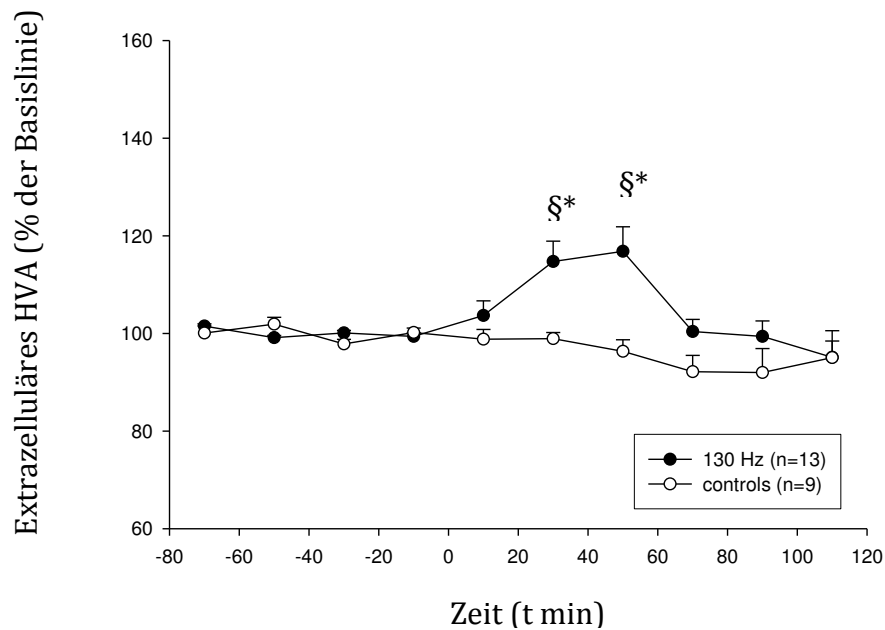


Abb. 7: Extrazelluläre Konzentration von HVA des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

Bei den nicht stimulierten Kontrolltieren blieben die Konzentrationen von DA, DOPAC und HVA über den gesamten Verlauf des Versuchs stabil. Die Konzentrationen sanken nicht signifikant unter die Basislinien-Werte (DA: $F(6,69) = 1,23$, $p > 0,05$, $n = 7$; DOPAC: $F(8,89) = 6,56$, $p < 0,05$, $n = 9$; HVA: $F(8,89) = 2,60$, $p < 0,05$, $n = 9$; (Abb. 5 bis 10).

4.3 Experimenteller Ansatz 1: Effekte der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission im NAc shell

Im Gegensatz zur Analyse des NAc core belegte der Two-Way-Anova-Test mit wiederholten Messungen eine signifikante stimulations- und zeitabhängige Differenz nicht nur der DOPAC- und HVA-, sondern auch der DA-Konzentration im NAc shell. Auch im Vergleich Stimulation und Scheinstimulation konnten signifikante Differenzen in der Konzentration sämtlicher Parameter, DA, DOPAC und HVA nachgewiesen werden. Abb. 8 verdeutlicht den signifikanten und reversiblen Anstieg von DA unter STN-HFS (max. $130; 12 \pm 7,13$), verglichen zum Basalspiegel (DA basal = $37,47 \pm 3,17$ fmol/20 μ l; MW \pm SD; t = 0-60 Minuten) und den nicht-stimulierten Kontrollen (t = 20-60 Minuten). Baseline-Werte (DA: $F(11,119) = 10,06$, $p < 0,05$, t = 0-40 min, n=12).

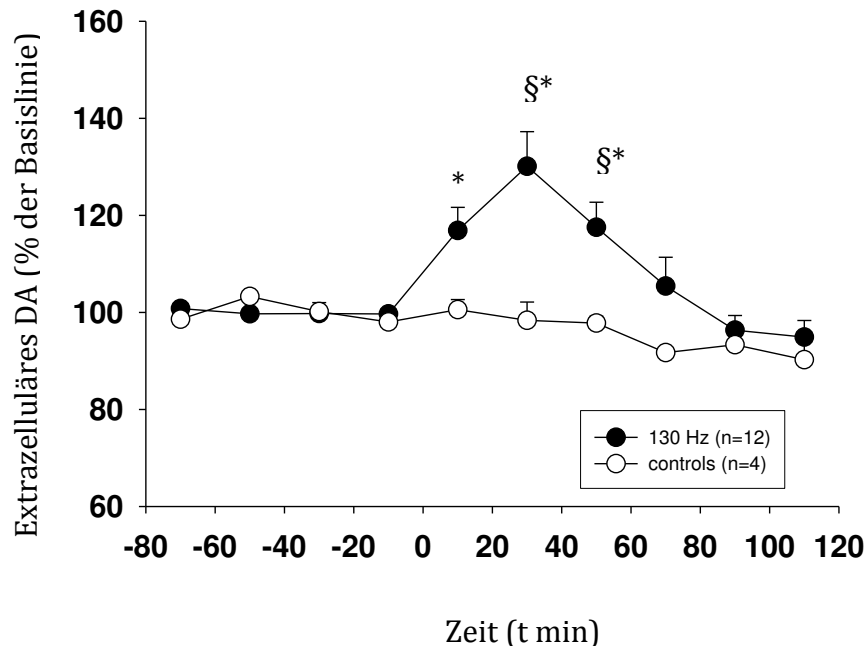


Abb. 8: Extrazelluläre Konzentration von Dopamin des NAC Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

Den zeitlichen Verlauf der DOPAC-Konzentration (vor, während, nach HFS) im NAc shell dokumentiert Abb. 9. Analog zur Modulation des DA-Spiegels wurden signifikante und reversible Unterschiede der DOPAC-Konzentration zwischen Simulation (max: $129,81 \pm 5,16$) und Scheinstimulation gemessen. Die Differenzen ergaben sich dabei in Bezug auf das basale Niveau mit DOPAC = $12,75 \pm 1,08$ pmol/20 μ l (MW \pm SD; t = 0-80 Minuten) sowie auf die unstimulierten Kontrollen (t = 0-120 Minuten). Basiswerte (DOPAC: $F(6,69) = 1,26$, $p > 0,05$, n = 7).

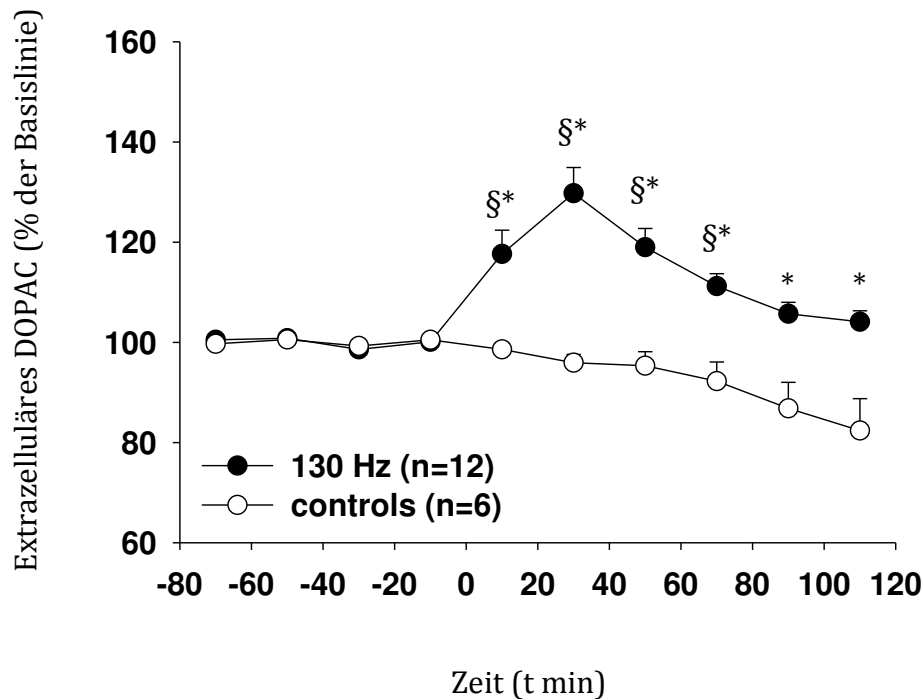


Abb. 9: Extrazelluläre Konzentration von DOPAC des NAc Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt. Auch die Konzentration des Metaboliten HVA im NAc shell war signifikant und reversibel angestiegen (max: $126,99 \pm 4,14$), und zwar sowohl gegenüber dem basalen HVA-Spiegel ($6,63 \pm 0,40$ pmol/20 μ l; MW \pm SD; $t = 0-100$ Minuten) sowie gegenüber den unstimulierten Kontrollen ($t = 0-120$ Minuten; siehe Abb. 10 und Tab. 1). Basiswert HVA: $F(6,69) = 7,62$, $p < 0,05$, $n = 7$.

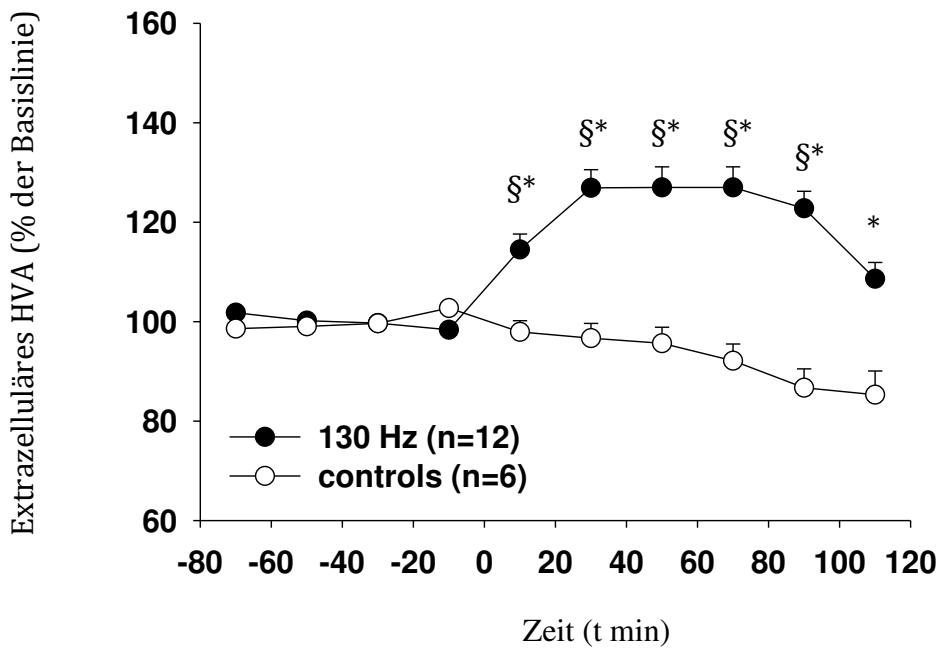


Abb. 10: Extrazelluläre Konzentration von HVA des NAc Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

Insgesamt waren die Basalwerte sämtlicher Parameter (DA, DOPAC und HVA) im NAc shell signifikant gegenüber dem NAc core erhöht (t-Test; $p < 0,05$) (Abb. 5 bis 10, Tab. 1). Bei den nicht stimulierten Kontrolltieren blieben die Konzentrationen von DA, DOPAC und HVA im NAc Shell stabil, die Konzentrationen sanken nicht signifikant unter die Basiswerte (DA: $F(4,49) = 3,45$, $p < 0,05$, $n = 5$; DOPAC: $F(6,69) = 1,26$, $p > 0,05$, $n = 7$; HVA: $F(6,69) = 7,62$, $p < 0,05$, $n = 7$ (Abbildung 6 und Tab. 1).

4.4 Experimenteller Ansatz 2: Effekte der STN-HFS auf die GABAerge Transmission im VTA

Die Studienpopulation bestand aus Ratten, 8 mit HFS behandelte Tiere versus 8 unbehandelte Kontrollen.

Anhand des Two-Way-Anova-Test mit wiederholten Messungen errechnete sich eine signifikante Differenz des extrazellulären GABA-Gehalts im VTA und zwar sowohl in Bezug auf die verschiedenen Stimulationen hinweg ($F(1,84) = 52,68$; $p < 0,001$), als auch in Abhängigkeit von der Zeit ($F(6,84) = 11,4$; $p < 0,001$). Zudem wurde eine signifikante Interaktion zwischen den Faktoren Stimulation/Schein-Stimulation und Zeit festgestellt ($F(6,84) = 3,4$; $p < 0,005$). Wie in Abbildung 11 dargestellt, senkte STN-HFS das extrazelluläre Niveau von GABA in der VTA signifikant im Vergleich zu den Basiswerten und zur Kontrollgruppe ohne Stimulation ($t = 0-120$; $p < 0,05$). Die Basislinien-Konzentrationen von GABA im VTA betragen $4,35 \pm 0,38$ pmol/20 μ l.

Auffällig war, dass die Basiswerte von stimulierten Tieren und Kontrollgruppe nicht stabil waren (ANOVA, HFS: $F(3,39) = 15,04$; $p < 0,05$; Kontrollgruppe: ($F(3,39) = 11,825$; $p < 0,05$)). Der erste Stimulationswert wich signifikant vom Mittelwert der Baseline sowie vom letzten Baseline-Wert ab. Dieser Befund legt nahe, dass die Abnahme von GABA infolge der HFS nicht die Fortsetzung eines Trends widerspiegelt, der während der Baseline-Probenentnahmen entstanden ist, sondern vielmehr als unabhängiges Ergebnis aufzufassen ist.

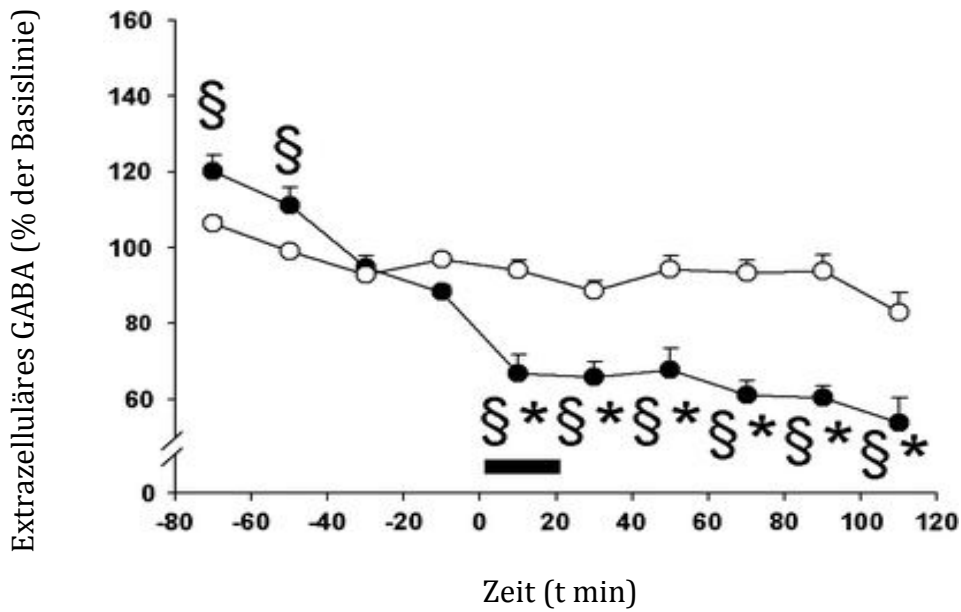


Abb. 11: Neurotransmission im ventralen tegmental Areal. Extrazelluläres GABA im VTA vor, während und nach STN-HFS. Baseline-Konzentrationen des VTA: $4,35 \pm 0,38$ pmol GABA/ μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben; $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der HFS, ausgefüllter Kreis: HFS des STN, umrandeter Kreis: Kontrollgruppe. §: $p < 0,05$ versus Basislinie, *: $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe.

4.5 Experimenteller Ansatz 3: Einfluss der SNc und der VTA auf die dopaminerge Transmission nach STN-HFS im NAc

Um die Beteiligung der SNc und der VTA in der Vermittlung potentieller Effekte der STN-HFS auf die dopaminerge Neurotransmission im NAc zu untersuchen, wurden 21 Ratten in drei Untergruppen unterteilt (siehe Material und Methoden, Kapitel 2.2). Die Unterteilung erfolgte abhängig von der Vorbehandlung, die zwei Wochen vor dem Mikrodialyse-Sampling und der HFS durchgeführt wurde: 6-OHDA-Läsion der SNc (Subgruppe 1; n = 8) versus 6-OHDA-Läsion des VTA (Subgruppe 2; n = 8) versus keine Läsion (Subgruppe 3; n = 5). Die Messproben wurden parallel im NAc core und NAc shell entnommen.

4.5.1 Immunhistochemie:

Die SNc-Läsion verursachte eine $88,66 \pm 9,97$ %ige Reduktion TH positiver nigraler Zellen im Vergleich mit der kontralateralen Kontrollseite ($p < 0,05$, Abb. 12 A+B). Die Läsion der VTA resultierte in einer $81,98 \pm 8,10$ % Reduktion der TH positiven VTA Zellen, verglichen mit der kontralateralen Kontrollseite ($p < 0,05$, Abb. 12 C+D).

In die Auswertung wurden nur die Tiere (n=16) einbezogen, bei denen die Läsion der SNc bzw. der VTA zu einem Zelluntergang von nicht mehr als 15 respektive 30 % der TH ausschüttenden Neurone der angrenzenden VTA oder SNc bzw. im Vergleich zur intakten Seite führte (Abb. 12 B+D).

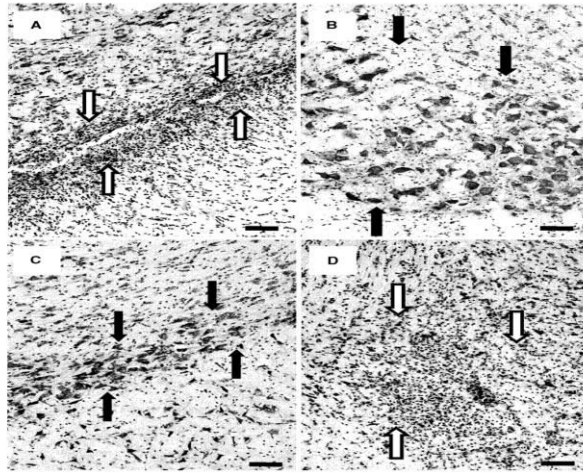


Abb. 12: Histologische Verifikation der Läsionsstelle: Mikroaufnahmen der Cresyl-Violett-gefärbten SNc (A + C) und VTA (B + D). A + B: Exemplarische Mikroaufnahme einer Ratte mit selektiver Läsion der SNc (A) mit intakter linker VTA (B). B + D: Exemplarische Mikroaufnahmen einer Ratte mit selektiver Läsion in der VTA (D) mit intaktem linken SNc (C). Die Pfeile markieren die Grenzen der intakten (ausgefüllte Pfeile) und lädierten (umrandete Pfeile) neuronalen Bereiche. Maßstabsbalken entspricht 100 μ m.

4.5.2 Mikrodialyse:

Die Baseline-Konzentrationen der nicht lädierten Kontrolltiere betragen 21,58 +/- 1,82 pmol DOPAC/20 µl und 11,17 +/- 0,48 pmol HVA/20 µl (n = 5). Bei den VTA-vorgeschädigten Tieren lagen die Basiswert-Konzentrationen von DA und der dopaminergen Metabolite unterhalb der Nachweisgrenze von 10 fmol/20 µl Dialysat (n = 8). Entsprechend konnte hier eine statistische Analyse nicht durchgeführt werden. Die Basislinienkonzentrationen von SNc-vorgeschädigten Tieren betrug 7,39 +/- 1,21 pmol DOPAC/20 µl, pmol und 4,89 +/- 0,53 HVA/20 µl (n = 8). Diese Konzentrationen waren signifikant niedriger als die der Vergleichsgruppe der Kontrolltiere ($p < 0.05$). (Abb. 13).

Bezüglich der Kontrolltiere und der SNc-vorgeschädigten Tiere belegte der Two-Way-Anova-Test mit wiederholten Messungen lediglich eine signifikante Differenz über die Zeit für sowohl DOPAC, als auch HVA (siehe Tabelle in Abb. 13).

In der Gruppe der nicht vorgeschädigten Tiere führte die STN-HFS zu einem signifikanten und reversiblen Anstieg der extrazellulären Konzentrationen von DOPAC (max. 124,67 +/- 6,81) und HVA (max. 135,96 +/- 8,85) im Vergleich zu den Basiswerten (DOPAC: $F(4,49) = 4,91$, $p < 0,05$, $t = 0-40$ min, $n = 5$; HVA: $F(4,49) = 5,93$, $p < 0,05$, $t = 0-100$ min, $n = 5$; Abb. 13 A+B). Bei den VTA-vorgeschädigten Tieren ließ sich durch STN-HFS keine Veränderung des dopaminergen Metabolismus bei Vergleich mit Basiswerten nachweisen ($n = 8$; Abb. 13 A+B). Bei den SNc-vorgeschädigten Tieren erhöhte die STN-HFS signifikant und reversibel die extrazellulären Werte von DOPAC (max. 129,85 +/- 12,28) und HVA (max. 118,67 +/- 7,5) verglichen zu den Baselinewerten (DOPAC: $F(7,79) = 2,79$, $p < 0.05$; $t = 0-40$ min, $n = 8$; HVA: $F(7,79) = 10,68$; $p < 0,05$, $t = 0-40$, $n = 8$; Abb. 13 A, B). Allerdings waren die Effekte auf die HVA weniger ausgeprägt, als in den Kontrolltieren (DOPAC: $t = 0-80$ Minuten; HVA: $t = 20-40$ Minuten; Abb. 13 A+B).

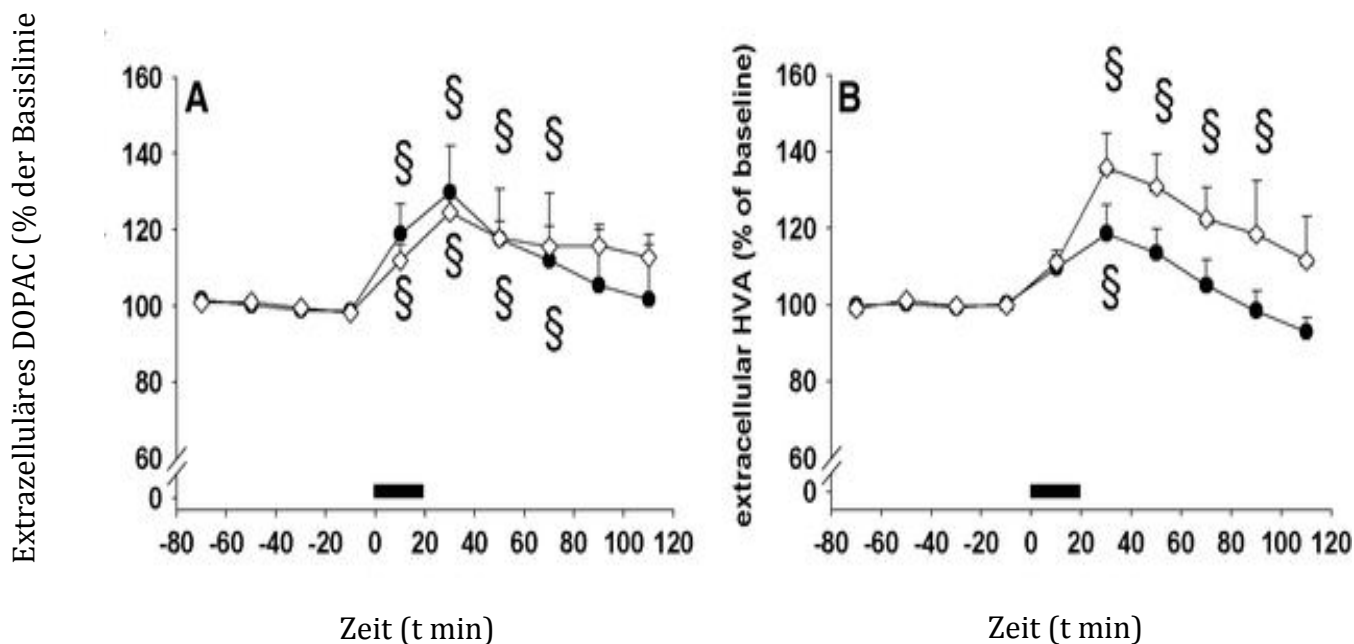


Abb. 13: Neurotransmission im NAc von Ratten, die im SNC prälädiert wurden: Extrazelluläres DOPAC (A) und HVA (B) des NAc vor, während und nach STN-HFS der Kontrollgruppe und bei SNC-lädierten Ratten. Basiswertkonzentrationen der nichtlädierten Kontrollgruppe: $21,58 \pm 1,82$ pmol DOPAC/ μ l und $11,17 \pm 0,48$ pmol HVA/ μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm SEM angegeben. §: Signifikanter Unterschied im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$). *: Signifikanter Unterschied zwischen lädierten Tieren und Kontrollgruppe der TH-stimulierten Ratten ($p < 0,05$). Der Totraum in den Mikroanalyse-Röhrchen verursachte eine Zeitverzögerung von 10 Min. vor der Analyse. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der STN-HFS, ausgefüllter Kreis: SNC-Läsion, umrandeter Diamant: Kontrollgruppe. Die Tabelle unterhalb der Abbildung stellt die Zwei-Wege-Varianzanalyse zur Bestimmung des Effekts der Substantia-nigra-Pars-compacta-Läsion und der Zeit auf die hochfrequenzabhängige Transmission von Dopamin-Metaboliten des subthalamischen Nucleus im NAc dar.

Dies oben beschriebenen Effekte trafen selektiv auf die STN-Stimulation mit hoher Frequenz (130 Hz) zu. In zusätzlichen Experimenten mit niedrig frequenter Stimulation (5 Hz) des STN konnten die beobachteten Effekte auf die dopaminerge Neurotransmission im NAc nicht nachgewiesen werden (Abbildung 14, 15 und 16).

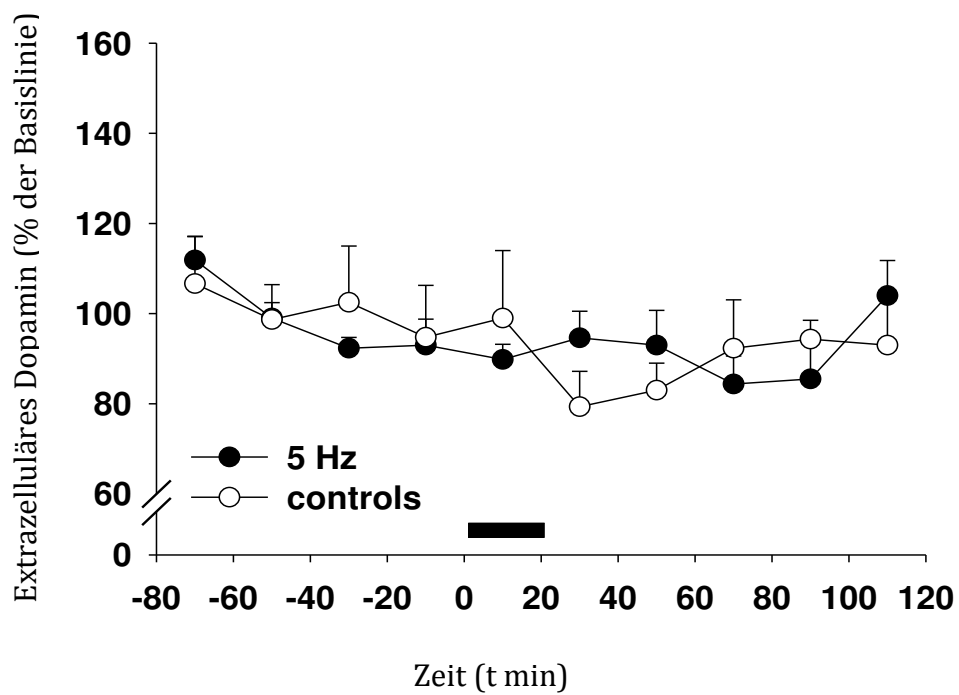


Abb. 14

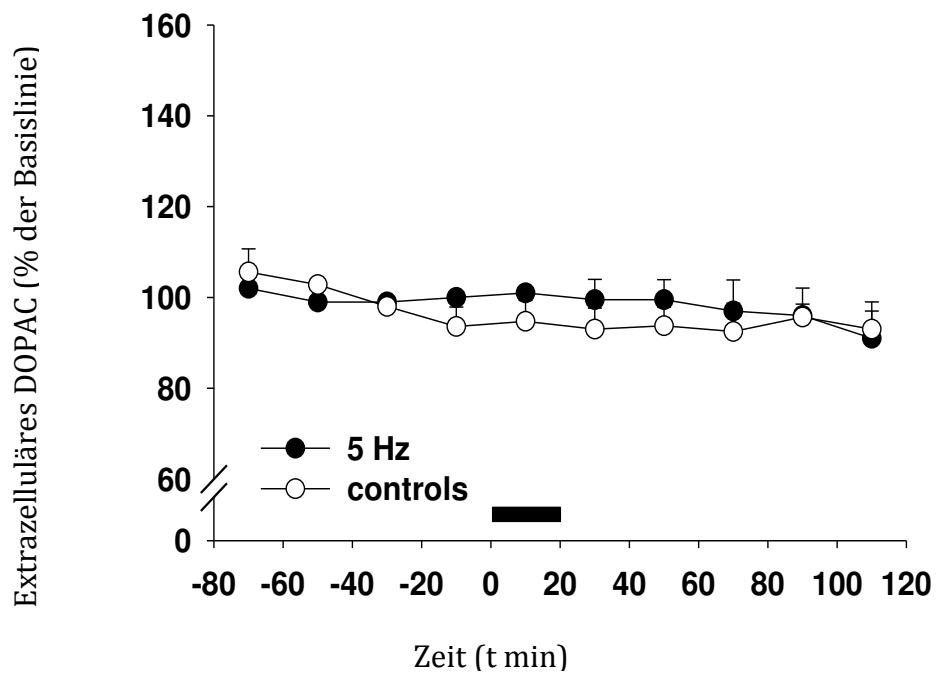


Abb. 15

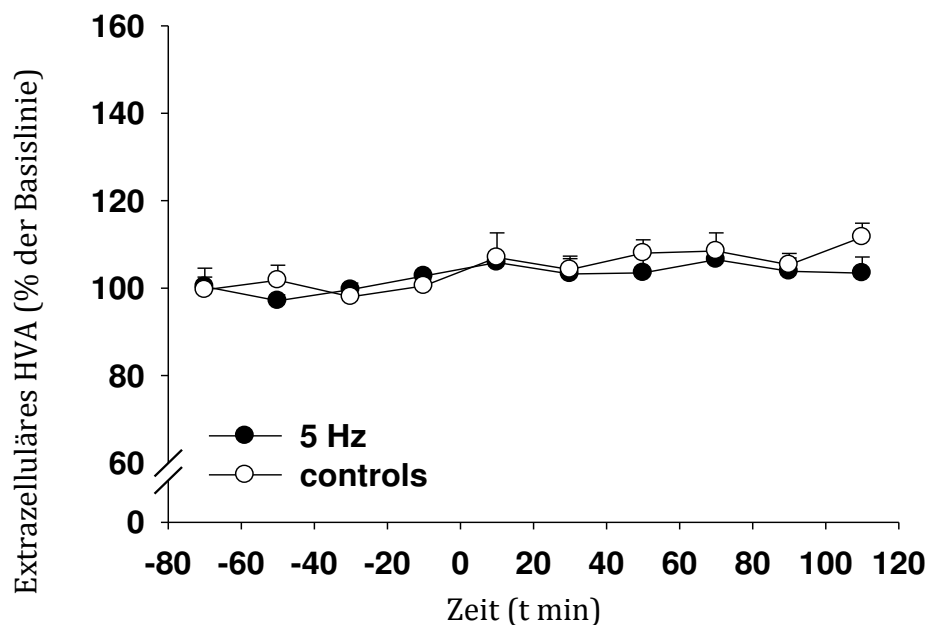


Abb. 16

Abb.: 14 - 16: Neurotransmission im Nucleus accumbens core und shell. Extrazelluläres Dopamin (DA; Abb. 14), 3,4-dihydroxyphenyl-acetic acid (DOPAC; Abb. 15) und Homovanillinsäure (HVA; Abb. 16) vor, während und nach niedrig frequenter Stimulation (5 Hz) des STN. Baseline-Konzentrationen im NAc core und shell simultan: 15.2 ± 0.6 fmol DA/20 μ l, 17.2 ± 0.6 pmol DOPAC/20 μ l, and 10.6 ± 0.02 pmol HVA/20 μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben; $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der HFS, ausgefüllter Kreis: HFS des STN, umrandeter Kreis: Kontrollgruppe. §: $p < 0,05$ versus Basislinie, *: $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe.

5. Diskussion

Die vorliegende Arbeit basiert auf dem Postulat, dass die HFS des STN nicht motorische Funktionen über eine veränderte Neurotransmission im limbischen System beeinflusst.

Die am Tiermodell erarbeiteten Ergebnisse deuten in der Tat darauf hin, dass STN-HFS die dopaminerge Neurotransmission in limbischen Bereichen, die funktional mit dem STN verbunden sind, moduliert.

Die Verbindungen des STN innerhalb der limbischen Basalganglien-thalamocortikalen Regelkreise und die Ähnlichkeit zwischen durch Läsionen eines Hirnareals und STN-HFS-induzierten psychiatrischen Effekten sowohl in Menschen als auch in Ratten (Trillet et al. 1995; Absher et al. 2000; Stefurak et al. 2003; Hilker et al. 2004; Mandat et al. 2006; Temel et al. 2006; Trost et al. 2006) legen nahe, dass die in der vorliegenden Studie unter HFS auftretenden Veränderungen im Dopaminhaushalt zumindest partiell für die unter HFS auftretenden psychiatrischen Nebenwirkungen beim Patienten verantwortlich sein könnten.

So führte eine selektive Läsion dopaminergener Neurone der SNc sowie der VTA zu erlernt hilflosem Verhalten als Parameter für depressives Verhalten im 6-OHDA-Tiermodell für Morbus Parkinson (Shababi-Klein 2013). Der Schweregrad korrelierte dabei mit der Größe der Läsion. Ähnlich waren in einer anderen Studie Parkinson-assoziierte depressive Symptome mit einem defizitären Dopaminsystem assoziiert (Raskin et al. 2010; Leentjens 2011).

Der unter HFS im vorliegenden Modell beobachtete Anstieg der DA-Konzentration im NAc Shell mag zunächst dem Postulat einer HFS bedingten Depression widersprechen. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass unter HFS die Dopamindosis beim Patienten reduziert werden kann (Abbruzzese et al. 2012), sodass hier möglicherweise der Auslöser für die Induktion depressiver Episoden gegeben ist. Zu erwarten wären jedoch in diesem Falle das Auftreten depressiver Phasen zeitlich kurz nach Beginn der HFS-Behandlung, das heißt, während der Adaptationsphase an die niedrigere L-Dopa Dosis.

Im Rahmen der Prozession motorischer, limbischer sowie assoziativer Informationen repräsentiert der STN im Basalganglien-Netzwerk ein zentrales Modulations- und Steuerungselement „Driving Force“ der Basalganglien (Benazzouz et al. 2000). In diesem Netzwerk scheinen veränderte Dopaminspiegel sowohl spezifische Symptome zu induzieren, als auch abzumildern. Der Beziehung zum limbischen System muss hierbei besondere Beachtung

eingräumt werden. Der STN leitet als „Driving Force“ glutamaterge Efferenzen zur SN sowie zum GPi (Aceves et al. 2011). Ein Verlust an Dopamin resultiert in einer Hyperaktivität des STN, mit der Konsequenz einer Exzitation sowie verstärkter Inhibition thalamokortikaler Bahnen. Dieser Vorgang mag erklären, warum HFS über eine Inhibition des STN eine Dysregulation limbischer Prozessierung nach sich zieht und so zur Beeinflussung psychischer Funktionen beiträgt (Haegelen et al. 2009).

Werden in diesem Sinne Depressionen mit einem Mangel an Dopamin in Verbindung gebracht, so korrelieren repetitive Verhaltensweisen mit einem Überangebot an (nigrostriatalem) Dopamin (Karch et al. 2011; Koo et al. 2010).

Da sowohl Dopamin-Antagonisten (Bloch et al. 2006; Thomsen et al. 2004) als auch HFS (Kupsch et al. 2006; Kuhn et al. 2010; Holtzheimer et al. 2012) gleichermaßen zu einer Reduktion der repetitiven Verhaltensweisen führen, lässt sich spekulieren, dass HFS entweder per se oder über eine verminderte Dopamin-Ausschüttung zur Entwicklung depressiver Symptome beiträgt.

Dadurch, dass Dopamin allerdings auch die Aktivität psychiatrisch relevanter Projektionsfelder im limbischen System über Projektionen zum ventralen Striatum und zum Nucleus accumbens (Stein et al. 2008) steuert, könnte auch eine direkte Stimulation einzelner „Subareale“ die genannten Phänomene auslösen.

Bekannt ist die Bedeutung des mesolimbischen Dopaminsystems als Belohnungssystem. Dopamin wird in Zusammenhang gebracht mit Spielsucht (Dodd et al. 2005; Voon et al. 2006), Hypersexualität (Klos et al. 2005) oder Esssucht (Nestler et al. 2004). Unter Gabe von Dopamin-Agonisten lassen sich solche Erkrankungsbilder verstärkt auslösen (Ferrara et al. 2008).

Die über das limbische System gesteuerten Suchtverhalten stehen oft in Zusammenhang mit Angstattacken und Depressionen (Colles et al. 2007), ein Umstand, der die Hypothese einer dopaminergen Dysfunktion als Auslöser psychiatrischer Erkrankungen unterstreicht (Vetrugno et al. 2006).

Neuere Studien lassen den Schluss zu, dass eine Imbalance zwischen dem mesolimbischen und nigrostriatalem Dopaminsystem psychiatrische Störungsbilder auszulösen vermag (Molochnikov et al. 2014). Die genauen Mechanismen sind jedoch nicht aufgeklärt. Auch die der HFS

zugrunde liegenden Wirkmechanismen sind letztendlich im Detail nicht erforscht. Möglicherweise wirkt die HFS biphasisch, indem sie parallel die Aktivität im stimulierten Hirnareal hemmt, gleichzeitig aber neue Aktivitäten auslöst (Winter et al. 2010).

Die Analyse der dargestellten Baseline-Werte des DA im NAc ließ eine strukturabhängige Differenzierung der DAergen Ladung in NAc Core und NAc Shell erkennen, während die basale DA-Konzentration im NAc Shell signifikant höher war als im NAc Core. Interessanterweise wurden die HFS-abhängigen Erhöhungen von DA und DA-Metaboliten hauptsächlich im NAc Shell beobachtet. Die durch STN-HFS erzielte Erhöhung von DA im NAc Core erreichte hingegen keine statistische Signifikanz. Präläsionen DAerger Neuronen am VTA vermindern die DAerge Neurotransmission stärker als Präläsionen der SNc.

Anatomische Unterschiede könnten für die quantitativ höhere basale Ladung und die stärkere Wirkung von STN-HFS auf die DAerge Transmission in der NAc-shell im Vergleich zum NAc core verantwortlich sein. Alternativ oder zusätzlich könnte ein unterschiedliches Verhältnis von DA und seinen Rezeptoren in diesen Teilregionen mit den differenziellen Effekten der STN-HFS-bedingten Modulation der DAergen Neurotransmission in der NAc Shell verglichen mit NAc Core zusammenhängen (Groenewegen et al. 1999; Cadoni und Di 2000; Ito et al. 2000; Bassareo et al. 2002).

Die Frage nach dem genauen Mechanismus lässt sich nicht abschließend beantworten. Die aktuellen Ergebnisse weisen darauf hin, dass die STN-HFS die DA-Freigabe und den DA-Metabolismus in zentralen limbischen Strukturen, wie zum Beispiel dem NAc gesunder Ratten, erhöht. Diese Studie zeigte weiterhin, dass die Läsion der VTA den modulierenden Einfluss der STN-HFS auf das dopaminerge System des NAc unterdrückt. Dieses konnte für die Läsion der SNc nicht gezeigt werden. Es ist zu vermuten, dass die VTA von großer Bedeutung bei der Vermittlung der beobachteten Effekte ist, was sich nicht über die SNc sagen lässt.

Die HFS-abhängige Zunahme von DA und seiner Metabolite konnte im NAc shell ausgeprägter nachgewiesen werden als im NAc Core. Aufsteigende Projektionen vornehmlich aus der VTA aber auch aus der SNc sorgen für die dopaminerge Innervation des NAc, wobei die SNc hauptsächlich zum NAc Core und die VTA zum NAc shell projiziert (Groenewegen et al. 1999; Lindvall and Bjorklund 1974).

Diese funktionellen Unterschiede könnten dafür verantwortlich sein, dass die STN-HFS einen quantitativ stärkeren Effekt auf die dopaminerge Transmission des NAc shell im Vergleich zum

NAc core hat. Weiterhin konnten Ergebnisse präsentiert werden, welche die unterschiedliche Aufteilung von DA und seiner Rezeptoren in dieser Subregion beschreiben (i.e. Groenewegen et al. 1999; Cadoni, Di Chiara 2000). Weitere Studien sind jedoch notwendig, um die Rolle von NAc core versus NAc shell besser zu verstehen. Hu et al verweisen beispielsweise darauf, dass hohe und niedrige Frequenzen die Neurone im NAc unterschiedlich inhibieren, und dass die core-Stimulation effektiver sein kann, als die shell-Stimulation (Hu et al. 2011). Bei der Diskussion ist zu berücksichtigen, dass die Untergliederung des NAc in NAc core und NAc shell nicht nur anatomisch begründet ist, sondern auch die unterschiedlichen afferenten und efferenten Verbindungen berücksichtigt. NAc core projiziert primär zum ventralen Pallidum, wohingegen NAc shell auch den LH innerviert. Somit repräsentiert der NAc zwar generell eine entscheidende neuronale Schnittstelle zwischen emotionalen Hirnarealen und motorischen Kerngebieten, die unterschiedlichen Verschaltungen erlauben aber auch eine funktionelle Trennung beider Areale. Als Grundregel gilt, dass der NAc core vor allem den Einfluss von konditionierten Reizen auf das motorische Verhalten kontrolliert, der NAc shell hingegen den Einfluss unkonditionierter Reize auf ungelerntes motorisches Verhalten. Das Erlernen und Ausführen konditionierten Verhaltens, beispielsweise der zielgerichteten Bewegung, unterliegt insbesondere der dopaminergen Innervation des NAc core. Die funktionelle Bedeutung des NAc core und NAc shell sind dennoch nicht im Detail verstanden. Die Modulation erlernter Verhaltensweisen beruht so hauptsächlich auf der Integrität des NAc shell. Über den NAc können konditionierte Reize auch instrumentelles Handeln verstärken, wobei die konkrete Beteiligung des NAc core und NAc shell ebenfalls noch nicht hinreichend geklärt ist (Lex 2010).

Möglicherweise ist die STN-HFS-abhängige Veränderung der DAergen Neurotransmission des NAc nicht der einzige Weg, auf dem STN-HFS limbische Effekte hervorruft: Mallet et al. (2007) beobachteten in einer klinischen Studie eine PET-Aktivierung der kortikalen und thalamischen Regionen unter STN-HFS, die bei zwei Parkinson-Patienten von einem hypomanischen Zustand begleitet wurde. Zudem fanden Baunez et al. (2007) heraus, dass STN-HFS z.T. ähnliche Resultate in einem Test zur visuellen Aufmerksamkeit in gesunden Ratten und in Ratten mit bilateral unterdrücktem DA erzielte. Interessanterweise konnten in diesem Modell durch STN-HFS weitere, milde kognitive Defizite, die durch die dopaminerge Läsion ausgelöst wurden, nicht behoben werden, weshalb anzunehmen ist, dass STN-HFS-modulierte limbische und/oder kognitive Funktionen von einem intakten DA-System unabhängig sein könnten. Tatsächlich argumentierten die Autoren, dass STN-HFS nur partiell die Inaktivierung des STN widerspiegelt, die durch die Läsion induziert wurde (Baunez et al. 2007).

Neben Dopamin sind weitere Neurotransmitter in die Diskussion mit einzubeziehen. Präklinische und klinische Untersuchungen an Tieren (Salin et al. 2002; Tai et al. 2003; Benazzouz et al. 2004; Meissner et al. 2005) bzw. an Patienten (Filali et al. 2004; Welter et al. 2004) demonstrierten, dass eine selektive Stimulation des STN bei hohen Frequenzen die Aktivität der subthalamischen Neurone reduziert. Diese Beobachtung wurde von weiteren Arbeitsgruppen bestätigt, die ähnliche Effekte bei STN-HFS, der STN-Läsion und der pharmakologischen Deaktivierung des STN sowohl bei IPS-Patienten als auch bei Tiermodellen des Parkinson-Syndroms beschreiben (Wichmann et al. 1994; Limousin et al. 1995; Benazzouz et al. 1996; Levy et al. 2001; Darbaky et al. 2003; Deuschl et al. 2006). Von elektrischer Stimulation wird allgemein angenommen, dass sie Nervenfasern erregt und nicht direkt auf den Zellkörper wirkt (Nowak und Bullier 1998a; Holsheimer et al. 2000). Demzufolge könnte der angenommene inhibitorische Effekt von STN-HFS auf eine Stimulation der präsynaptischen GABAergen Axon-Enden zurückgehen. Vorausgesetzt, die Inhibition der STN-Neuronen stellt den Hauptmechanismus dar, so könnte STN-HFS die Fortsätze des STN von der exzitatorischen Glutamatzufuhr befreien und den thalamokortikalen Informationsfluss normalisieren. Darüber hinaus wird vermutet, dass die modulatorischen Effekte von STN-HFS auf die glutamaterge STN-Efferenz mit der Wirksamkeit von STN-HFS zusammenhängen (Hashimoto et al. 2003; Maurice et al. 2003; Windels et al. 2003; McIntyre et al. 2004b; Stefani et al. 2005).

Die Arbeitsgruppe Bruet et al. beobachtete diesbezüglich unter STN-HFS einen signifikanten Anstieg der extrazellulären striatalen Glutamat-Konzentration sowohl in gesunden Ratten als auch in Ratten mit Parkinson. Gleichermäßen wiesen Stefani et al. unter STN-HFS bei Parkinson-Patienten eine erhöhte extrazelluläre glutamaterge Transmission im Striatum nach, definiert über einen Anstieg des Second Messengers zyklisches Guanosinmonophosphat (Stefani et al. 2006). Übereinstimmend mit Bruet et al. postulierten sie eine Disinhibition thalamocorticaler Neurone durch STN-HFS als Erklärungsursache für dieses Ereignis, da sich parallel zur Glutamat-Erhöhung die Konzentration extrazellulären GABA im Thalamus erniedrigte (van Delden 2009).

Auch die vorliegende Studie zeigte, dass die toxische Präläsion des VTA den Effekten von STN-HFS auf die DAerge Neurotransmission im NAc entgegen wirkte sowie dass die STN-HFS die GABAerge Transmission im VTA reduzierte. Die festgestellte Beteiligung von VTA und GABA an der STN-HFS-bedingten Modulation der DAergen Neurotransmission im NAc stimmt mit

den Ergebnissen vorangegangener klinischer und experimenteller Studien überein:

Konvergente Daten aus neuroanatomischen Studien an Tieren legen nahe, dass der STN direkt und/oder indirekt mit dem VTA und dem NAc verbunden ist (Bonci und Malenka 1999; Woods et al. 2002; Hamani et al. 2004). Zudem projizieren VTA-DA-Neuronen in den NAc (Groenewegen et al. 1999) und werden von inhibitorischen GABAergen VTA-Interneuronen kontrolliert (Westerink et al. 1996; Ikemoto et al. 1997). Diese GABAergen VTA-Interneuronen erhalten möglicherweise glutamatergen Input vom STN, wie aus einer früheren In-vitro-Studie zur Glutamatwirkung auf VTA-Neuronen hervorgeht (Bonci und Malenka 1999). Das STN-HFS-Verfahren könnte demnach den inhibitorischen GABAergen Tonus bei DAergen Neuronen im VTA aufheben, indem es die exzitatorische Aktivität der VTA-Interneuronen moduliert, was schließlich zu einer erhöhten Konzentration von DA im NAc führt. Weitere Untersuchungen, die eine definitive Kopplung von STN-HFS und der GABAergen Modulation der DAergen VTA-NAc-Projektion zeigen, sind erforderlich, um diese Hypothese zu beweisen.

Zusammengefasst lieferte die vorliegende Studie den Nachweis einer funktionalen Interaktion des STN mit der DAergen VTA-NAc-Projektion in vivo bei Ratten. Zuvor wurde angenommen, dass die STN-HFS-bedingte Erhöhung des striatalen DA zur akuten Reversibilität von PS-Symptomen beiträgt, wodurch die DAerge Medikation unter STN-HFS um bis zu 50% herabgesetzt werden kann (Meissner et al. 2003; Lee et al. 2004; Lee et al. 2006). Entsprechend könnte die nachgewiesene STN-HFS-bedingte Erhöhung des accumbalen DA in gesunden und SNc-prälädierten Ratten eine mögliche Erklärung für einige der psychiatrischen Effekte von STN-HFS beim PS liefern.

Limitierung der Studie: Ob die Beeinträchtigung psychischer Funktionen durch die direkte Beeinflussung des STN oder, als weitere Option, durch eine Ausbreitung der Stromwirkung auf angrenzende Strukturen hervorgerufen wird (Ranck 1975), konnte in der vorliegenden Studie nicht beantwortet werden. Der STN grenzt beispielsweise unmittelbar an dem lateralen Hypothalamus (LH) an, der eng mit dem NAc verbunden und an motivationalen Aspekten des Verhaltens beteiligt ist (DiLeone et al. 2003).

Denkbar ist somit auch, dass die Ausbreitung des Stroms auf vorbeilaufende Fasern wie das

mediale Vorderhirnbündel und/oder angrenzende Gehirnareale wie das LH potentiell zu den Effekten des STN-HFS beitragen. Tatsächlich postulierte Lacombe et al., dass unter HFS auch zusätzliche Signalwege einbezogen werden können (Lacombe et al. 2007).

Um zwischen der direkten HFS-abhängigen Regulierung der STN-Aktivität und unspezifischen Effekten auf benachbarte Gehirnbereiche und Faserverbindungen zu unterscheiden, wäre es erforderlich, verschiedene Stimulationsparameter, welche die Ausbreitung der Stromwirkung beeinflussen (Impulsdauer, Stromstärke und -frequenz), vergleichend zu untersuchen und die jeweilige Auswirkung auf die Stimulation in den anderen Arealen zu analysieren. Zudem würde eine elektrochemische Methode mit höherer temporärer Auflösung, wie z.B. die zyklische Voltametrie in vivo (Lee et al. 2006), detailliertere temporäre Informationen zur Kopplung von STN-HFS und DA-Ausschüttung liefern. Das Ziel der vorliegenden Studie beschränkte sich jedoch darauf, die möglichen Auswirkungen des STN-HFS-Verfahrens, wie es in der Klinik eingesetzt wird, auf die Neurotransmission in relevanten limbischen Bereichen zu evaluieren, wodurch sich möglicherweise die psychiatrischen Begleiterscheinungen bei IPS-Patienten unter STN-HFS erklären ließen.

Es ist wichtig, hervorzuheben, dass sich der eingesetzte Strom auf benachbarte Hirnbereiche und Nervenbahnen ausbreiten kann – dies gilt für den Tierversuch ebenso wie für die klinische Anwendung (Stefurak et al. 2003; McIntyre et al. 2004a). Abschließende Studien dazu, wie das STN-HFS-Verfahren limbische Gehirnfunktionen genau beeinflusst, würden klinische Rekonstruktionen der Anatomie post mortem sowie Computermodellierungen erfordern.

6. Literatur

- Aarsland D, Pålhlagen S, Ballard CG, Ehrt U, Svenningsson P. Depression in Parkinson disease-epidemiology, mechanisms and management. *Nat Rev Neurol*. 2011 Dec 26;8(1):35-47.
- Abbruzzese G, Barone P, Bonuccelli U, Lopiano L, Antonini A. Continuous intestinal infusion of levodopa/carbidopa in advanced Parkinson's disease: efficacy, safety and patient selection. *Funct Neurol*. 2012 Jul-Sep;27(3):147-54
- Absher J, Vogt B, Clark D, Flowers D, Gorman D, Keyes J, Wood F (2000) Hypersexuality and hemiballism due to subthalamic infarction. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 13: 220–229
- Aceves JJ, Rueda-Orozco PE, Hernandez-Martinez R, Galarraga E, Bargas J. Bidirectional plasticity in striatonigral synapses: a switch to balance direct and indirect basal ganglia pathways. *Learn Mem*. 2011 Nov 18;18(12):764-73
- Alamri A, Ughratdar I, Samuel M, Ashkan K. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease 2003-2013: Where are we another 10 years on? *Br J Neurosurg*. 2015 Jan 24:1-10. [Epub ahead of print]
- Albanese A, Piacentini S, Romito L, Leone M, Franzini A, Broggi G, Bussone G (2005) Suicide after successful deep brain stimulation for movement disorders. *Neurology* 65: 499–500
- Alexander G, Crutcher M (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13: 266–271
- Alexander G, Crutcher M, DeLong M (1990) Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions. *Progress in Brain Research* 85: 119–146
- Alexander G, DeLong M, Strick P (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual Review of Neuroscience* 9: 357–318
- Alves G, Forsaa EB, Pedersen KF, Dreetz Gjerstad M, Larsen JP.; Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol*.2008 Sep;255 Suppl 5:18-32
- Asanuma K, Tang C, Ma Y, Dhawan V, Mattis P, Edwards C, Kaplitt MG, Feigin A, Eidelberg D (2006) Network modulation in the treatment of Parkinson's disease. *Brain*, 129(10):2667-2678]

-
- Bassareo V, De Luca M, Di C (2002) Differential expression of motivational stimulus properties by dopamine in nucleus accumbens shell versus core and prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience* 22: 4709–4719
- Baunez C, Christakou A, Chudasama Y, Forni C, Robbins T (2007) Bilateral high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on attentional performance: transient deleterious effects and enhanced motivation in both intact and parkinsonian rats. *European Journal of Neuroscience* 25: 1187–1194
- Bejjani B, Houeto J, Hariz M, Yelnik J, Mesnage V, Bonnet A, Pidoux B, Dormont D, Cornu P, Agid Y (2002) Aggressive behavior induced by intraoperative stimulation in the triangle of Sano. *Neurology* 59: 1425–1427
- Benabid AL, Chabardes S, Mitrofanis J, Pollak P. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *Lancet neurology*. Jan 2009;8(1):67-81
- Benazzouz A, Boraud T, Feger J, Burbaud P, Bioulac B, Gross C (1996) Alleviation of experimental hemiparkinsonism by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus in primates: a comparison with L-Dopa treatment. *Movement Disorders* 11: 627–632
- Benazzouz A, Hallett M. Mechanism of action of deep brain stimulation. *Neurology*. 2000;55(12 Suppl 6):S13-6).
- Benazzouz A, Piallat B, Pollak P, Benabid A (1995) Responses of substantia nigra pars reticulata and globus pallidus complex to high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats: electrophysiological data. *Neuroscience Letters* 189: 77–80
- Benazzouz A, Tai C, Meissner W, Bioulac B, Bezard E, Gross C (2004) High-frequency stimulation of both zona incerta and subthalamic nucleus induces a similar normalization of basal ganglia metabolic activity in experimental parkinsonism. *The FASEB Journal* 18: 528–530
- Benazzouz A, Hallett M (2000) Mechanism of action of deep brain stimulation. *Neurology* 55(6):13-16
- Bennett MR. The prefrontal-limbic network in depression: Modulation by hypothalamus, basal ganglia and midbrain. *Prog Neurobiol*. 2011 Apr;93(4):468-87
- Bergmann, H., Feingold, A. Nini et al. (1998) Physiological aspects of information processing in the basal ganglia of normal and parkinsonian primates. *Trends Neurosci* 21, 32-38.
- Bergman, H. and G. Deuschl, Pathophysiology of Parkinson's disease: from clinical neurology to basic neuroscience and back. *Mov Disord*, 2002. 17 Suppl 3: p. S28-40).

-
- Bergman, H., et al., The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol*, 1994. 72(2): p. 507-20)
- Bernheimer, H., Birkmeyer, W., Hornykiewicz, O. et al. (1973) Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical , morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci* 20, 415-455.
- Beurrier C, Bioulac B, Audin J, Hammond C (2001) High-frequency stimulation produces a transient blockade of voltage-gated currents in subthalamic neurons. *J. Neurophysiol.*85(4):1351-1356
- Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Kelmendi B, Coric V, Bracken MB, Leckman JF. A systematic review: antipsychotic augmentation with treatment refractory obsessive-compulsive disorder. *Mol Psychiatry*. 2006 Jul;11(7):622-32
- Bonci A, Malenka R (1999) Properties and plasticity of excitatory synapses on dopaminergic and GABAergic cells in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience* 19: 3723–3730
- Boulet S, Lacombe E, Carcenac C, Feuerstein C, Sgambato-Faure V, Poupard A, Savasta M (2006) Subthalamic stimulation-induced forelimb dyskinesias are linked to an increase in glutamate levels in the substantia nigra pars reticulata. *The Journal of Neuroscience* 26: 10768–10776
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rüb U (2002) Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *Journal of Neurochemistry* 249: 1-5
- Brown P, Oliviero A, Mazzone P, Insola A, Tonali P, Di Lazzaro V. Dopamine dependency of oscillations between subthalamic nucleus and pallidum in Parkinson's disease. *J Neurosci* 2001; 21: 1033-8.
- Bruet N, Windels F, Carcenac C, Feuerstein C, Bertrand A, Poupard A, Savasta M (2003) Neurochemical mechanisms induced by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus: increase of extracellular striatal glutamate and GABA in normal and hemiparkinsonian rats. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 62: 1228–1240
- Buzsaki G, Watson BO. Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2012; 14: 345-367
- Cadoni C, Di C (2000) Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *European Journal of Pharmacology* 387: R23–R25

- Calabresi, P., B. Picconi, L. Parnetti, et al., A convergent model for cognitive dysfunctions in Parkinson's disease: the critical dopamine-acetylcholine synaptic balance. *Lancet Neurol*, 2006. 5(11): p. 974-83.
- Cassidy M, Mazzone P, Oliviero A, Insola A, Tonali P, Di Lazzaro V, et al. Movement-related changes in synchronization in the human basal ganglia. *Brain* 2002; 125: 1235-46
- Ceballos-Baumann A, Boecker H, Bartenstein P, von F I, Riescher H, Conrad B, Moringlane J, Alesch F (1999) A positron emission tomographic study of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson disease: enhanced movement-related activity of motor-association cortex and decreased motor cortex resting activity. *Archives of Neurology* 56: 997–1003
- Colles, S.L., J.B. Dixon, and P.E. O'Brien. 2007. Night eating syndrome and nocturnal snacking: association with obesity, binge eating and psychological distress. *Int. J. Obes. (Lond)*
- Courtemanche R, Hutchison W, Dostrovsky J, Walters J, Neuronal Oscillations in the Basal Ganglia and Movement Disorders: Evidence from Whole Animal and Human Recordings, *The Journal of Neuroscience*, 20 October 2004, 24(42): 9240-9243
- Creed MC, Hamani C, Nobrega JN. Effects of repeated deep brain stimulation on depressive- and anxiety-like behavior in rats: comparing entopeduncular and subthalamic nuclei. *Brain Stimul.* 2013 Jul;6(4):506-14.
- Czernecki V, Pillon B, Houeto J, Welter M, Mesnage V, Agid Y, Dubois B (2005) Does bilateral stimulation of the subthalamic nucleus aggravate apathy in Parkinson's disease? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 76: 775–779
- Darbaky Y, Forni C, Amalric M, Baunez C (2003) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus has beneficial antiparkinsonian effects on motor functions in rats, but less efficiency in a choice reaction time task. *European Journal of Neuroscience* 18: 951–956
- Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease Study Group (2001) Deepbrain stimulation of the subthalamic nucleus or the pars interna of the globus pallidus in Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine*, 345(13):956-963
- Delden C, Einfluss der chronischen unilateralen Hochfrequenzstimulation des Nucleus subthalamicus auf die neurochemische Transmission im Striatum naiver Ratten, Dissertation, Charite, 2009
- Deuschl G, Schade-Brittinger C, Krack P, Volkmann J, Schafer H, Botzel K, Daniels C, Deutschlander A, Dillmann U, Eisner W, Gruber D, Hamel W, Herzog J, Hilker R, Klebe S, Kloss M, Koy J, Krause M, Kupsch A, Lorenz D, Lorenzl S, Mehdorn H, Moringlane

- J, Oertel W, Pinski M, Reichmann H, Reuss A, Schneider G, Schnitzler A, Steude U, Sturm V, Timmermann L, Tronnier V, Trottenberg T, Wojtecki L, Wolf E, Poewe W, Voges J (2006) A randomized trial of deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine* 355: 896–908
- Deuschl, G., et al., A randomized trial of deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 2006. 355(9): p. 896-908
- DiLeone R, Georgescu D, Nestler E (2003) Lateral hypothalamic neuropeptides in reward and drug addiction. *Life Sciences* 73: 759–768
- Dodd, M.L., K.J. Klos, J.H. Bower, Y.E. Geda, K.A. Josephs, and J.E. Ahlskog. 2005c. Pathological gambling caused by drugs used to treat Parkinson disease. *Arch. Neurol.* 62:1377-1381
- Doshi P, Chhaya N, Bhatt M (2002) Depression leading to attempted suicide after bilateral subthalamic nucleus stimulation for Parkinson's disease. *Movement Disorders* 17: 1084–1085
- Dostrovsky JO, Levy R, Wu JP, Hutchison WD, Tasker RR, Lozano AM (2000) Microstimulation-induced inhibition of neuronal firing in human globus pallidus. *Journal of Neurophysiology*, 84(1):570-574
- Doyle L, KK A, Kempf F, Brücke C (2008) High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus Suppresses Oscillatory β Activity in Patients with Parkinson's Disease in Parallel with Improvement in Motor Performance, *The Journal of Neuroscience*, 28(24): 6165-6173
- Engel & Fries (2010) *Current Opinion in Neurobiology* 20(2), 156-165
- Fearnley, J.M and Lees, A.J. (1991) Ageing and Parkinson's disease: Substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114 (Pt 5), 2283-2301
- Feuerstein TJ, Kammerer M, Lücking CH, Moser A (2011) Selective GABA release as a mechanistic basis of high frequency stimulation used for the treatment of neuropsychiatric diseases. *Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol.* 384: 1-20
- Ferrara JM, Stacy M. Impulse-control disorders in Parkinson's disease. *CNS Spectr.* 2008 Aug;13(8):690-8
- Filali M, Hutchison W, Palter V, Lozano A, Dostrovsky J (2004) Stimulation-induced inhibition of neuronal firing in human subthalamic nucleus. *Experimental Brain Research* 156: 274–281
- Foffani G, Priori A, Egidio M, Rampini P, Tamma F, Caputo E, et al. 300-Hz subthalamic oscillations in Parkinson's disease. *Brain* 2003; 126: 2153-63.

-
- Fontaine D, Mattei V, Borg M, LD v, Magnie M, Chanalet S, Robert P, Paquis P (2004) Effect of subthalamic nucleus stimulation on obsessive-compulsive disorder in a patient with Parkinson disease. *Journal of Neurosurgery* 100: 1084–1086
- Funkiewiez A, Ardouin C, Caputo E, Krack P, Fraix V, Klinger H, Chabardes S, Foote K, Benabid A, Pollak P (2004) Long term effects of bilateral subthalamic nucleus stimulation on cognitive function, mood, and behaviour in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 75: 834–839
- Funkiewiez A, Ardouin C, Cools R, Krack P, Fraix V, Batir A, Chabardes S, Benabid A, Robbins T, Pollak P (2006) Effects of levodopa and subthalamic nucleus stimulation on cognitive and affective functioning in Parkinson's disease. *Movement Disorders* 21: 1656–1662
- Funkiewiez A, Ardouin C, Krack P, Fraix V, Van B, Xie J, Moro E, Benabid A, Pollak P (2003) Acute psychotropic effects of bilateral subthalamic nucleus stimulation and levodopa in Parkinson's disease. *Movement Disorders* 18: 524–530
- Gerlach, M., Riederer, P., Youdim, M B. (1996) Molecular mechanisms for neurodegeneration. Synergism between reactive oxygen species, calcium and excitotoxic amino acids. *Adv neurol* 69, 177-194.
- Goldberg JA, Boraud T, Maraton S, Haber SN, Vaadia E, Bergman H (2002) Enhanced synchrony among primary motor cortex neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine primate model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 22: 4639-4653
- Groenewegen H, Wright C, Beijer A, Voorn P (1999) Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. *Annals of the New York Academy of Sciences* 877: 49–63
- Gundersen H, Jensen E (1987) The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of Microscopy* 147: 229–263
- Haegelen C, Rouaud T, Darnault P, Morandi X. The subthalamic nucleus is a key-structure of limbic basal ganglia functions. *Med Hypotheses*. 2009 Apr;72(4):421-6. Epub 2009 Jan 20
- Hamani C, Saint-Cyr J, Fraser J, Kaplitt M, Lozano A (2004) The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain* 127: 4–20
- Hashimoto T, Elder C, Okun M, Patrick S, Vitek J (2003) Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *The Journal of Neuroscience* 23: 1916–1923
- Herzog J, Deuschl G. [Deep brain stimulation for Parkinson's disease]. *Der Nervenarzt*. Jun 2010;81(6):669-679

- Herzog J, Reiff J, Krack P, Witt K, Schrader B, Muller D, Deuschl G (2003) Manic episode with psychotic symptoms induced by subthalamic nucleus stimulation in a patient with Parkinson's disease. *Movement Disorders* 18: 1382–1384
- Hilker R, Benecke R, Deuschl G, et al. Tiefe Hirnstimulation bei idiopathischem Parkinson-Syndrom. *Nervenarzt* 2009; 80: 646-655
- Hilker R, Voges J, Weisenbach S, Kalbe E, Burghaus L, Ghaemi M, Lehrke R, Koulousakis A, Herholz K, Sturm V, Heiss W (2004) Subthalamic nucleus stimulation restores glucose metabolism in associative and limbic cortices and in cerebellum: evidence from a FDG-PET study in advanced Parkinson's disease. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 24: 7–16
- Homburger M, Funktionelle Charakterisierung hochfrequenter Oszillationen im Nucleus subthalamicus von Patienten mit Morbus Parkinson, 2014
- Holsheimer J, Demeulemeester H, Nuttin B, de S (2000) Identification of the target neuronal elements in electrical deep brain stimulation. *European Journal of Neuroscience* 12: 4573–4577
- Holtzheimer PE, Kelley ME, Gross RE, Filkowski MM, Garlow SJ, Barrocas A, Wint D, Craighead MC, Kozarsky J, Chismar R, Moreines JL, Mewes K, Posse PR, Gutman DA, Mayberg HS. Subcallosal Cingulate Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Unipolar and Bipolar Depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2012 Jan 2
- Hornykiewicz O (1998) Biochemical aspects of Parkinson's disease. *Neurology* 51: 2-9
- Hu WH, Bi YF, Zhang K, Meng FG, Zhang JG. High-frequency electrical stimulation in the nucleus accumbens of morphine-treated rats suppresses neuronal firing in reward-related brain regions. *Med Sci Monit*. 2011 Jun;17(6):BR153-60
- Ikemoto S, Kohl R, McBride W (1997) GABA(A) receptor blockade in the anterior ventral tegmental area increases extracellular levels of dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Journal of Neurochemistry* 69: 137–143
- Ito R, Dalley J, Howes S, Robbins T, Everitt B (2000) Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine seeking behavior in rats. *The Journal of Neuroscience* 20: 7489–7495
- Jankovic J; Parkinson's disease and movement disorders: moving forward; *Lancet Neurol*. 2008 Jan;7(1):9-11
- Jankovic J; Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Apr;79(4):368-76.

- Jensen O, Colgin LL. Cross-frequency coupling between neuronal oscillations. *Trends Cogn Sci* 2007; 11: 267-9.
- Karch S, Pogarell O. Neurobiology of obsessive-compulsive disorder. *Nervenarzt*. 2011 Mar;82(3):299-307
- Kempermann G, Kuhn H, Gage F (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386: 493–495
- Keuls M (1952). "The use of the "studentized range" in connection with an analysis of variance". *Euphytica* 1: 112–122.
- Khanna P, Carmena JM. Neural oscillations: beta band activity across motor networks. *Curr Opin Neurobiol*. 2014 Dec 17;32C:60-67.
- Kienzl, E., Puchinger, L., Jellinger, K. et al. (1995) The role of transition metals in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 134 Suppl, 69-78.
- Kleiner-Fisman G, Herzog J, Fisman DN, et al. Subthalamic nucleus deep brain stimulation: summary and meta-analysis of outcomes. *Mov Disord*. Jun 2006;21 Suppl 14:S290-304
- Klos, K.J., J.H. Bower, K.A. Josephs, J.Y. Matsumoto, and J.E. Ahlskog. 2005. Pathological hypersexuality predominantly linked to adjuvant dopamine agonist therapy in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Parkinsonism. Relat Disord*. 11:381-386
- Koo MS, Kim EJ, Roh D, Kim CH. Role of dopamine in the pathophysiology and treatment of obsessivecompulsive disorder. *Expert Rev Neurother*. 2010 Feb;10(2):275-90
- Krack P, Kumar R, Ardouin C, Dowsey P, McVicker J, Benabid A, Pollak P (2001) Mirthful laughter induced by subthalamic nucleus stimulation. *Movement Disorders* 16: 867–875
- Kühn AA, Williams D, Kupsch A, Limousin P, Hariz M, Schneider GH, et al. Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance. *Brain* 2004; 127: 735-46.
- Kuhn J, Gründler TO, Lenartz D, Sturm V, Klosterkötter J, Huff W. Deep brain stimulation for psychiatric disorders. *Dtsch Arztebl Int*. 2010 Feb;107(7):105-13
- Kühn AA, Kempf F, Brücke C, Gaynor Doyle L, Martinez-Torres I, Pogosyan A, Trottenberg T, Kupsch A, Schneider GH, Hariz MI, Vandenberghe W, Nuttin B, Brown P. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses oscillatory beta activity in patients with Parkinson's disease in parallel with improvement in motor performance. *J Neurosci*. 2008 Jun 11;28(24):6165-73)
- Kühn AA, Williams D, Kupsch A, Limousin P, Hariz M, Schneider G-H, Yarrow K, Brown P. Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance. *Brain*. 2004;127:735–746

-
- Kühn AA, Tsui A, Aziz T, Ray N, Brucke C, Kupsch A, et al. Pathological synchronisation in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease relates to both bradykinesia and rigidity. *Exp Neurol* 2009; 215: 380-7
- Kumar R, Lozano A, Kim Y, Hutchison W, Sime E, Halket E, Lang A (1998) Double-blind evaluation of subthalamic nucleus deep brain stimulation in advanced Parkinson's disease. *Neurology* 51: 850–855
- Kupsch A, Benecke R, Müller J, Trottenberg T, Schneider GH, Poewe W, Eisner W, Wolters A, Müller JU, Deuschl G, Pinski MO, Skogseid IM, Roeste GK, Vollmer-Haase J, Brentrup A, Krause M, Tronnier V, Schnitzler A, Voges J, Nikkhah G, Vesper J, Naumann M, Volkmann J; Deep-Brain Stimulation for Dystonia Study Group. Pallidal deep-brain stimulation in primary generalized or segmental dystonia. *N Engl J Med*. 2006 Nov 9;355(19):1978-90
- Lacombe E, Carcenac C, Boulet S, Feuerstein C, Bertrand A, Poupard A, Savasta M. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus prolongs the increase in striatal dopamine induced by acute 1-3,4-dihydroxyphenylalanine in dopaminergic denervated rats. *Eur J Neurosci*. 2007 Sep;26(6):1670-80
- Lang A, Lozano A (1998) Parkinson's disease. First of two parts. *The New England Journal of Medicine* 339: 1044-1053
- Lee KH, Kristic K, van Hoff R, Hitti FL, Blaha C, Harris B, Roberts DW, Leiter JC (2007) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus increases glutamate in the subthalamic nucleus of rats as demonstrated by in vivo enzyme-linked glutamate sensor. *Brain Res*. 1162: 121-129
- Lee K, Blaha C, Harris B, Cooper S, Hitti F, Leiter J, Roberts D, Kim U (2006) Dopamine efflux in the rat striatum evoked by electrical stimulation of the subthalamic nucleus: potential mechanism of action in Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience* 23: 1005–1014
- Lee K, Chang S, Roberts D, Kim U (2004) Neurotransmitter release from high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *Journal of Neurosurgery* 101: 511–517
- Leentjens AF. The role of dopamine agonists in the treatment of depression in patients with Parkinson's disease: a systematic review. *Drugs*. 2011 Feb 12;71(3):273-86
- Lerner A, Bagic A.; Olfactory pathogenesis of idiopathic Parkinson Disease revisited; *Mov Disord*. 2008; April 28;23(8):1076-84

- Levy R, Lang A, Dostrovsky J, Pahapill P, Romas J, Saint-Cyr J, Hutchison W, Lozano A (2001) Lidocaine and muscimol microinjections in subthalamic nucleus reverse Parkinsonian symptoms. *Brain* 124: 2105–2118
- Levy R, Ashby P, Hutchison WD, Lang AE, Lozano AM, Dostrovsky JO. Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease. *Brain* 2002; 125: 1196–1209
- Levy R, Hutchison WD, Lozano AM, Dostrovsky JO. High-frequency synchronization of neuronal activity in the subthalamic nucleus of parkinsonian patients with limb tremor. *J Neurosci* 2000; 20: 7766-75
- Lex A, Modulation des Klassisch-Instrumentellen Transfers durch die Neurotransmitter Dopamin und Glutamat, Von der Fakultät der Energie-, Verfahrens- und Biotechnik der Universität Stuttgart genehmigte Abhandlung zur Erlangung der Würde des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) Anja Lex; Kapitel 5.3.1
- Limousin P, Greene J, Pollak P, Rothwell J, Benabid A, Frackowiak R (1997) Changes in cerebral activity pattern due to subthalamic nucleus or internal pallidum stimulation in Parkinson's disease. *Annals of Neurology* 42: 283–291
- Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D, Benabid A (1998) Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine* 339: 1105–1111
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Le Bas J, Broussolle E, Perret J, Benabid A (1995) Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *The Lancet* 345: 91–95
- Lindvall O, Bjorklund A (1974) The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum* 412: 1–48
- Lopez-Azcarate J, Tainta M, Rodriguez-Oroz MC, Valencia M, Gonzalez R, Guridi J, et al. Coupling between beta and high-frequency activity in the human subthalamic nucleus may be a pathophysiological mechanism in Parkinson's disease. *J Neurosci* 2010; 30: 6667-77
- Mallet L, Mesnage V, Houeto J, Pelissolo A, Yelnik J, Behar C, Gargiulo M, Welter M, Bonnet A, Pillon B, Cornu P, Dormont D, Pidoux B, Allilaire J, Agid Y (2002) Compulsions, Parkinson's disease, and stimulation. *The Lancet* 360: 1302–1304
- Mallet L, Schupbach M, N'Diaye K, Remy P, Bardin E, Czernecki V, Welter M, Pelissolo A, Ruberg M, Agid Y, Yelnik J (2007) Stimulation of subterritories of the subthalamic

- nucleus reveals its role in the integration of the emotional and motor aspects of behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 10661–10666
- Mandat T, Hurwitz T, Honey C (2006) Hypomania as an adverse effect of subthalamic nucleus stimulation: report of two cases. *Acta Neurochirurgica (Wien)* 148: 895–897
- Mantovani M, Moser A, Haas CA, Zentner J, Feuerstein TJ (2009) GABAA autoreceptors enhance GABA release from human neocortex: towards a mechanism for high-frequency stimulation (HFS) in brain? *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.* 380:45–58
- Martsch W, *Zentrale Netzwerkveränderungen im Frühstadium von Morbus Parkinson*, Heinric Heine Universität, Düsseldorf
- Maurice N, Thierry A, Glowinski J, Deniau J (2003) Spontaneous and evoked activity of substantia nigra pars reticulata neurons during high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *The Journal of Neuroscience* 23: 9929–9936
- McIntyre C, Mori S, Sherman D, Thakor N, Vitek J (2004a) Electric field and stimulating influence generated by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus. *Clinical Neurophysiology* 115: 589–595
- McIntyre C, Savasta M, Walter B, Vitek J (2004b) How does deep brain stimulation work? Present understanding and future questions. *Journal of Clinical Neurophysiology* 21: 40–50
- Meissner W, Harnack D, Reese R, Paul G, Reum T, Ansorge M, Kusserow H, Winter C, Morgenstern R, Kupsch A (2003) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus enhances striatal dopamine release and metabolism in rats. *Journal of Neurochemistry* 85: 601–609
- Meissner W, Leblois A, Hansel D, Bioulac B, Gross C, Benazzouz A, Boraud T (2005) Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain* 128: 2372–2382
- Meissner W, Reum T, Paul G, Harnack D, Sohr R, Morgenstern R, Kupsch A (2001) Striatal dopaminergic metabolism is increased by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Neuroscience Letters* 303: 165–168
- Moghal S, Rajput A, D'Arcy C, Rajput R (1994) Prevalence of movement disorders in elderly community residents. *Neuroepidemiology* 13: 175-178
- Molochnikov I, Cohen D. Hemispheric differences in the mesostriatal dopaminergic system. *Front Syst Neurosci.* 2014 Jun 11;8:110

- Moser A, Gieselberg A, Ro B, Keller C, Qadri F (2003) Deep brain stimulation: response to neuronal high frequency stimulation is mediated through GABAA receptor activation in rats. *Neurosci. Lett.* 341(1):57-60
- Moro E, Esselink R, Xie J, Hommel M, Benabid A, P P (2002) The impact on Parkinson's disease of electrical parameter settings in STN stimulation. *Neurology* 59: 706–713
- Nagatsu T, Mogi M, Ichinose H, Togari A (2000). Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* (60), 277-90
- Nestler, E.J., and R.C. Malenka. 2004a. The addicted brain. *Sci. Am.* 290:78-85
- Nowak L, Bullier J (1998a) Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. I. Evidence from chronaxie measurements. *Experimental Brain Research* 118: 477–488
- Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Benitez-Temino B, Blesa FJ, Guridi J, Marin C, Rodriguez M (2008) Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord* 23 (3):548-59
- Okun M S, Fernandez HH, Wu SS, et al. Cognition and Mood in Parkinson's Disease in Subthalamic Nucleus versus Globus pallidus Interna Deep Brain Stimulation: The COMPARE Trial. *Ann Neurol* 2009; 65: 586-595.
- Okun M, Green J, Saben R, Gross R, Foote K, Vitek J (2003) Mood changes with deep brain stimulation of STN and GPI: results of a pilot study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 74: 1584–1586
- Oueslati A, Sgambato-Faure V, Melon C, Kachidian P, Gubellini P, Amri M, Kerkerian-Le Goff L, Salin P. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus potentiates L-DOPA-induced neurochemical changes in the striatum in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2007 Feb 28;27(9):2377-86
- Paul G, Reum T, Meissner W, Marburger A, Sohr R, Morgenstern R, Kupsch A (2000) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus influences striatal dopaminergic metabolism in the naive rat. *NeuroReport* 11: 441–444
- Paxinos G, Watson C (1997) The rat brain. In. Academic, London
- Payoux P, Remy P, Damier P, Miloudi M, Loubinoux I, Pidoux B, Gaura V, Rascol O, Samson Y, Agid Y (2004) Subthalamic nucleus stimulation reduces abnormal motor cortical overactivity in Parkinson disease. *Archives of Neurology* 61: 1307–1313
- Pollok B, Gross J, Dirks M, Timmermann L, Schnitzler A. The cerebral oscillatory network of voluntary tremor. *J Physiol* 2004; 554: 871-8.

- Priori A, Foffani G, Pesenti A, Bianchi A, Chiesa V, Baselli G, et al. Movement-related modulation of neural activity in human basal ganglia and its L-DOPA dependency: recordings from deep brain stimulation electrodes in patients with Parkinson's disease. *NeuroSci* 2002; 23 Suppl 2: S101-2.
- Priori A, Foffani G, Pesenti A, Tamma F, Bianchi AM, Pellegrini M, et al. Rhythm-specific pharmacological modulation of subthalamic activity in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2004; 189: 369-79.
- Ranck JJ (1975) Which elements are excited in electrical stimulation of mammalian central nervous system: a review. *Brain Research* 98: 417-440
- Raz A, Vaadia E, Bergman H. Firing patterns and correlations of spontaneous discharge of pallidal neurons in the normal and the tremulous 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine vervet model of parkinsonism. *J Neurosci* 2000; 20: 8559-71.
- Rivlin-Etzion M, Marmor O, Heimer G, Raz A, Nini A, Bergman H (2006) Basal ganglia oscillations and pathophysiology of movement disorders. *Curr Opin Neurobiol* 16:629-637
- Romito L, Raja M, Daniele A, Contarino M, Bentivoglio A, Barbier A, Scerrati M, Albanese A (2002) Transient mania with hypersexuality after surgery for high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Movement Disorders* 17: 1371-1374
- Raskin S, Durst R. Bupropion as the treatment of choice in depression associated with Parkinson's disease and its various treatments. *Med Hypotheses*. 2010 Dec;75(6):544-6. Epub 2010 Aug 12
- Ruskin DN, Bergstrom DA, Tierney PL, Walters JR (2003) Correlated multisecond oscillations in firing rate in the basal ganglia: modulation by dopamine and the subthalamic nucleus. *Neuroscience* 117: 427-438
- Salin P, Manrique C, Forni C, Kerkerian-Le G (2002) High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus selectively reverses dopamine denervation-induced cellular defects in the output structures of the basal ganglia in the rat. *The Journal of Neuroscience* 22: 5137-5148
- Shababi-Klein J, Darstellung pathophysiologisch und therapeutisch relevanter Hirnareale psychiatrischer Erkrankungen -eine invasiv tierexperimentelle Studie, 2013, Charite, Berlin
- Silberstein P, Kühn AA, Kupsch A, Trottenberg T, Krauss JK, Wohrle JC, et al. Patterning of globus pallidus local field potentials differs between Parkinson's disease and dystonia. *Brain* 2003; 126: 2597-608.

- Stefani A, Fedele E, Galati S, Pepicelli O, Frasca S, Pierantozzi M, Peppe A, Brusa L, Orlacchio A, Hainsworth A, Gattoni G, Stanzione P, Bernardi G, Raiteri M, Mazzone P (2005) Subthalamic stimulation activates internal pallidus: evidence from cGMP microdialysis in PD patients. *Annals of Neurology* 57: 448–452
- Stefani A, Fedele E, Galati S, Raiteri S, Pepicelli O, Brusa L, Pierantozzi M, Peppe A, Pisani A, Gattoni G, Hainsworth AH, Bernardi G, Stanzione P, Mazzone P: Deep brain stimulation in Parkinson's disease patients: biochemical evidence. *J Neural Transm Suppl* 2006; 70: 401-408
- Stefurak T, Mikulis D, Mayberg H, Lang A, Hevenor S, Pahapill P, Saint-Cyr J, Lozano A (2003) Deep brain stimulation for Parkinson's disease dissociates mood and motor circuits: a functional MRI case study. *Movement Disorders* 18: 1508–1516
- Steigerwald, F., et al., Neuronal activity of the human subthalamic nucleus in the parkinsonian and nonparkinsonian state. *J Neurophysiol*, 2008. 100(5): p. 2515-24
- Stein DJ. Depression, anhedonia, and psychomotor symptoms: the role of dopaminergic neurocircuitry. *CNS Spectr*. 2008 Jul;13(7):561-5
- Stein E, Bar-Gad I. β oscillations in the cortico-basal ganglia loop during parkinsonism. *Exp Neurol*. 2013 Jul;245:52-9
- Steiner B, Kronenberg G, Jessberger S, Brandt M, Reuter K, Kempermann G (2004) Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia* 46: 41–52
- Steiner B, Winter C, Hosman K, Siebert E, Kempermann G, Petrus D, Kupsch A (2006) Enriched environment induces cellular plasticity in the adult substantia nigra and improves motor behavior function in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 199: 291–300
- Strutt A M, Simpson J, Jankovic J et al. Changes in cognitive-emotional and physiological symptoms of depression following STN-DBS for the treatment of Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2012; 19: 1525-1531.
- Tai C, Boraud T, Bezard E, Bioulac B, Gross C, Benazzouz A (2003) Electrophysiological and metabolic evidence that high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus bridles neuronal activity in the subthalamic nucleus and the substantia nigra reticulata. *The FASEB Journal* 17: 1820–1830
- Temel Y, Boothman LJ, Blokland A, Magill PJ, Steinbusch HW, Visser-Vandewalle V, Sharp T. Inhibition of 5-HT neuron activity and induction of depressive-like behavior by high-

- frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Oct 23;104(43):17087-92
- Temel Y, Boothman LJ, Blokland A, Magill PJ, Steinbusch HWM, VisserVandewalle V, Sharp T (2007) Inhibition of 5-HT neuron activity and induction of depressive-like behavior by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *PNAS* 104: 17087–17092
- Temel Y, Kessels A, Tan S, Topdag A, Boon P, Visser-Vandewalle V (2006) Behavioural changes after bilateral subthalamic stimulation in advanced Parkinson disease: a systematic review. *Parkinsonism & Related Disorders* 12: 265–272
- Thobois S, Mertens P, Guenot M, Hermier M, Mollion H, Bouvard M, Chazot G, Broussolle E, Sindou M (2002) Subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: clinical evaluation of 18 patients. *Journal of Neurology* 249: 529–534
- Thobois S et al: Non-motor dopamine withdrawal syndrome after surgery for Parkinson's disease: predictors and underlying mesolimbic denervation. *Brain* 2010; 133: 1111-1127
- Thomsen PH. Risperidone augmentation in the treatment of severe adolescent OCD in SSRI-refractory cases: a case-series. *Ann Clin Psychiatry*. 2004 Oct-Dec;16(4):201-7
- Timmermann L, Gross J, Dirks M, Volkmann J, Freund HJ, Schnitzler A. The cerebral oscillatory network of parkinsonian resting tremor. *Brain* 2003; 126: 199-212.
- Trillet M, Vighetto A, Croisile B, Charles N, Aimard G (1995) Hemiballismus with logorrhea and thymo-aVective disinhibition caused by hematoma of the left subthalamic nucleus. *Revista de Neurología (Paris)* 151: 416–419
- Trost M, Su S, Su P, Yen R, Tseng H, Barnes A, Ma Y, Eidelberg D (2006) Network modulation by the subthalamic nucleus in the treatment of Parkinson's disease. *Neuroimage* 31: 301–307
- Ulla et al: Manic behaviour induced by deep-brain stimulation in Parkinson's disease: evidence of substantia nigra implication?, in: *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2006; 77: S. 1363-1366
- Vetrugno ,R., M. Manconi, L. Ferini-Strambi, F. Provini, G. Plazzi, and P. Montagna. 2006. Nocturnal eating: sleep-related eating disorder or night eating syndrome? A videopolysomnographic study. *Sleep* 29:949-954
- Vila, M., Perier, C., Feger, J., Yelnik, J., Faucheux, B., Ruberg, M., Raisman- Vozari, R., Agid, Y., Hirsch, E.C., 2000. Evolution of changes in neuronal activity in the subthalamic nucleus of rats with unilateral lesion of the sub- stantia nigra assessed by metabolic and electrophysiological measurements. *Eur J Neurosci* 12, 337–344.

- Voon V et al: A multicentre study on suicide outcomes following subthalamic stimulation for Parkinson's disease. *Brain* 2008; 131: 2720-2728).
- Voon, V., K. Hassan, M. Zurowski, S. Duff-Canning, M.de Souza, S.Fox, A.E.Lang, and J. Miyasaki. 2006. Prospective prevalence of pathologic gambling and medication association in Parkinson disease. *Neurology* 66:1750-1752
- Weinberger M, Mahant N, Hutchison WD, Lozano AM, Moro E, Hodaie M, et al. Beta oscillatory activity in the subthalamic nucleus and its relation to dopaminergic response in Parkinson's disease. *J Neurophysiol* 2006; 96: 3248-56.
- Welter M, Houeto J, Bonnet A, Bejjani P, Mesnage V, Dormont D, Navarro S, Cornu P, Agid Y, Pidoux B (2004) Effects of highfrequency stimulation on subthalamic neuronal activity in parkinsonian patients. *Archives of Neurology* 61: 89–96
- Westerink B, Kwint H, deVries J (1996) The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain. *The Journal of Neuroscience* 16: 2605–2611
- Wichmann T, Bergman H, DeLong M (1994) The primate subthalamic nucleus. III. Changes in motor behavior and neuronal activity in the internal pallidum induced by subthalamic inactivation in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of Neurophysiology* 72: 521–530
- Williams D, Tijssen M, Van Bruggen G, Bosch A, Insola A, Di Lazzaro V, et al. Dopamine-dependent changes in the functional connectivity between basal ganglia and cerebral cortex in humans. *Brain* 2002; 125: 1558-69.
- Windels F, Bruet N, Poupard A, Feuerstein C, Bertrand A, Savasta M (2003) Influence of the frequency parameter on extracellular glutamate and gamma-aminobutyric acid in substantia nigra and globus pallidus during electrical stimulation of subthalamic nucleus in rats. *Journal of Neuroscience Research* 72: 259–267
- Windels F, Bruet N, Poupard A, Urbain N, Chouvet G, Feuerstein C, Savasta M (2000) Effects of high frequency stimulation of subthalamic nucleus on extracellular glutamate and GABA in substantia nigra and globus pallidus in the normal rat. *European Journal of Neuroscience* 12: 4141–4146
- Winter C, Hosmann K, Harnack D, Meissner W, Paul G, Morgenstern R, Kupsch A (2006) Subthalamic nucleus lesioning inhibits expression and phosphorylation of c-Jun in nigral neurons in the rat's 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Synapse* 60: 69–80
- Winter C, J S, Burger E, Eickmeier C, Zimmermann M, Herdegen T (2000) The immunophilin ligand FK506, but not GPI-1046, protects against neuronal death and inhibits c-Jun

- expression in the substantia nigra pars compacta following transection of the rat medial forebrain bundle. *Neuroscience* 95: 753–762
- Winter C, Lemke C, Sohr R, Meissner W, Harnack D, Juckel G, Morgenstern R, Kupsch A (2008) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus modulates neurotransmission in limbic brain regions of the rat. *Experimental Brain Research* 185: 497–507
- Winter C, Harnack D, Kupsch A. Deep brain stimulation for neurological and psychiatric diseases: animal experiments on effect and mechanisms. *Nervenarzt*. 2010 Jun;81(6):711-8
- Witjas T, Baunez C, Henry J, Delfini M, Regis J, Cherif A, Peragut J, Azulay J (2005) Addiction in Parkinson's disease: impact of subthalamic nucleus deep brain stimulation. *Movement Disorders* 20: 1052–1055
- Witt K, Daniels C, Herzog J, Lorenz D, Volkmann J, Reiff J, Mehdorn M, Deuschl G, Krack P (2006) Differential effects of L-dopa and subthalamic stimulation on depressive symptoms and hedonic tone in Parkinson's disease. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 18: 397–401
- Woerd ES, Oostenveld R, de Lange FP, Praamstra P. A shift from prospective to reactive modulation of beta-band oscillations in Parkinson's disease. *Neuroimage*. 2014 Oct 15;100:507-19
- Woods S, Fields J, Troster A (2002) Neuropsychological sequelae of subthalamic nucleus deep brain stimulation in Parkinson's disease: a critical review. *Neuropsychology Review* 12: 111–126

7. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

- Abb. 1: Funktionelle Basalganglien-Anatomie modifiziert nach Alexander und Crutcher (1990) unter normalen Bedingungen. Dargestellt ist der doppelte Regelkreis zwischen der Eingangsstruktur Striatum und der Ausgangsstruktur Globuspallidus internus (Gpi) bestehend aus dem „direkten Weg“: Striatum_GPi und dem „indirekten Weg“: Striatum_Globuspallidus externus (GPe)_Nucleus subthalamicus (STN)_GPi unter Berücksichtigung der Neurotransmitter. Das Dopamin aus der Substantia nigra pars compacta (SNc) wirkt über D1- und D2-Rezeptoren modulierend auf beide Wege.
- Abb. 2: Funktionelle Basalganglien-Anatomie modifiziert nach Alexander und Crutcher (1990) unter Parkinson-Bedingungen. Der striatale Verlust von Dopamin führt zu einer Verlagerung der Impulsgabe über den „indirekten Weg“: die vermehrte Inhibition des GPe führt zur Überaktivität des STN, der seinerseits den inhibitorischen Output des GPi zum Thalamus verstärkt. Die Folge ist eine reduzierte Aktivierung des Cortex.
- Abb. 3: Mikrodialysesonde (Abbildung der Firma CMA/Microdialysis AB, Solna, Schweden)
- Abb. 4: Post-mortem-Histologie. A Repräsentative Mikroaufnahme der Spitze der Elektrode in Bezug zum Bregma in der koronaren Sektion nach Cresyl-Violett-Färbung (Verdichtung: kleines Insertionstrauma). B–G Schematische Rekonstruktion der Lage der Elektroden im STN von Versuchstieren des folgenden Experimentdesigns: B HFS, Mikrodialyse im NAc-core, C HFS, Mikrodialyse in NAc-shell, D HFS, Mikrodialyse im VTA, E HFS, Mikrodialyse in NAc-core-/vor Läsion des VTA, F: HFS, Mikrodialyse in NAc-core und -shell vor Läsion der SNc, G: HFS, Mikrodialyse im VTA, ohne vorherige Läsion.
- Abb. 5: Extrazelluläre Konzentration von Dopamin des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.
- Abb. 6: Extrazelluläre Konzentration von DOPAC des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.
- Abb. 7: Extrazelluläre Konzentration von HVA des NAc Core vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p <$

0,05 versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.

- Abb. 8: Extrazelluläre Konzentration von Dopamin des NAc Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.
- Abb. 9: Extrazelluläre Konzentration von DOPAC des NAc Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.
- Abb. 10: Extrazelluläre Konzentration von HVA des NAc Shell vor, während und nach HFS sowie Kontrolluntersuchungen. Die Werte sind als Mittelwerte und Standardfehler aufgetragen. Der Stern (*) bzw. der Paragraph (§) markieren die signifikante Differenz gegenüber den Basiswerten bzw. den Kontrollen. § $p < 0,05$ versus Baseline, * $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe (post hoc Student-Newman-Keuls). Die HFS Stimulation erfolgte zwischen 0 und 20 Minuten. Sammelzeit und Probe waren methodisch bedingt 10 Minuten voneinander getrennt.
- Abb. 11: Neurotransmission im ventralen tegmental Areal. Extrazelluläres GABA im VTA vor, während und nach STN-HFS. Baseline-Konzentrationen des VTA: $4,35 \pm 0,38$ pmol GABA/ μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben; $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der HFS, ausgefüllter Kreis: HFS des STN, umrandeter Kreis: Kontrollgruppe. §: $p < 0,05$ versus Basislinie, *: $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe.
- Abb. 12: Histologische Verifikation der Läsionsstelle: Mikroaufnahmen der Cresyl-Violett-gefärbten SNc (A + C) und VTA (B + D). A + B: Exemplarische Mikroaufnahme einer Ratte mit selektiver Läsion der SNc (A) mit intakter linker VTA (B). B + D: Exemplarische Mikroaufnahmen einer Ratte mit selektiver Läsion in der VTA (D) mit intaktem linken SNc (C). Die Pfeile markieren die Grenzen der intakten (ausgefüllte Pfeile) und lädierten (umrandete Pfeile) neuronalen Bereiche. Maßstabsbalken entspricht 100 μ m.

Abb. 13: Neurotransmission im NAc von Ratten, die im SNC prälädiert wurden: Extrazelluläres DOPAC (A) und HVA (B) des NAc vor, während und nach STN-HFS der Kontrollgruppe und bei SNC-lädierten Ratten. Basiswert-Konzentrationen der nichtlädierten Kontrollgruppe: $21,58 \pm 1,82$ pmol DOPAC/ μ l und $11,17 \pm 0,48$ pmol HVA/ μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm SEM angegeben. §: Signifikanter Unterschied im Vergleich zur Baseline ($p < 0,05$). *: Signifikanter Unterschied zwischen lädierten Tieren und Kontrollgruppe der TH-stimulierten Ratten ($p < 0,05$). Der Totraum in den Mikroanalyse-Röhrchen verursachte eine Zeitverzögerung von 10 Min. vor der Analyse. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der STN-HFS, ausgefüllter Kreis: SNC-Läsion, umrandeter Diamant: Kontrollgruppe. Die Tabelle unterhalb der Abbildung stellt die Zwei-Wege-Varianzanalyse zur Bestimmung des Effekts der Substantia-nigra-Pars-compacta-Läsion und der Zeit auf die hochfrequenzabhängige Transmission von Dopamin-Metaboliten des subthalamischen Nucleus im NAc dar.

Abb. 14, 15, 16: Neurotransmission im Nucleus accumbens core und shell. Extrazelluläres Dopamin (DA; Abb. 14), 3,4-dihydroxyphenyl-acetic acid (DOPAC; Abb. 15) und Homovanillinsäure (HVA; Abb. 16) vor, während und nach niedrig frequenter Stimulation (5 Hz) des STN. Baseline-Konzentrationen im NAc core und shell simultan: 15.2 ± 0.6 fmol DA/20 μ l, 17.2 ± 0.6 pmol DOPAC/20 μ l, and 10.6 ± 0.02 pmol HVA/20 μ l. Die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben; $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe. Ausgefülltes Rechteck: Dauer der HFS, ausgefüllter Kreis: HFS des STN, umrandeter Kreis: Kontrollgruppe. §: $p < 0,05$ versus Basislinie, *: $p < 0,05$ versus nicht stimulierte Kontrollgruppe.

8. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Andreas Kupsch, Frau Prof. Dr. Christine Winter, Herrn Prof. Dr. Rudolf Morgenstern, Herrn Dr. Reinhard Sohr, Herrn Dr. Daniel Harnack, Frau Dr. Julia Shababi-Klein, Frau Renate Winter.

Außerdem meiner Freundin Franziska Ossadnik für ihre unermüdliche Unterstützung, meinen Eltern Wilfried Lemke und Eva-Maria Lemke-Schulte, meinen Stiefeltern Günther Schulte und Heide Lemke, meinen Geschwistern Tim, Lars und Nele sowie meiner Tochter Lore.

Und abschließend Johan Micoud für die Inspiration.

9. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Christoph Lemke, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss der Hochfrequenzstimulation des Nucleus subthalamicus auf die dopaminerge Transmission im Nucleus accumbens core und shell“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

10. Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Christoph Lemke hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: Winter C, Lemke C, Sohr R, Meissner W, Harnack D, Juckel G, Morgenstern R, Kupsch A, High frequency stimulation of the subthalamic nucleus modulates neurotransmission in limbic brain regions of the rat, Experimental Brain Research, 2008

Beitrag im Einzelnen:

Aufbau des Messplatzes, Durchführung der Experimente, Herstellen der genutzten Chemikalien, Perfusion der Versuchstiere, Präparation der Hirnschnitte, Wartung der HPLC, Beteiligung an der Durchführung der immunhistochemischen Untersuchungen, Mitarbeit an der Erstellung der Publikation.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

10. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.