

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

DISSERTATION

Kortikale Oszillationen im Parkinson-Modell der sich frei
bewegenden dyskinetischen Ratte

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christopher Güttler

Datum der Promotion: 26. Juni 2022

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
ABSTRACT (DEUTSCH)	1
ABSTRACT (ENGLISCH)	3
MANTELTEXT	4
<u>1. EINLEITUNG</u>	4
<u>2. METHODIK</u>	7
2.1 <i>Versuchstiere und Materialien</i>	7
2.2 <i>Versuchsablauf</i>	7
2.3 <i>Implantationen</i>	8
2.4 <i>Unilaterale 6-OHDA-Injektionen</i>	9
2.5 <i>Verhaltensprüfungen</i>	10
2.6 <i>LD und Dopaminantagonisten</i>	10
2.7 <i>Elektrophysiologische Ableitungen und AIMS-Scoring</i>	10
2.8 <i>Datenanalyse</i>	11
2.9 <i>Modellierung</i>	13
2.10 <i>Histologie und Immunhistologie</i>	13
<u>3 ERGEBNISSE</u>	14
3.1 <i>Validierung des 6-OHDA-Modells</i>	14
3.2 <i>Levodopa führt zu einer verstärkten Gamma-Aktivität</i>	14
3.3 <i>LD führt zu progredienten LID</i>	16
3.4 <i>Die Gamma-Parameter korrelieren mit den Dyskinesien</i>	16
3.5 <i>Die Gamma-Burst Parameter sind bei der LID-Detektion überlegen</i>	16
<u>4 DISKUSSION</u>	17
LITERATURVERZEICHNIS	19
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	23
ANTEILSERKLÄRUNG AN DER ERFOLGTEN PUBLIKATION	24
AUSZUG AUS DER „JOURNAL SUMMARY LIST“	26
DRUCKEXEMPLAR	27
LEBENS LAUF	40
VOLLSTÄNDIGE PUBLIKATIONS LISTE	42
DANKSAGUNG	43

Abkürzungsverzeichnis

6-OHDA	6-Hydroxydopamin	M1	Primärer Motorkortex
AIMS	Abnormal Involuntary Movement Scale	MFB	Fasciculus telencephalicus medialis <i>medial forebrain bundle</i>
AP	Anterior-posterior	ML	Medial-lateral
aTHS	Adaptive THS	MPTP	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin
AUC	Fläche unter der Kurve <i>area under the curve</i>	PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung <i>phosphate buffered saline</i>
BG	Basalganglien	PCA	Hauptkomponenten-analyse <i>principal component analysis</i>
DAB	3,3'-Diaminobenzidin	PFA	Paraformaldehyd
DLS	Dorsolaterales Striatum	RACLO	Racloprid
DV	Dorso-ventral	ROC	Receiver-Operating-Kurve
ECoG	Elektrokortikogramm	SNpc	Substantia nigra pars compacta
FOOOF	<i>Fitting oscillations & one over f</i>	SNpr	Substantia nigra pars reticularis
FTG	„finely-tuned Gamma“	STN	Ncl. Subthalamicus
GLM	Generalisiertes lineares Modell	STR	Striatum
GP	Globus pallidus	TH	Tyrosinhydroxylase
HALO	Halobenzazepin	THS	Tiefe Hirnstimulation
IPS	Idiopathisches Parkinson Syndrom		
LD	Levodopa		
LFP	Lokale Feldpotentiale		
LID	LD-induzierte Dyskinesie		

Abstract (Deutsch)

Hintergrund: Das idiopathische Parkinson Syndrom (IPS) ist eine neurodegenerative Erkrankung, bei der es zu einer fortschreitenden Schädigung von dopaminergen Neuronen der Substantia nigra pars compacta kommt. Der resultierende Dopamin-Mangel wird für die Kardinalsymptome der Erkrankung (Akinese, Rigor und Tremor) verantwortlich gemacht. Levodopa (LD), eine Vorläufersubstanz des Dopamins, ist das wirksamste Medikament zur symptomatischen Therapie des IPS. Eine Langzeitbehandlung führt jedoch häufig zu Komplikationen, insbesondere zu LD-induzierten Dyskinesien (LID). Neue Studien weisen auf eine Assoziation zwischen LID und umschriebenen kortikalen Gamma-Oszillationen („finely-tuned Gamma“, FTG) hin. Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen LID und FTG im 6-Hydroxydopamin Modell (6-OHDA) der sich frei bewegenden Ratte, sowie die Identifikation neuer Biomarker für die adaptive tiefe Hirnstimulation (aTHS) bei IPS.

Methodik: Im unilateralen 6-OHDA Modell des IPS der Ratte wurde durch tägliche Gabe von LD über einen Zeitraum von drei Wochen LID hervorgerufen. Elektrokortikogramme (ECoG) des primären Motorkortex (M1) wurden jeweils vor und nach LD-Gabe kabellos von den sich frei bewegenden Tieren aufgezeichnet und analysiert. Zusätzlich wurde das Verhalten videographiert. Das Ausmaß der LID wurde anhand der Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS) quantifiziert und mit den Ergebnissen der elektrophysiologischen Analyse korreliert. Der Effekt einer D1- vs. D2-Rezeptorblockade wurde mittels Gabe von Halobenzazepin (HALO) und Racloprid (RACLO) untersucht. Auf Basis der M1-ECoG-Daten wurde ein generalisiertes lineares Modell (GLM) zur LID-Detektion erstellt und evaluiert. Das Ausmaß der dopaminergen Neurodegeneration wurde nach Versuchsende mittels immunhistochemischer Tyrosinhydroxylase(TH)-Färbung quantifiziert.

Ergebnisse: Die Versuchstiere entwickelten nach 6-OHDA-Injektion eine Hemiakinese sowie durch LD supprimierbare kortikale Beta-Oszillationen. Wiederholte LD-Gaben führten zu progredienten LID und der Ausbildung von FTG mit Erreichen eines Plateaus nach der vierten LD-Injektion. Der spektrale Zentroid des Gamma-Bandes hingegen stieg mit jeder LD-Gabe an. Sowohl HALO als auch RACLO führten zu einer unvollständigen LID- und FTG-Suppression. Der im Rahmen einer Gamma-Burst-Analyse errechnete prozentuale Anteil der längsten Bursts wies die höchste

Korrelation mit den AIMS-Werten auf. Das aus den Einzelparametern erstellte GLM konnte AIMS-Werte mit einer ROC-AUC von bis zu 0.97 präzisieren.

Schlussfolgerung: Diese Arbeit zeigt einen engen Zusammenhang zwischen LID und kortikalen FTG. Die hier identifizierten FTG-basierten Biomarker sollten im Rahmen der aTHS weiter evaluiert werden.

Abstract (Englisch)

Background: Idiopathic Parkinson's disease (IPS) is a neurodegenerative disorder with progressive damage to dopaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta. The resulting dopamine deficiency is thought to be responsible for the cardinal signs of the disease (akinesia, rigor, and tremor). Levodopa (LD), a precursor of dopamine, is the most effective drug for symptomatic control of IPS. However, long-term administration is complicated by motor fluctuations and potentially LD dose-limiting levodopa-induced dyskinesia (LID). Recent studies suggest an association between LID and cortical gamma oscillations ("finely-tuned gamma", FTG). The aim of this work is (1) to investigate the relationship between LID and FTG in the 6-hydroxydopamine (6-OHDA) IPS model in freely moving rats, and (2) to identify novel biomarkers for adaptive deep brain stimulation in IPS.

Methods: LID was elicited in parkinsonian rats by daily administration of LD over a three-week period. Primary motor cortex (M1) electrocorticograms (ECoG) were wirelessly recorded before and during the daily LD treatments and behavior was videotaped. The extent of LID was quantified using the Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS) and correlated with the results of electrophysiological analysis. The effect of antagonizing D1 and D2 dopamine receptors was examined via administration of halobenzazepine and raclopride. Based on the M1 ECoG data, a generalized linear model (GLM) for LID detection was constructed and evaluated. The extent of dopaminergic neurodegeneration was quantified by immunohistochemical tyrosine hydroxase (TH) staining after the end of the experiment.

Results: Following 6-OHDA injections the animals exhibited hemiakinesia and LD-suppressible cortical beta-oscillations. Repeated LD administration resulted in progressive LID and the formation of FTG reaching a plateau after the fourth LD injection. In contrast, the spectral centroid of the gamma band increased with each LD administration. Both HALO and RACLO resulted in incomplete LID and FTG suppression. The fraction of longest gamma bursts derived by gamma burst analysis showed the highest correlation with AIMS scores. The GLM generated from the individual parameters was able to predict AIMS scores with a ROC-AUC of up to 0.97.

Conclusion: There is a strong correlation between LID and cortical FTG. This work indicates that FTG-based biomarkers are promising candidates for further evaluation in the context of adaptive THS.

Manteltext

1. Einleitung

Das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS) ist mit einer Prävalenz von etwa 1 % bei über 60-Jährigen¹ eine der häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen. Neben motorischen Beeinträchtigungen wie Akinese, Rigor und Tremor, kommt es im Verlauf der Erkrankung auch zu neuropsychiatrischen, vegetativen und sensorischen Störungen^{2,3}. Neuropathologisch stehen ein Verlust der dopaminergen Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNpc) sowie die, für Synucleinopathien typische, Formierung von eosinophilen zytoplasmatischen Einschlüssen, den Lewy-Körperchen, im Vordergrund^{4,5}. Als Ursache des IPS wird eine Kombination aus genetischer Prädisposition sowie bisher nicht eindeutig geklärten Umweltfaktoren angenommen. Die Basalganglien (BG) bestehen in sensu stricto aus Striatum (STR) und Globus pallidus (GP). Funktionell werden auch der diencephale Ncl. Subthalamicus (STN) und die mesencephale Substantia nigra hinzugezählt⁶. Das Zusammenspiel von BG, Kortex und Thalamus über komplexe, in Schleifen angelegte, Verarbeitungswege ermöglicht die Ausführung und Kontrolle von Bewegungsprogrammen, ist aber ebenso in emotionale und kognitive Aufgaben involviert⁶⁻⁹. Auf dieser Netzwerkebene spielt rhythmische neuronale Aktivität eine wichtige physiologische Rolle¹⁰ und kann bei neuropsychiatrischen und neurologischen Erkrankungen wie dem IPS gestört sein. Eingang in die Literatur fanden diese neuronalen Oszillationen mit der Beschreibung von elektroenzephalographisch abgeleiteten „Wellen erster Ordnung“ durch Hans Berger¹¹. Eine Einteilung erfolgt üblicherweise in fünf Frequenzbänder: Delta (0.5 – 3.5 Hz), Theta (4 – 7 Hz), Alpha (8 – 12 Hz), Beta (13 – 30 Hz) und Gamma (> 30 Hz). Die Grenzen sind jedoch nicht als absolut anzusehen. Seit Einführung der tiefen Hirnstimulation des STN zur Therapie des fortgeschrittenen IPS^{12,13} ist eine Ableitung von basalganglionären lokalen Feldpotentialen (LFP) in dieser Patientenpopulation möglich. Das LFP entspricht weitestgehend der Summe der postsynaptischen Potentiale der lokalen Neuronenpopulationen im Nahbereich der Elektrode¹⁴. Bei Patienten mit IPS zeigt sich ein enger Zusammenhang zwischen erhöhter oszillatorischer Netzwerk-Synchronität und dem Grad der motorischen Beeinträchtigung. Im medikamentösen „Off“-Zustand lassen sich bei diesen Patienten Beta-Oszillationen (13-35 Hz) in STN und GP nachweisen^{15,16}. Diese korrelieren mit der klinischen Symptomatik des IPS^{17,18}, insbesondere mit Bradykinese und Rigor^{19,20},

und lassen sich durch die Gabe von Levodopa (LD) und durch die tiefe Hirnstimulation (THS) unterdrücken^{21–23}. Auch in tierexperimentellen Modellen des IPS lassen sich pathologische Beta-Oszillationen nachweisen^{24–28}. Am häufigsten wird das 6-Hydroxydopamin (6-OHDA)-Modell der Ratte^{29–31} sowie das 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin (MPTP)-Modell des Primaten³² zur Untersuchung der Netzwerkaktivität eingesetzt. Auch in diesen Modellorganismen supprimiert die Gabe von LD die abnorm gesteigerte Beta-Aktivität^{28,33,34}. Eine medikamentöse oder durch THS hervorgerufenen Suppression der Beta-Oszillationen korreliert mit einer klinischen Symptomverbesserung^{35–37}. Interessanterweise führt eine Stimulation von STN oder Kortex mit Frequenzen aus dem Beta-Bereich zu einer dezenten Bewegungsverlangsamung^{38,39}. Die physiologische Rolle der Beta-Oszillationen ist Gegenstand aktueller Forschung. In kortikalen Ableitungen zeigt sich eine gesteigerte Beta-Aktivität während tonischer Haltearbeit⁴⁰. Zusätzlich kommt es vor Bewegungsinitiationen zu einer Desynchronisation des Beta-Bandes. Das Ausmaß der einer Bewegung vorweggehenden Beta-Desynchronisation im STN lässt sich durch LD und THS beeinflussen und korreliert wiederum mit einer klinischen Verbesserung^{35,41,42}. Insgesamt wird davon ausgegangen, dass eine erhöhte Beta-Aktivität eine Priorisierung der Beibehaltung des aktuellen Bewegungsprogrammes signalisiert^{43,44}. Da Beta-Aktivität aber nicht statisch, sondern in kurzen Aktivitätsschüben („Bursts“) auftritt⁴⁵, kann in ihr darüber hinaus auch ein dynamischer und inhaltspezifischer Mechanismus zur Rekrutierung von für das aktuelle Verhalten benötigten neuronalen Ensembles gesehen werden⁴⁶. Eine genaue Untersuchung der temporalen Dynamik der Beta-Aktivität auf kurzen Zeitskalen im Kontext des IPS findet erst seit kurzem statt⁴⁵. Es zeigt sich, dass eine Erhöhung der durchschnittlichen Beta-Aktivität bei IPS-Patienten nicht nur durch Steigerung der kontinuierlichen Amplitude, sondern insbesondere durch eine Umverteilung der Burst-Dauer hin zu länger anhaltenden Bursts bedingt ist^{47–50}. Auch hier führt LD zu einer Normalisierung der Verteilung und einer damit einhergehenden klinischen Verbesserung^{47–49}. LD ist das wirksamste Medikament zur symptomatischen Behandlung der motorischen Symptome des IPS^{2,51,52}, eine Langzeitbehandlung führt jedoch häufig zu Komplikationen. Insbesondere das Auftreten von LD-induzierten Dyskinesien (LID) können die Pharmakotherapie des IPS erheblich erschweren und die Lebensqualität der Patienten stark einschränken^{53,54}. Unterschieden werden Peak-Dose-Dyskinesien mit phasischen und dystonen Unterformen, biphasische Dyskinesien bei steigenden

und fallenden LD-Spiegeln, sowie Off-Phase-Dyskinesien mit distal betonten schmerzhaften Dystonien⁵³. Die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer LID sind die Erkrankungsdauer sowie die Dosis und Dauer der Behandlung mit LD^{55,56}, weshalb eine initiale Monotherapie mit Dopamin-Agonisten für jüngere Patienten empfohlen wird⁵⁷. Die Therapie einer manifesten LID ist schwierig und eine der Indikationen für die THS^{58,59}. Die Pathophysiologie der LID wird kontrovers diskutiert. Unter anderem wird eine, durch LD hervorgerufene, aberrante synaptische Plastizität in Striatum^{60,61} und Motorkortex mit gleichzeitiger Störung der Modulation durch das Zerebellum postuliert⁶². Bei THS-implantierten IPS-Patienten kann es unter dopaminerger Stimulation zu umschriebenen Gamma-Oszillationen im Bereich zwischen 60 und 90 Hz, dem sogenannten Finely-Tuned Gamma (FTG) kommen^{63,64}. Dieses ist mit der Aktivität im Beta-Band antikorreliert⁶⁵ und wurde bei Menschen in STN, Kortex, GP und Thalamus nachgewiesen⁶⁶⁻⁶⁸. Das Auftreten des FTG ist jedoch nicht krankheitsspezifisch und wurde bei IPS, Dystonie und myoklonischer Epilepsie beobachtet⁶⁸⁻⁷⁰. Für IPS-Patienten ohne LID ist die Studienlage bezüglich der Häufigkeit des Auftretens des pathologischen FTG uneinheitlich^{71-73,64}. Es zeichnet sich jedoch eine deutliche Assoziation von LID und FTG ab⁷⁴. Bestätigt wird dies durch erste tierexperimentelle Studien, bei denen LID im 6-OHDA-Modell mittels täglicher Gabe von LD⁷⁵ hervorgerufen wurde. Nach Injektion von LD ließ sich das FTG in Kortex, Striatum und GP nachweisen⁷⁶⁻⁷⁹, wobei der Motorkortex die deutlichste Steigerung der Gamma-Band Aktivität aufwies und eine lokale D1-Rezeptor Blockade sowohl das FTG als auch die LID unterdrücken konnte⁷⁶. In Analogie zu Beta-Bursts wurde kürzlich für den STN gezeigt, dass die bewegungsassoziierte Synchronisation im Gamma-Bereich in Bursts auftritt, deren Häufigkeit unter LD ansteigt⁸⁰. Die Relevanz von kortikalen Gamma-Bursts bei LID wurde bisher nicht untersucht und könnte sowohl neue Einblicke in die Pathophysiologie der LID ermöglichen als auch von Relevanz für die weitere Entwicklung der adaptiven THS (aTHS) sein. Bei dieser Form der THS wird die Stimulation durch die Evaluation von elektrophysiologischen Biomarkern in Echtzeit angepasst⁸¹⁻⁸⁴. Unter Verwendung des LID-Modells der sich frei bewegenden Ratte sollen im Rahmen dieser Studie folgende Fragen beantwortet werden: (1) Unterliegt das kortikale FTG einer temporalen Modulation im Sinne der Bursts und inwieweit korrelieren diese mit dem Grad der Dyskinesie? (2) Welche kortikalen elektrophysiologischen Biomarker sind am besten für eine LID-Detektion geeignet?

Eingangsbemerkung

Die hier vorgestellten Methoden und Ergebnisse wurden bereits in der Publikation Güttler et al.⁸⁵ unter der Kennung 10.1002/mds.28403 veröffentlicht.

2. Methodik

2.1 Versuchstiere und Materialien

Alle Tierversuche wurden an männlichen Wistar-Ratten (n=10, 300-325g, Harlan Winkelmann, Deutschland) in Übereinstimmung mit dem deutschen Tierschutzgesetz (Stand Dezember 2018) und der Richtlinie der Europäischen Union (2010/63/EU) nach Genehmigung durch die zuständige Aufsichtsbehörde (LaGeSo, Berlin) durchgeführt. Eine Haltung erfolgte im universitätseigenen Tierstall mit 12-stündigem Lichtzyklus und ad libitum Zugang zu Wasser und Nahrung. Alle verwendeten chemischen Substanzen wurden, sofern nicht anders angegeben, von Sigma Alderich, Deutschland, bezogen.

2.2 Versuchsablauf

Zunächst erfolgte eine zehntägige Eingewöhnungsphase in der die Versuchstiere mit den Räumlichkeiten, Versuchsaufbauten und der manuellen Gabe von Saccharose-Lösung vertraut gemacht wurden. An Tag 10 erfolgte die Implantation der Elektroden sowie der Führungskanülen mit anschließender dreitägiger Erholungsphase unter analgetischer Abdeckung. Innerhalb der nächsten 14 Tage absolvierten die Tiere ein tägliches Training auf einem Laufband (Bioseb, Pinellas Park, USA) sowie eine Gewöhnung an das Prozedere der Konnektion und Diskonnektion der drahtlosen elektrophysiologischen Sendeeinheit. Eine motorische Testung sowie elektrophysiologische Aufnahmen wurden unmittelbar vor Auslösung des Hemiparkinsonismus mittels 6-OHDA-Injektion an Tag 27 angefertigt, um den physiologischen Ausgangszustand festzuhalten. Weitere motorische Testungen mittels Zylindertest erfolgten an den Tagen 28, 41, 48, 58 sowie 60 Minuten nach der ersten LD-Injektion an Tag 62. Die Zeitspanne von 31 Tagen zwischen 6-OHDA-Injektion und der ersten LD-Injektion wurde gewählt, um ein „steady state“ mit maximaler Dopamin-Depletion zu erreichen. Zuvor wurde dieser „steady state“ an Tag 58 mit elektrophysiologischen Aufnahmen in Ruhe und in Bewegung auf dem Laufband dokumentiert. Von Tag 62 bis 86 erfolgte eine tägliche LD-Injektion zwecks LID-Ausbildung. Elektrophysiologische Aufnahmen mit zeitgleicher videographischer

Dokumentation wurden an den Tagen 62 (LD1), 65 (LD4), 71 (LD10), 77 (LD16) und 82 (LD21) angefertigt. An Tag 84 erfolgte vor LD-Gabe die Injektion des Dopaminantagonisten Racloprid (RACLO), an Tag 86 die Injektion von Halobenzazepin (HALO). Anschließend wurden die Tiere getötet und die Gehirne zwecks histologischer Aufarbeitung kryokonserviert. Eine graphische Darstellung des Versuchsablaufs kann der Abb. 1A (S.29, p.929) aus Güttler et al.⁸⁵ entnommen werden.

2.3 Implantationen

Nach Dokumentation des präoperativen Gewichtes erfolgte eine Narkose-Induktion mit 4 % Isofluran und 96 % Sauerstoff (1,2 l/min). Anschließend erfolgte eine Rasur des Operationsgebietes und der Schutz der Kornea vor Austrocknung mittels Dexpanthenol Augensalbe (Bayer, Deutschland). Eine ausreichende Narkosetiefe wurde bei ausbleibender Reaktion auf einen Schmerzreiz festgestellt. Hiernach wurden die Tiere auf eine selbstregulierende Heizmatte ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) transferiert und mit atraumatischen Ohrenstiften in einen stereotaktischen Rahmen (David Kopf Instruments, USA) eingespannt. Eine streng horizontale Ausrichtung von Bregma und Lambda wurde mit Hilfe des „Rat Alignment Tool“ (David Kopf Instruments, USA) gewährleistet. Nach Desinfektion und Analgesie mit 700 μl Bupivacain s.c. erfolgte eine mediale Inzision der Kopfschwarte und eine Entfernung der epikranialen Aponeurose. Nach Blutstillung und Trocknung der Schädeloberfläche wurde das Bregma dargestellt und ein durchsichtiges selbststützendes Ein-Komponenten-Dentaladhäsiv (OptiBond © All-In-One ©, Kerr, Deutschland) sowie nachfolgend Dentalzement (Charisma, Kulzer, Deutschland) appliziert und mittels UV-Licht ausgehärtet (TransluxWave, Kulzer, Deutschland). Die späteren Elektrodenpositionen sowie das Bregma wurden hierbei ausgespart. Die stereotaktischen Koordinaten des Bregma wurden in der antero-posterioren (AP), medio-lateralen (ML) und dorso-ventralen (DV) Ebene bestimmt und notiert. Mit Hilfe eines stereotaktischen Atlases⁸⁶ konnten die Zielkoordinaten von M1 (AP: +3mm, ML: +3mm), dorsolateralem Striatum (DLS, AP: +0,6mm, ML: +3,6mm, DV: -4,5mm), Substantia nigra pars reticularis (SNpr, AP: -5,2mm, ML: +2,4mm, DV: -8,2mm), Fasciculus telencephalicus medialis (MFB, AP: -2,6mm, ML: +1,6mm, DV: -6,4mm) sowie der Referenzelektroden (AP: -9mm, ML: $\pm 3\text{mm}$) bestimmt werden und an jeweils entsprechender Stelle kraniale Bohrlochtrepanationen unter Einsatz eines Zahnarztbohrers (Hager und Meisinger,

Deutschland) vorgenommen werden. Dann erfolgte die epidurale Einbringung der speziell angefertigten Elektrokortikogramm (ECoG) Schraubenelektroden (Mikroschrauben mit Laserverschweißter Edelstahlitze, Charité CFM Facility Management, Deutschland) über M1 sowie beidseits zerebellär (Referenzelektroden). Als nächstes wurden je eine 16-Kontakt Silizium-Sonde (DBC-2-3-A_ZIF16, Cambridge NeuroTech, UK) langsam und mit Hilfe einer Unterdruckhalterung auf die Zielkoordinaten des DLS und der SNpr abgesenkt und mit Dentalacryl (Paladur, Kulzer, Deutschland) fixiert. Die aus diesen Elektroden (DLS, SNpr) gewonnenen Daten sind nicht Teil der Dissertation zugrundeliegenden Publikation. Als nächstes erfolgte die vorsichtige stereotaktische Implantation einer maßgefertigten Führungskanüle mit Zielkoordinate 2mm dorsal des MFB. Nach Fixation mit Dentalacryl wurde diese mittels Edelstahl-Mandrin verschlossen. Alle Elektroden wurden dann an eine elektronische Schnittstellenplatine (EIB2, Cambridge NeuroTech) angeschlossen und der gesamte Aufbau mit Dentalacryl ausmodelliert. Die mit einem Mandrin verschlossene Öffnung der Führungskanüle wurde hierbei ausgespart und mit einem wieder entfernbaren Silikonpfropf geschützt. Nach Wundrandadaptation folgte ein Verschluss der Kopfhaut mit Einzelknopfnähten. Eine postoperative Analgesie wurde 30 Minuten vor Ende des operativen Eingriffs und an den drei folgenden Tagen mit Carprofen (5 mg/kg, s.c., Pfizer, Deutschland) sichergestellt.

2.4 Unilaterale 6-OHDA-Injektionen

In dem hier angewandten Tiermodell des IPS wird ein Dopamin-Defizit mittels unilateraler Injektion von 6-OHDA in das MFB erzeugt. 6-OHDA ist ein Dopamin-Analogen welches über Dopamin- und Noradrenalin-Transporter aufgenommen wird und über oxidativen Stress zu einem Zelluntergang führt⁸⁷. Eine selektive Läsion der dopaminergen Mittelhirnneurone kann durch Schutz der noradrenergen Neurone des Locus coeruleus durch eine vorherige Gabe von Desipramin erreicht werden⁸⁸. Da beim IPS aber auch das noradrenerge System betroffen ist⁸⁹ und diesem eine Rolle bei der Entstehung von LID zugesprochen wird⁹⁰ wurde auf eine Gabe von Desipramin verzichtet. Die Injektion erfolgte 17 Tage nach Elektrodenimplantation. Hierzu wurden die Tiere unter Isofluran-Narkose in den stereotaktischen Rahmen überführt und der die Führungskanüle schützende Silikonpfropf sowie der Mandrin entfernt. Dann wurde eine stumpfe, an ein Präzisionsspritzen-Pumpen-System (10 µl Hamilton Spritze und Micro4© Pumpe, World Precision Instruments, USA) angeschlossene, eine 33-Gauge

Kanüle in die Führungskanüle eingeführt und bis auf die DV Zielkoordinate abgesenkt (-8,4mm). Die Injektion von 1 µl 6-OHDA-Lösung (8 µg/µl in 0,9 % NaCl mit 0,02 % Ascorbinsäure) erfolgte mit einer Geschwindigkeit von 0,125 µl/min. Um eine kontrollierte Diffusion zu ermöglichen, wurde die Kanüle für weitere 5 Minuten nach Injektion belassen. Hiernach wurde der Aufbau endgültig mit Dentalacryl versiegelt und die Tiere in ihre jeweiligen Käfige verbracht.

2.5 Verhaltensprüfungen

Die motorische Evaluation des 6-OHDA-Modells erfolgte mit Hilfe des Zylindertests⁹¹. Hierzu wurden die Tiere in einen durchsichtigen Acrylglas-Zylinder (Durchmesser 30 cm, Höhe 45 cm) gesetzt und ihr spontanes Explorationsverhalten beobachtet. Gezählt wurden die körperrgewichtsaufnehmenden Berührungen der linken und rechten Vorderpfote mit der Wand des Zylinders. Eine Testung erfolgte unmittelbar vor der 6-OHDA-Injektion, während der Entwicklung des Hemiparkinsonismus sowie 60 Minuten nach der ersten LD-Injektion. Das Verhältnis von rechten zu linken Pfotenkontakten wurde mittels einfacher Varianzanalyse mit Bonferroni-korrigiertem Post-Hoc-Test analysiert. Da ein ausgeprägtes dopaminerges Defizit eine Bedingung für die Entwicklung von LID ist^{75,92}, wurden nur Tiere mit einer kontralateralen Pfotenbenutzung <40 %⁷⁵, einer Reduktion der ipsilateralen TH-positiven Zellzahl in der ipsilateralen SNpc <20 %⁹² und einem vollständig vorliegendem Datensatz in die nachfolgenden Analysen einbezogen (n = 5).

2.6 LD und Dopaminantagonisten

LD wurde täglich ab Tag 62 als Methylester (15 mg/kg) zusammen mit Benserazid (8 mg/kg) in isotoner Kochsalzlösung s.c. verabreicht. Der D2-Rezeptor-spezifische Dopaminantagonist RACLO (1 mg/kg, s.c.) wurde 10 Minuten vor LD-Gabe an Tag 84 verabreicht, der D1-Rezeptor-spezifische Dopaminantagonist HALO (0,5 mg/kg, s.c.) wurde 10 Minuten vor LD-Gabe an Tag 86 verabreicht.

2.7 Elektrophysiologische Ableitungen und AIMS-Scoring

Die elektrophysiologischen Ableitungen erfolgten direkt vor und 31 Tage nach der 6-OHDA-Injektion, sowie vor und unmittelbar nach den LD-Gaben 1, 4, 10, 16, 21 sowie an den Tagen mit Verabreichung von Dopaminantagonisten. Bei allen elektrophysiologischen Ableitungen wurde das Verhalten der Tiere durch eine an das

drahtlose elektrophysiologische System (W32, Triangle Bio-Systems, Durham, NC, USA) gekoppelte Videokamera mit 10 Bildern/s aufgenommen. Zunächst erfolgte jeweils eine zweiminütige Ableitung in Bewegung auf dem Laufband mit 10 cm/s und 20 cm/s. Zeitabschnitte mit kontinuierlichem Laufen wurden mit Hilfe eines halbautomatischen, selbstverfassten Matlab-Skriptes (Mathworks Natick, MA, USA) identifiziert und markiert. Es folgte eine zehnminütige Ableitung in Ruhe im Käfig, anschließend wurde LD injiziert und unmittelbar danach eine neue dreistündige LID-Ableitung gestartet. Nach genau 15 Minuten wurden die Tiere für 4 Minuten auf das Laufband transferiert (jeweils 2 min bei 10 cm/s und 20 cm/s) und kehrten dann für die restlichen 160 Minuten in den Aufzeichnungskäfig zurück. Die in dieser Zeit (Minuten 15 bis 20) abgeleiteten elektrophysiologischen Daten wurden von der anschließenden Analyse der Gamma-Oszillationen ausgeschlossen. Die Aufzeichnung erfolgte mit einer Abtastrate von 30 kHz und 800-facher Verstärkung, eine Referenzierung erfolgte gegen das ipsilaterale Zerebellum.

Die Quantifizierung der LID erfolgte mittels globaler Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS)⁷⁵. Für das Scoring wurden über einen Zeitraum von drei Stunden nach LD-Injektion alle 20 Minuten eine einminütige Nahaufnahme des Tieres angefertigt. Bewertet wurden axiale Dystonien mit nach kontralateral verdrehter Haltung des Körpers, orolinguale Dyskinesien mit stereotypen Bewegungen des Kiefers und der Zunge sowie Dyskinesien der vorderen Gliedmaße mit rhythmischen und ruckartigen Bewegungen der kontralateralen Pfote. Für jede dieser drei Kategorien wurden zwei Punktzahlen (für Ausprägung und Häufigkeit) von 0 bis 4 vergeben und miteinander verrechnet. Für die Berechnung der durchschnittlichen AIMS-Punktzahl einer individuellen dreistündigen Aufnahme wurde der Mittelwert der nach 60, 80, 100 und 120 Minuten nach LD-Gabe erhobenen AIMS-Punktzahlen herangezogen.

2.8 Datenanalyse

Die Datenanalyse erfolgte in Matlab und Python mittels selbstverfasstem Programmiercode unter Zuhilfenahme der Toolboxen fieldtrip⁹³ und FOOOF (*fitting oscillations & one over f*)⁹⁴.

Die ECoG-Daten wurden zunächst nach vorheriger Anti-Aliasing Tiefpassfilterung mit einer Rate von 500 Hz neu abgetastet. Artefakte wurden mit einer Fieldtrip-Routine zur automatischen Artefaktunterdrückung identifiziert und ausgeschlossen.

Die spektrale Leistungsdichte wurde mittels einer kontinuierlichen komplexen Wavelet-Transformation mit einem 6-Zyklus-Zeitfenster, 50 % Überlappung und Hanning-Taper (MTMCONV⁹³) berechnet. Die Leistungsspektren wurden für die Zeiten von 0 bis 10, 10 bis 30, 30 bis 50, 50 bis 70, 70 bis 90, 90 bis 110, 110 bis 130, 130 bis 150, 150 bis 170 und 170 bis 180 Minuten nach LD-Gabe gemittelt. Die resultierenden Leistungsspektren wurden anschließend jeweils in ihre aperiodische und oszillatorische Komponente aufgeteilt⁹⁴. Im Rahmen der FTG-Power-Analyse wurden anschließend die Fläche unter der Kurve (*area under the curve*, AUC) und die maximale Amplitude der oszillatorischen Komponente zwischen 70 und 140 Hz berechnet. Anstelle einer klassischen Frequenzanalyse mit Bestimmung der Frequenz mit der höchsten Amplitude innerhalb eines Frequenzbandes wurde die Schwerpunkt-Frequenz der spektralen Leistungsverteilung bestimmt. Der spektrale Schwerpunkt wird als leistungsgewichteter Mittelwert der Frequenzen in einem Spektrum berechnet (Siehe Formel 2, Güttler et al.⁸⁵, S.30, p.930). Er wird häufig im Bereich der Audio- und Sprachverarbeitung verwendet⁹⁵. In Fällen, in denen ein Leistungs-Peak ein Plateau oder eine Asymmetrie im Hintergrund-subtrahierten Leistungsspektrum aufweist, ist dieser Parameter zu bevorzugen, da er immer das Zentrum des Plateaus anzeigt und weniger störanfällig gegenüber Artefakten ist.

Zur Berechnung der gemittelten spektralen Schwerpunkt-Frequenz einer Aufnahme wurden die Leistungsspektren von 50 bis 130 Minuten nach LD-Gabe herangezogen. Die Frequenzverschiebung wurde als absolute Verschiebung der Schwerpunkt-Frequenz gegenüber der Schwerpunkt-Frequenz nach der ersten LD-Injektion berechnet.

Für die Burst-Analyse wurden zunächst die zehnmütigen ECoG-Daten in Ruhe vor LD-Gabe, sowie die dreistündige Aufnahme nach LD-Injektion mit einem Zero-Phase-Butterworth Bandpass-Filter zehnter Ordnung auf ± 5 Hz um die individuelle Schwerpunkt-Frequenz gefiltert. Anschließend wurde das Signal mittels Hilbert-Transformation in die komplex-analytische Form überführt und die Hüllkurve extrahiert. Diese Hüllkurve entspricht dem Momentanwert der Amplitude des gefilterten ECoG. Die Hüllkurve der individuellen Ruheaufnahme vor LD-Gabe wurde z-transformiert und die 75te Perzentile des Signals identifiziert⁴⁷. Die dreistündigen Aufnahmen nach LD-Gabe wurden mit Mittelwert und Varianz der unmittelbar vorhergehenden Aufnahmen in Ruhe z-transformiert. Ein Gamma-Burst bestand ab Überschreiten der vorher festgelegten 75ten Perzentile bis zum Unterschreiten derselben (vgl. Abb. S1, Güttler

et al.⁸⁵, S.38). Aus jedem einzelnen Burst wurden als Kennwerte die maximale Amplitude (Einheit: z-score) und die Dauer (Einheit: ms) extrahiert und in die Klassen 0 – 1, 1 – 2, 2 – 3 und >3 z-Werte über der 75ten Perzentile, sowie die Klassen 50 – 100, 100 – 150, 150 – 200 und > 200 ms Dauer eingeteilt. Mit den relativen Häufigkeiten dieser Klassen sowie der FTG-Power wurden anschließend nicht-parametrische Rangkorrelationen nach Spearman mit den jeweils zeitgleich erhobenen AIMS-Punktzahlen durchgeführt.

2.9 Modellierung

Zunächst wurde die Klassifikatorperformance einer reinen Grenzwertsetzung der FTG-Power zwecks Dyskinesie Detektion⁹⁶ mit AIMS > 0 bestimmt. Hierzu wurde die AUC der Receiver-Operating-Kurve (ROC) mit 95 % Bootstrap-Konfidenzintervallen (nboot = 1000) berechnet. Mit dem Ziel, die Klassifikatorperformance zu steigern, wurde als nächstes eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) mit den zuvor identifizierten Parametern (Relative Häufigkeit der kleinsten und größten Bursts, relative Häufigkeit der kürzesten und längsten Bursts, FTG-Power, Schwerpunkt-Frequenz) durchgeführt. Alle Parameter wurden vor Eingang in die PCA z-transformiert. Eine Dimensionalitätsreduktion wurde durch Selektion der Hauptkomponenten mit den höchsten Eigenwerten bis zu einer kombinierten erklärten Varianz von 95 % erreicht. Mit den so selektionierten Hauptkomponenten wurde ein generalisiertes lineares Modell mit Logit-Kopplungsfunktion (fitglm(), Matlab) auf die binären Antwortvariablen AIMS > 0 oder AIMS > 3 angewendet und 10-fach kreuzvalidiert.

2.10 Histologie und Immunhistologie

Die Hirnentnahme erfolgte nach transkardialer Perfusion mit auf 4° C gekühlter phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, 0,1 M) gefolgt von 4 % Paraformaldehyd (PFA) in PBS. Nach dreitägiger Saccharose-Kryopräservierung wurde das Gewebe bei -80 °C eingefroren. Mit einem Kryomikrotom (Leica, Deutschland) wurden 40 µm dicke koronare Schnitte angefertigt. Die Elektrodenverläufe wurden anhand von Nisslgefärbten Schnitten ausgewertet. Die dopaminergen SNpc-Zellen wurden immunhistochemisch mittels 3,3'-Diaminobenzidin-Färbung (DAB) für Tyrosinhydroxylase (TH) dargestellt. Hierfür wurden je fünf koronare Schnitte entlang der AP-Achse der SNpc mit einem primären anti-TH Maus-Antikörper (1:10.000, Sigma, T1299), gefolgt von einem sekundären biotinylierten Anti-Maus-Antikörper

(1:200, Vector BA-200, Vector Laboratories, Burlingame CA) inkubiert. Eine Färbung wurde durch Zugabe des Avidin-Biotin-Enzymkonjugates sowie des DAB-Substrates erreicht. Nach Objektträger-Fixierung wurden die markierten SNpc-Zellen manuell an einem konfokalen Mikroskop ausgezählt (Leica SPE, Leica Microsystems, Wetzlar Deutschland).

3 Ergebnisse

3.1 Validierung des 6-OHDA-Modells

Das hier angewandte LID-Modell⁷⁵ setzt ein hochgradiges Dopamin-Defizit voraus. Das Ausmaß des Dopamin-Defizits wurde sowohl mittels motorischer Testung als auch immunhistochemisch verifiziert. Nach Injektion von 8 µg 6-OHDA in das MFB zeigte sich in der motorischen Testung mittels Zylindertest eine signifikante Minderbenutzung der zur Läsion kontralateralen Pfote (Reduktion auf $19 \pm 7 \%$, $p \leq 0,005$). Ein Tier wies eine gemäß der Einschlusskriterien⁷⁵ unzureichende motorische Beeinträchtigung auf und wurde von weiteren Analysen ausgeschlossen. Durch LD-Gabe konnte das motorische Defizit deutlich reduziert werden (Reduktion auf $85 \pm 26 \%$, $p \leq 0,05$). Immunhistochemisch zeigte sich ein ausgeprägter Verlust von TH-postiven Zellen der ipsilateralen SNpc ($p \leq 0,0005$). Auch ließen sich die IPS typischen^{77,97} Beta-Oszillationen im M1-ECoG reproduzieren und durch LD-Gabe unterdrücken⁷⁹ ($p < 0,001$, siehe Abb. S2B, Güttler et al.⁸⁵, S.38).

3.2 Levodopa führt zu einer verstärkten Gamma-Aktivität

LD (15 mg/kg) wurde, zusammen mit dem L-DOPA-Decarboxylasehemmer Benserazid, täglich über einen Zeitraum von drei Wochen verabreicht. In den M1 ECoG-Ableitungen zeigte sich bereits nach der ersten Injektion eine auffällige und eng umschriebene Gamma-Oszillation ($3,1 \pm 0,9$ AUC), deren Amplitude sich bis zur vierten Injektion deutlich steigerte ($9,9 \pm 3,3$ AUC). Hiernach wurde ein stabiles Plateau erreicht. Diese FTG-Oszillationen begannen jeweils etwa 30 Minuten nach LD-Injektion und ließen sich über einen Zeitraum von zwei Stunden nachweisen. In Abb. 2 (S.32, p.932) von Güttler et al.⁸⁵ ist die zeitliche Entwicklung einer FTG-Oszillation graphisch dargestellt. Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen FTG-Ausprägung blieb mit $80,2 \pm 4,2$ Minuten unter wiederholten LD-Gaben konstant ($p > 0,05$).

Die FTG-Frequenz betrug im Mittel 97 Hz (84 – 113 Hz) und zeigte eine nur geringe Modulation innerhalb einer individuellen Aufnahme. Ein Vergleich der Mittelwerte der FTG-Frequenz ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der ersten und den konsekutiven LD-Injektionen. Dies lässt sich mit der Beobachtung erklären, dass jedes Tier eine individuell bevorzugte FTG-Frequenz aufweist. Daraufhin wurde die Frequenzverschiebung relativ zu der nach der ersten LD-Gabe festgestellten FTG-Frequenz desselben Tieres untersucht und ein hochsignifikanter linearer Trend hin zu höheren Frequenzen festgestellt ($p \leq 0,0001$). Interessanterweise schien die Gabe von Dopaminantagonisten keinen Effekt auf diese Frequenzverschiebung zu haben, obschon Klinik und FTG-Power deutlich beeinflusst wurden (FTG-Power LD21: $7,47 \pm 1,98$ AUC; RACLO: $1,97 \pm 0,90$ AUC; HALO: $0,84 \pm 0,73$ AUC).

Da Oszillationen einer temporalen Dynamik unterliegen und deren Modulation eine (patho-) physiologische Bedeutung zugemessen wird^{47,98}, wurde mit den hier vorliegenden ECoG-Daten eine Gamma-Burst Analyse durchgeführt. Hierbei wird die Amplituden-Hüllkurve der FTG-Oszillation mittels Filter-Hilbert Methode extrahiert. Ein Burst ist das zeitliche Segment der Oszillation bei der ein vorher definierter Grenzwert überschritten wird. LD führte insgesamt zu häufigeren ($3,24 \pm 0,16$ /s vs. $2,75 \pm 0,01$ /s, $p \leq 0,01$), stärkeren ($0,82 \pm 0,03$ z-score vs. $2,51 \pm 0,26$ z-score, $p \leq 0,0001$) und längeren (220 ± 36 ms vs. 91 ± 1 ms, $p \leq 0,0001$) Bursts. Es zeigte sich, wie auch bei Beta-Bursts bekannt⁴⁷, eine deutliche Korrelation von Burstlänge und -amplitude (Spearman's rho = 0,85, $p \leq 0,0001$). Eine Klasseneinteilung gemäß Burstlänge und -amplitude zeigte über alle Zeitpunkte hinweg bestehende hochsignifikante Veränderungen. Während in den Baseline-Ableitungen kurze Bursts mit kleinen Amplituden dominierten, verschob sich die Verteilung unter LD hin zu längeren Bursts mit höheren Amplituden. Signifikante Häufigkeitsunterschiede zeigten sich für die Klassen der sehr kurzen (50 – 100 ms), sehr langen (> 200 ms), sehr flachen (0 – 1 z-score) und sehr hohen (> 3 z-score) Bursts. Einzig der Anteil der höchsten Bursts fiel, obschon weiterhin signifikant gegenüber der Baseline-Aufnahme erhöht ($p \leq 0,05$), gegenüber dem nach der vierten Injektion erreichten Maximum signifikant ab (LD4: $44,7 \pm 13,2$ %; LD21: $22,7 \pm 6,0$ %; $p \leq 0,05$). Sowohl die Gabe des D1-Rezeptor Antagonisten HALO als auch die Gabe des D2-Rezeptor Antagonisten RACLO führte zu einer vollständigen Normalisierung der Burst-Verteilung ($p > 0,05$).

3.3 LD führt zu progredienten LID

LID wurden nach vollständiger Ausbildung des dopaminergen Defizits durch die tägliche Gabe von LD (15 mg/kg, s.c.) hervorgerufen. Die globale AIMS-Punktzahl⁷⁵ wurde alle 20 Minuten über den Zeitraum von drei Stunden parallel zu den unmittelbar nach LD-Gabe gestarteten elektrophysiologischen Ableitungen erhoben. Die durchschnittliche AIMS-Punktzahl einer individuellen dreistündigen Aufnahme wurde durch Bildung des Mittelwertes der AIMS-Punktzahlen von 60 bis 120 Minuten berechnet. Die erste Injektion führte zu einem geringen Anstieg der AIMS-Punktzahl, die Tiere zeigten vor allem dyskinetische repetitive Bewegungen der Vorderpfoten (AIMS $3,90 \pm 2,63$). Mit der vierten LD-Injektion wurde ein Plateau der nun maximal ausgebildeten LID erreicht (LD4: $18,43 \pm 5,04$; LD10: $21,90 \pm 5,60$; LD16: $19,00 \pm 5,13$; LD21: $19,68 \pm 5,52$). Durch vorherige Gabe von Dopaminantagonisten, insbesondere dem D2-Antagonisten RACLO, konnten die Dyskinesien teilweise unterdrückt werden (RACLO: $4,05 \pm 1,55$, $p \leq 0,005$; HALO: $9,15 \pm 3,64$, $p > 0,05$). Für eine graphische Darstellung des Verlaufs der Dyskinesien siehe Abb. 2, Güttler et al.⁸⁵ (S.32, p.932).

3.4 Die Gamma-Parameter korrelieren mit den Dyskinesien

Die bisher identifizierten elektrophysiologischen Parameter wurden nicht-parametrisch mit den jeweils zeitgleich erhobenen AIMS-Punktzahlen korreliert. Die stärkste Korrelation zeigte sich zwischen dem Anteil der längsten Bursts und den AIMS-Werten ($\rho = 0,80$, $p \leq 0,0001$). Auch die FTG-Power korrelierte signifikant und über alle LD-Gaben hinweg mit den jeweiligen AIMS-Werten ($\rho = 0,75$, $p \leq 0,0001$). Die vorherige Gabe von Dopaminantagonisten hob diese Korrelation auf (RACLO/HALO: $p > 0,05$). Die FTG-Frequenz ($\rho = 0,54$, $p \leq 0,005$) sowie der Anteil der höchsten Bursts ($\rho = 0,60$, $p \leq 0,0001$) zeigten einen schwächeren Zusammenhang mit der AIMS-Punktzahl.

3.5 Die Gamma-Burst Parameter sind bei der LID-Detektion überlegen

Ein Biomarker muss, sofern er in der Klinik zur Anwendung kommen soll, sowohl eine hohe Sensitivität als auch Spezifität für den zu detektierenden Gegenstand aufweisen. Eine etablierte und häufig angewandte Methode zur Bestimmung der diagnostischen Güte ist die ROC Analyse⁹⁹. Mit dieser Methode wurde als nächstes die Zuverlässigkeit getestet, mit der sich ein dyskinetischer Zustand anhand der reinen M1-ECoG-Daten identifizieren lässt. Die Vorhersage, ob ein dyskinetischer Zustand mit einer AIMS-

Punktzahl > 0 vorliegt, gelang mit Hilfe der FTG-Power als Biomarker mit einer ROC-AUC von 0,86. Im Zuge der vorhergehenden Analyse stellte sich heraus, dass Burst-Parameter eine, gegenüber der Power, höhere Korrelation mit AIMS-Werten aufweisen können und somit das ECoG-Signal relevante Informationen enthält, die sich nicht in den Leistungsspektren finden lässt. Um eine verbesserte Detektion zu ermöglichen, wurde mit Hilfe der extrahierten Burst-Parameter sowie der Leistungsspektren ein GLM mit logistischer Regression erstellt. Vor Eingabe in das Modell wurde eine Dimensionalitätsreduktion mittels PCA (Eigenwerte: PC1: 4,49, PC2: 1,04, und PC3: 0,21) durchgeführt. Das GLM wies für die Detektion von AIMS > 0 eine verbesserte ROC-AUC von 0,89 auf. Insbesondere die Spezifität profitierte von diesem Vorgehen und erreichte 82 %. Bei einer Falsch-Positiv-Rate von 0,1 erreichte das GLM eine, gegenüber der FTG-Power als Klassifikator, deutlich verbesserte Sensitivität (GLM: 78 %, FTG-Power: 68 %). Unter der Annahme, dass die Detektion von moderaten und schweren Dyskinesien klinisch im Vordergrund steht, wurde das GLM in Hinblick auf die Detektion von AIMS > 3 getestet. Dies führte zu einer herausragenden ROC-AUC von 0,97 mit einer Sensitivität von 94 % und Spezifität von 92 %.

4 Diskussion

Diese Studie konnte im Tiermodell zeigen, dass mit LID einhergehende pathologische Gamma-Oszillationen des Motorkortex mit zeitgleich erhobenen AIMS-Scores korrelieren. Dies ist wichtig, da es hierfür bisher nur begrenzte Evidenz gab. Die tägliche Gabe von LD führte zu ausgeprägten kortikalen Oszillationen, die bei Patienten mit LID nur in Ausnahmefällen⁷⁴ untersucht werden können. Da gezeigt werden konnte, dass die LD-induzierte Gamma-Aktivität im Motorkortex die höchsten Werte annimmt^{74,79}, und eben jenem Kortex eine zentrale Rolle in der Pathogenese der LID im Sinne einer gemeinsamen Endstrecke zugesprochen wird⁶¹, sind Untersuchungen im Tiermodell wie hier geschehen notwendig. Die Unterscheidung zwischen physiologischer Gamma-Aktivierung im Rahmen von willkürlicher Motorik und den unwillkürlichen Dyskinesien gelang durch Ableitung der kortikalen Aktivität im Laufband-Versuch. Es zeigte sich auch bei schneller Bewegung keine mit FTG vergleichbare Gamma-Aktivierung. Die vorliegenden Daten zeigen, dass die FTG-Power nach der vierten Injektion ein Plateau erreichte. Die FTG-Frequenzen stiegen

jedoch über einen Zeitraum von drei Wochen kontinuierlich an. Auch die Gabe von Dopaminantagonisten, wobei mit RACLO zum ersten Mal eine FTG-Unterdrückung durch D2-Antagonisten gezeigt werden konnte, führte zu keiner Unterbrechung dieser Entwicklung. Dies ist eine interessante Beobachtung und könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Frequenz der pathologischen Oszillation ein indirektes Maß für zugrundeliegende, nicht akut-reversible Umbauprozesse ist. Ob diese in Kortex, Thalamus, STR oder Zerebellum lokalisiert sind, lässt sich mit der hier angewandten Methodik nicht eruieren und sollte in weiteren Studien untersucht werden. Die Studie von Swann et al.⁷⁴ zeigte eine Kopplung der FTG-Frequenz an die halbe STN-THS Stimulations-Frequenz: die patienteneigene FTG-Frequenz verringerte sich in dieser Studie nach Einschalten einer 130 Hz Stimulation um 10 Hz auf 65 Hz. Es könnte im Rahmen weiterer Studie untersucht werden, ob das Wissen um die patienteneigene intrinsische FTG-Frequenz zusätzlich genutzt werden kann, um die Stimulationsfrequenz mit dem niedrigsten Risiko für stimulationsinduzierte Dyskinesien zu identifizieren. Hierzu sollte eine Stimulationsfrequenz gewählt werden, deren Grundfrequenz und Subharmonien möglichst weit von der intrinsischen FTG-Frequenz entfernt sind.

Zusätzlich konnte in der vorliegenden Studie zum ersten Mal gezeigt werden, dass kortikales FTG in Bursts auftritt. Obwohl die FTG-Power eine deutliche Korrelation mit den AIMS-Punktzahlen aufwies, zeigte sich die Burst-Dauer diesbezüglich überlegen. Eine analoge Feststellung wurde bereits für Beta-Bursts getroffen^{47,49}. Aktuell zeichnet sich ab, dass aTHS mit Anpassung der Stimulationsparameter an in Echtzeit evaluierte elektrophysiologische Biomarker das Potential dazu hat, die konventionelle THS zu übertreffen. Die im Rahmen von Forschungsprojekten bisher zur Anwendung kommenden aTHS-Systeme nutzen die aus dem STN abgeleitete Beta-Aktivität als Biomarker der Akinese und konnten damit erste Erfolge aufweisen^{82-84,100}. Die meisten Patienten werden jedoch auch nach Beginn einer THS-Therapie mit dopaminergen Medikamenten behandelt. Somit besteht der klinische Bedarf an verlässlichen aTHS-Geräten mit der Fähigkeit eine LID zu erkennen und die Stimulation entsprechend anzupassen. Durch Inklusion der Burst-Parameter in ein GLM konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Erkennung von LID mit M1-ECOG-Daten mit hoher Sensitivität und Spezifität möglich ist. Da diese Daten im Tiermodell mit kleiner Fallzahl generiert wurden, sollte die Anwendbarkeit von Burst-Parametern zur LID-Erkennung in weiteren Studien validiert werden.

Literaturverzeichnis

1. Tysnes, O.-B. & Storstein, A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 124, 901–905 (2017).
2. Armstrong, M. J. & Okun, M. S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA* 323, 548 (2020).
3. Chaudhuri, K. R., Yates, L. & Martinez-Martin, P. The non-motor symptom complex of Parkinson's disease: A comprehensive assessment is essential. *Curr Neurol Neurosci Rep* 5, 275–283 (2005).
4. Dickson, D. W. Neuropathology of Parkinson disease. *Parkinsonism & Related Disorders* 46, S30–S33 (2018).
5. Shahmoradian, S. H., Lewis, A. J., Genoud, C., Hench, J., Moors, T. E., Navarro, P. P., Castaño-Díez, D., Schweighauser, G., Graff-Meyer, A., Goldie, K. N., Sütterlin, R., Huisman, E., Ingrassia, A., Gier, Y. de, Rozemüller, A. J. M., Wang, J., Paepe, A. D., Erny, J., Staempfli, A., Hoernschemeyer, J., Großrüschkamp, F., Niedieker, D., El-Mashtoly, S. F., Quadri, M., Van Ijcken, W. F. J., Bonifati, V., Gerwert, K., Bohrmann, B., Frank, S., Britschgi, M., Stahlberg, H., Van de Berg, W. D. J. & Lauer, M. E. Lewy pathology in Parkinson's disease consists of crowded organelles and lipid membranes. *Nat Neurosci* 22, 1099–1109 (2019).
6. *Handbook of basal ganglia structure and function*. (Elsevier/Academic Press, 2017).
7. Alexander, G. E., Crutcher, M. D. & DeLong, M. R. in *Progress in Brain Research* 85, 119–146 (Elsevier, 1991).
8. DeLong, M. & Wichmann, T. Changing Views of Basal Ganglia Circuits and Circuit Disorders. *Clin EEG Neurosci* 41, 61–67 (2010).
9. Lanciego, J. L., Luquin, N. & Obeso, J. A. Functional Neuroanatomy of the Basal Ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2, a009621–a009621 (2012).
10. Fries, P. Rhythms for Cognition: Communication through Coherence. *Neuron* 88, 220–235 (2015).
11. Berger, H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv f. Psychiatrie* 87, 527–570 (1929).
12. Limousin, P., Krack, P., Pollak, P., Benazzouz, A., Ardouin, C., Hoffmann, D. & Benabid, A.-L. Electrical Stimulation of the Subthalamic Nucleus in Advanced Parkinson's Disease. *N Engl J Med* 339, 1105–1111 (1998).
13. Weaver, F. M., Follett, K., Stern, M., Hur, K., Harris, C., Marks, W. J., Rothlind, J., Sagher, O., Reda, D., Moy, C. S., Pahwa, R., Burchiel, K., Hogarth, P., Lai, E. C., Duda, J. E., Holloway, K., Samii, A., Horn, S., Bronstein, J., Stoner, G., Heemskerk, J., Huang, G. D., & CSP 468 Study Group. Bilateral deep brain stimulation vs best medical therapy for patients with advanced Parkinson disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 301, 63–73 (2009).
14. Buzsáki, G., Anastassiou, C. A. & Koch, C. The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci* 13, 407–420 (2012).
15. Brown, P. Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Current Opinion in Neurobiology* 17, 656–664 (2007).
16. Stein, E. & Bar-Gad, I. Beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop during parkinsonism. *Experimental Neurology* 245, 52–59 (2013).
17. Neumann, W.-J., Degen, K., Schneider, G.-H., Brücke, C., Huebl, J., Brown, P. & Kühn, A. A. Subthalamic synchronized oscillatory activity correlates with motor impairment in patients with Parkinson's disease: Correlation of Subthalamic B Oscillations and PD Symptoms. *Mov Disord.* 31, 1748–1751 (2016).
18. Neumann, W.-J., Staub-Bartelt, F., Horn, A., Schanda, J., Schneider, G.-H., Brown, P. & Kühn, A. A. Long term correlation of subthalamic beta band activity with motor impairment in patients with Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology* 128, 2286–2291 (2017).
19. Neumann, W.-J. & Kühn, A. A. Subthalamic beta power-Unified Parkinson's disease rating scale III correlations require akinetic symptoms: Subthalamic Beta in PD. *Mov Disord.* 32, 175–176 (2017).
20. Kühn, A. A., Tsui, A., Aziz, T., Ray, N., Brücke, C., Kupsch, A., Schneider, G.-H. & Brown, P. Pathological synchronisation in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease relates to both bradykinesia and rigidity. *Experimental Neurology* 215, 380–387 (2009).
21. Levy, R., Ashby, P., Hutchison, W. D., Lang, A. E., Lozano, A. M. & Dostrovsky, J. O. Dependence of subthalamic nucleus oscillations on movement and dopamine in Parkinson's disease. *Brain* 125, 1196–1209 (2002).
22. Priori, A., Foffani, G., Pesenti, A., Tamma, F., Bianchi, A., Pellegrini, M., Locatelli, M., Moxon, K. & Villani, R. Rhythm-specific pharmacological modulation of subthalamic activity in Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 189, 369–379 (2004).
23. 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 & Psychiatry* 82, 569–573 (2011).
24. Mallet, N., Pogosyan, A., Marton, L. F., Bolam, J. P., Brown, P. & Magill, P. J. Parkinsonian Beta Oscillations in the External Globus Pallidus and Their Relationship with Subthalamic Nucleus Activity. *Journal of Neuroscience* 28, 14245–14258 (2008).
25. Mallet, N., Pogosyan, A., Sharott, A., Csicsvari, J., Bolam, J. P., Brown, P. & Magill, P. J. Disrupted Dopamine Transmission and the Emergence of Exaggerated Beta Oscillations in Subthalamic Nucleus and Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience* 28, 4795–4806 (2008).

26. Beck, M. H., Haumesser, J. K., Kühn, J., Altschüler, J., Kühn, A. A. & van Riesen, C. Short- and long-term dopamine depletion causes enhanced beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop of parkinsonian rats. *Experimental Neurology* 286, 124–136 (2016).
27. Leblois, A., Meissner, W., Bioulac, B., Gross, C. E., Hansel, D. & Boraud, T. Late emergence of synchronized oscillatory activity in the pallidum during progressive parkinsonism: Pallidal activity during progressive parkinsonism. *European Journal of Neuroscience* 26, 1701–1713 (2007).
28. Avila, I., Parr-Brownlie, L. C., Brazhnik, E., Castañeda, E., Bergstrom, D. A. & Walters, J. R. Beta frequency synchronization in basal ganglia output during rest and walk in a hemiparkinsonian rat. *Experimental Neurology* 221, 307–319 (2010).
29. Ungerstedt, U. 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 5, 107–110 (1968).
30. Blandini, F., Levandis, G., Bazzini, E., Nappi, G. & Armentero, M.-T. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastriatal injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model. *Eur J Neurosci* 25, 397–405 (2007).
31. Blandini, F. & Armentero, M.-T. Animal models of Parkinson's disease: Animal models of Parkinson's disease. *FEBS Journal* 279, 1156–1166 (2012).
32. Porras, G., Li, Q. & Bezaud, E. Modeling Parkinson's Disease in Primates: The MPTP Model. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2, a009308–a009308 (2012).
33. Brazhnik, E., Novikov, N., McCoy, A. J., Cruz, A. V. & Walters, J. R. Functional correlates of exaggerated oscillatory activity in basal ganglia output in hemiparkinsonian rats. *Experimental Neurology* 261, 563–577 (2014).
34. Delaville, C., Cruz, A. V., McCoy, A. J., Brazhnik, E., Avila, I., Novikov, N. & Walters, J. R. Oscillatory activity in basal ganglia and motor cortex in an awake behaving rodent model of Parkinson's disease. *Basal Ganglia* 3, 221–227 (2014).
35. Kühn, A. A., Kupsch, A., Schneider, G.-H. & Brown, P. Reduction in subthalamic 8-35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease: STN activity and motor improvement. *European Journal of Neuroscience* 23, 1956–1960 (2006).
36. Kühn, A. A., Kempf, F., Brucke, C., Gaynor Doyle, L., Martinez-Torres, I., Pogosyan, A., Trottenberg, T., Kupsch, A., Schneider, G.-H., Hariz, M. I., Vandenberghe, W., Nuttin, B. & Brown, P. High-Frequency Stimulation of the Subthalamic Nucleus Suppresses Oscillatory Activity in Patients with Parkinson's Disease in Parallel with Improvement in Motor Performance. *Journal of Neuroscience* 28, 6165–6173 (2008).
37. Ray, N. J., Jenkinson, N., Wang, S., Holland, P., Brittain, J. S., Joint, C., Stein, J. F. & Aziz, T. Local field potential beta activity in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease is associated with improvements in bradykinesia after dopamine and deep brain stimulation. *Experimental Neurology* 213, 108–113 (2008).
38. Chen, C. C., Lin, W. Y., Chan, H. L., Hsu, Y. T., Tu, P. H., Lee, S. T., Chiou, S. M., Tsai, C. H., Lu, C. S. & Brown, P. Stimulation of the subthalamic region at 20Hz slows the development of grip force in Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 231, 91–96 (2011).
39. Pogosyan, A., Gaynor, L. D., Eusebio, A. & Brown, P. Boosting Cortical Activity at Beta-Band Frequencies Slows Movement in Humans. *Current Biology* 19, 1637–1641 (2009).
40. Kilner, J. M., Salenius, S., Baker, S. N., Jackson, A., Hari, R. & Lemon, R. N. Task-Dependent Modulations of Cortical Oscillatory Activity in Human Subjects during a Bimanual Precision Grip Task. *NeuroImage* 18, 67–73 (2003).
41. Kühn, A. A., Williams, D., Kupsch, A., Limousin, P., Hariz, M., Schneider, G., Yarrow, K. & Brown, P. Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance. *Brain* 127, 735–746 (2004).
42. Doyle, L. M. F., Kühn, A. A., Hariz, M., Kupsch, A., Schneider, G.-H. & Brown, P. Levodopa-induced modulation of subthalamic beta oscillations during self-paced movements in patients with Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience* 21, 1403–1412 (2005).
43. Engel, A. K. & Fries, P. Beta-band oscillations—signalling the status quo? *Current Opinion in Neurobiology* 20, 156–165 (2010).
44. Gilbertson, T. Existing Motor State Is Favored at the Expense of New Movement during 13-35 Hz Oscillatory Synchrony in the Human Corticospinal System. *Journal of Neuroscience* 25, 7771–7779 (2005).
45. Feingold, J., Gibson, D. J., DePasquale, B. & Graybiel, A. M. Bursts of beta oscillation differentiate postperformance activity in the striatum and motor cortex of monkeys performing movement tasks. *Proc Natl Acad Sci USA* 112, 13687–13692 (2015).
46. Spitzer, B. & Haegens, S. Beyond the Status Quo: A Role for Beta Oscillations in Endogenous Content (Re)Activation. *eNeuro* 4, ENEURO.0170-17.2017 (2017).
47. Tinkhauser, G., Pogosyan, A., Tan, H., Herz, D. M., Kühn, A. A. & Brown, P. Beta burst dynamics in Parkinson's disease OFF and ON dopaminergic medication. *Brain* 140, 2968–2981 (2017).
48. Tinkhauser, G., Pogosyan, A., Little, S., Beudel, M., Herz, D. M., Tan, H. & Brown, P. The modulatory effect of adaptive deep brain stimulation on beta bursts in Parkinson's disease. *Brain* 140, 1053–1067 (2017).
49. Deffains, M., Iskhakova, L., Katabi, S., Israel, Z. & Bergman, H. Longer β oscillatory episodes reliably identify pathological subthalamic activity in Parkinsonism: Longer STN β Episodes Are a PD Biomarker. *Mov Disord.* 33, 1609–1618 (2018).
50. Lofredi, R., Neumann, W., Brücke, C., Huebl, J., Krauss, J. K., Schneider, G. & Kühn, A. A. Pallidal beta bursts in Parkinson's disease and dystonia. *Mov Disord.* 34, 420–424 (2019).
51. Katzenschlager, R. & Lees, A. J. Treatment of Parkinson's disease: levodopa as the first choice. *Journal of Neurology* 249, 1–1 (2002).

52. Connolly, B. S. & Lang, A. E. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA* 311, 1670 (2014).
53. Hametner, E., Seppi, K. & Poewe, W. The clinical spectrum of levodopa-induced motor complications. *J Neurol* 257, 268–275 (2010).
54. Perez-Lloret, S., Negre-Pages, L., Damier, P., Delval, A., Derkinderen, P., Destée, A., Meissner, W. G., Tison, F., Rascol, O., & of the COPARK Study Group. L-DOPA-induced dyskinesias, motor fluctuations and health-related quality of life: the COPARK survey. *Eur J Neurol* 24, 1532–1538 (2017).
55. Sharma, J. C., Ross, I. N., Rascol, O. & Brooks, D. Relationship between weight, levodopa and dyskinesia: the significance of levodopa dose per kilogram body weight. *Eur J Neurol* 15, 493–496 (2008).
56. Fahn, S. Levodopa and the Progression of Parkinson's Disease. *The New England Journal of Medicine* 11 (2004).
57. Chondrogiorgi, M., Tatsioni, A., Reichmann, H. & Konitsiotis, S. Dopamine agonist monotherapy in Parkinson's disease and potential risk factors for dyskinesia: a metaanalysis of levodopacontrolled trials. *European Journal of Neurology* 8 (2013).
58. Deuschl, G., Krack, P., Bötzel, K., Dillmann, U., Gruber, D., Hilker, R., Koy, J., Lorenz, D., Mehdorn, H. M., Oertel, W., Reichmann, H., Schneider, G.-H., Steude, U., Tronnier, V., Wolf, E. & Voges, J. A Randomized Trial of Deep-Brain Stimulation for Parkinson's Disease. *n engl j med* 13 (2006).
59. Krack, P., Batir, A., Van Blercom, N., Chabardes, S., Fraix, V., Ardouin, C., Koudsie, A., Limousin, P. D., Benazzouz, A., LeBas, J. F., Benabid, A.-L. & Pollak, P. Five-Year Follow-up of Bilateral Stimulation of the Subthalamic Nucleus in Advanced Parkinson's Disease. *N Engl J Med* 349, 1925–1934 (2003).
60. Bezard, E., Brotchie, J. M. & Gross, C. E. Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: Potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci* 2, 577–588 (2001).
61. Cenci, M. A., Jörntell, H. & Petersson, P. On the neuronal circuitry mediating L-DOPA-induced dyskinesia. *J Neural Transm* 125, 1157–1169 (2018).
62. Kishore, A. & Popa, T. Cerebellum in Levodopa-Induced Dyskinesias: The Unusual Suspect in the Motor Network. *Front. Neurol.* 5, (2014).
63. Brown, P., Oliviero, A., Mazzone, P., Insola, A., Tonali, P. & Di Lazzaro, V. Dopamine Dependency of Oscillations between Subthalamic Nucleus and Pallidum in Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 21, 1033–1038 (2001).
64. Cagnan, H., Kuhn, A. A. & Brown, P. Co-modulation of finely tuned high-gamma band activity across hemispheres in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology* 125, 777–785 (2014).
65. Fogelson, N., Pogosyan, A., Kühn, A. A., Kupsch, A., van Bruggen, G., Speelman, H., Tijssen, M., Quararone, A., Insola, A., Mazzone, P., Di Lazzaro, V., Limousin, P. & Brown, P. Reciprocal interactions between oscillatory activities of different frequencies in the subthalamic region of patients with Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience* 22, 257–266 (2005).
66. Alegre, M., Alonso-Frech, F., Rodríguez-Oroz, M. C., Guridi, J., Zamarbide, I., Valencia, M., Manrique, M., Obeso, J. A. & Artieda, J. Movement-related changes in oscillatory activity in the human subthalamic nucleus: ipsilateral vs. contralateral movements. *European Journal of Neuroscience* 22, 2315–2324 (2005).
67. Cassidy, M., Mazzone, P., Oliviero, A., Insola, A., Tonali, P., Lazzaro, V. D. & Brown, P. Movement-related changes in synchronization in the human basal ganglia. *Brain* 125, 1235–1246 (2002).
68. Kempf, F., Brücke, C., Salih, F., Trottenberg, T., Kupsch, A., Schneider, G.-H., Doyle Gaynor, L. M. F., Hoffmann, K.-T., Vesper, J., Wöhrle, J., Altenmüller, D.-M., Krauss, J. K., Mazzone, P., Di Lazzaro, V., Yelnik, J., Kühn, A. A. & Brown, P. Gamma activity and reactivity in human thalamic local field potentials. *European Journal of Neuroscience* 29, 943–953 (2009).
69. Chen, C. C., Kuhn, A. A., Hoffmann, K.-T., Kupsch, A., Schneider, G.-H., Trottenberg, T., Krauss, J. K., Wöhrle, J. C., Bardinet, E., Yelnik, J. & Brown, P. Oscillatory pallidal local field potential activity correlates with involuntary EMG in dystonia. *Neurology* 66, 418–420 (2006).
70. Miocinovic, S., Swann, N. C., de Hemptinne, C., Miller, A., Ostrem, J. L. & Starr, P. A. Cortical gamma oscillations in isolated dystonia. *Parkinsonism & Related Disorders* 49, 104–105 (2018).
71. Alonso-Frech, F. Slow oscillatory activity and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Brain* 129, 1748–1757 (2006).
72. Lopez-Azcarate, J., Tainta, M., Rodríguez-Oroz, M. C., Valencia, M., Gonzalez, R., Guridi, J., Iriarte, J., Obeso, J. A., Artieda, J. & Alegre, M. Coupling between Beta and High-Frequency Activity in the Human Subthalamic Nucleus May Be a Pathophysiological Mechanism in Parkinson's Disease. *Journal of Neuroscience* 30, 6667–6677 (2010).
73. Alegre, M., López-Azcárate, J., Alonso-Frech, F., Rodríguez-Oroz, M. C., Valencia, M., Guridi, J., Artieda, J. & Obeso, J. A. Subthalamic activity during diphasic dyskinesias in Parkinson's disease: Subthalamic Activity in Diphasic Dyskinesias. *Mov. Disord.* 27, 1178–1181 (2012).
74. Swann, N. C., de Hemptinne, C., Miocinovic, S., Qasim, S., Wang, S. S., Ziman, N., Ostrem, J. L., San Luciano, M., Galifianakis, N. B. & Starr, P. A. Gamma Oscillations in the Hyperkinetic State Detected with Chronic Human Brain Recordings in Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 36, 6445–6458 (2016).
75. Cenci, M. A. & Lundblad, M. Ratings of L-DOPA-Induced Dyskinesia in the Unilateral 6-OHDA Lesion Model of Parkinson's Disease in Rats and Mice. *Current Protocols in Neuroscience* 41, (2007).
76. Halje, P., Tamte, M., Richter, U., Mohammed, M., Cenci, M. A. & Petersson, P. Levodopa-Induced Dyskinesia Is Strongly Associated with Resonant Cortical Oscillations. *Journal of Neuroscience* 32, 16541–16551 (2012).

77. Dupre, K. B., Cruz, A. V., McCoy, A. J., Delaville, C., Gerber, C. M., Eyring, K. W. & Walters, J. R. Effects of L-dopa priming on cortical high beta and high gamma oscillatory activity in a rodent model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease* 86, 1–15 (2016).
78. Salvadè, A., D'Angelo, V., Di Giovanni, G., Tinkhauser, G., Sancesario, G., Städler, C., Möller, J. C., Stefani, A., Kaelin-Lang, A. & Galati, S. Distinct roles of cortical and pallidal β and γ frequencies in hemiparkinsonian and dyskinetic rats. *Experimental Neurology* 275, 199–208 (2016).
79. Kühn, J., Haumesser, J. K., Beck, M. H., Altschüler, J., Kühn, A. A., Nikulin, V. V. & van Riesen, C. Differential effects of levodopa and apomorphine on neuronal population oscillations in the cortico-basal ganglia loop circuit in vivo in experimental parkinsonism. *Experimental Neurology* 298, 122–133 (2017).
80. Lofredi, R., Neumann, W.-J., Bock, A., Horn, A., Huebl, J., Siegert, S., Schneider, G.-H., Krauss, J. K. & Kühn, A. A. Dopamine-dependent scaling of subthalamic gamma bursts with movement velocity in patients with Parkinson's disease. *eLife* 7, e31895 (2018).
81. Little, S., Pogosyan, A., Neal, S., Zavala, B., Zrinzo, L., Hariz, M., Foltynie, T., Limousin, P., Ashkan, K., FitzGerald, J., Green, A. L., Aziz, T. Z. & Brown, P. Adaptive deep brain stimulation in advanced Parkinson disease. *Ann Neurol.* 74, 449–457 (2013).
82. Priori, A., Foffani, G., Rossi, L. & Marceglia, S. Adaptive deep brain stimulation (aDBS) controlled by local field potential oscillations. *Experimental Neurology* 245, 77–86 (2013).
83. Arlotti, M., Marceglia, S., Foffani, G., Volkmann, J., Lozano, A. M., Moro, E., Cogiamanian, F., Prenassi, M., Bocci, T., Cortese, F., Rampini, P., Barbieri, S. & Priori, A. Eight-hours adaptive deep brain stimulation in patients with Parkinson disease. *Neurology* 90, e971–e976 (2018).
84. Rosa, M., Arlotti, M., Marceglia, S., Cogiamanian, F., Ardolino, G., Fonzo, A. D., Lopiano, L., Scelzo, E., Merola, A., Locatelli, M., Rampini, P. M. & Priori, A. Adaptive deep brain stimulation controls levodopa-induced side effects in Parkinsonian patients: DBS Controls Levodopa-Induced Side Effects. *Mov Disord.* 32, 628–629 (2017).
85. Güttler, C., Altschüler, J., Tanev, K., Böckmann, S., Haumesser, J. K., Nikulin, V. V., Kühn, A. A. & Riesen, C. Levodopa-Induced Dyskinesia Are Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism. *Mov Disord mds.28403* (2020). doi:10.1002/mds.28403
86. Paxinos, G. & Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. (Elsevier, 2009).
87. Hamadjida, A., Frouni, I., Kwan, C. & Huot, P. Classic animal models of Parkinson's disease: a historical perspective. *Behavioural Pharmacology* 30, 291–310 (2019).
88. Waddington, J. L. Effects of Nomifensine and Desipramine on the Sequelae of Intracerebrally-Injected 6-OHDA and 5,6-DHT. 3
89. Gesi, M., Soldani, P., Giorgi, F. S., Santinami, A., Bonaccorsi, I. & Fornai, F. The role of the locus coeruleus in the development of Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24, 655–668 (2000).
90. Miguelez, C., Aristieta, A., Cenci, M. A. & Ugedo, L. The locus coeruleus Is Directly Implicated in L-DOPA-Induced Dyskinesia in Parkinsonian Rats: An Electrophysiological and Behavioural Study. *PLoS ONE* 6, e24679 (2011).
91. Meredith, G. E. & Kang, U. J. Behavioral models of Parkinson's disease in rodents: A new look at an old problem. *Mov Disord.* 21, 1595–1606 (2006).
92. Cenci, M. A. L-DOPA-induced dyskinesia: cellular mechanisms and approaches to treatment. *Parkinsonism & Related Disorders* 13, S263–S267 (2007).
93. Oostenveld, R., Fries, P., Maris, E. & Schoffelen, J.-M. FieldTrip: Open Source Software for Advanced Analysis of MEG, EEG, and Invasive Electrophysiological Data. *Computational Intelligence and Neuroscience* 2011, 1–9 (2011).
94. Donoghue, T., Haller, M., Peterson, E. J., Varma, P., Sebastian, P., Gao, R., Noto, T., Lara, A. H., Wallis, J. D., Knight, R. T., Shestyuk, A. & Voytek, B. Parameterizing neural power spectra into periodic and aperiodic components. *Nat Neurosci* 23, 1655–1665 (2020).
95. Gajic, B. & Paliwal, K. K. Robust speech recognition in noisy environments based on subband spectral centroid histograms. *IEEE Trans. Audio Speech Lang. Process.* 14, 600–608 (2006).
96. Swann, N. C., de Hemptinne, C., Thompson, M. C., Miocinovic, S., Miller, A. M., Gilron, R., Ostrem, J. L., Chizeck, H. J. & Starr, P. A. Adaptive deep brain stimulation for Parkinson's disease using motor cortex sensing. *J. Neural Eng.* 15, 046006 (2018).
97. Mallet, N., Pogosyan, A., Sharott, A., Csicsvari, J., Bolam, J. P., Brown, P. & Magill, P. J. Disrupted Dopamine Transmission and the Emergence of Exaggerated Beta Oscillations in Subthalamic Nucleus and Cerebral Cortex. 12
98. Lofredi, R., Tan, H., Neumann, W.-J., Yeh, C.-H., Schneider, G.-H., Kühn, A. A. & Brown, P. Beta bursts during continuous movements accompany the velocity decrement in Parkinson's disease patients. *Neurobiology of Disease* 127, 462–471 (2019).
99. Fawcett, T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters* 27, 861–874 (2006).
100. Rosa, M., Arlotti, M., Ardolino, G., Cogiamanian, F., Marceglia, S., Di Fonzo, A., Cortese, F., Rampini, P. M. & Priori, A. Adaptive deep brain stimulation in a freely moving parkinsonian patient. *Mov Disord.* 30, 1003–1005 (2015).

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Christopher Güttler, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Kortikale Oszillationen im Parkinson-Modell der sich frei bewegenden dyskinetischen Ratte“ 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.

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 der Erstbetreuerin, 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

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Christopher Güttler hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Güttler C, Altschüler J, Tanev K, Böckmann S, Haumesser JK, Nikulin VV, Kühn AA, van Riesen C. Levodopa-Induced Dyskinesia Are Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism, *Mov Disord.* 2021 Apr;36(4):927-937.

Beitrag durch mich, Christopher Güttler (Doktorand), im Einzelnen:

- 1) Vorbereitung der Studie
 - a. Ausarbeitung des detaillierten Versuchsplanes (Fig. 1A)
 - b. Verfassen der notwendigen Tierversuchsantragserweiterung
- 2) Durchführung der Studie. Sofern nicht anders spezifiziert vollumfänglich selbständige Ausführung:
 - a. Ansetzen aller verwendeter Chemikalien und Medikamente
 - i. Ansetzen, Sterilfiltration und Aliquotierung der für die Läsionierung des dopaminergen Systems (Fig. 1B, 1C) verwendeten 6-OHDA Lösung
 - ii. Ansetzen der Dopaminantagonisten-Lösung RACLO und HALO mittels Ultrafeinwaage
 - iii. Ansetzen des verwendeten LD und Benserazids
 - iv. Ansetzten von 4% PFA und 0.1M PBS
 - b. Eingewöhnung der Versuchstiere über die jeweils ersten 10 Tage (Fig. 1A: Handling, Laufband, Räumlichkeiten, elektrophysiologischer Versuchsaufbau) sowie regelmäßige Versorgung der Tiere im Verlauf inklusive Wechsel des Einstreus und Gewichtsprotokollierung
 - c. Sämtliche stereotaktischen Implantationen von Elektroden- und Führungskanülen (zehn Tiere, Narkosedauer jeweils ca. 5h. Zielgebiete M1, STR, SNpr, Zerebellum, MFB) mit intraoperativer Verlotung der elektronischer Komponenten und Modellierung des Aufbaus.
 - d. Alle stereotaktischen 6-OHDA Injektionen in das MFB
 - e. Durchführung aller elektrophysiologischen Ableitungen über einen Zeitraum von 89 Tagen je Tier. Gesamtzahl: 1074 über einen Zeitraum von 267 Experimentaltagen akquirierte Datensätze.
 - i. Alle Ableitungen in Ruhe (siehe z.B. Fig 1E, S2, S3A sowie alle Baseline Aufnahmen, exemplarisch siehe Fig. 3C)
 - ii. Alle Ableitungen in Bewegung auf dem Laufband (siehe Fig. S3A)
 - iii. Alle LD-Injektionen sowie Antagonisten-Gabe (siehe z.B. Fig 2A)
 - iv. Alle dreistündigen Ableitungen nach LD-Gabe (Gesamtzeit: ca. 150 Stunden, siehe z.B. Fig. 2Bii) mit Anfertigung von zusätzlichen einminütigen AIMS-Evaluations-Videos alle 20 Minuten.
 - v. Durchführung, Dokumentation und Auswertung der Zylindertest-Versuche (siehe Fig. 1D)
 - f. Durchführung der transkardialen Perfusionen, Hirnentnahmen und Kryokonservierung
 - g. Mitarbeit an der histologischen Aufarbeitung der Rattenhirne mittels Kryostat, Nissl- und immunhistochemischer Tyrosinhydroxylase-

Färbung. Selbstständige Mikroskopie.

3) Datenanalyse und Auswertung

- a. Selbstständige Durchführung aller Analysen der elektrophysiologischen Daten mittels selbstverfasster Matlab (MATLAB 2017a, The MathWorks, Inc.) und Python Skripte (>5000 Zeilen).
- b. Eigenständige statistische Auswertung und Modellierung
- c. Auswertung der Video-Verhaltensdaten
- d. Einarbeitung von Böckmann, S und Tanev, K, Supervision des Dyskinesie Scorings.
- e. Erstellen aller Abbildungen (Fig. 1A-E, 2A-E, 3A-D, 4A-C, 5A-D, S1, S2A-B, S3A-G, Formel 1 und 2)

4) Verfassen des ersten Manuskriptversion, wesentliche Mitarbeit im Revisions-Prozess.

Unterschrift, Datum und Stempel der erstbetreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Auszug aus der „Journal Summary List“


Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **“CLINICAL NEUROLOGY”** Selected Category
 Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 204 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	LANCET NEUROLOGY	33,050	30.039	0.062420
2	Nature Reviews Neurology	11,029	27.000	0.028770
3	Alzheimers & Dementia	16,289	17.127	0.042180
4	ACTA NEUROPATHOLOGICA	21,908	14.251	0.040740
5	JAMA Neurology	10,471	13.608	0.043110
6	BRAIN	53,282	11.337	0.067050
7	NEURO-ONCOLOGY	12,950	10.247	0.029050
8	SLEEP MEDICINE REVIEWS	8,077	9.613	0.013000
9	ANNALS OF NEUROLOGY	37,304	9.037	0.044120
10	NEUROLOGY	90,213	8.770	0.103530
11	MOVEMENT DISORDERS	27,638	8.679	0.031140
12	JOURNAL OF NEUROLOGY NEUROSURGERY AND PSYCHIATRY	30,621	8.234	0.028510
13	Neurology-Neuroimmunology & Neuroinflammation	2,232	7.724	0.008400
14	NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY	3,992	7.500	0.005960
15	Journal of Stroke	1,247	7.470	0.004240
16	STROKE	66,466	7.190	0.078010
17	Brain Stimulation	6,537	6.565	0.015580
18	NEUROSCIENTIST	5,188	6.500	0.007220
19	Alzheimers Research & Therapy	3,876	6.116	0.011650
20	EPILEPSIA	26,560	6.040	0.029790

RESEARCH ARTICLE

Levodopa-Induced Dyskinesia Are Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism

Christopher Güttler, MD,¹ Jennifer Altschüler, MSc,¹ Kaloyan Tanev, MD,¹ Saskia Böckmann,¹ Jens Kersten Haumesser, MD,¹ Vadim V. Nikulin, PhD,² Andrea A. Kühn, MD,^{1,3,4} and Christoph van Riesen, MD^{1,3,4,5*} 

¹Movement Disorder and Neuromodulation Unit, Department of Neurology, Charité University Medicine Berlin, Berlin, Germany

²Department of Neurology, Max Planck Institute for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig, Germany

³Berlin Institute of Health, Berlin, Germany

⁴German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany

⁵Department of Neurology, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany

ABSTRACT: Background: Levodopa is the most efficacious drug in the symptomatic therapy of motor symptoms in Parkinson's disease (PD); however, long-term treatment is often complicated by troublesome levodopa-induced dyskinesia (LID). Recent evidence suggests that LID might be related to increased cortical gamma oscillations.

Objective: The objective of this study was to test the hypothesis that cortical high-gamma network activity relates to LID in the 6-hydroxydopamine model and to identify new biomarkers for adaptive deep brain stimulation (DBS) therapy in PD.

Methods: We recorded and analyzed primary motor cortex (M1) electrocorticogram data and motor behavior in freely moving 6-OHDA lesioned rats before and during a daily treatment with levodopa for 3 weeks. The results were correlated with the abnormal involuntary movement score (AIMS) and used for generalized linear modeling (GLM).

Results: Levodopa reverted motor impairment, suppressed beta activity, and, with repeated administration, led to a

progressive enhancement of LID. Concurrently, we observed a highly significant stepwise amplitude increase in finely tuned gamma (FTG) activity and gamma centroid frequency. Whereas AIMS and FTG reached their maximum after the 4th injection and remained on a stable plateau thereafter, the centroid frequency of the FTG power continued to increase thereafter. Among the analyzed gamma activity parameters, the fraction of longest gamma bursts showed the strongest correlation with AIMS. Using a GLM, it was possible to accurately predict AIMS from cortical recordings.

Conclusions: FTG activity is tightly linked to LID and should be studied as a biomarker for adaptive DBS. © 2020 The Authors. *Movement Disorders* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society

Key Words: gamma oscillations; dyskinesia; 6-OHDA

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*Correspondence to: Dr. Christoph van Riesen, Department of Neurology, University Medical Center Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen, Germany; E-mail: christoph.van-riesen@med.uni-goettingen.de

Relevant conflicts of interests/financial disclosures: The authors declare no conflict of interest.

Funding agencies: This study was funded by the German Research Council (grant number GE 2629/1-1 awarded to C.v.R.).

Received: 21 July 2020; **Revised:** 8 October 2020; **Accepted:** 30 October 2020

Published online 28 November 2020 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/mds.28403

In Parkinson's disease (PD) a chronic progressive loss of dopaminergic neurons leads to the manifestation of debilitating motor symptoms in the form of akinesia, rigidity, and rest tremor. Recent cumulative evidence shows that the motor impairment is closely related to increased oscillatory neuronal network synchrony that can be recorded in the basal ganglia and motor cortex of PD patients and animal models of the disease.^{1,2} PD patients off dopaminergic medication show enhanced beta (13–35 Hz) oscillations that closely correlate with the severity of akinesia and rigidity.³ Furthermore, increased beta activity is greatly suppressed by known symptomatic treatments such as dopaminergic drugs (LD, dopamine receptor agonists) and deep brain

stimulation (DBS) of the subthalamic nucleus.⁴⁻⁷ Derived from these and other findings, it has been hypothesized that increased beta oscillations might mediate motor symptoms in PD.^{1,2} Currently, adaptive DBS devices that employ beta oscillations as a biomarker for akinesia are being developed and tested.^{8,9}

LD is the most efficacious drug in the symptomatic treatment of motor symptoms in PD.¹⁰ The long-term treatment with LD is often complicated by the occurrence of troublesome involuntary hyperkinesia, so-called “levodopa-induced dyskinesia” (LID), which severely affects the quality of life of patients.^{11,12} The main known risk factors for the development of LID are the severity and duration of the disease, as well as the dose and length of treatment with LD.¹²⁻¹⁵ Despite considerable advances in the pharmacotherapy of PD, it is notoriously difficult to suppress LID once it has started.¹⁶ The presence of disabling LID is a main reason for the initiation of DBS therapy.

How chronic LD medication leads to LID is a topic of ongoing research. A key mechanism in the pathogenesis of LID seems to be that the nonphysiological synthesis, release, and reuptake of dopamine metabolized from high-dose LD result in an aberrant synaptic plasticity at the cortico-striatal synapse.^{16,17} A subsequent increase in the activity of the movement promoting direct basal ganglia motor pathway is supposed to contribute to the generation of LID.¹⁶⁻¹⁸

Very little is known about the effect of chronic LD on network activity patterns in the brain over time and how these changes relate to LID. Only recently it has been shown in animal models of PD that repeated LD injections elicit enhanced narrow-band gamma oscillations, so-called “finely tuned gamma” (FTG), in motor cortex and striatum.^{19,20} A similar increase in gamma power was found in two PD patients with electrodes in the subthalamic nucleus and epidurally above the motor cortex.²¹ Because the recorded gamma levels were significantly higher for the motor cortex than for the studied subcortical regions, it was suggested that the motor cortex might have a primary role in the generation of LID.^{19,21}

Only recently, it has been repeatedly confirmed that oscillatory synchrony in neuronal networks is not a continuous signal but rather occurs as bursts of activity.²² In this regard, a growing amount of evidence from recordings of PD patients with implanted DBS electrodes ON and OFF levodopa suggests a close association between burst parameters at the beta frequency and the severity of the disease.^{23,24} It has been suggested that beta bursts might be superior biomarkers of movement symptoms in PD than average beta activity.²³⁻²⁵ The relevance of gamma bursts in LID had not yet been investigated.

Despite these recent advances in the understanding of the network pathophysiology underlying LID, many open questions remain. To further clarify the significance of cortical oscillations for the generation of LID,

we recorded electrocorticogram (ECoG) data from the primary motor cortex (M1) and assessed motor behavior in parkinsonian freely moving rats before and during a 3-week treatment with LD. Moreover, we further dissected network mechanism by testing the effect of different dopamine receptor antagonists on cortical signaling and dyskinesia. In conclusion, our findings provide compelling evidence for a close link between enhanced narrow-band cortical gamma oscillations and the priming and maintenance of LID.

Materials and Methods

Animals

All experimental procedures were performed on male Wistar rats ($n = 10$, 300–325 g, Harlan Winkelmann, Germany) in accordance with the European Union Directive 2010/63/EU as well as the German Animal Welfare Act (revised December 2018). Animals were kept on a 12-hour light cycle with ad libitum access to food and water. An overview of the experimental design of the study is shown in Figure 1A.

Surgical Procedures and Lesioning

Electrode implantations were performed 10 days after arrival. After induction and maintenance of isoflurane anesthesia, ophthalmic ointment was applied to prevent corneal dehydration. The animal was placed on a self-adjusting heating pad ($37 \pm 0.5^\circ\text{C}$) and transferred to a stereotaxic frame (David Kopf Instruments, Tujunga CA). The head was fixed in the flat-skull position using atraumatic ear-bars. After the scalp was incisioned along the midline, the epicranial aponeurosis was removed, and the skull was treated with dental bonding agent (OptiBond All-in-One, Kerr, Hanau FL). Dental composite (Charisma, Kulzer, Germany) was applied to the right-skull surface and cured with UV light (Translux Wave, Kulzer, Germany). Custom-made stainless-steel screw electrodes (M1, AP: +3, ML: +3; Ground, AP: -9, ML: ± 3), the custom-made guide cannula (MFB, AP: -2.6, ML: +1.6, DV: -6.4), and two silicon probes (DBC-2-3-A_ZIF16, Cambridge NeuroTech, UK, dorso-lateral striatum: AP: +0.6, ML: +3.6, DV: -4.5, and substantia nigra pars reticulata [SNpc]: AP: -5.2, ML: +2.4, DV: -8.2) were stereotactically implanted using the standard Paxinos coordinate system²⁶ relative to bregma. Data from the silicon probes are not part of this publication. All connectors were attached to the electronic interface board (EIB2, Cambridge NeuroTech). All electronic parts were then covered in dental acrylic (Paladur, Kulzer, Germany). Animals were allowed to recover the following 3 days under close monitoring and daily pain medication (carprofen, 5 mg/kg subcutaneous).

Unilateral lesioning of midbrain dopaminergic neurons was carried out 17 days post-implantation. After

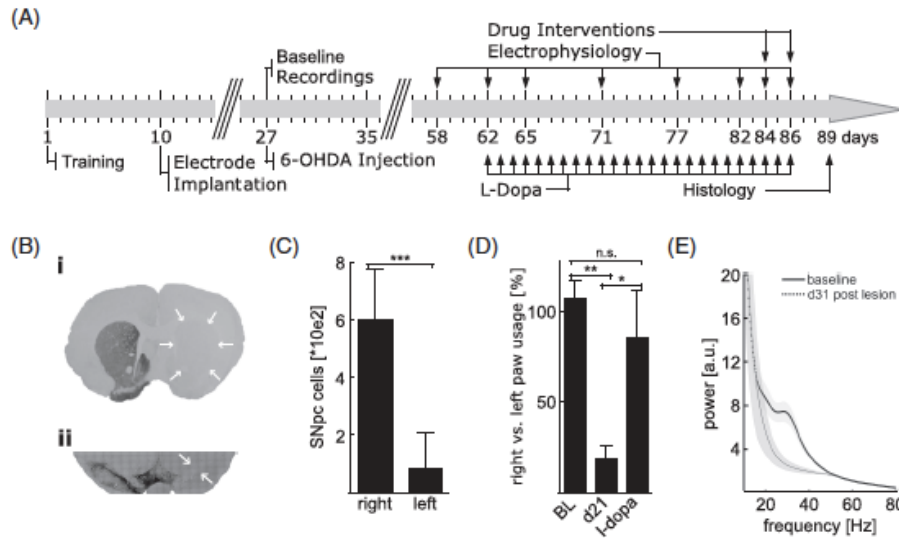


FIG. 1. (A) Experimental design. (B) Immunohistochemistry confirming loss of (i) striatal tyrosine hydroxylase (TH)-positive fibers and (ii) cell bodies in the substantia nigra pars compacta (SNpc). (C) Absolute count of TH+ SNpc cells (standard deviation [SD]). (D) Results of the cylinder test (SD). (E) Power spectral density of M1 ECoG (electrocorticogram) data.

isoflurane induction, a custom-made 33G steel cannula was carefully inserted into the guide cannula and lowered into the left medial forebrain bundle. Sterile-filtered 1 μ L of saline containing 8 μ g of 6-OHDA (Sigma-Aldrich Taufkirchen, Germany) was injected using a precision pump (Harvard apparatus Massachusetts, MA, USA).

Behavioral Testing

Unilateral motor impairment after dopaminergic lesioning was assessed using the cylinder test as previously reported.²⁷ Motor testing was performed before the injection of 6-OHDA on day 27 and thereafter on days 28, 41, 48, and 58 and 60 minutes after the first LD injection on day 62. The ratio of right- versus left-paw usage was analyzed using one-way analysis of variance with Bonferroni-corrected post hoc testing. Only animals with a sufficient dopaminergic deficit according to published criteria (contralateral paw usage <40% on day 21 post-lesion²⁸ and ipsilateral cell count of SNpc cells <20% of the contralateral side²⁹) and a complete data set (n = 5) were included in subsequent analyses. A pronounced dopaminergic lesion is known to be a prerequisite for the development of robust dyskinesia.^{28,29}

Initially all animals were extensively trained on the motorized treadmill (Bioseb, Pinellas Park, FL, USA) at increasing speeds up to 30 cm/s. For the recording sessions animals were placed on the treadmill before LD injection, and two sessions at 10 and 20 cm/s of 2 minutes each were recorded using an overhead camera at 10 frames/s coupled to the electrophysiological

recording setup. Periods of full compliance were identified and marked using a semiautomatic custom-written Matlab script (Mathworks Natick, MA, USA). This was followed by a 10-minute recording session at rest. Subsequently, after LD injection the 180-minute LID recording was started immediately. Exactly 15 minutes into the 180-minute recordings, the animals were transferred to the treadmill, recorded for 4 minutes (2 \times 2 minutes at 10 and 20 cm/s), and then returned to the recording cage for the remaining 160 minutes of the recordings. The electrophysiological data recorded between 15 and 20 minutes of the 180-minute recordings were excluded from the subsequent analysis on gamma oscillations.

The global abnormal involuntary movement score (AIMS) was calculated according to the published standard.³⁰ In brief, the animals were monitored for 1 minute every 20 minutes over an observation period of 3 hours immediately after L-dopa administration for signs of axial, limb, and orolingual dyskinesia. Persistency (basic score) and amplitude were scored for every observation period between 0 and 4 for every AIM subtype. The global AIMS was then calculated as

$$\text{Global AIM} = \sum_{i=1}^3 \text{persistency}_i \times \text{amplitude}_i$$

Average AIMSs for the individual animals and recording sessions were calculated as the mean of the AIMSs rated 60, 80, 100, and 120 minutes after injections of LD.

Drug Treatments

All drugs were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), dissolved in isotonic saline, and administered subcutaneously. The animals received daily injections of 15 mg/kg L-dopa methyl ester and 8 mg/kg benserazide from days 62 to 86. On days 84 and 86, the D1 and D2 antagonists halobenzazepine (0.5 mg/kg) and raclopride (1 mg/kg) were injected s.c. 10 minutes before L-dopa.

Data Acquisition

Electrophysiological data were recorded using a wireless electrophysiological setup (W32, Triangle Bio-Systems, Durham, NC, USA) with the animals at rest and during treadmill exercise. Recordings were performed before lesioning and 1 month later (days 27 and 58), as well as before and immediately after the administration of L-dopa on days 62, 65, 71, 77, 82, 84, and 86. ECoG data were recorded at 30 kHz, amplified 800×, bandpass filtered (0.5–1000 Hz, 6th-order zero-phase butterworth filter), and resampled to 500 Hz with prior anti-aliasing finite impulse response low-pass filtering. Further analysis was performed using the Fieldtrip toolbox³¹ supplemented by custom-written Matlab code. Artifacts were identified using the fieldtrip automatic artifact rejection routine and custom-written Matlab scripts.

Power and Frequency

All recordings were converted to the spectral domain using continuous complex wavelet convolution with a time window of 6 cycles, 50% overlap, and hanning tapering (MTMCONV³¹). Power spectra were binned into 0 to 10/10 to 30/30 to 50/50 to 70/70 to 90/90 to 110/110 to 130/130 to 150/150 to 170, and 170 to 180 minutes after the injection of L-dopa and averaged. The resulting power spectra were then split into aperiodic and oscillatory components using the FOOOF toolbox.³² For FTG power analysis, the area under the curve (AUC) and the maximum amplitude of the oscillatory component between 70 and 140 Hz were calculated.

For frequency analysis the oscillatory dominant frequency (the power-weighted mean of the frequencies in a spectrum, i.e. spectral centroid) was determined for the high-gamma frequency range, 50–130 minutes after L-dopa injection.

$$f_{\text{dominant}} = \frac{\sum_{i=70 \text{ Hz}}^{140 \text{ Hz}} \text{amplitude}_i \times i}{\sum_{i=70 \text{ Hz}}^{140 \text{ Hz}} \text{amplitude}_i}$$

The frequency shift was calculated as the absolute change in the dominant frequency compared to the

dominant frequency after the first L-dopa injection within each animal.

Burst Analysis

For burst detection the baseline recordings at rest immediately before and the 3-hour recordings after each L-dopa injection were bandpass filtered (10th-order zero-phase butterworth filter) with a passband frequency range of ± 5 Hz around the dominant high-gamma frequency of the 180-minute recording of the individual animal on that respective day (Supplementary Figure S1A). Next, the data were Hilbert transformed, and the envelope of the resulting analytical signal was extracted. The individual preinjection baseline recording was z-transformed $(X - \mu)/\delta$, and the 75th percentile of instantaneous power was identified as previously described by Tinkhauser et al.²⁴ The 3-hour post-L-dopa recording was z-transformed using mean and variance of the baseline recording. Bursts were identified as periods with instantaneous power continuously above the threshold and extracted for further analysis (Supplementary Figure S1C). Bursts occurring 50–130 minutes after L-dopa injection were included in subsequent histogram binning (burst power and length) as well as in average burst amplitude, length, and rate analysis.

Modeling

We first tested the applicability of only FTG power for detecting the presence of coinciding dyskinesia (AIMS > 0) by calculating the AUC of the receiver operating characteristic (ROC) curve with 95% bootstrap confidence intervals (nboot = 1000). We next performed a principal component analysis (PCA), including the previously identified burst parameters (percentage of the lowest and highest bins for burst amplitude, percentage of the shortest and longest bins for burst length, AUC of the power of the oscillatory component between 70 and 140 Hz, dominant frequency). The principal components with the highest eigenvalues were then selected until the combined amount of variance explained reached 95%. Generalized linear models with logistic regression were then fitted with the binary response variables AIMS > 0 or AIMS > 3 and evaluated with 10-fold cross-validation.

Histology

After the final recordings all animals received a lethal dose of urethane (3 g/kg) and were transcardially perfused with phosphate buffered saline and then with 4% paraformaldehyde. The brains were postfixed for 24 hours in 4% PFA, sucrose-cryoprotected, and frozen at -80°C until 40- μm coronal sectioning. Electrode trajectories were evaluated on Nissl-stained sections. The loss of dopaminergic SNpc cells was quantified using 3,3'-diaminobenzidin staining for tyrosine hydroxylase

(TH). Five sections spanning the anterior–posterior SNpc axis from each animal were incubated with a primary anti-TH mouse antibody (1:10,000, Sigma [T1299]) followed by a secondary biotinylated anti-mouse antibody (1:200, Vector BA-200, Vector Laboratories, Burlingame CA) and standardized avidin-biotin complex procedures. The sections were then mounted on glass slides, and images were obtained on a confocal microscope (Leica SPE, Leica Microsystems, Wetzlar Germany). Finally, the labeled SNpc cells on each section were counted manually. The ipsi- and contralateral TH+ SNpc cells were separately added up across the five sections spanning the SNpc.

The *P*-values of all statistical tests performed throughout the analysis are provided in Supplementary Table S1.

Results

In the present study, we investigated the association of M1 ECoG and motor performance in individual rats in 3 different states: after the implantation of the electrodes before the interventions, 35 days after a 6-OHDA lesion, and during 21 days of daily treatment with levodopa/benserazide (LD; Fig. 1A). Then, we studied the effect of a combined treatment of LD and the D1 and D2 receptor antagonists halobenzazepine and raclopride (Fig. 1A). After the completion of the initial recordings, a unilateral injection of 6-OHDA (8 μ g) into the MFB was performed, which induced a loss of TH-positive fibers in the striatum and a sub-maximal reduction in dopaminergic cells in the SNpc in comparison to the non-lesioned side (Fig. 1B,C). On a behavioral level, rats exhibited profound hemiparesis contralateral to the lesion, which could be promptly reversed by the injection of LD (Fig. 1D).

Levodopa Suppresses Cortical Beta Power

In agreement with previous reports, in attentive resting animals we found a significant enhancement of beta oscillations in the M1 ECoG after the completion of the 6-OHDA lesion (day 31 post-lesion) in comparison with the recordings before the injection of 6-OHDA (Fig. 1E). A similar level of beta power could be shown in the recordings immediately before the LD injection with no significant change over time (Supplementary Figure S2A). On average, LD strongly suppressed beta activity (Off LD: 4.3 ± 0.9 AUC, On LD: 2.4 ± 0.9 AUC, $P < 0.001$; Supplementary Figure S2B), as previously shown by us and others.^{27,33}

Levodopa Leads to a Progressive Increase in AIMS

Thirty-one days after the 6-OHDA lesion, the animals were treated once daily with LD for 3 weeks. At days 1, 4, 10, 16, and 21, we recorded M1 ECoG as

well as videotaped motor behavior. The experimental sessions always commenced with a recording of 20 minutes at rest when LD was injected. Then, dyskinesia was rated using the abnormal involuntary movements scale (AIMS) every 20 minutes for 3 hours.³⁴ The well-described subcategories of axial, limb, and orolingual AIMS were assessed separately by two blinded video raters (K.T. and S.B.) offline. The global AIMS was calculated as published.²⁸

Whereas the first injection resulted in a minor increase in the global AIMS, the fourth and all later injections produced maximal dyskinesia. There was no significant difference in AIMS between the 2nd, 3rd, 4th, and 5th time points (Fig. 2Bi,C). When either the dopamine receptor antagonist halobenzazepine (D1) or raclopride (D2) was given before the LD treatment, the expression of AIM could be partly blocked (Fig. 2Bi,C).

Repeated Levodopa Injections Result in a Stepwise Increase in Cortical Gamma Power

All LD applications were followed by a striking increase in narrow-band high-gamma oscillations (FTG) with an average frequency of 97 Hz (range: 84–113 Hz) that was distinct from high-gamma power at rest and during movement (Fig. 2A; Supplementary Figure S3A). Already the 1st LD injection produced a pronounced increase in FTG activity (LD1: 3.1 ± 0.9 AUC; Fig. 2Bii,D). After the 4th injection, an additional significant enhancement could be noted (LD4: 9.9 ± 3.3 AUC; Fig. 2Bii,D). Then, FTG levels remained elevated (LD 10/16/21; Fig. 2Bii,D). There was no difference in the time interval between LD injection and maximal FTG power across all time points (Supplementary Figure S3B). During the individual recordings the centroid frequency of the gamma oscillations remained constant (data not shown). In contrast, across the recording days, a constant increase in the individual gamma centroid frequency could be observed (Fig. 2E). Despite the parallel increase in total FTG power and FTG frequency, there was a strong correlation neither between FTG power and frequency nor between FTG power and frequency shift (Supplementary Figure S3C). The application of raclopride and halobenzazepine before LD drastically reduced FTG power with a more-pronounced effect of halobenzazepine (Fig. 2D). Despite the reduction in the amplitude of the FTG due to the antagonist treatments, the centroid frequency continued to increase with the 22nd and 23rd LD injection (Fig. 2E).

Levodopa Increases the Duration and Amplitude of Gamma Bursts

To further specify the relation between gamma activity and LID, we calculated and sorted gamma bursts. Our analysis showed that across all investigated time

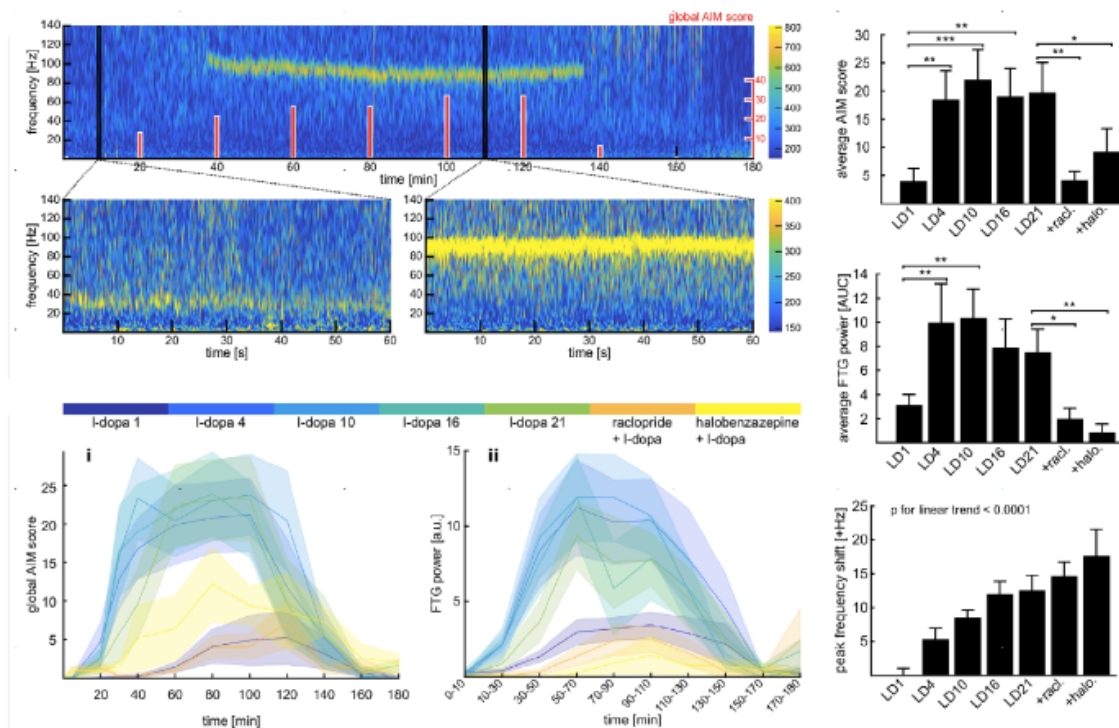


FIG. 2. Evolution of finely tuned gamma (FTG) oscillations in M1 ECoG (electrocorticogram) and dyskinesia in parkinsonian rats treated with LD for 21 days. **(A)** Exemplary time frequency spectrogram (18th injection of LD). Red bars: AIMS (abnormal involuntary movement score). Lower panels represent 60-second time segments before and during maximal dyskinesia. **(B)** Development of (i) average AIMS and (ii) average FTG power during 180 minutes after LD injections on different recording days. The x-axis depicts time after injection, successive injections are color coded (mean \pm standard error). **(C, D)** Average AIMS and FTG power AUC 50–130 minutes after LD injection. **(E)** Increase in FTG centroid frequency. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

points, the rate, amplitude, and duration of gamma bursts increased ON LD in comparison to OFF LD (Fig. 3A). Whereas burst amplitude and duration were strongly correlated to the increase in FTG power over repeated injections of LD, burst rate showed the most pronounced increase after the 1st injection (Fig. 3B; Supplementary Figure S3D).

A further categorization of burst durations and amplitudes into defined bins revealed highly significant changes in the distribution of bursts for all time points (Fig. 3C,D). Whereas before LD injection short bursts with smaller amplitudes were more common, there was a clear shift toward longer bursts with higher amplitudes ON LD (Fig. 3C,D). Significant differences in burst amplitude could be noted for very short (50–100 ms) and very long (>200 ms) as well as for very low (z-scores 0–1) and very high-amplitude (z-scores > 3) bursts (Fig. 3C,D). Although the increase in the fraction of the longest and highest bursts after the injection of LD remained significant in comparison to the respective baselines over time, there was a

significant decrease in the fraction of highest bursts between the 4th and the 21st LD injections (Fig. 3C). The prior treatment with the dopamine receptor antagonists raclopride and halobenzazepine before the administration of LD suppressed the observed changes in mean burst amplitude and duration as well as in the distribution of burst amplitudes and burst duration ON and OFF LD (Fig. 3C,D).

Both FTG Power and Gamma Burst Parameters Correlate With AIMS

FTG power significantly correlated with the global AIMS ($\rho = 0.75$, $P < 0.001$; Fig. 4A). Spearman's ρ was similar across all investigated times, indicating that the correlation was not mainly driven by any particular time point (Supplementary Figure S3E). The analysis of categorized gamma bursts showed even stronger correlations. The occurrence of gamma bursts with very long durations strongly correlated with AIMS ($\rho = 0.80$, $P < 0.0001$; Fig. 4C), whereas the fraction of the

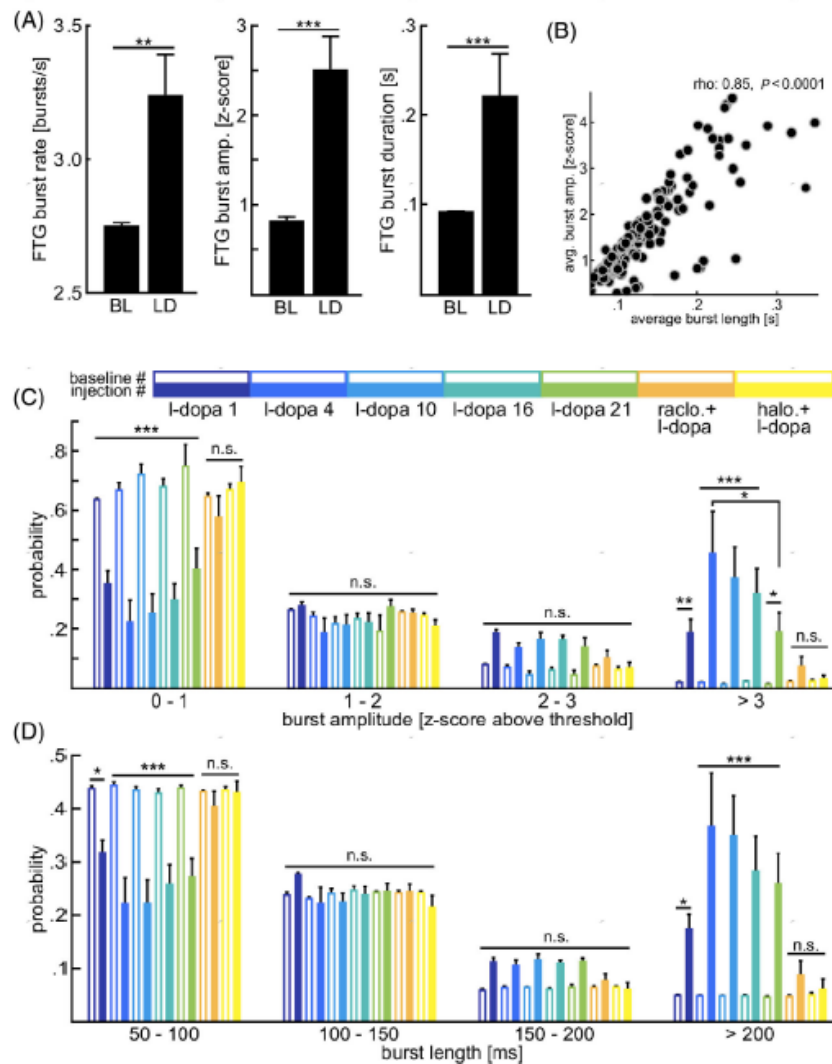


FIG. 3. Evolution of gamma burst parameters. **(A)** Average burst rate, amplitude, and duration. **(B)** Burst amplitude and burst length are highly correlated (spearman's rho). **(C, D)** Probability of binned burst amplitude and length (solid bars) compared to the respective baseline values (open bars) (standard error). [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

highest-amplitude bursts showed an intermediate correlation with AIMS ($\rho = 0.60$, $P < 0.0001$; Fig. 4B).

The FTG power spectral centroid frequency also moderately correlated with AIMS ($\rho = 0.54$, $P < 0.001$; Supplementary Figure S3F). FTG power and FTG frequency as well as FTG power and FTG frequency shift over time were not related. AIMS and FTG showed the weakest correlation when the animals were treated with a combination of LD

and halobenzazepine or raclopride (Supplementary Figure S3G).

Burst Parameters Outperform Power Thresholding for Detection of Dyskinetic States

To further emphasize the close relation between FTG and dyskinesia, we next tested whether we could reliably predict the levels of dyskinesia from ECoG

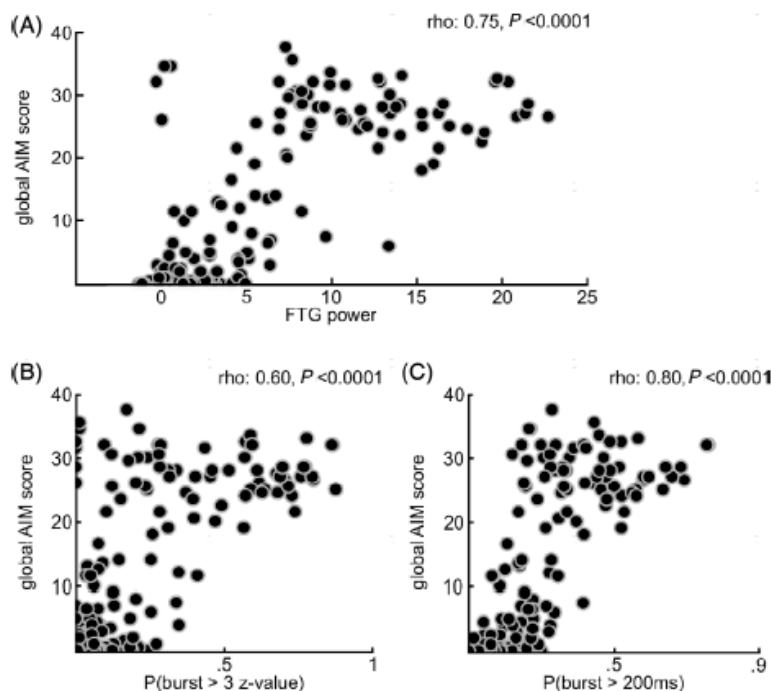


FIG. 4. Correlation of electrophysiological biomarkers and dyskinesia scores. (A–C) FTG (finely tuned gamma), the fraction of the longest and highest bursts correlates highly significantly with AIMS (abnormal involuntary movement score) (spearman's correlation, individual data points represent the binned recording intervals of the individual animals on days 62, 65, 71, 77, and 82).

recordings, which might be central for further developments of adaptive closed-loop DBS systems. We first tried to identify dyskinetic states ($AIM > 0$) with ECoG data using a simple FTG thresholding approach, which yielded a ROC-AUC of 0.86 (Fig. 5A). Because burst parameters proved to be more robustly correlated with the behavioral data, we chose to subject the latter to generalized linear modeling (GLM) with logistic regression after PCA dimensionality reduction (Fig. 5B, eigenvalues: PC1 4.49, PC2 1.04, and PC3 0.21). This procedure classified the behavioral states into whether dyskinesias are present or absent with an improved ROC-AUC of 0.89 by mainly increasing the specificity of the optimal operating point of the ROC curve (sensitivity 85%, specificity 82%; Fig. 5C). The sensitivity of the GLM versus power classifier at a false-positive rate of 0.1 for the $AIMS > 0$ case is 0.78 versus 0.68. Because mild dyskinesias may be non-bothersome and in some cases even sought after as a marker of sufficient therapy, we further tested the model using a cutoff of $AIMS > 3$, yielding a ROC-AUC of 0.97 with a high sensitivity of 94% and specificity of 92% (Fig. 5D).

Discussion

Enhanced high-gamma activity has been repeatedly shown in recordings from the basal ganglia and motor cortex of PD patients during LID and in animal models of the disease.^{19–21,33,35,36} The few publications that investigated an association between gamma activity and dyskinesia scores found variable correlations.^{19–21} We provide new evidence for a close relation of excessive cortical gamma activity recorded above M1 with the clinical severity of LID in the 6-OHDA model of PD. Although we found a high correlation of FTG power with AIMS, we could demonstrate an even higher relation with the height and length of gamma bursts. Using burst parameters in a generalized linear model, we could highly reliably predict the level of dyskinesia in our animals. By introducing gamma burst parameters from M1 into our model, we reach a classification performance comparable to previously published data, which relied on recordings from a multitude of different nodes in the cortico-basal ganglia thalamic loop.³⁷

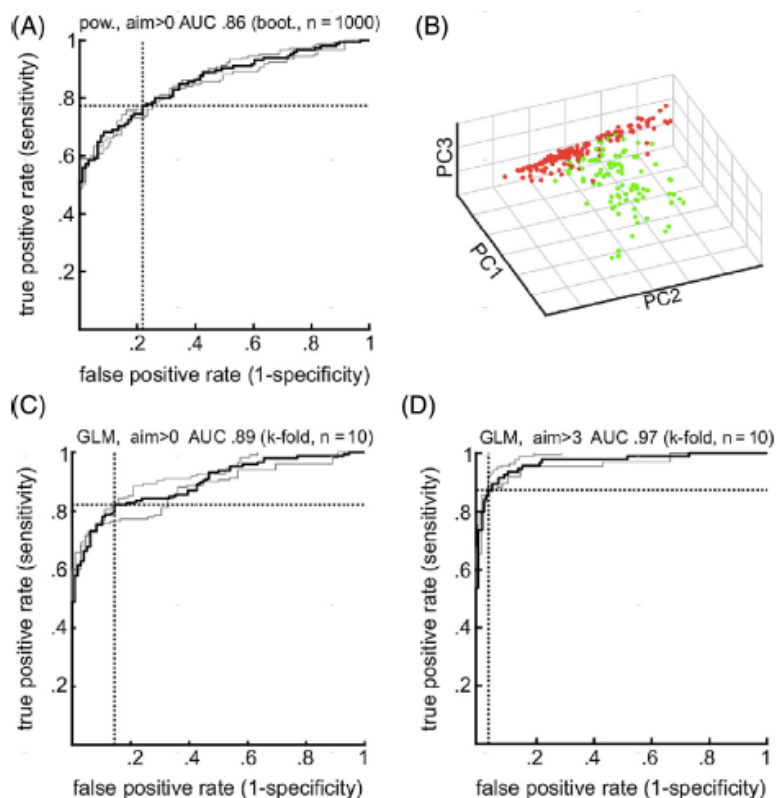


FIG. 5. Model performance measures. **(A)** Thresholding the M1 ECoG (electrocorticogram) FTG (finely tuned gamma) power for predicting the presence of any dyskinesia yields an AUC (area under the curve) of 0.86 (confidence intervals in gray, bootstrap $n = 1000$). **(B)** Separation of dyskinetic (green) versus non-dyskinetic (red) states according to the three selected principal components. **(C)** Generalized linear modeling with burst parameters increases the AUC to 0.89 (confidence intervals in gray, 10-fold cross-validation). Note the reduction in the false-positive rate. **(D)** Focusing on clinically significant dyskinesia with AIMS (abnormal involuntary movement score) >3 allows for almost-perfect classification (confidence bounds in gray, 10-fold cross-validation). [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

It has been hypothesized that the excessive gamma synchronization disturbs physiological network function in motor networks and thus leads to hyperkinetic movements. Despite this, FTG does not seem to be unique to dyskinesia in PD patients because it has also been shown in invasive recordings from patients suffering from dystonia and myoclonus epilepsy at rest.^{38,39} However, it has been assumed that FTG is distinct from the broadband low-amplitude increase in gamma oscillations that has been shown to accompany voluntary movement.⁴⁰⁻⁴² In agreement with these previous publications, we found that dyskinesia and voluntary movement can be clearly differentiated by their gamma activity profile using M1 ECoG (Supplementary Figure S3A). This distinction is very important when considering using gamma oscillations as biomarkers to control neuromodulatory therapies.

Accumulating evidence shows that DBS-tailored electrophysiological biomarkers in real time (closed-loop

DBS [cl-DBS]) has the potential to outperform conventional continuous DBS regimes, which are currently used in standard clinical care.⁴³⁻⁴⁶ The development of cl-DBS was so far mainly focused on the detection of akinesia by assessing beta power in local field potentials from the subthalamic nucleus to trigger electrical stimulation in patients in their off-medication state.^{8,9,47} However, because most patients continue to take dopaminergic medication after the initiation of DBS therapy, there is also a need for the detection of dyskinesia from electrophysiological signals to stop or reduce stimulation to avoid a further exacerbation of drug-induced dyskinesia by DBS. In fact, only recently has it been demonstrated that chronic recordings of M1 ECoG are feasible and that they can be used to sense cortical gamma oscillations during LID in PD patients.^{48,49} Moreover, in a proof-of-principle study the level of cortical gamma power was used to modify the amplitude of STN DBS in an implanted closed-loop system.⁵⁰

Derived from our data, we propose that gamma burst parameters, especially the fraction of very high and long gamma bursts, should be further explored as possible biomarkers for LID in adaptive cl-DBS. ■

Acknowledgment: Open access funding enabled and organized by Projekt DEAL. ■

References

- Brown P. Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Curr Opin Neurobiol* 2007;17(6):656–664.
- Stein E, Bar-Gad I. Beta oscillations in the cortico-basal ganglia loop during parkinsonism. *Exp Neurol* 2013;245:52–59.
- Neumann WJ, Degen K, Schneider GH, et al. Subthalamic synchronized oscillatory activity correlates with motor impairment in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 2016;31(11):1748–1751.
- Eusebio A, Thevathasan W, Doyle Gaynor L, et al. Deep brain stimulation can suppress pathological synchronisation in parkinsonian patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82(5):569–573.
- Kuhn AA, Kempf F, Brücke C, et al. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus suppresses oscillatory beta activity in patients with Parkinson's disease in parallel with improvement in motor performance. *J Neurosci* 2008;28(24):6165–6173.
- Kuhn AA, Kupsch A, Schneider GH, Brown P. Reduction in subthalamic 8–35 Hz oscillatory activity correlates with clinical improvement in Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 2006;23(7):1956–1960.
- Kuhn AA, Tsui A, Aziz T, et al. Pathological synchronisation in the subthalamic nucleus of patients with Parkinson's disease relates to both bradykinesia and rigidity. *Exp Neurol* 2009;215(2):380–387.
- Little S, Pogosyan A, Neal S, et al. Adaptive deep brain stimulation in advanced Parkinson disease. *Ann Neurol* 2013;74(3):449–457.
- Rosa M, Arlotti M, Ardolino G, et al. Adaptive deep brain stimulation in a freely moving parkinsonian patient. *Mov Disord* 2015;30(7):1003–1005.
- Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA* 2014;311(16):1670–1683.
- Hametner E, Seppi K, Poewe W. The clinical spectrum of levodopa-induced motor complications. *J Neurol* 2010;257(Suppl 2):S268–S275.
- Perez-Lloret S, Negre-Pages L, Damier P, et al. L-DOPA-induced dyskinesias, motor fluctuations and health-related quality of life: the COPARK survey. *Eur J Neurol* 2017;24(12):1532–1538.
- Fahn S, Oakes D, Shoulson I, et al. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2004;351(24):2498–2508.
- Schrag A, Quinn N. Dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. A community-based study. *Brain* 2000;123(Pt 11):2297–2305.
- Stocchi F, Rascol O, Kieburtz K, et al. Initiating levodopa/carbidopa therapy with and without entacapone in early Parkinson disease: the STRIDE-PD study. *Ann Neurol* 2010;68(1):18–27.
- Bezard E, Brotchie JM, Gross CE. Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci* 2001;2(8):577–588.
- Cenci MA, Jorntell H, Petersson P. On the neuronal circuitry mediating L-DOPA-induced dyskinesia. *J Neural Transm* 2018;125(8):1157–1169.
- Kishore A, Popa T. Cerebellum in levodopa-induced dyskinesias: the unusual suspect in the motor network. *Front Neurol* 2014;5:157.
- Dupre KB, Cruz AV, McCoy AJ, et al. Effects of L-dopa priming on cortical high beta and high gamma oscillatory activity in a rodent model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2016;86:1–15.
- Halje P, Tante M, Richter U, Mohammed M, Cenci MA, Petersson P. Levodopa-induced dyskinesia is strongly associated with resonant cortical oscillations. *J Neurosci* 2012;32(47):16541–16551.
- Swann NC, de Hemptinne C, Miciovic S, et al. Gamma oscillations in the hyperkinetic state detected with chronic human brain recordings in Parkinson's disease. *J Neurosci* 2016;36(24):6445–6458.
- Feingold J, Gibson DJ, DePasquale B, Graybiel AM. Bursts of beta oscillation differentiate postperformance activity in the striatum and motor cortex of monkeys performing movement tasks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(44):13687–13692.
- Deffains M, Iskhakova L, Katani S, Israel Z, Bergman H. Longer beta oscillatory episodes reliably identify pathological subthalamic activity in parkinsonism. *Mov Disord* 2018;33(10):1609–1618.
- Tinkhauser G, Pogosyan A, Tan H, Herz DM, Kuhn AA, Brown P. Beta burst dynamics in Parkinson's disease OFF and ON dopaminergic medication. *Brain* 2017;140(11):2968–2981.
- Lofredi R, Tan H, Neumann WJ, et al. Beta bursts during continuous movements accompany the velocity decrement in Parkinson's disease patients. *Neurobiol Dis* 2019;127:462–471.
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th ed. Cambridge: Academic Press; 2013.
- Kuhn J, Haumesser JK, Beck MH, et al. Differential effects of levodopa and apomorphine on neuronal population oscillations in the cortico-basal ganglia loop circuit in vivo in experimental parkinsonism. *Exp Neurol* 2017;298:122–133.
- Cenci MA, Lundblad M. Ratings of L-DOPA-induced dyskinesia in the unilateral 6-OHDA lesion model of Parkinson's disease in rats and mice. *Curr Protoc Neurosci* 2007;41(1):9.25–25.23.
- Cenci MA. L-DOPA-induced dyskinesia: cellular mechanisms and approaches to treatment. *Parkinsonism Relat Disord* 2007;13(Suppl 3):S263–S267.
- Lundblad M, Andersson M, Winkler C, Kirik D, Wierup N, Cenci MA. Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 2002;15(1):120–132.
- Oostenvelde R, Fries P, Maris E, Schoffelen JM. FieldTrip: open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data. *Comput Intell Neurosci* 2011;2011:156869.
- Haller M, Donoghue T, Petersen E, et al. Parameterizing neural power spectra. *bioRxiv* 2018. <https://doi.org/10.1101/299859>
- Delaville C, McCoy AJ, Gerber CM, Cruz AV, Walters JR. Subthalamic nucleus activity in the awake hemiparkinsonian rat: relationships with motor and cognitive networks. *J Neurosci* 2015;35(17):6918–6930.
- Winkler C, Kirik D, Bjorklund A, Cenci MA. L-DOPA-induced dyskinesia in the intrastriatal 6-hydroxydopamine model of parkinson's disease: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function. *Neurobiol Dis* 2002;10(2):165–186.
- Alegre M, Lopez-Azcarate J, Alonso-Frech F, et al. Subthalamic activity during diphasic dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2012;27(9):1178–1181.
- Alonso-Frech F, Zamarbide I, Alegre M, et al. Slow oscillatory activity and levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Brain* 2006;129(Pt 7):1748–1757.
- Tante M, Brys I, Richter U, Ivica N, Halje P, Petersson P. Systems-level neurophysiological state characteristics for drug evaluation in an animal model of levodopa-induced dyskinesia. *J Neurophysiol* 2016;115(3):1713–1729.
- Kempf F, Brücke C, Salih F, et al. Gamma activity and reactivity in human thalamic local field potentials. *Eur J Neurosci* 2009;29(5):943–953.
- Miciovic S, Swann NC, de Hemptinne C, Miller A, Ostrem JL, Starr PA. Cortical gamma oscillations in isolated dystonia. *Parkinsonism Relat Disord* 2018;49:104–105.
- Crone NE, Miglioretti DL, Gordon B, Lesser RP. Functional mapping of human sensorimotor cortex with electrocorticographic

- spectral analysis. II. Event-related synchronization in the gamma band. *Brain* 1998;121(Pt 12):2301–2315.
41. Manning JR, Jacobs J, Fried I, Kahana MJ. Broadband shifts in local field potential power spectra are correlated with single-neuron spiking in humans. *J Neurosci* 2009;29(43):13613–13620.
 42. Miller KJ, Leuthardt EC, Schalk G, et al. Spectral changes in cortical surface potentials during motor movement. *J Neurosci* 2007;27(9):2424–2432.
 43. Arlotti M, Marceglia S, Foffani G, et al. Eight-hours adaptive deep brain stimulation in patients with Parkinson disease. *Neurology* 2018;90(11):e971–e976.
 44. Little S, Tripoliti E, Beudel M, et al. Adaptive deep brain stimulation for Parkinson's disease demonstrates reduced speech side effects compared to conventional stimulation in the acute setting. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016;87(12):1388–1389.
 45. Rosa M, Arlotti M, Marceglia S, et al. Adaptive deep brain stimulation controls levodopa-induced side effects in parkinsonian patients. *Mov Disord* 2017;32(4):628–629.
 46. Velisar A, Syrkin-Nikolau J, Blumenfeld Z, et al. Dual threshold neural closed loop deep brain stimulation in Parkinson disease patients. *Brain Stimul* 2019;12(4):868–876.
 47. Little S, Beudel M, Zrinzo L, et al. Bilateral adaptive deep brain stimulation is effective in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016;87(7):717–721.
 48. Swann NC, de Hemptinne C, Maher RB, et al. Motor system interactions in the Beta band decrease during loss of consciousness. *J Cogn Neurosci* 2016;28(1):84–95.
 49. Swann NC, de Hemptinne C, Miciocinovic S, et al. Chronic multisite brain recordings from a totally implantable bidirectional neural interface: experience in 5 patients with Parkinson's disease. *J Neurosurg* 2018;128(2):605–616.
 50. Swann NC, de Hemptinne C, Thompson MC, et al. Adaptive deep brain stimulation for Parkinson's disease using motor cortex sensing. *J Neural Eng* 2018;15(4):046006.

Supporting Data

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site.

Supporting Information

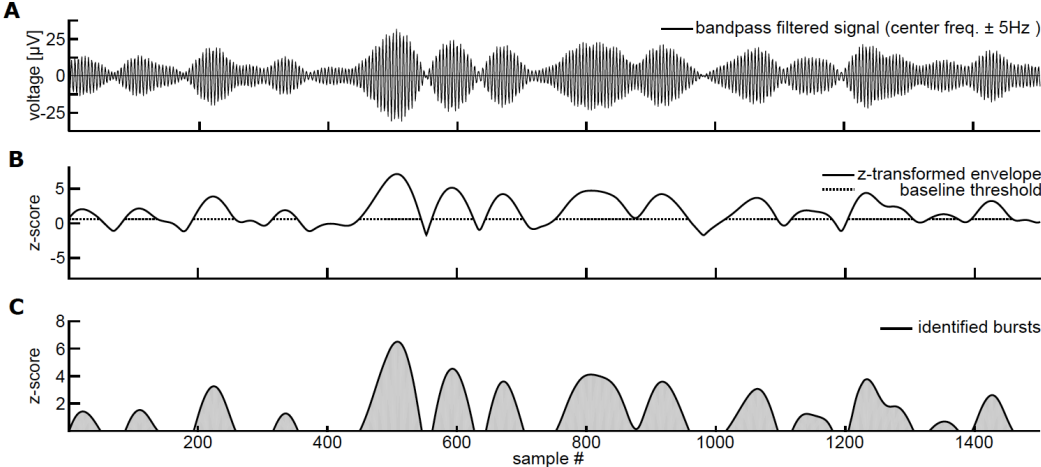


FIGURE S1 Burst extraction. **(A)** 10th-order zero-phase butterworth bandpass-filtered signal with the passband centered on the dominant gamma frequency ± 5 Hz. **(B)** The envelope is extracted by taking the absolute of the Hilbert transform. The result is z-transformed using mean and variance from the baseline signal. **(C)** Extracted bursts after applying the 75th percentile baseline threshold

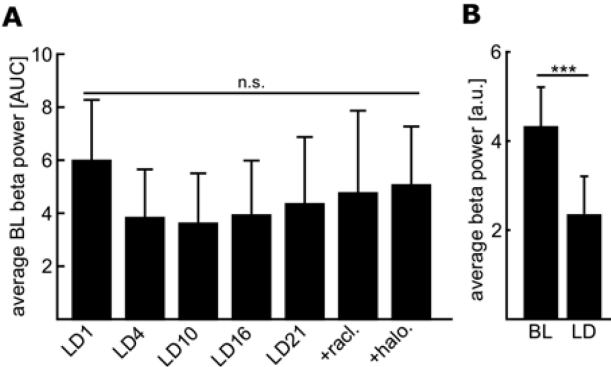


FIGURE S2 Baseline beta power. **(A)** Stable beta power at rest before the LD injections on the individual recording days. **(B)** LD decreases beta power on average

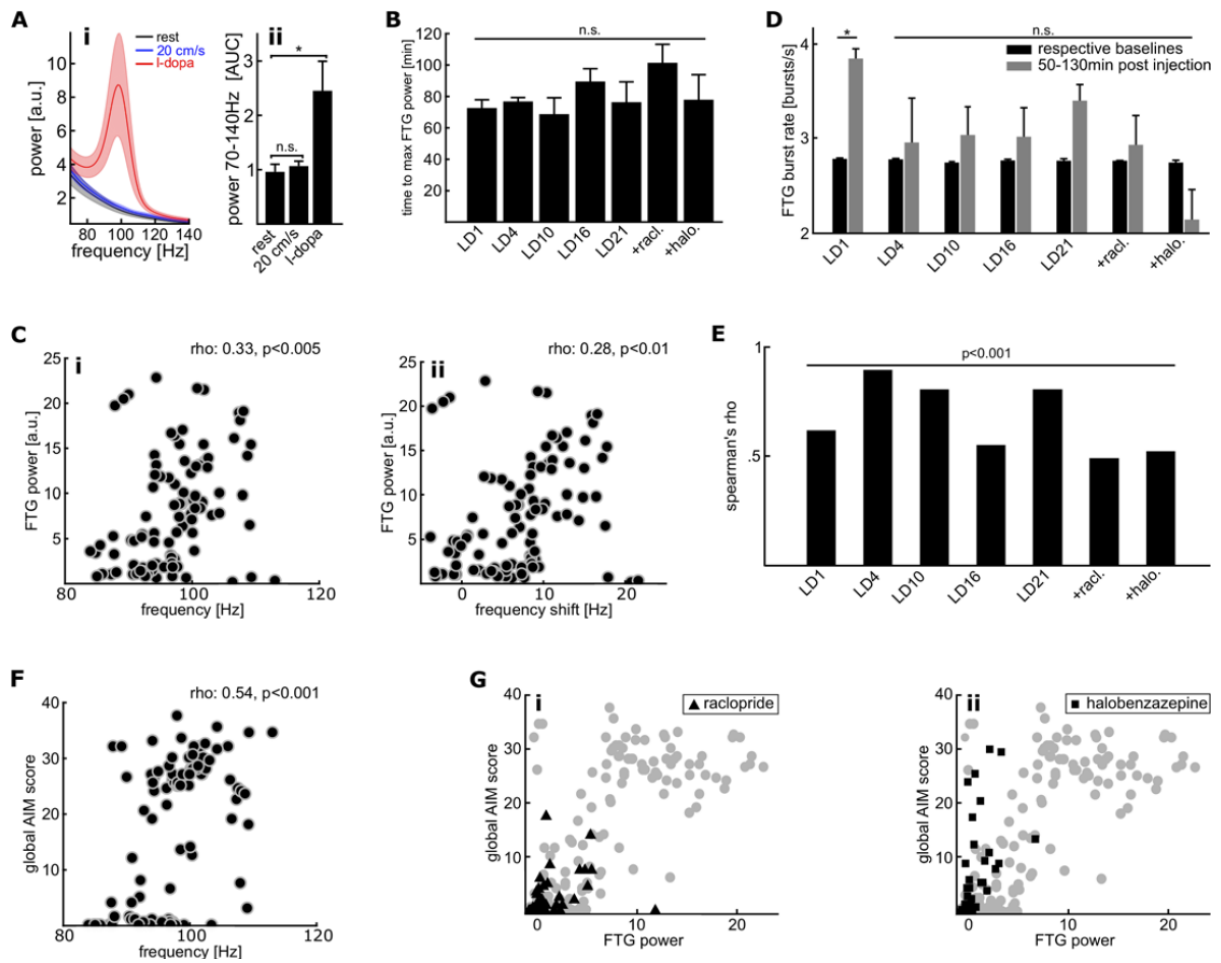


FIGURE S3 (A) LD-induced FTG is distinct from high gamma power (70–140 Hz) during steady walking on a treadmill. (B) The time interval from LD injection to peak FTG power does not change during the course of the experiment. (C) FTG power is only weakly correlated with its dominant frequency (i) and the dominant frequency shift respective to the dominant frequency of FTG after the first LD injection (ii). (D) The burst rate is significantly increased after the first injection of LD only. (E) The correlation between FTG power and global AIMS is significant at all investigated time points. (F) Global AIMS are weakly correlated with dominant FTG frequencies. (G) Relation of global AIMS with FTG power following D2- (i) and D1-receptor blockage (ii); backdrop is the pooled data of all animals on all non-antagonist LD recording sessions depicted in Fig. 4A

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

Vollständige Publikationsliste

Publikationen

1. Reply to: "Levodopa-Induced Dyskinesia Is Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism".
Güttler C, Nikulin VV, van Riesen C.
Mov Disord. 2021 Apr;36(4):1045-1047. Impact factor: 8,137
2. Levodopa-Induced Dyskinesia Are Mediated by Cortical Gamma Oscillations in Experimental Parkinsonism.
Güttler C, Altschüler J, Tanev K, Böckmann S, Haumesser JK, Nikulin VV, Kühn AA, van Riesen C.
Mov Disord. 2021 Apr;36(4):927-937. Impact factor: 8,137
3. Sex-hormone-driven innate antibodies protect females and infants against EPEC infection.
Zeng Z, Surewaard BJG, Wong C, **Guettler C**, Petri B, Burkhard R, Wyss M, Le Moual H, Devinney R, Thompson GC, Blackwood J, Joffe AR, McCoy K, Jenne CN, Kubes P.
Nat Immunol. 2018;19(10):1100-11. Impact factor: 15,797
4. Acute In Vivo Electrophysiological Recordings of Local Field Potentials and Multi-unit Activity from the Hyperdirect Pathway in Anesthetized Rats.
Haumesser JK, Kühn J, **Güttler C**, Nguyen DH, Beck MH, Kühn AA, van Riesen C.
JoVE-J Vis Exp. 2017;(124). Impact factor: 1,184
5. Hydrogen sulfide, another simple gas with complex biology.
Guettler C, Kubes P.
Am J Physiol-Gastr L. 2013;304(12):G1066-9. Impact factor: 4,26
6. Two isoforms of Sister-Of-Mammalian Grainyhead have opposing functions in endothelial cells and in vivo.
Haendeler J, Mlynek A, Büchner N, Lukosz M, Graf M, **Guettler C**, Jakob S, Farrokh S, Kunze K, Goy C, Guardiola-Serrano F, Schaal H, Cortese-Krott M, Deenen R, Köhrer K, Winkler C, Altschmied J.
Arterioscl Throm Vas. 2013;33(7):1639-46. Impact factor: 6,233

Kongress-Poster

1. Cortical gamma oscillations as biomarkers for levodopa-induced dyskinesia.
Güttler C, Altschüler J, Tanev K, Böckmann S, Haumesser JK, Kühn A, van Riesen C.
International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS), *Mov Disord.* 2019; 34 (suppl 2).

Danksagung

Bedanken möchte ich mich an erster Stelle bei meiner Frau, Anna-Maria. Ohne dich wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen und du weißt, dass es stimmt.

Dr. med. Christoph van Riesen gilt mein Dank für die Überlassung des Themas, für das in mich gesetzte Vertrauen und für die große Geduld, mit der er mein exploratives Verhalten ertragen hat. Auch die ständige Erreichbarkeit die er mir gegenüber gezeigt hat ist nicht selbstverständlich. Dr. Vadim Nikulin danke ich für die vielen Beratungen, allerlei interessante Diskussionen sowie Anregungen. Auch möchte ich ein großes Dankeschön an Prof. Dr. med. Andrea Kühn für die Förderung meiner wissenschaftlichen und klinischen Arbeit aussprechen. Ich habe ihr viel zu verdanken. Zu guter Letzt danke ich all meinen Freundinnen und Freunden, die mich in dieser Zeit unterstützt und bei Laune gehalten haben, sowie meiner Mutter.