

Aus dem Institut für Neurophysiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchung der Entstehung veränderter Oszillationen im
primärmotorischen Kortex am Hemiparkinson-Modell der Ratte

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Veronica Maria Rignall

Datum der Promotion: 03.12.2021

Inhaltsverzeichnis

1.	Abstract.....	7
1.1.	Abstract in deutscher Sprache.....	7
1.1.1.	Einleitung.....	7
1.1.2.	Methodik.....	7
1.1.3.	Ergebnisse	7
1.1.4.	Schlussfolgerung.....	8
1.2.	Abstract in englischer Sprache	8
1.2.1.	Introduction.....	8
1.2.2.	Methods.....	8
1.2.3.	Results.....	9
1.2.4.	Conclusion.....	9
2.	Einleitung und Fragestellung.....	9
2.1.	Das idiopathische Morbus Parkinson-Syndrom	9
2.2.	Die Pathophysiologie des Morbus Parkinson.....	10
2.2.1.	Das Basalgangliennetzwerk	11
2.2.2.	Veränderte Signalprozessierung innerhalb des Basalgangliennetzwerkes unter Morbus Parkinson.....	12
2.2.3.	Verstärkt auftretende Beta-Oszillationen unter Morbus Parkinson beim Menschen.....	14
2.2.4.	Das Hemiparkinson-Modell der Ratte	15
2.2.5.	Die Rolle des Motorkortex in der Pathophysiologie des Morbus Parkinson	16
2.3.	Der Motorkortex und zelluläre Mechanismen oszillatorischer Aktivität	18
2.4.	Die Messung neuronaler Aktivität über lokale Feldpotenziale	19

2.5.	Fragestellung.....	20
3.	Methoden und Material.....	21
3.1.	Tiere.....	21
3.2.	Richtlinien Tierschutz	21
3.3.	Unilaterale 6-Hydroxydopamin Läsion dopaminerger Neurone.....	21
3.4.	Zylindertest	22
3.5.	Akute Hirnschnitte der Ratte	23
3.6.	Elektrophysiologische Ableitung	24
3.7.	Histologische Aufarbeitung	24
3.8.	Datenanalyse.....	25
4.	Ergebnisse	27
4.1.	Analyse der oszillatorischen Aktivität in M1 Schicht V der naiven, nicht operierten Ratten.....	27
4.1.1.	Beschreibung der oszillatorischen Aktivität nach Inkubation mit 800 µM Kainat und 5 µM Carbachol	27
4.1.2.	Die Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte in M1 der gesunden Ratte	39
4.2.	Die Analyse der oszillatorischen Aktivität im Hemiparkinson-Modell der Ratte	42
4.2.1.	Die 6-OHDA Läsion und Implementierung des Hemiparkinson-Modells ..	42
4.2.2.	Nachweis der 6-OHDA Läsion mittels Immunhistologie	42
4.2.3.	Der Effekt der 6-OHDA-Läsion auf die oszillatorische Aktivität in M1.....	43
4.2.4.	Vergleich der funktionellen Parameter der oszillatorischen Aktivität im M1 der 6-OHDA-lädierten im Vergleich zur naiven Ratte	47
4.2.5.	Analyse des erhöhten Auftretens von Beta-Oszillationen im Hemiparkinson-Modell der Ratte	48
4.3.	Vorläufige Zusammenfassung	51

4.4.	Das Ausmaß des motorischen Defizits lädierter Ratten	51
4.4.1.	Nachweis der 6-OHDA Läsion mittels Zylindertest.....	52
4.4.2.	Gruppierung der Hirnschnitte nach motorischem Defizit.....	53
4.4.3.	Korrelation des motorischen Defizits lädierter Ratten zur oszillatorischen Aktivität.....	54
4.4.3.1.	Korrelation des schwachen motorischen Defizits zur oszillatorischen Aktivität	54
4.4.3.2.	Korrelation des mittleren motorischen Defizits zur oszillatorische Aktivität	56
4.4.3.3.	Korrelation des starken motorischen Defizits zur oszillatorische Aktivität	57
4.4.4.	Zusammenfassung der Korrelation des unterschiedlichen motorischen Defizits 6-OHDA-lädierter Ratten zur veränderten oszillatorischen Aktivität	60
5.	Diskussion.....	61
5.1.	Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	61
5.2.	Interpretation der Ergebnisse und Vergleich mit anderen Studien.....	63
5.3.	Limitationen	65
5.4.	Schlussfolgerung.....	66
6.	Abkürzungsverzeichnis	67
7.	Schriftenverzeichnis	68
8.	Eidesstattliche Versicherung.....	74
9.	Lebenslauf	75
10.	Danksagung.....	76

Abbildungs- und Diagrammverzeichnis

Abbildung 1: Foto des Messplatzes mit 16 Messelektroden, Interface-Typ-Messkammer mit 4 Messelektroden, schematische Darstellung eines koronaren Hirnschnitts der Ratte auf Höhe des motorischen Kortex und Abbildung eines akuten koronaren Hirnschnitts.	27
Abbildung 2: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren im niederfrequenten Frequenzband (< 13 Hz) einer naiven Ratte.	29
Abbildung 3: Messspur, Powerspektren und Spektrogramm im Gamma-Frequenzband (> 30 Hz) einer naiven Ratte.	31
Abbildung 4: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren im Beta- und niederfrequenten Frequenzband (< 13 - 30 Hz) einer multiplen Oszillation bei einer naiven Ratte.....	33
Abbildung 5: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren einer diskontinuierlichen Oszillation im niederfrequenten Spektrum (< 13 Hz) einer naiven Ratte.	36
Abbildung 6: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren einer diskontinuierlichen Oszillation im Beta-Frequenzspektrum (13 – 30 Hz) einer naiven Ratte.	38
Abbildung 7: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte (Responder, n = 44) der naiven Ratte und Verteilung auf die jeweiligen Frequenzbänder als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 80).....	40
Abbildung 8: Immunhistologische Färbung gegen Tyrosinhydroxylase eines koronaren Schnittes der Substantia Nigra des Mesencephalons der Ratte.....	43
Abbildung 9: Auswertung thyrosinpositiver Zellen der Substantia Nigra Pars Compacta im Hemiparkinson-Modell der Ratte.....	43
Abbildung 10: Vergleich der oszillatorischen Aktivität naiver Ratten (Responder, n = 44) und 6-OHDA-lädierter Ratten (Responder, n = 134) als Fraktion der Responder zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n (naiv)= 80, n (lädiert) = 288).	45
Abbildung 11: Ergebnisse des Zylindertests.....	53
Abbildung 12: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte (Responder, n = 43) 6-OHDA-lädierter Ratten mit schwachem motorischen Defizit und Verteilung auf die jeweiligen Frequenzbänder als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96).....	55

Abbildung 13: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte der 6-OHDA-lädierten Ratte mit mittlerem motorischen Defizit (Responder, n = 51) als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96).....	56
Abbildung 14: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte 6-OHDA-lädierter Ratten mit starkem motorischen Defizit (Responder, n = 40) als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96).....	59
Abbildung 15: Darstellung der Korrelation zwischen dem unterschiedlichen motorischen Defizit der 6-OHDA-Läsion und der veränderten oszillatorischen Aktivität.	62

1. Abstract

1.1. Abstract in deutscher Sprache

1.1.1. Einleitung

Im idiopathischen Parkinson-Syndrom kommt es zum Untergang dopaminergener Neurone der Substantia nigra pars compacta und zu einer Veränderung der neuronalen Modulation der Basalganglien. Dies führt neben den typischen klinischen Symptomen der Verlangsamung der Bewegungsgeschwindigkeit (Akinese), Muskelsteife (Rigor) und Zittern (Tremor) zu vermehrt auftretenden Beta-Oszillationen, die sowohl beim Menschen als auch im 6-OHDA-Modell der Ratte gemessen werden können. Da unklar ist, welche Hirnstruktur für die Initiation und Aufrechterhaltung der pathologischen Netzwerkoszillationen maßgeblich ist, wurde in der vorliegenden Monografie der Frage nachgegangen, ob der Motorkortex als primärer Generator der pathologischen Oszillationen im Basalgangliennetzwerk unter Morbus Parkinson fungieren könnte.

1.1.2. Methodik

Es wurden 18 Wistar-Ratten neurochirurgisch mit 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) unilateral lädiert. 5 weitere naive Ratten dienten der Kontrolle. An allen 18 operierten Versuchstieren wurde postoperativ ein motorischer Verhaltenstest durchgeführt, um den Grad des unilateralen motorischen Defizits nach der 6-OHDA-Läsion zu ermitteln. Anschließend wurde der Motorkortex *in vitro* von anderen Hirnstrukturen isoliert, pharmakologisch stimuliert und extrazelluläre Aufnahmen des lokalen Feldpotenzials gemacht. Eine histologische Aufarbeitung wurde beispielhaft an 3 lädierten Tieren durchgeführt, die Datenanalyse erfolgte mittels Fast Fourier Transformation.

1.1.3. Ergebnisse

Durch die Co-Applikation des Glutamat-Rezeptor-Agonist Kainat (800 nM) und des muskarinischen Rezeptor-Agonist Carbachol (5 μ M) gelang es, in Schicht V des M1 *in vitro* Oszillationen zu erzeugen. Es zeigte sich eine ähnlich gute Erregbarkeit der naiven als auch der lädierten Hirnschnitte mit einer signifikanten Erhöhung der kontinuierlichen Beta-Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten im Vergleich zu naiven Ratten. Dieser Effekt war nicht auf die ipsilaterale Hemisphäre beschränkt und auch kontralateral

reproduzierbar. Nach Auswertung des postoperativen Zylinder-Tests zeigte sich, dass das unterschiedliche motorische Defizit der 6-OHDA-lädierten Ratten eine Auswirkung auf die veränderte oszillatorische Aktivität hat. Nur bei Ratten mit mittlerem motorischen Defizit kam es zu einem signifikanten Anstieg der Beta-Oszillationen. Kam es hingegen zu einem stark ausgeprägten motorischen Defizit, war der Effekt erhöhter Beta-Oszillationen geringer und es kam zu signifikant vermehrt auftretenden diskontinuierlichen Oszillationen.

1.1.4. Schlussfolgerung

Das Hemiparkinson-Modell der Ratte konnte durch diese Untersuchung erfolgreich als Tiermodell für *in vitro*-Studien am primärmotorischen Kortex etabliert werden. Es konnten qualifizierte Hypothesen aufgestellt werden, die auf den Motorkortex als autonomen Generator von veränderten Oszillationen, insbesondere einer erhöhten Beta-Oszillation unter einer 6-OHDA-Läsion, hinweisen. Es wurden diskontinuierliche Oszillationen beobachtet, die für eine maladaptive Netzwerkveränderung bei vollständigem motorischen Defizit sprechen.

1.2. Abstract in englischer Sprache

1.2.1. Introduction

A feature of Parkinson's disease is the loss of dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta and an alteration in the neural activity of the basal ganglia. In addition to the typical clinical symptoms akinesia, muscle stiffness (rigidity) and tremor, this leads to increased beta oscillations, which can be measured both in humans and in the 6-OHDA model of the rat. Since it is unclear which brain structure is crucial for the initiation of the pathological network oscillations, the question of whether the motor cortex could function as the primary generator was investigated in the present study.

1.2.2. Methods

18 Wistar rats were unilaterally lesioned by neurosurgery with 6-hydroxydopamine. 5 additional rats served as control. A motor behavior test was carried out postoperatively on all 18 operated rats in order to determine the degree of the unilateral motor deficit. The motor cortex was then isolated *in vitro* from other brain structures and pharmacologically

stimulated. Extracellular recordings of the local field potentials were made. A histological examination was performed on 3 lesioned animals. Subsequent data analysis was carried out with Fast Fourier Transformation.

1.2.3. Results

In vitro oscillations in layer V of M1 were generated by co-application of the glutamate receptor agonist Kainate (800 nM) and the muscarinic receptor agonist Carbachol (5 µM). There was a similarly good excitability of the naive and the lesioned brain slices. A significant increase in the continuous beta oscillation of the 6-OHDA lesioned rats was observed. This effect was not limited to the ipsilateral hemisphere and was also contralaterally reproducible. Evaluation of the postoperative cylinder test showed that the different motor deficits of the 6-OHDA-damaged rats had an effect on the oscillatory activity. Only in rats with moderate motor deficit was there a significant increase in beta oscillations. If, on the other hand, there was a pronounced motor deficit, the effect of increased beta oscillations was lower and there was a significant increase in discontinuous oscillations.

1.2.4. Conclusion

This study successfully established the 6-OHDA-model of the rat as an animal model for *in vitro* studies on the primary motor cortex in Parkinson's disease. It was possible to set up qualified hypotheses that point to the motor cortex as an autonomous generator of changed oscillations under 6-OHDA lesion, in particular an increased beta oscillation. Discontinuous oscillations were observed together with high motor deficits, which suggest a maladaptive network change.

2. Einleitung und Fragestellung

2.1. Das idiopathische Morbus Parkinson-Syndrom

Diese Arbeit beschäftigt sich mit den veränderten neurologischen Oszillationen, die im Rahmen des idiopathischen Morbus Parkinson auftreten. Parkinson-Syndrome entstehen auf Grund einer gestörten Netzwerkaktivität der Basalganglien (1). Sie sind klinisch durch eine Verlangsamung der Bewegungsgeschwindigkeit (Akinese) definiert, die sich durch

erschwerter und verzögerte Ausführung bei der Initiierung von Willkürbewegung und in einer Verlangsamung von parallel ausgeführten oder in rascher Abfolge stattfindenden motorischen Tätigkeiten zeigt (2). Auch wenn das Auftreten von nicht motorischen Störungen für das Krankheitsbild typisch ist, so bedarf es jedoch für die formale Diagnose eines zusätzlichen, in unterschiedlicher Ausprägung auftretenden, motorischen Symptoms, das, als weiteres Kardinalsymptom bezeichnet, entweder Muskelsteife (Rigor), Zittern (Tremor) oder eine Standunsicherheit (posturale Instabilität) sein muss (3). Das Parkinson-Syndrom wird als syndromatischer Überbegriff für verschiedene Ätiologien dieses Formenkreises verwendet, es umfasst das idiopathische und nicht-idiopathische Parkinson-Syndrom. In dieser Monografie beziehen wir uns auf das idiopathische Parkinson Syndrom (IPS), welches ca. 75% aller Parkinson-Syndrome ausmacht (2) und als Ursache der Erkrankung weder einen sekundären, genetischen oder einen anderen neurodegenerativen Ursprung hat.

2.2. Die Pathophysiologie des Morbus Parkinson

Die zentrale Pathophysiologie des IPS ist der Untergang dopaminergener Neurone in einem Kerngebiet der Basalganglien, der Substantia nigra pars compacta (SNpc) (4). Die dopaminergen Neurone projizieren von der SNpc ins Striatum (5, 6), so dass durch den Verlust dieser Nervenzellen ein Dopaminmangel im Striatum entsteht. Dieser Dopaminmangel verändert die neuronale Signalprozessierung innerhalb und außerhalb des Basalgangliennetzwerkes (7). Bei einem Untergang von mehr als 50% der dopaminergen Zellen der SNpc kommt es zu den oben beschriebenen klinischen Symptomen des IPS (8).

Zum Netzwerk der Basalganglien-Kerne gehören, neben der soeben erwähnten SNpc und dem Striatum (welches aus dem Nucleus Caudatus und dem Putamen besteht), der externe und interne Globus Pallidus (GPe, GPi), der Nucleus subthalamicus (STN), der Nucleus accumbens und die Substantia nigra pars reticulata (SNpr) (6). Diese Kerngebiete liegen im Telencephalon und sind Teil des extrapyramidalmotorischen Systems, das die Ausführung von Bewegung und Handlungsmustern unterstützt (6). Weitere Strukturen dieses Systems sind, neben den Basalganglien, Areale des frontalen Kortex und des ventralen Thalamus. Im sogenannten erweiterten Basalganglien-Modell (9, 10) geht man von der Vorstellung aus, dass sich die Basalganglien-Schleifen topografisch in funktionell getrennte Schleifen für motorische, kognitive und emotional-

limbische Funktionen gliedern und verschiedene Areale des frontalen Kortex in die jeweiligen unterschiedlichen Schleifen der Basalganglien projizieren. Die Basalganglien kontrollieren die Auswahl willkürlicher und unwillkürlicher Bewegungsabläufe, beteiligen sich aber auch an Lernprozessen von Handlungsabläufen und an kognitiven und emotionalen Funktionen (6). Dies spiegelt sich im Auftreten der typischen nicht-motorischen Symptome bei IPS wieder (1). Diese Monografie beschränkt sich auf eine motorische Fragestellung.

2.2.1. Das Basalgangliennetzwerk

Das Basalgangliennetzwerk des Menschen verbindet über verschiedene neuronale Schleifen Areale des Kortex mit dem Thalamus (6). Innerhalb des Basalgangliennetzwerkes wird die kortikal generierte Information über parallel verlaufende Schleifen, die man als den direkten, indirekten und hyperdirekten Weg bezeichnet, verarbeitet (11). Zunächst gelangt, ausgehend vom somatosensorischen, motorischen und prämotorischen Kortex, glutamaterge exzitatorische Erregung über die motorische Basalganglienschleife ins Striatum (12).

Das Striatum spielt als Ort der Neuromodulation eine wichtige Rolle (13). Von hier ausgehend findet die Einbindung unterschiedlicher Kerngebiete der Basalganglien statt: Man grenzt dabei die monosynaptische, direkte (exzitatorische) Verbindung von einer polysynaptischen, indirekten (inhibitorischen) Verbindung ab (6). Beide Verbindungen, sowohl die direkte als auch die indirekte, projizieren in den SNpr und den GPi, die die Ausgangsstrukturen der Basalganglien darstellen (13). Die direkte Verbindung wirkt dabei exzitatorisch auf die nachgeschalteten Strukturen, die indirekte führt zu einer inhibitorischen Wirkung (6). Man bezeichnet die monosynaptische Verbindung auch als direkten Weg, die polysynaptische Verbindung als indirekten Weg.

In der monosynaptischen Verbindung, dem direkten Weg, projiziert das Striatum direkt zu den Ausgangsstrukturen SNpr und GPi (13). Während sowohl das Striatum als auch die Ausgangsstrukturen γ -Aminobuttersäure-bindende (GABAerge) inhibitorische Projektionsneurone besitzen (6), führt dies zu einer Hemmung der Hemmung (Disinhibition), was zu einer Erregung der nachfolgenden Strukturen führt (13).

Der indirekte Weg ist ein polysynaptischer Weg. Er führt vom Striatum über den GABAergen GPe und über den glutamatergen STN zu den Ausgangsstrukturen (6). So kommt es über das GABAerge Striatum, welches den GABAergen GPe inhibiert, zu einer

Disinhibition des STN und in Folge zu einer exzitatorischen Wirkung der glutamatergen Projektionsneurone des STN auf die GABAergen inhibitorischen Ausgangsstrukturen SNr und GPi (12). Die GABAergen, inhibitorischen Ausgangsstrukturen werden so vom STN aktiviert. Der indirekte Weg hat demnach eine inhibitorische Wirkung auf die nachfolgenden Strukturen.

Der STN selber ist eine weitere, dritte Eingangsstruktur für extrinsische kortikale Information, der wiederum als „hyperdirekter“ Weg bezeichnet wird, da Information über diesen Weg mit kürzerer Verzögerung vom Kortex in die Basalganglien gelangt als über den direkten und indirekten Weg (14).

Die Ausgangsstrukturen projizieren ihre Axone zu motorischen Regionen des Thalamus, insbesondere dem anterioren und ventrolateralen Thalamus, die wiederum zu den motorischen Regionen des Kortex zurückprojizieren (13).

2.2.2. Veränderte Signalprozessierung innerhalb des Basalgangliennetzwerkes unter Morbus Parkinson

Das Striatum und seine neuronale Verknüpfung innerhalb des Basalgangliennetzwerkes haben eine entscheidende Rolle für die Pathophysiologie des Morbus Parkinson.

So wie die meisten der Basalganglienstrukturen des Menschen entweder GABAerge (GPe, GPi und SNpr) (15-17) oder glutamaterge (STN) (18) Projektionsneurone besitzen, erhält das Striatum GABAergen Input von Neuronen des GPe (19-22).

Wichtig für die Pathophysiologie des Morbus Parkinson ist jedoch die Besonderheit, dass das Striatum dopaminerge Projektionen aus der SNpc erhält (6). Dopamin wird im Striatum zum entscheidenden Neuromodulator sowohl an Projektions- als auch an Interneuronen, wodurch die neuronale Aktivität prä- und postsynaptisch verändert wird (13).

Das Striatum besitzt zum einen Projektionsneurone in den Kortex und in den Thalamus, als auch eine große Anzahl an Interneuronen, sogenannte GABAerge „medium-spiny neurons“ (MSN), und eine funktionell wichtige, jedoch geringe Anzahl cholinerg und GABAerger Interneurone (23, 24).

Dopamin vermindert im Striatum präsynaptisch die Ausschüttung von Glutamat an kortikalen und thalamischen Projektionsneuronen und die Ausschüttung von GABA an striatalen Interneuronen. Postsynaptisch reduziert Dopamin die Erregbarkeit der MSN und der striatalen Interneurone (25).

Dies führt zu einer neuronalen Modulation der parallel verlaufenden Schleifen des Basalgangliennetzwerkes, sowohl des direkten als auch des indirekten Weges.

An Nagetieren konnte gezeigt werden, dass Dopamin an zwei unterschiedlichen Rezeptoren, den D1- und D2- Rezeptoren wirkt (26). Diese dopaminergen Rezeptoren sind in unterschiedlicher Anzahl im direkten und indirekten Weg exprimiert (26). Während D1-Rezeptoren die Erregbarkeit der MSN vorwiegend im direkten Weg erhöhen und zu einer Langzeitpotenzierung an glutamatergen Synapsen führen, vermindern D2-Rezeptoren vorwiegend die Erregbarkeit der MSN im indirekten Weg und ermöglichen eine Langzeitdepression an Projektionsneuronen aus dem Kortex (26, 27).

Als Folge dieser dopaminergen Neuromodulation erhöht Dopamin die neuronale Aktivität im direkten Weg und führt damit zu einer Inhibition der Ausgangsstrukturen der Basalganglien (13). Auf dem indirekten Weg wiederum führt die durch Dopamin reduzierte neuronale Aktivität der MSN zu einer erhöhten Aktivität des GPe und des STN, was wiederum zu einer verstärkten Inhibition der STN-Neurone und deren Projektionsneurone zu den Ausgangsstrukturen führt (13).

Im Gesunden kommt es bei einer Dopamin-Ausschüttung im Striatum in der Kombination dieser beiden Effekte zu einer Reduktion der GPi- und SNpr- Aktivität, welches zu einer verminderten Inhibition der thalamo-kortikalen Projektionsneurone führt (13).

Fällt die dopaminerge Modulation dieser Regelkreise durch den Untergang dopaminergere Projektionsneurone aus dem SNpc weg, entwickelt sich das Krankheitsbild des Parkinsonismus (13). Es kommt über den direkten als auch über den indirekten Weg zu einer verstärkten Hemmung des Thalamus (6). Der phasenweise voranschreitende Zellverlust der SNpc führt dann zu den motorischen Bewegungsstörungen, zu einer Verlangsamung der Bewegungsgeschwindigkeit, zu Zittern, Muskelsteife und Standunsicherheit (1).

Während der Verlust der dopaminergen Neurone der SNpc die wichtigste Pathomorphologie des IPS ist, kommt es sowohl innerhalb des Basalgangliennetzwerkes als auch in anderen Hirnregionen konsekutiv zu weiteren morphologischen Veränderungen (28). Diese Veränderungen scheinen ursächlich für die typischen nicht-motorischen Begleitsymptome zu sein (28). Dazu gehören innerhalb des Basalgangliennetzwerkes eine Verminderung der Dornenfortsätze der MSN im Striatum und einer Veränderung der intrastriatalen und pallido-subthalamischen neuronalen Verbindung (26). Außerhalb der Basalganglien kommt es u.a. zu einer Degeneration serotonerger Neurone der Raphe Nuclei, noradrenerger Neurone des Locus Coeruleus,

des olfaktorischen Tuberkels, des Thalamus und des peripheren Nervensystem (28) sowie einer Veränderung des Kortex (13), was für die vorliegende Arbeit von besonderem Interesse ist und welches in den folgenden Abschnitten weiter ausgeführt wird.

2.2.3. Verstärkt auftretende Beta-Oszillationen unter Morbus Parkinson beim Menschen

Von besonderem Interesse für die vorliegende Monografie sind die Beobachtungen, dass es zeitgleich zum Auftreten der charakteristischen klinischen Symptome zu verstärkten Beta-Oszillationen (13-30 Hz) bei Patienten mit Morbus Parkinson im Motorkortex und den Basalganglien kommt (29-31). Mehrere Studien haben beobachtet, dass unter Morbus Parkinson Beta-Oszillationen im kortiko-striatalen Netzwerk während der Ausführung von Bewegungen bei Parkinson-Patienten pathologisch verstärkt sind (32-37).

Die pathologischen Beta-Oszillationen ebenso wie motorische Symptome können therapeutisch durch eine Gabe von L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (Levodopa) und durch tiefe Hirnstimulation des STN bei etwa 130 Hz (38) unterdrückt werden. Das Maß der Suppression pathologischer Beta-Oszillationen korreliert positiv mit der Verbesserung der motorischen Symptome Akinese und Rigor (39-41). Ebenso konnte in der Therapie durch tiefe Hirnstimulation gezeigt werden, dass der klinisch positive Effekt mit einer Suppression von Beta-Oszillationen einhergeht (42). Aus diesem Zusammenhang hat man die Hypothese abgeleitet, dass es einen kausalen Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik und vermehrtem Auftreten von Beta-Oszillationen geben könnte und dass vermehrt auftretenden Beta-Oszillationen in der Kortex-Basalganglien-Schleife eine überragende Bedeutung für die Pathophysiologie des IPS und anderer parkinsonoider Störungen zukommen könnte (43-45). Darüber hinaus werden Beta-Oszillationen auch als diagnostische Biomarker für gestörte motorische Funktionen unter Parkinson herangezogen (46-48).

Beta-Oszillationen stehen im Zusammenhang mit komplexen, somato-motorischen Verhalten (wie beispielsweise Wachsamkeit oder tätigkeitsbezogene Vorgänge) (49, 50). Oszillatorische Netzwerkaktivität entsteht durch die Synchronisierung neuronaler Aktivität (51), deren unterschiedliche Oszillationsfrequenzen mit unterschiedlichen Funktionen verbunden (52) sind. Beim Gesunden sind Perioden erhöhter Beta-Oszillation mit verzögerter spontaner Bewegung und mit erhöhten Haltungskorrekturen bei posturaler Instabilität assoziiert (52-54). Beta-Oszillationen scheinen eine unterstützende Funktion

auf die Bewegungsausführungen zu haben (55). Ebenso wird ihre Rolle bei der Integration neuer Hinweisreize auf Bewegungsabläufe diskutiert, die eine geeignete Aufgaben-Selektion bei zeitgleicher Fortsetzung motorischer Programme ermöglicht (56). Im Motorkortex des Menschen sind neuroplastische Effekte bei transkranieller Stimulation im Beta-Frequenzbereich und Auswirkungen auf die Kontrolle der Willkürmotorik beschrieben worden (57).

In gesunden Gehirnen in Ruhe sind sowohl im Motorkortex als auch den Basalganglien Beta-Oszillationen in einer Frequenz zwischen 13 – 35 Hz messbar (58).

Kommt es zu einer Bewegung, zeigen sich im Motorkortex und den Basalganglien physiologische Gamma-Oszillationen zwischen 30 – 80 Hz. (59). Der Übergang zwischen Beta- und Gamma-Oszillation scheint ein physiologisches Phänomen willkürlicher Bewegung zu sein (13).

Es gibt Hinweise, dass Dopamin für den Übergang zwischen Beta- und Gamma-Oszillationen eine entscheidende Funktion zukommt. Es wird vermutet, dass Dopamin beim Gesunden die kortiko-striatale Synchronisation beendet, während gleichzeitig Bewegung ermöglicht wird (13). An Nagetieren wurde gezeigt, dass Dopamin den kortikalen Input über inhibitorische D2-Rezeptoren an kortiko-striatalen Axonen im Striatum reguliert (27). Die Inhibition der kortiko-striatalen Axone wiederum ermöglicht einen exzitatorischen Input an striatalen MSN, wodurch Bewegung ermöglicht wird (13).

2.2.4. Das Hemiparkinson-Modell der Ratte

Es gibt Tiermodelle, in denen durch eine gezielte Läsion motorische Störungen nachgeahmt werden können, die dem Phänotyp des Morbus Parkinson des Menschen ähneln (60).

Im 6-OHDA-Modell der Ratte kommt es durch eine intrazerebrale Injektion des Neurotoxins 6-hydroxydopamine (6-OHDA) in das „*medial forebrain bundle*“ (MFB) zu einer chronischen, progressiven Degeneration nigro-striataler Neurone (60). Bei einer nigro-striatalen Läsion von 80% der dopaminergen Zellen treten motorische Symptome auf, die sich im Verhaltenstest reproduzieren lassen (61, 62). Der Grad des Zelluntergangs korreliert dabei mit dem motorischen Defizit im Verhaltenstest (60).

Das 6-OHDA akkumuliert durch seine hohe Affinität zum Dopamin-Transporter (DAT) im Cytosol und in den Mitochondrien der dopaminergen Neuronen und führt einige Tage nach der Läsion über Autooxidation und Bildung von Wasserstoffperoxid zu einer schrittweisen anterograden Degeneration der nigro-striatalen Nervenbahnen und zu einer

sich über mehrere Wochen erstreckenden konsekutiven Depletion von Dopamin (63). Im Hemiparkinson-Modell ist es möglich, durch unilaterale intrazerebrale Injektion die kontralaterale Hemisphäre als Kontrolle zu untersuchen.

Auch der Zusammenhang pathologischer Oszillation unter chronischem Dopaminmangel lässt sich in diesem Modell darstellen (64). Veränderte Oszillationen treten im Hemiparkinson-Modell der Ratte sowohl im primärmotorischen Kortex (65, 66) als auch in den Basalganglien (37, 65-70) auf. Wie beim Parkinson-Syndrom des Menschen, geht das 6-OHDA Modell der Ratte mit einer signifikant erhöhten Beta-Oszillation im Vergleich zur gesunden Ratte einher (67). Die veränderte oszillatorische Aktivität ist im Basalgangliennetzwerk synchron zum Kortex messbar, geht mit motorischen Symptomen einher und weist damit vergleichbare oszillatorische Aktivität zum humanen Parkinson auf (69). Veränderte Beta-Oszillationen im kortiko-striatalen Signalweg treten dabei nur in Verbindung mit chronischem Dopaminmangel auf (71). Wie beim Morbus Parkinson des Menschen, kann sowohl die klinische Symptomatik als auch die erhöhten pathologischen Beta-Oszillationen pharmakologisch unterdrückt werden. So konnte 21 Tage nach Läsion *in vivo* eine Erhöhung der Beta-Aktivität im STN als auch im primärmotorischen Kortex (M1) während Bewegung nachgewiesen werden, die sich durch Gabe von Apomorphin und Levodopa reduzieren ließ (65). So konnte Delaville, 2015 (65), beobachten, dass es im Hemiparkinson-Modell der Ratte während des Laufens in einer Tretmühle zu einer signifikant erhöhten Beta-Aktivität im Bereich von 29 bis 36 Hz im Motorkortex kommt. Die erhöhte Beta-Aktivität trat zeitgleich mit einer Reduktion der Gamma-Aktivität und einer erhöhten Beta-Aktivität im STN auf. Diese Beobachtungen sind konsistent mit Beobachtungen von Brazhnik, 2012 (66). Einschränkend ist zu erwähnen, dass das 6-OHDA-Modell nicht alle klinischen und pathologischen Merkmale des humanen Morbus Parkinson zeigt. So kommt es weder zu cytoplasmatischen Einschlusskörperchen (Lewy-Körper) noch zu einer Veränderung des Locus Coeruleus (72). Das experimentelle Modell zeigt eine in wenigen Wochen akut fortschreitende Degeneration der dopaminergen Neurone der STN, ganz im Gegensatz zum chronisch progressiven Fortschreiten der Krankheit beim Morbus Parkinson des Menschen (72).

2.2.5. Die Rolle des Motorkortex in der Pathophysiologie des Morbus Parkinson

Es ist bisher wenig verstanden, wo die pathologischen Oszillationen unter Parkinson generiert werden und welche pathophysiologischen Mechanismen der Entstehung der

Beta-Oszillationen in der Kortex-Basalganglien-Schleife zu Grunde liegen. Es werden unterschiedliche Hypothesen vertreten, welche Struktur maßgeblich für die Initiation und Aufrechterhaltung der pathologischen Netzwerkoszillationen ist. Neben den eng vernetzten Kernen Globus pallidus externus (GPe) und STN (73-77) gibt es sowohl Hinweise für eine führende Rolle des dorsolateralen Striatums (78) als auch des primär-motorischen Kortex (75).

In dieser Monografie wird der Frage nachgegangen, welche Rolle der primär-motorische Kortex bezüglich der pathologischen Oszillationen unter Morbus Parkinson im Hemiparkinson-Modell der Ratte einnimmt. Es gibt verschiedene Anhaltspunkte für diese Hypothese:

Beim Menschen unterliegt der Motorkortex unter Morbus Parkinson starken morphologischen und funktionellen Veränderungen. So sind dopaminerge Projektionsneurone aus dem Mittelhirn zum Motorkortex in Parkinson-Patienten reduziert (79). Noradrenalin, Acetylcholin und Serotonin werden vermindert freigesetzt (79, 80) und es kommt unter Morbus Parkinson insgesamt zu einer neuronalen Degeneration des Motorkortex (81). Andererseits kann man über den Motorkortex einen direkten Einfluss auf die Symptome des Morbus Parkinson nehmen. Die direkte Stimulation des Motorkortex reduzieren sowohl die klinischen Symptome als auch die Nebenwirkungen medikamentöser Therapie beim Menschen (82). Eine Therapie des Morbus Parkinson verändert die Aktivität des Motorkortex (83). Darüber hinaus ist der Motorkortex in besonderem Maße in das Basalgangliennetzwerk eingebunden. Zum einen projizieren seine Axone in die Basalganglien (13), zum anderen wird neuronale Information von den Basalganglien über den Thalamus in den Motorkortex zurück gesendet (13).

Am Hemiparkinson-Modell der Ratte haben Brazhnik et. al. 2012 (66) beobachtet, dass in mehreren Frequenzen und in verschiedenen Bewegungszuständen die Zunahme der oszillatorischen Aktivität des SNpr mit einer zunehmenden Kohärenz zwischen Kortex und Basalganglien einhergeht. Zwar war die oszillatorische Aktivität zwischen Kortex und SNpr synchron, jedoch im SNpr signifikant zeitversetzt, und sie verkürzte sich nach Dopamin-Depletion. Dies führte zur Hypothese, dass der Motorkortex als Rhythmusgeber des kortiko-striatalen Netzwerkes unter Dopamin-Depletion fungiert.

Nicht zuletzt ist der Motorkortex aus neuroanatomisch-neurophysiologischer Sicht besonders dafür geeignet, Oszillationen zu erzeugen, weil dieser im Gegensatz zum STN-GPe-Netzwerk mehrere Interneuronentypen besitzt, die zu einer Synchronisation von Projektionsneuronen beitragen können (13). Im folgenden Abschnitt wird darauf

näher eingegangen und die elektrophysiologischen Grundlagen oszillatorischer Aktivität werden erläutert.

2.3. Der Motorkortex und zelluläre Mechanismen oszillatorischer Aktivität

Die oszillatorische Aktivität entsteht über sogenannte „feed-back“- und „feed-forward“-Verknüpfungen von Neuronen und deren zeitlicher Koordination (84). Exzitatorische und inhibitorische synaptische Inputs generieren dabei durch das Zusammenspiel mehrerer Neurone in einem neuronalen Netzwerk Oszillationen in verschiedenen Frequenzbändern (84). Dabei unterliegen die verschiedenen Rhythmen unterschiedlichen physiologischen Mechanismen (85), die im Folgenden näher erläutert werden. Ausgelöst wird das neuronale Zusammenspiel von GABA-ergen Interneuronen und glutamatergen Prinzipalneuronen, die von verschiedenen Neurotransmitter-Rezeptoren (u.a. muskarinische Acetylcholin-Rezeptoren, Kainat-Rezeptoren) in ihrer Aktivität beeinflusst werden können (84). Es wurden elektrophysiologisch *in vitro* im Neokortex zwei unterschiedliche Typen glutamaterger Pyramidenzellen beschrieben: „regular spiking“ (RS) und „intrinsic bursting“ (IB) (86-88), während die GABA-ergen Neurone des Neokortex eine große elektrophysiologische und morphologische Diversität widerspiegeln (89-91) und jeder Zelltyp oszillatorische Aktivität unterschiedlich beeinflusst (92, 93). In einer Studie am Motorkortex der Ratte (94) konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, kontinuierliche Beta-Oszillation *in vitro* durch die Co-Applikation von Kainat (400 nM) und dem muskarinischen Rezeptor-Agonist Carbachol (50 μ M) zu generieren. Es kam zu phasisch-inhibitorisch als auch phasisch-tonisch-exzitatorischen synaptischen Inputs, die sowohl über GABA-erge Interneurone als auch über „Gap-Junctions“ ausgelöst wurden und vorwiegend zu einer Netzwerkaktivität im hohen Beta-Frequenzbereich (25 - 30 Hz) beitrugen und von Schicht V ausgingen (94). Diese Beobachtungen lassen schließen, dass durch die Aktivierung von Prinzipalzellen lokale inhibitorische Netzwerk-Interneurone aktiviert werden, die wiederum die Aktivität der Prinzipalzellen kontrollieren.

Demnach ist der M1 in Schicht V in der Lage, Oszillationen in Beta-Frequenzband zu generieren. Da in Schicht V des M1 die Projektionsneurone ins kortiko-striatale Netzwerk (den direkten und den indirekten Weg) führen (13), prädestiniert ihn dies als möglichen Rhythmusgeber für die vermehrt auftretenden Beta-Oszillationen in M1 und den Basalganglien unter Morbus Parkinson.

2.4. Die Messung neuronaler Aktivität über lokale Feldpotenziale

Die neuronale Aktivität kann bei *in vitro* Versuchen von Hirnschnitten extrazellulär als lokales Feldpotenzial (LFP) gemessen werden.

Das gemessene elektrische Feld stellt ein Summenpotenzial dar, also eine Überlagerung aller ionischen Prozesse, die während neuronaler Aktivität im Nervengewebe entstehen. Die Eigenschaften des aufgenommenen LFP, Phase, Amplitude und Frequenz, hängen damit anteilig vom Beitrag und der Überlagerung der jeweiligen Ionengradienten und von der Eigenschaft des neuronalen Gewebes ab (95).

Auf Ebene der einzelnen Neuronen kommt es während neuronaler Aktivität zu sich verändernden Transmembranströmen elektrisch geladener Ionen (95). Die Veränderung des Membranpotenzials entsteht durch die Summe der Einzelkanalströme. Mehrere neuronale Zellanteile können daran beteiligt sein - Dendriten, Soma, Axon, Axonhügel oder Dornen, aber auch Transmembranströme an Gliazellen, z.B. Astrozyten (95). Je weiter die aufnehmende Elektrode vom Ursprung des elektrischen Potenzials entfernt ist, desto geringer sind die Informationen, die aus dem LFP gewonnen werden können (95). In Reihenfolge ihres Beitrags zum Summenpotenzial sind synaptische Aktivität, Aktionspotenziale (Hypothese von Hodgkin, Huxley & Katz (96)), sogenannte „*long lasting*“ Ca^{2+} -vermittelte „*Spikes*“, wie sie durch N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) als exzitatorisches postsynaptisches Potenzial (EPSP) entstehen und intrinsische Membranoszillationen, wie sie durch spontan aktive Nervenzellen wie beispielsweise durch sogenannte „*hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels*“ (HCN-Kanäle) aufgebaut werden (95), zu nennen.

Die neuronale Prozessierung wird sowohl von der Amplitude als auch der Phase kortikaler oszillatorischer Aktivität geformt und zwischen Aktionspotenzialen einzelner Neurone und dem lokalen Feldpotenzial im Beta-Frequenzbereich konnte eine hohe Korrelation nachgewiesen werden (94), wie dies bereits in anderen kortikalen und neokortikalen Regionen gezeigt wurde (97, 98). So konnte dargestellt werden, dass „Regular Spiking“-Zellen in Schicht V des M1 der Ratte synchron mit oszillatorischer Netzwerkaktivität Aktionspotenziale in niedriger Frequenz feuerten (99). Demnach ermöglicht die extrazelluläre Messung neuronaler Aktivität über lokale Feldpotenziale die Beobachtung oszillatorischer Netzwerkaktivität.

Das LFP und die oszillatorische Netzwerkaktivität lassen sich unabhängig von anderen

Hirnarealen isoliert messen. Es ist möglich, an akuten Hirnschnitten oszillatorische Aktivität *in vitro* zu messen. Diese Technik ermöglicht daher eine mechanistische Analyse des lokalen Netzwerks unabhängig vom Einfluss anderer Hirnareale. Das Auftreten veränderter Beta-Oszillationen kann an isolierten akuten Hirnschnitten als LFP im primären Motorkortex unabhängig vom Basalgangliennetzwerk isoliert untersucht werden.

2.5. Fragestellung

Um herauszufinden, welche Strukturen für die Initiierung und Aufrechterhaltung der veränderten Oszillationen unter Morbus Parkinson von Bedeutung sind, soll der Motorkortex isoliert von anderen Strukturen einer mechanistischen Analyse unterzogen werden. Es wird der Frage nachgegangen, ob der Motorkortex als primärer Generator der pathologischen Oszillationen im Basalgangliennetzwerk unter Morbus Parkinson fungiert.

Hierfür wird zum einen untersucht, ob der Motorkortex Oszillationen aufbauen und aufrechterhalten kann, wenn er von den übrigen Hirnarealen abgetrennt und isoliert ist. Anschließend wird die Frage gestellt, ob sich durch den Untergang dopaminerger Neurone der SNpc und durch das Auftreten motorischer Symptome des Morbus Parkinson die oszillatorischen Eigenschaften des Motorkortex verändern.

In der vorliegenden Arbeit wird daher *in vitro* mittels extrazellulärem LFP an isolierten Hirnschnitten des primären Motorkortex (M1) der Ratte beobachtet, ob es nach Applikation des Glutamat-Rezeptor-Agonisten Kainat (800 nM) und des muskarinischen Rezeptor-Agonisten Carbachol (5 μ M) in Schicht V des M1 zu oszillatorischer Aktivität kommt.

In einem weiteren Schritt werden Ratten mit 6-OHDA unilateral lädiert, so dass es zum progressiven Verlust nigrostriataler Neurone und zur Etablierung eines Hemiparkinson-Modells kommt. Anschließend wird mittels Verhaltenstest überprüft, ob sich klinische Symptome des Morbus Parkinson etabliert haben. Die Frage ist, ob es dann an isolierten Hirnschnitten des M1 der 6-OHDA lädierten Ratte zu veränderter oszillatorischer Aktivität, insbesondere zu erhöhter Beta- oder erniedrigter Gamma-Aktivität, in Schicht V des M1 kommt.

3. Methoden und Material

3.1. Tiere

Die Versuche wurden an 23 männlichen Wistar Ratten durchgeführt (Harlan Winkelmann, Deutschland, und Forschungseinrichtung für Experimentelle Medizin der Charité, Berlin). Dabei wurden 18 operierten Tieren eine nicht operierte Kontrollgruppe von 5 Tieren entgegengestellt. Zum Zeitpunkt der Operation hatten die Ratten ein Gewicht von 323 g bis 364 g, zum Zeitpunkt der Dekapitation vor der elektrophysiologischen *in vitro*-Ableitung ein Gewicht von 351 g bis 410 g.

Pro Ratte wurden insgesamt 16 Hirnschnitte erzeugt, dabei jeweils 8 von jeder Hemisphäre. In dieser Monografie wird jeweils die Anzahl der Hirnschnitte angegeben.

3.2. Richtlinien Tierschutz

Der Umgang mit den Tieren erfolgte nach den Richtlinien des Rates der Europäischen Union (2010/63/EU), des Deutschen Tierschutzgesetzes und des Landesamtes für Gesundheit und Soziales (LaGeSo), Berlin. Bei den Experimenten und der Erstellung der Dissertation wurden die „Grundsätze der Charité zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ eingehalten. Eine Genehmigung des Tierversuchsvorhabens nach §8 Abs.1 des Tierschutzgesetzes erfolgte durch das LaGeSo (TVV G065/15) am 08.05.2015. Leiter des Tierversuchsvorhabens ist Dr. med. Christoph van Riesen. Eine Reduktion der tatsächlichen Versuchszahl wurde durch Vorexperimente erreicht. Die Anzahl der Versuchstiere wurde auf ein notwendiges Minimum reduziert. Dazu trug die Etablierung eines 16er-Setups bei, das ermöglicht hat, 16 Hirnschnitte einer Ratte zeitgleich zu messen. Das neuronale Gewebe einer Ratte wurde damit effizient ausgenutzt, um eine möglichst große Fallzahl bei wenigen Versuchstieren zu erreichen. Es wurde jeder Versuch unternommen, Leid der Versuchstiere durch die Versuchsanordnung zu minimieren. Die Tiere wurden in einem 12h-Tag-Nacht-Rhythmus in standardisierten Bedingungen gehalten und erhielten Nahrung und Trinkwasser in unbegrenzter Menge.

3.3. Unilaterale 6-Hydroxydopamin Läsion dopaminergere Neurone

Das Neurotoxin 6-OHDA-Hydrochlorid wurde in 0,9% NaCl-Lösung zubereitet und beinhaltete 0,02% Ascorbat bei einer Zielkonzentration von 8 µg/µl der freien Base. Die

Lösung würde bei -80 °C gelagert und unmittelbar vor der Injektion aufgetaut. 18 Tiere wurden mit Fentanyl (5 µg/kg, s.c., Rotexmedica, Germany), Medetomidin (150 µg/kg, s.c., Domitor ®, Provet AG, Germany) und Midazolam (2 mg/kg, s.c., Hameln Pharma, Germany) anästhesiert und während der Narkose auf Wärmematten (CMA, Sweden) gelagert, um ihre Körpertemperatur bei 37°C ± 0.5 °C zu halten. Über den Ohrkneifreflex und den pedalen Rückzugsreflex wurde die Tiefe der Narkose alle 10 min kontrolliert und gegebenenfalls Anästhetika nachinjiziert. Der Schutz der Cornea vor Dehydratation erfolgte durch eine Augensalbe (Bepanthen™, Bayer, Germany). Mittels zweier atraumatischer Ohrstifte und eines Schneidezahnhalters wurden die Tiere in einen stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, CA, USA) eingespannt. Das Bregma wurde freigelegt und die Schädelkalotte mit Hilfe eines Alignment Tools (David Kopf Instruments, CA, USA) flach ausgerichtet. Die stereotaktischen Koordinaten wurden in Relation zum Bregma gesetzt (100). Nach einer Bohrloch-Kraniotomie wurden eine 10 µl Hamillton-Spritze (World Precision Instruments, FL, USA) mit 33-Gauge blunt-tip Kanüle in das linke MFB (AP: -2.6, ML: +1.6, DV: -8.4 mm) platziert und 1 µl 6-OHDA mit einer Rate von 0.125 µl/min über eine Precision Syringe Pump (Micro 4™, World Precision Instruments, FL, USA) injiziert. Um einen Reflux zu verhindern, wurde nach einer post-Diffusionszeit von 5 min die Kanüle zurückgezogen. Nach Verschluss der Kopfhaut mittels Einzelknopfnahm wurde die Narkose mit Flumazenil (200 µg/kg, s.c., Inresa, Germany), Atipamezol (750 µg/kg, s.c., cp-pharma, Germany) und Naloxon (120 µg/kg, s.c., B. Braun Melsungen AG, Germany) antagonisiert. Zur postoperativen analgetischen Therapie wurde den Tieren 30 min vor OP-Ende und an den 3 folgenden Tagen Carprofen (5 mg/kg, s.c., Pfizer, Germany) injiziert. Um den Erfolg der 6-OHDA-Läsion zu quantifizieren, wurden ein Verhaltenstest und eine Immunhistologie *post mortem* (beides siehe unten) durchgeführt. 20 – 24 Tage postoperativ, zu einem Zeitpunkt, an dem die maximale Läsion des dopaminergen Systems zu erwarten ist (60, 67), wurden die elektrophysiologischen Messungen durchgeführt.

3.4. Zylindertest

Präoperativ vor der 6-OHDA-Läsion als Baseline und 20 – 24 Tage postoperativ vor der elektrophysiologischen Ableitung, wurde an allen 18 operierten Versuchstieren ein motorischer Verhaltenstest (Zylinder Test) durchgeführt, um den Grad des unilateralen motorischen Defizits nach der 6-OHDA-Läsion darzustellen. Um die Untersucher-

abhängige Variabilität der Analyse zu reduzieren (62, 101) wurde der asymmetrischen Gebrauch der Vorderpfote evaluiert (*limb use asymmetry test, cylinder test* (57)). Dabei wurde das spontane Erkundungsverhalten der Ratten ohne vorherige Habituation (62) in einen transparenten, 30 cm hohen und 20 cm durchmessenden Plexiglaszylinder mit einer Videokamera aufgezeichnet (Canon Legria HF R506, Canon, Japan) und im Anschluss über das Video analysiert. Während die Ratte die Wände des Zylinders vertikal explorierte, wurde mindestens bis zum jeweils 20. vollen Kontakt ihrer rechten oder linken Vorderpfote beim Aufrichten an der Wand und bei der Gewichtsverlagerung in der aufrechten Position gezählt. Das Ergebnis wurde als Ratio zwischen der Anzahl der rechten und der linken Vorderpfoten-Kontakte auf der Acrylglaszylinderwand dargestellt. Da bei einem dopaminergen Zelluntergang von über 80 % von einem vollständigen Untergang der dopaminergen Zellen der SNpc auszugehen ist (61, 62, 101), weist eine Ratio unter 0,2 auf eine vollständige unilaterale Läsion hin, eine Ratio von 1 wäre bei einer naiven Ratte zu erwarten.

3.5. Akute Hirnschnitte der Ratte

Von allen Tieren wurden jeweils acht 400 µm dicke koronare Schnitte des Neokortex hergestellt und die Hemisphären voneinander getrennt. Dabei wurden die 5 nicht operierten und 18 operierten Ratten am 20 – 25 postoperativen Tag mit 1 ml Isofluran (1-Chloro-2,2,2-trifluoroethyl-difluoromethylether) narkotisiert und anschließend dekapitiert. Nach Eröffnung der Kalotte wurde das Gehirn schnell entnommen und in eiskalter Sucrose-Lösung (Zusammensetzung in mM: 80 NaCl, 2,5 KCl, 1,25 NaH₂PO₄, 3 MgCl₂, 0,5 CaCl₂, 25 NaHCO₃, 25 D-Glucose und 85 Saccharose) mit 327 - 333 mOsmol/kg gekühlt. Im anschließenden Schneide-Vorgang wurden pro Ratte 8 koronare Schnitte des frontalen Kortex 3,2 mm – 0,48 mm vor dem Bregma mit einem Microslicer (DTK-1000, D.S.K., Klinge: Gillette Super Silver) hergestellt, die alle den anatomischen Bereich des M1 enthielten. Der restliche Anteil des Gehirns wurde histologisch aufgearbeitet (siehe unten). Anschließend wurden die Schnitte in acht Interface-Typ-Messkammern bei einer Temperatur von 35 ± 0,1 °C unter Carbogenbegasung (95% O₂ / 5% CO₂) inkubiert. Sie wurden mit carbogenisierter artifizieller Cerebro-Spinaler Flüssigkeit (aCSF, Zusammensetzung in mM: 4,5 KCl, 1,25 NaH₂PO₄, 1 MgSO₄, 1,2 CaCl₂, 25 NaHCO₃, 10 D-Glucose und 125 NaCl) bei einer Osmolarität von 296-304 mM und einer Durchflussrate von ca. 1,7 ml/min umspült und ruhten vor Beginn der Messung

mindestens 1 h in der Interface-Kammer. Die pharmakologische Induktion von Oszillation erfolgte mittels Applikation von 800 μ M Kainat (KA) und 5 μ M Carbachol (Car, beide Tocris Bioscience Bristol, UK) in die aCSF-Lösung. Die Zeit der Applikation wurde so gewählt, dass 10 min nach Beginn der Aufzeichnung die Pharmaka zeitgleich in die Interface-Kammern gelangten und zu Beginn der insgesamt 160 min dauernden Aufzeichnung appliziert wurden.

3.6. Elektrophysiologische Ableitung

An allen Tieren erfolgten extrazelluläre Aufnahmen des M1 mit Hilfe von spitzen Glasmikropipetten (Innendurchmesser 0,86 mm, GB150F-10, Science Products), die das oben aufgeführte aCSF enthielten. Die Glasmikropipetten wurden mit einem Mikropipettenzieher (Model P-87, Sutter-Instrument Co.) hergestellt. Der Widerstand der extrazellulären Elektroden am Ende der Aufnahmen lag zwischen 0,09 - 6,50 M Ω . Abgeleitet wurde das LFP in Schicht V des M1. Dabei wurde mit Hilfe eines Atlas (100) ein Abbild des koronaren Hirnschnittes memorisiert und die Elektroden nach visueller Einschätzung platziert. Die Einstichtiefe der Elektrode wurde ebenfalls visuell abgeschätzt. Das Signal wurde 1000fach analog verstärkt (Extracellular Amplifier, EXT 02B, npi) und mit 5 kHz digitalisiert (ADC 1401 Micro3, Cambridge Electronic Device). Ein Tiefpass-Filter wurde eingesetzt bei 1000 Hz.

3.7. Histologische Aufarbeitung

Der mesencephale Anteil des Gehirns wurde beispielhaft an 3 operierten Tieren histologisch aufgearbeitet. Zunächst wurde das nach dem Slicen verbliebene restliche Gehirnnareal in 4% Paraformaldehyd in 0,1 M phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, pH = 7,4) für 24 h bei 4°C fixiert. Die anschließende Kryoprotektion erfolgte mittels jeweils 24-stündiger Immersion in zunächst 10%-, dann 20%-Sucrose-Lösung und bei abschließend mindestens 5-tägiger Immersion in 30%-Sucrose-Lösung. Anschließend wurden die Gehirnnareale bei -80 °C eingefroren. Es wurden coronare Serien von mesencephalen Hirnschnitten mit 40 μ m Dicke bei -20 °C mit einem Kryotom (Leica, Deutschland) hergestellt und nach einem Standardprotokoll (102) eine immunhistochemische Färbung gegen Tyrosinhydroxylase (TH) über einen primären anti-TH-Maus-Antikörper (1:10,000, Sigma (T1299), Germany) und einem sekundären Anti-Maus-Biotin-Antikörper (1:200, Vector BA-9200, Vector Laboratories, CA, USA) gemacht. Nach der Färbung wurden die

Schnitte auf Objektträger aufgezogen. Mit Hilfe eines Stereo Investigator Systems (MicroBrightField Bioscience, VT, USA) und eines DMRE Mikroskops (Leica, Germany) wurden die TH-positiven Zellen der Substantia Nigra Pars Compacta quantifiziert (103, 104). Dabei wurden systematisch die TH-positiven Zellen jedes 7. Schnittes manuell ausgezählt und die Gesamtzahl der Zellen über den eingebaute Optical Distor des Stereo-Investigator Systems geschätzt. Das Ergebnis der stereologischen Zählung erfolgte als Ratio der TH-positiven Zellen der lädierten Hemisphäre zur Anzahl der TH-positiven Zellen der Kontrollhemisphäre.

3.8. Datenanalyse

Die Signaleigenschaften der aufgezeichneten LFP-Daten wurden mittels einer Spektral-Analyse (fast Fourier-Transformation) der Messspuren gewonnen. Dabei wurden die Daten offline mit Hilfe des Programms Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) analysiert. Die aufgenommene Spannung pro Zeit konnte so in Frequenz und Amplitude zerlegt werden. Eine Analyse der spektralen Leistungsdichte (*Power spectral density*, PSD) erfolgte alle 2 min über ein 120 Sekunden Fenster über die gesamte Messdauer von 160 min. Die ersten 10 min erfolgten vor der pharmakologischen Induktion neuronaler Aktivität.

Aus dieser spektralen Leistungsdichte wurde das Maximum, im Weiteren als „Maximal-Power“ bezeichnet (dargestellt als Mittelwert aus 5 Powerwerten über 10 min zum Zeitpunkt des höchsten Powerwertes der Gesamtaufnahme), die Frequenz zum Zeitpunkt der Maximal-Power als Mittelwert über 10 min, im Weiteren bezeichnet als „Maximal-Frequenz“, und die Bandbreite der kontinuierlichen Oszillation bestimmt. Das Frequenzband unterteilten wir in Niederfrequent (< 13 Hz), Beta (13 – 30 Hz) und Gamma (> 30 Hz). Eine Oszillation wurde definiert, wenn der Quality-Faktor (Q-Faktor) als Quotient aus Maximal-Frequenz und Bandbreite größer gleich 0,5 war (105-108). Bei mehreren zeitgleichen Oszillationen in einem Hirnschnitt haben wir auch Oszillationen mit einem Q-Faktor kleiner 0,5 miteinbezogen. Als Latenz wurde der Zeitpunkt bestimmt, an dem 80% der Maximal-Power in der zum Zeitpunkt der Maximal-Power dominanten Frequenz nach Applikation der Pharmaka erreicht wurde. Bei diskontinuierlichen Oszillationen haben wir die Daten aus den Mittelwerten von 4 aufeinander folgenden phasischen Signalen, die wir im weiteren als „Event“ bezeichneten, erhoben, beginnend beim 3. Event der 180-minütigen Gesamtaufnahme. Die Zeit zwischen den einzelnen

Events bezeichneten wir als „Intervall“. Die Latenz der diskontinuierlichen Oszillationen bestimmten wir als Zeitraum vom Beginn der Applikation bis zum Beginn des 2. Events. Alle Daten wurden als Mittelwert \pm SEM dargestellt. Die Inzidenz der oszillatorischen Aktivität unterteilt in Frequenzbändern und die Responderraten wurden mit dem Exakten Test nach Fisher statistisch ausgewertet. Nachdem wir beobachtet konnten, dass kontinuierliche und diskontinuierliche Oszillationen unterschiedliche Arten von Oszillationen darstellten, haben wir die Bezugsgrößen für die statistische Analyse der unterschiedlichen Frequenzbänder auf die jeweilige Kohorte „kontinuierliche“ bzw. „diskontinuierliche Oszillationen“ bezogen. Statistische Vergleiche der oszillatorischen Parameter wurden mittels des Mann-Whitney-U-Test erhoben. Statistische Analyse der Kontingenztafeln erfolgte mit dem Exakten Test nach Fisher. Eine Signifikanz wurde dabei angenommen, wenn der p-Wert $< 0,05$ betrug. Um einer Alphafehlerkumulierung entgegenzuwirken, wurde die Bonferroni Korrektur angewendet.

4. Ergebnisse

4.1. Analyse der oszillatorischen Aktivität in M1 Schicht V der naiven, nicht operierten Ratten

4.1.1. Beschreibung der oszillatorischen Aktivität nach Inkubation mit 800 μM Kainat und 5 μM Carbachol

Um Ausgangswerte bezüglich der oszillatorischen Aktivität in M1 der Ratte zu erheben, wurden zunächst 80 akute Hirnschnitte von 5 nicht operierten (naiven) Ratten untersucht. Nachdem alle akuten Hirnschnitte 1 h in den Interface-Typ-Messkammern unter Carbogenbegasung geruht hatten, wurden die Elektroden in M1 Schicht V platziert und die Aufnahme gestartet (siehe Abbildung 1).

Abb. 1

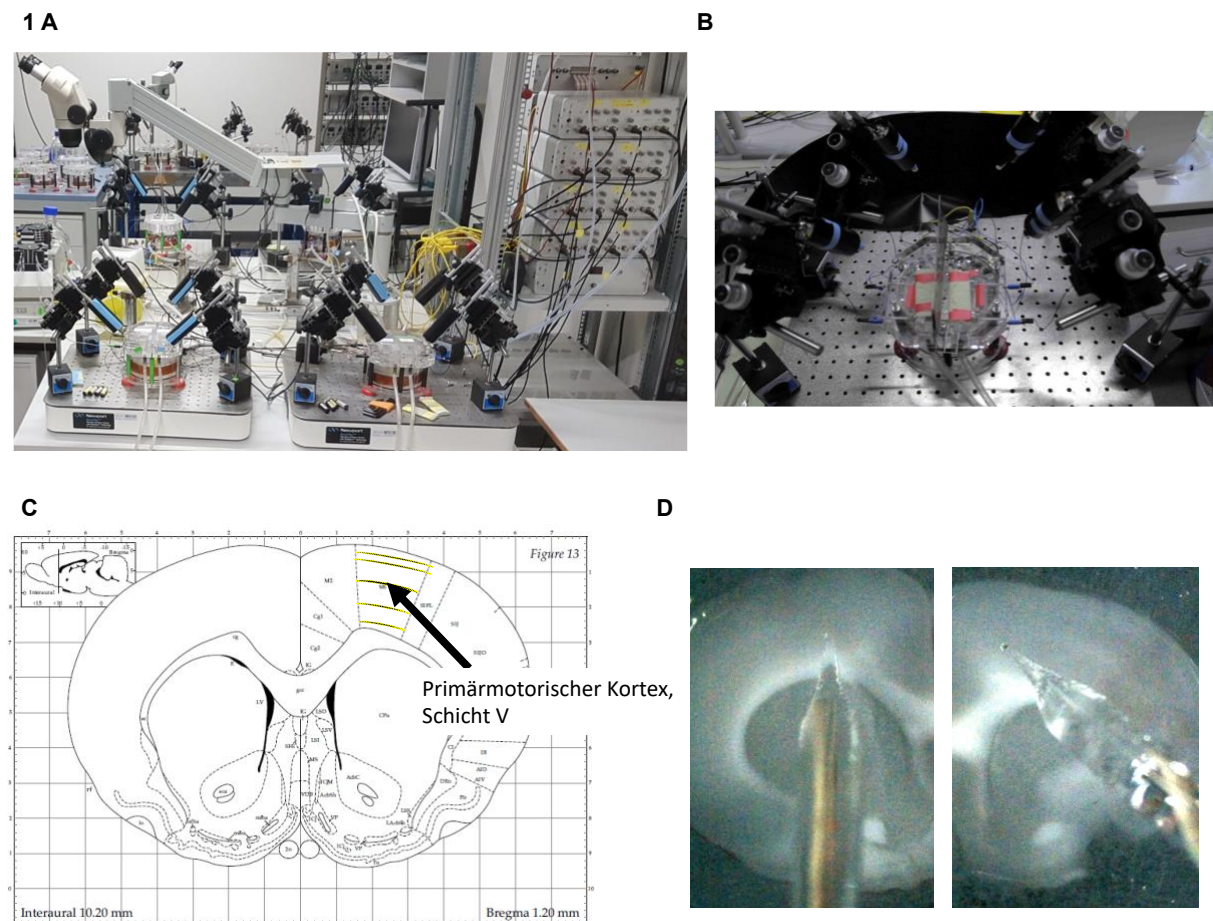


Abbildung 1: Foto des Messplatzes mit 16 Messelektroden, Interface-Typ-Messkammer mit 4 Messelektroden, schematische Darstellung eines koronaren Hirnschnitts der Ratte auf Höhe des motorischen Kortex und Abbildung eines akuten koronaren Hirnschnitts.

A Messplatz mit 16 Messelektroden und 8 Interface-Typ-Messkammern. Dies ermöglichte das gleichzeitige Messen von 8 Hirnschnitten bzw. 16 Hemisphären einer Ratte. **B** Jeweils 2 Hirnschnitte mit 4 Hemisphären wurden pro Interface-Typ-Messkammern bei 35 °C (± 1) von artifizierlicher Liquorflüssigkeit umspült und mit Carbogen begast. **C** Schematische Darstellung eines koronaren Hirnschnittes der Ratte, 1,2 mm rostral des Bregmas auf Höhe des primärmotorischen Kortex (gelb markiert). Eingezeichnet sind die Schichten I bis VI des primärmotorischen Kortex. **D** Akuter Hirnschnitt der Ratte zum Zeitpunkt der Messung. Die Hemisphären wurden am Corpus Callosum voneinander getrennt. Zu sehen ist jeweils eine Glaselektrode pro Hemisphäre, deren Spitze in Schicht V des primärmotorischen Kortex platziert ist.

10 min nach Aufnahmebeginn erfolgte die Stimulation mit 800 μ M Kainat und 5 μ M Carbachol. Die Aufnahmen wurden erst nach 180 min beendet, um eine eventuelle zeitliche Verzögerung sporadisch einsetzender Oszillationen erfassen zu können und um eine ausreichende Entfaltung der Oszillationen gewährleisten zu können. Aus der aufgenommenen Originalspur (siehe Abbildungen 2A bis 6A) wurde das gemessene LFP zunächst als Powerspektrum dargestellt (siehe Abbildungen 2B bis 6B). Nach Detektion der Maximal-Power beim Zeitpunkt des höchsten Power-Wertes der Gesamtaufnahme, erfolgte als nächster Schritt die Detektion der Maximal-Frequenz als Frequenz zum Zeitpunkt der Maximal-Power und der Bandbreite als Betragsdifferenz der beiden Grenzfrequenzwerte bei halber Power. Danach konnte die Latenz detektiert werden als Zeitpunkt, an dem mindestens 80 % der Maximal-Power im dominanten Frequenzband erreicht wurden. Alle Werte wurden jeweils als Mittelwert eines 10-minütigen Zeitfensters berechnet (siehe Abbildungen 2C - F bis 6C - F). Die Reaktionen der Hirnschnitte auf die Applikation mit Kainat und Carbachol fielen unterschiedlich aus. 36 Hirnschnitte (45,0 %) antworteten im Zeitraum der 180-minütigen Gesamtaufnahme gar nicht oder nur mit einem diffusen Anstieg der neuronalen Aktivität. Diese wurden als Nonresponder gewertet. In 44 Hirnschnitten (55,0 %) kam es nach Applikation der Pharmaka nach unterschiedlicher Latenzzeit zu einer Veränderung des aufgenommenen LFPs und zu einer geordneten neuronalen Aktivität. Diese werteten wir als Responder. Die oszillatorische Aktivität der Responder war sehr unterschiedlich. Die Vielgestaltigkeit der ausgelösten oszillatorischen Antworten im akuten Hirnschnitt machte eine Analyse der oszillatorischen Aktivität und deren Vergleichbarkeit schwierig. Deswegen wurden Kategorien zur Bewertung der Oszillationen festgelegt. Insbesondere wurden Untergruppen gebildet, um Trends auszuarbeiten. Als Oszillation wurde neuronale Aktivität charakterisiert, deren Maximal-Frequenz im Verhältnis zur Bandbreite $\geq 0,5$ war. Dieses Verhältnis wurde als Quality-Faktor (Q-Faktor) bezeichnet (siehe Methoden).

Abb. 2

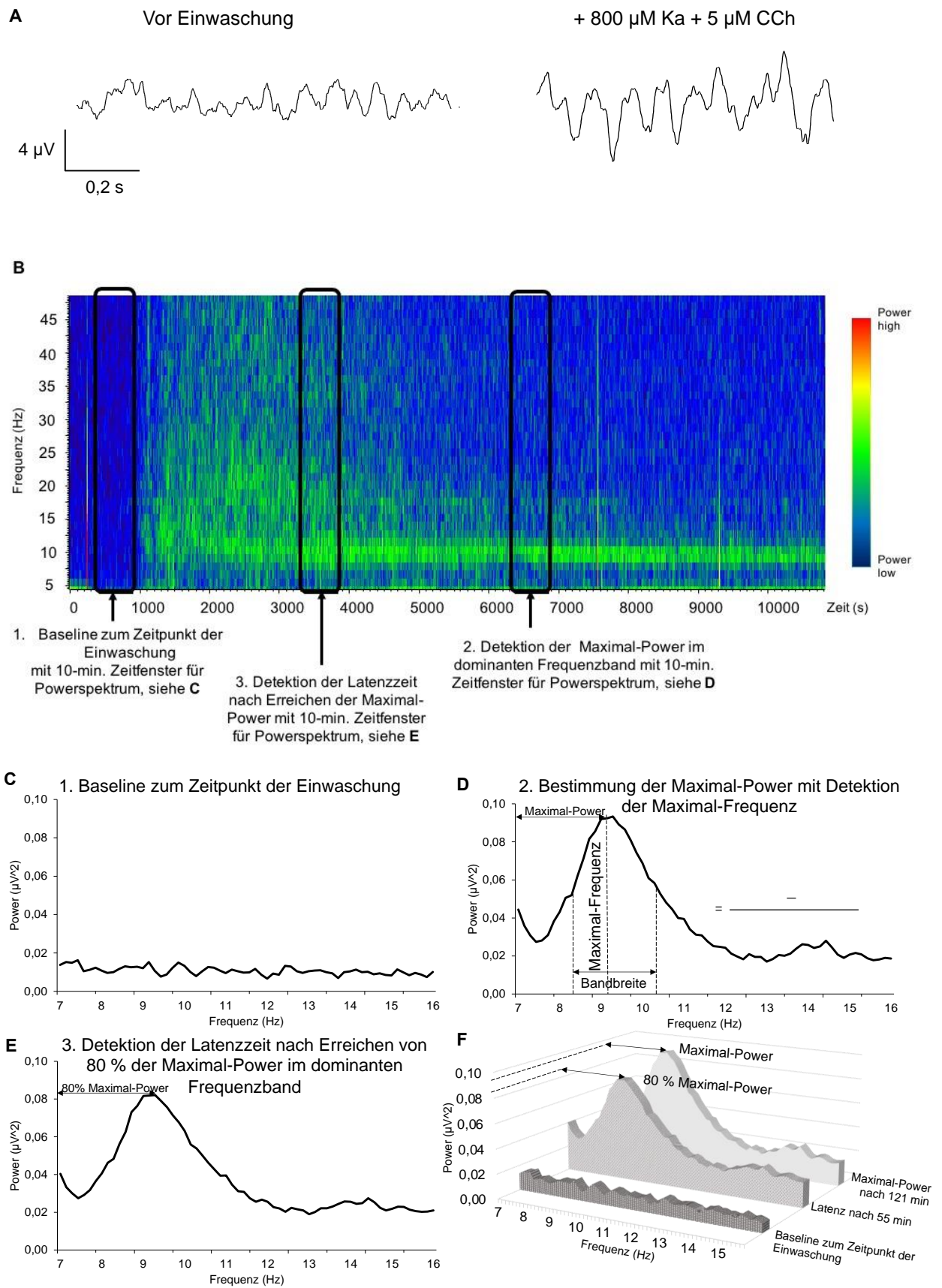


Abbildung 2: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren im niederfrequenten Frequenzband (< 13 Hz) einer naiven Ratte.

A Messspur der neuronalen Aktivität eines akuten Hirnschnittes einer naiven Ratte vor pharmakologischer Applikation zu Beginn der Messung (links) und nach Applikation von 800 μM Kainat und 5 μM Carbachol zum Zeitpunkt der Maximal-Power nach 121 min (rechts). Es wurde ein *Band pass* Filter 2 - 20 Hz und ein *Notch* Filter angewendet. **B** Spektrogramm der 180-minütigen Gesamtaufnahme. Man erkennt einen diffusen Anstieg neuronaler Aktivität nach ca. 1000 s über das gesamte dargestellte Frequenzspektrum als Reaktion auf die Applikation der Pharmaka nach 600 s, gefolgt von einer geordneten oszillatorischen Netzwerkaktivität, die sich im niederfrequenten Spektrum aufbaut und kontinuierlich über die Gesamtdauer der Messung anhält. Die schwarzen Ausschnitte markieren die 10-minütigen Zeitfenster der unter C - F dargestellten Powerspektren. **C** Darstellung der Baseline als 10-minütiges Powerspektrum vor Applikation der Pharmaka. Man sieht ein technisch bedingtes Grundrauschen, oszillatorische Aktivität ist nicht zu erkennen. **D** 10-minütiges Powerspektrum zum Zeitpunkt der Maximal-Power. Dargestellt ist die Maximal-Power als Zeitpunkt des höchsten Power-Wertes ($0,093321 \mu\text{V}^2$), die Maximal-Frequenz als Frequenz in Hz zum Zeitpunkt der Maximal-Power (9,2 Hz), die Bandbreite als Betragsdifferenz der beiden Grenzfrequenzwerte der halben Maximal-Power in Hz und der Q-Faktor, als Quotient aus Maximal-Frequenz und Bandbreite. **E** 10-minütiges Powerspektrum zum Zeitpunkt, an dem 80% der Maximal-Power ($0,08214 \mu\text{V}^2$) im dominanten Frequenzband (hier 9,2 Hz) erreicht wurde. Dieser Zeitpunkt entsprach der Latenz mit 55 min. **F** Vergleich der 10-minütigen Powerspektren der Baseline, zum Zeitpunkt der Latenz und zum Zeitpunkt der Maximal-Power. Man erkennt den Aufbau einer niederfrequenten Oszillation mit 9,2 Hz, die vor pharmakologischer Applikation nicht existierte, nach 55 min mit $0,08214 \mu\text{V}^2$ bereits mehr als 80% der Maximal-Power zeigt und nach 121 min ihr Maximum erreicht ($0,093321 \mu\text{V}^2$).

Es wurden Oszillationen beobachtet, die über die gesamte Messdauer auftraten, anhaltend und stabil waren. Diese Oszillationen wurden als „kontinuierliche Oszillationen“ bezeichnet. Die kontinuierliche oszillatorische Aktivität trat entweder als einzelne Oszillation in einem Hirnschnitt oder als eine von mehreren Oszillationen in einem Hirnschnitt auf. Die einzelnen Oszillationen wurde als „singuläre Oszillationen“ bezeichnet (siehe Abbildung 2 und 3), mehrere Oszillationen in einem Hirnschnitt als „multiple Oszillation“ (siehe Abbildung 4). Als nächstes wurden die akuten Hirnschnitte mit einer singulären kontinuierlichen Oszillation nach Höhe ihrer Maximal-Frequenz in die Frequenzbänder „Niederfrequent“ ($< 13 \text{ Hz}$, siehe Abbildung 2), „Beta“ (13 – 30 Hz) und „Gamma“ ($> 30 \text{ Hz}$, siehe Abbildung 4) eingeteilt.

Abb. 3

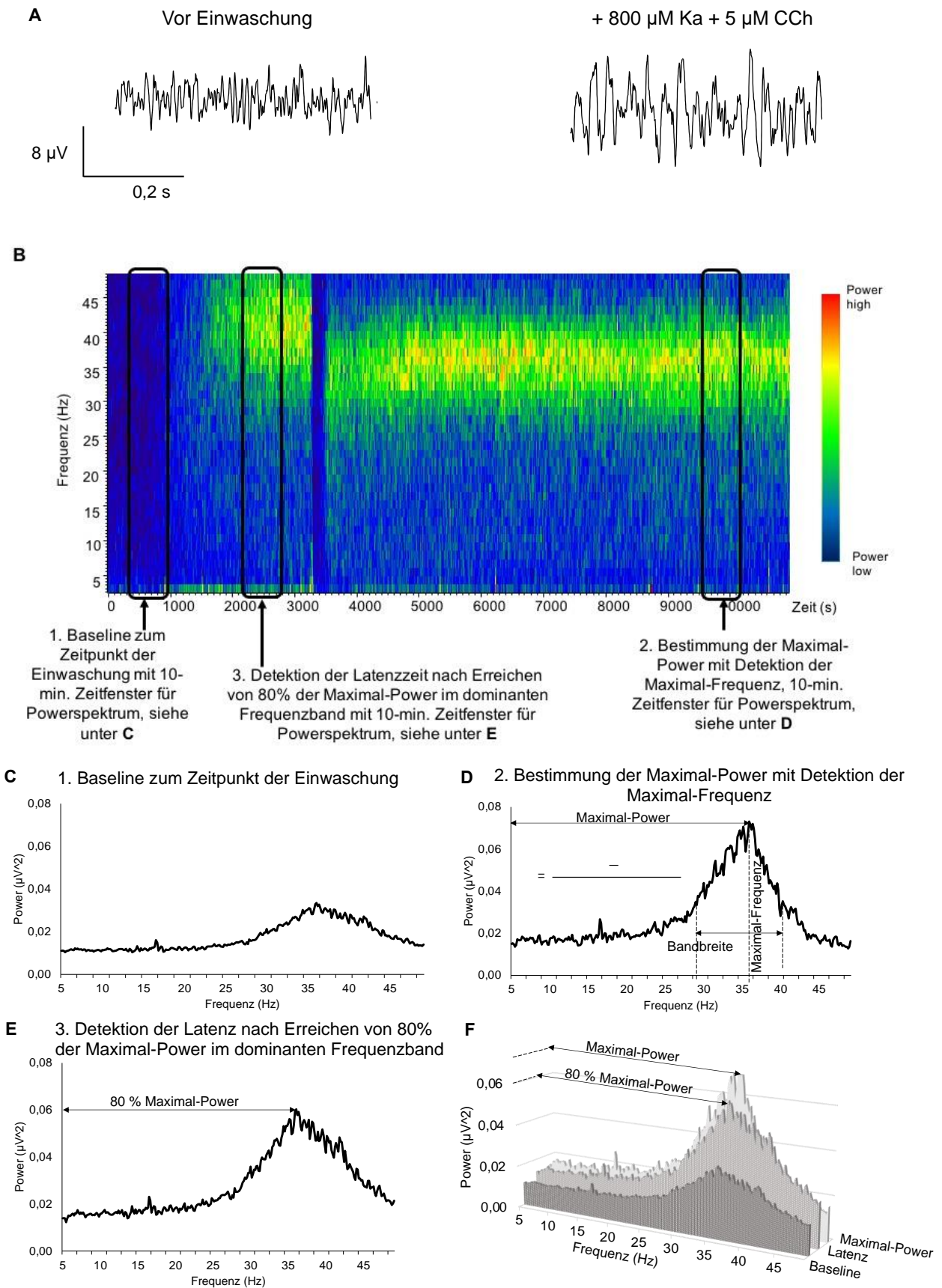


Abbildung 3: Messspur, Powerspektren und Spektrogramm im Gamma-Frequenzband (> 30 Hz) einer naiven Ratte.

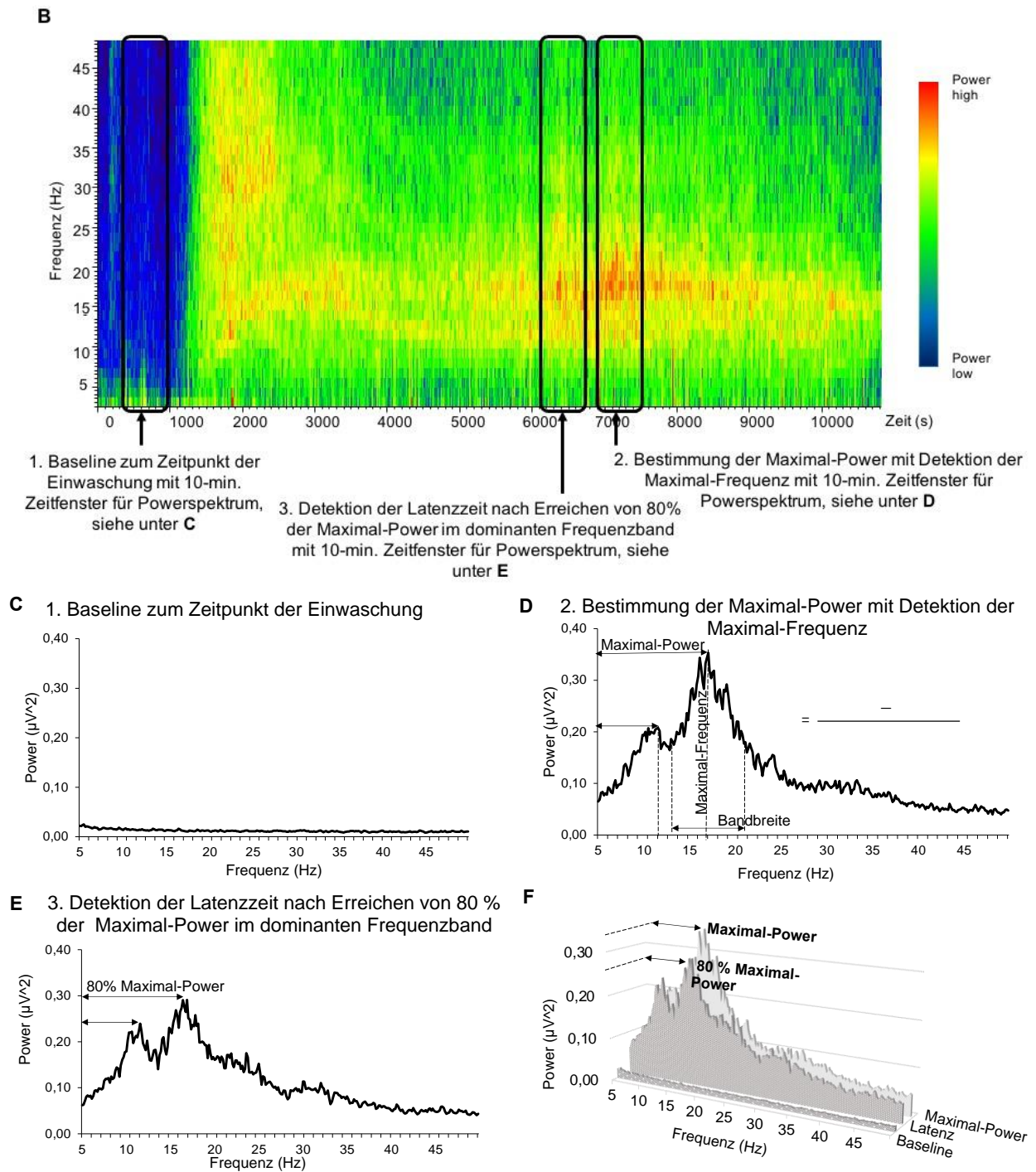
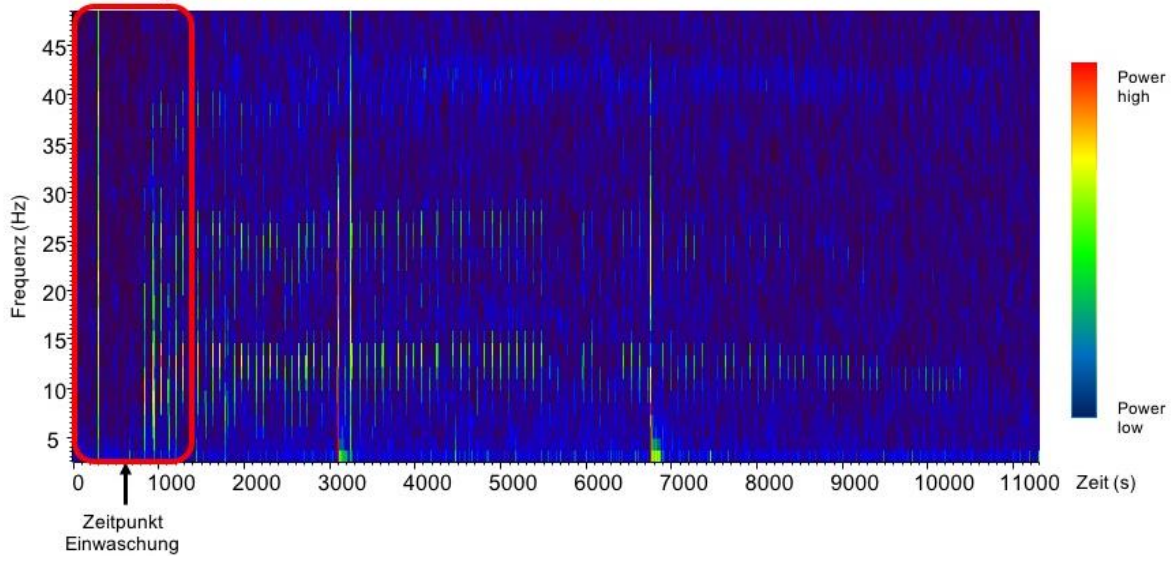


Abbildung 4: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren im Beta- und niederfrequenten Frequenzband (< 13 - 30 Hz) einer multiplen Oszillation bei einer naiven Ratte.

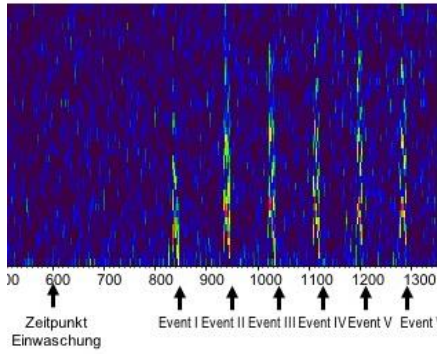
A Messspur eines akuten Hirnschnittes der naiven Ratte vor Applikation (links) und nach Applikation von 800 μM Kainat und 5 μM Carbachol zum Zeitpunkt der Maximal-Power nach 164 min (rechts). Es wurde ein *low pass* Filter bei 100 Hz und ein *Notch* Filter angewendet. **B** Spektrogramm der 180-minütigen Gesamtaufnahme als Zeit- / Frequenz- / Power-Diagramm. Man erkennt einen diffusen Anstieg neuronaler Aktivität nach ca. 1200 s als Reaktion auf die Applikation der Pharmaka nach 600 s, gefolgt von einer geordneten oszillatorischen Netzwerkaktivität nach ca. 3000 s, die sich als multiple Oszillation im Beta- und niederfrequenten Frequenzspektrum organisiert und kontinuierlich über die Gesamtdauer der Messung anhält. Die schwarzen Ausschnitte markieren die 10-minütigen Zeitfenster der unter C - F dargestellten Powerspektren. **C** Powerspektrum eines 10-minütigen Zeitfensters 10

B.1

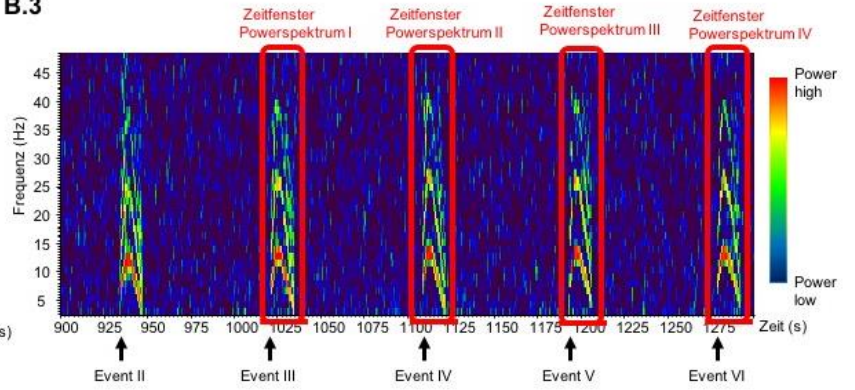
Ausschnitt
Abbildung B.2



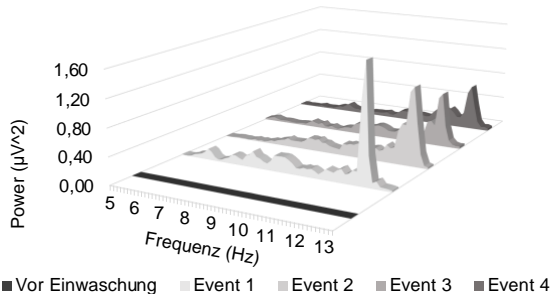
B.2



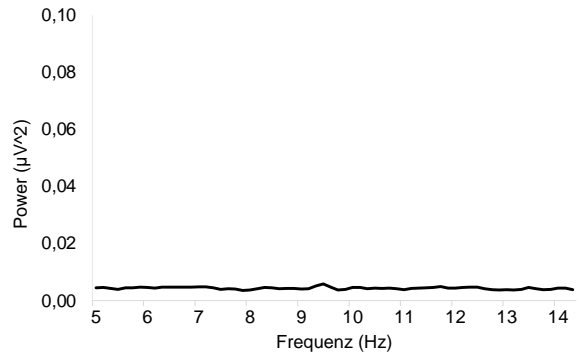
B.3



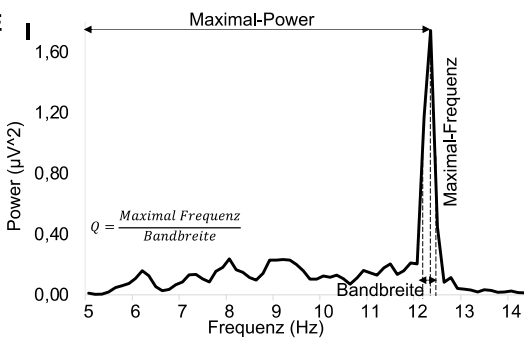
C



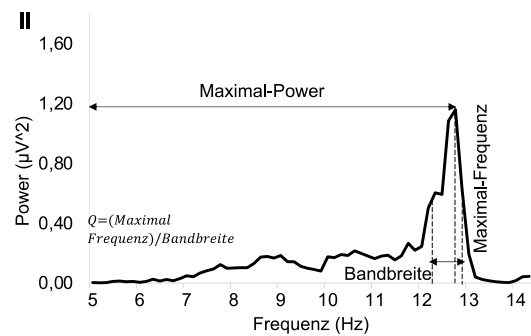
D



E



II



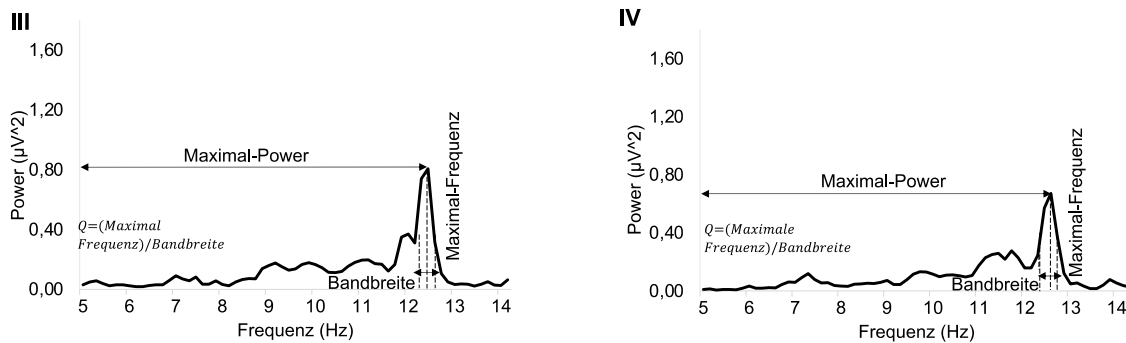


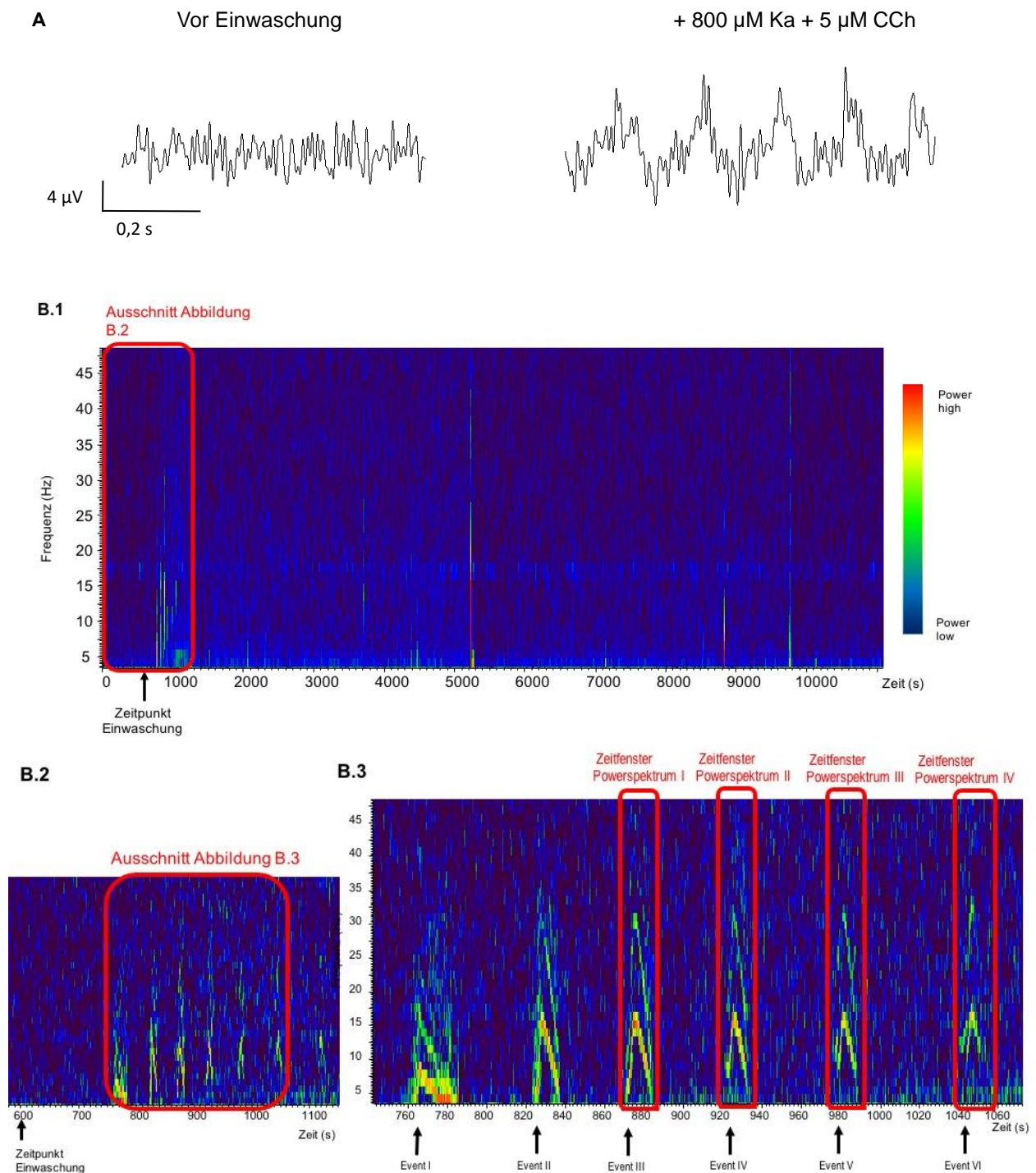
Abbildung 5: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren einer diskontinuierlichen Oszillation im niederfrequenten Spektrum (< 13 Hz) einer naiven Ratte.

A Messspur eines akuten Hirnschnittes der naiven Ratte vor Applikation (links) und nach Applikation von 800 µM Kainat und 5 µM Carbachol zum Zeitpunkt einer oszillatorischen Aktivität nach 1025 s (rechts). Es wurde ein *low pass* Filter bei 100 Hz und ein *Notch* Filter angewendet **B** Spektrogramm der Gesamtaufnahme einer diskontinuierlichen oszillatorische Aktivität eines akuten Hirnschnittes der naiven Ratte mit nach ca. 820 s nach Beginn der Messung phasenweise einsetzender, diskontinuierlicher neuronaler Aktivität, die über die gesamte Messdauer anhält. Sie zeigt einen oszillatorischen Peak im Beta-Frequenzbereich, zu erkennen sind darüber hinaus Oberschwingungen in der doppelten als auch dreifachen Frequenzhöhe, die wir nicht in unsere Auswertung mit einbezogen haben. Die rote Markierung zeigt unter **B.2** einen vergrößerten Ausschnitt des Spektrogramms, an dem die alternierend auftretenden, diskontinuierlichen Oszillationen zu erkennen sind. Eingezeichnet sind die „Events“, die nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens nummeriert sind. **B.3** zeigt eine weitere Vergrößerung des Ausschnittes unter B.2. Die „Events“ sind jeweils von sehr kurzer Dauer und von Phasen ohne oszillatorischer Aktivität („Intervallen“) unterbrochen. Die Latenz beträgt hier 15 min. Eingezeichnet sind ferner die Events, wie unter B.2 geschildert. Die roten Markierungen verweisen auf die unter C - E dargestellten Powerspektren. **C - E** zeigen die jeweiligen Powerspektren vor Applikation und von 4 aufeinander folgenden Events, beginnend beim 3. Event nach Applikation der Pharmaka. **C** stellt eine Gegenüberstellung der Powerspektren dieser 4 Events und der Baseline dar. Unter **D** sieht man die Baseline zum Zeitpunkt der Applikation. Es ist keine oszillatorische Aktivität zu erkennen. **E I. - IV.** stellt die 4 aufeinander folgenden „Events“ dar, aus denen die Parameter oszillatorischer Aktivität erhoben wurden. Der Mittelwert der Maximal-Power beträgt 1,0949 µV², die durchschnittliche Maximal-Frequenz 12,7 Hz. **E I.** Die Maximal-Power beträgt 1,7419 µV² die Maximal-Frequenz 12,5 Hz **E II.** Die Maximal-Power beträgt 1,1591 µV², die Maximal-Frequenz 12,9 Hz. **E III.** Die Maximal-Power beträgt 0,8067 µV², die Maximal-Frequenz 12,8 Hz. **E IV.** Die Maximal-Power beträgt 0,6720 µV², die Maximal-Frequenz 12,8 Hz. Es ist zu erkennen, dass sich alle phasisch-oszillatorischen Signale im Beta-Frequenzbereich bewegen und im Verlauf der Zeit eine leicht abnehmende Maximal-Power vorweisen. Alle „Events“ haben einen spitzwinkligen Peak der Maximal-Power mit geringer Bandbreite und hohen Q-Faktoren als Maß einer ausgeprägten oszillatorischen Aktivität.

Um Parameter der oszillatorischen Aktivität diskontinuierlicher Oszillationen zu erheben, wurden die Daten aus dem Mittelwert von 4 aufeinander folgenden Events, beginnend beim 3. Event der 180-minütigen Gesamtaufnahme, berechnet. Daraus ergab sich die Maximal-Power als Mittelwert der jeweils höchsten Power-Werte dieser 4 Events und die Maximal-Frequenz als Mittelwert der Frequenz zum Zeitpunkt der Maximal-Power. Den

Zeitraum bis zum Beginn des 2. Event bestimmten wir als Latenz (siehe Abbildungen 5 und 6 und Methoden). Anschließend unterteilten wir die diskontinuierlichen Oszillationen je nach Höhe der Frequenz zum Zeitpunkt der Maximal-Power in niederfrequente diskontinuierliche Oszillationen (< 13 Hz) und in diskontinuierliche Oszillationen im Beta-Frequenzspektrum ($13 - 30$ Hz) (siehe Abbildung 5 und 6). Diskontinuierliche Oszillationen im Gamma-Band traten nicht auf.

Abb. 6



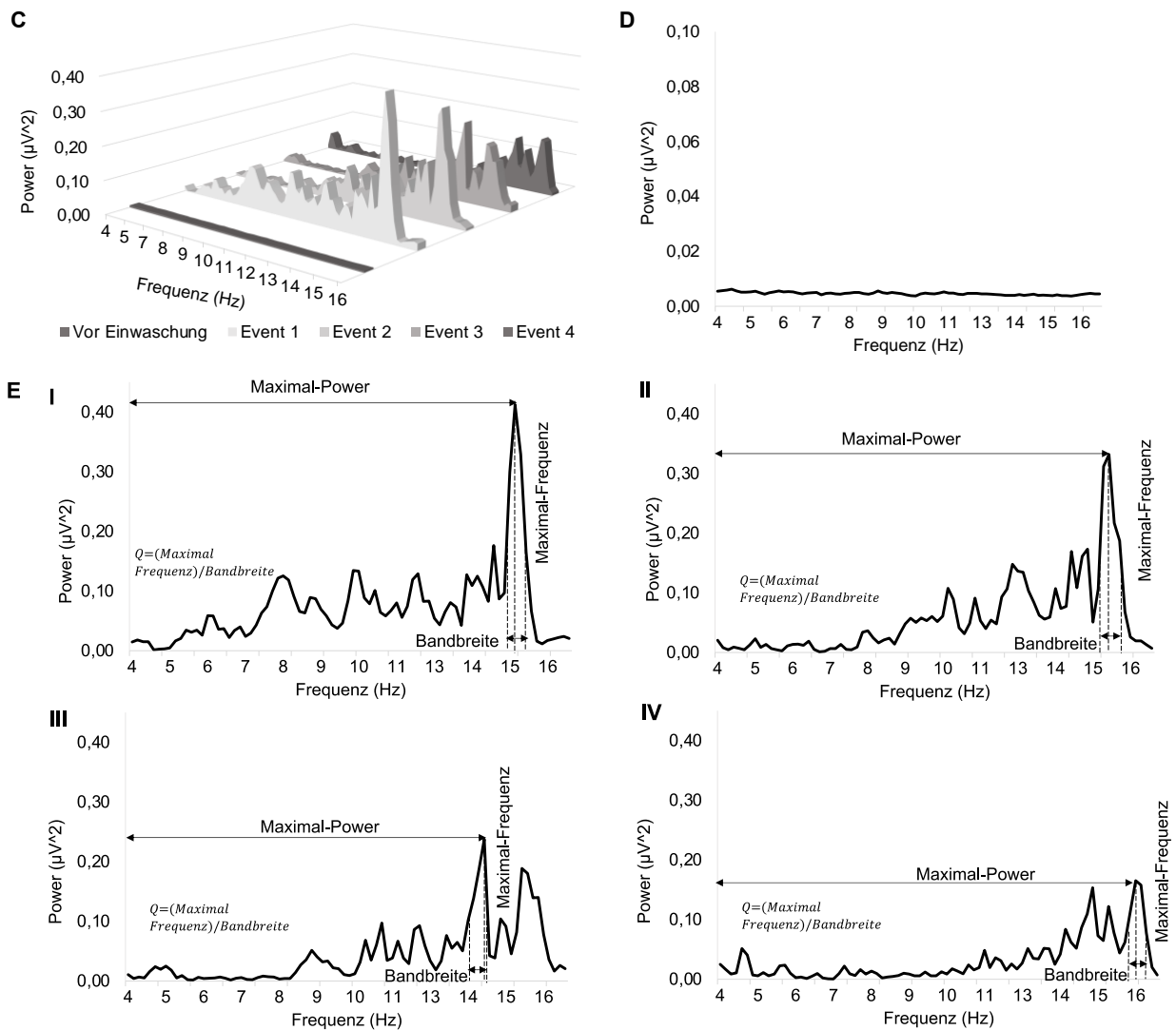


Abbildung 6: Messspur, Spektrogramm und Powerspektren einer diskontinuierlichen Oszillation im Beta-Frequenzspektrum (13 – 30 Hz) einer naiven Ratte.

A Messspur eines akuten Hirnschnitts der naiven Ratte vor Applikation (links) und nach Applikation mit 800 µM Kainat und 5 µM Carbachol zum Zeitpunkt einer oszillatorischen Aktivität nach 870 s (rechts). Es wurde ein *low pass* Filter bei 100 Hz und ein *Notch* Filter angewendet **B** Spektrogramm der Gesamtaufnahme einer diskontinuierlichen oszillatorischen Aktivität eines akuten Hirnschnitts der naiven Ratte mit nach ca. 760 s nach Beginn der Messung phasenweise einsetzender, diskontinuierlicher neuronaler Aktivität. Die diskontinuierliche oszillatorische Aktivität besteht nur zu Beginn der Messung und hört nach ca. 1000 s spontan auf. Die „Events“ zeigen oszillatorische Peaks im Gamma-Frequenzbereich, zu erkennen sind darüber hinaus Oberschwingungen in der doppelten Frequenzhöhe, die wir nicht in unsere Auswertung mit einbezogen haben. Markiert ist der Zeitpunkt der Applikation der Pharmaka nach 600 s. Die roten Markierungen verweisen auf die unter B.2 bzw. B.3 vergrößerten Ausschnitte des Spektrogramms. **B.2** zeigt einen vergrößerten Ausschnitt des Spektrogramms unter B.1 nach Applikation der Pharmaka bis zum Einsetzen der diskontinuierlichen Oszillationen. **B.3** zeigt eine weitere Vergrößerung des Ausschnittes aus B.2, in dem die einzelnen „Events“ und deren Oberschwingungen erkennbar sind. Als Latenz wurde der Zeitraum von der Applikation der Pharmaka bis zum Beginn des 2. Events bestimmt, dieser beträgt hier 14 min. Die roten Markierungen verweisen auf die unter C - E dargestellten Powerspektren. **C - E** zeigen die jeweiligen Powerspektren vor Applikation und von 4 aufeinander folgenden Events, beginnend beim

3. Event nach Applikation der Pharmaka. Zur Erhebung der oszillatorischen Parameter wurden die Mittelwerte dieser 4 Events herangezogen. **C** stellt eine Gegenüberstellung der Powerspektren dar. **D** zeigt die Baseline zum Zeitpunkt der Applikation. Es ist keine oszillatorische Aktivität zu erkennen. **E I. – IV.** stellt die 4 aufeinander folgenden Events dar, aus denen die Parameter oszillatorischer Aktivität erhoben wurden. Der Mittelwert der Maximal-Power beträgt $0,2866 \mu V^2$ die durchschnittliche Maximal-Frequenz 14,9 Hz. **E I.** Die Maximal-Power beträgt $0,4120 \mu V^2$, die Maximal-Frequenz 14,8 Hz **E II.** Die Maximal-Power beträgt $0,3317 \mu V^2$, die Maximal-Frequenz 15,1. **E III.** Die Maximal-Power beträgt $0,2376 \mu V^2$, die Maximal-Frequenz 14,0 Hz. **E IV.** Die Maximal-Power beträgt $0,1652 \mu V^2$, die Maximal-Frequenz 15,7 Hz. Wie auch bei den diskontinuierlichen Oszillationen im Beta-Frequenzspektrum haben die Events im Verlauf der Zeit eine leicht abnehmende Maximal-Power vorzuweisen. Die beiden ersten Events haben einen spitzwinkligen Peak der Maximal-Power mit geringer Bandbreite und hohen Q-Faktoren als Maß einer ausgeprägten oszillatorischen Aktivität. Die weiteren Events verlieren ihre eindeutigen Power-Peaks zu Gunsten mehrfach auftretender Peaks, deren Maximal-Power und Q-Faktor immer weiter abnehmen.

Zusammenfassend konnte aus den Hirnschnitten naiver Ratten unter Applikation von 800 μM Kainat und 5 μM Carbachol eine gute Erregbarkeit der akuten Hirnschnitte mit stabilen Oszillationen und einer großen Variabilität der oszillatorischen Aktivität beobachtet werden. Es wurden Untergruppen gebildet, um Kategorien zur Bewertung der Oszillationen zu finden. Kontinuierliche Oszillationen zeigten über die gesamte Messdauer anhaltende und stabile Oszillationen. Dabei wurden singuläre Oszillationen in den Frequenzbändern „Niederfrequent“ (< 13 Hz), „Beta“ (13 – 30 Hz) und „Gamma“ (> 30 Hz) von multiplen Oszillationen unterschieden.

Diskontinuierliche Oszillationen fielen durch rhythmisch-alternierende Oszillationen auf. Die singulären diskontinuierlichen Oszillationen wurden ebenfalls nach Frequenzbändern unterteilt und von multiplen diskontinuierlichen Oszillationen abgegrenzt.

4.1.2. Die Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte in M1 der gesunden Ratte

Anschließend wurde die Anzahl der naiven Hirnschnitte, die auf die Applikation der Pharmaka mit Oszillationen reagiert hatten, bestimmt. Von den 80 pharmakologisch stimulierten Hirnschnitten antworteten 44 mit oszillatorischer Aktivität (Responder, 55,0%), 36 davon als kontinuierliche Oszillationen (81,8 %) und 8 als diskontinuierliche Oszillationen (18,2 %).

Von den kontinuierlichen Oszillationen traten 20 Hirnschnitte (55,6 %) als singuläre Oszillation auf und 16 als multiple Oszillationen (44,4 %). Von den singulären Oszillationen lagen 14 Oszillationen (70,0 %) im niederfrequenten Frequenzband, keine (0,0 %) im Beta-Frequenzbereich und 6 im Gamma-Frequenzband (30,0 %).

Diskontinuierliche Oszillationen traten in 8 Hirnschnitten (18,2 %) auf, 4 singuläre und 4 multiple (jeweils 50,0 %). Die singulären diskontinuierlichen Oszillationen verteilten sich gleichmäßig auf das niederfrequente ($n = 2$) und das Beta-Frequenzband ($n = 2$, jeweils 50,0 %). Eine diskontinuierliche Oszillation im Gamma-Frequenzband trat nicht auf. 36 Hirnschnitte zeigten keine Aktivität (Non-Responder, 45,0 %). Wir stellten die Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte (Responder) jeweils als Ratio der Responder zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte dar (siehe Abbildung 7).

Abb. 7

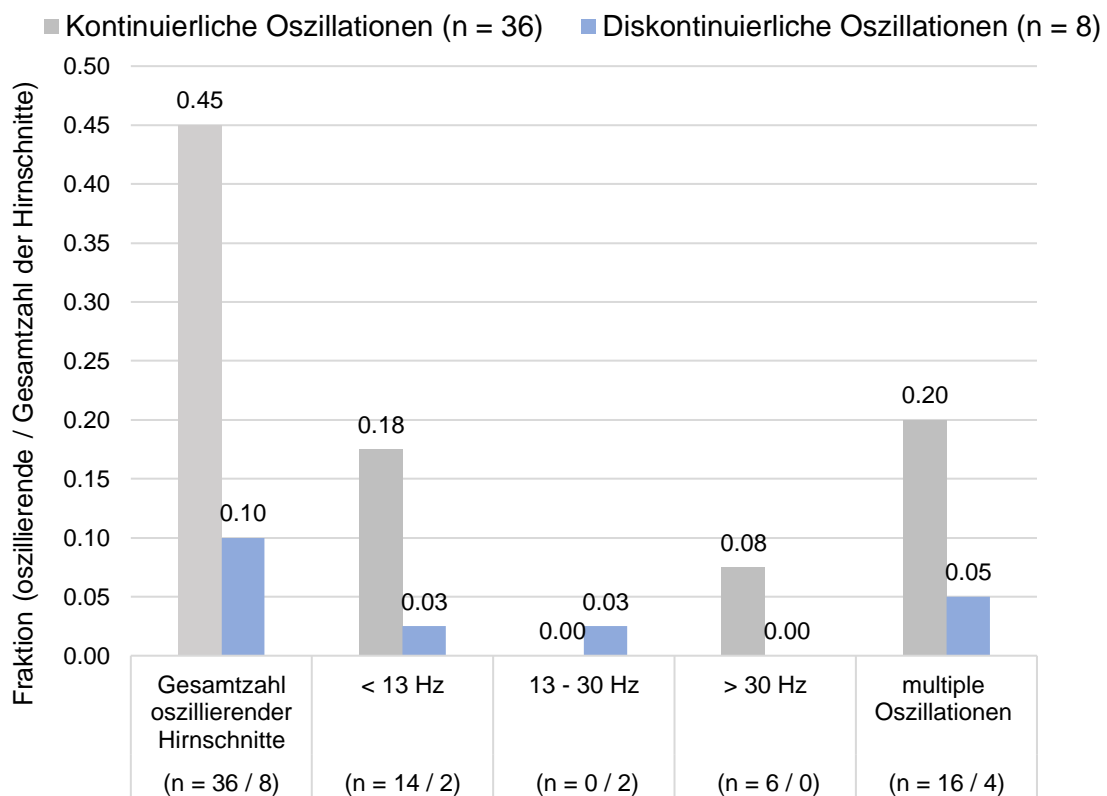


Abbildung 7: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte (Responder, $n = 44$) der naiven Ratte und Verteilung auf die jeweiligen Frequenzbänder als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte ($n = 80$).

Die Anzahl oszillierender Hirnschnitte der naiven Ratte dargestellt als Fraktion der Responder zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte. Einbezogen wurden singuläre und multiple kontinuierliche und diskontinuierliche Oszillationen in den jeweiligen Frequenzbändern „Niederfrequent“ (< 13 Hz) „Beta“ (13 – 30 Hz) und „Gamma“ (> 30 Hz). Die diskontinuierlichen Oszillationen sind in den jeweiligen Frequenzbändern blau dargestellt. Gegenüber diskontinuierlichen Oszillationen waren kontinuierliche Oszillationen signifikant erhöht ($p < 0,001$). Kontinuierliche niederfrequente Oszillationen traten sowohl gegenüber Beta- ($p < 0,001$) als auch gegenüber Gamma-Oszillationen ($p = 0,026$) signifikant häufiger auf. Auch der Unterschied zwischen Beta- und Gamma-Oszillationen war signifikant ($p = 0,020$). Auf Grund der unterschiedlichen Oszillationsklassen kontinuierlich / diskontinuierlich wurden die Bezugsgrößen für die statistische Analyse der unterschiedlichen

Frequenzbänder auf die jeweilige Kohorte „kontinuierliche“ bzw. „diskontinuierlich Oszillationen“ bezogen. Die statistische Bewertung erfolgte mit dem Exakten Test nach Fisher (siehe Methoden).

Um die Responderzahlen in den einzelnen Frequenzen und Oszillationsgruppen einordnen zu können, wurde geprüft, ob es zwischen ihnen signifikante Unterschiede in der Häufigkeit ihres Auftretens gab.

Die Anzahl kontinuierlicher Oszillationen im Vergleich zu diskontinuierlichen Oszillationen war signifikant höher ($p < 0,001$). Ebenso zeigten sich Signifikanzen zwischen den einzelnen Frequenzbändern der kontinuierlichen Oszillationen. Die niederfrequenten Oszillationen waren signifikant erhöht im Vergleich zu Beta- ($p < 0,001$) nicht aber im Vergleich zu Gamma-Oszillationen ($p = 0,077$). Es gab tendenziell mehr Gamma-Oszillationen als Beta-Oszillationen ($p = 0,061$). Keine signifikanten Unterschiede waren zwischen den singulären und den multiplen Oszillationen sowohl kontinuierlicher ($p = 0,960$) als auch diskontinuierlicher Oszillationen ($p = 1,000$) auszumachen. Ebenso wenig gab es einen Unterschied zwischen den einzelnen Frequenzbändern der diskontinuierlichen Oszillationen, weder zwischen niederfrequenten und Beta-Oszillationen ($p = 1,000$), noch zwischen niederfrequenten und Gamma-Oszillationen ($p = 1,000$) oder zwischen Beta- und Gamma-Oszillationen ($p = 1,000$), auch nicht zwischen den singulären und multiplen diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 1,000$).

Insgesamt waren etwa die Hälfte der Hirnschnitte naiver Ratten Responder. Es gab keine singulären kontinuierlichen Beta-Oszillationen. Die Anzahl der kontinuierlichen Oszillationen war signifikant höher als die der diskontinuierlichen. Niederfrequente Oszillationen waren gegenüber Beta-Oszillationen signifikant häufiger anzutreffen. Kontinuierliche Gamma- traten tendenziell häufiger auf als Beta-Oszillationen.

4.2. Die Analyse der oszillatorischen Aktivität im Hemiparkinson-Modell der Ratte

4.2.1. Die 6-OHDA Läsion und Implementierung des Hemiparkinson-Modells

18 weitere Tiere wurden mit 6-OHDA unilateral lädiert. Dabei kam es intrazerebral zu einer Injektion des Neurotoxin 6-OHDA in das rechte MFB, um ipsilateral einen progredienten Zelluntergang in der Substantia nigra pars compacta zu induzieren (siehe Methoden). Die linke, kontralaterale Hemisphäre wurde nicht lädiert. Zum klinischen Nachweis der unilateralen 6-OHDA-Läsion wurde 20-24 Tage postoperativ nach der 6-OHDA Läsion ein Zylindertest durchgeführt. Dabei kam es zu einer Manifestation motorischer Symptome, die sich auf die Läsion zurückführen ließen (siehe Einleitung). Die lädierten Ratten zeigten ein erwartetes motorisches Defizit der kontralateralen Pfote (siehe dazu weiter unten).

4.2.2. Nachweis der 6-OHDA Läsion mittels Immunhistologie

Der unilaterale Untergang dopaminergere Zellen konnte beispielhaft bei 3 lädierten Tieren mit voll ausgeprägtem motorischen Defizit *post mortem* in der SNpc in der immunhistologischen Färbung dargestellt werden (siehe Abbildung 8). Durch eine Anfärbung gegen Thyrosinhydroxylase des Mesencephalons nach der elektrophysiologischen Messung zeigten sich thyrosinpositive dopaminerge Zellen. Diese wurden mit einem Stereo Investigator System ausgezählt und als Ratio der lädierten gegenüber der nicht lädierten Kontrollhemisphäre dargestellt (siehe Methoden). Die erste Ratte zeigte 37 thyrosinpositive Zellen ipsilateral und 233 Zellen kontralateral der Läsion (Ratio: 0,159), eine weitere 23 thyrosinpositive Zellen ipsilateral und 210 kontralateral (Ratio: 0,109) und die Dritte 20 thyrosinpositive Zellen ipsilateral und 341 Zellen kontralateral (Ratio: 0,059) (siehe Abbildung 9). Der Rückgang thyrosinpositiver Zellen des Mesencephalons ipsilateral der 6-OHDA-Läsion als Nachweis des Untergangs dopaminergere Zellen war in allen 3 Ratten signifikant (p (Ratte 01 / Ratte 02 / Ratte 03) = $< 0,001$). Dies brachte den Nachweis einer maximalen Hemiläsion der drei 6-OHDA-lädierten Ratten mit voll ausgeprägtem motorischen Defizit.

Abbildung 8: Immunhistologische Färbung gegen Tyrosinhydroxylase eines koronaren Schnittes der Substantia Nigra des Mesencephalons der Ratte.

Zu sehen ist eine Färbung der thyrosinpositiven (Th-positiven) Zellen der rechten (kontralateralen) Hemisphäre nach 6-OHDA-Läsion der linken Hemisphäre (s. Methode). Die ipsilaterale Seite ist nahezu keine frei von Th-positiven Zellen. Die Quantifizierung der Th-positiven Zellen erfolgte mit Hilfe eines Stereo Investigator Systems als Ratio der lädierten gegenüber der nicht lädierten Kontrollhemisphäre. Der Ratio des hier gezeigten Schnittes aus einer mit 6-OHDA lädierten Ratte beträgt 5,9% (20/341) und weist auf einen signifikanten Untergang Th-positiver Zellen in der ipsilateralen Hemisphäre hin.

Abb. 8

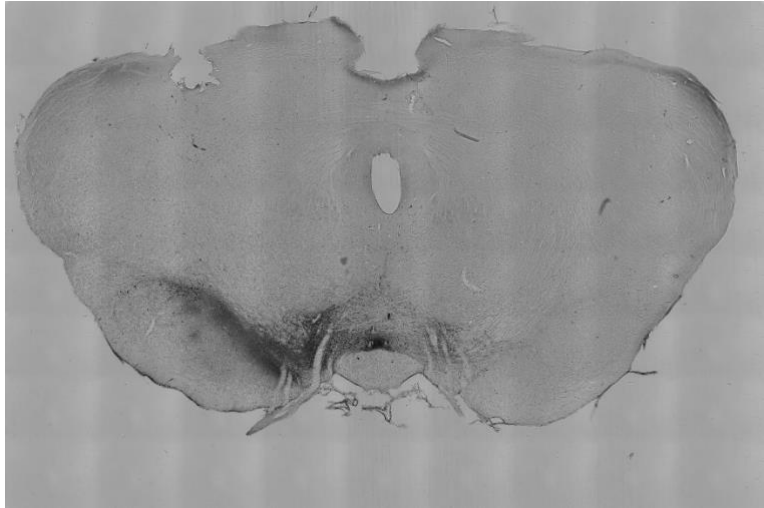


Abb. 9

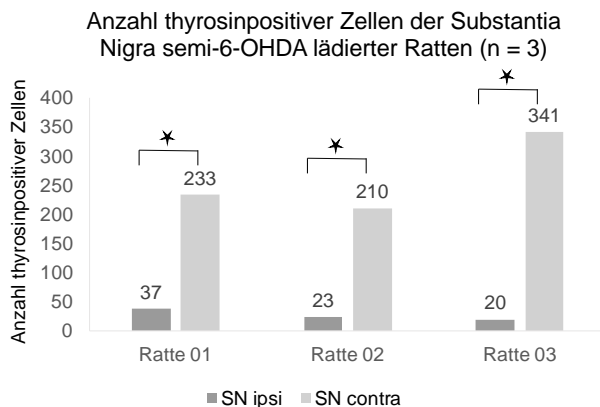


Abbildung 9: Auswertung thyrosinpositiver Zellen der Substantia Nigra Pars Compacta im Hemiparkinson-Modell der Ratte. Quantifizierung der Th-positiven Zellen im Hemi-6-OHDA- Modell der Ratte beispielhaft an 3 voll lädierten Ratten. Die 6-OHDA Läsion erfolgte ipsilateral zum Vergleich der naiven kontralateralen Hemisphäre. Die Auszählung erfolgte mit Hilfe eines Stereo Investigator Systems. Die Abbildung zeigt die Anzahl der gezählten thyrosingefärbten Zellen der Substantia Nigra Pars Compacta ipsi- und kontralateral als Übersicht im Balkendiagramm. Man erkennt einen signifikanten Rückgang Th-positiven Zellen der SN als Ausdruck des Untergangs dopaminergere Zellen (p (Ratte 01 / Ratte 02/ Ratte 02) = < 0,001).

4.2.3. Der Effekt der 6-OHDA-Läsion auf die oszillatorische Aktivität in M1

Es wurde nun der Frage nachgegangen, ob nach der Läsionssetzung abweichende oszillatorische Aktivitäten in M1 nachweisbar sind.

Um einen ersten Überblick zu erhalten, ob durch die 6-OHDA-Läsion ein Effekt zu

erkennen wäre, wurden die Oszillationen aller ipsi- und kontralateralen Hirnschnitte der 6-OHDA-lädierten Ratten zusammengefasst. Von insgesamt 288 Hirnschnitten reagierten 154 Hirnschnitte nicht oder nur diffus auf die Applikation der Pharmaka (Nonresponder, 53,5 %). 134 (46,5 %) Hirnschnitte zeigten eine geordnete oszillatorische Aktivität, die wir in unsere Analyse als Responder einbeziehen konnten. Im Vergleich zu der Responder-Rate der naiven Ratten, bei der 44 von 80 Hirnschnitte mit Oszillationen reagiert hatten (55,0 %), zeigte sich trotz tendenziellem Rückgang der Oszillationswahrscheinlichkeit kein signifikanter Unterschied ($p = 0,206$). Die Hirnschnitte zeigten ein ähnlich gutes Ansprechen auf das pharmakologische Protokoll wie die naiven Hirnschnitte.

Danach wurden die unterschiedlichen Oszillationen der Hirnschnitte 6-OHDA-lädiertes Ratten genauer betrachtet. Insbesondere wurde der Frage nachgegangen, ob sich die Rate des Auftretens autonom generierter Beta- und Gamma-Oszillationen im M1 durch eine Läsion im MFB verändert.

Wie auch bei den naiven Ratten, zeigten sich unterschiedliche Reaktionen der Hirnschnitte auf die Applikation der Pharmaka.

Von den 134 oszillierenden Hirnschnitten zeigten 116 (86,6 %) kontinuierliche oszillatorische Aktivität, die, wie die Oszillationen der naiven Hirnschnitte, kontinuierlich und stabil über einen längeren Zeitraum der Gesamtaufnahme anhielten. 68 der 116 kontinuierlichen Oszillationen waren singuläre Oszillationen (58,6 %). Diese wurden in die Frequenzbänder „Niederfrequent“ ($n = 35$; 51,5 %), „Beta“ ($n = 17$; 25,0 %) und „Gamma“ ($n = 16$; 23,5 %) unterteilt. 48 Hirnschnitte der 116 kontinuierlich oszillierenden Hirnschnitte (41,4 %) zeigten mehrere kontinuierliche Oszillationen in einem Hirnschnitt, so dass wir diese als multiple Oszillationen werteten. Wie auch bei den naiven Ratten traten diskontinuierliche Oszillationen auf, die rhythmisch-alternierende Oszillationen zeigten. 18 Hirnschnitte zeigten diskontinuierliche Oszillationen (13,4 %). 13 dieser 18 Hirnschnitte (72,2 %) hatten eine gemittelte Maximal-Frequenz im niederfrequenten Frequenzspektrum. 1 Hirnschnitt (5,6 %) oszillierte im Beta-Frequenzspektrum. 4 Hirnschnitte (22,2 %) wiesen zusätzlich zur diskontinuierlichen Oszillation weitere Oszillationen auf, so dass wir diese Hirnschnitte der Gruppe „multiple diskontinuierliche Oszillationen“ zuteilten. Diskontinuierliche Oszillationen im Gamma-Frequenzband traten nicht auf. Demnach zeigten die 6-OHDA-lädierten Hirnschnitte, ähnlich der Oszillationen der naiven Hirnschnitte, eine hohe Variabilität der Oszillationen, die sich über alle Frequenzspektren verteilten.

Abb. 10

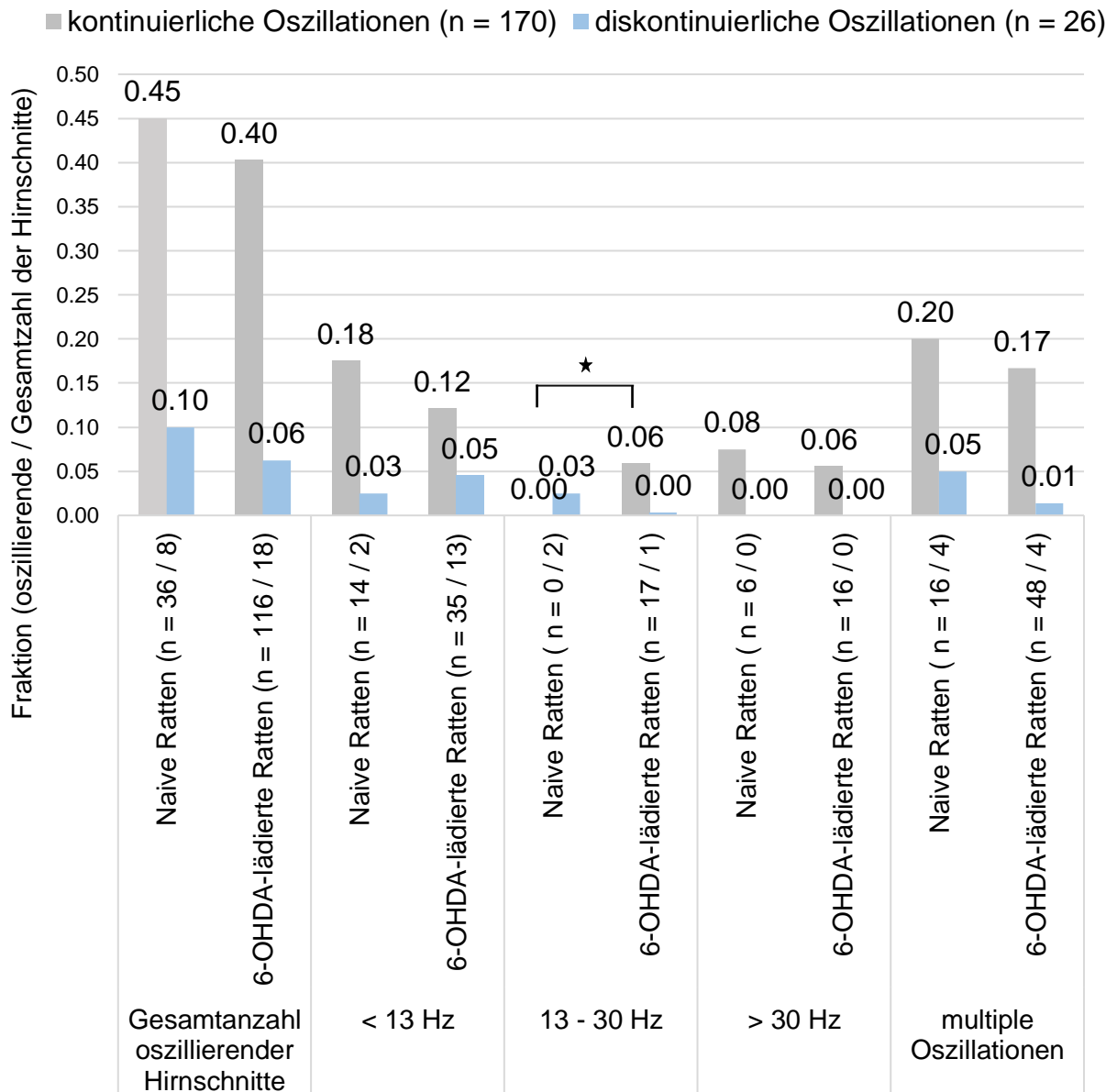


Abbildung 10: Vergleich der oszillatorischen Aktivität naiver Ratten (Responder, n = 44) und 6-OHDA-lädiertes Ratten (Responder, n = 134) als Fraktion der Responder zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n (naiv)= 80, n (lädiert) = 288).

Die Anzahl oszillierender Hirnschnitte der 6-OHDA-lädierten Ratten im Vergleich zu den oszillierenden Hirnschnitten naiver Ratten dargestellt als Fraktion der Responder zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte. Farblich voneinander abgegrenzt dargestellt sind die kontinuierlichen (grau) und diskontinuierlichen (blau) Oszillationen. Neben der Gesamtzahl aller oszillierenden Hirnschnitte sind die Responder in den jeweiligen Frequenzbändern „Niederfrequent“ (< 13 Hz) „Beta“ (13 – 30 Hz) und Gamma (> 30 Hz) dargestellt. Auf Grund der unterschiedlichen Oszillationsklassen kontinuierlich / diskontinuierlich wurden die Bezugsgrößen für die statistische Analyse der unterschiedlichen Frequenzbänder auf die jeweilige Kohorte „kontinuierliche“ bzw. „diskontinuierlich Oszillationen“ bezogen. Die statistische Bewertung erfolgte mit dem Exakten Test nach Fisher (siehe Methoden). Es konnte ein signifikanter Anstieg kontinuierlicher Beta-Oszillation der 6-OHDA-lädierten Ratten gegenüber naiven festgestellt werden (p = 0,039).

Auch hier, wie bei den naiven Ratten, wurde geprüft, ob es zwischen den Responderzahlen in den einzelnen Frequenzbändern und Oszillationsgruppen signifikante Unterschiede in der Häufigkeit ihres Auftretens gab.

Wie bei den naiven Ratten zeigten sich die kontinuierlichen gegenüber den diskontinuierlichen Oszillationen signifikant erhöht ($p < 0,001$). Die kontinuierlichen singulären gegenüber den multiplen Oszillationen waren nun auch signifikant höher ($p = 0,025$). Innerhalb der singulären Oszillationen, aufgeteilt auf die verschiedenen Frequenzbänder, zeigten sich die niederfrequenten Oszillationen weiterhin gegenüber Beta ($p = 0,008$) und Gamma ($p = 0,004$) signifikant erhöht, einen (signifikanten) Unterschied zwischen Beta- und Gamma-Oszillationen gab es nun nicht mehr ($p = 1,000$). Die diskontinuierlichen Oszillationen im niederfrequenten Spektrum waren, anders als bei den naiven Ratten, signifikant gegenüber Beta ($p < 0,001$) und Gamma ($p < 0,001$) erhöht, diskontinuierliche Beta- gegenüber Gamma-Oszillationen zeigten keinen Unterschied ($p = 1,000$).

Es wurde nun die Anzahl der Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten mit dem Auftreten der Oszillationen der naiven Ratten verglichen.

Hier zeigten sich kontinuierliche, singuläre Oszillationen im Beta-Frequenzband im Vergleich zu den Beta-Oszillationen der naiven Hirnschnitte signifikant erhöht ($p = 0,039$). Zudem war der Anstieg diskontinuierlicher Oszillationen im niederfrequenten Spektrum gegenüber naiven Ratten tendenziell erhöht ($p = 0,115$). Gamma-Oszillationen waren nicht signifikant verändert ($p = 1,000$).

Andere Vergleichsgruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede. Weder kontinuierliche bzw. diskontinuierliche Oszillationen ($p = 1,000$), noch kontinuierliche singuläre bzw. multiple Oszillationen ($p = 1,000$). Auch im niederfrequenten Frequenzband ($p = 1,000$) war kein signifikanter Unterschied auszumachen. Die diskontinuierlichen Oszillationen zeigten weder innerhalb der einzelnen Frequenzbänder signifikante Unterschiede (p (Beta) = 0,646; p (Gamma) = 1,000), noch zeigten die multiplen diskontinuierlichen Oszillationen zu den naiven Ratten einen signifikanten Unterschied ($p = 0,394$) (siehe Abbildung 10).

Zusammenfassend wurde beobachtet, dass die mit 6-OHDA lädierten Ratten ebenso gut auf das pharmakologische Protokoll mit Kainat und Carbachol ansprachen wie die naiven Ratten. Die Oszillationen waren über das gesamte Frequenzspektrum verteilt. Gegenüber den naiven Ratten konnte eine signifikante Erhöhung der kontinuierlichen Beta-Oszillationen festgestellt werden.

4.2.4. Vergleich der funktionellen Parameter der oszillatorischen Aktivität im M1 der 6-OHDA-lädierten im Vergleich zur naiven Ratte

Es stellte sich die Frage, ob die 6-OHDA-Läsion Einfluss auf die funktionellen Parameter der oszillatorischen Aktivität hat, namentlich auf die Maximal-Power, Maximal-Frequenz, den Quality-Faktor und die Latenz bzw. auf die Event- und Intervalldauer der diskontinuierlichen Oszillationen. Multiple Oszillationen wurden, auf Grund der hohen Variabilität, weder bei den kontinuierlichen noch bei den diskontinuierlichen Oszillationen in die Analyse miteinbezogen.

Im Vergleich der kontinuierlichen Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten zu den naiven Ratten zeigten sich signifikante Unterschiede. Da es jedoch im Beta-Frequenzspektrum der naiven Ratten keine Responder gab, konnten hier keine Vergleiche gezogen werden.

Die Maximal-Power der kontinuierlichen Oszillationen war signifikant kleiner bei den 6-OHDA-lädierten Ratten ($0,0192 \pm 0,007 \mu V^2$) im Vergleich zu den naiven Ratten ($0,080 \pm 0,034 \mu V^2$, $p = 0,027$). Dieser signifikante Unterschied zeigte sich auch bei den kontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen (lädiert: $0,0109 \pm 0,001 \mu V^2$, naiv: $0,052 \pm 0,017 \mu V^2$, $p < 0,001$) und bei tendenziell den kontinuierlichen Gamma-Oszillationen (lädiert: $0,038 \pm 0,026 \mu V^2$, naive Ratten: $0,275 \pm 0,271 \mu V^2$, $p = 0,105$).

Der Quality-Faktor der 6-OHDA lädierten Ratten bei kontinuierlichen Gamma-Oszillationen ($1,80 \pm 0,57$) war signifikant kleiner als bei den naiven Ratten ($12,34 \pm 10,17$, $p = 0,009$). Sonst konnte weder insgesamt (lädiert: $1,38 \pm 0,22$, naive: $2,18 \pm 1,36$, $p = 0,939$) noch in der kontinuierlichen niederfrequenten Gruppe (lädiert: $0,89 \pm 0,14$, naive: $0,73 \pm 0,07$, $p = 1,000$) ein signifikanter Unterschied im Quality-Faktor ausgemacht werden. Die mit 6-OHDA-lädierten Ratten zeigten insgesamt ein signifikant früheres Einsetzen der Oszillationen ($15,6 \pm 1,8$ min) als die naiven Ratten ($46,3 \pm 11,7$ min, $p < 0,001$) insbesondere in den kontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen (lädiert: $9,8 \pm 1,60$ min, naiv: $47,3 \pm 13,4$ min, $p < 0,001$). Die Gamma-Oszillationen zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Latenz (lädiert: $26,3 \pm 4,10$ min, naiv: $39,0 \pm 3,0$ min, $p = 1,000$).

Auch unter den diskontinuierlichen Oszillationen gab es Signifikanzen. Auf Grund einer zu geringen Responderanzahl im diskontinuierlichen Beta-Frequenzspektrum der 6-OHDA-lädierten Ratten und fehlender Responder im diskontinuierlichen Gamma-Frequenzspektrum beider Vergleichsgruppen konnten diese Frequenzspektren jedoch

nicht in die Analyse miteinbezogen werden.

Die diskontinuierlichen Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten zeigten insgesamt tendenziell später einsetzende Oszillationen (lädiert: $15,0 \pm 2,3$ min, naiv: $4,6 \pm 0,5$ min, $p = 0,108$), mit signifikant längeren Events (lädiert: $35,5 \pm 7,2$ s, naiv: $13,3 \pm 0,6$ s, $p = 0,021$) und signifikant längeren Intervallen (lädiert: $165,6 \pm 38,0$ s, naiv: $60,6 \pm 3,4$ s, $p = 0,042$). Bei den diskontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen zeigten sich tendenziell längere Intervalle (lädiert: $147,3 \pm 22,2$ s, naiv: $71,5 \pm 0,7$ s, $p = 0,057$), ohne signifikant verkürzte Latenz (lädiert: $147,3 \pm 22,2$ s, naiv: $71,5 \pm 0,7$ s, $p = 0,255$) und tendenziell längeren Events (lädiert: $34,8 \pm 6,9$ s, naiv: $14,7 \pm 0,7$ s, $p = 0,126$).

Bei den diskontinuierlichen Oszillationen gab es keine signifikanten Unterschiede der Maximal-Power, weder insgesamt (lädiert: $1,121 \pm 0,535$ μV^2 , naiv: $0,757 \pm 0,122$ μV^2 , $p = 1,000$) noch bei den niederfrequenten Oszillationen (lädiert: $0,615 \pm 0,303$ μV^2 , naiv: $1,116 \pm 0,152$ μV^2 , $p = 0,744$). Der Quality-Faktor zeigte sich insgesamt tendenziell niedriger bei den 6-OHDA-lädierten Ratten (lädiert: $5,85 \pm 1,16$, naiv: $9,58 \pm 0,55$, $p = 0,062$, als auch im niederfrequenten Spektrum (lädiert: $6,21 \pm 1,46$, naiv: $10,47 \pm 0,47$, $p = 0,135$).

Zusammenfassend zeigte sich bei den 6-OHDA-lädierten Ratten ein signifikanter Rückgang der Maximal-Power der kontinuierlichen Oszillationen und im Frequenzband „Niederfrequent“. Der Q-Faktor der kontinuierlichen Gamma Oszillationen war signifikant kleiner als bei den naiven Ratten. Die kontinuierlichen Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten setzten signifikant früher ein. Die Event- und die Intervalldauer der diskontinuierlichen Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten waren signifikant länger als bei den naiven Ratten. Jedoch zeigte sich in allen Oszillationsgruppen eine hohe Variabilität der Parameter bei geringer Fallzahl. Insbesondere konnten die Beta-Oszillationen auf Grund einer zu geringen Anzahl an Respondern nicht analysiert werden, diskontinuierliche Gamma-Oszillationen gab es nicht. Multiple Oszillationen mussten aus der Analyse auf Grund fehlender Vergleichbarkeit ausgeschlossen werden. Auf eine weitergehende Analyse der funktionellen Parameter wurde daher verzichtet.

4.2.5. Analyse des erhöhten Auftretens von Beta-Oszillationen im Hemiparkinson-Modell der Ratte

Anschließend wurde geprüft, ob das beobachtete erhöhte Auftreten von kontinuierlichen Beta-Oszillationen der 6-OHDA-lädierten Ratten in der lädierten, ipsilateralen Hemisphäre im Vergleich zu naiven Ratten verstärkt auftritt.

Die jeweils 8 Hirnschnitte der 18 operierten Versuchstiere wurden in den vorliegenden Untersuchungen am Corpus Callosum voneinander getrennt, so dass insgesamt 288 Hirnschnitte zur Verfügung standen, 144 der ipsilateralen, lädierten und 144 der kontralateralen Hemisphäre. Durch die Trennung der Hemisphären konnte die jeweilige Hemisphäre isoliert untersucht werden.

Von den 144 Hirnschnitten der ipsilateralen Hemisphären aller 6-OHDA-lädierten Ratten kam es in 71 Hirnschnitten (49,3 %) zu einer geordneten oszillatorischen Aktivität. 60 Hirnschnitte (84,5 %) zeigten kontinuierliche, 11 Hirnschnitte (15,5 %) diskontinuierliche Oszillationen. Von den 60 kontinuierlichen Oszillationen waren 32 singulär (53,3 %), 18 im niederfrequenten (56,3 %), 9 im Beta- (28,2 %) und 5 im Gamma-Frequenzspektrum (15,6 %). In 28 Hirnschnitten (46,7 %) mit kontinuierlichen Oszillationen traten multiple Oszillationen auf. Von den 11 diskontinuierlichen Oszillationen waren 8 niederfrequent (72,7 %), 1 im Beta-Frequenzspektrum (9,1 %) und 2 Hirnschnitte zeigten multiple diskontinuierliche Oszillationen (18,2 %). 73 Hirnschnitte der ipsilateralen Hemisphäre zeigten nur eine diffuse oder keine Antwort auf die Applikation der Pharmaka (Nonresponder, 50,7 %).

Es zeigte sich ein tendenziell höheres Auftreten von Beta-Oszillationen der ipsilateralen 6-OHDA-lädierten Hemisphären im Vergleich zu den naiven Hirnschnitten ($p = 0,073$). Dieser Effekt war weniger stark ausgeprägt als in der Zusammenfassung aller 6-OHDA-lädierten Hirnschnitte (siehe oben). Insgesamt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Es traten tendenziell erhöhte diskontinuierliche niederfrequente Oszillationen auf, die nicht signifikant waren ($p = 0,209$). Kein Unterschied zeigte das Auftreten kontinuierlicher bzw. diskontinuierlicher ($p = 1,000$) Oszillationen in den beiden Vergleichsgruppen. Ebenso wenig konnte zwischen dem Auftreten singulärer und multipler Oszillationen ($p = 1,000$) ein Unterschied ausgemacht werden. Der Vergleich niederfrequenter ($p = 1,000$) und Gamma- Oszillationen ($p = 0,963$) war nicht signifikant. Und auch bei den diskontinuierlichen Oszillationen trat im Vergleich zu den naiven Ratten kein signifikanter Unterschied auf (p (Beta) = 1,000; p (Gamma) = 1,000; p (multiple Oszillationen) = 0,638).

Insgesamt konnte ein tendenzieller Anstieg der Beta-Oszillationen der ipsilateralen Hemisphäre im Vergleich zu naiven Ratten festgestellt werden. Dieser Effekt nahm jedoch nicht wie erwartet durch die Fokussierung auf die ipsilaterale Seite der Läsion zu, sondern, ganz im Gegenteil, leicht ab.

Es wurde daher der Frage nachgegangen, ob sich der Effekt stattdessen in der kontralateralen, nicht lädierten Hemisphäre der 6-OHDA-lädierten Ratten im Vergleich zu den naiven Hemisphären reproduzieren ließ.

In der kontralateralen Hemisphäre zur 6-OHDA-Läsion gab es 63 Responder (43,8 %). Davon 56 Hirnschnitte (88,9 %) mit kontinuierlichen Oszillationen, 7 waren diskontinuierlich (11,1 %). Von den kontinuierlichen Oszillationen waren insgesamt 36 singuläre Oszillationen (64,3 %), 17 Hirnschnitte zeigten eine Oszillation im niederfrequenten (47,2 %), 8 (22,2 %) im Beta- und 11 (30,5 %) im Gamma-Frequenzspektrum. 20 Hirnschnitte (35,7 %) hatten multiple singuläre Oszillationen. Von den 7 diskontinuierlichen Oszillationen lagen 5 (71,4 %) im niederfrequenten Frequenzband und 2 (28,6 %) waren multiple Oszillationen. Weder im Beta- noch im Gamma-Frequenzspektrum gab es diskontinuierliche Oszillationen.

Im Vergleich zu den naiven Hirnschnitten zeigte sich auch hier im Beta-Frequenzspektrum der kontinuierlichen neuronalen Aktivität ein tendenzieller Anstieg der Oszillationen ($p = 0,062$). Andere signifikante Unterschiede konnten nicht beobachtet werden.

Weder die kontinuierlichen noch die diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,795$) zeigten signifikante Unterschiede zu den naiven Ratten. Alle singulären Oszillationsunterschiede waren – bis auf die bereits erwähnte Beta-Oszillation – nicht signifikant (p (singuläre Oszillationen) = 1,000; p (Niederfrequent) = 1,000; p (Gamma) = 1,000; p (multiple) = 1,000). Ebenso wenig zeigten sich Signifikanzen bei den diskontinuierlichen Oszillationen (p (Niederfrequent) = 0,396; p (Beta) = 1,000; p (Gamma) = 1,000; p (multiple) = 1,000). Der tendenzielle Anstieg der kontinuierlichen Beta-Oszillationen war damit in der kontralateralen Hemisphäre reproduzierbar ($p = 0,062$) und sogar etwas stärker ausgeprägt als in der ipsilateralen Hemisphäre (siehe oben).

Hinterfragt wurde nun, ob der Effekt der erhöhten Beta-Oszillation auf die ipsilaterale Hemisphäre begrenzt ist oder ob durch die 6-OHDA-Läsion ein systemischer Effekt generiert wird, der über das lokale Netzwerk hinaus zu einer Veränderung in der kontralateralen Hemisphäre führt.

Hierfür wurden alle Hirnschnitte der ipsilateralen, 6-OHDA-lädierten Hemisphäre mit der kontralateralen Hemisphäre verglichen.

Die Unterschiede der Hemisphären waren sehr gering. Zwischen den kontinuierlichen und diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 1,000$) beider Hemisphären war kein signifikanter Effekt auszumachen. Weder kontinuierlichen Niederfrequenten- ($p = 1,000$),

Beta- ($p = 1,000$) und Gamma- Frequenzspektrum ($p = 0,314$) noch zwischen den kontinuierlich-multiplen Oszillationen ($p = 1,000$) und in allen diskontinuierlichen (p (Niederfrequent) = $1,000$; p (Beta) = $1,000$; p (Gamma) = $1,000$; p (multiple) = $1,000$) Spektren zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Die oszillatorische Aktivität der ipsi- und kontralateralen Hemisphäre war in allen Frequenzspektren und Oszillationsgruppen annähernd gleich. Ein auf die ipsilaterale Hemisphäre begrenzter Effekt konnte nicht beobachtet werden.

4.3. Vorläufige Zusammenfassung

Es zeigte sich unter dem angewendeten pharmakologischen Protokoll eine gute Erregbarkeit der naiven und der 6-OHDA-lädierten Hirnschnitte ohne signifikanten Unterschied der Oszillationswahrscheinlichkeit. Etwa die Hälfte der naiven als auch der 6-OHDA-lädierten Hirnschnitte waren Responder. Die Oszillationen waren über das gesamte Frequenzspektrum verteilt und über die gesamte Messdauer stabil. Neben den kontinuierlichen Oszillationen traten diskontinuierliche Oszillationen auf, die rhythmisch-alternierende Oszillationen zeigten.

Gegenüber den naiven Ratten konnte bei den 6-OHDA-lädierten Ratten eine signifikante Erhöhung der kontinuierlichen Beta-Oszillationen und eine tendenzielle Erhöhung der diskontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen festgestellt werden. Die Gamma-Oszillationen waren nicht signifikant verändert.

Ipsilateral konnte ein tendenzieller Anstieg der Beta-Oszillationen im Vergleich zu naiven Ratten festgestellt werden. Dieser Effekt war nicht auf die ipsilaterale Hemisphäre begrenzt und auch kontralateral reproduzierbar.

Beim direkten Vergleich der ipsi- und kontralateralen Hemisphären aller operierten Ratten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Damit konnte kein auf die ipsilaterale Hemisphäre begrenzter Effekt beobachtet werden.

Ein Vergleich der funktionellen oszillatorischen Parameter war auf Grund der hohen Variabilität der Oszillationen und zu geringen Fallzahlen in den einzelnen Untergruppen nicht möglich.

4.4. Das Ausmaß des motorischen Defizits lädierter Ratten

Anschließend wurde hinterfragt, ob es zwischen dem Ausmaß des motorischen Defizits der 6-OHDA-lädierten Ratten und der veränderten oszillatorischen Aktivität eine

Korrelation geben könnte. Um das Ausmaß des motorischen Defizits durch die 6-OHDA-Läsion zu quantifizieren, wurden die Ergebnisse des postoperativen Zylinder-Tests in die Bewertung mit einbezogen.

4.4.1. Nachweis der 6-OHDA Läsion mittels Zylindertest

Der zwischen dem 21. und 25. postoperativen Tag durchgeführte Zylindertest wurde zum klinischen Nachweis der unilateralen 6-OHDA-Läsion geführt und zeigt das Ausmaß der motorischen Einschränkung durch die Analyse der Vorderpfotenbenutzung. Dabei wurde die Anzahl der Vorderpfotenkontakte beim explorativen Verhalten der Ratte in einem Glaszylinder beobachtet und die Anzahl der Vorderpfotenkontakte der gesunden rechten zur lädierten linken Seite in einem definierten Zeitraum miteinander verglichen. Es zeigte sich bei den 6-OHDA-lädierten Ratten ein unterschiedliches Ausmaß der motorischen Einschränkung. 6 Tiere setzten die Vorderpfote der lädierten linken Seite im Gegensatz zur nicht lädierten rechten Seite kaum oder gar nicht ein und zeigten ein stark ausgeprägtes motorisches Defizit der lädierten Seite mit einer signifikant reduzierten Anzahl an Vorderpfotenkontakten ($p < 0,001$) als Ausdruck einer maximalen Hemiläsion (62, 110). Zu dieser Gruppe zählten wir Tiere, deren Fraktion der Vorderpfotenbenutzung der lädierten zur gesunden Seite eine Ratio von $\geq 0,2$ zeigten. Die Ratio dieser Gruppe betrug somit zwischen 0,00 und 0,20 und hatte einen Mittelwert von 0,08 (siehe Abbildung 11). 12 Tiere zeigten eine Einschränkung der Vorderpfotenkontakte in geringerem Ausmaß. Manche Tiere setzten die lädierte Vorderpfote nur geringfügig weniger ein als die gesunde, andere zeigten ein mittelgradig ausgeprägtes motorisches Defizit und setzten die lädierte Vorderpfote zwar ein, jedoch deutlich weniger als die nicht lädierte. Diese Tiere wurden in 2 Gruppen unterteilt. Bei der einen Gruppe konnte eine signifikante Reduktion der Vorderpfotenbenutzung der lädierten Seite ($p = 0,002$) ausgemacht werden. Diese ließ eine um etwa 50 % reduzierte Benutzung der rechten Vorderpfote erkennen. Die Fraktion der Vorderpfotenbenutzung der lädierten zur gesunden Seite betrug hier zwischen 0,38 und 0,65, der Mittelwert lag bei 0,56. Diese Gruppe mit mittelgradig ausgeprägtem motorischen Defizit bestand aus 6 Tieren. Die restlichen Tiere ($n = 6$) zeigten fast kein oder wenig motorisches Defizit. Die Vorderpfotenbenutzung dieser Gruppe war maximal um 24 % reduziert. Die Fraktion der Vorderpfotenbenutzung der lädierten zur gesunden betrug zwischen 0,76 und 0,96, der Mittelwert 0,86. In dieser Gruppe mit einem schwach ausgeprägtem motorischen Defizit gab es keinen

signifikanten Unterschied zwischen der lädierten und nicht lädierten Seite ($p = 0,262$) (siehe Abbildung 11).

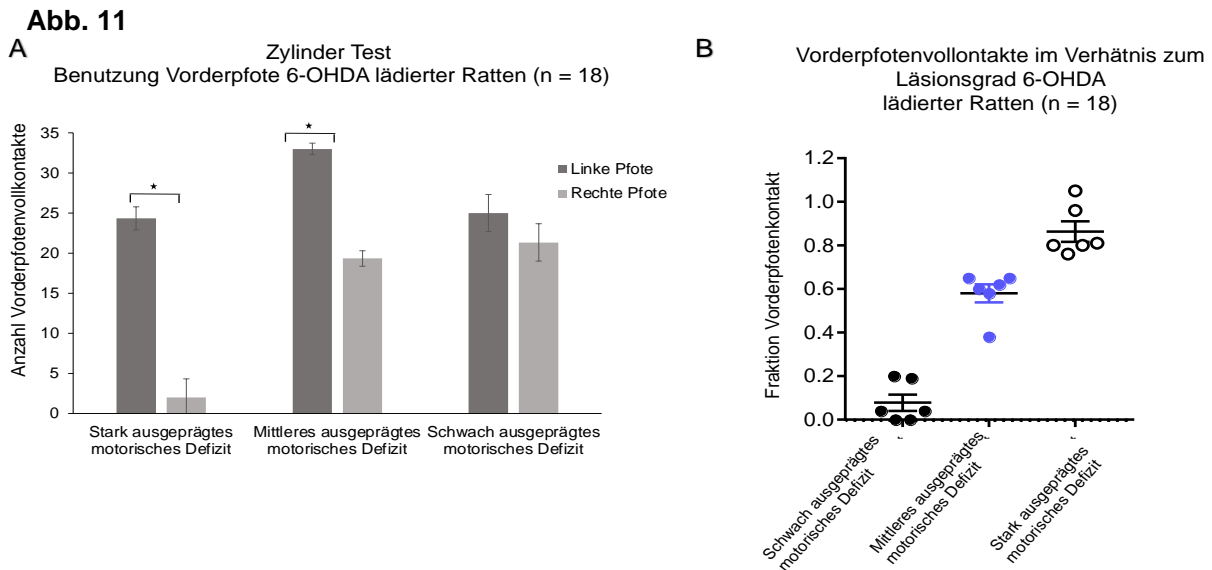


Abbildung 11: Ergebnisse des Zylindertests.

A Anzahl der Vorderpfotenkontakte der gesunden linken im Vergleich zur lädierten rechten Extremität im selben Zeitraum. Die Unterschiede sind bei allen lädierten Tieren jeweils signifikant (p (vollständig lädiert) $< 0,001$, p (partiell lädiert) = 0,002), nicht jedoch bei den operierten Tieren mit einem schwach ausgeprägtem motorischen Defizit ($p = 0,262$). Alle Daten sind als Mittelwert \pm SEM dargestellt. **B** Scatter *plott* des Quotienten (Vorderpfotenbenutzung der lädierten zur gesunden Seite) zum Grad des motorischen Defizits aller operierten Tiere. Bei der Gruppe mit stark ausgeprägtem motorischen Defizit, ist der Mittelwert der Fraktion der Vorderpfotenkontakte der lädierten zur naiven Seite = 0,08. Im Vergleich zu der fast gleichmäßig ausgeprägten Benutzung der Vorderpfote der lädierten zur naiven Seite bei der Gruppe mit schwach ausgeprägtem motorischen Defizit ist der Mittelwert der Fraktion der Vorderpfotenbenutzung = 0,86, bei der Gruppe mit mittlerem ausgeprägten motorischen Defizit = 0,58.

Zusammengefasst zeigten die Ergebnisse des Zylindertest 6 Tiere, die ein stark ausgeprägtes motorisches Defizit der lädierten Seite mit einer signifikant reduzierten Anzahl an Vorderpfotenkontakten als Ausdruck einer maximalen Hemiläsion zeigten. Eine Gruppe von weiteren 6 Tieren hatte ein mittelgradig ausgeprägtes motorisches Defizit mit einer signifikanten Reduktion der Vorderpfotenbenutzung der lädierten Seite. Weitere 6 Ratten zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen der lädierten und nicht lädierten Seite. Ihr motorisches Defizit war lediglich schwach ausgeprägt.

4.4.2. Gruppierung der Hirnschnitte nach motorischem Defizit

Auf Grund des unterschiedlichen motorischen Defizits der insgesamt 18 mit 6-OHDA

lädierten Versuchstiere wurden bei der weiteren Analyse drei experimentelle Gruppen gebildet: 6 Ratten mit starkem motorischen Defizit, 6 Ratten mit mittlerem motorischen Defizit und weitere 6 Ratten ohne Nachweis einer signifikanten motorischen Einschränkung. Da die ipsi- und kontralateralen Hemisphären wenig Unterschiede gezeigt hatten (siehe oben), wurde für die weitere Auswertung der oszillatorischen Aktivität die ipsi- und kontralaterale Seite zusammengefasst.

4.4.3. Korrelation des motorischen Defizits lädierter Ratten zur oszillatorischen Aktivität

Nach Bewertung der funktionellen Läsion durch den Zylindertest wurde nun der Frage nachgegangen, ob es eine Korrelation zwischen dem motorischen Defizit der 6-OHDA-lädierten Ratten und der veränderten oszillatorischen Aktivität, insbesondere zur erhöhten Beta-Oszillation, erkennbar ist. Hierfür wurde die oszillatorische Aktivität der nach ihrem motorischen Defizit gruppierten Tiere in ihrer jeweiligen Kohorte untersucht und mit naiven Ratten und untereinander verglichen.

4.4.3.1. Korrelation des schwachen motorischen Defizits zur oszillatorischen Aktivität

Zunächst wurden die Hirnschnitte der Ratten mit schwachem motorischen Defizit mit den Hirnschnitten der naiven Ratten verglichen (siehe Abbildung 12). Von den 96 Hirnschnitten der 6 Ratten mit schwachem motorischen Defizit zeigten 43 Hirnschnitte beider Hemisphären geordnete oszillatorische Aktivität (Responder, 44,8 %), wobei es sich ausschließlich um kontinuierliche Oszillationen handelte. Von diesen Oszillationen waren 26 (60,5 %) singuläre und 17 (39,5 %) multiple. 18 (69 %) singuläre Oszillationen lagen im niederfrequenten Frequenzspektrum, 4 (15,4 %) im Beta- und 4 (15,4 %) im Gamma-Frequenzbereich.

Abb. 12

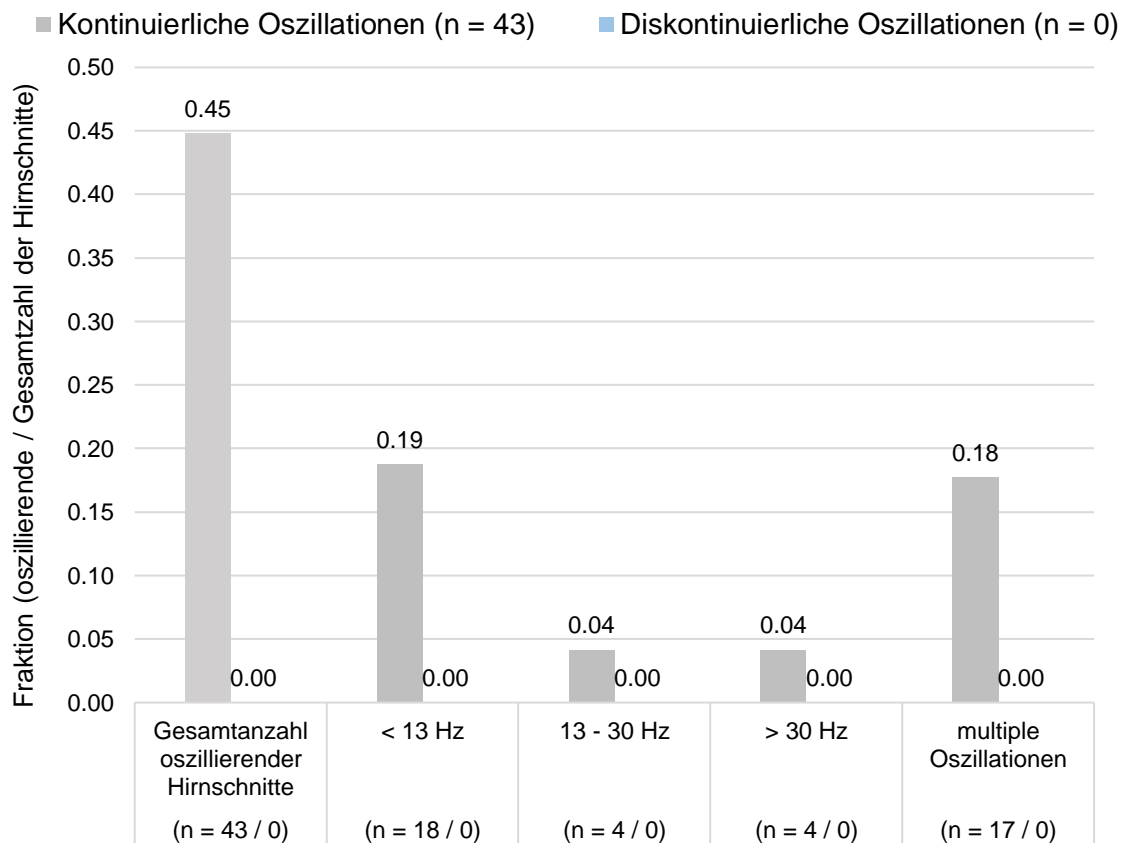


Abbildung 12: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte (Responder, n = 43) 6-OHDA-lädiertes Ratten mit schwachem motorischen Defizit und Verteilung auf die jeweiligen Frequenzbänder als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96).

Dargestellt ist Anzahl oszillierender Hirnschnitte der 6-OHDA-lädierten Ratten mit schwachem motorischen Defizit als Fraktion der Responder (n = 43) zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96). Es traten lediglich kontinuierliche Oszillationen auf, diskontinuierliche Oszillationen konnten nicht beobachtet werden. Unterteilt in die jeweiligen Frequenzbänder „Niederfrequent“ (< 13 Hz) „Beta“ (13 – 30 Hz) und Gamma (> 30 Hz) zeigte sich eine signifikante Zunahme der kontinuierlichen Oszillationen bei gleichzeitig signifikantem Rückgang der diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,011$). Kontinuierliche Beta-Oszillation waren gegenüber naiven Ratten nur tendenziell erhöht ($p = 0,364$).

Im Vergleich zu den naiven Ratten zeigten sich keine signifikant erhöhten Beta-Oszillationen, diese waren lediglich tendenziell erhöht ($p = 0,364$). Eine signifikante Zunahme der kontinuierlichen Oszillationen bei gleichzeitig signifikantem Rückgang der diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,011$) konnte jedoch beobachtet werden, ebenso ein tendenzieller Rückgang der Oszillationswahrscheinlichkeit aller Hirnschnitte gegenüber naiven Ratten von 55,0 % auf 44,8 % ($p = 0,226$). Gamma-Oszillationen waren nicht erhöht ($p = 0,877$). Weder niederfrequente Oszillationen ($p = 1,000$) noch multiple Oszillationen ($p = 1,000$) waren im Vergleich zu den naiven Ratten signifikant verändert. Unter den diskontinuierlichen Oszillationen traten zwischen niederfrequenten ($p = 1,000$),

Beta- ($p = 1,000$) und Gamma- ($p = 1,000$) Oszillationen keine signifikanten Unterschiede auf (siehe Abbildung 12).

4.4.3.2. Korrelation des mittleren motorischen Defizits zur oszillatorische Aktivität

Anschließend wurden die Ratten mit mittlerem motorischen Defizit hinsichtlich ihrer oszillatorischen Aktivität untersucht und mit naiven Ratten und mit Ratten mit schwachem motorischen Defizit verglichen (siehe Abbildung 13).

Abb. 13

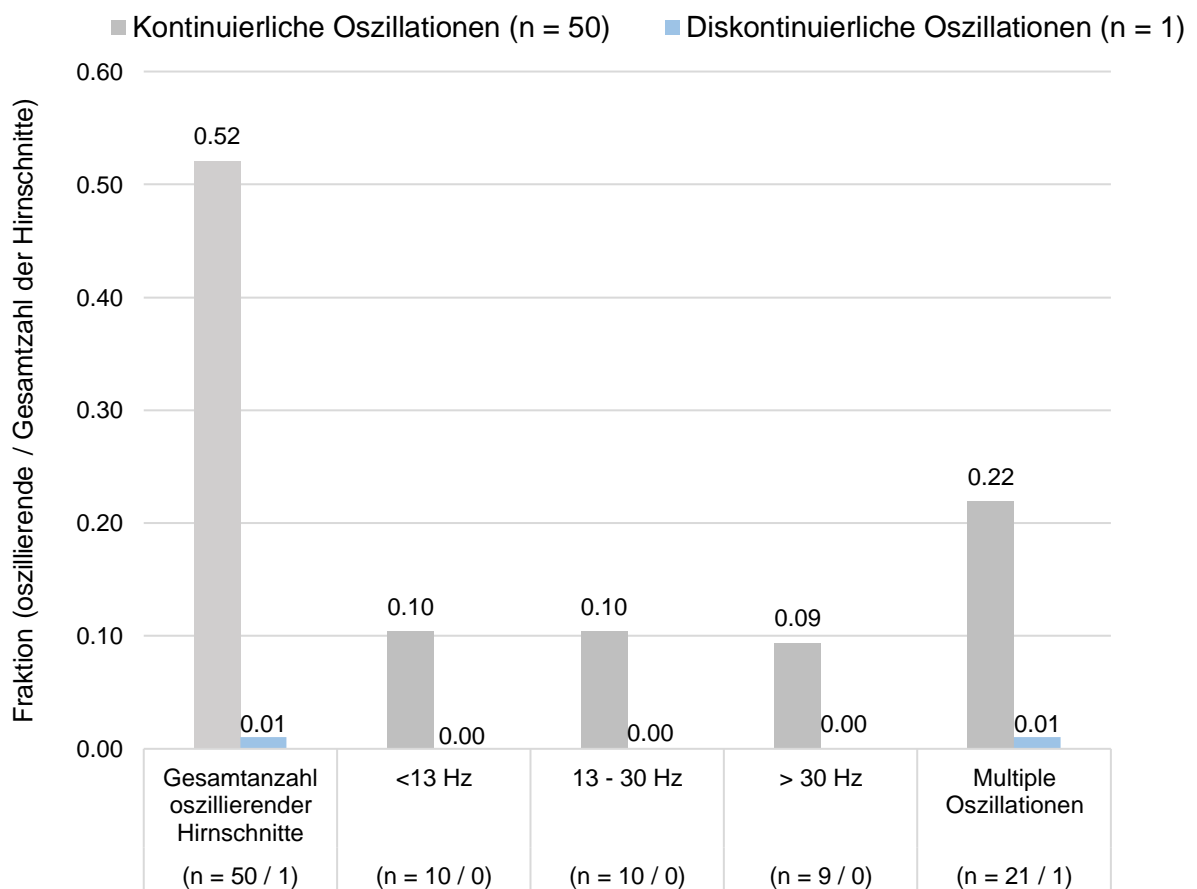


Abbildung 13: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte der 6-OHDA-lädierten Ratte mit mittlerem motorischen Defizit (Responder, $n = 51$) als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte ($n = 96$).

Es wurde zwischen kontinuierlichen (hellgrau dargestellt) und diskontinuierlichen (blau dargestellt) Oszillationen unterschieden. Die statistische Bezugsgrößen für die Analyse der Hirnschnitte mit niederfrequenten, Beta- und Gamma-Oszillationen bezog sich auf die Kohorte „kontinuierliche Oszillationen“ bzw. „diskontinuierliche Oszillationen“. Die 6-OHDA-lädierten Ratten mit mittlerem motorischen Defizit zeigten eine signifikante Erhöhung der Beta-Oszillationen ($p = 0,013$) und eine signifikante Zunahme kontinuierlicher Oszillationen ($p = 0,022$) gegenüber naiven Ratten.

Die Ratten mit mittlerem motorischen Defizit zeigten 51 Responder (53,1 %) von 96

inkubierten Hirnschnitten. 50 (98,0%) Hirnschnitte zeigten kontinuierliche Oszillationen, 21 (42,0 %) davon multiple, und nur 1 (2,0 %) Hirnschnitt zeigte eine diskontinuierliche Oszillation, die als eine von mehreren Oszillationen im Hirnschnitt auftrat und definitionsgemäß eine multiple diskontinuierliche Oszillation darstellte. Von den 29 (58,0 %) singulären kontinuierlichen Oszillationen waren 10 (34,5 %) im niederfrequenten, 10 (34,5 %) im Beta- und 9 (31,0 %) im Gamma-Frequenzspektrum angesiedelt.

Im Vergleich zu den naiven Ratten zeigten die Ratten mit mittlerem motorischen Defizit eine signifikante Erhöhung der Beta-Oszillationen ($p = 0,013$). Die kontinuierlichen Oszillationen nahmen signifikant zu bei gleichzeitiger signifikanter Abnahme der diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,022$). Es konnte eine tendenzielle Abnahme der kontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen ($p = 0,261$) beobachtet werden. Die Oszillationswahrscheinlichkeit der Ratten mit mittlerem motorischen Defizit im Vergleich zu naiven Ratten war gleichbleibend und zeigte keinen signifikanten Unterschied ($p = 1,000$). Auch die übrigen Werte lieferten keine signifikanten Unterschiede. Kontinuierliche niederfrequente ($p = 1,000$), Gamma- ($p = 1,000$) und multiple Oszillationen ($p = 1,000$) traten annähernd gleich häufig auf. So auch bei den diskontinuierlichen Oszillationen: sowohl niederfrequente ($p = 1,000$), als auch Beta- ($p = 1,000$), Gamma- ($p = 1,000$) und multiple Oszillationen ($p = 1,000$) unterschieden sich nicht voneinander (siehe Abbildung 13).

Im Vergleich zu den Ratten mit schwachem motorischen Defizit konnte bei den Ratten mit mittlerem motorischen Defizit eine tendenzielle Abnahme der kontinuierlichen niederfrequenten Oszillationen beobachtet werden ($p = 0,076$). Die Anzahl der kontinuierlichen insgesamt ($p = 1,000$) als auch die Anzahl der diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 1,000$) blieben konstant; so gab es auch keine Unterschiede in den Frequenzspektren Beta ($p = 0,733$), Gamma ($p = 1,000$) und multiple Oszillationen ($p = 1,000$). Die diskontinuierlichen Oszillationen waren ebenfalls in allen Frequenzen ohne signifikanten Unterschied (p (Niederfrequent, Beta und Gamma) = 1,000). Ein tendenzieller Anstieg in der Oszillationswahrscheinlichkeit der Hirnschnitte mit mittlerem motorischen Defizit stellte sich als nicht signifikant dar ($p = 0,312$).

4.4.3.3. Korrelation des starken motorischen Defizits zur oszillatorische Aktivität

Es wurden daraufhin die Hirnschnitte der Ratten mit starkem motorischen Defizit untersucht und anschließend mit den naiven Ratten als auch mit den Ratten mit

schwachem und mittlerem motorischen Defizit verglichen (siehe Abbildung 14).

Die 96 Hirnschnitte beider Hemisphären der Ratten mit starkem motorischen Defizit zeigten 40 (41,7 %) Responder, wovon 23 (57,5 %) Hirnschnitte mit kontinuierlichen und 17 (42,5 %) mit diskontinuierlichen Oszillationen auf die Applikation der Pharmaka reagierten. Von den 23 Hirnschnitten mit kontinuierlichen Oszillationen zeigten 13 (56,5 %) singuläre und 10 (43,5 %) multiple Oszillationen. Die singulären Oszillationen konnten in 7 (53,8 %) niederfrequente, 3 (23,1 %) Beta- und 3 (23,1 %) Gamma- Oszillationen unterteilt werden. Die diskontinuierlichen Oszillationen zeigten 13 (76,5 %) Oszillationen im niederfrequenten Spektrum und 1 (5,9 %) Oszillation im Beta-Frequenzbereich. 3 (17,6 %) diskontinuierliche Oszillationen traten als multiple Oszillationen auf.

Im Vergleich zu naiven Ratten konnte, anders als erwartet, kein signifikanter Anstieg der Beta-Oszillationen beobachtet werden. Eine Tendenz zu einem erhöhten Beta ($p = 0,163$) war jedoch auszumachen. Im Gegensatz zu der oben beschriebenen Beobachtung bei Ratten mit schwachem motorischen Defizit zeigte sich bei den Ratten mit starkem motorischen Defizit im Vergleich zu den naiven Ratten ein signifikanter Anstieg diskontinuierlicher Oszillationen bei gleichzeitigem signifikantem Rückgang der kontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,036$). Die diskontinuierlichen Oszillationen im niederfrequenten Spektrum ($p = 0,084$) waren gegenüber naiven Ratten tendenziell erhöht. Es gab keine erhöhten Gamma-Oszillationen ($p = 1,000$). Tendenziell zeigte sich eine abnehmende Oszillationswahrscheinlichkeit von 55,0 % auf 41,7 % ($p = 0,096$).

In allen anderen Frequenzbändern der singulären Oszillationen traten keine signifikanten Unterschiede auf (p (Niederfrequent) = 1,000; p (multiple) = 1,000). Bei den diskontinuierlichen Oszillationen waren sowohl die Beta-Oszillationen ($p = 0,694$), Gamma- ($p = 1,000$) als auch die multiplen Oszillationen ($p = 0,313$) ohne Signifikanzen. Als die Hirnschnitte der Ratten mit schwachem und stark ausgeprägtem motorischen Defizit miteinander verglichen wurden, zeigte sich mit dem stärker ausgeprägtem motorischen Defizit ein signifikanter Anstieg diskontinuierlicher Oszillationen bei gleichzeitigem signifikantem Rückgang der kontinuierlichen Oszillationen ($p < 0,001$). Die einzelnen Frequenzbänder lieferten hingegen keine signifikanten Unterschiede: weder im Niederfrequenten- ($p = 0,912$), noch im Beta- ($p = 1,000$), Gamma- ($p = 1,000$) oder multiplen ($p = 1,000$) Frequenzband. Ebenso wenig gab es Unterschiede in den einzelnen Frequenzbändern der diskontinuierlichen Oszillationen: Weder im niederfrequenten ($p = 1,000$), Beta- ($p = 1,000$), Gamma- ($p = 1,000$) oder multiplen ($p = 1,000$) Spektrum.

Die oszillatorische Aktivität der Hirnschnitte in beiden operierten Gruppen ($p = 0,771$) war

annähernd gleich (siehe Abbildung 14).

Abb. 14

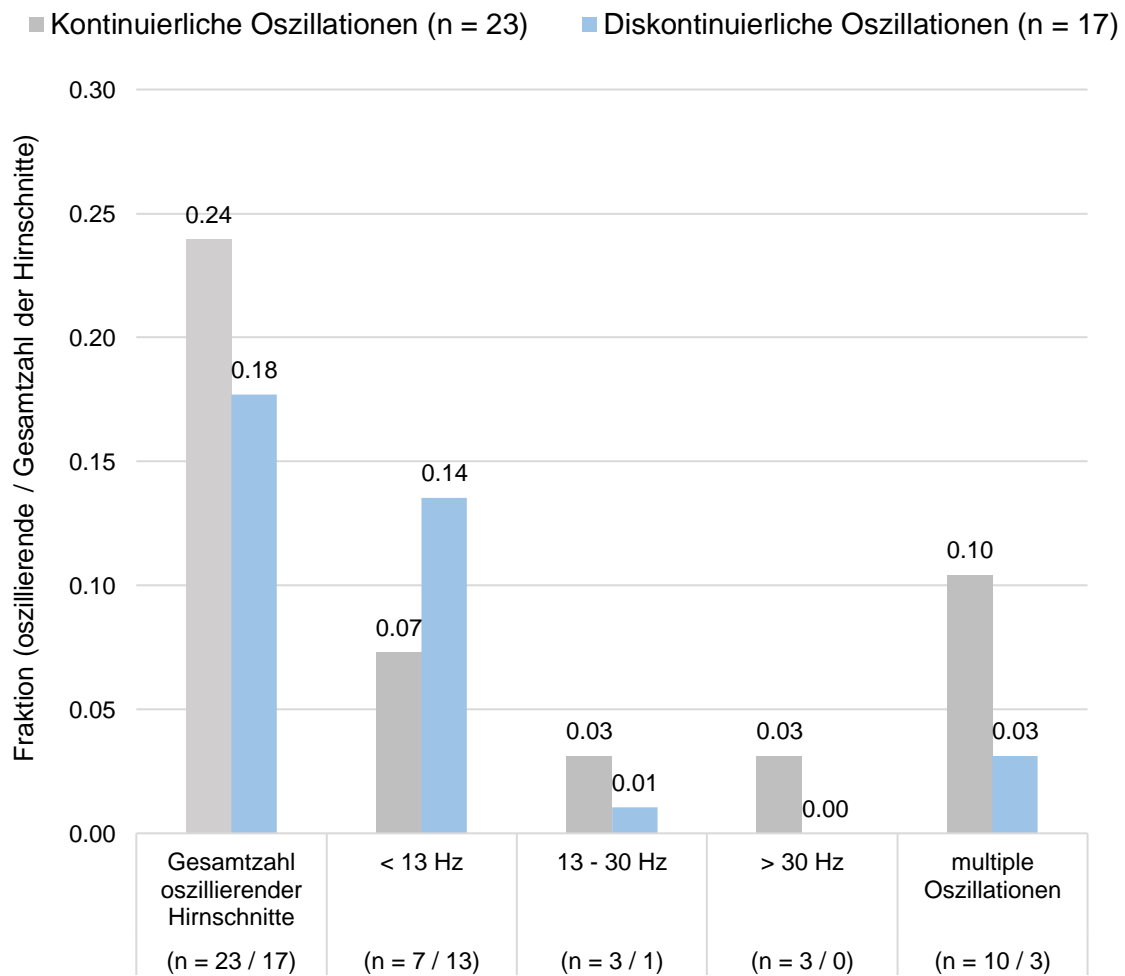


Abbildung 14: Anzahl der oszillierenden Hirnschnitte 6-OHDA-lädiertes Ratten mit starkem motorischen Defizit (Responder, n = 40) als Fraktion zur Gesamtzahl der inkubierten Hirnschnitte (n = 96).

Es traten kontinuierliche (hellgrau) und diskontinuierliche (blau dargestellte) Oszillationen auf. Die statistische Bezugsgrößen für die Analyse der Hirnschnitte mit niederfrequenten, Beta- und Gamma-Oszillationen bezog sich auf die Kohorte „kontinuierliche Oszillationen“ bzw. „diskontinuierliche Oszillationen“. Dabei zeigte sich gegenüber naiven Ratten ein signifikanter Anstieg der diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,036$), tendenziell erhöhte diskontinuierliche niederfrequente Oszillationen ($p = 0,084$) und tendenziell erhöhte kontinuierliche Beta-Oszillationen ($p = 0,163$) der 6-OHDA-lädierten Ratten mit starkem motorischen Defizit.

Gegenüber den Ratten mit mittlerem motorischen Defizit zeigten die Ratten mit starkem motorischen Defizit eine signifikante Abnahme der kontinuierlichen Oszillationen mit einer gleichzeitig signifikanten Zunahme der diskontinuierlichen Oszillationen ($p < 0,001$).

Weder Beta- ($p = 0,743$) noch Gamma- Oszillationen ($p = 0,741$) zeigten bei Zunahme des motorischen Defizits einen signifikanten Zuwachs. Auch in allen anderen

Frequenzbändern zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (p (kontinuierlich Niederfrequent) = 0,374; p (kontinuierlich Multiple) = 1,000), p (diskontinuierlich Niederfrequent) = 0,278, p (diskontinuierlich Beta) = 1,000; p (diskontinuierlich Gamma) = 1,000, p (diskontinuierlich Multiple) = 0,222). Insgesamt zeigte sich bei zunehmendem motorischen Defizit ein tendenzieller Rückgang der Oszillationswahrscheinlichkeit der Hirnschnitte mit starkem motorischen Defizit gegenüber den Hirnschnitten mit mittlerem Defizit, ohne jedoch signifikant zu sein (p = 0,148).

4.4.4. Zusammenfassung der Korrelation des unterschiedlichen motorischen Defizits 6-OHDA-lädierter Ratten zur veränderten oszillatorischen Aktivität

Bei unterschiedlichem motorischen Defizit 6-OHDA-lädierter Ratten zeigten sich Unterschiede in der oszillatorischen Aktivität. Im Allgemeinen zeigten akute Hirnschnitte von Tieren mit geringem motorischen Defizit eine Zunahme der kontinuierlichen Oszillationen gegenüber naiven Ratten, während sich dieser Trend bei Ratten mit starkem motorischen Defizit umkehrte und unter das Niveau der naiven Ratten zurückfiel. Innerhalb der kontinuierlichen Oszillationen wurde der Zusammenhang des motorischen Defizits zur erhöhten Beta-Aktivität genauer analysiert. In allen Gruppen mit unterschiedlich ausgeprägtem motorischen Defizit konnte ein qualifizierter Anstieg von Beta-Oszillationen, die bei naiven Ratten nicht vorkamen, beobachtet werden. Der Anstieg der Beta-Oszillationen gegenüber naiven Ratten war allerdings nur bei Ratten mit mittlerem motorischen Defizit signifikant, innerhalb der Subgruppen konnte kein signifikanter Unterschied herausgearbeitet werden.

Gamma-Oszillationen zeigten in absoluten Zahlen bei den lädierten Ratten einen ähnlichen Trend wie Beta-Oszillationen, der jedoch im Vergleich zu naiven Ratten und innerhalb der Subgruppen nicht signifikant war, da es bei naiven Ratten, anders als im Betafrequenzband, zu Gamma-Oszillationen kam.

5. Diskussion

5.1. Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Die initiale Frage war, ob der M1 der primäre Generator pathologischer Oszillationen unter Morbus Parkinson sein könnte.

Daher haben wir untersucht, ob der M1 *in vitro* nach Applikation des Glutamat-Rezeptor-Agonisten Kainat (800 nM) und des muskarinischen Rezeptor-Agonisten Carbachol (5 μ M) in Schicht V autonome Oszillationen generieren kann. Es gelang sowohl in naiven als auch in 6-OHDA-lädierten Ratten Oszillationen zu erzeugen, die eine hohe Variabilität aufwiesen und sich über das gesamte Frequenzspektrum verteilten. Dabei zeigten die naiven und lädierten Hirnschnitte eine annähernd gleich gute Oszillationswahrscheinlichkeit.

Anschließend wurde der Frage nachgegangen, ob der Untergang dopaminerger Neurone der SNpc und das Auftreten motorischer Defizite die oszillatorischen Eigenschaften des M1 verändern. Insbesondere stellte sich die Frage, ob es zu erhöhter Beta- oder erniedrigter Gamma-Aktivität kommt.

In der Auswertung aller Hirnschnitte 6-OHDA-lädierter Ratten zeigte sich eine erhöhte kontinuierliche Beta-Oszillation im Vergleich zu naiven Ratten. Dieser Effekt war nicht auf die ipsilaterale Hemisphäre beschränkt und auch kontralateral reproduzierbar.

Da auf der allgemeinen Ebene eine Veränderung gesehen wurde, wurde im zweiten Schritt untersucht, ob eine Beziehung zwischen dem Ausmaß des motorischen Defizits und der oszillatorischen Veränderung besteht. Da die ipsi- und kontralateralen Hemisphären wenig Unterschiede gezeigt haben, wurden sie zusammengefasst.

Nach Auswertung des postoperativen Zylinder-Tests wurden die 6-OHDA-lädierten Ratten in 3 Untergruppen mit unterschiedlichem motorischen Defizit zusammengefasst.

Die Hypothese, dass eine Korrelation zwischen dem unterschiedlichen motorischen Defizit und der veränderten oszillatorischen Aktivität besteht, bestätigte sich in der weiteren Analyse. Es kam nur bei Ratten mit mittlerem motorischen Defizit zu einem signifikanten Anstieg der Beta-Oszillationen. Bei Ratten mit einem schwachen motorischen Defizit zeigte sich zunächst gegenüber naiven Ratten signifikant steigende kontinuierliche Oszillationen. Kam es hingegen zu einem stark ausgeprägten motorischen Defizit bei vollständiger Hemiläsion der Ratten, war der Effekt erhöhter Beta-Oszillationen geringer und es kam zu signifikant vermehrt auftretenden diskontinuierlichen Oszillationen (siehe

Abbildung 15). Oszillatorische Veränderungen im Gamma-Frequenzband traten nicht auf. Insgesamt legen die hier vorgefundenen Daten nahe, dass die Hypothese, der M1 könnte der primäre Generator veränderter Oszillationen unter Dopamin-Depletion sein, insbesondere im Hinblick auf die erhöhten kontinuierlichen Beta-Oszillationen zutreffend ist.

Abb. 15

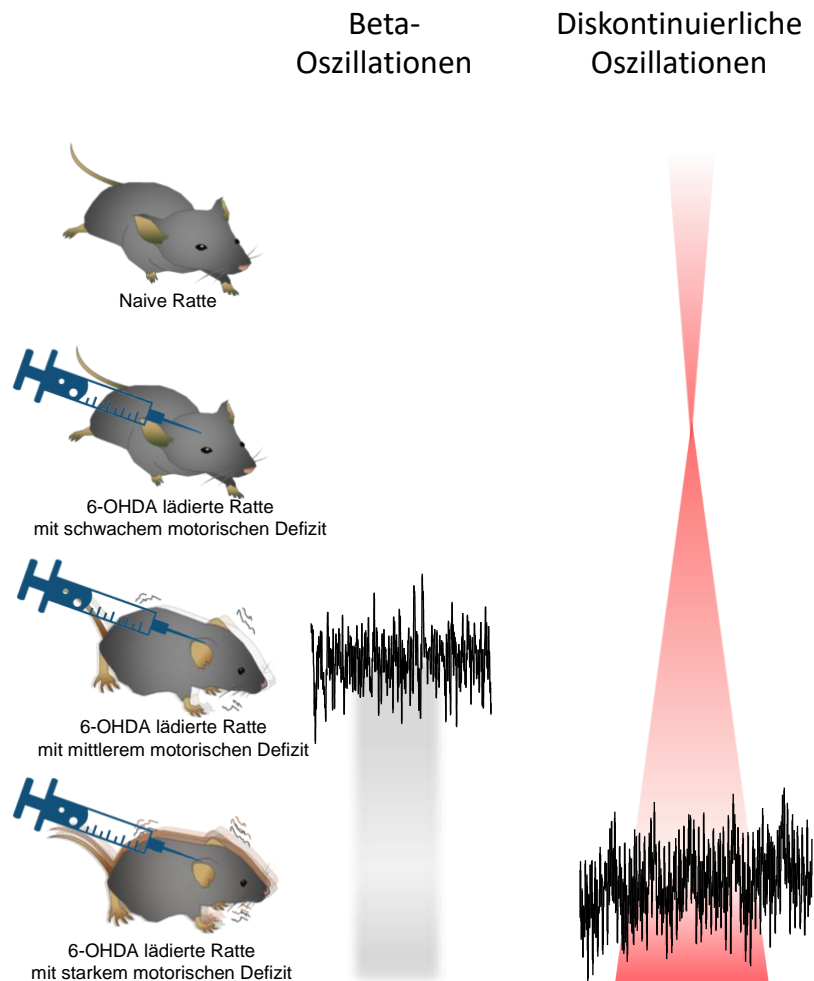


Abbildung 15: Darstellung der Korrelation zwischen dem unterschiedlichen motorischen Defizit der 6-OHDA-Läsion und der veränderten oszillatorischen Aktivität.

Dargestellt ist eine naive Ratte (oben links) und jeweils eine Ratte mit schwachem, mittlerem und starkem motorischen Defizit nach 6-OHDA-Läsion (links darunter). Rechts daneben weist die Abbildung auf die Anzahl an Beta-Oszillationen hin, die bei Ratten mit mittlerem motorischen Defizit mit einer signifikanten Erhöhung der Beta-Oszillationen ($p = 0,013$) gegenüber naiven Ratten am stärksten ausgeprägt war. Die rechte Seite der Abbildung bildet die Anzahl der diskontinuierlichen Oszillationen ab, die mit steigendem motorischen Defizit zunahm (rot dargestellt). Bei einem schwachem motorischen Defizit kam es zunächst zu signifikant verminderten diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,011$) gegenüber naiven Ratten. Bei stark ausgeprägtem motorischen Defizit der Ratten, war der Effekt erhöhter Beta-Oszillationen geringer ($p = 0,163$) und es kam zu signifikant vermehrt auftretenden diskontinuierlichen Oszillationen ($p = 0,036$) gegenüber naiven Ratten.

5.2. Interpretation der Ergebnisse und Vergleich mit anderen Studien

Es konnte gezeigt werden, dass der M1 *in vitro* Oszillationen im niederfrequenten, Beta- und Gamma-Frequenzband generieren kann. Diese oszillatorische Kompetenz bleibt unter einer 6-OHDA-Läsion im Hemiparkinson-Modell der Ratte und der damit einhergehenden Dopamin-Depletion erhalten.

Damit sind die Beobachtungen an *in vitro* Hirnschnitten von naiven Ratten übereinstimmend mit vorangegangene Studien von Yamawaki (94), Lacey (99) und Johnson (111), die bereits zeigten, dass die Co-Applikation des Glutamat-Rezeptor-Agonisten Kainat und des muskarinischen Rezeptor-Agonisten Carbachol stabile, lang andauernde Beta- (Yamawaki, Lacey), Theta- und Gamma-Oszillationen (Johnson) in M1 Schicht V hervorruft. In dieser Arbeit ist es erstmals gelungen, Oszillationen *in vitro* in M1 Schicht V der 6-OHDA-lädierten Ratte zu generieren. Damit konnte das Hemiparkinson-Modell der Ratte als Modell für veränderte Oszillationen *in vitro* etabliert werden.

Die hier erhobenen Daten zeigen eine erhöhte kontinuierliche oszillatorische Aktivität im Beta-Frequenzbereich in Schicht V des M1 der 6-OHDA-lädierten Ratte.

Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen anderer Studien, die gezeigt haben, dass es im 6-OHDA-Modell der Ratte zu einem signifikanten Anstieg von Beta-Oszillationen in M1 kommt. *In vivo* Untersuchungen von Brazhnik (66), Delaville (65) und anderen (112, 113) konnten am Hemiparkinson-Modell der Ratte ein vermehrtes Auftreten von Beta-Oszillationen in M1 feststellen. Nach einer unilateralen 6-OHDA-Läsion kam es im Vergleich zu einer naiven Kontrollgruppe während des Laufens in einer Tretmühle in allen Studien übereinstimmend zu einer signifikant erhöhten Beta-Aktivität in M1 im Bereich von 25 – 40 Hz mit einer maximalen Frequenz von 32.8 ± 0.5 Hz (Delaville) bzw. $33,4 \pm 0,8$ Hz (Brazhnik).

In dieser Arbeit wurde die veränderte oszillatorische Aktivität an isolierten Hirnschnitten beobachtet und damit gezeigt, dass erhöhte Beta-Oszillationen in M1 autonom generiert werden. Es gibt weitere Hinweise anderer Studien, dass der M1 als Rhythmusgeber des kortiko-striatalen Netzwerkes fungiert und damit der Ursprung der veränderten Oszillationen in M1 liegt. So haben Sharott et al.(67) an naiven Ratten mittels *directed transfer function* (DTF) eine signifikante Kohärenz zwischen der Beta-Aktivität des Kortex und der Basalganglien beobachtet. Die Richtung der synchronisierten oszillatorischen Aktivität zwischen Basalganglien und Kortex gehe dabei vorherrschend vom Kortex aus.

Brazhnik benutzte *spike timing* am 6-OHDA-Modell der Ratte, um zu zeigen, dass der M1 als Frequenzgeber der Beta-Oszillationen in den SNr fungiert. Kohärente Oszillationen zwischen M1 und SNr traten während der Bewegung der Ratte nur nach Dopamin-Depletion auf. Hingegen führte eine kortikale Ablation zum vollständigen Verschwinden der STN-Oszillationen in naiven und 6-OHDA lädierten Ratten (Magill (75)). Diese Studien weisen damit auf einen kohärenten Zusammenhang der Oszillationen des M1 und der Basalganglien hin, in denen der M1 als Rhythmusgeber fungieren könnte.

Die vorliegenden Beobachtungen lassen vermuten, dass es sich bei den veränderten Oszillationen um eine systemische Regulation handelt, da die ipsi- und kontralaterale Hemisphäre keine wesentlichen Unterschiede zeigen.

Dieses Ergebnis ist zu vereinbaren mit der Beobachtung, dass es unter Dopaminmangel zu einem systemischen Umbau von neuronalen Netzwerken kommt (13). Gleichzeitig steht diese Beobachtung teilweise im Widerspruch mit einem *in vivo*-Versuch von Brazhnik (66) am Hemiparkinson-Modell der Ratte, wo ebenfalls ein erhöhtes Auftreten von Beta-Oszillationen in M1 gefunden wurde, dieses jedoch nur ipsilateral. Kontralateral konnten keine erhöhten Beta-Oszillationen beobachtet werden. Während das Auftreten der Pathologien *in vivo* und im Verhaltenstest seitenspezifisch zu sein scheint, deuten die hier vorgefundenen *in vitro* Beobachtungen darauf hin, dass die von M1 generierten Beta-Oszillationen über den M1 hinaus systemisch in das Basalgangliennetzwerk eingebunden werden und es funktionsgebunden zur Erhöhung der Beta-Oszillationen kommt. Dies ist zu vereinbaren mit der Beobachtung von Brazhnik (66), als auch der von Dellaville (65), die erhöhte Beta-Oszillationen nur während des Laufens in einer Tretmühle beobachten konnten.

Die signifikant erhöhten Beta-Oszillationen traten in den vorliegenden Untersuchungen bei Ratten mit mittlerem motorischen Defizit und tendenziell auch bei Ratten mit starkem motorischen Defizit auf. Ratten mit schwachem motorischen Defizit zeigten keinen signifikanten Anstieg der Beta-Oszillationen.

Das Ausbleiben der signifikant erhöhten Beta-Oszillationen 6-OHDA-lädierten Ratten mit schwachem motorischen Defizit könnte auf eine unvollständige Läsion und auf einen unvollständigen Untergang dopaminerger Zellen hinweisen.

Übereinstimmend mit Untersuchungen von Blandini, Armentero (60) und Tillerson (61) korreliert der Grad des Zelluntergangs mit dem motorischen Defizit im Verhaltenstest. Dabei würden die motorische Symptome der 6-OHDA-lädierten Ratten auf eine nigro-striatalen Läsion von 80% der dopaminergen Zellen hinweisen, die sich in Verhaltenstest

reproduzieren lassen (61, 62). In weiterer Übereinstimmung mit Untersuchungen von Zigmond und Stricker (114) wurde beobachtet, dass bei 6-OHDA-lädierten Tieren ein Untergang dopaminerger Neurone von über 95% häufig neurologische Beeinträchtigungen nach sich führt, hingegen das motorische Defizit bei Tieren, die nur einen geringfügig geringeren Untergang dopaminerger Neurone erlitten hatten, fehlt.

Außerdem entsprechen die vorliegenden Beobachtungen einer Studie von Dupre et al. (112), die eine Unterteilung der 6-OHDA lädierten Ratten in vollständig lädiert, teilweise lädiert und in eine naive Kontrollgruppe vorgenommen hatte. Während die Beta-Aktivität (25 – 35 Hz) der vollständig lädierten Ratten während des Laufens in einer Tretmühle gegenüber der naiven und der teilweise lädierten Ratte signifikant erhöht war, konnte kein signifikanter Unterschied der oszillatorischen Aktivität zwischen der teilweise lädierten und der naiven Versuchsgruppe festgestellt werden. Der unzureichende Untergang dopaminerger Neurone in der SNpc könnte demnach die Ursache für einen fehlenden Anstieg von Beta-Oszillationen bei den 6-OHDA-lädierten Ratten mit schwachem motorischen Defizit sein.

Es konnten neben der Tendenz zu erhöhten Beta-Oszillationen bei schwerer Läsion direkte maladaptive Netzwerkoszillationen beobachtet werden. Die Netzwerkaktivität war dabei so stark geschädigt, dass der oszillatorische Effekt insgesamt abnahm und es zum vermehrten Auftreten diskontinuierlicher Oszillationen kam. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass es bei starkem motorischen Defizit und bei einem vollständigen Untergang dopaminerger Zellen neben den erhöhten Beta-Oszillationen zu weiteren veränderten Netzwerkeffekten im Motorkortex kommt. Der fehlende signifikante Anstieg der Beta-Oszillationen bei den 6-OHDA-lädierten Ratten mit starkem motorischen Defizit könnte dabei, während eine hohe Variabilität der Oszillationen bei geringer Fallzahl in den einzelnen oszillatorischen Untergruppen auftrat, durch die maladaptiven Netzwerkoszillationen als gegenläufiger Effekt das Auftreten kontinuierlicher Beta-Oszillationen statistisch überlagert haben (siehe Abbildung 15).

5.3. Limitationen

In der vorliegenden Studie ist es gelungen, einzelne signifikante Effekte zu finden. Durch die hohe Variabilität der Oszillationen und der großen Anzahl an Subgruppen zeigte die Quantität der erhobenen Daten jedoch keine ausreichende Basis für eine kritische statistische Analyse. Hier müsste eine deutliche höhere Anzahl an Tieren untersucht

werden. Zusätzlich trugen die experimentellen Bedingungen zu einer weiteren Heterogenität der Ergebnisse bei: zum einen gab es durch die Präparation eine hohe Variabilität sowohl der naiven als auch 6-OHDA-lädierten akuten Hirnschnitte. Zusätzlich kam es durch die 6-OHDA-Läsion und der daraus resultierenden unterschiedlichen motorischen Defizite zu weiteren Variablen, die Einfluss auf das oszillatorische Verhalten der Hirnschnitte hatten. Hier müsste die 6-OHDA-Läsion weiter standardisiert werden. Aus den vorliegenden Untersuchungen lassen sich daher im Sinne einer explorativen Statistik qualifizierte Hypothesen ableiten, die durch weitere Untersuchungen bestätigt werden müssten.

5.4. Schlussfolgerung

Das Hemiparkinson-Modell der Ratte konnte durch diese Studien erfolgreich als Tiermodell für *in vitro*-Studien am primärmotorischen Kortex etabliert werden. Es konnten qualifizierte Hypothesen aufgestellt werden, die auf den M1 als autonomen Generator von veränderten Oszillationen, insbesondere einer erhöhten Beta-Oszillation unter einer 6-OHDA-Läsion, hinweisen. Der M1 könnte demnach eine führende Rolle in den veränderten Oszillationen unter Morbus Parkinson innehaben. Die oszillatorischen Veränderungen deuten auf eine systemische Netzwerkveränderung hin. Darüber hinaus wurden .

6. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
6-OHDA	6-Hydroxydopamin
aCSF	artefizielle Cerebro-Spinale Flüssigkeit
bzw.	beziehungsweise
Car	Carbachol
DAT	Dopamin-Transporter
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potenzial
GABA	γ -Aminobuttersäure
GPe	Globus pallidus externus
GPI	Globus pallidus internus
HCN-Kanäle	Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels
Hz	Hertz
IB	Intrinsic bursting
IPS	Idiopathisches Morbus Parkinson Syndrom
KA	Kainat
L-3,4-Dihydroxyphenylalanin	Levodopa
LaGeSo	Landesamt für Gesundheit und Soziales
LFP	Lokales Feldpotenzial
M1	Primärmotorischer Kortex
MFB	Medial forebrain bundle
min	Minute
Ms	Millisekunde
MSN	medium-spiny neurons
N	Größe der Grundgesamtheit
NMDA-Rezeptoren	N-Methyl-D-Aspartat - Rezeptoren
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
pH	pH-Wert, ein Maß für die Aktivität von Protonen einer wässrigen Lösung (Säuregrad)
Q-Faktor	Quality-Faktor
RS	Regular spiking
s	Sekunde
SEM	Standard Error of the Mean, englisch für Standardfehler
SNpc	Substantia nigra pars compacta
SNpr	Substantia nigra pars reticulata
SNr	Substantia nigra reticulata
STN	Nucleus subthalamicus
TH	Tyrosinhydroxylase
z.B.	zum Beispiel
μ M	Mikromol
μ V	Mikrovolt

7. Schriftenverzeichnis

1. Hayes MT. Parkinson's Disease and Parkinsonism. *Am J Med.* 2019;132(7):802-7.
2. AWMF, Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN): Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie: Idiopathisches Parkinson-Syndrom, 2016. Langversion: http://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2016/PDFs_Download/030010_LL_langfassung_ips_2016.pdf (last accessed on 23 March 2021)
3. Bowes SG, Charlett A, Dobbs RJ, Lubel DD, Mehta R, O'Neill CJ, Weller C, Hughes J, Dobbs SM. Gait in relation to ageing and idiopathic parkinsonism. *Scand J Rehabil Med.* 1992;24(4):181-6.
4. Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci.* 1973;20(4):415-55.
5. Urban P, Falkenburger B, Jost WH, Ransmayr G, Riederer P, Winkler C. [Structure and efferences of the substantia nigra pars compacta in Parkinson's disease]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2020;88(9):591-9.
6. Young CB, Reddy V, Sonne J. Neuroanatomy, Basal Ganglia. *StatPearls. Treasure Island (FL)2021.*
7. Hornykiewicz O, Kish SJ. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. *Adv Neurol.* 1987;45:19-34.
8. Palermo G, Ceravolo R. Molecular Imaging of the Dopamine Transporter. *Cells.* 2019;8(8).
9. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annual review of neuroscience.* 1986;9:357-81.
10. Alexander GE, Crutcher MD. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in neurosciences.* 1990;13(7):266-71.
11. Smith Y, Bevan MD, Shink E, Bolam JP. Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience.* 1998;86(2):353-87.
12. Galvan A, Devergnas A, Wichmann T. Alterations in neuronal activity in basal ganglia-thalamocortical circuits in the parkinsonian state. *Front Neuroanat.* 2015;9:5.
13. Lindenbach D, Bishop C. Critical involvement of the motor cortex in the pathophysiology and treatment of Parkinson's disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37(10 Pt 2):2737-50.
14. Nambu A, Kaneda K, Tokuno H, Takada M. Organization of corticostriatal motor inputs in monkey putamen. *Journal of neurophysiology.* 2002;88(4):1830-42.
15. Oertel WH, Nitsch C, Mugnaini E. Immunocytochemical demonstration of the GABA-ergic neurons in rat globus pallidus and nucleus entopeduncularis and their GABA-ergic innervation. *Adv Neurol.* 1984;40:91-8.
16. Smith Y, Parent A, Seguela P, Descarries L. Distribution of GABA-immunoreactive neurons in the basal ganglia of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *J Comp Neurol.* 1987;259(1):50-64.
17. Ilinsky IA, Yi H, Kultas-Ilinsky K. Mode of termination of pallidal afferents to the thalamus: a light and electron microscopic study with anterograde tracers and immunocytochemistry in *Macaca mulatta*. *J Comp Neurol.* 1997;386(4):601-12.
18. Smith Y, Parent A. Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain research.* 1988;453(1-2):353-6.
19. Bevan MD, Booth PA, Eaton SA, Bolam JP. Selective innervation of neostriatal interneurons by a subclass of neuron in the globus pallidus of the rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 1998;18(22):9438-52.
20. Sato F, Lavalley P, Levesque M, Parent A. Single-axon tracing study of neurons of the external segment of the globus pallidus in primate. *J Comp Neurol.* 2000;417(1):17-31.
21. Mallet N, Micklem BR, Henny P, Brown MT, Williams C, Bolam JP, Nakamura KC, Magill PJ. Dichotomous organization of the external globus pallidus. *Neuron.* 2012;74(6):1075-86.
22. Mastro KJ, Bouchard RS, Holt HA, Gittis AH. Transgenic mouse lines subdivide external segment of the globus pallidus (GPe) neurons and reveal distinct GPe output pathways. *The*

- Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2014;34(6):2087-99.
23. Kawaguchi Y. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 1993;13(11):4908-23.
 24. Tepper JM, Bolam JP. Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr Opin Neurobiol*. 2004;14(6):685-92.
 25. Tritsch NX, Sabatini BL. Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. *Neuron*. 2012;76(1):33-50.
 26. Surmeier DJ, Carrillo-Reid L, Bargas J. Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies. *Neuroscience*. 2011;198:3-18.
 27. Surmeier DJ, Graves SM, Shen W. Dopaminergic modulation of striatal networks in health and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurobiol*. 2014;29:109-17.
 28. Braak H, Braak E. Pathoanatomy of Parkinson's disease. *J Neurol*. 2000;247 Suppl 2:II3-10.
 29. Pollok B, Krause V, Martsch W, Wach C, Schnitzler A, Sudmeyer M. Motor-cortical oscillations in early stages of Parkinson's disease. *J Physiol*. 2012;590(13):3203-12.
 30. Eusebio A, Brown P. Synchronisation in the beta frequency-band--the bad boy of parkinsonism or an innocent bystander? *Exp Neurol*. 2009;217(1):1-3.
 31. Timmermann L, Fink GR. Pathological network activity in Parkinson's disease: from neural activity and connectivity to causality? *Brain*. 2011;134(Pt 2):332-4.
 32. Brown P. Oscillatory nature of human basal ganglia activity: relationship to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2003;18(4):357-63.
 33. Brittain JS, Brown P. Oscillations and the basal ganglia: motor control and beyond. *Neuroimage*. 2014;85 Pt 2:637-47.
 34. 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. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2001;21(3):1033-8.
 35. 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.
 36. 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. *Journal of neurophysiology*. 2006;96(6):3248-56.
 37. Silberstein P, Pogosyan A, Kuhn AA, Hotton G, Tisch S, Kupsch A, Dowsey-Limousin P, Hariz MI, Brown P. Cortico-cortical coupling in Parkinson's disease and its modulation by therapy. *Brain*. 2005;128(Pt 6):1277-91.
 38. Bergman H, Wichmann T, Karmon B, DeLong MR. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of neurophysiology*. 1994;72(2):507-20.
 39. 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. *Experimental neurology*. 2004;189(2):369-79.
 40. Kuhn AA, Kupsch A, Schneider GH, Brown P. Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *The European journal of neuroscience*. 2006;23(7):1956-60.
 41. Kuhn AA, Tsui A, Aziz T, Ray N, Brucke 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. *Experimental neurology*. 2009;215(2):380-7.
 42. 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. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*.
 43. Brown P. Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Curr Opin Neurobiol*. 2007;17(6):656-64.

44. Oswal A, Brown P, Litvak V. Synchronized neural oscillations and the pathophysiology of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol.* 2013;26(6):662-70.
45. Stein E, Bar-Gad I. beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop during parkinsonism. *Exp Neurol.* 2013;245:52-9.
46. Little S, Pogosyan A, Neal S, Zavala B, Zrinzo L, Hariz M, Foltynie T, Limousin P, Ashkan K, FitzGerald J, Green AL, Aziz TZ, Brown P. Adaptive deep brain stimulation in advanced Parkinson disease. *Ann Neurol.* 2013;74(3):449-57.
47. 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.
48. 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.
49. Murthy VN, Fetz EE. Coherent 25- to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1992;89(12):5670-4.
50. Donoghue JP, Sanes JN, Hatsopoulos NG, Gaal G. Neural discharge and local field potential oscillations in primate motor cortex during voluntary movements. *Journal of neurophysiology.* 1998;79(1):159-73.
51. Ainsworth M, Lee S, Cunningham MO, Traub RD, Kopell NJ, Whittington MA. Rates and rhythms: a synergistic view of frequency and temporal coding in neuronal networks. *Neuron.* 2012;75(4):572-83.
52. Engel AK, Fries P. Beta-band oscillations--signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol.* 2010;20(2):156-65.
53. Salmelin R, Hamalainen M, Kajola M, Hari R. Functional segregation of movement-related rhythmic activity in the human brain. *Neuroimage.* 1995;2(4):237-43.
54. 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.
55. Little S, Brown P. The functional role of beta oscillations in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders.* 2014;20 Suppl 1:S44-8.
56. Leventhal DK, Gage GJ, Schmidt R, Pettibone JR, Case AC, Berke JD. Basal ganglia beta oscillations accompany cue utilization. *Neuron.* 2012;73(3):523-36.
57. McAllister CJ, Ronnqvist KC, Stanford IM, Woodhall GL, Furlong PL, Hall SD. Oscillatory beta activity mediates neuroplastic effects of motor cortex stimulation in humans. *J Neurosci.* 2013;33(18):7919-27.
58. Schnitzler A, Gross J. Normal and pathological oscillatory communication in the brain. *Nature reviews Neuroscience.* 2005;6(4):285-96.
59. Schoffelen JM, Oostenveld R, Fries P. Neuronal coherence as a mechanism of effective corticospinal interaction. *Science.* 2005;308(5718):111-3.
60. Blandini F, Armentero MT. Animal models of Parkinson's disease. *FEBS J.* 2012;279(7):1156-66.
61. Tillerson JL, Cohen AD, Philhower J, Miller GW, Zigmond MJ, Schallert T. Forced limb-use effects on the behavioral and neurochemical effects of 6-hydroxydopamine. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 2001;21(12):4427-35.
62. 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.
63. Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol.* 2002;175(2):303-17.
64. Tronci E, Francardo V. Animal models of L-DOPA-induced dyskinesia: the 6-OHDA-lesioned rat and mouse. *J Neural Transm (Vienna).* 2018;125(8):1137-44.
65. Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz AV, Walters JR. Subthalamic nucleus activity in the awake hemiparkinsonian rat: relationships with motor and cognitive networks. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.* 2015;35(17):6918-30.

66. Brazhnik E, Cruz AV, Avila I, Wahba MI, Novikov N, Ilieva NM, McCoy AJ, Gerber C, Walters JR. State-dependent spike and local field synchronization between motor cortex and substantia nigra in hemiparkinsonian rats. *J Neurosci*. 2012;32(23):7869-80.
67. 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.
68. Avila I, Parr-Brownlie LC, Brazhnik E, Castaneda E, Bergstrom DA, Walters JR. Beta frequency synchronization in basal ganglia output during rest and walk in a hemiparkinsonian rat. *Exp Neurol*. 2010;221(2):307-19.
69. Brazhnik E, Novikov N, McCoy AJ, Cruz AV, Walters JR. Functional correlates of exaggerated oscillatory activity in basal ganglia output in hemiparkinsonian rats. *Exp Neurol*. 2014;261:563-77.
70. Moran RJ, Mallet N, Litvak V, Dolan RJ, Magill PJ, Friston KJ, Brown P. Alterations in brain connectivity underlying beta oscillations in Parkinsonism. *PLoS Comput Biol*. 2011;7(8):e1002124.
71. 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.
72. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Animal models of Parkinson's disease. *Bioessays*. 2002;24(4):308-18.
73. Bevan MD, Magill PJ, Terman D, Bolam JP, Wilson CJ. Move to the rhythm: oscillations in the subthalamic nucleus-external globus pallidus network. *Trends in neurosciences*. 2002;25(10):525-31.
74. Holgado AJ, 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.
75. 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.
76. 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.
77. Plenz D, Kital ST. A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature*. 1999;400(6745):677-82.
78. McCarthy MM, Moore-Kochlacs C, Gu X, Boyden ES, Han X, Kopell N. Striatal origin of the pathologic beta oscillations in Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(28):11620-5.
79. Gaspar P, Duyckaerts C, Alvarez C, Javoy-Agid F, Berger B. Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1991;30(3):365-74.
80. Braak H, Rub U, Gai WP, Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna)*. 2003;110(5):517-36.
81. MacDonald V, Halliday GM. Selective loss of pyramidal neurons in the pre-supplementary motor cortex in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2002;17(6):1166-73.
82. Elahi B, Elahi B, Chen R. Effect of transcranial magnetic stimulation on Parkinson motor function--systematic review of controlled clinical trials. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. 2009;24(3):357-63.
83. Lefaucheur JP. [Motor cortex stimulation for Parkinson's disease and dystonia: lessons from transcranial magnetic stimulation? A review of the literature]. *Rev Neurol (Paris)*. 2005;161(1):27-41.
84. Buzsaki G. Feed-forward inhibition in the hippocampal formation. *Prog Neurobiol*. 1984;22(2):131-53.
85. Kopell N, Kramer MA, Malerba P, Whittington MA. Are different rhythms good for different functions? *Frontiers in human neuroscience*. 2010;4:187.

86. Connors BW, Gutnick MJ, Prince DA. Electrophysiological properties of neocortical neurons in vitro. *J Neurophysiol.* 1982;48(6):1302-20.
87. McCormick DA, Connors BW, Lighthall JW, Prince DA. Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *J Neurophysiol.* 1985;54(4):782-806.
88. Chen W, Zhang JJ, Hu GY, Wu CP. Electrophysiological and morphological properties of pyramidal and nonpyramidal neurons in the cat motor cortex in vitro. *Neuroscience.* 1996;73(1):39-55.
89. Cauli B, Audinat E, Lambolez B, Angulo MC, Ropert N, Tsuzuki K, Hestrin S, Rossier J. Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. *J Neurosci.* 1997;17(10):3894-906.
90. Kawaguchi Y, Kubota Y. GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex.* 1997;7(6):476-86.
91. Somogyi P, Klausberger T. Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol.* 2005;562(Pt 1):9-26.
92. Tukker JJ, Fuentealba P, Hartwich K, Somogyi P, Klausberger T. Cell type-specific tuning of hippocampal interneuron firing during gamma oscillations in vivo. *J Neurosci.* 2007;27(31):8184-9.
93. Klausberger T, Somogyi P. Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science.* 2008;321(5885):53-7.
94. Yamawaki N, Stanford IM, Hall SD, Woodhall GL. Pharmacologically induced and stimulus evoked rhythmic neuronal oscillatory activity in the primary motor cortex in vitro. *Neuroscience.* 2008;151(2):386-95.
95. Buzsaki G, Anastassiou CA, Koch C. The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature reviews Neuroscience.* 2012;13(6):407-20.
96. Hodgkin AL, Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of giant axon of the squid. *J Physiol.* 1949;108(1):37-77.
97. Mormann F, Fell J, Axmacher N, Weber B, Lehnertz K, Elger CE, Fernandez G. Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. *Hippocampus.* 2005;15(7):890-900.
98. Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, Kirsch HE, Berger MS, Barbaro NM, Knight RT. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science.* 2006;313(5793):1626-8.
99. Lacey MG, Gooding-Williams G, Prokic EJ, Yamawaki N, Hall SD, Stanford IM, Woodhall GL. Spike firing and IPSPs in layer V pyramidal neurons during beta oscillations in rat primary motor cortex (M1) in vitro. *PLoS One.* 2014;9(1):e85109.
100. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* 6th ed. Amsterdam ; Boston :: Academic Press/Elsevier; 2007.
101. 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.
102. Steiner B, Kupsch A, Siebert E, Hosmann K, Klempin F, Morgenstern R, Winter C. Unilateral lesion of the subthalamic nucleus transiently provokes bilateral subacute glial cell proliferation in the adult rat substantia nigra. *Neurosci Lett.* 2008;430(2):103-8.
103. Reese R, Winter C, Nadjar A, Harnack D, Morgenstern R, Kupsch A, Bezard E, Meissner W. Subthalamic stimulation increases striatal tyrosine hydroxylase phosphorylation. *Neuroreport.* 2008;19(2):179-82.
104. Harnack D, Meissner W, Jira JA, Winter C, Morgenstern R, Kupsch A. Placebo-controlled chronic high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus preserves dopaminergic nigral neurons in a rat model of progressive Parkinsonism. *Exp Neurol.* 2008;210(1):257-60.
105. Johnson KS. *Transmission Circuits for Telephonic Communication, Methods of Analysis and Design.* D Van Nostrand, New York. 1925.
106. Kneubühl FK. *Oscillations and Waves.* Springer Verlag, Berlin. Springer Verlag, Berlin. 1997.
107. Shea TE. *Transmission Networks and Wave Filters.* . D Van Nostrand, New York. 1929.

108. Lemerrier CE, Holman C, Gerevich Z. Aberrant alpha and gamma oscillations ex vivo after single application of the NMDA receptor antagonist MK-801. *Schizophr Res.* 2017;188:118-24.
109. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena | *Physiological Reviews* [Available from: <http://physrev.physiology.org/content/65/1/37.long>].
110. Olsson M, Nikkiah 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.
111. Johnson NW, Ozkan M, Burgess AP, Prokic EJ, Wafford KA, O'Neill MJ, Greenhill SD, Stanford IM, Woodhall GL. Phase-amplitude coupled persistent theta and gamma oscillations in rat primary motor cortex in vitro. *Neuropharmacology.* 2017;119:141-56.
112. Dupre KB, Cruz AV, 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.
113. Wang M, Li M, Geng X, Song Z, Albers HE, Yang M, Zhang X, Xie J, Qu Q, He T. Altered neuronal activity in the primary motor cortex and globus pallidus after dopamine depletion in rats. *J Neurol Sci.* 2015;348(1-2):231-40.
114. Zigmond MJ, Stricker EM. Parkinson's disease: studies with an animal model. *Life Sci.* 1984;35(1):5-18.

8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Veronica Maria Rignall, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Untersuchung der Entstehung veränderter Oszillationen im primärmotorischen Kortex am Hemiparkinson-Modell der Ratte [Untersuchung der Entstehung veränderter Oszillationen im primärmotorischen Kortex am Hemiparkinson-Modell der Ratte / Investigation of altered primary motor cortex activity In the rat model of hemiparkinsonism] 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

[Für den Fall, dass Sie die Forschung für Ihre Promotion ganz oder teilweise in Gruppenarbeit durchgeführt haben:] Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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. Lebenslauf

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

10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei meinem betreuenden Hochschullehrer, Herrn Prof. Dr. rer. nat. Jörg Geiger, bedanken für die Möglichkeit, in seiner Arbeitsumgebung eine Promotion anfertigen zu dürfen. Ohne ihn und ohne sein Vertrauen in mich hätte diese Arbeit nicht stattgefunden. Für die Überlassung dieses Themas möchte ich mich herzlich bedanken. Von Anfang an habe ich von seinen essentiellen fachliche Anregungen profitiert und eine persönliche Einarbeitung in Arbeitstechniken und -abläufe erhalten. Bis zuletzt ermöglichte er eine unermüdliche und intensive Auseinandersetzung mit den verschiedenen Aspekten dieser Arbeit.

Des Weiteren gilt mein Dank Frau Prof. Dr. Andrea Kühn als Leiterin der Arbeitsgruppe „Bewegungsstörungen“ und der klinischen Forschergruppe um Dr. Christoph van Riesen an der Klinik für Neurologie der Charité Universitätsmedizin Berlin. Im Rahmen des DFG-geförderten Projektes „Mechanismen pathologischer Oszillationen in der Kortex-Basalganglien-Schleife und deren Modulation durch die tiefe Hirnstimulation im Parkinsonmodell der Ratte“ konnte ich durch die Kooperation des Institut für Neurophysiologie mit der Klinik für Neurologie der Charité von einer engen inhaltlichen und methodischen Vernetzung dieser Arbeitsgruppen profitieren. Dankbar bin ich insbesondere für die intensive Einarbeitung in die Technik der neurochirurgischen Läsion und der histologischen Aufarbeitung der Hirnschnitte. Ganz besonders jedoch möchte ich mich für die finanzielle Unterstützung bedanken, die es mir ermöglicht hat, mich 12 Monate lang intensiv auf die experimentelle Durchführung dieses Projektes zu konzentrieren.

Meinem direkten wissenschaftlichen Betreuer, Herrn PD Dr. med. Zoltan Gerevich, gilt mein besonderer Dank, der mein Hineinwachsen in das wissenschaftliche Arbeiten stets motivierend gefördert hat und mit Geduld und persönlicher Anteilnahme an meiner Seite stand. Gleichzeitig möchte ich mich für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre am Institut für Neurophysiologie bedanken.

Herrn Dipl.-Ing. Ingo Przesdzing vom „*Berlin Institute of Health*“ danke ich für die Einweisung in das Stereo Investigator Mikroskop.

Ganz besonders dankbar bin ich für meine Familie, die mir bis zu Letzt mit Verständnis, Unterstützung und Motivation zur Seite stand und ohne die diese Arbeit nicht beendet hätte werden können.