

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

DISSERTATION

Der Einfluss dopaminerger Medikation
auf Beta- und Gamma-Oszillationen
im 6-OHDA Modell des Idiopathischen Parkinson-Syndroms

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Johanna Kühn

aus Gengenbach

Datum der Promotion:
13.12.2019

Inhaltsverzeichnis

1. Abstrakt	4
<i>Abstract</i>	<i>6</i>
2. Manteltext.....	7
2.1 <i>Forschungsstand</i>	<i>7</i>
2.2 <i>Methodik.....</i>	<i>13</i>
2.2.1 Materialien, Versuchstiere und Tiergruppen	13
2.2.2 Versuchsgruppen und -ablauf.....	13
2.2.3 Motortestung.....	14
2.2.4 Unilaterale 6-OHDA Läsion.....	14
2.2.5 Implantation der Elektroden und elektrophysiologische Ableitungen.....	15
2.2.6 Histologie und Immunhistochemie.....	17
2.2.7 Datenanalyse und Statistik.....	18
2.3 <i>Ergebnisse</i>	<i>20</i>
2.3.1 Einschlusskriterien.....	20
2.3.2 Levodopa führt zu einer stärkeren Reduktion der Beta-Aktivität als Apomorphin in 6-OH Tieren.....	21
2.3.3 Levodopa führt zu einer stärkeren Zunahme der Gamma-Aktivität in beiden Gruppen	22
2.3.4 Die Effekte von LD und APO auf Beta- und Gamma-Oszillationen unterscheiden sich qualitativ und quantitativ	22
2.3.5 Die Peak Maxima werden durch LD und APO unterschiedlich beeinflusst.....	23
2.4 <i>Diskussion, klinische Anwendung und weiterführende Fragestellungen.....</i>	<i>24</i>
3. Literaturverzeichnis	27
4. Eidesstattliche Versicherung	32
5. Anteilserklärung an der erfolgten Publikation	33
6. Auszug aus der Journal Summary List.....	34
7. Druckexemplar der ausgewählten Publikation	36
8. Lebenslauf	48
9. Vollständige Publikationsliste	49
10. Danksagung.....	50

Abkürzungsverzeichnis

6-OHDA	6-Hydroxydopamin	LID	Levodopa-induzierte Dyskinesien
6-OH APO	Gruppe 6-OHDA Läsion, Apomorphin	M1	Primärer Motorkortex
6-OH LD	Gruppe 6-OHDA Läsion, Levodopa	MED 1-3	Medikamentenkonditionen 1-3 (LD: 6/12/24 mg/kg) (APO: 0,05/0,1/0,2 mg/kg)
Abb.	Abbildung	MF	maximum frequency (Spitzenfrequenz)
aMF	Average maximum frequency (durchschnittliche Spitzenfrequenz)	MFB	medial forebrain bundle (Fasciculus longitudinalis medialis)
AP	anterior-posterior	ML	medio-lateral
APO	Apomorphin	MUA	Multi-unit activity (Multi-Einheit Aktivität)
AS	Activated state (aktivierter Zustand)	NFFT	Non-equispaced Fast Fourier Transformation (nicht-gleichverteilte schnelle Fourier Transformation)
BL	Baseline	PBS	Phosphate buffered saline (Phosphat gepufferte Natriumchlorid-Lösung)
BG	Basalganglien	PD	Parkinson's disease (IPS)
DBS	Deep Brain Stimulation (Tiefenhirnstimulation)	PFA	Paraformaldehyd
DV	Dorso-ventral	REM	Rapid eye movement (schnelle Augenbewegungen)
ECoG	Elektrokortikogramm	s.c.	subkutan
EEG	Elektroenzephalogramm	SNc	Substantia nigra pars compacta
ERD	Event-related-desynchronization (Ereignis-bezogene Desynchronisation)	SNr	Substantia nigra pars reticulata
ERS	Event-related-synchronization (Ereignis-bezogene Synchronisation)	STN	Subthalamic nucleus (Nucleus subthalamicus)
F	F-Teststatistik	SWA	Slow wave activity (Aktivität langsamer Schwingung)
FTG	finely-tuned-gamma (schmal definierter Gammabereich)	T	T-Teststatistik
GPI	Globus pallidus internus	TH	Tyrosin-Hydroxylase
Hz	Hertz	THS	Tiefenhirnstimulation
i.p.	Intraperitoneal	U	Mann-Whitney-U-Teststatistik
IPS	Idiopathisches Parkinson-Syndrom	vgl.	Vergleiche
KON APO	Gruppe Kontrolle, Apomorphin	vs.	Versus
KON LD	Gruppe Kontrolle, Levodopa	z	Prüfgröße der U-Teststatistik
LD	Levodopa		
LFP	Lokale Feldpotentiale		

1. Abstrakt

Einleitung: Das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) ist eine chronisch progrediente Erkrankung, die durch Degeneration dopaminerger Neurone in der Substantia nigra pars compacta gekennzeichnet ist. Der resultierende Dopamin-Mangel gilt als Ursache der motorischen Symptome der Erkrankung. Therapeutisch kommen unter anderem das Dopamin-Vorläufermolekül Levodopa und Dopamin-Agonisten zum Einsatz, wobei Levodopa eine bessere klinische Wirksamkeit bei gleichzeitig höherer Rate motorischer Nebenwirkungen zeigt. Zunehmend findet auch die elektrische Tiefenhirnstimulation des Nucleus subthalamicus (STN) Anwendung. Die hierfür implantierten Elektroden ermöglichen gleichzeitig die Ableitung elektrophysiologischer Signale und damit eine Erforschung krankheitstypischer Veränderungen. Analog zu tierexperimentellen Daten mehren sich die Nachweise abnorm gesteigerter Oszillationen im Beta-Frequenzbereich (13 - 30 Hz) in der Motorkortex-Basalganglien-Schleife, die als ursächlich für Rigor und Akinesie diskutiert werden. Daneben werden unter Therapie vermehrt Oszillationen im Gamma-Band (35 - 100 Hz) beobachtet, die möglicherweise den therapeutischen Effekt mit vermitteln, aber auch an der Entstehung von Dyskinesien beteiligt sein könnten.

Ziel dieser Arbeit war es, den Effekt von Levodopa mit dem des Dopamin-Agonisten Apomorphin auf Oszillationen in diesen beiden Frequenzbändern zu vergleichen. Dabei sollten einerseits elektrophysiologische Korrelate der klinischen Wirksamkeit und des Nebenwirkungsprofils gefunden und andererseits die funktionelle Bedeutung von Beta- und Gamma-Oszillationen weiter untersucht werden.

Methodik: Hierfür wurde das unilaterale 6-Hydroxydopamin Modell des IPS der Ratte genutzt und mit Dopamin-intakten Kontrollen verglichen. Es wurden elektrophysiologische in-vivo Ableitungen simultan im primären Motorkortex (M1), dem STN und der Substantia nigra pars reticulata (SNr) durchgeführt, zunächst ohne medikamentöse Beeinflussung gefolgt von Messungen unter steigenden Dosen dopaminerger Medikation.

Ergebnisse: Die vorliegende Arbeit zeigt, dass Levodopa das Oszillationsmuster im kortiko-subkortikalen Netzwerk stärker beeinflusst als Apomorphin. Beta-Oszillationen werden in allen drei untersuchten Strukturen durch Levodopa supprimiert, während sich unter Apomorphin nur für den STN ein signifikanter und dabei schwächerer Effekt findet. In den Basalganglien und vor allem im M1 Dopamin-depletierter Tiere ist der Anstieg von Gamma-Oszillationen unter Levodopa deutlich ausgeprägter als unter Einfluss von Apomorphin.

In Dopamin-intakten Kontrollen wurde keine signifikante Zunahme der Gamma-Synchronisation im M1 gefunden, während dies in den untersuchten Basalganglienkerneln der Fall war.

Fazit: Unsere Daten liefern ein elektrophysiologisches Korrelat und damit eine mögliche Erklärung für die bessere klinische Wirksamkeit sowie für einen Teil des Nebenwirkungsprofils von Levodopa gegenüber dem Dopamin-Agonisten Apomorphin. Die stärkere Suppression der Beta-Aktivität zusammen mit der Steigerung der Gamma-Aktivität könnte für den deutlicheren prokinetischen Effekt verantwortlich sein. Gleichzeitig könnte die übermäßige Zunahme von Gamma-Oszillationen im M1 die Entstehung von Dyskinesien bedingen.

Abstract

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a chronic progressive disease marked by a degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra. The resulting lack of dopamine leads to the motor symptoms of PD. The dopamine precursor levodopa and dopamine agonists are used as therapeutic agents, while levodopa displays a higher clinical efficacy together with more pronounced motoric side effects. Furthermore, Deep Brain Stimulation of the subthalamic nucleus (STN) provides an excellent option for symptom control alongside with the possibility to record electrophysiological activity and study PD typical modifications. Converging evidence suggests that abnormally enhanced oscillations in the beta frequency range in the cortico-basal ganglia circuit might lead to akinesia and rigidity in PD. Following dopaminergic therapy or DBS an increase of oscillations in the gamma range has been described, arguably promoting the therapeutic effect. However, exaggerated gamma activity has also been linked to dyskinesia.

This study aimed at comparing the efficiency of levodopa and apomorphine, a dopamine agonist, to modulate beta and gamma oscillations. The first target was to identify electrophysiological correlates of their clinical efficacy and profile of side effects. Secondly, we aimed to further clarify the functional role of beta and gamma oscillations in motor processing.

Methods: We used the unilateral 6-hydroxydopamine rodent model of PD, comparing it with dopamine-intact controls. Simultaneous electrophysiological recordings of the primary motor cortex (M1), the STN and the reticulate part of the substantia nigra (SNr) were performed, first under drug free baseline conditions, followed by increasing doses of dopaminergic medication.

Results: Our data indicate that levodopa has a higher potency to modulate oscillatory activity in the cortico-basal ganglia circuit loop. After levodopa administration beta oscillations are suppressed in all recorded structures. Apomorphine affects beta activity in the STN only, whilst

still to a lesser extent. In all examined targets but foremost in the M1 of dopamine-depleted animals the increase of gamma activity was more pronounced after levodopa. In dopamine-intact controls we found an enhancement of gamma oscillations after levodopa injection only in the basal ganglia but not in the M1.

Conclusion: These results provide an electrophysiological correlate and hence a possible explanation for the superior clinical efficacy of levodopa as well as for some of its side effects. Stronger suppression of beta activity together with a bigger increase of gamma synchronization might underlie the more pronounced prokinetic effect. However, exaggerated cortical gamma activity might be accountable for dyskinesia associated with levodopa treatment.

2. Manteltext

2.1 Forschungsstand

Das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) ist eine chronisch progrediente Bewegungsstörung vornehmlich des höheren Lebensalters. Mit Prävalenzen von 100 – 200/100.000 Einwohnern und 1.800/100.000 Einwohnern über 65 Jahren zählt es zu den häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen in Deutschland (1). Die Diagnose ist klinisch zu stellen, basierend auf den Leitsymptomen der Akinesie, Hypokinesie und Bradykinesie in Kombination mit Rigor, Ruhetremor oder posturaler Instabilität (2, 3), wobei die Einschränkung posturaler Reflexe inzwischen teilweise nicht mehr als Kriterium definiert wird (4, 5). Häufig treten zum Teil lange vor Beginn der motorischen Einschränkungen vegetative, sensorische, kognitive und psychische Auffälligkeiten auf, die im Verlauf des Krankheitsprogresses zunehmen können (6).

Als pathophysiologische Grundlage der motorischen Dysfunktion gilt der Untergang dopaminerger Neurone in der Substantia nigra pars compacta (SNc) (7, 8) und die damit einhergehende Störung der Signaltransduktion in der Motorkortex (M1) – Basalganglien (BG) Schleife, die für die regelrechte Exekution von Bewegungen essentiell ist (9, 10). Diese Neurodegeneration beginnt vermutlich schon Jahre vor der Symptomatik (11). Zum Zeitpunkt der Erstmanifestation sind bereits ungefähr 60 % der Neurone der SNc betroffen (12). Neben dem dopaminergen sind auch andere Transmittersysteme einer Reihe nicht-motorischer Kerngebiete affiziert und es finden sich Ablagerungen fehlgefalteter Proteine, die sogenannten Levy-Körperchen (13).

Seit 1960 ist der positive therapeutische Effekt des Dopamin-Vorläufermoleküls Levodopa (LD) auf die motorische Symptomatik des IPS bekannt und gilt bis heute zusammen mit der Gruppe der Dopamin-Agonisten als die Behandlungsoption erster Wahl (14, 15). Dabei reduziert LD die motorischen Symptome stärker und zeigt weniger akute vegetative Nebenwirkungen verglichen mit den Dopamin-Agonisten (16). Allerdings entwickeln sich nach einer ersten Phase hervorragender Wirksamkeit und geringer Nebenwirkungen unter der Therapie mit LD ausgeprägte motorische Komplikationen wie Wirkfluktuationen und Levodopa-induzierte Dyskinesien (LID) (17), die zu einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität führen (18, 19). Das Risiko für die Entwicklung schwerwiegender motorischer Komplikationen durch LD steigt, wenn schon früh im Krankheitsverlauf hohe Dosen eingesetzt werden müssen (20). Unter der Therapie mit Dopamin-Agonisten ist die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Dyskinesien wesentlich geringer und hängt zudem weder mit Therapiedauer noch mit Höhe der Dosis zusammen (21, 22). Lange galt daher die Empfehlung, den Therapiebeginn mit LD zugunsten der Agonisten angepasst an die individuelle Klinik möglichst lange hinauszuzögern (23). In den aktuellen Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlich medizinischen Fachgesellschaften e.V. wird vor allem für jüngere Patienten empfohlen, den Dopamin-Agonisten den Vorzug zu geben. Für ältere Patienten dagegen scheint LD aufgrund der geringeren Rate vegetativer Nebenwirkungen geeigneter. Allerdings wird explizit darauf hingewiesen, dass diese Entscheidung in jedem Einzelfall anhand individueller Faktoren zu treffen ist (3). Der Dopamin-Agonist Apomorphin (APO) kann initial als Monotherapie verwendet werden und findet außerdem in fortgeschrittenen Stadien häufig mit LD kombiniert Anwendung, um den durch Wirkfluktuationen bedingten Zuständen akuten Dopamin-Mangels entgegenzuwirken (16).

1998 wurde basierend auf tierexperimentellen Daten erstmals die Wirksamkeit von elektrischer Hochfrequenzstimulation des Nucleus subthalamicus (STN) auf motorische Symptome des IPS im Menschen nachgewiesen (24). Dies konnte seither in vielen nachfolgenden Studien bestätigt werden und ist als wichtiges Therapiekonzept vor allem für späte Stadien des IPS inzwischen weit etabliert (15). Neben der therapeutischen Anwendung bietet die Tiefenhirnstimulation (THS) ein erhebliches Potential zur Erforschung der elektrophysiologischen Veränderungen beim IPS. So konnten seit Einführung der THS tierexperimentell gewonnene Erkenntnisse vielfach im menschlichen Patienten reproduziert und erweitert werden. Besonderes Augenmerk galt dabei Veränderungen in den lokalen Feldpotentialen (LFP). Deren Signalcharakteristika sind denen des Elektroenzephalogramms (EEG) vergleichbar, je nach Elektrodengröße und Referenzpunkt mit deutlich feinerer örtlicher Auflösung. Sie erfassen extrazelluläre

Spannungsveränderungen und scheinen im Frequenzbereich unter 100 Hz vornehmlich die zeitlich-räumliche Summation postsynaptischer Potentiale lokal begrenzter Neuronenpopulationen um die Elektrode zu repräsentieren (25). Wie beim EEG auch, werden die Oszillationen üblicherweise in fünf Frequenzbänder eingeteilt: Delta (0,5 - 3,5 Hz), Theta (4 - 7 Hz), Alpha (8 - 12 Hz), Beta (13 - 30 Hz) und Gamma (31 - 100 Hz). Je nach Kontext können den einzelnen Bändern unterschiedliche funktionelle Bedeutungen zugeordnet werden. So mehren sich Hinweise darauf, dass Beta-Oszillationen im Gesunden zur Beibehaltung des aktuellen motorischen *status quo* beitragen (26, 27). Verstärkte kortikale Beta-Aktivität zeigt sich beispielsweise während tonischer Haltearbeit (28, 29). Dem entgegengesetzt findet sich im Rahmen von Vorbereitung und Ausführung von Bewegungen eine sogenannte Ereignis-bezogene Desynchronisation (event-related desynchronization, ERD) im Beta-Frequenzbereich in der M1-BG-Schleife (30). Das heißt, zur Ausführung einer neuen Bewegung muss im Gesunden die Beta-Aktivität im Netzwerk gesenkt werden. Spontan gestiegene (27) sowie durch externe Stimulation mit 20 Hz bedingte (31) Synchronisation im Beta-Band ist mit einer Verlangsamung von Bewegungen assoziiert. Neben der reinen Stabilisierung des momentanen Zustandes und der Suppression neuer Bewegungsprogramme scheinen Beta-Oszillationen zusätzlich eine Rolle als Kontroll- und Korrekturlement im Rahmen der Motorprozessierung einzunehmen. Die Erhaltung posturaler Stabilität und die Korrektur von Positionsveränderungen ist erfolgreicher unter gesteigerter Beta-Aktivität (32). In Go/NoGo Experimenten werden Probanden aufgefordert, auf ein jeweiliges Signal hin eine bestimmte Bewegung entweder auszuführen, oder dies nicht zu tun. In diesen Versuchen zeigte sich eine höhere Rate korrekter Reaktionen auf Stoppsignale unter erhöhter Beta-Synchronisation (33, 34). Interessanterweise folgte einer fehlerhaften Ausführung einer Bewegung ebenfalls ein Wiederanstieg der Beta-Synchronisation, der nach korrekter Ausführung auch im danach geforderten Ruhezustand ausblieb (35). Aus diesen Beobachtungen lässt sich schließen, dass Beta-Oszillationen in physiologischem Ausmaß einen kontrollierenden, koordinierenden und inhibierenden Effekt bei der Motorprozessierung und -exekution einnehmen. Aufbauend hierauf ließe sich folgern, abnorm gesteigerte Beta-Aktivität führe zu einer übermäßigen Hemmung neuer Bewegungsabläufe und somit zu Bradykinesie und Rigor. Diese Hypothese wird durch eine große Zahl korrelativer Hinweise aus Studien an IPS Patienten und im Tiermodell gestützt. Im 6-Hydroxydopamin Modell (6-OHDA) des IPS in der Ratte, das auch in dieser Arbeit verwendet wurde, zeigen sich im Vergleich zu Dopamin-intakten Kontrollen abnorm gesteigerte Beta-Oszillationen in unterschiedlichen Strukturen der M1-BG-Schleife (36, 37), die durch dopaminerge Medikation reduziert werden (38, 39). Dabei

zeigte die Gruppe von Mallet et al. (37) durch Injektion von Dopamin-Antagonisten, dass es nicht der akute, sondern nur der chronische Mangel an Dopamin ist, der die Netzwerkveränderungen hervorzurufen scheint. Demgegenüber stehen Erkenntnisse aus dem Reserpin Modell des IPS in der Ratte, welches zu einem subakuten Mangel an Dopamin innerhalb eines Tages führt. Hier ließen sich Veränderungen der Beta-Aktivität feststellen, die allerdings im Gegensatz zum 6-OHDA Modell im oberen Beta-Frequenzbereich lagen (40). Bei IPS Patienten zeigen sich Beta-Oszillationen konsistent und über mehrere Jahre nach Implantation der THS Elektroden im *OFF state*, also ohne dopaminerge Medikamente (41, 42). Während es in vielen Arbeiten nicht gelang, eine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der Beta-Synchronisation und der Symptomlast zu zeigen, konnte dies durch Eingrenzung auf die reine Akinesie sowie den Bereich von 10 - 15 Hz im Beta-Band erreicht werden (43, 44). Durch Willkürmotorik, LD oder Dopamin-Agonisten kommt es bei IPS Patienten zu einer Beta-Reduktion (45-47), wobei die Reduktion der motorischen Symptomatik mit der Reduktion der Beta-Aktivität korreliert (48-50). Bei der Betrachtung einzelner Bewegungen findet sich eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der ERD im Beta-Bereich mit der klinischen Verbesserung (51, 52). Auch durch die therapeutische THS werden Beta-Oszillationen supprimiert (53), was ebenfalls im Ausmaß mit einer Symptomverbesserung korreliert ist (54, 55). Ob abnorm gesteigerte Beta-Oszillationen allerdings nur ein Begleitphänomen der motorischen Symptomatik des IPS sind oder dieser tatsächlich ursächlich zugrunde liegen, lässt sich aus den oben beschriebenen korrelativen Hinweisen nicht schließen. Zum Teil können Experimente, in welchen IPS Patienten subthalamisch intermittierend mit Beta-Frequenz stimuliert wurden, diese Lücke füllen (56, 57). In beiden Studien führte die Beta-Stimulation zwar zu verstärkter motorischer Beeinträchtigung, jedoch war das Ausmaß relativ gering, sodass auch hier noch nicht von einem Grundsatznachweis gesprochen werden kann.

Ein weiteres Frequenzband, dem auch im Rahmen des IPS und anderer Bewegungsstörungen zunehmende Aufmerksamkeit gewidmet wird, ist das Gamma-Band. Je nach Fragestellung und Kontext werden Frequenzbereiche zwischen 35 und 200 Hz definiert, innerhalb derer sich mehrere funktionell diverse Subbereiche abzugrenzen scheinen. Während asynchrone Aktivierungszustände im Breitband-Gamma-Bereich eher für lokale und nicht-abhängige Feueraktivität stehen und keinen direkten Verhaltenseffekt zeigen (58), wird für das sogenannte finely-tuned gamma (FTG) im Bereich zwischen 60 und 90 Hz eine relevantere und unmittelbarere Rolle für die Motorik angenommen (59-61). Das Auftreten von Gamma-Oszillationen scheint nicht krankheitsspezifisch zu sein, da es in Patienten mit IPS, essentiellen Tremor, Dystonien und myoklonischer Epilepsie beobachtet wurde (62). Da es sich

bei gesunden Versuchstieren in wesentlichen Stationen der M1-BG-Schleife findet, wird eine primär physiologische Rolle für die Motorik angenommen (63, 64). Im Thalamus wird die Gamma-Aktivität durch den Schlaf-Wach-Rhythmus sowie durch Schlafphasen moduliert. Während der Tiefschlafphasen, aber auch während Schläfrigkeit im wachen Zustand lässt sich keine Gamma-Aktivierung beobachten, wogegen im REM Schlaf (rapid eye movement) und während wacher, aufmerksamer Phasen eine starke Synchronisation zu verzeichnen ist (62). Hieraus wurde geschlossen, dass eine gewisse kortikale Aktivierung Grundbedingung für subkortikale Gamma-Oszillationen ist (60, 62). Im Gegensatz zu Beta-Oszillationen wird für Gamma-Aktivität eher eine bewegungsfördernde Rolle postuliert. In den BG und im M1 wurde eine ERS (event-related synchronization, Ereignis-bezogene Synchronisation) im Gamma-Band kurz vor Willkürbewegungen beobachtet, die entweder ausschließlich kontralateral zur Seite der Bewegung, oder zumindest dort ausgeprägter war (65). Bis dato wurden Gamma-Oszillationen im M1, dem STN, dem GPi (Globus pallidus internus) und dem Thalamus nachgewiesen (47, 62, 66, 67). Nach Medikation mit LD lässt sich bei IPS Patienten ein kortikaler sowie subkortikaler Anstieg der Gamma-Aktivität verzeichnen (58, 65, 67, 68). Die zunehmende Synchronisation in diesem Frequenzband ist dabei mit einer Verbesserung der motorischen Symptomatik zu korrelieren (69). In einer anderen Arbeit zeigte sich ein Trend für einen negative Korrelation zwischen Gamma Power und motorischer Symptomatik, der allerdings nicht signifikant war (48). Neben der bewegungsunabhängigen Aktivierung unter LD verstärkt sich auch die ERS unter Medikation verglichen mit dem *OFF state* (58). Es finden sich positive Korrelationen der Amplitude des ERS mit Geschwindigkeit und Ausmaß der nachfolgend ausgeführten Willkürbewegung (70, 71), sowie der Dauer der über die Bewegungsinitiation hinaus anhaltenden Gamma-Aktivität mit dem Ausmaß der Bewegung (58). Eine transkranielle Magnetstimulation des M1 mit Gamma-Frequenzen konnte die Leistung gesunder Probanden in motorischen Tests ebenso verbessern (72) wie dies durch THS des STN mit individuellen Gamma-Frequenzen bei IPS Patienten möglich war (73). Gleichzeitig scheint das Auftreten abnorm gesteigerter Gamma-Oszillationen bei Patienten mit Bewegungsstörungen mit Dyskinesien assoziiert zu sein (74, 75). Hier herrscht große Kontroverse, da ein derartiger Zusammenhang nicht konsistent gezeigt werden konnte (68) und andere Arbeiten eher auf eine Assoziation von Hyperkinesien mit verstärkter Aktivierung in anderen Frequenzbändern wie dem Alpha- oder Theta-Band deuten (76-78). Unterstützung findet die These unter anderem in einer Studie an Dystonie-Patienten: hier zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der ungewollten Bewegungen und der Stärke der FTG Aktivierung (79). Bei IPS Patienten lässt sich nach LD Gabe oder THS eine negative Korrelation zwischen Beta- und

Gamma-Aktivität feststellen, die sich im hyperkinetischen Zustand verstärkt (56, 76, 80). Relevante Beiträge zu dieser Frage liefern auch Untersuchungen im Tiermodell des IPS. Durch tägliche Injektionen von LD in 6-OHDA lädierte Ratten (*priming*) wird ein gut etabliertes Modell der LID beim IPS erzeugt. So kann die Entwicklung von Dyskinesien einhergehend mit elektrophysiologischen Veränderungen beobachtet werden. Im STN und M1 wurde dabei verstärkte Gamma-Synchronisation parallel zum Auftreten von Dyskinesien nachgewiesen (39). Die so erzeugten kortikalen Gamma-Oszillationen ließen sich durch suprakortikale Applikation von Antagonisten am Dopamin-Rezeptor 1 beenden, weshalb diesem Rezeptortyp eine wichtige Rolle bei der Genese der LID zugeschrieben wurde (81). Dupre et al. (82) fanden schon am ersten Tag der LD-Injektionen Dyskinesien und Gamma-Oszillationen im M1, die beide im Verlauf der wiederholten Applikationen zunahm. Die Dyskinesien wurden mit dem AIM Score (abnormal involuntary movements) quantifiziert und konnten über die Zeit positiv mit der kortikalen Gamma-Aktivität korreliert werden. Während hohe Dosen an LD in den oben beschriebenen Arbeiten einen unmittelbar dyskinetischen Effekt hatten, scheint zusätzlich - ähnlich wie beim Menschen - die langfristige Anwendung die Entstehung von Dyskinesien zu begünstigen. Die gleichbleibende Dosis von APO führte im 6-OHDA LID Modell schon anfangs zu einem signifikanten Anstieg der Gamma-Aktivität im GPI, die im Verlauf des *priming* weiter signifikant zunahm (83).

Aufgrund der beschriebenen korrelativen Hinweise wurde die Hypothese formuliert, die durch LD und Agonisten induzierten motorischen Verbesserungen würden über die Veränderung der oszillatorischen Aktivität in der M1-BG-Schleife vermittelt (48, 69, 84). Ein systematischer Vergleich der Effekte verfügbarer Medikamente auf neuronale Oszillationen in mehreren Stationen der Schleife steht noch aus. Hier setzt die vorliegende Studie mit dem Ziel an, den Einfluss von LD und APO auf die kortikale und subkortikale Beta- und Gamma-Aktivität zu vergleichen und damit gegebenenfalls ein elektrophysiologisches Korrelat der unterschiedlichen klinischen Wirksamkeit zu finden. Des Weiteren sollte durch die Untersuchung der komplexen Veränderungen der Netzwerkaktivität unter verschiedenen dopaminergen Modi zum Verständnis der pathophysiologischen Rolle von Beta- und Gamma-Oszillationen beigetragen werden. Zu diesem Ziel wurden das ECoG (Elektrokortikogramm) des M1 und LFPs des STN und der Substantia nigra pars reticulata (SNr) im 6-OHDA Modell des IPS in der Ratte und in gesunden Kontrollen abgeleitet. Dies erfolgte zunächst im medikamentös unbeeinflussten Baseline Zustand und nachfolgend unter steigender medikamentöser Stimulation mit LD oder APO.

Eingangsbemerkung

Die hier vorgestellten Methoden und Ergebnisse wurden bereits in der Publikation Kühn et al. (85) unter der Kennung 10.1016/j.expneurol.2017.09.005 veröffentlicht.

2.2 Methodik

2.2.1 Materialien, Versuchstiere und Tiergruppen

Die im Folgenden beschriebenen Tierexperimente wurden gemäß den Vorschriften des deutschen Tierschutzgesetzes und europäischer Verordnungen durchgeführt und im Voraus durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin genehmigt. Die Belastung der Tiere durch die Experimente wurde weitest möglich minimiert und die Tiergruppengrößen auf das notwendige Minimum begrenzt. 45 adulte männliche 300-350 g schwere Wistar Ratten wurden verwendet, wobei bei 24 Tieren unilateral durch Injektion des Neurotoxins 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) eine nahezu vollständige Dopamin-Depletion induziert wurde und 21 Tiere als Dopamin-intakte Kontrollen untersucht wurden. Aus diesen Ratten wurden insgesamt vier Untergruppen gebildet: ein Teil der 6-OHDA lädierten Tiere wurde im späteren Verlauf mit LD behandelt (6-OH LD), der andere mit APO (6-OH, APO). Gleichermaßen wurde die Gruppe der Kontrollen aufgeteilt (KON LD und KON APO). Die Tiere wurden im universitätseigenen Tierstall gehalten, in welchem ein konstanter Hell-Dunkel-Zyklus von je 12 Stunden und jederzeit freier Zugang zu Wasser und Nahrung gewährleistet war. Sämtliche verwendeten chemischen Substanzen und Medikamente stammten, sofern nicht anders angegeben, von Sigma Aldrich, Deutschland.

2.2.2 Versuchsgruppen und -ablauf

Die Tiere der 6-OHDA Gruppe durchliefen folgende Stadien des Experimentes: Zunächst wurde eine motorische Testung durchgeführt, um einen physiologischen Baseline Zustand festzustellen, sowie Vergleichswerte für die spätere Testung nach Dopamin-Depletion zu haben. Direkt im Anschluss folgte die Injektion des Neurotoxins. Nach 20 Tagen kann von einem maximalen Effekt ausgegangen werden (38), weshalb im Zeitraum 20-30 Tage nach 6-OHDA Läsion die motorischen Tests wiederholt wurden, unmittelbar gefolgt von elektrophysiologischen Ableitungen der M1-BG-Schleife. Nachfolgend wurden die Tiere getötet und ihre Gehirne zur

weitere histologischen Aufarbeitung konserviert. Tiere der Kontrollgruppe wurden einmalig motorisch getestet, woran sich die elektrophysiologische Ableitung schloss.

2.2.3 Motortestung

Zur Evaluation der Motorik wurden zwei etablierte Tests verwendet, der Zylinder Test und der Drag Test (86). Beide Tests wurden videographisch dokumentiert und im Anschluss in Zeitlupe ausgewertet. Im ersten Test wurden die Tiere in ein durchsichtiges Zylinderglas gesetzt (Höhe 45 cm, Ø 30 cm) und ihr spontanes vertikales Explorationsverhalten entlang der Wände beobachtet. Seitenvergleichend wurde die Benutzung der Vorderpfoten beim Abstützen an der Wand quantifiziert (87). Der Versuch wurde als valide gewertet, wenn mindestens eine Pfote innerhalb von 10 Minuten mindestens 15 druckbelastete Kontakte zur Wand hatte. Zur Durchführung des Drag Tests wurden Rumpf und Hinterbeine der Tiere angehoben, während die Vorderpfoten auf dem Untergrund aufgestützt blieben. Mit einer Geschwindigkeit von etwa 10 cm/s wurde das Tier 1 m rückwärts gezogen, wobei die durchgeführten Abstützbewegungen der Pfoten wiederum seitengetreunt gezählt wurden (88). Auch hier wurde ein Minimum von 15 aktiven Abstützbewegungen mindestens einer Pfote als Kriterium für eine erfolgreiche Verhaltenstestung definiert.

2.2.4 Unilaterale 6-OHDA Läsion

Das unilaterale Modell des IPS wurde im Rahmen einer stereotaktischen Operation durch Injektion des Neurotoxins 6-Hydroxydopamin-Hydrochlorid (6-OHDA) in den Fasciculus longitudinalis medialis (medial forebrain bundle, MFB) erzeugt. Das 6-OHDA ist ein sehr reaktives Dopamin-Analogon, das über Dopamin-Transporter hochselektiv in katecholaminerge Zellen gelangt und durch Induktion oxidativen Stresses zum Zelluntergang führt (89). Das so erzeugte Modell des IPS zählt zu den am besten etablierten, da die motorischen und histologischen Charakteristika weitreichende Entsprechungen zu einem späten Stadium der Erkrankung zeigen. Die Narkose wurde mittels Fentanyl (5 µg/kg s.c., Rotexmedia, Deutschland), Medetomidin (150 µg/kg s.c., Provet AG, Deutschland) und Midazolam (2 mg/kg s.c., Hameln Pharma, Deutschland) eingeleitet und aufrechterhalten. Nachdem eine ausreichende Narkosetiefe durch Ausbleiben einer Reaktion auf Schmerzreiz sichergestellt war, wurde der Kopf rasiert und mit atraumatischen Ohrenstiften in horizontaler Ausrichtung in einem stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, USA) fixiert. Um eine Austrocknung der

Kornea zu verhindern, wurde Dexpanthenol Augensalbe (Bepanthen ®, Bayer, Deutschland) verwendet. Die Körpertemperatur während der Operation wurde mit einer Rektalsonde gemessen und mittels autoregulierender Heizmatte konstant auf $37 \pm 0,5$ °C gehalten. Nach medialer Inzision der Kopfschwarte wurde die epikraniale Aponeurose entfernt um die Schädelnähte darzustellen. Die Koordinaten des Bregma – die Kreuzung der Sutura sagittalis und der Sutura coronalis – wurden in der anterior-posterioren (AP), medio-lateralen (ML) und dorso-ventralen (DV) Ebene bestimmt. Unter Verwendung eines stereotaktischen Atlases (90) wurden die Zielkoordinaten des MFB in Millimetern vom Bregma berechnet (AP: -2,6, ML: +1,6, DV: -8,4). Nach Bohrlochtrepanation des Kraniums von etwa einem Millimeter Durchmesser direkt oberhalb der Ziellokalisation wurde eine stumpfe 33 Gauge Kanüle bis zum Erreichen der dorsoventralen Koordinate abgesenkt. 1µl 6-OHDA-Lösung (Konzentration 8 µg/µl in 0,9 % Natriumchlorid mit 0,02 % Ascorbinsäure, gelagert bei -80 °C) wurde über ein Präzisionsspritzen-Pumpen-System (10 µl Hamilton syringe und Micro4™ pump, World Precision Instruments, USA) injiziert. Die Flussrate wurde auf 0,125 µl/min limitiert. Nach erfolgter Injektion wurde die Kanüle zur Verhinderung von Reflux über den Stichkanal für weitere fünf Minuten in Position belassen. Anschließend wurde sie entfernt, die Kopfhaut mit Einzelknopfnähten verschlossen und eine Antagonisierung der Narkose mit Naloxon (120 µg/kg, s.c., B. Braun Melsungen AG, Deutschland), Flumazenil (200 µg/kg, s.c., Inresa, Deutschland) und Atipamezol (750 µg/kg, s.c., cp-pharma, Deutschland) durchgeführt. Zur suffizienten postoperativen Analgesie Carprofen (5 mg/kg Körpergewicht, s.c., Pfizer, Deutschland) 30 Minuten vor Ende des Eingriffs, sowie an den drei folgenden Tagen injiziert.

2.2.5 Implantation der Elektroden und elektrophysiologische Ableitungen

Abgesehen von den im Folgenden beschriebenen Ausnahmen, entsprach die Vorbereitung und das operative Vorgehen zur Implantation der Elektroden denen der Neurotoxin Injektion. Als Narkotikum wurde Urethan verwendet (1,3 g/kg intraperitoneal), da dieses nach einmaliger Injektion eine mehrstündige Narkose unter gleichbleibenden respiratorischen und hämodynamischen Bedingungen zulässt (91). Des Weiteren führt Urethan im Gegensatz zu den oben verwendeten Narkotika bei ausreichender Narkosetiefe nicht zu einer generellen Suppression kortikaler und subkortikaler Aktivität, sondern zu einem Wechsel neuronaler Aktivierungszustände, die denen während des natürlichen Schlafes ähneln (92). Es werden hierbei üblicherweise zwei Zustände voneinander abgegrenzt: die sogenannte slow wave activity (SWA) und der activated state (AS) (93, 94). Während sich die SWA ähnlich dem Tiefschlaf mit

langsamen Oszillationen großer Amplitude präsentiert, werden Phasen kortikaler Aktivierung - gekennzeichnet durch eine Reduktion niederfrequenter Oszillationen - mit dem REM-Schlaf (rapid eye movement) und dem wachen, aufmerksamen Zustand verglichen (95-97). Es konnte gezeigt werden, dass die in diesem Projekt adressierten elektrophysiologischen Phänomene nur in den AS Phasen zu beobachten sind (36, 37). Nach Freipräparation der Kalotte wurden ausgehend vom Bregma die Koordinaten der Zielstrukturen bestimmt und entsprechend sechs Trepanationen gebohrt. Zwei selbstgefertigte Silber-Silberchlorid-Elektroden (aus 99,99 % Silberdraht, Goodfellow, Großbritannien; sphärische Spitze, Durchmesser 0,5 mm, Impedanz 8 k Ω) wurden in knappem Abstand epidural über M1 ipsilateral der 6-OHDA-Läsion platziert, um das ECoG abzuleiten (AP: +3,1/+2,9, ML: +3,0). Zwei weitere dieser Elektroden wurden epidural über dem ipsilateralen und kontralateralen Cerebellum als Referenzelektroden implantiert. Fixierung und elektrische Isolation dieser vier Elektroden erfolgte mittels kurzer Knochenschrauben und Acryl-Zahnzement (Technovit®, Heraeus-Kulzer, Deutschland). Zur elektrophysiologischen Ableitung der Basalganglienkerne wurden Wolfram Mikroelektroden (Microprobes for Life Science, USA; Parylene Beschichtung, Durchmesser der konischen Spitzen 4 μ m,) verwendet. Je eine Elektrode wurde zunächst oberflächlich kortikal über den Zielkoordinaten des STN (AP: -3,6; ML: +2,5, DV: -8,0) und der SNr (AP: -4,8; ML: +2,5, DV: -8,0) platziert. Die elektrophysiologischen Ableitungen wurden in einem Faraday'schen Käfig durchgeführt. Die kortikalen Elektroden wurden gegen das ipsilaterale, die basalganglionären gegen das kontralaterale Cerebellum referenziert. Die exakte dorsoventrale Positionierung der Elektroden für STN und SNr erfolgte durch Analyse der Muster der Multi-Unit Activity (MUA) während des Absenkens der Elektroden. Entlang der Trajektorie sowie in den Zielstrukturen zeigten sich charakteristische Feuermuster der umgebenden Strukturen, die einen Rückschluss auf die Position der Elektrodenspitze erlaubten. Beispiele charakteristischer Feuermuster von STN und SNr finden sich in Abb. 1 (S. 37, p.124), Kühn et al. (85). Nach erfolgter dorsoventraler Ausrichtung begann die Aufzeichnung des Breitbandsignals der tiefen Elektroden und des ECoG (Bandfilter: 0,05 – 8000 Hz, Verstärkung: 1750, Abtastfrequenz: 40 kHz) unter Verwendung des programmierbaren Omniplex Systems (Plexon, TX, USA). Das Breitbandsignal wurde unterteilt in LFP (0,05 – 250 Hz, Abtastfrequenz auf 1 kHz komprimiert) und MUA (300 – 8000 Hz) gespeichert. Zunächst wurde die neuronale Aktivität unter pharmakologisch unbeeinflussten Baseline Bedingungen aufgenommen, unmittelbar gefolgt von Ableitungen unter steigenden Dosen dopaminerger Medikamente. Die Gruppen 6-OH LD und KON LD erhielten jeweils im Abstand von 50 Minuten steigende Dosen LD (6/12/24 mg/kg s.c., jeweils mit 15 mg/kg Benserazid) unter kontinuierlicher weiterer

elektrophysiologischer Ableitung. Die Gruppen 6-OH APO und KON APO wurden in gleicher Weise mit APO behandelt (0,05/0,1/0,2 mg/kg).

2.2.6 Histologie und Immunhistochemie

Eine letale Dosis Urethan (3 g/kg, i.p.) wurde nach Abschluss der Aufnahmen injiziert, an die sich die zügige transkardiale Perfusion mit 250 ml gepufferter Natriumchlorid Lösung (0,1 M, Phosphatpuffer, phosphate buffered saline, PBS) gefolgt von 250 ml eisgekühltem Paraformaldehyd (PFA 4 % in PBS) anschloss. Die Gehirne wurden entnommen, für weitere 24 h in PFA postfixiert, über mehrere Tage in Sucrose Lösungen steigender Konzentration entwässert und dann bei -80 °C eingefroren. Mithilfe eines Gefriermikrotoms (Leica, Deutschland) wurden 40 µm dicke koronare Schnitte angefertigt. Die Abschnitte, die die Trajektorien der Injektionskanüle und der Elektroden enthielten, wurden auf Objektträger aufgezogen und mit Kresylviolett (Nissl-Färbung) gefärbt um die korrekte Platzierung in den Zielstrukturen lichtmikroskopisch (Leica, Deutschland) verifizieren zu können. Zum Nachweis der erfolgreichen Läsion wurden 10 Serien mit je drei Schnitten aus dem Striatum (STR) entnommen und immunhistochemisch gefärbt. Zielantigen war die Tyrosinhydroxylase (TH), die als das geschwindigkeitsbestimmende Schlüsselenzym der Dopamin-Synthese einen guten Marker für dopaminerge Neurone darstellt (98). Die Schnitte wurden zunächst mit einem primären anti-TH Maus Antikörper inkubiert (1:10000) und anschließend mit einem Anti-Maus Antikörper mit der Avidin-Biotin-Komplex-Methode (1:200, Vektor BA-200, Vector Laboratories, USA) behandelt (99). Je drei repräsentative Schnitte aus den anterioren, mittleren und posterioren Bereichen des STR wurden auf Objektträgern fixiert. Um den dopaminergen Zelluntergang zu quantifizieren wurde die optische Dichte der übriggebliebenen TH positiven striatalen Nervenfasern mit dem Densitometer MCID Analysesystem gemessen (Northern Light R95 Precision Illuminator, MCID, Großbritannien; Cool Snap EZ Kamera, Roper Scientific, Deutschland). Die durchschnittliche optische Dichte von je fünf exemplarischen Kortextbereichen beider Hemisphären sowie des Corpus callosum wurde als Hintergrundrauschen definiert. Pro Tier wurde die striatale Dichte seitengetreunt aus dem Mittel der Messwerte aus drei Schnitten mit je 25 Messpunkten bestimmt, von welchem das Hintergrundrauschen subtrahiert wurde. Anschließend wurde die lädierte beziehungsweise bei Kontrolltieren die korrespondierende Seite zur intakten ins Verhältnis gesetzt.

2.2.7 Datenanalyse und Statistik

Für jedes Tier wurden insgesamt vier Zeitintervalle separat analysiert: eines aus den Baseline Aufnahmen und je ein Zeitintervall nach Injektion der Medikamente. Diese werden nachfolgend als Baseline Kondition (BL) und Medikationskondition 1 bis 3 (MED 1-3) bezeichnet. Wie oben beschrieben hat der kortikale Aktivierungszustand einen entscheidenden Einfluss auf das Auftreten der hier untersuchten elektrophysiologischen Phänomene. Es wurden daher für jedes Tier und jede Kondition Phasen von je 100 Sekunden ausgewählt, in denen ein AS bestand. Um unterschiedliche Aktivierungsniveaus als möglichen Störfaktor auszuschließen, wurden die Zeitintervalle aus MED 1-3 derart selektiert, sodass der kortikale Aktivierungszustand möglichst nahe an dem der BL war. Dafür wurde für jede MED ein Zeitraum von 40 Minuten (Start 10 min nach Injektion, Ende 50 min nach Injektion) mittels Algorithmus nach dem 100 s Intervall durchsucht, in welchem die spektrale Leistungsdichte der 1 Hz Oszillationen am ähnlichsten zum ausgewählten BL Zeitintervall war.

Verarbeitung und Analyse der elektrophysiologischen Daten erfolgte in Matlab v8.2 (The Mathworks, Natick USA) unter Verwendung selbstangefertigter Skripte und programminterner Funktionen. Die rohen LFP Daten wurden zu μV rückskaliert und mit einem Bandfilter im *butterworth filter* Design weiter auf den Bereich von 0,05 bis 95 Hz eingegrenzt. Die spektrale Leistungsdichte (power spectral density, PSD) der 100 s Epochen wurde unter Verwendung der Welch Methode geschätzt (NFFT = 1000 pts, non-overlap, Hanning Window 1 s, Auflösung 1 Hz). Daraus ergab sich ein PSD Wert pro Frequenzbereich von einem Hz, im Folgenden als Bin bezeichnet. Die Bins 49 bis 51 Hz wurden aufgrund möglicher Störsignale durch Stromleitungen (50 Hz Wechselstrom) ausgeschlossen. Zur interindividuellen Vergleichbarkeit wurde eine Normalisierung jedes Bins zur durchschnittlichen PSD der Bereiche 8 - 48 Hz und 52 - 95 Hz vorgenommen. Um Veränderungen der PSD über die Zeit darzustellen wurden farbkodierte Zeit-Frequenz Spektrogramme für die gesamten Längen der Aufnahmen erstellt (NFFT = 8192 pts, 75 % overlap, Hanning Window 4s). In der ersten orientierenden Durchsicht der Spektrogramme ergaben sich erhebliche interindividuelle Unterschiede der Spitzenfrequenzen in den Frequenzbändern. Es wurden daher für jedes Tier individuelle Frequenzbereiche innerhalb der Frequenzbänder ausgehend von dem jeweiligen Maximum (maximum frequency, MF) des PSD Gipfels (Peak) im Frequenzband zur weiteren Analyse ausgewählt. Die folgenden Kriterien wurden hierfür herangezogen (39): 1.) Das MF musste für das Beta-Band zwischen 13 und 30 Hz und für das Gamma-Band zwischen 55 und 90 Hz liegen. 2.) Das definierte Maximum musste größer sein als jegliches PSD der umgebenden sechs Bins.

3.) Die durchschnittliche spektrale Leistungsdichte im Bereich [MF – 3 Hz] bis [MF + 4 Hz] für Beta und [MF – 9 Hz] bis [MF +10 Hz] für Gamma musste größer sein als die durchschnittliche Leistungsdichte für den Bereich 13 – 48 Hz beziehungsweise 52 – 95 Hz. 4.) Die erste Ableitung der Funktion musste positiv vor und negativ nach dem MF und 5.) die zweite Ableitung negativ am MF sein. Für jedes Tier, jeden Kanal und beide Frequenzbänder wurde so für jede Kondition ein MF ermittelt. Hieraus wurde der Durchschnitt gebildet (average maximum frequency, aMF) und dieser zur Definition der individuellen Frequenzbänder herangezogen (Beta: aMF - 3 Hz bis aMF + 4 Hz, 8 Bins; Gamma: aMF - 9 Hz bis aMF + 10 Hz, 20 Bins). Konnten keine Peaks definiert werden oder wurden die Bedingungen nicht erfüllt, wurden die individuellen Frequenzbänder als Beta: 13 - 20 Hz und Gamma: 60 - 80 Hz definiert. Die weitere Analyse wurde also auf den unteren Bereich des traditionellen Beta-Bandes begrenzt, da erstens alle Beta-Peaks in diesem Bereich lagen und zweitens in früheren Arbeiten der Gruppe gezeigt werden konnte, dass dieser im 6-OHDA Modell der relevante ist (40). Die durchschnittliche PSD innerhalb der definierten Bereiche wurde berechnet und im Folgenden Beta und Gamma Power genannt.

Die statistische Auswertung von elektrophysiologischen, histologischen und Verhaltensdaten erfolgte mit SPSS (IBM© SPSS© Statistics, V23, USA). Normalverteilung der normalisierten durchschnittlichen Werte der Power und der absoluten Werte der MF wurde mit dem Kolmogorow-Smirnow Test geprüft. Ergaben sich daraus Hinweise darauf, dass die notwendigen Annahmen zur Verwendung parametrischer Tests nicht erfüllt waren, wurden nicht-parametrische Tests verwendet. Konnte auf ein lineares Modell nicht verzichtet werden, wurden die Datensätze einheitlich mittels Logarithmieren transformiert. Um den Effekt der Medikamente auf 6-OH Ratten mit dem auf Kontrollen zu vergleichen, wurde für LD wie APO je eine MANOVA (*multivariate analysis of variance*, Multivarianzanalyse) für wiederholte Messungen durchgeführt. Die unabhängige Variable (Zwischensubjekt-Faktor) war ‚Gruppe‘ (6-OH, KON), die abhängigen Variablen (Innersubjekt-Faktoren) waren ‚Kondition‘ (BL, MED1, MED2, MED3), ‚Band‘ (Beta, Gamma) und ‚Struktur‘ (M1, STN, SNr). Im Falle signifikanter Interaktionseffekte der MANOVA wurden zur genaueren Charakterisierung einzelne ANOVA (*analysis of variance*, Varianzanalyse) durchgeführt. Der unterschiedliche Einfluss von LD und APO wurde separat für 6-OH Tiere und Kontrollen mit einer MANOVA für wiederholte Messungen evaluiert, wobei die unabhängige Variable ‚Medikament‘ (LD, APO) war und die abhängigen Variablen gleich blieben. Hierbei wurden, um unterschiedliche Baseline Niveaus innerhalb der Tiergruppen als Störgröße auszuschließen, prozentuale Werte bezogen auf die Baseline Power verwendet. Zusätzlich wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson für

das Beta/Gamma Power Verhältnis zur Dosierung der Medikamente berechnet, um deren Effektstärken weiter unabhängig vom Baseline Niveau zu vergleichen. Im Rahmen der ersten orientierenden Durchsicht der spektralen Daten fiel auf, dass es intraindividuell im Rahmen der zunehmenden dopaminergen Stimulation zu Verschiebung des Peak Maximums kam. Dies war für beide Frequenzbänder der Fall, doch konnten nur im Gamma-Frequenzband auch in den späten Medikamentenkonditionen entsprechend der oben beschriebenen Kriterien ausreichend Peak Maxima definiert werden. Die Evaluation des Einflusses dopaminergener Medikation auf das MF wurde daher mittels MANOVA für wiederholte Messungen nur für Gamma durchgeführt. Datenverlust durch listenweisen Ausschluss und damit der gesteigerten Wahrscheinlichkeit eines Beta Fehlers wurde begegnet, indem die MANOVA separat für jede Struktur durchgeführt wurde (Unabhängige Variablen: Gruppe, Medikament; Abhängige Variable: Kondition). Für jedes parametrische Modell werden die Greenhouse-Geiser korrigierten Werte angegeben, sofern mittels des Levene-Tests keine Varianzgleichheit festgestellt werden konnte. Einzelfaktorvergleiche wurden mittels Zweistichproben-T-Tests und Paardifferenz-T-Tests oder falls nötig den nicht-parametrischen Entsprechungen Wilcoxon Rangsummen-Test und dem Mann-Whitney U Test durchgeführt. Zur Reduktion der Wahrscheinlichkeit eines Alpha Fehlers wurde Bootstrapping durchgeführt und für geplante Kontraste und multiple Vergleiche eine Korrektur der Signifikanzwerte mit dem Bonferroni Kriterium durchgeführt. Sofern nicht anders angegeben werden die Ergebnisse als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes angegeben. Ein p-Wert ≤ 0.05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Einschlusskriterien

Basierend auf den Ergebnissen der densitometrischen Analyse und der motorischen Testung konnte bei 22 von 24 Ratten ein Erfolg der 6-OHDA Läsion festgestellt werden. Notwendige Kriterien waren ein erheblicher Verlust dopaminergener Fasern des STR (lädiert/intakt $< 0,05$) und eine stark ausgeprägte unilaterale Akinesie (Zylinder Test: lädiert/intakt $< 0,1$; Drag Test: lädiert/intakt $< 0,5$). Es fand sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen der dopaminergen Faserdichte im STR der 6-OH Gruppen und KON Gruppen ($U = 0$, $z = -5,46$, $p \leq 0,001$). Ebenso unterschieden sich die Ergebnisse in den motorischen Tests hochsignifikant (Zylinder Test: $U = 0$, $z = -5,47$, $p \leq 0,001$; Drag Test: $U = 0$, $z = -5,41$, $p \leq 0,001$). In 20 von 22 erfolgreich

lädierten Ratten konnte eine korrekte Platzierung der Elektroden in STN und SNr festgestellt werden, bei den Kontrollen war dies in 20 von 21 Tieren der Fall. Daraus ergaben sich folgende in die Datenanalyse eingeschlossenen Gruppengrößen: 6-OH LD: 11, 6-OH APO: 9, KON LD: 9, KON APO: 11.

2.3.2 Levodopa führt zu einer stärkeren Reduktion der Beta-Aktivität als Apomorphin in 6-OH Tieren

Übereinstimmend mit vorhergehenden Arbeiten fand sich in der Baseline ein erhöhter Anteil an Oszillationen im Beta-Frequenzband in den 6-OH Tieren im Vergleich zu den Kontrollen, der durch Applikation der Medikamente reduziert werden konnte. Dabei zeigten sich erhebliche Unterschiede in der Ausprägung dieses reduktiven Effektes zwischen LD und APO. LD führte kortikal wie subkortikal hochsignifikant zu einer Abnahme der Beta Power in der 6-OH Gruppe (M1: $F_{3,8} = 7,53$, $p \leq 0,001$; STN: $F_{3,8} = 14,52$, $p \leq 0,001$; SNr: $F_{3,8} = 13,77$, $p \leq 0,001$, Vgl. Abb. 3 (S.40, p.127) Kühn et al.(85)). Obwohl die größeren Effektstärken in den BG verglichen mit dem M1 dies zunächst nahelegten, ergab sich kein signifikanter Unterschied im Ausmaß der Reduktion zwischen den untersuchten Strukturen. Schon die erste Dosis LD (6 mg/kg) hatte eine submaximale Beta-Suppression zur Folge. Die Beta Power der 6-OH Gruppe unterschied sich nach Applikation nicht mehr von Baseline Werten gesunder Kontrollen (BL-KON vs. MED1-6-OH: M1: $t_{18} = -1,96$, $p = 0,065$; STN: $t_{16} = -1,30$, $p = 0,213$; SNr: $t_{18} = -1,03$, $p = 0,318$). Die folgenden Dosen von 12 und 24 mg/kg hatten keinen weitergehenden reduzierenden Effekt. In den Kontrolltieren gab es einen geringfügigen aber signifikanten Abfall der Beta Power im STN.

Auch APO führte in der 6-OH Gruppe zu einer Reduktion der PSD im Beta-Band, allerdings weniger ausgeprägt und nicht in allen untersuchten Strukturen. Nur im STN der 6-OH Ratten fand sich eine Beta-Suppression ($F_{3,6} = 3,51$, $p \leq 0,05$), die signifikant dosisabhängig zunahm (linearer Trend für Kondition': $F_{1,8} = 14,86$, $p \leq 0,01$). Dennoch war auch nach der höchsten APO Dosis die Beta-Aktivität im STN der lädierten Tiere immer noch signifikant höher als die Baseline Werte der Kontrollen (BL-KON vs. MED3-6-OH: $t_{18} = -2,512$, $p \leq 0,05$).

Weder im M1 noch in der SNr ließ sich ein signifikanter Effekt des Dopamin-Agonisten auf Beta-Aktivität in 6-OH Tieren zeigen. Ebenso fand sich in keiner untersuchten Struktur in den Kontrolltieren ein Effekt von APO auf Oszillationen im Beta-Band.

In der Abb. 3 (S.40, p.127) Kühn et al. (85) ist die Entwicklung der Beta Power unter zunehmender dopaminergem Stimulation in den beiden Gruppen graphisch dargestellt.

2.3.3 Levodopa führt zu einer stärkeren Zunahme der Gamma-Aktivität in beiden Gruppen

In M1, STN und SNr der 6-OH Ratten zeigten sich in der Baseline signifikant niedrigere Level an Gamma-Aktivität im Vergleich zu Kontrolltieren. Mit steigender Dosierung von LD in 6OH Tieren ließ sich eine schrittweise Zunahme der Gamma Power in allen drei Zielen beobachten (M1: $F_{3,8} = 26,03$, $p \leq 0,001$; STN: $F_{3,7} = 25,78$, $p \leq 0,001$; SNr: $F_{3,8} = 21,87$, $p \leq 0,001$). Auch hier wurden schon nach der niedrigsten Dosis LD Level an Gamma-Aktivität erreicht, die sich nicht mehr signifikant von denen der Kontrollen in der Baseline unterschieden (BL-KON vs. MED1-6-OH: M1: $t_{18} = 0,534$, $p = 0,600$; STN: $t_{16} = 0,530$, $p = 0,604$; SNr: $t_{17} = 0,502$, $p = 0,621$). In der Kontrollgruppe stieg die PSD im Gamma-Bereich im STN ($F_{3,6} = 3,92$, $p \leq 0,05$) und der SNr ($F_{3,6} = 6,35$, $p \leq 0,01$). Dagegen zeigte sich im Gegensatz zu den 6-OH Tieren im M1 der Kontrollen keine signifikante Veränderung der Gamma Power nach LD Applikation. In den Basalganglien war nach der höchsten Dosis von 24 mg/kg LD die Gamma-Aktivität von 6-OH Tieren und Kontrollen vergleichbar hoch. Nur die kortikale Gamma PSD der 6-OH Tiere übertraf nach der Applikation von 24 mg/kg die Baseline Gamma-Aktivität der Kontrollen (BL-KON vs. MED3-6-OH: $t_{18} = 2,453$, $p \leq 0,05$), während dies bei den Basalganglien nicht der Fall war.

Auch durch die Applikation von APO konnte eine dosisabhängige Steigerung der Gamma-Aktivität in allen Strukturen der 6-OH Tiere erreicht werden (M1: $F_{3,6} = 6,83$, $p \leq 0,01$; STN: $F_{3,6} = 4,10$, $p \leq 0,01$; SNr: $F_{3,7} = 3,35$, $p \leq 0,05$). Erst mit der zweiten Dosis waren in allen drei Strukturen Werte erreicht, die nicht mehr signifikant niedriger als die Baseline der Kontrollen waren. Im Gegensatz zu LD wurde die Baseline Gamma-Aktivität der Kontrolltiere in M1 auch nach der höchsten Dosis APO nicht signifikant übertroffen. In der Kontrollgruppe zeigte sich eine Zunahme der Gamma-Aktivität in allen Strukturen (M1: $F_{3,8} = 7,22$, $p \leq 0,01$; STN: $F_{3,8} = 13,92$, $p \leq 0,001$; SNr: $F_{3,8} = 6,36$, $p \leq 0,01$).

Abb. 3 (S.40, p.127) in Kühn et al. (85) gibt einen Überblick über die Entwicklung der Gamma Power unter dem Einfluss gesteigerter dopaminergener Medikation.

2.3.4 Die Effekte von LD und APO auf Beta- und Gamma-Oszillationen unterscheiden sich qualitativ und quantitativ

Der direkte Vergleich der Medikamente erfolgte durch Analyse der zur Baseline normalisierten Power. In der MANOVA für die Gruppe 6-OH ergab sich ein signifikanter Haupteffekt

‚Medikament‘ ($F_{1,15} = 5,44$, $p \leq 0,05$), der auf einen grundlegenden Unterschied zwischen LD und APO deutet. Nach der höchsten Dosis LD fand sich sowohl eine signifikant stärkere relative Beta-Reduktion (M1: $t_{1,18} = -2,88$, $p \leq 0,01$, STN: $t_{1,17} = -2,03$, $p \leq 0,05$, SNr: $t_{1,17} = -2,18$, $p \leq 0,05$) als auch Gamma-Steigerung (M1: $t_{1,18} = 2,13$, $p \leq 0,05$, STN: $t_{1,17} = 2,79$, $p \leq 0,05$, SNr: $t_{1,17} = 2,62$, $p \leq 0,05$). Der Interaktionseffekt ‚Band*Kondition*Medikament‘ ($F_{3,13} = 6,32$, $p \leq 0,01$) unterstützt die oben getroffene Beobachtung, dass sich die unterschiedliche Wirkstärke zwischen dem Beta- und Gamma-Band unterscheidet. Es fand sich zudem der Interaktionseffekt ‚Band*Struktur*Medikament‘ ($F_{2,14} = 8,09$, $p \leq 0,01$) in welchem sich die Tatsache widerspiegelt, dass die verschiedene Wirksamkeit beider Medikamente nicht gleichermaßen in allen Zielstrukturen und beiden Frequenzbändern gegeben war. Während sich der Effekt auf Gamma-Oszillationen nur quantitativ unterschied, zeigte sich im Beta-Band unter APO nur eine Reduktion im STN, wogegen LD die Beta Power auch im M1 und der SNr senkte. Für eine graphische Gegenüberstellung der Medikationseffekt vgl. Abb. 4 (S.41, p.128) Kühn et al. (85)

Unter der Vorstellung, dass Beta- und Gamma-Aktivität unterschiedliche funktionelle Zustände in der Motorprozessierung darstellen und das IPS durch eine Dysbalance ihrer Einflüsse bestimmt wird, wurde das Beta-Gamma Verhältnis unter LD und APO untersucht. Im M1 und STN war das Verhältnis Beta-Power zu Gamma-Power für beide Medikamente negativ mit den ansteigenden Dosierungsschritten korreliert (LD: M1: $r_{1,42} = -0,665$, $p \leq 0,001$, STN: $r_{1,42} = -0,625$, $p \leq 0,001$; APO: M1: $r_{1,34} = -0,406$, $p \leq 0,05$, STN: $r_{1,34} = -0,439$, $p \leq 0,01$). Dabei weisen, wie auch in Abb. 5 (S.42, p.129) Kühn et al. (85) an der Steigung der Regressionslinien erkennbar, die größeren Effektstärken unter LD auf eine höhere Potenz hin, das Beta-Gamma Verhältnis zu beeinflussen. Für die SNr fand sich nur für LD, aber nicht für APO eine signifikante Korrelation zu den Dosierungsschritten (LD: $r_{1,42} = -0,467$, $p \leq 0,001$, APO: $r_{1,34} = -0,262$, $p = 0,155$).

2.3.5 Die Peak Maxima werden durch LD und APO unterschiedlich beeinflusst

Die steigenden Dosierungen von LD wie APO beeinflussten die Maxima der Peaks in beiden Frequenzbändern und beiden Tiergruppen. Da aber im Beta-Bereich in den meisten medikamentösen Konditionen keine Peaks mehr zu definieren waren, wurde die Analyse der Frequenzen der Maxima auf den Gamma-Bereich beschränkt. Es zeigte sich ein signifikanter Effekt der steigenden Dosierungen, der abhängig vom applizierten Medikament war (‚Kondition*Medikament‘ $F_{2,17} = 17,73$, $p \leq 0,001$). Wie in Abb. 6 (S.42, p.129) Kühn et al. (85) erkennbar, führte APO zu einer Verschiebung des Maximums in niedrigere Gamma-Bereiche

(,Kondition': 6-OH: $F_{2,20} = 19,09$, $p \leq 0,001$; KON: $F_{2,13} = 18,06$, $p \leq 0,001$). Dieser Effekt war in allen Strukturen gleichermaßen zu beobachten, ebenso fand er sich gleichermaßen in 6-OH Tieren wie Kontrollen, was sich im Fehlen eines signifikanten Interaktionseffektes mit dem Faktor ,Gruppe' widerspiegelt. Der Effekt von LD auf die Frequenz des Maximums unterschied sich nicht nur zu dem von APO, sondern war auch unterschiedlich für die beiden Tiergruppen (,Kondition*Gruppe': $F_{2,45} = 6,78$, $p \leq 0,01$). Bei den Kontrolltieren war ein signifikanter Anstieg der maximalen Frequenz zu beobachten ($F_{2,15} = 9,29$, $p \leq 0,01$), den es bei den 6-OH Tieren nicht gab ($F_{2,23} = 0,6$, $p = 0,56$). Zusätzlich zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt des Faktors ,Gruppe' bei den mit LD behandelten Tieren. Die Maxima der 6-OH Tiere waren grundsätzlich in einem höheren Gamma-Bereich, auch wenn sie nicht weiter stiegen.

2.4 Diskussion, klinische Anwendung und weiterführende Fragestellungen

Zentrales Ergebnis dieser experimentellen Studie ist, dass sich für die bessere klinische Wirksamkeit sowie für die höhere Rate an hyperkinetischen Nebenwirkungen von LD elektrophysiologische Korrelate finden.

LD supprimierte die pathologisch gesteigerte Beta-Aktivität im STN deutlich stärker als APO und zeigte zudem einen Effekt auf M1 und SNr, was bei APO nicht der Fall war. Beide Medikamente führten zu einer Zunahme der Gamma-Aktivität, wobei wiederum LD dem Dopamin-Agonisten überlegen war. Auch die Ratio von Beta- zu Gamma-Synchronisation wurde durch LD deutlich stärker verändert. Unter der Annahme, diese veränderten elektrophysiologischen Muster lägen dem Grad der motorischen Beeinträchtigung beim IPS zugrunde, ließe sich damit die unterschiedliche Wirksamkeit beider Medikamente gut erklären. So könnte die klinische Überlegenheit von LD über die stärkere Suppression bewegungshemmender Beta-Oszillationen gemeinsam mit der Verstärkung prokinetischer Gamma-Oszillationen vermittelt sein. Sowohl in der präklinischen Entwicklung neuer Medikamente als auch in der individuellen Therapieeinstellung einzelner Patienten könnte die Evaluation der medikamentösen Effekte auf Oszillationen in diesen beiden Frequenzbändern prognostischen Wert für den Therapieerfolg haben. Allerdings fußt diese Hypothese auf den Ergebnissen dieser Studie in Zusammenschau mit Beobachtungen aus anderen Arbeiten. Um das Ausmaß der Symptomverbesserung mit den dynamischen Veränderungen der oszillatorischen

Aktivität zu korrelieren und für beide Medikamente zu vergleichen, ist ein experimentelles Design in wachen und motorisch aktiven Probanden nötig.

Die grundsätzliche Frage, ob veränderte Netzwerkoszillationen mehr als ein Begleitphänomen des physiologischen wie pathologischen motorischen Zustandes darstellen ist weiterhin nicht abschließend zu beantworten. Noch weniger allerdings ist darüber bekannt, über welchen Mechanismus eine derartige Veränderung der oszillatorischen Dynamik die Signaltransduktion beeinflussen könnte. Einige Autoren vermuten, die exzessive Beta-Synchronisation erzwingt ein starres, unflexibles Muster neuronaler Aktivität in der M1-BG-Schleife, welche die notwendigen dynamischen Veränderungen während der Motorprozessierung verhindert (100-102).

Gleichzeitig bieten die vorliegenden Daten eine mögliche Erklärung für die höhere Rate an Dyskinesien unter LD im Vergleich zu dem Agonisten. In allen drei Strukturen stiegen die Gamma-Oszillationen unter LD stärker als unter APO. Besonders im M1 war dieser Unterschied sehr augenscheinlich. Nur hier stieg die Gamma-Aktivität nach der höchsten Dosis LD auf Werte, die jene der Kontrollen im medikamentös unbeeinflussten Zustand überstieg. Unter APO stieg die kortikale Gamma-Synchronisation auch, doch überstieg sie nicht die Baseline Werte der Kontrollen. Interessanterweise gab es in den Kontrollen im M1 im Gegensatz zu den BG keinen signifikanten Gamma-Anstieg unter LD. Dies legt die Vermutung nahe, dass der M1 beim IPS unter dopaminergem Stimulation eher dazu neigt, eine abnorm gesteigerte Synchronisation im Gamma-Frequenzband zu entwickeln. Diese könnte als pathologisches elektrophysiologisches Element den LID zugrunde liegen. Unterschiedliche Arbeiten deuten entweder auf das Striatum (103) oder den M1 (75, 81, 82) als Ausgangspunkt für die Übersynchronisation im Gamma-Bereich. Die vorliegenden Daten unterstützen letztere Hypothese, doch sollte auch hier das experimentelle Design um die Erhebung motorischer Daten parallel zur elektrophysiologischen Ableitung erweitert werden, um die Aussagekraft zu erhöhen.

Ebenso offen bleibt die Frage, in welchem Maß und mit welcher funktionellen Bedeutung kortikale wie subkortikale Gamma-Aktivierung physiologisch vorkommt. Die derzeitige Studienlage ist in dieser Hinsicht sehr heterogen, möglicherweise bedingt durch die Abhängigkeit des Auftretens vom globalen kortikalen Aktivierungszustand. Eine weitere Einflussgröße könnte die variable Fokalität abhängig vom motorischen Zustand sein. Im STN unterscheidet sich die räumliche Ausbreitung von Gamma-Oszillationen zwischen Ruhe und Bewegung (104). Wird keine Bewegung ausgeführt, sind die Regionen mit Gamma-Aktivierung irregulär und fokal, weshalb sie in unbeweglichen Patienten ohne LD Medikation nur inkonsistent beobachtet werden können (66). Mit Beginn einer Bewegung weitet sich der Bereich subthalamischer Gamma-Synchronisation diffus aus.

Eine Weiterentwicklung der THS, die in jüngerer Zeit immer mehr in den Fokus rückt, ist die adaptive Stimulation oder *closed-loop* THS. Hier wird, im Gegensatz zur kontinuierlichen Stimulation, nur angepasst an zeitgleich gemessene elektrophysiologische Parameter stimuliert. Erste Versuche, die allein die subthalamische Beta-Aktivität als Trigger nutzten, konnten dabei schon um 30 % effektivere Kontrolle der Motorsymptomatik bei weniger Nebenwirkungen und 50 % geringerem Batterieverbrauch erzielen (105). Viele unterschiedliche Algorithmen der optimalen adaptiven THS befinden sich derzeit unter Erprobung. Bis dato wird die THS vornehmlich in späteren Stadien der Erkrankung eingesetzt, doch konnte gezeigt werden, dass Patienten auch schon früher im Erkrankungsverlauf von dieser Therapieoption profitieren (106). Gerade vor dem Hintergrund möglicherweise jahrzehntelanger Anwendung scheint es daher angezeigt, die Stimulation durch Verwendung adaptiver Paradigmen auf ein notwendiges Minimum zu begrenzen. Unsere Daten legen nahe, dass neben kortikaler wie subkortikaler Beta-Aktivität zur optimalen Symptomkontrolle ebenso kortikale Gamma-Synchronisation zur Adjustierung in Betracht gezogen werden sollte. Die auch im Rahmen der THS beschriebenen Dyskinesien könnten ebenso Folge der exzessiven Gamma-Synchronisation sein. In einer jüngst veröffentlichten Studie an zwei IPS Patienten wurde unter dieser Annahme bei Überschreiten eines definierten Grenzwertes kortikaler Gamma-Aktivität die Stimulationsamplitude reduziert. Dieses adaptive Konzept führte zwar zu einer Reduktion des Energieverbrauchs, wobei allerdings keine klinische Überlegenheit hinsichtlich Symptomkontrolle und Nebenwirkungsrate gegenüber der kontinuierlichen Stimulation nachgewiesen werden konnte (107). Dennoch scheint eine weitere Erprobung adaptiver Konzepte unter Berücksichtigung von Gamma-Aktivität angezeigt.

3. Literaturverzeichnis

1. Eggert K, Oertel W, Reichmann H, Arnold G, Baas H, Berg D, et al. Leitlinien: Parkinson-Syndrome - Diagnostik und Therapie. AWMF online. 2012:69.
2. Nutt JG, Wooten GF. Clinical practice. Diagnosis and initial management of Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2005;353(10):1021-7.
3. Fachgesellschaften AdWM. S3 Leitlinie Idiopathisches Parkinsonsyndrom 2016 [cited 2018 28.09.]. Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/030-0101_S3_Parkinson_Syndrome_Idiopathisch_2016-06.pdf.
4. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1591-601.
5. Postuma RB, Poewe W, Litvan I, Lewis S, Lang AE, Halliday G, et al. Validation of the MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2018.
6. Chaudhuri KR, Yates L, Martinez-Martin P. The non-motor symptom complex of Parkinson's disease: a comprehensive assessment is essential. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2005;5(4):275-83.
7. Nambu A, Tachibana Y. Mechanism of parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia: some considerations based on our recent work. *Front Syst Neurosci*. 2014;8:74.
8. Rubin JE, McIntyre CC, Turner RS, Wichmann T. Basal ganglia activity patterns in parkinsonism and computational modeling of their downstream effects. *Eur J Neurosci*. 2012;36(2):2213-28.
9. Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Prog Brain Res*. 1990;85:119-46.
10. DeLong MR, Wichmann T. Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. *Arch Neurol*. 2007;64(1):20-4.
11. Miller DB, O'Callaghan JP. Biomarkers of Parkinson's disease: present and future. *Metabolism*. 2015;64(3 Suppl 1):S40-6.
12. Marsden CD. Parkinson's disease. *Lancet*. 1990;335(8695):948-52.
13. Dexter DT, Jenner P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radic Biol Med*. 2013;62:132-44.
14. Katzenschlager R, Lees AJ. Treatment of Parkinson's disease: levodopa as the first choice. *J Neurol*. 2002;249 Suppl 2:II19-24.
15. Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, Barton B, de Bie RMA, Seppi K, et al. International Parkinson and movement disorder society evidence-based medicine review: Update on treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2018.
16. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*. 2014;311(16):1670-83.
17. Vidailhet M. Movement disorders in 2010: Parkinson disease-symptoms and treatments. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(2):70-2.
18. Schrag A, Jahanshahi M, Quinn N. How does Parkinson's disease affect quality of life? A comparison with quality of life in the general population. *Mov Disord*. 2000;15(6):1112-8.
19. Post B, Muslimovic D, van Geloven N, Speelman JD, Schmand B, de Haan RJ, et al. Progression and prognostic factors of motor impairment, disability and quality of life in newly diagnosed Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011;26(3):449-56.
20. Sharma JC, Ross IN, Rascol O, Brooks D. Relationship between weight, levodopa and dyskinesia: the significance of levodopa dose per kilogram body weight. *Eur J Neurol*. 2008;15(5):493-6.
21. Chondrogiorgi M, Tatsioni A, Reichmann H, Konitsiotis S. Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease and potential risk factors for dyskinesia: a meta-analysis of levodopa-controlled trials. *Eur J Neurol*. 2014;21(3):433-40.
22. Stathis P, Konitsiotis S, Antonini A. Dopamine agonists early monotherapy for the delay of development of levodopa-induced dyskinesias. *Expert Rev Neurother*. 2015;15(2):207-13.
23. Ferreira JJ, Katzenschlager R, Bloem BR, Bonuccelli U, Burn D, Deuschl G, et al. Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2013;20(1):5-15.
24. Limousin P, Krack P, Pollak P, Benazzouz A, Ardouin C, Hoffmann D, et al. Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 1998;339(16):1105-11.
25. Buzsaki G, Anastassiou CA, Koch C. The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13(6):407-20.
26. Engel AK, Fries P. Beta-band oscillations--signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol*. 2010;20(2):156-65.
27. Gilbertson T, Lalo E, Doyle L, Di Lazzaro V, Cioni B, Brown P. Existing motor state is favored at the expense of new movement during 13-35 Hz oscillatory synchrony in the human corticospinal system. *J Neurosci*. 2005;25(34):7771-9.

28. Baker SN, Olivier E, Lemon RN. Coherent oscillations in monkey motor cortex and hand muscle EMG show task-dependent modulation. *J Physiol.* 1997;501 (Pt 1):225-41.
29. Kilner JM, Baker SN, Salenius S, Jousmaki V, Hari R, Lemon RN. Task-dependent modulation of 15-30 Hz coherence between rectified EMGs from human hand and forearm muscles. *J Physiol.* 1999;516 (Pt 2):559-70.
30. Klostermann F, Nikulin VV, Kuhn AA, Marzinzik F, Wahl M, Pogosyan A, et al. Task-related differential dynamics of EEG alpha- and beta-band synchronization in cortico-basal motor structures. *Eur J Neurosci.* 2007;25(5):1604-15.
31. Pogosyan A, Gaynor LD, Eusebio A, Brown P. Boosting cortical activity at Beta-band frequencies slows movement in humans. *Curr Biol.* 2009;19(19):1637-41.
32. Androurlidakis AG, Doyle LM, Gilbertson TP, Brown P. Corrective movements in response to displacements in visual feedback are more effective during periods of 13-35 Hz oscillatory synchrony in the human corticospinal system. *Eur J Neurosci.* 2006;24(11):3299-304.
33. Swann N, Tandon N, Canolty R, Ellmore TM, McEvoy LK, Dreyer S, et al. Intracranial EEG reveals a time- and frequency-specific role for the right inferior frontal gyrus and primary motor cortex in stopping initiated responses. *J Neurosci.* 2009;29(40):12675-85.
34. Wheaton L, Fridman E, Bohlhalter S, Vorbach S, Hallett M. Left parietal activation related to planning, executing and suppressing praxis hand movements. *Clin Neurophysiol.* 2009;120(5):980-6.
35. Koelewijn T, van Schie HT, Bekkering H, Oostenveld R, Jensen O. Motor-cortical beta oscillations are modulated by correctness of observed action. *Neuroimage.* 2008;40(2):767-75.
36. Mallet N, Pogosyan A, Marton LF, Bolam JP, Brown P, Magill PJ. Parkinsonian beta oscillations in the external globus pallidus and their relationship with subthalamic nucleus activity. *J Neurosci.* 2008;28(52):14245-58.
37. Mallet N, Pogosyan A, Sharott A, Csicsvari J, Bolam JP, Brown P, et al. Disrupted dopamine transmission and the emergence of exaggerated beta oscillations in subthalamic nucleus and cerebral cortex. *J Neurosci.* 2008;28(18):4795-806.
38. Sharott A, Magill PJ, Harnack D, Kupsch A, Meissner W, Brown P. Dopamine depletion increases the power and coherence of beta-oscillations in the cerebral cortex and subthalamic nucleus of the awake rat. *Eur J Neurosci.* 2005;21(5):1413-22.
39. Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz AV, Walters JR. Subthalamic nucleus activity in the awake hemiparkinsonian rat: relationships with motor and cognitive networks. *J Neurosci.* 2015;35(17):6918-30.
40. Beck MH, Haumesser JK, Kühn J, Altschüler J, Kühn AA, van Riesen C. Short- and long-term dopamine depletion causes enhanced beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop of parkinsonian rats. *Exp Neurol.* 2016;286:124-36.
41. Giannicola G, Rosa M, Servello D, Menghetti C, Carrabba G, Pacchetti C, et al. Subthalamic local field potentials after seven-year deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2012;237(2):312-7.
42. Little S, Brown P. What brain signals are suitable for feedback control of deep brain stimulation in Parkinson's disease? *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1265:9-24.
43. Neumann WJ, Degen K, Schneider GH, Brucke C, Huebl J, Brown P, et al. Subthalamic synchronized oscillatory activity correlates with motor impairment in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2016;31(11):1748-51.
44. Neumann WJ, Kuhn AA. Subthalamic beta power-Unified Parkinson's disease rating scale III correlations require akinetic symptoms. *Mov Disord.* 2017;32(1):175-6.
45. 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(Pt 6):1196-209.
46. 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(2):369-79.
47. 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(Pt 6):1235-46.
48. Kühn AA, Kupsch A, Schneider GH, Brown P. Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *Eur J Neurosci.* 2006;23(7):1956-60.
49. 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(6):3248-56.
50. Ray NJ, Jenkinson N, Wang S, Holland P, Brittain JS, Joint C, et al. Local field potential beta activity in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease is associated with improvements in bradykinesia after dopamine and deep brain stimulation. *Exp Neurol.* 2008;213(1):108-13.
51. Kuhn 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(Pt 4):735-46.
52. Doyle LM, Kühn AA, Hariz M, Kupsch A, Schneider GH, Brown P. Levodopa-induced modulation of subthalamic beta oscillations during self-paced movements in patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurosci.* 2005;21(5):1403-12.

53. Eusebio A, Thevathasan W, Doyle Gaynor L, Pogosyan A, Bye E, Foltynie T, et al. Deep brain stimulation can suppress pathological synchronisation in parkinsonian patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(5):569-73.
54. Bronte-Stewart H, Barberini C, Koop MM, Hill BC, Henderson JM, Wingeier B. The STN beta-band profile in Parkinson's disease is stationary and shows prolonged attenuation after deep brain stimulation. *Exp Neurol*. 2009;215(1):20-8.
55. 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(2):380-7.
56. Fogelson N, Kuhn AA, Silberstein P, Limousin PD, Hariz M, Trottenberg T, et al. Frequency dependent effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2005;382(1-2):5-9.
57. Chen CC, Litvak V, Gilbertson T, Kühn A, Lu CS, Lee ST, et al. Excessive synchronization of basal ganglia neurons at 20 Hz slows movement in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2007;205(1):214-21.
58. Lofredi R, Neumann WJ, Bock A, Horn A, Huebl J, Siegart S, et al. Dopamine-dependent scaling of subthalamic gamma bursts with movement velocity in patients with Parkinson's disease. *Elife*. 2018;7.
59. Jenkinson N, Kuhn AA, Brown P. gamma oscillations in the human basal ganglia. *Exp Neurol*. 2013;245:72-6.
60. 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(3):1033-8.
61. Brown P. Oscillatory nature of human basal ganglia activity: relationship to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2003;18(4):357-63.
62. Kempf F, Brucke C, Salih F, Trottenberg T, Kupsch A, Schneider GH, et al. Gamma activity and reactivity in human thalamic local field potentials. *Eur J Neurosci*. 2009;29(5):943-53.
63. Masimore B, Schmitzer-Torbert NC, Kakalios J, Redish AD. Transient striatal gamma local field potentials signal movement initiation in rats. *Neuroreport*. 2005;16(18):2021-4.
64. van der Meer MA, Kalenscher T, Lansink CS, Pennartz CM, Berke JD, Redish AD. Integrating early results on ventral striatal gamma oscillations in the rat. *Front Neurosci*. 2010;4:300.
65. Androulidakis AG, Kuhn AA, Chen CC, Blomstedt P, Kempf F, Kupsch A, et al. Dopaminergic therapy promotes lateralized motor activity in the subthalamic area in Parkinson's disease. *Brain*. 2007;130(Pt 2):457-68.
66. Trottenberg T, Fogelson N, Kuhn AA, Kivi A, Kupsch A, Schneider GH, et al. Subthalamic gamma activity in patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2006;200(1):56-65.
67. Alegre M, Alonso-Frech F, Rodriguez-Oroz MC, Guridi J, Zamarbide I, Valencia M, et al. Movement-related changes in oscillatory activity in the human subthalamic nucleus: ipsilateral vs. contralateral movements. *Eur J Neurosci*. 2005;22(9):2315-24.
68. Cagnan H, Kuhn AA, Brown P. Co-modulation of finely tuned high-gamma band activity across hemispheres in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol*. 2014;125(4):777-85.
69. Litvak V, Eusebio A, Jha A, Oostenveld R, Barnes G, Foltynie T, et al. Movement-related changes in local and long-range synchronization in Parkinson's disease revealed by simultaneous magnetoencephalography and intracranial recordings. *J Neurosci*. 2012;32(31):10541-53.
70. Brucke C, Huebl J, Schonecker T, Neumann WJ, Yarrow K, Kupsch A, et al. Scaling of movement is related to pallidal gamma oscillations in patients with dystonia. *J Neurosci*. 2012;32(3):1008-19.
71. Joundi RA, Brittain JS, Green AL, Aziz TZ, Brown P, Jenkinson N. Oscillatory activity in the subthalamic nucleus during arm reaching in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2012;236(2):319-26.
72. Joundi RA, Jenkinson N, Brittain JS, Aziz TZ, Brown P. Driving oscillatory activity in the human cortex enhances motor performance. *Curr Biol*. 2012;22(5):403-7.
73. Tsang EW, Hamani C, Moro E, Mazzella F, Saha U, Lozano AM, et al. Subthalamic deep brain stimulation at individualized frequencies for Parkinson disease. *Neurology*. 2012;78(24):1930-8.
74. Fogelson N, Pogosyan A, Kuhn AA, Kupsch A, van Bruggen G, Speelman H, et al. Reciprocal interactions between oscillatory activities of different frequencies in the subthalamic region of patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*. 2005;22(1):257-66.
75. Swann NC, de Hemptinne C, Miocinovic S, Qasim S, Wang SS, Ziman N, et al. Gamma Oscillations in the Hyperkinetic State Detected with Chronic Human Brain Recordings in Parkinson's Disease. *J Neurosci*. 2016;36(24):6445-58.
76. Alonso-Frech F, Zamarbide I, Alegre M, Rodriguez-Oroz MC, Guridi J, Manrique M, et al. Slow oscillatory activity and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Brain*. 2006;129(Pt 7):1748-57.
77. Alegre M, Lopez-Azcarate J, Alonso-Frech F, Rodriguez-Oroz MC, Valencia M, Guridi J, et al. Subthalamic activity during diphasic dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012;27(9):1178-81.
78. Rodriguez-Oroz MC, Lopez-Azcarate J, Garcia-Garcia D, Alegre M, Toledo J, Valencia M, et al. Involvement of the subthalamic nucleus in impulse control disorders associated with Parkinson's disease. *Brain*. 2011;134(Pt 1):36-49.
79. Chen CC, Kuhn AA, Hoffmann KT, Kupsch A, Schneider GH, Trottenberg T, et al. Oscillatory pallidal local field potential activity correlates with involuntary EMG in dystonia. *Neurology*. 2006;66(3):418-20.

80. Silberstein P, Pogosyan A, Kuhn AA, Hotton G, Tisch S, Kupsch A, et al. Cortico-cortical coupling in Parkinson's disease and its modulation by therapy. *Brain*. 2005;128(Pt 6):1277-91.
81. Halje P, Tamte M, Richter U, Mohammed M, Cenci MA, Petersson P. Levodopa-induced dyskinesia is strongly associated with resonant cortical oscillations. *J Neurosci*. 2012;32(47):16541-51.
82. Dupre KB, Cruz AV, McCoy AJ, Delaville C, Gerber CM, Eyring KW, et al. Effects of L-dopa priming on cortical high beta and high gamma oscillatory activity in a rodent model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2016;86:1-15.
83. Salvade A, D'Angelo V, Di Giovanni G, Tinkhauser G, Sancesario G, Stadler C, et al. Distinct roles of cortical and pallidal beta and gamma frequencies in hemiparkinsonian and dyskinetic rats. *Exp Neurol*. 2016;275 Pt 1:199-208.
84. Sharott A, Gulberti A, Zittel S, Tudor Jones AA, Fickel U, Munchau A, et al. Activity parameters of subthalamic nucleus neurons selectively predict motor symptom severity in Parkinson's disease. *J Neurosci*. 2014;34(18):6273-85.
85. Kuhn J, Haumesser JK, Beck MH, Altschuler J, Kuhn AA, Nikulin VV, et al. Differential effects of levodopa and apomorphine on neuronal population oscillations in the cortico-basal ganglia loop circuit in vivo in experimental parkinsonism. *Exp Neurol*. 2017;298(Pt A):122-33.
86. Meredith GE, Kang UJ. Behavioral models of Parkinson's disease in rodents: a new look at an old problem. *Mov Disord*. 2006;21(10):1595-606.
87. Schallert T, Fleming SM, Leasure JL, Tillerson JL, Bland ST. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2000;39(5):777-87.
88. Olsson M, Nikkhah G, Bentlage C, Bjorklund A. Forelimb akinesia in the rat Parkinson model: differential effects of dopamine agonists and nigral transplants as assessed by a new stepping test. *J Neurosci*. 1995;15(5 Pt 2):3863-75.
89. Blandini F, Armentero MT. Animal models of Parkinson's disease. *FEBS J*. 2012;279(7):1156-66.
90. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Sydney: Academic Press. 2013.
91. Folle LE, Levesque RI. Circulatory, respiratory and acid-base balance changes produced by anesthetics in the rat. *Acta Biol Med Ger*. 1976;35(5):605-12.
92. Clement EA, Richard A, Thwaites M, Ailon J, Peters S, Dickson CT. Cyclic and sleep-like spontaneous alternations of brain state under urethane anaesthesia. *PLoS One*. 2008;3(4):e2004.
93. Buzsaki G, Bickford RG, Ponomareff G, Thal LJ, Mandel R, Gage FH. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J Neurosci*. 1988;8(11):4007-26.
94. Metherate R, Cox CL, Ashe JH. Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine. *J Neurosci*. 1992;12(12):4701-11.
95. Magill PJ, Bolam JP, Bevan MD. Relationship of activity in the subthalamic nucleus-globus pallidus network to cortical electroencephalogram. *J Neurosci*. 2000;20(2):820-33.
96. Magill PJ, Bolam JP, Bevan MD. Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *Neuroscience*. 2001;106(2):313-30.
97. Magill PJ, Pogosyan A, Sharott A, Csicsvari J, Bolam JP, Brown P. Changes in functional connectivity within the rat striatopallidal axis during global brain activation in vivo. *J Neurosci*. 2006;26(23):6318-29.
98. Kirik D, Rosenblad C, Bjorklund A. Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat. *Exp Neurol*. 1998;152(2):259-77.
99. Steiner B, Winter C, Blumensath S, Paul G, Harnack D, Nikkhah G, et al. Survival and functional recovery of transplanted human dopaminergic neurons into hemiparkinsonian rats depend on the cannula size of the implantation instrument. *J Neurosci Methods*. 2008;169(1):128-34.
100. Brown P, Williams D. Basal ganglia local field potential activity: character and functional significance in the human. *Clin Neurophysiol*. 2005;116(11):2510-9.
101. Hammond C, Bergman H, Brown P. Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends Neurosci*. 2007;30(7):357-64.
102. Moran A, Bergman H, Israel Z, Bar-Gad I. Subthalamic nucleus functional organization revealed by parkinsonian neuronal oscillations and synchrony. *Brain*. 2008;131(Pt 12):3395-409.
103. Cenci MA. Dopamine dysregulation of movement control in L-DOPA-induced dyskinesia. *Trends Neurosci*. 2007;30(5):236-43.
104. Geng X, Xu X, Horn A, Li N, Ling Z, Brown P, et al. Intra-operative characterisation of subthalamic oscillations in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol*. 2018;129(5):1001-10.
105. Rosa M, Arlotti M, Ardolino G, Cogiamanian F, Marceglia S, Di Fonzo A, et al. Adaptive deep brain stimulation in a freely moving Parkinsonian patient. *Mov Disord*. 2015;30(7):1003-5.
106. Schuepbach WM, Rau J, Knudsen K, Volkmann J, Krack P, Timmermann L, et al. Neurostimulation for Parkinson's disease with early motor complications. *N Engl J Med*. 2013;368(7):610-22.

107. Swann NC, de Hemptinne C, Thompson MC, Miocinovic S, Miller AM, Gilron R, et al. Adaptive deep brain stimulation for Parkinson's disease using motor cortex sensing. *J Neural Eng.* 2018;15(4):046006.

4. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Johanna Kühn, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Einfluss dopaminergener Medikation auf Beta- und Gamma Oszillationen im 6 OHDA Modell des Idiopathischen Parkinson-Syndroms“ 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 den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, 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

5. Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Johanna Kühn hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation

Differential effects of levodopa and apomorphine on neuronal population oscillations in the cortico-basal ganglia loop circuit in vivo in experimental parkinsonism.

Kühn J, Haumesser JK, Beck MH, Altschüler J, Kühn AA, Nikulin VV., van Riesen C.

Exp Neurol. 2017;298:122–33.

Beitrag im Einzelnen

- Etablierung des medikamentösen Stimulationsprotokolls
- Versuchsvorbereitung: Bau von Silber-Silberchlorid Elektroden, Ansetzen der verwendeten Lösungen, insbesondere 6-Hydroxydopaminlösungen
- Eigenständige Durchführung des überwiegenden Teils der Experimente (n=40)
 - o Durchführung von Verhaltensversuchen
 - o Injektion des 6-OHDA mittels stereotaktischer Operation
 - o postoperative Versorgung der operierten Ratten (Gewichts-, Verhaltens- und Wundkontrolle, Analgesie)
 - o Stereotaktische Operation und Implantation der Elektroden zur elektrophysiologischen Ableitung
 - o Durchführung elektrophysiologischer Ableitungen
 - o Durchführung transkardialer Perfusionen, Gehirnentnahmen, Kryokonservierung
- Histologische Aufarbeitung der entnommenen Gehirne
 - o Kryoschnitte, Nissl-Färbungen, immunhistochemische Tyrosinhydroxylase-Färbung
 - o Lichtmikroskopische strukturelle Auswertung zur Lokalisation der Elektroden und 6OHDA Läsionen und densitometrische Analyse des Striatums zum Nachweis der erfolgreichen Läsion
- Datenanalyse und Auswertung
 - o Elektrophysiologische Datenanalyse mittels selbstverfasster automatisierter Analysealgorithmen in Matlab ©
 - o Statistische Auswertung elektrophysiologischer, histologischer und Verhaltensdaten
 - o Beitrag zur Ergebnisinterpretation
- Literaturrecherche, hauptsächliche Gestaltung des Manuskriptes, Erstellen sämtlicher Abbildungen, wesentliche Mitarbeit im Revisions-Prozess

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

6. Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"NEUROSCIENCES"** Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 261 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE REVIEWS NEUROSCIENCE	40,834	32.635	0.069940
2	NATURE NEUROSCIENCE	59,426	19.912	0.153710
3	ACTA NEUROPATHOLOGICA	18,783	15.872	0.041490
4	TRENDS IN COGNITIVE SCIENCES	25,391	15.557	0.040790
5	BEHAVIORAL AND BRAIN SCIENCES	8,900	15.071	0.010130
6	Annual Review of Neuroscience	13,320	14.675	0.016110
7	NEURON	89,410	14.318	0.216730
8	PROGRESS IN NEUROBIOLOGY	13,065	14.163	0.015550
9	BIOLOGICAL PSYCHIATRY	42,494	11.982	0.056910
10	MOLECULAR PSYCHIATRY	18,460	11.640	0.047200
11	JOURNAL OF PINEAL RESEARCH	9,079	11.613	0.008600
12	TRENDS IN NEUROSCIENCES	20,061	11.439	0.026860
13	BRAIN	52,061	10.840	0.075170
14	SLEEP MEDICINE REVIEWS	6,080	10.602	0.010720
15	ANNALS OF NEUROLOGY	37,251	10.244	0.053390
16	Translational Stroke Research	2,202	8.266	0.005260
17	NEUROSCIENCE AND BIOBEHAVIORAL REVIEWS	24,279	8.037	0.048460
18	NEUROSCIENTIST	4,738	7.461	0.008730
19	NEURAL NETWORKS	10,086	7.197	0.015290
20	FRONTIERS IN NEUROENDOCRINOLOGY	3,924	6.875	0.006040
21	NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY	24,537	6.544	0.042870
22	CURRENT OPINION IN NEUROBIOLOGY	14,190	6.541	0.034670
23	Molecular Neurodegeneration	3,489	6.426	0.009850
24	CEREBRAL CORTEX	29,570	6.308	0.058970
25	BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY	12,583	6.306	0.026850
26	BRAIN PATHOLOGY	4,952	6.187	0.007750
27	Brain Stimulation	4,263	6.120	0.014510
28	NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY	3,654	6.059	0.006350
29	JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM	19,450	6.045	0.028280
30	JOURNAL OF NEUROSCIENCE	176,157	5.970	0.265950
31	Molecular Autism	1,679	5.872	0.006320
31	Translational Neurodegeneration	589	5.872	0.002280
33	GLIA	13,417	5.846	0.020530
34	Neurotherapeutics	3,973	5.719	0.008980
35	PAIN	36,132	5.559	0.038000
36	NEUROIMAGE	92,719	5.426	0.152610
37	Acta Neuropathologica Communications	2,326	5.414	0.011550
38	Multiple Sclerosis Journal	10,675	5.280	0.021890

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
39	NEUROBIOLOGY OF DISEASE	16,259	5.227	0.031390
40	Journal of Neuroinflammation	9,761	5.193	0.024860
41	JOURNAL OF PSYCHIATRY & NEUROSCIENCE	2,989	5.182	0.004700
42	Annual Review of Vision Science	227	5.140	0.001660
43	SLEEP	20,547	5.135	0.025870
44	MOLECULAR NEUROBIOLOGY	10,183	5.076	0.023310
45	NEUROENDOCRINOLOGY	4,670	5.024	0.005340
46	Alzheimers Research & Therapy	2,192	5.015	0.008470
47	JOURNAL OF NEUROTRAUMA	14,508	5.002	0.021130
48	HUMAN BRAIN MAPPING	20,334	4.927	0.042810
49	CORTEX	9,506	4.907	0.023240
50	NEUROPSYCHOLOGY REVIEW	2,996	4.894	0.004070
51	JOURNAL OF PAIN	9,264	4.859	0.016890
52	Developmental Cognitive Neuroscience	1,964	4.815	0.008170
53	JOURNAL OF PSYCHOPHARMACOLOGY	5,808	4.738	0.010900
54	PSYCHONEUROENDOCRINOLOGY	16,507	4.731	0.030420
55	Annals of Clinical and Translational Neurology	1,377	4.649	0.006450
56	EUROPEAN JOURNAL OF NEUROLOGY	10,206	4.621	0.019350
57	JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY	37,022	4.609	0.030710
58	JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LONDON	48,647	4.540	0.045010
59	BIPOLAR DISORDERS	5,070	4.490	0.007870
60	EXPERIMENTAL NEUROLOGY	20,806	4.483	0.027350
61	NEUROBIOLOGY OF AGING	21,914	4.454	0.044830
62	Frontiers in Cellular Neuroscience	7,825	4.300	0.031560
63	NEUROPHARMACOLOGY	19,698	4.249	0.037040
64	Brain Structure & Function	5,283	4.231	0.016860
65	ACS Chemical Neuroscience	4,336	4.211	0.013270
66	PROGRESS IN NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY & BIOLOGICAL PSYCHIATRY	9,823	4.185	0.013170
67	EUROPEAN NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY	6,920	4.129	0.015110
67	Neurophotonics	533	4.129	0.002070
69	Current Neuropharmacology	2,851	4.068	0.004520
70	CURRENT OPINION IN NEUROLOGY	5,344	4.010	0.010200
71	INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY	6,259	3.981	0.014550
72	HIPPOCAMPUS	8,831	3.966	0.015070
73	Journal of Neural Engineering	5,551	3.920	0.009750
74	Frontiers in Molecular Neuroscience	2,881	3.902	0.009790

2

Selected JCR Year: 2017; Selected Categories: "NEUROSCIENCES"

Position 60 von 261

7. Druckexemplar der ausgewählten Publikation

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

DOI: [10.1016/j.expneurol.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005)

8. Lebenslauf

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

9. Vollständige Publikationsliste

Differential effects of levodopa and apomorphine on neuronal population oscillations in the cortico-basal ganglia loop circuit in vivo in experimental parkinsonism.

Kühn J, Haumesser JK, Beck MH, Altschüler J, Kühn AA, Nikulin VV, van Riesen C.
Exp Neurol. 2017;298(Pt A):122-133.
Impact Factor 4.483 (2017)

Acute In Vivo Electrophysiological Recordings of Local Field Potentials and Multi-unit Activity from the Hyperdirect Pathway in Anesthetized Rats.

Haumesser JK, **Kühn J**, Güttler C, Nguyen DH, Beck MH, Kühn AA, van Riesen C.
J Vis Exp. 2017;2017(124):e55940–e55940.
Impact Factor 1.232 (2016)

Short- and long-term dopamine depletion causes enhanced beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop of parkinsonian rats.

Beck MH, Haumesser JK, **Kühn J**, Altschüler J, Kühn AA, van Riesen C.
Exp Neurol. 2016;286:124-136.
Impact Factor 4.483 (2017)

10. Danksagung

Meiner betreuenden Hochschullehrerin Frau Prof. Dr. med. Andrea Kühn danke ich für die Überlassung des Themas, ihre immer wieder essentiellen fachlichen Anregungen sowie die mehrfache Unterstützung bei der Bewerbung um Stipendien.

Des Weiteren gilt mein Dank Dr. med. Christoph van Riesen, meinem Gruppenleiter und direkten wissenschaftlichen Betreuer, der mein Hineinwachsen in die unterschiedlichen Aspekte wissenschaftlichen Arbeitens mit viel Geduld und Motivation begleitet und gefördert hat.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Jens Kersten Haumesser, der mich in sämtliche praktischen Aspekte des Projektes eingearbeitet hat und wirklich jederzeit mit Rat und Unterstützung zur Verfügung stand.

Dr. Vadim Nikulin und seinen Gruppenmitgliedern bin ich dankbar für die höchst kompetente Beratung und Unterstützung in Sachen elektrophysiologische Datenanalyse, Programmieren und Statistik, das hier Erlernte wird mir noch weit über dieses Projekt hinaus nützlich sein.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Kollegen unseres Labors und unserer Kooperationspartner, deren wichtige Ratschläge sowie kleinen und großen Hilfestellungen mich auch die anstrengenden Phasen des Projektes meistern ließen.

Nur dank der finanziellen Unterstützung der studentischen Forschungsförderung der Charité und

der Deutschen Forschungsgemeinschaft konnte ich mich für ein Jahr voll auf die experimentelle Durchführung des Projektes konzentrieren, auch hierfür gilt mein Dank.

Familie und Freunden danke ich für den bedingungslosen Rückhalt, den Zuspruch und die unerschütterlich gute Laune.