

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

DISSERTATION

Das idiopathische Parkinson-Syndrom als Netzwerkerkrankung:  
Methodenetablierung und Analyse von oszillatorischer Aktivität  
neuronaler Netzwerke in Tiermodellen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jens Kersten Haumesser

aus Wolfenbüttel

Datum der Promotion:  
13.12.2019

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Abstract.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Einführung.....</b>	<b>6</b>
3.1 <i>Wissenschaftlicher Hintergrund .....</i>	6
3.2 <i>Zielsetzung der Promotionsarbeit.....</i>	8
<b>4. Methodik .....</b>	<b>9</b>
4.1 <i>Tiere und Materialien .....</i>	9
4.2 <i>Stereotaktische Chirurgie und elektrophysiologische Ableitungen .....</i>	9
4.3 <i>Induktion der Tiermodelle und Verhaltenstests .....</i>	10
4.4 <i>Histologie und Immunhistologie .....</i>	11
4.5 <i>Elektrophysiologische Datenanalyse.....</i>	12
4.6 <i>Experimentelles Design .....</i>	13
4.7 <i>Statistische Auswertung.....</i>	13
<b>5. Ergebnisse.....</b>	<b>14</b>
5.1 <i>Ableitung des Hyperdirekten Weges.....</i>	14
5.2 <i>Verhaltenseffekte und Immunhistologie .....</i>	14
5.3 <i>Vergleich von Reserpin- und 6-OHDA-Modell.....</i>	15
5.4 <i>Pharmakologische Modulation von Beta- und Gamma-Oszillationen .....</i>	16
<b>6. Diskussion.....</b>	<b>18</b>
6.1 <i>Gesteigerte Beta-Oszillationen im Kortex-Basalganglien-Netzwerk .....</i>	18
6.2 <i>Modulation von Beta- und Gamma-Oszillationen .....</i>	19
6.3 <i>Limitationen .....</i>	20
6.4 <i>Die Untersuchung neuronaler Netzwerke.....</i>	21
6.5 <i>Fazit.....</i>	21
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>22</b>
<b>8. Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>27</b>
<b>9. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen.....</b>	<b>28</b>
<b>10. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen .....</b>	<b>30</b>
<b>11. Lebenslauf .....</b>	<b>66</b>
<b>12. Vollständige Publikationsliste .....</b>	<b>68</b>
<b>13. Danksagung .....</b>	<b>70</b>

# 1. Abkürzungsverzeichnis

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
APO	Apomorphin
AS	<i>Activated State</i>
a.u.	<i>arbitrary units</i>
BO	Beta-Oszillationen
GO	Gamma-Oszillationen
IPS	Idiopathisches Parkinsonsyndrom
LD	Levodopa
LFPs	Lokale Feldpotentiale
M1	Primärer Motorkortex
MUA	<i>Multi-Unit-Aktivität</i>
SNC	Substantia nigra pars compacta
SNr	Substantia nigra pars reticulata
STN	Nucleus subthalamicus
STR	Striatum
STWA	<i>spike-triggered waveform averages</i>
SWA	<i>Slow Wave Activity</i>
THS	Tiefe Hirnstimulation
WME	Wolfram-Mikroelektroden

## 2. Abstract

### Deutsch

**Hintergrund:** Das idiopathische Parkinsonsyndrom (IPS) wird zunehmend als Netzwerkerkrankung mit gestörter oszillatorischer Aktivität in der Kortex-Basalganglien-Schleife verstanden. Untersuchungen an Patienten mit IPS, die mittels Tiefer Hirnstimulation behandelt werden, zeigten in den lokalen Feldpotentialen (LFPs) im kortiko-basalganglionären Netzwerk gesteigerte Aktivität im Beta-Frequenzbereich, sog. Beta-Oszillationen. Neuere Studien legen einen Zusammenhang von Beta-Oszillationen und Akinese nahe, der jedoch durch tierexperimentelle Studien mit akuter Dopamindepletion ohne gesteigerte Beta-Oszillationen in Frage gestellt wird. Zu den wichtigsten therapeutischen Pharmaka, Levodopa und Dopaminagonisten, besteht die Hypothese, dass diese neben ihrem klinisch unterschiedlichen Wirkprofil auch verschiedene Effekte auf die oszillatorische Netzwerkaktivität in primärem Motorkortex und Basalganglien haben.

**Methodik:** Es erfolgte die Etablierung einer Methode zur simultanen extrazellulären elektrophysiologischen Ableitung aus primärem Motorkortex, Nucleus subthalamicus und Substantia nigra pars reticulata in IPS-Tiermodellen der Ratte. Dabei wurden LFPs und *Multi-Unit*-Aktivität (MUA) in Urethan-Narkose registriert. Neben motorischen Verhaltensuntersuchungen wurde die oszillatorische Netzwerkaktivität im akuten Reserpin-Modell und chronischen 6-Hydroxydopamin-Modell (6-OHDA) vergleichend analysiert, ebenso wurde die Modulation dieser Oszillationen durch aufsteigende Dosen Apomorphin als Dopaminagonisten und Levodopa im 6-OHDA-Modell betrachtet.

**Ergebnisse:** Die Reserpin- und 6-OHDA-Behandlung führten zu erheblicher Akinese. Mit einem neu entwickelten experimentellen Ansatz war es möglich, LFPs und MUA simultan aus mehreren Strukturen eines neuronalen Netzwerks in vivo abzuleiten. Erhöhte Beta-Oszillationen konnten in den Basalganglien beider Parkinson-Modelle nachgewiesen werden, aber nur das 6-OHDA-Modell zeigte eine Beteiligung des primären Motorkortex. Levodopa unterdrückte gesteigerte Beta-Oszillationen im 6-OHDA-Modell effektiver als Apomorphin, auch steigerte es bewegungsfördernde Gamma-Oszillationen stärker.

**Schlussfolgerung:** Gesteigerte Beta-Synchronität kam in zwei Parkinson-Modellen mit akutem oder langsam-progredientem Dopaminmangel vor. Dies unterstützt die Hypothese, dass erhöhte Beta-Oszillationen und Akinese unabhängig von der zeitlichen Entwicklung eines Dopamindefizits pathophysiologisch zusammenhängen und hebt

deren Bedeutung als Biomarker für die adaptive Tiefe Hirnstimulation hervor. Die unterschiedliche Wirkung auf Beta- und Gamma-Oszillationen von Levodopa und Apomorphin könnte für ihr unterschiedliches Wirk- und Nebenwirkungsprofil verantwortlich sein.

### **English**

**Background:** Recent studies refer to Parkinson's Disease (PD) as a network disorder with disturbed oscillatory activity in the cortico-basal ganglia loop. Clinical trials in patients with PD treated with Deep Brain Stimulation have shown exaggerated beta synchrony in the local field potentials (LFPs) of the cortico-basal ganglia network, so called beta oscillations. New correlative evidence suggests beta oscillations may be pathophysiologically linked to akinesia, which is questioned by animal studies with acute dopamine depletion not showing such elevated beta oscillations. The hypothesis has been formulated that the most important anti-parkinsonian drugs, Levodopa and dopamine antagonists, differ not only in their clinical potency and side effects, but also have differential effects on network oscillations.

**Methods:** A new approach to simultaneously record extracellular potentials from primary motor cortex, subthalamic nucleus and substantia nigra pars reticulata was used to investigate animal models of PD in the rat. Local field potentials (LFPs) and multi-unit activity (MUA) were registered in urethane anesthesia. Motor outcome was assessed and oscillatory network activity was compared in the acute reserpine and the chronic 6-hydroxydopamine (6-OHDA) model, and the modulation of these oscillations with increasing doses of apomorphine as dopamine antagonist and levodopa was analyzed.

**Results:** Both the reserpine and 6-OHDA model showed substantial akinesia. Simultaneous electrophysiological recordings of LFPs and MUA from different network structures in vivo were feasible with the newly developed approach. Exaggerated beta oscillations could be observed in both models, but only the 6-OHDA model showed involvement of the primary motor cortex. Levodopa suppressed beta oscillations and enhanced gamma-oscillations in the 6-OHDA model more effectively than apomorphine.

**Conclusion:** Increased beta synchrony was found in models of PD with either acute or long-term dopaminergic deficit. This finding supports the hypothesis of enhanced beta oscillations being pathophysiologically linked to akinesia irrespective of the time course of dopamine depletion, thus underlining their significance as a potential biomarker for adaptive deep brain stimulation. The different impact of levodopa and apomorphine on

beta- and gamma oscillations could be causative to their differing profile of clinical effects and side effects.

### **3. Einführung**

#### **3.1 Wissenschaftlicher Hintergrund**

Das idiopathische Parkinsonsyndrom (IPS) ist eine bisher unheilbare neurodegenerative Erkrankung, die durch die Kardinalsymptome Rigor, Tremor, Akinese und posturale Instabilität gekennzeichnet wird. Mit einer Prävalenz von ca. 1% der über 60-Jährigen ist es eine der häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen [1]. Wesentliche pathophysiologische Grundlage ist der Mangel an Dopamin im Striatum (STR), der durch die Degeneration dopaminerger Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNc) hervorgerufen wird. Die medikamentöse Standardtherapie erfolgt mit der Dopamin-Vorstufe Levodopa (LD) und ist klinisch initial sehr gut wirksam und verträglich, führt aber in der Langzeittherapie nach Jahren zu Wirkfluktuationen und motorischen Spätkomplikationen [2]. Aufgrund dessen wird die Therapie bei jüngeren Patienten oft mit Dopaminagonisten begonnen, die eine in der Regel geringere klinische Wirksamkeit auf die motorische Parkinson-Symptomatik und vor allem nicht-motorische Nebenwirkungen aufweisen [3]. Weiterhin hat sich die Tiefe Hirnstimulation (THS) als Standardtherapie für das fortgeschrittene IPS etabliert, bei der dauerhaft eine elektrische Hochfrequenz-Stimulation über in die Basalganglien implantierte Elektroden appliziert wird [4]. Mittels dieser Elektroden sind auch elektrophysiologische Ableitungen aus den Ziel-Kerngebieten der THS in Parkinson-Patienten möglich. Über solche Ableitungen von Lokalen Feldpotentialen (LFPs) konnten sog. Beta-Oszillationen (BO), verstärkte oszillatorische Aktivität im Beta-Frequenzbereich von 13-35 Hz, in den LFPs der Patienten identifiziert werden [5–7]. Gesteigerte BO wurden ebenfalls in Tiermodellen des IPS nachgewiesen [8–10]. Auch gibt es Hinweise auf mit Akinese einhergehende verminderte höherfrequente Oszillationen (sog. Gamma-Oszillationen, GO; Frequenzbereich von etwa 30 bis 90 Hz) beim IPS [11–13]. Klinisch effektive Therapien wie die Gabe von LD oder Dopaminagonisten und die THS führen zu einer Reduktion von BO [14–16], wobei diese Reduktion mit dem Ausmaß der Verbesserung der motorischen Symptome Akinese und Rigor einhergeht [14,17]. Versuche, in denen Patienten eine THS mit Stimulationspulsen in Beta-Frequenz erhielten, zeigten hierdurch eine Zunahme der Akinese [18,19], sodass die Hypothese besteht, dass Beta-Oszillationen und motorische Symptome beim IPS pathophysiologisch eng miteinander

verbunden sind. Daher gelten BO auch als potentieller Biomarker für eine adaptive THS [20,21]. Allerdings wurde ein direkter Zusammenhang von BO und Akinese oder Rigor in tierexperimentellen und in humanen Studien immer wieder in Frage gestellt [9,14,22].

In Tiermodellen mit chronischer Dopamindepletion wurden BO regelmäßig nachgewiesen [8–10,23]. Es besteht daher die Hypothese, dass BO und Dopaminmangel pathophysiologisch verbunden sind, sodass auch eine akute Blockade von Dopaminrezeptoren zur Entstehung von BO führen müsste. Hierzu ist die Studienlage jedoch uneinheitlich: Einige tierexperimentelle Studien mit akuter D<sub>1</sub>-D<sub>2</sub>-Dopaminrezeptor-Blockade fanden Hinweise auf gesteigerte BO [24,25], andere Studien konnten dies jedoch nicht nachweisen [26,27]. BO könnten daher entweder direkt von einer dopaminergen Störung induziert werden oder auch nur eine Begleiterscheinung fortdauernder Dopamindepletion sein.

Auch ist die Modulation von Oszillationen der Kortex-Basalganglienschleife durch die in der klinischen Behandlung am häufigsten eingesetzten dopaminergen Medikamente, Dopaminagonisten und LD, nicht vollständig verstanden. Klinische Studien an Patienten mit IPS und THS-Elektroden zeigten eine Reduktion gesteigerter BO und eine Erhöhung von GO durch beide Substanzklassen [14,17]. Es besteht die Hypothese, dass die klinische Wirksamkeit der Medikamente mit Verbesserung der motorischen Symptomatik über die Beeinflussung von Oszillationen vermittelt wird, was bisher aufgrund fehlender vergleichender Studien zu Dopaminagonisten und LD ungeklärt ist.

In den Strukturen der Basalganglien und dem primärmotorischen Kortex sind viele Kerngebiete von Neuronen oft reziprok über axonale Bahnen miteinander verbunden [28]. Eine solche funktionelle Einheit wird neuronales Netzwerk genannt. Dysfunktionen in diesen Netzwerken zeigen sich u.a. in veränderten Oszillationsmustern der LFPs, wie den erhöhten BO oder erniedrigten GO beim IPS, von denen angenommen wird, dass sie Ausdruck eines gestörten Informationsflusses in diesem Netzwerk sind [29]. So werden das IPS und auch andere neuropsychiatrische Erkrankungen zunehmend auf der Netzwerkebene betrachtet und als Netzwerkerkrankungen bezeichnet [29–31]. Zum besseren Verständnis der Erkrankungen und zur Therapieoptimierung ist eine Erforschung auf Netzwerkebene nötig. Extrazelluläre elektrophysiologische Ableitungen sind hierzu besonders geeignet, da sie die Aktivität vieler Neurone mit hoher zeitlicher Auflösung gleichzeitig erfassen. Mit extrazellulären Ableitungen kann neben den LFPs auch *multi unit*-Aktivität (MUA; gleichzeitige Aktionspotentialaktivität mehrerer Neurone)

registriert werden. Die Betrachtung der Netzwerkebene mit extrazellulären Ableitungen macht allerdings die invasive Ableitung mehrerer Kerngebiete simultan erforderlich.

### 3.2 Zielsetzung der Promotionsarbeit

#### 1. Wie können extrazelluläre elektrophysiologische Ableitungen des Kortex-Basalganglien-Netzwerks simultan erfolgen? (Studie 1)

Ziel von Studie 1 war es, eine Methode zur simultanen extrazellulären Ableitung der Strukturen des Hyperdirekten Weges in Tiermodellen des IPS entwickeln. Die Strukturen des Hyperdirekten Weges sind der Nucleus subthalamicus (STN), Zielgebiet der THS in der Parkinson-Therapie [32], die Substantia nigra pars reticulata (SNr) als wesentliche Ausgangsstruktur der Basalganglien und der den Basalganglien übergeordnete primärmotorische Kortex (M1), in dem Bewegungsprogramme entstehen [33,34]. Mit der Ableitung des Hyperdirekten Weges sind wesentliche Strukturen des Netzwerkes erfasst.

#### 2. Welche Auswirkungen hat ein kurz dauernder Dopaminmangel im Vergleich zu einem chronisch-progredienten Dopaminmangel auf Beta-Oszillationen in Tiermodellen des idiopathischen Parkinsonsyndroms? (Studie 2)

Unter Einsatz der in Studie 1 entwickelten Methode sollte der Zusammenhang von Dopaminmangel und BO durch einen Vergleich der Netzwerkaktivität zweier Parkinson-Tiermodelle untersucht werden, die sich in der zeitlichen Entwicklung ihrer Dopamindepletion unterscheiden: Das akute Reserpin-Modell und das 6-Hydroxydopamin (6-OHDA)-Modell in Ratten. Beim Reserpin-Modell wird durch Reserpin-Gabe eine irreversible Blockade des vesikulären Monoamintransporter 2 erreicht und somit eine schnell einsetzende Dopamindepletion herbeigeführt [35], das Auftreten von BO wurde bisher nicht untersucht. Im 6-OHDA-Modell, welches bekannterweise BO entwickelt, werden dopaminerge Neurone der SNc durch eine periaxonale Neurotoxin-Injektion über Wochen zerstört, was den Dopaminmangel herbeiführt [8,36,37].

#### 3. Wie beeinflussen die beiden wichtigsten Substanzklassen dopaminergere Parkinson-Medikamente die Beta- und Gamma-Oszillationen im Netzwerk von Motorkortex und Basalganglien? (Studie 3)

Ziel der Studie war es, den Einfluss der Dopamin-Vorstufe LD und der postsynaptisch wirksamen Dopaminrezeptoren auf BO und GO in den Strukturen des Hyperdirekten

Weges zu vergleichen. Dabei wurden aufsteigende Dosen von LD und Apomorphin (APO), für dessen Anwendung es im Tierversuch Vorerfahrungen gibt [8,38], eingesetzt und in ihrer Wirksamkeit im 6-OHDA-Modell und einer unbehandelten Kontrollgruppe verglichen.

## 4. Methodik

### 4.1 Tiere und Materialien

Alle Tierversuche wurden an männlichen Wistar-Ratten gemäß den gültigen Gesetzen (TierSchG, TierSchVersV, EU-Richtlinie 2010/63/EU) nach Genehmigung durch die zuständige Aufsichtsbehörde (LaGeSo, Berlin) unter größtmöglicher Minimierung der Belastung und Tierzahl durchgeführt. Die Haltung der Tiere erfolgte unter Standardbedingungen in Versuchstierhaltungen. Verwendete Substanzen stammen, sofern nicht anders angegeben, von Sigma Aldrich Chemie GmbH, Deutschland.

### 4.2 Stereotaktische Chirurgie und elektrophysiologische Ableitungen

Eigens entwickelte Silber-Silberchlorid-Elektroden (Impedanz ca. 8 k $\Omega$ ) wurden in einem mehrstufigen Prozess aus hochreinem Silberdraht geformt und mit Silberchlorid beschichtet, um die Signalqualität zu verbessern, und für epidurale LFP-Aufnahmen des M1 sowie als Referenzelektroden eingesetzt [39]. Wolfram-Mikroelektroden (WME) zur Ableitung subkortikaler Strukturen wurden mit einer entsprechenden Impedanz ausgewählt (1,5 M $\Omega$ ), um LFPs und MUA gleichzeitig abzuleiten. Für die Ableitung aus STN und SNr wurden Paare von WME (Microprobes for Life Science, MD, USA) unter mikroskopischer Sicht an einem stereotaktischen Halter so befestigt, dass das posteriore (anteroposteriore Achse) Elektrodenpaar in die SNr inseriert wurde, wenn das anteriore Elektrodenpaar den STN traf.

Die Operation zur Implantation aller Elektroden sowie die elektrophysiologische Ableitung wurden in Urethan-Narkose unter konsequenter Beurteilung der Narkosetiefe, Schutz der Augen und Erhaltung der Körperwärme durchgeführt. Nach Einbringen des Tieres in einen stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, CA, USA) und Rasur des Schädels erfolgte die sagittale Inzision der Kopfhaut, Präparation des Schädelknochens und Darstellung des Bregma als Referenzpunkt für die Stereotaxie [40]. Die sog. *flat skull*-Position, in der sich die Schnittpunkte der Schädeluturen Bregma und Lambda auf gleicher dorsoventraler Höhe befinden [39,40], wurde mittels *rat alignment tool* (David Kopf Instruments, CA, USA) eingestellt. Nach Markierung der Koordinaten für die

Referenz- und Ableitelektroden erfolgten die Kraniotomien unter Einsatz eines Zahnarztbohrers (1 mm Durchmesser, Hager und Meisinger GmbH, Deutschland). Stereotaktische Koordinaten können Tabelle 1 aus der Veröffentlichung zu Studie 1 entnommen werden [39]. Es wurden zwei cerebelläre Referenzelektroden eingesetzt, die den Liquor berühren sowie zwei epidurale Elektroden über M1, die jeweils mit Dental-Acryl (Technovit®, Heraeus Kulzer, GmbH, Deutschland) und Mikroschrauben befestigt wurden.

Um eine sichere Insertion der WME in den STN und die SNr zu gewährleisten, wurde mit dem anterioren Elektrodenpaar ein *mapping* der STN-Trajektorie durchgeführt. Dies geht davon aus, dass sich Kerngebiete in ihrer Ausdehnung, Neuronendichte und Feuermuster der Aktionspotentiale unterscheiden [39,41]. Nach Anschluss der Elektroden an ein Verstärkersystem (Omniplex, Plexon Inc., TX, USA) wurde beginnend mit 1 mm dorsal der Zielposition die MUA in 100 µm-Schritten nach ventral evaluiert und anhand von Vergleichswerten die Elektrodenposition so genau bestimmt (Beispiele für typische MUA der hier wichtigen Kerngebiete in Abb. 2, Studie 1 und Abb. 1A, Studie 2 [39,41]). Wurde der STN getroffen, war durch die Ausrichtung der WME anhand der anatomischen Gegebenheiten die Insertion des posterioren Elektrodenpaares in die SNr sichergestellt und die Elektroden verblieben für die Ableitungen in Position. Die Registrierung extrazellulärer Aktivität erfolgte unter 1750-facher Verstärkung mit 40 KHz *sampling rate* und primärer Bandpass-Filterung (0,05-8000 Hz) sowie Auftrennung in LFPs und MUA über entsprechende Filter (Butterworth-Typ; Bandpass LFP 0,05-200 Hz; MUA 300-8000 Hz) und *downsampling* zur elektronischen Speicherung.

Nach Abschluss der Aufnahmen wurden die Tiere mit einer Überdosierung der Anästhesie getötet und transkardial mit je 250ml eiskalter 0,1M Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) und Paraformaldehyd 4% in PBS perfundiert, die Gehirne entnommen und für die histologische Untersuchung mittels Postfixierung, Entwässerung und Einfrieren aufbereitet.

### 4.3 Induktion der Tiermodelle und Verhaltenstests

Für das akute Reserpin-Modell wurden 3mg/kg Körpergewicht Reserpin in 0,9% NaCl mit 4 mg/ml Dimethylsulfoxid subkutan injiziert, 18 Stunden später erfolgten Verhaltensuntersuchung und Elektrophysiologie dann unter größtmöglicher Dopamindepletion [35]. Das induzierte motorische Verhaltensdefizit wurde mit dem Bar-Test erfasst [41,42].

6-OHDA wurde in 0,9% NaCl und 0,02% Ascorbat gelöst. In antagonisierbarer Injektionsnarkose und Anwendung der unter 3.2 beschriebenen chirurgisch-stereotaktischen Herangehensweise wurde eine 33G-Kanüle in das linke mediale Vorderhirnbündel von Ratten eingebracht und 1 µl 6-OHDA-Lösung (entsprechend 8 µg freier Base 6-OHDA) mit einer Flussrate von 125 nl/min mittels einer Präzisions-Spritzenpumpe (10 µl Nanofil™ Spritze in Micro4™, World Precision Instruments, FL, USA) injiziert. Nach überlappender Analgesie mit Carprofen wurde die Operationswunde mittels chirurgischer Naht verschlossen, die Narkose antagonisiert und die Tiere für weitere zwei Tage mit dem Analgetikum behandelt. Bei einseitiger 6-OHDA-Injektion stand die nicht betroffene Hemisphäre als intraindividuelle Kontrolle für motorische Verhaltenstests und Histologie zur Verfügung. Der Verhaltenseffekt wurde mit zwei verschiedenen Tests gemessen, dem Zylindertest und dem Drag-Test. Beide erfassen die motorische Asymmetrie der Vorderpfoten bei Hemiakinese [41,43].

#### 4.4 Histologie und Immunhistologie

Die entnommenen Gehirne wurden mittels Kryostat-Mikrotom in 40 µm dicke koronare Schnitte geschnitten. Für die Verifizierung der regelrechten Lage der Mikroelektroden in STN und SNr wurden die entsprechenden Schnitte einer Nissl-Färbung mit Kresylviolett unterzogen. Die Beurteilung der Trajektorien und umgebenden anatomischen Strukturen erfolgte lichtmikroskopisch.

Immunhistologische Färbungen wurden für das 6-OHDA-Modell und die Kontrollgruppe vorgenommen. Für die immunhistologische Feststellung einer erfolgreichen 6-OHDA-Läsion wurde eine *free-floating* Tyrosin-Hydroxylase (TH)-Färbung striataler Fasern und nigraler dopaminerger Neurone nach einem Standard-Protokoll vorgenommen ([44]; Primärantikörper, anti-TH 1:10000, T1299, Sigma, Deutschland; Sekundärantikörper, anti-Maus biotinyliert 1:200, BA-9200, Vector Laboratories, CA, USA; Darstellung mit 3,3,-Diaminobenzidin). Die striatale Dichte dopaminerger Fasern wurde densitometrisch als optische Dichte aus einer Serie von drei repräsentativen Schnitten des STR pro Tier bestimmt. Die Anzahl TH-positiver Neurone der SNc wurde mit einem Stereo Investigator®-System (MicroBrightField Bioscience, VT, USA) bestimmt. TH-positive Zellen jedes 7. Schnittes der SNc wurden beidseitig ausgezählt. Die Auswertung der lädierten linken Hemisphäre erfolgte im Vergleich zur rechten Hemisphäre.

## 4.5 Elektrophysiologische Datenanalyse

In Urethan-Narkose können in kortikalen LFPs zwei kortikale Aktivierungszustände unterschieden werden [27,45]. Die *Slow Wave Activity* (SWA) ist durch langsame 0,05 - 2 Hz-Oszillationen großer Amplitude gekennzeichnet und wird mit der Hirnaktivität während natürlichen Schlafes verglichen. Der *Activated State* (AS) zeigt viel höhere Frequenzen und kleinere Amplituden und grenzt sich bereits visuell deutlich von der vorherrschenden SWA ab. Diese Aktivierungszustände werden mit der Hirnaktivität eines wachen Tieres verglichen [46–48]. Veränderungen in den Oszillationen können nur im AS beobachtet werden [27,41,49]. Die Datenanalyse erfolgte aus 50 oder 100 s langen Datenabschnitten AS oder SWA.

Die Analyse der LFP-Daten erfolgte mittels Spike2 (v8.02, Cambridge Electronic Design, Großbritannien) und MatLab (R2014B, Mathworks, MA, USA). Powerspektren wurden auf Grundlage der Fourier Transformation (Welch-Methode, 1s-Datenfenster, Hann-Fensterfunktion, 1 Hz-Frequenzauflösung) berechnet und normalisiert, sie geben eine relative Frequenz-Leistungsverteilung in *arbitrary units* [a.u.] an. Die Werte der Powerspektren wurden für den Beta- und Gamma-Bereich gemittelt und sind wesentliche Zielparameter der Datenanalyse. Ebenfalls wurde die Kohärenz zwischen den LFP-Signalen von jeweils zwei der abgeleiteten Strukturen berechnet, sie ist ein frequenzabhängiges Maß für den Grad der linearen Abhängigkeit zweier Signale. Wo angezeigt, wurden auch mittlere Power und Kohärenz zu Subaufteilungen der Beta- und Gamma-Frequenzbänder bestimmt. Details zur Aufteilung können ebenfalls den Originalarbeiten im Anhang entnommen werden. Peaks sind Spitzenwerte im Power- und Kohärenzspektrum. Signifikante Peaks wurden gemäß publizierten Kriterien bestimmt [23,41,49] und Anzahl und mittlere Peak-Frequenz ermittelt.

Ferner wurde in Studie 2 die Phasenkopplung von Aktionspotentialen der MUA und LFPs untersucht (vgl. Studie 1 und 2 [39,41]). Sog. *spike-triggered waveform averages* (STWA) wurden zu ausgewählten Aktionspotentialen bestimmt. Über den Vergleich der STWA zu zufällig ausgewählten Datenabschnitten im selben Tier konnte festgestellt werden, ob eine signifikante Phasenkopplung vorlag und hierfür die Anzahl der Tiere pro Versuchsgruppe ermittelt werden. Über die STWA-Amplitude konnte eine Aussage zu deren Ausmaß getroffen werden.

## 4.6 Experimentelles Design

Nach Induktion der Tiermodelle erfolgte nach definierter Zeit die Messung des motorischen Verhaltensdefizits, gefolgt von Elektrodenimplantation und elektrophysiologischer Messung als Finalversuch mit anschließender histologischer Untersuchung. Die weiterführenden Versuche erfolgten unter größtmöglichem dopaminergem Defizit, für das Reserpin-Modell 18 Stunden und für das 6-OHDA-Modell 20-35 Tage nach Induktion [8,35,36]. Es wurden ausschließlich Tiere in die Studien eingeschlossen, die lichtmikroskopisch Elektrodentreffer und intakte Zielstrukturen sowie ein dem Modell entsprechendes Verhaltensdefizit aufwiesen. 6-OHDA-behandelte Tiere wurden zudem nur eingeschlossen, wenn ein signifikanter Verlust dopaminerger Fasern im STR bzw. dopaminerger Zellen in der SNc nachgewiesen wurde.

In Studie 2 wurden drei Gruppen mit je 9 Tieren untersucht: Reserpin-Gruppe, 6-OHDA-Gruppe und unbehandelte Kontrollgruppe. In Studie 3 wurden 45 Ratten in vier Gruppen eingesetzt: 21 waren Kontrolltiere, 24 Ratten wurden 6-OHDA-lädiert. In der elektrophysiologischen Messung wurden nach Aufnahme eines medikationsfreien Intervalls drei aufsteigende Dosen LD oder APO subkutan injiziert (LD 6/12/24 mg +15 mg/mg Benserazid; APO 0,05/0,1/0,2 mg, pro kg Körpergewicht). 10 min nach Injektion wurde jeweils die 40 min dauernde Aufnahme gestartet. Jeweils die Hälfte der 6-OHDA- und Kontroll-Tiere wurde entweder mit APO oder LD in aufsteigenden Dosen behandelt. Die geringste Dosis beider Medikamente stellte die Dosis dar, die in Tiermodellen des IPS als übliche wirksame Dosis zur maximalen Verbesserung der Akinese ohne Induktion von Hyperkinesien führt [8,10,38,50].

## 4.7 Statistische Auswertung

Die statistischen Testungen erfolgten mit Prism (v6, Graphpad Software, CA, USA), SPSS (v23, IBM, NY, USA) und MatLab. Nach Prüfung der Normalverteilung erfolgte in unabhängigen Stichproben der Vergleich zweier Gruppen mit Zweistichproben-t-Test oder Mann-Whitney-U-Test, bei mehreren Gruppen mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) oder Kruskal-Wallis-Test gefolgt von entsprechenden Post-hoc-Tests. Es erfolgte jeweils eine Korrektur der Alphafehler-Kumulierung. Für die Auswertung der Zusammenhänge von Beta- und Gamma-Power und dopaminerger Medikation auf Basis der Gruppe (6-OHDA, Kontrolle) sowie Struktur (STN, SNr, M1), Frequenzband (Beta, Gamma), Medikamentenart (LD, APO) und Dosisstufe (nativ, 1., 2., 3. Dosis) wurde eine multifaktorielle Varianzanalyse für abhängige Stichproben (rMANOVA) angewandt.

Korrelationen von Beta-Gamma-Ratios und Dosierungen wurden mittels Pearson-Korrelation bestimmt. Die detaillierte statistische Herangehensweise kann den Originalarbeiten im Anhang entnommen werden. Ab p-Werten  $< 0,05$  wurde ein Unterschied als signifikant angesehen (\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ). Wenn nicht anders angegeben, wurden Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes berichtet.

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Ableitung des Hyperdirekten Weges

Mit der neu entwickelten Methode war es möglich, mehrere Kerngebiete eines neuronalen Netzwerkes simultan in vivo elektrophysiologisch abzuleiten. Die Implantation der WME in die Strukturen der Basalganglien STN und SNr erfolgte mit hoher Genauigkeit (vgl. Abb. 2, Studie 1 [39]). Dies wurde durch lichtmikroskopische Untersuchungen der Ziel-Kerngebiete und Darstellung der Trajektorien in Nissl-Färbung bestätigt (93,0 % Trefferquote aller Elektroden in Studie 3 [49]).

Es konnten LFP-Daten und aus STN und SNr auch MUA gewonnen werden. Aus MUA-Daten konnten eindeutig zu Einzelneuronen identifiziert werden (vgl. Abb. 2&4, Studie 1 [39]). Mit den eigens konstruierten epiduralen Elektroden gelang anhand des M1-LFP-Signals eine sichere Bestimmung der kortikalen Aktivierungszustände AS und SWA der Urethan-Narkose (vgl. Abb. 3, Studie 1; Abb. 1B, Studie 2 [39,41]). Aus bisherigen Studien ging hervor, dass im 6-OHDA-Modell nur im AS relevante elektrophysiologische Veränderungen wie gesteigerte BO messbar sind [27,51]. Mit dem Nachweis gesteigerter BO nur im AS und nicht während SWA wurde dies mit der etablierten Methode in Studie 2 reproduziert [41]. Daher erfolgte die weitere Datenanalyse nur aus AS-Daten.

### 5.2 Verhaltenseffekte und Immunhistologie

Alle in die Studien eingeschlossenen Tiere mit Reserpin- oder 6-OHDA-Behandlung zeigten eine signifikante, hochgradige Akinese. Die Behandlung mit Reserpin wies im Bar-Test eine ausgeprägten Akinese gegenüber der Kontrollgruppe ( $p < 0,0001$ ) nach. Die 6-OHDA-behandelten Tiere zeigten eine nahezu maximale Akinese der betroffenen rechten Seite im Vergleich zur nichtbetroffenen linken Pfote im Zylindertest und eine ausgeprägte Akinese im Drag-Test (je  $p < 0,0001$  in Studie 2; je  $p < 0,001$  in Studie 3).

Die immunhistologische Untersuchung der dopaminergen Faserdichte im STR und der nigralen Zellzahl aller eingeschlossenen Tiere im 6-OHDA-Modell ergab einen fast vollständigen, hochsignifikanten Verlust von Fasern und Zellen im Vergleich zur unbehandelten rechten Hemisphäre (je  $p < 0,0001$  in Studie 2; in Studie 3 nur Messung von Faserdichte im STR,  $p < 0,001$ ). In der Kontrollgruppe gab es keine signifikanten Unterschiede in der TH-Immunhistologie zwischen beiden Hemisphären.

### 5.3 Vergleich von Reserpin- und 6-OHDA-Modell

#### Power-Analyse und Peaks

In Studie 2 zeigten sich sowohl in 6-OHDA- als auch Reserpin-behandelten Tieren gesteigerte BO in den Basalganglien. Alle Vergleiche fanden zur gesunden Kontrollgruppe statt: Im STN war die mittlere Beta-Power nur für 6-OHDA-behandelte Tiere signifikant erhöht ( $p < 0,01$ ). In der getrennten Analyse für *Low*- und *High*-Beta-Bereiche des Spektrums zeigte sich ein erhöhtes *Low*-Beta (13-20 Hz) ebenso nur für 6-OHDA-Tiere ( $p < 0,05$ ), die mittlere *High*-Beta-Power (21-35 Hz) war für beide Tiermodelle erhöht (6-OHDA:  $p < 0,01$ ; Reserpin:  $p < 0,05$ ). In der SNr war die mittlere Gesamt-Beta-Power ebenso nur für das 6-OHDA-Modell signifikant erhöht ( $p < 0,05$ ), ebenso die mittlere *Low*-Beta-Power ( $p < 0,01$ ). Die mittlere *High*-Beta-Power war ausschließlich im Reserpin-Modell signifikant erhöht ( $p < 0,01$ ).

Im M1 zeigten sich nur in 6-OHDA-Tieren identifizierbare Peaks im Beta-Band (mittlere Beta-Peakfrequenz:  $18,6 \pm 1,3$  Hz), in Reserpin- und Kontrolltieren war dies nicht der Fall. Die mittlere Beta-Power war im M1 von 6-OHDA-Tieren sowohl gegenüber der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ) als auch gegenüber der Reserpin-Gruppe ( $p < 0,01$ ) signifikant erhöht. Im M1 des Reserpin-Modells waren keine gesteigerten BO nachzuweisen (vgl. Abb. 2&4A, Studie 2 [41]).

In STN und SNr zeigten nahezu alle Tiere aus beiden Parkinson-Modellen signifikante Beta-Peaks. In 6-OHDA-Tieren fanden sich die Beta-Peaks überwiegend im *Low*-Beta-Spektrum (STN:  $16,8 \pm 0,9$  Hz; SNr:  $15,4 \pm 0,4$  Hz), wohingegen Reserpin-Tiere ausnahmslos Beta-Peaks im *High*-Beta-Spektrum zeigten (STN:  $26,5 \pm 2,2$  Hz; SNr:  $27,9 \pm 2,3$  Hz).

#### Kohärenz-Analyse

Die zwischen den LFPs aus STN und M1 bestimmte kortiko-subthalamische Kohärenz war im Beta-Frequenzbereich nur für das Reserpin-Modell, aber nicht für das 6-OHDA-Modell vergleichend zur Kontrollgruppe erhöht. Hier zeigte sich für den *High*-Beta-

Bereich eine signifikante Erhöhung gegenüber der Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ) und auch der 6-OHDA-Gruppe ( $p < 0,05$ ).

Kortiko-nigrale Kohärenzen wurden zwischen SNr und M1 bestimmt, sowohl für das 6-OHDA-Modell als auch für das Reserpin-Modell konnte eine signifikante Steigerung im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden, für 6-OHDA-Tiere im niedrigen und für Reserpin-Tiere im oberen Beta-Frequenzbereich (6-OHDA *Low-Beta* vs. Kontrollgruppe  $p < 0,05$ ; Reserpin *High-Beta* vs. Kontrollgruppe  $p < 0,01$ ).

In der subthalamo-nigralen Kohärenz konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden. (vgl. Abb. 3, Studie 2 [41]).

#### STWA-Analyse

Im STN wies die Mehrheit der Tiere in beiden Parkinson-Modellen eine signifikante MUA-LFP-Phasenkopplung für den niedrigen Beta-Frequenzbereich auf (*Low-Beta*: 6-OHDA 7/9; Reserpin 6/9), wohingegen dies bei keinem der Kontrolltiere der Fall war (*Low-Beta*: Kontrolle 0/9). Im oberen Beta-Frequenzbereich zeigten die meisten Tiere aller drei Gruppen eine MUA-LFP-Phasenkopplung (*High-Beta*: 6-OHDA 8/9; Reserpin 6/9, Kontrolle 6/9). In der SNr hingegen war in allen drei Gruppen eine kleinere Anzahl an Tieren mit Phasenkopplung ohne wesentliche Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Eine signifikant erhöhte STWA-Amplituden-Ratio fand sich jedoch nur im STN nur für 6-OHDA-lädierte Tiere, die im niedrigen Beta-Bereich gegenüber Kontrollgruppe ( $p < 0,01$ ) und im oberen Beta-Bereich auch im Vergleich zur Reserpin-Gruppe deutlich erhöht war (je  $p < 0,05$ ) (vgl. Abb. 5AB&DE, Studie 2 [41]).

## 5.4 Pharmakologische Modulation von Beta- und Gamma-Oszillationen

### Power in 6-OHDA- und Kontrolltieren

In Studie 3 zeigte sich in der Untersuchung der Ausgangswerte der Power vor Medikamentengabe (Baseline) eine für die 6-OHDA-Gruppe signifikant erhöhte mittlere Beta-Power gegenüber Kontrollgruppe in allen drei untersuchten Strukturen des kortiko-basalganglionären Netzwerkes (je  $p < 0,001$ ). Die mittleren Beta-Peakfrequenzen aller abgeleiteten Strukturen bewegten sich auch in der Studienpopulation zu Studie 3 im niedrigen Bereich des Beta-Frequenzspektrums (STN:  $16,15 \pm 0,55$  Hz; SNr:  $16,56 \pm 0,55$ ; M1:  $17,59 \pm 0,66$  Hz). Im Gamma-Spektrum konnten in 6-OHDA- und Kontrollgruppe keine signifikanten Peaks identifiziert werden, jedoch war die mittlere Gamma-Power aller drei Strukturen der 6-OHDA-lädierten Tiere signifikant niedriger als die der Kontrolltiere (je  $p < 0,01$ ) (vgl. Abb. 2; Studie 3 [49]).

### Wirkung von LD auf Oszillationen in 6-OHDA- und Kontrolltieren

Eine deutliche, signifikante dosisabhängige Reduktion der BO wurde durch LD-Gabe in allen Strukturen der 6-OHDA-Gruppe erreicht (je  $p < 0,001$ ). Bereits die niedrigste LD-Dosis führte in 6-OHDA-lädierten Tieren zur Reduktion der BO auf das Niveau der Kontrollgruppe in der Baseline (kein Unterschied zur Baseline-Kontrollgruppe;  $p > 0,05$ ), wobei eine weitere Reduktion der BO durch Dosissteigerung nicht möglich war. Kontrolltiere zeigten nur im STN eine sehr schwache, aber signifikante dosisabhängige Reduktion von BO ( $p < 0,05$ ), aber nicht im M1 oder in der SNr.

Die Gamma-Aktivität konnte in 6-OHDA-Tieren durch alle drei Dosen LD dosisabhängig signifikant gesteigert werden (je  $p < 0,001$ ), wobei die 1. Dosis bereits zu einer Steigerung von GO auf das Niveau der Baseline unbehandelter Kontrolltiere in allen drei Strukturen führte. In Kontrolltieren war ein dosisabhängiger Anstieg der GO für die Basalganglien (STN:  $p < 0,05$ ; SNr:  $p < 0,01$ ), jedoch nicht für den M1 nachweisbar ( $p > 0,05$ ), sodass die mittlere Gamma-Power unter der Höchstdosis von 24 mg/kg LD der 6-OHDA-Tiere die der Kontrolltiere in der Baseline im M1 überstieg ( $p < 0,05$ ) (vgl. Abb. 3C-H; Studie 3 [49]).

### Wirkung von APO auf Oszillationen in 6-OHDA- und Kontrolltieren

Eine Wirkung auf Beta-Aktivität durch APO war nur im STN 6-OHDA-lädiertes Tiere gegeben, hier kam es zu einer signifikanten dosisabhängigen Reduktion von BO gegenüber der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ). Eine Angleichung der Beta-Aktivität auf das Niveau der Kontrolltiere wurde jedoch selbst unter der höchsten Dosis nicht erreicht. In Kontrolltieren hat APO auf die Beta-Aktivität keinen Effekt.

Hingegen zeigte APO einen deutlichen Einfluss auf die Gamma-Aktivität aller drei Strukturen in beiden Modellen: In 6-OHDA-Tieren stiegen GO in allen drei Strukturen dosisabhängig signifikant an (STN:  $p < 0,05$ ; SNr:  $p < 0,05$ ; M1:  $p < 0,01$ ), in der Kontrollgruppe war dieser Anstieg den Basalganglien viel stärker ausgeprägt als in M1 (STN:  $p < 0,001$ ; SNr:  $p < 0,001$ ; M1:  $p < 0,01$ ). Anders als unter LD übertraf die mittlere Gamma-Power in 6-OHDA-Tieren unter Höchstdosis APO nicht die Gamma-Power von Kontrolltieren in der Baseline (vgl. Abb. 3I-N; Studie 3 [49]).

### Relativer Vergleich der Power-Veränderungen und Korrelationen

Wird die gemessene Power auf die medikamentenfreie Baseline (= 100%) eines Tieres bezogen, führt LD im Vergleich mit APO sowohl zu einer stärkeren Beta-Reduktion als auch Gamma-Steigerung als APO in allen drei Strukturen in 6-OHDA-Tieren und Kontrollen. Im Vergleich der höchsten Dosis führt LD zu einer signifikant stärkeren

Reduktion der BO auf 63 bis 73%, wohingegen unter Apomorphin nur eine Reduktion um 80 bis 94% des Ausgangswertes erreicht wird (LD vs. APO; STN:  $p < 0,05$ ; SNr:  $p < 0,05$ ; M1:  $p < 0,01$ ). Die GO wurden durch 24mg/kg LD auf 180% in der SNr bis zu 368% des Ausgangswertes im M1 gesteigert, wohingegen APO nur zu einer Zunahme auf 123% bis 210% führte (LD vs. APO; STN:  $p < 0,05$ ; SNr:  $p < 0,05$ ; M1:  $p < 0,05$ ).

Eine ausgeprägte lineare Korrelation von Medikamentendosis und Beta-Gamma-Ratio konnte nur für LD in allen drei Strukturen nachgewiesen werden (STN:  $r = -0,625$ ;  $p < 0,001$ ; SNr:  $r = -0,467$ ;  $p < 0,001$ ; M1:  $-0,665$ ;  $p < 0,001$ ). Die Korrelation von APO-Dosierung und der Ratio von Beta- und Gamma-Power war für den STN und M1 schwächer ausgeprägt und für die SNr nicht signifikant (STN:  $r = -0,439$ ;  $p < 0,01$ ; SNr:  $r = -0,262$ ;  $p > 0,05$ ; M1:  $-0,406$ ;  $p < 0,05$ ) (vgl. Abb. 4&5; Studie 3 [49]).

## 6. Diskussion

Die Reserpin- und 6-OHDA-Behandlung führten zu erheblicher Akinese. Mit einem neu entwickelten experimentellen Ansatz war es möglich, LFPs und MUA simultan aus mehreren Strukturen eines neuronalen Netzwerks abzuleiten. So konnten erhöhte BO erstmals in den Basalganglien beider Modelle nachgewiesen werden, aber nur das 6-OHDA-Modell zeigte eine Beteiligung des M1. Die Beta-Peakfrequenz war im Reserpin-Modell erheblich höher. Kohärenzerhöhungen fanden sich für beide Modelle zwischen M1 und Basalganglien. Eine deutliche AP-LFP-Phasenkopplung bestand vor allem für den STN im 6-OHDA-Modell. Im 6-OHDA-Modell gesteigerte BO wurden durch eine Behandlung mit LD in allen Strukturen stärker unterdrückt als mit APO, wobei bereits die erste Dosis LD gesteigerte Beta-Power effektiver unterdrückte als die erste Dosis des Dopaminagonisten APO. APO wirkte nur auf BO im STN, aber nicht in den anderen Strukturen. LD erhöhte auch GO stärker als APO, im M1 des 6-OHDA-Modells sogar über die Gamma-Power-Werte unbehandelter Kontrolltiere hinaus.

### 6.1 Gesteigerte Beta-Oszillationen im Kortex-Basalganglien-Netzwerk

Trotz des großen Unterschiedes in der zeitlichen Entwicklung des Dopaminmangels konnten sowohl im chronischen 6-OHDA-Modell als auch im akuten Reserpin-Modell gesteigerte BO nachgewiesen werden. Dies unterstützt die Hypothese, dass Beta-Oszillationen in der Entstehung der Akinese nur eine pathophysiologisch nicht relevante Begleiterscheinung einer langanhaltenden dopaminergen Störung sind. Die bisher

uneinheitliche Studienlage zu Beta-Oszillationen im Rahmen eines über D<sub>1</sub>-D<sub>2</sub>-Rezeptorblockade induzierten akuten Dopaminmangels könnte durch Unterschiede in der Methodik, insbesondere in der Narkose und dem Ableitort erklärt werden [24–27]. Hinsichtlich des Auftretens gesteigerter Beta-Aktivität im M1 unterschieden sich Reserpin- und 6-OHDA-Modell. Im Reserpin-Modell waren keine gesteigerten kortikalen BO, aber erhöhte kortiko-nigrale und -subthalamische Kohärenzen messbar. Das 6-OHDA-Modell wies hingegen erhöhte kortikale BO und auch kortiko-nigrale Kohärenzen auf. Das IPS wird als Netzwerkerkrankung verstanden [6,52], es gibt aber unterschiedliche Theorien darüber, dass eine der Strukturen des Netzwerkes Ausgangspunkt für die Entstehung von pathologischer Beta-Synchronität ist. Neben dem STN und Globus pallidus externus [53,54] wird auch der M1 als Schrittmacher der BO vermutet, der aufgrund seiner vielen reziproken Verbindungen im Netzwerk und Interneuronen gut dafür geeignet wäre [55,56]. Diese Hypothese wird jedoch durch die aus dem Reserpin-Modell gewonnenen Daten in Frage gestellt: Die nicht erhöhten kortikalen BO stehen der Idee eines Beta-Schrittmachers im M1 entgegen. Kohärente oszillatorische Aktivität ist Ausdruck neuronaler Kommunikation in einem Netzwerk [57]. So ist es vorstellbar, dass die in beiden Parkinson-Modellen erhöhte kortiko-basalganglionäre Beta-Kohärenz bei gleichzeitig im akuten Modell nicht gesteigerter kortikaler Beta-Power darauf hindeutet, dass BO nicht im Motorkortex entstehen, sondern dorthin übertragen werden oder es sich um ein Zeichen gestörten Informationsflusses handelt. Eine deutliche AP-LFP-Phasenkopplung konnte nur im Beta-Frequenzbereich für den STN parkinsonoider Tiere nachgewiesen werden, allerdings schwächer im Reserpin-Modell. Für das 6-OHDA-Modell und Parkinson-Patienten ist diese Phasenkopplung bekannt [22,23,27], sodass von den untersuchten Strukturen am ehesten dem STN eine besondere Rolle bei der Entstehung oder Konsolidierung von BO zukommen könnte.

## 6.2 Modulation von Beta- und Gamma-Oszillationen

Im 6-OHDA-Modell hat LD zu einer wesentlich ausgeprägteren Minderung von BO und Steigerung von GO geführt als APO. In der klinischen Behandlung ist LD auf die Akinese stärker wirksam als Dopaminagonisten [3], sodass die Hypothese formuliert werden kann, dies sei auf die stärkere Einflussnahme von LD auf antikinetiche BO und prokinetisch wirkende GO zurückzuführen. In Studie 3 sind jedoch keine motorischen Verhaltenseffekte begleitend untersucht worden, so bleibt der Beweis dieser Hypothese

Gegenstand weiterer Studien. Eine humane Studie hat bisher die Wirkung von LD und APO in IPS-Patienten mit THS-Elektroden gemeinsam untersucht und konnte durch LD als auch APO eine Beta-Reduktion nachweisen [58]. Gesteigerte GO wurden in der Studie nicht registriert, allerdings waren die Möglichkeiten zur Dosierung der Pharmaka stark eingeschränkt.

Im 6-OHDA-Modell hat LD eine ausgeprägtere Wirkung auf kortikale GO. Erhöhte Gamma-Aktivität ist sowohl in humanen Studien als auch im 6-OHDA-Modell mit dem Auftreten von Levodopa-induzierten Dyskinesien assoziiert [59–61]. In Studie 3 wurden durch LD insbesondere die kortikalen GO über den Wert unbehandelter Kontrollen erhöht, was in APO nicht der Fall war. Da Dopaminagonisten im klinischen Gebrauch zu weit weniger Dyskinesien führen [3], kann vermutet werden, dass sich dies im unterschiedlichen Potential begründet, die kortikale Gamma-Aktivität zu steigern.

Ein wesentlicher Grund für die unterschiedliche Wirkung von LD und APO auf die Netzwerkaktivität könnten die unterschiedlichen Bindungsprofile an Dopaminrezeptoren sein. Für APO konnte gezeigt werden, dass es mit ähnlicher Affinität wie LD an D<sub>2</sub>L-Rezeptoren bindet, aber eine um 50% niedrigere Affinität an D<sub>2</sub>S-Rezeptoren hat [62,63]. Weiterhin wirken Dopaminagonisten direkt postsynaptisch, LD ist aber ein Prodrug, was zunächst in Neuronen in wirksames Dopamin umgewandelt und im späteren Verlauf des IPS auch von nicht-dopaminergen Neuronen abgegeben wird [64,65]. Letzteres kann auch zur Entstehung von motorischen Spätkomplikationen beitragen.

### 6.3 Limitationen

Auch wenn die Urethan-Narkose gut untersucht ist und die im AS erzielten Ergebnisse im 6-OHDA-Modell mit der Aktivität wacher Tiere verglichen werden [10,66], beeinflusst jede Art von Anästhesie die neuronale Aktivität. Jedoch ist die Ableitung von Daten mit minimalen Bewegungsartefakten und in definierten Aktivierungszuständen nur in anästhesierten Tieren möglich [46–48].

Neurotoxin-basierte Tiermodelle sind in ihrer Vergleichbarkeit zum humanen IPS grundsätzlich einschränkt. Auch führt Reserpin zu einer Störung des serotonergen und noradrenergen Systems [35], 6-OHDA stört ebenfalls das noradrenerge System [67]. In Studie 3 wurden BO durch Dopaminmangel induziert und konnten durch ausschließlich dopaminerge Substanzen wieder supprimiert werden. Außerdem sind BO als dopaminabhängig bekannt [11], weshalb der Einfluss anderer Transmittersysteme bei Nachweis von BO und Akinese als gering angenommen werden kann.

Eine unterschiedliche Akkumulation oder Wirkdauer der eingesetzten Pharmaka kann die Studienergebnisse ebenso beeinflussen. Da aus humanen Studien eine ähnliche klinische Wirkdauer für LD und APO bekannt ist [68–71] und mit jeder Dosissteigerung eine Verdopplung der vorherigen Dosis erfolgt ist, ist eine mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch eine additive residuelle Wirkung der injizierten Substanz im nächsten Messintervall nicht als wahrscheinlich anzunehmen. Ferner ist bisher nur APO als Dopaminagonist elektrophysiologisch untersucht worden, sodass noch keine Rückschlüsse auf die Substanzklasse der Dopaminagonisten allgemein möglich sind.

#### 6.4 Die Untersuchung neuronaler Netzwerke

Um Veränderungen in Erkrankungen auf der Netzwerkebene zu erfassen, ist die simultane Ableitung der Kerngebiete eines Netzwerkes erforderlich. Hierfür hat sich die in Studie 1 präsentierte Methode als geeignet erwiesen. Für den Erfolg wesentlich ist die individuelle Einstellung der *flat skull*-Position [40], die sich gegenüber festen Einstellungen der Kopfposition als vorteilhaft erwies [72]. In Kombination mit *mapping* anhand von MUA, welches ebenfalls die Genauigkeit erhöht [73], konnte eine hohe Genauigkeit auch für kleinste Strukturen erreicht werden. Die redundante Verwendung von Silber-Silberchlorid-Elektroden bot gegenüber der üblichen Verwendung singularer Edelstahl-Schrauben als Referenz- und kortikale Elektroden eine bessere Signalqualität und sicherere Signalübertragung.

Die präsentierte Methode hat sich durch die weitgehende Verwendung von Standardmaterialien als kosteneffektiv und gut anpassbar erwiesen, sodass mit nur gering modifiziertem Ansatz der Nachweis oszillatorischer Veränderungen auch in Modellen psychiatrischer Erkrankungen wie Depressionen oder Alkoholismus und auch in endokrinologischen Modellen der Insulinresistenz möglich war [74–76].

#### 6.5 Fazit

Gesteigerte BO kamen in zwei Parkinson-Modellen mit akutem oder langsam-progredientem Dopaminmangel vor, was die Hypothese unterstützt, dass erhöhte BO und Akinese pathophysiologisch verbunden sind. BO sollten damit als Biomarker für die adaptive THS in Betracht gezogen werden. LD supprimierte BO und steigerte GO viel stärker als APO in parkinsonoiden Tieren. Diese unterschiedliche Wirkung auf oszillatorische Aktivität könnte für die unterschiedliche klinische Wirksamkeit und das Nebenwirkungsprofil mit ursächlich sein, sodass Parkinson-Medikamente auf ihr

Potential, Oszillationen im Kortex-Basalganglien-Netzwerk zu beeinflussen, hin untersucht werden sollten. Mit der entwickelten Methode zur simultanen elektrophysiologischen Ableitung mehrerer Kerngebiete war es möglich, Veränderungen von LFPs und MUA auf der Ebene neuronaler Netzwerke in vivo umfassend zu untersuchen. Mit diesem Ansatz konnten in neueren Studien auch Hinweise gefunden werden, dass weitere Krankheitsmodelle Veränderungen auf der Netzwerkebene zeigen. Diese sollten weiter erforscht werden, um deren pathophysiologisches Verständnis zu vertiefen und neue Therapiemöglichkeiten zu identifizieren.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2017;124(8):901–5.
2. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: A review. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2014;311(16):1670–83.
3. Ferreira JJ, Katzenschlager R, Bloem BR, Bonuccelli U, Burn D, Deuschl G, Dietrichs E, Fabbrini G, Friedman A, Kanovsky P, Kostic V, Nieuwboer A, Odin P, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Schüpbach M, Tolosa E, Trenkwalder C, Schapira A, Berardelli A, Oertel WH. 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.
4. Lee D, Dallapiazza R, De Vloot P, Lozano A. Current surgical treatments for Parkinson's disease and potential therapeutic targets. *Neural Regen Res.* 2018 Aug;13(8):1342.
5. Brown P. Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Curr Opin Neurobiol.* 2007;17(6):656–64.
6. Oswal A, Brown P, Litvak V. Synchronized neural oscillations and the pathophysiology of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol.* 2013;26(6):662–70.
7. Stein E, Bar-Gad I. Beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop during parkinsonism. *Exp Neurol.* 2013;245:52–9.
8. 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.
9. Leblois A, Meissner W, Bioulac B, Gross CE, Hansel D, Boraud T. Late emergence of synchronized oscillatory activity in the pallidum during progressive parkinsonism. *Eur J Neurosci.* 2007;26(6):1701–13.
10. Brazhnik E, Novikov N, McCoy AJ, Cruz A V., Walters JR. Functional correlates of exaggerated oscillatory activity in basal ganglia output in hemiparkinsonian rats. *Exp Neurol.* 2014;261:563–77.
11. 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.
12. Kühn AA, Williams D, Kupsch A, Limousin P, Hariz M, Schneider GH, Yarrow K, Brown P. Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance. *Brain.* 2004;127(4):735–46.
13. Nowak M, Zich C, Stagg CJ. Motor Cortical Gamma Oscillations: What Have We Learnt and Where Are We Headed? *Curr Behav Neurosci Reports.* 2018;5(2):136–42.
14. Kühn AA, Tsui A, Aziz T, Ray N, Brücke C, Kupsch A, Schneider GH, Brown P. Pathological synchronisation in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease relates to both bradykinesia and rigidity. *Exp Neurol.* 2009 Feb;215(2):380–7.

15. Eusebio A, Thevathasan W, Doyle Gaynor L, Pogosyan A, Bye E, Foltynie T, Zrinzo L, Ashkan K, Aziz T, Brown P. Deep brain stimulation can suppress pathological synchronisation in parkinsonian patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(5):569–73.
16. Doyle LMF, 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.
17. Ray NJ, Jenkinson N, Wang S, Holland P, Brittain JS, Joint C, Stein JF, Aziz T. 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 Sep;213(1):108–13.
18. Eusebio A, Chen CC, Lu CS, Lee ST, Tsai CH, Limousin P, Hariz M, Brown P. Effects of low-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on movement in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2008 Jan 1;209(1):125–30.
19. Chen CC, Lin WY, Chan HL, Hsu YT, Tu PH, Lee ST, Chiou SM, Tsai CH, Lu CS, Brown P. Stimulation of the subthalamic region at 20Hz slows the development of grip force in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2011;231(1):91–6.
20. Little S, Beudel M, Zrinzo L, Foltynie T, Limousin P, Hariz M, Neal S, Cheeran B, Cagnan H, Gratwicke J, Aziz TZ, Pogosyan A, Brown P. Bilateral adaptive deep brain stimulation is effective in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(7):717–21.
21. Priori A, Foffani G, Rossi L, Marceglia S. Adaptive deep brain stimulation (aDBS) controlled by local field potential oscillations. *Exp Neurol*. 2013;245:77–86.
22. Weinberger M, Mahant N, Hutchison WD, Lozano AM, Moro E, Hodaie M, Lang AE, Dostrovsky JO. Beta Oscillatory Activity in the Subthalamic Nucleus and Its Relation to Dopaminergic Response in Parkinson's Disease. *J Neurophysiol*. 2006;96(6):3248–56.
23. Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz A V., Walters JR. Subthalamic Nucleus Activity in the Awake Hemiparkinsonian Rat: Relationships with Motor and Cognitive Networks. *J Neurosci*. 2015;35(17):6918–30.
24. Costa RM, Lin SC, Sotnikova TD, Cyr M, Gainetdinov RR, Caron MG, Nicoletis MAL. Rapid Alterations in Corticostriatal Ensemble Coordination during Acute Dopamine-Dependent Motor Dysfunction. *Neuron*. 2006;52(2):359–69.
25. Dejean C, Arbuthnott G, Wickens JR, Le Moine C, Boraud T, Hyland BI. Power Fluctuations in Beta and Gamma Frequencies in Rat Globus Pallidus: Association with Specific Phases of Slow Oscillations and Differential Modulation by Dopamine D1 and D2 Receptors. *J Neurosci*. 2011;31(16):6098–107.
26. Degos B. Neuroleptic-Induced Catalepsy: Electrophysiological Mechanisms of Functional Recovery Induced by High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus. *J Neurosci*. 2005;25(33):7687–96.
27. Mallet N, Pogosyan A, Sharott A, Csicsvari J, Bolam JP, Brown P, Magill PJ. Disrupted Dopamine Transmission and the Emergence of Exaggerated Beta Oscillations in Subthalamic Nucleus and Cerebral Cortex. *J Neurosci*. 2008;28(18):4795–806.
28. Ellens DJ, Leventhal DK. Electrophysiology of basal ganglia and cortex in models of parkinson disease. *J Parkinsons Dis*. 2013;3(3):241–54.
29. Lozano AM, Lipsman N. Probing and Regulating Dysfunctional Circuits Using Deep Brain Stimulation. *Neuron*. 2013;77(3):406–24.
30. Mithal DH, Sohal VS. Neural oscillations and synchrony in brain dysfunction and neuropsychiatric disorders it's about time. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(8):840–4.
31. Uhlhaas PJ, Singer W. Neuronal dynamics and neuropsychiatric disorders: toward a translational paradigm for dysfunctional large-scale networks. *Neuron*. 2012;75(6):963–80.
32. Larson PS. Deep brain stimulation for movement disorders. *Neurotherapeutics*. 2014;11(3):465–74.
33. Deniau JM, Mailly P, Maurice N, Charpier S. The pars reticulata of the substantia nigra: a window to basal ganglia output. *Prog Brain Res*. 2007;160:151–72.
34. Bosch C, Mailly P, Degos B, Deniau JM, Venance L. Preservation of the hyperdirect

- pathway of basal ganglia in a rodent brain slice. *Neuroscience*. 2012;215:31–41.
35. Leão AHFF, Sarmiento-Silva AJ, Santos JR, Ribeiro AM, Silva RH. Molecular, Neurochemical, and Behavioral Hallmarks of Reserpine as a Model for Parkinson's Disease: New Perspectives to a Long-Standing Model. *Brain Pathol*. 2015;25(4):377–90.
  36. Blandini F, Levandis G, Bazzini E, Nappi G, Armentero MT. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: New clues from an old model. *Eur J Neurosci*. 2007;25(2):397–405.
  37. Blandini F, Armentero M-T. Animal models of Parkinson's disease. *FEBS J*. 2012;279(7):1156–66.
  38. Henry B, Crossman AR, Brotchie JM. Characterization of Enhanced Behavioral Responses to DOPA Following Repeated Administration in the 6-Hydroxydopamine-Lesioned Rat Model of Parkinson's Disease. *Exp Neurol*. 1998;151(2):334–42.
  39. Haumesser JK, Kühn J, Güttler C, Nguyen D-H, Beck MH, Kühn AA, van Riesen C. Acute In Vivo Electrophysiological Recordings of Local Field Potentials and Multi-unit Activity from the Hyperdirect Pathway in Anesthetized Rats. *J Vis Exp*. 2017;2017(124):e55940–e55940.
  40. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Acad Press. 1998;(1):1–474.
  41. 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.
  42. Sanberg PR, Bunsey MD, Giordano M, Norman AB. The catalepsy test: its ups and downs. *Behav Neurosci*. 1988;102(5):748–59.
  43. 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.
  44. Steiner B, Winter C, Blumensath S, Paul G, Harnack D, Nikkhah G, Kupsch A. 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.
  45. Clement EA, Richard A, Thwaites M, Ailon J, Peters S, Dickson CT. Cyclic and Sleep-Like Spontaneous Alternations of Brain State Under Urethane Anaesthesia. *Greene E*, editor. *PLoS One*. 2008 Apr;3(4):e2004.
  46. Steriade M. Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience*. 2000;101(2):243–76.
  47. 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.
  48. Magill PJ, Sharott A, Bolam JP, Brown P. Delayed synchronization of activity in cortex and subthalamic nucleus following cortical stimulation in the rat. *J Physiol*. 2006;574(Pt 3):929–46.
  49. Kühn J, Haumesser JK, Beck MH, Altschüler J, Kühn AA, Nikulin V V., van Riesen C. 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;298:122–33.
  50. Picconi B, Centonze D, Håkansson K, Bernardi G, Greengard P, Fisone G, Cenci MA, Calabresi P. Loss of bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Neurosci*. 2003;6(5):501–6.
  51. 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.
  52. Hammond C, Bergman H, Brown P. Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models and treatments. *Trends Neurosci*. 2007;30(7):357–64.
  53. Holgado AJN, Terry JR, Bogacz R. Conditions for the generation of beta oscillations in the subthalamic nucleus-globus pallidus network. *J Neurosci*. 2010;30(37):12340–52.

54. Plenz D, Kital ST. A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature*. 1999;400(6745):677–82.
55. Magill P., Bolam J., Bevan M. Dopamine regulates the impact of the cerebral cortex on the subthalamic nucleus–globus pallidus network. *Neuroscience*. 2001 Sep;106(2):313–30.
56. Li Q, Qian Z-M, Arbuthnott GW, Ke Y, Yung W-H. Cortical Effects of Deep Brain Stimulation. *JAMA Neurol*. 2014;71(1):100.
57. Fries P. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cogn Sci*. 2005;9(10):474–80.
58. Priori A, Foffani G, Pesenti A, Tamma F, Bianchi AM, Pellegrini M, Locatelli M, Moxon KA, Villani RM. Rhythm-specific pharmacological modulation of subthalamic activity in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2004 Oct;189(2):369–79.
59. Alegre M, López-Azcárate J, Alonso-Frech F, Rodríguez-Oroz MC, Valencia M, Guridi J, Artieda J, Obeso JA. Subthalamic activity during diphasic dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012;27(9):1178–81.
60. Dupre KB, Cruz A V., McCoy AJ, Delaville C, Gerber CM, Eyring KW, Walters JR. 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.
61. Halje P, Tamtè M, Richter U, Mohammed M, Cenci MA, Petersson P. Levodopa-induced dyskinesia is strongly associated with resonant cortical oscillations. *J Neurosci*. 2012 Nov;32(47):16541–51.
62. Millan MJ, Maiofiss L, Cussac D, Audinot V, Boutin J-A, Newman-Tancredi A, Lejeune F, Rivet J, Brocco M, Duqueyrox D, Nicolas J, Boutin J, Newman-Tancredi A. Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. I. A multivariate analysis of the binding profiles of 14 drugs at 21 native and cloned human receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;303(2):791–804.
63. Newman-Tancredi A, Cussac D, Audinot V, Nicolas J-P, De Ceuninck F, Boutin J-A, Millan MJ, Lacoste JM, Cordi A, Dekeyne A. Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. II. Agonist and antagonist properties at subtypes of dopamine D(2)-like receptor and alpha(1)/alpha(2)-adrenoceptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;303(2):805–14.
64. Cenci MA. Dopamine dysregulation of movement control in L-DOPA-induced dyskinesia. *Trends Neurosci*. 2007;30(5):236–43.
65. Carta M, Carlsson T, Kirik D, Bjorklund A. Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain*. 2007;130(7):1819–33.
66. 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.
67. Breese GR, Traylor TD. Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. *Br J Pharmacol*. 1971;42(1):88–99.
68. Contin M, Riva R, Martinelli P, Procaccianti G, Cortelli P, Avoni P, Baruzzi A. Response to a standard oral levodopa test in parkinsonian patients with and without motor fluctuations. *Clin Neuropharmacol*. 1990;13(1):19–28.
69. Grandas F, Gancher ST, Rodriguez M, Lera G, Nutt JG, Obeso JA. Differences in the motor response to apomorphine between untreated and fluctuating patients with Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol*. 1992;15(1):13–8.
70. LeWitt PA. Subcutaneously administered apomorphine: pharmacokinetics and metabolism. *Neurology*. 2004;62(6 Suppl 4):S8-11.
71. Nicolle E, Pollak P, Serre-Debeauvais F, Richard P, Gervason C, Broussolle E, Gavend M. Pharmacokinetics of apomorphine in parkinsonian patients. *Fundam Clin Pharmacol*. 1993;7(5):245–52.
72. Torres EM, Lane EL, Heuer A, Smith GA, Murphy E, Dunnett SB. Increased efficacy of the 6-hydroxydopamine lesion of the median forebrain bundle in small rats, by modification of the stereotaxic coordinates. *J Neurosci Methods*. 2011;200(1):29–35.
73. Maesawa S, Kaneoke Y, Kajita Y, Usui N, Misawa N, Nakayama A, Yoshida J. Long-term

- stimulation of the subthalamic nucleus in hemiparkinsonian rats: neuroprotection of dopaminergic neurons. *J Neurosurg.* 2004;100(4):679–87.
74. Voget M, Rummel J, Avchalumov Y, Sohr R, Haumesser JK, Rea E, Mathé AA, Hadar R, van Riesen C, Winter C. Altered local field potential activity and serotonergic neurotransmission are further characteristics of the Flinders sensitive line rat model of depression. *Behav Brain Res.* 2015;291:299–305.
  75. Hadar R, Voget M, Vengeliene V, Haumesser JK, van Riesen C, Avchalumov Y, Spanagel R, Winter C. Altered neural oscillations and elevated dopamine levels in the reward pathway during alcohol relapse. *Behav Brain Res.* 2017;316:131–5.
  76. Maurer L, Tang H, Haumesser JK, Altschüler J, Kühn AA, Spranger J, Van Riesen C. High-fat diet-induced obesity and insulin resistance are characterized by differential beta oscillatory signaling of the limbic cortico-basal ganglia loop. *Sci Rep.* 2017;7(1).

## 8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Jens Kersten Haumesser, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Das idiopathische Parkinson-Syndrom als Netzwerkerkrankung: Methodenetablierung und Analyse von oszillatorischer Aktivität neuronaler Netzwerke in Tiermodellen“* 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](http://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

## 9. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Jens Kersten Haumesser hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

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 D-H, Beck MH, Kühn AA, van Riesen C.

J Vis Exp. 2017;2017(124):e55940–e55940.

Impact-Faktor: 1,232 (2016)

Zu diesem Artikel existiert ein Video: <https://www.jove.com/video/55940/acute-vivo-electrophysiological-recordings-local-field-potentials>

Beitrag:

- Aufbau eines elektrophysiologischen Verstärker-Setups
- Etablierung der Methode zur simultanen elektrophysiologischen Ableitung
- Etablierung des elektrophysiologischen Mappings zur Implantation von Elektroden mit hoher Genauigkeit anhand von Aktionspotential-Aktivität
- Durchführung aller zur Etablierung nötigen Versuche
  - Ansetzen aller benötigten Lösungen und Medikamente
  - stereotaktische Operationsverfahren: Durchführung von 6-Hydroxydopamin-Läsionen, Elektrodenimplantationen
  - engmaschige postoperative Betreuung der Ratten, s.c.-Injektionen, Handling
  - Elektrophysiologische Ableitungen in Urethan-Narkose
  - Transkardiale Perfusionen, Gehirnentnahme
- Entwicklung und Bau geeigneter Silber-Silberchlorid-Elektroden
- Elektrophysiologische Datenanalyse von Lokalen Feldpotentialen und Multi-Unit-Aktivität
- Histologische Aufbereitung von Gehirnen, Gewebeprozessierung, Kryostat-Schnitten und Nissl-Färbung
- Lichtmikroskopische Befundung zur Lokalisation von Mikroelektroden und 6-Hydroxydopamin-Läsionen
- Hauptsächliche Gestaltung des Manuskripts zur Veröffentlichung, Erstellen von Abbildungen
- Wesentliche Mitarbeit am Review-Prozess sowie Leitung der Video-Produktion und Vorführung der Versuche

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-Faktor: 4,706 (2016)

Beitrag:

- Etablierung der immunhistologischen Färbung zur Tyrosin-Hydroxylase-Darstellung
- Etablierung der stereologischen Auswertung der Zellzahlen in der Substantia nigra pars compacta
- Etablierung der densitometrischen Auswertung striataler Fasern
- Etablierung motorischer Verhaltenstests (Zylindertest, Drag-Test)
- Bau geeigneter Verhaltensapparaturen
- Einarbeitung des Doktoranden in den Bau von Silber-Silberchlorid-Elektroden
- Mitarbeit am Manuskript zur Veröffentlichung

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.

Impact-Faktor: 4,706 (2016)

Beitrag:

- Einarbeitung der Doktorandin in
  - stereotaktische Operationen (6-Hydroxydopamin-Läsionen, Elektrodenimplantationen)
  - Durchführung von Verhaltensversuchen (Zylindertest, Drag-Test)
  - Bau von Silber-Silberchlorid-Elektroden
  - Transkardiale Perfusionen, Hirnentnahme, Kryokonservierung
  - Postoperative Betreuung von Tieren, Handling, Injektionen
  - Ansetzen von Lösungen, insbesondere 6-Hydroxydopamin-Lösung
- Durchführung von Verhaltensversuchen (Zylindertest, Drag-Test)
- Postoperative Betreuung von Tieren inkl. s.c.-Injektionen, Handling
- Durchführung von elektrophysiologischen Ableitungen und Elektrodenimplantationen
- Durchführung transkardialer Perfusionen, Gehirnentnahmen, Kryokonservierung
- Mitarbeit am Manuskript zur Veröffentlichung

---

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden

## 10. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

### **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 D-H, Beck MH, Kühn AA, van Riesen C.**

J Vis Exp. 2017;2017(124):e55940–e55940.

<http://dx.doi.org/10.3791/55940>

















**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;286:124–36.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.10.005>



























**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 V V., van Riesen C.  
Exp Neurol. 2017;298:122–33.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.005>

























## **11. Lebenslauf**

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



## 12. Vollständige Publikationsliste

### Publikationen

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*

High-fat diet-induced obesity and insulin resistance are characterized by differential beta oscillatory signaling of the limbic cortico-basal ganglia loop.

Maurer L, Tang H, **Haumesser JK**, Altschüler J, Kühn AA, Spranger J, van Riesen C. *Sci Rep.* 2017;7(1):15555. *Impact Factor: 4,122*

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: 1,184*

Altered neural oscillations and elevated dopamine levels in the reward pathway during alcohol relapse.

Hadar R, Voget M, Vengeliene V, **Haumesser JK**, van Riesen C, Avchalumov Y, Spanagel R, Winter C.

*Behav Brain Res.* 2017;316:131-135. *Impact Factor: 3,173*

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: 4,706*

Altered local field potential activity and serotonergic neurotransmission are further characteristics of the Flinders sensitive line rat model of depression.

Voget M, Rummel J, Avchalumov Y, Sohr R, **Haumesser JK**, Rea E, Mathé AA, Hadar R, van Riesen C, Winter C.

*Behav Brain Res.* 2015;291:299-305. *Impact Factor: 3,002*

Postoperative MRI examinations in patients treated by deep brain stimulation using a non-standard protocol.

Weise LM, Schneider GH, Kupsch A, **Haumesser J**, Hoffmann KT.

*Acta Neurochir (Wien).* 2010;152(12):2021-7. *Impact Factor: 1,329*

## **Kongress-Poster**

Temporal Evolution of Beta-Oscillations in the 6-OHDA-Model of Parkinson's Disease  
**Jens K. Haumesser**, Maximilian H. Beck, Johanna Kühn, Vadim Nikulin, PhD, Andrea A. Kühn, MD and Christoph van Riesen, MD  
International DBS Symposium, Clinical Research Group KFO 247, Berlin, November 2016

A Fully Implantable and Highly Adaptable Microstimulator for Long-Term Chronic Bilateral Deep Brain Stimulation of Freely Moving Mice and Rats  
**Jens K. Haumesser**, Raik Paulat, Hui Tang, Jennifer Altschüler, Daniel Harnack, Lukas Maurer, Andrea A. Kühn and Christoph van Riesen  
International DBS Symposium, Clinical Research Group KFO 247, Berlin, November 2016

Beta-Oszillationen im zeitlichen Verlauf und ihre Beziehung zu motorischen Symptomen im 6-OHDA-Parkinsonmodell der Ratte  
**Jens K. Haumesser**, Maximilian H. Beck, Andreas Kupsch, Andrea Kühn und Christoph van Riesen  
Deutscher Parkinson-Kongress 2015, Berlin, April 2015

Evolution of Beta-Oscillations in the 6-OHDA-Model of Parkinson's Disease  
**Jens K. Haumesser**, Maximilian H. Beck, Andreas Kupsch, MD, Andrea A. Kühn MD and Christoph van Riesen, MD  
2nd International Symposium of the Clinical Research Group 219, German Research Foundation, Köln, Februar 2015

Evolution of beta-oscillations in the 6-OHDA model of Parkinson's disease  
Christoph van Riesen, Max H Beck, Daniel Harnack, Andreas Kupsch, Andrea A Kühn and **Jens K. Haumesser**  
18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Stockholm, Juni 2014

### **13. Danksagung**

Mein Dank gilt meiner betreuenden Hochschullehrerin Frau Prof. Dr. med. Andrea Kühn für Überlassung des Themas sowie die umfassende Betreuung dieser Promotionsarbeit. Ohne ihre konsequente Unterstützung des Elektrophysiologie-Labors wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Für die Schaffung eines produktiven und angenehmen Umfeldes danke ich ihr sehr. Bedanken möchte ich mich auch für ihre Unterstützung bei der Einwerbung eines Stipendiums, was die langdauernde Etablierungszeit erst ermöglicht hat.

Bei meinem Laborleiter und Fachbetreuer Dr. med. Christoph van Riesen möchte ich mich sehr für den fachlichen Beistand und das in mich gesetzte Vertrauen bedanken, dafür, dass er mir ermöglicht hat, auch ohne Vorerfahrung in jungen Jahren ein umfangreiches Projekt in der Grundlagenforschung in Angriff zu nehmen. Seine fortwährende Unterstützung trotz großer eigener Belastungen in der Anfangsphase war herausragend und eine Quelle der Motivation.

Dr. Vadim Nikulin danke ich für die Begleitung und Hilfestellung in der doch oft schwierigen elektrophysiologischen Datenanalyse. Seine verständlichen Erklärungen und kritischen Fragen waren eine große Hilfe.

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Forschungseinrichtungen für Experimentelle Medizin bedanken. Mein Dank gilt allen Kollegen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für ihre tatkräftige Unterstützung.

Ohne die großzügige Förderung der studentischen Forschungsförderung der Charité Universitätsmedizin und der Deutschen Forschungsgemeinschaft - DFG - im Rahmen der KFO 247 hätte diese Promotionsarbeit nicht realisiert werden können, hierfür möchte ich mich ausdrücklich bedanken.