

Aus dem Zentrum für Neurologie Tübingen  
Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung  
Abteilung Allgemeine Neurologie  
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. M. Weller

**Modulation der Aktivität der Basalganglien im  
Parkinson-Modell der Ratte sowie nach Läsion des  
Nucleus pedunculopontinus**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Linda Maria Leßmann, geb. Selten  
aus  
Böblingen

2006

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichtstatter: Professor Dr. J. B. Schulz
2. Berichtstatter: Professor Dr. F. Lang
3. Berichtstatter: Professor Dr. A. Rolfs

*meinen Eltern*

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
1.1. Die Basalganglien.....	7
1.1.1. Funktionelle Organisation und Physiologie.....	7
1.1.2. Die Basalganglien und die Parkinson-Krankheit.....	13
1.1.3. Das Tiermodell der Parkinson-Krankheit .....	15
1.2. Der Nucleus pedunculopontinus.....	16
1.2.1. Anatomie .....	16
1.2.2. Afferente Verbindungen zum PPN.....	17
1.2.3. Efferente Verbindungen des PPN.....	18
1.2.4. Funktionen.....	19
1.2.5. Der PPN und die Basalganglien .....	19
1.3. In vivo Einzelzellableitung.....	21
1.4. Fragestellung.....	22
2. Material und Methoden .....	24
2.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....	24
2.2. Stereotaktische Läsion .....	24
2.2.1. SNc-Läsion .....	24
2.2.2. PPN-Läsion.....	27
2.2.3. SNc+PPN-Läsion.....	28
2.3. Elektrophysiologische Ableitung.....	28
2.3.1. Herstellung der Elektroden .....	28
2.3.2. Bestimmung der Koordinaten .....	29
2.3.3. Vorbereitung des Experiments.....	32
2.3.4. Datenerfassung .....	34
2.4. Histologie.....	35
2.4.1. Perfusion und Gehirnpräparation.....	35
2.4.2. Anfertigung der Hirnschnitte .....	36
2.4.3. Färbung mit Kresyl-Violett .....	36
2.4.4. Histologische Kontrolle der Elektrodenposition.....	37
2.4.5. Tyrosinhydroxylase-Färbung .....	40
2.4.6. NADPH-Diaphorase-Färbung .....	41

2.5.	Auswertung der gewonnenen Daten.....	42
2.5.1.	Spike-Klassifizierung und Analyse der Feuerungsrate .....	42
2.5.2.	Analyse des Feuerungsmusters .....	43
2.6.	Statistik .....	45
3.	Ergebnisse.....	47
3.1.	Histologische Kontrolle der Läsionen.....	47
3.1.1.	SNC-Läsion .....	47
3.1.2.	PPN-Läsion.....	47
3.1.3.	SNC+PPN-Läsion.....	48
3.2.	Aktivitäten der abgeleiteten Kerngebiete .....	49
3.2.1.	Striatum .....	49
3.2.2.	Globus pallidus .....	53
3.2.3.	Nucleus subthalamicus.....	56
3.2.4.	Substantia nigra pars reticulata .....	60
3.2.5.	Nucleus pedunculopontinus.....	63
4.	Diskussion .....	66
4.1.	Neuronale Aktivität des Striatums.....	66
4.2.	Neuronale Aktivität des Globus pallidus (GP).....	67
4.3.	Neuronale Aktivität des Nucleus subthalamicus (STN).....	69
4.4.	Neuronale Aktivität der Substantia nigra pars reticulata (SNr).....	71
4.5.	Neuronale Aktivität des Nucleus pedunculopontinus (PPN) .....	73
4.6.	Veränderungen nach Läsion der SNC (Parkinsonmodell der Ratte) .....	74
4.7.	Veränderungen nach Läsion des PPN.....	75
4.8.	Veränderungen nach Läsion von SNC und PPN.....	77
4.9.	Neues Basalganglien-Modell .....	78
5.	Zusammenfassung .....	80
6.	Verzeichnis der Abkürzungen.....	82
7.	Verzeichnis der Abbildungen, Diagramme und Tabellen .....	84
8.	Literaturverzeichnis.....	86
9.	Veröffentlichung.....	99
10.	Danksagung .....	100
11.	Lebenslauf.....	101

## 1. Einleitung

In Deutschland leiden ca. 250.000 Menschen an der Parkinson-Krankheit.

Immer noch sind die Vorgänge, welche zur Entstehung der Parkinson-Krankheit führen, nicht vollständig geklärt, die Forschungsergebnisse auf dem elektrophysiologischen Gebiet sind zum Teil widersprüchlich (Chesselet und Delfs, 1996; Blandini et al., 2000). Dies mag unter anderem ein Grund dafür sein, dass insbesondere nach langen Krankheitsverläufen nur unbefriedigende Therapiemöglichkeiten zur Wahl stehen.

Namensgeber dieser Erkrankung ist James Parkinson, der erstmals 1817 die Symptome der von ihm als „Schüttellähmung“ bezeichneten Erkrankung beschrieb. Hierbei tritt eine typische Trias motorischer Symptome auf, es kommt zu Muskelzittern (Tremor), Bewegungsarmut (Akinese) und Muskelsteifigkeit (Rigor). Häufig ist durch Sprechstörungen sowie eingeschränkte Schreibfähigkeit (Mikrografie) eine Einschränkung der kommunikativen Fähigkeiten zu beobachten, oft leiden die Betroffenen auch an Depressionen (Masuhr und Neumann, 1998). Den Symptomen zugrunde liegt ein Verlust an Dopamin produzierenden Zellen in der Substantia nigra pars compacta. Dies führt zu einem Dopaminmangel im Striatum und in Folge dessen zu Veränderungen in der Aktivität der Basalganglien.

Hierbei handelt es sich um eine Gruppe von subkortikalen Kerngebieten, zu welcher im Einzelnen folgende Strukturen gezählt werden:

Striatum, Globus pallidus externus (GPe), Globus pallidus internus (GPi), Nucleus subthalamicus (STN) und die Substantia nigra (SN).

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschließlich mit den motorischen Aufgaben der Basalganglien, wenngleich diese auch in engem Kontakt zu assoziativen und limbischen Strukturen stehen (Alexander und Crutcher, 1990).

Ein weiteres Kerngebiet, welchem in dieser Arbeit besondere Aufmerksamkeit entgegengebracht wird, ist der Nucleus pedunculo pontinus (PPN). Dieser Kern wird zwar nicht zu den Basalganglien gezählt, steht zu ihnen aber in enger Verbindung und spielt ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Steuerung motorischer Vorgänge.

## **1.1. Die Basalganglien**

### **1.1.1. Funktionelle Organisation und Physiologie**

Wurden früher unter dem Begriff Basalganglien lediglich das Putamen und der Nucleus caudatus, welche gemeinsam das Striatum bilden, sowie der Globus pallidus (GPi und GPe) zusammengefasst, so werden heute aufgrund der engen Verknüpfung zu diesen Kernen auch die Substantia nigra (SN) und der Nucleus subthalamicus (STN) zu dieser Gruppe gezählt. Aufgabe der Basalganglien ist die Verarbeitung von Informationen, welche vom Kortex über das Striatum Eingang in die Basalganglien finden und von dort über den Thalamus wieder zurück zum Kortex geleitet werden. Dabei ist die Art der verarbeiteten Signale vielgestaltig: Die Basalganglien erhalten Informationen von assoziativen, limbischen sowie motorischen Kortexarealen, wobei die unterschiedlichen Aufgaben in weitgehend voneinander getrennten Kreisläufen bearbeitet werden. So kann man in den Basalganglien fünf verschiedene sog. Schleifen der Informationsverarbeitung unterscheiden, welche überwiegend unterschiedliche Neuronenpopulationen der jeweiligen Kerne innervieren. Hierbei sind neben der motorischen Schleife, welcher im Folgenden mehr Aufmerksamkeit gewidmet wird, auch zwei assoziative Schleifen sowie eine okulomotorische und eine limbische Schleife vorhanden (Alexander und Crutcher, 1990).

Die motorische Schleife stellt den am besten untersuchten Anteil der Basalganglien dar. Hier sind Efferenzen der motorischen, prämotorischen und supplementärmotorischen sowie somatosensorischen Hirnrinde mit dem Striatum verbunden, auf welches sie über Glutamat einen exzitatorischen Einfluss ausüben. Vom „Eingangskern“ Striatum führen nun verschiedene Wege zu den Basalganglien-Ausgangskernen Substantia nigra pars reticulata (SNr) und Globus pallidus internus (GPi). Hier ist zum einen der direkte Weg zu nennen. Über ihn fließt die Information vom Striatum über Projektionsneurone, die sich  $\gamma$ -Amino-Buttersäure (GABA) und Substanz P als Transmitter bedienen, direkt zu SNr und GPi, wo sie für eine Hemmung der ihrerseits GABAergen Neurone sorgen. Dies reduziert den hemmenden Einfluss von SNr und GPi auf den Thalamus und führt so zu einer Aktivitätssteigerung im Kortex. Ein anderer, indirekter Weg führt vom Striatum über den Globus pallidus externus (GPe) und den

STN zu den Ausgangskernen. Die Projektion vom Striatum zum GPe ist inhibitorisch (GABA, Enkephalin), ebenso wie die Projektion von GPe zu STN (GABA). Der STN ist der einzige Kern der Basalganglien mit exzitatorischer Wirkung. Über den Transmitter Glutamat ist er in der Lage, die Aktivität von GPi und SNr zu steigern. Insgesamt führt dieser indirekte Weg zu einer Aktivierung der Basalganglien-Ausgangskerne und somit im Gegensatz zum direkten Weg zu einer Hemmung von Thalamus und Kortex. Des Weiteren wird seit einigen Jahren auch ein „hyperdirekter“ Weg postuliert. Hierbei fließt die Information vom Kortex über eine exzitatorische Verbindung direkt zum STN und von dort weiter zu SNr und GPi (Canteras et al., 1988; Canteras et al., 1990; Nambu et al., 2000; Nambu et al., 2002).

Moduliert wird die Aktivität der Basalganglien über Dopamin aus der Substantia nigra pars compacta. Deren dopaminerge Neurone projizieren hauptsächlich ins Striatum, wo Dopamin zwei unterschiedliche Arten der GABAergen Neurone in gegensätzlicher Weise beeinflusst. Neurone des direkten Weges, welche zu SNr bzw. GPi projizieren, besitzen neben GABA auch Substanz P als Transmitter. Diese Neurone tragen D<sub>1</sub>-Rezeptoren und erfahren durch Dopamin eine exzitatorische Wirkung. Anders hingegen die Neurone des indirekten Weges: Hier kommt neben GABA auch Enkephalin zum Einsatz. Sie tragen D<sub>2</sub>-Rezeptoren und werden durch Dopamin inhibiert (Alexander und Crutcher, 1990). So fördert Dopamin die Aktivierung des Thalamus und somit die Kortexaktivität über zwei verschiedene Wege: Es reduziert die Erregung der inhibitorischen Ausgangskerne und fördert deren Hemmung.

Abbildung 1 gibt eine Übersicht über die Vernetzung der Basalganglien.

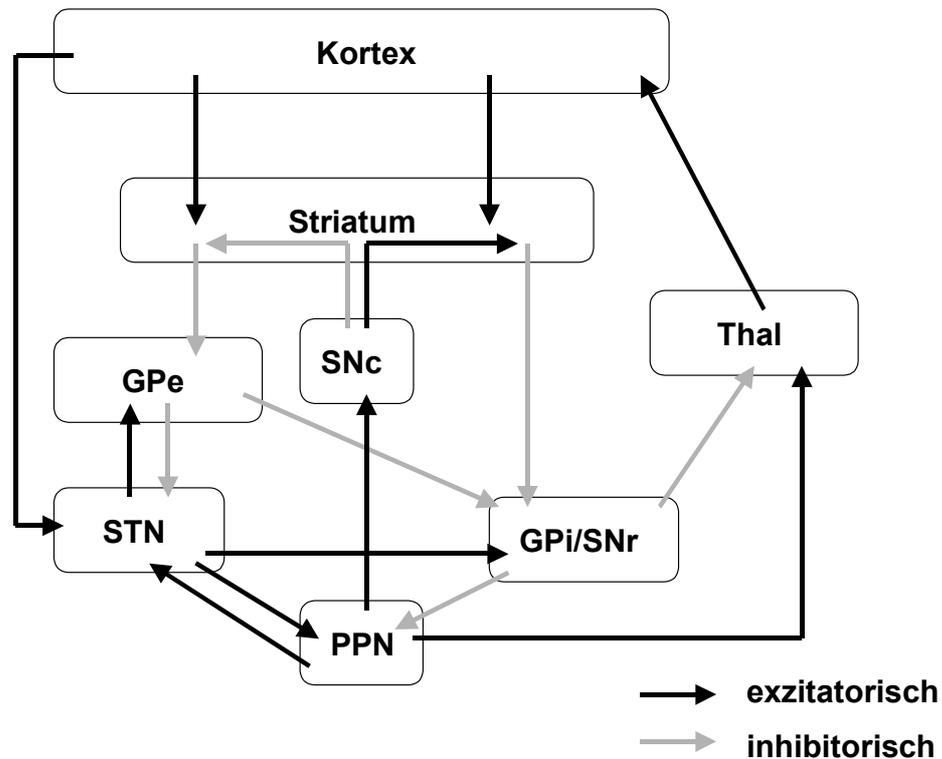


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Basalganglien und ihrer Verbindungen, modifiziert nach Alexander und Crutcher in TINS 1990, Fig. 2 (Alexander und Crutcher, 1990).

Im Folgenden soll nun auf die einzelnen Kerne der Basalganglien näher eingegangen werden.

#### 1.1.1.1. Substantia nigra pars compacta (SNc)

Bei der SNc handelt es sich um den dopaminergen Anteil der Substantia nigra. Sie innerviert das Striatum sowie den STN und beide Teile des Globus pallidus (GPe und GPi) (Smith und Kieval, 2000). Es konnten auch monosynaptische Verbindungen zum Thalamus nachgewiesen werden (Freeman et al., 2001). Der überwiegende Anteil der dopaminergen Neurone innerviert jedoch das Striatum. Hier kann Dopamin aufgrund der unterschiedlichen Rezeptoren sowohl exzitatorisch als auch inhibitorisch auf die Projektionsneurone wirken. Dabei spielen vor allem  $D_1$ - und  $D_2$ -Rezeptoren eine Rolle (Aizman et al., 2000), wobei die Stimulation von  $D_1$ -Rezeptoren zu einer Aktivierung GABAerger Striatum-

neurone führt, wohingegen D<sub>2</sub>-Rezeptoren eine inhibitorische Wirkung vermitteln (Alexander und Crutcher, 1990).

#### 1.1.1.2. Striatum

Das Striatum bildet den Haupteingangskern der Basalganglien. Neben den kortikalen Projektionen erhält es auch Afferenzen von Thalamus, STN und PPN (Nakano et al., 1990). Es handelt sich um eine sehr heterogene Struktur, die wenigstens sechs verschiedene Neuronenpopulationen beherbergt. Die meisten Neurone sind GABAerg und projizieren in den Globus Pallidus oder in die Substantia nigra, es sind aber auch unterschiedliche Arten von Interneuronen anzutreffen, deren Efferenzen innerhalb des Striatums enden. Zu erwähnen sind hier die sog. TANS („tonically active neuron“), welche Acetylcholin (ACh) als Botenstoff einsetzen (Kawaguchi et al., 1995). Neben den Projektionsneuronen werden auch diese Interneurone durch Dopamin moduliert (Pisani et al., 2000), ebenso konnte eine afferente Verbindung mit dem GPe gezeigt werden (Bevan et al., 1998). Diese beiden Strukturen zeigen bei Verlust dopaminergener Neurone eine erhöhte Synchronität ihrer Aktivität (Raz et al., 1996).

#### 1.1.1.3. Globus pallidus externus (GPe/GP)

Hier ist die Nomenklatur bei verschiedenen Spezies unterschiedlich. Dem Globus pallidus externus des Primaten entspricht bei der Ratte der laterale Globus pallidus, auch nur Globus pallidus genannt (GP). Wird im Folgenden der Ausdruck „GP“ erwähnt, so bezieht sich dies auf die Verhältnisse bei der Ratte und es ist stets der laterale Globus pallidus gemeint. Wird von Primaten im Besonderen gesprochen, so erscheint der Ausdruck „GPe“.

Auch der GP enthält mehr als nur eine Art von Neuronen (Nambu und Llinas, 1994; Cooper und Stanford, 2000), die jedoch alle inhibitorisch wirken und insgesamt einheitlicher agieren, als dies im Striatum der Fall ist. Der GP erhält inhibitorische Afferenzen aus dem Striatum sowie exzitatorische Afferenzen aus dem STN, über beide Kerne kann der Kortex Einfluss auf den GP nehmen (Kita, 1992). Es konnte gezeigt werden, dass beide Kerne auf dasselbe Neuron im

GP projizieren können (Hazrati und Parent, 1992a), wobei die striato-pallidalen Projektionen topografisch organisiert sind (Hazrati und Parent, 1992c).

#### 1.1.1.4. Nucleus subthalamicus (STN)

Der STN ist mit seinen glutamatergen Neuronen (Smith und Parent, 1988) die einzige exzitatorisch wirkende Struktur der Basalganglien. Mit dem GP steht er in reziproker Verbindung und bildet mit diesem ein Netzwerk, welchem die Fähigkeit zugeschrieben wird als Schrittmacher der Basalganglien zu fungieren (Plenz und Kital, 1999) und welches aufgrund spezifischer Zellmembraneigenschaften zur Generierung von rhythmischer Aktivität befähigt ist. Fehler bei der Modulation dieser rhythmogenen Eigenschaften könnten zur Genese des Tremors bei Parkinson-Patienten beitragen (Bevan et al., 2002).

Außer vom GP erhält der STN inhibitorische Afferenzen vom Striatum. Kortex, PPN und der parafaszikuläre Nucleus des Thalamus (PF) üben hingegen einen exzitatorischen Einfluss auf den STN aus (Kitai und Deniau, 1981; Canteras et al., 1990). Besonders aufgrund der kortikalen Afferenzen kann der STN somit neben dem Striatum als ein weiterer Eingangskern der Basalganglien angesehen werden (Levy et al., 1997). Ebenso konnte gezeigt werden, dass der STN in wechselseitiger monosynaptischer und multisynaptischer Verbindung zur SNc steht, so kann der STN durch Aktivitätssteigerung die Dopamin-Ausschüttung erhöhen (Mintz et al., 1986; Kita und Kitai, 1987; Hassani et al., 1997). In welcher Weise die SNc den STN direkt beeinflusst, konnte noch nicht abschließend geklärt werden (Johnson et al., 1994; Parry et al., 1994; Francois et al., 2000). Jedoch beschreibt Hassani nach Infusion eines Dopaminagonisten eine Hypoaktivität im STN (Hassani und Feger, 1999). Hemsley konnte nach intrasubthalamischer Injektion von Dopaminantagonisten in den STN eine Tonuserhöhung der Muskulatur beobachten, ähnlich dem Parkinson-Syndrom (Hemsley et al., 2002). Dies würde für eine inhibitorische Wirkung von Dopamin auf den STN sprechen.

Neben den Projektionen zu GP und SNc sendet der STN auch noch Efferenzen zu den Ausgangskernen der Basalganglien (Robledo und Feger, 1990), zum Striatum und zum PPN (Takada et al., 1988; Nakanishi et al., 1991). Gerade

aufgrund seiner exzitatorischen Wirkung auf die Basalganglien-Ausgangskerne (SNr/GPi) wird dem STN eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Parkinson-Syndroms zugesprochen.

#### 1.1.1.5. Die Ausgangskerne der Basalganglien: Substantia nigra pars reticulata (SNr) und Globus pallidus internus (GPi) / Nucleus entopeduncularis (EP)

Auch hier stoßen wir wieder auf eine uneinheitliche Namensgebung bei Primaten und Ratten. Die beim Primaten Globus pallidus internus (GPi) genannte Struktur wird bei der Ratte als Nucleus entopeduncularis (EP) bezeichnet. Im Folgenden wird vorzugsweise die Bezeichnung EP verwendet. Sofern nicht ausdrücklich auf Unterschiede zwischen EP und GPi hingewiesen wird, werden analoge Verhältnisse bei EP und GPi angenommen.

SNr und EP wird hier ein gemeinsames Kapitel gewidmet, obgleich es sich um zwei verschiedene Strukturen handelt. Die Ursache liegt in der durchaus vergleichbaren Funktion dieser beiden Kerne. Sie bilden die so genannten Ausgangskerne der Basalganglien, d.h. sie leiten die Informationen an den Thalamus weiter und führen entweder zu dessen verstärkter oder abgeschwächter Hemmung (Alexander und Crutcher, 1990). Außerdem senden sie efferente Projektionen zu SNc (Smith und Kieval, 2000) und PPN (Noda und Oka, 1984; Granata und Kitai, 1991). Afferenzen erhalten die Ausgangskerne von STN, Striatum (Bevan et al., 1994), GPe (Bolam und Smith, 1992; Smith et al., 1994; Bevan et al., 1996) und SNc (Parent und Smith, 1987; Smith und Kieval, 2000). Der Unterschied zwischen Primat und Ratte ist hierbei, dass bei Primaten der GPi funktionell von größerer Bedeutung zu sein scheint als die SNr, während bei der Ratte die SNr die wichtigere Rolle spielt (Hardman et al., 2002).

Die Hyperaktivität der Basalganglien-Ausgangskerne, welche sich in einer erhöhten Feuerungsrate der Neurone und modifiziertem Aktivitätsmuster (Murer et al., 1997) sowie in metabolischen Veränderungen (Herrero et al., 1996b) zeigt, ist eines der entscheidenden Merkmale des Parkinson-Syndroms.

### **1.1.2. Die Basalganglien und die Parkinson-Krankheit**

Die Aufgabe des motorischen Anteils der Basalganglien besteht in der Modulation von Bewegungsplanung, -initialisierung und -ausführung. Dies erklärt, weshalb es nach Einschränkung dieser Funktionen zu so erheblichen Störungen der Motorik kommen kann, wie sie beim Parkinson-Syndrom zu beobachten sind.

Es wird angenommen, dass am Anfang der Kette, welche schließlich zu der bekannten Trias Tremor – Rigor – Akinese führt, ein Verlust an Dopamin produzierenden Zellen in der SNc steht. Dieser Zelluntergang ist zunächst einseitig, greift aber bald auch auf die zweite Hirnhälfte über. Dementsprechend bleibt meist eine Körperhälfte in der Krankheitssymptomatik führend, wenngleich in der Regel im Laufe der Erkrankung beide Seiten betroffen sind.

Für den Tod der Neurone werden hierbei Störungen im Zellmetabolismus bzw. der Zellrezeptoren verantwortlich gemacht. Diese zum Teil erblichen Veränderungen führen zu einer erhöhten Empfindlichkeit der dopaminergen Neurone gegenüber exzitatorischen Aminosäuren, welche dann bereits in physiologischen Konzentrationen in der Zelle zur vermehrten Bildung von freien Radikalen führen und das Neuron so durch oxidativen Stress schädigen (Albin und Greenamyre, 1992; Löschmann und Schulz, 1997; Beal, 2003).

Der Untergang der Neurone in der SNc führt nun zu einem Dopaminmangel im Striatum. Daraus folgt zum einen durch mangelnde Aktivierung von D<sub>2</sub>-Rezeptoren über den indirekten Weg eine Minderung der Inhibition jener striataler Neurone, welche den GP hemmen. Somit wird der GP verstärkt inhibiert und kann seine hemmende Wirkung auf den STN nicht mehr voll entfalten (Alexander und Crutcher, 1990). Dieser Punkt wird allerdings kontrovers diskutiert, da die hier postulierte Hypoaktivität des GP in einigen Studien widerlegt wurde (Levy et al., 1997; Ni et al., 2000b; Orioux et al., 2000). Unstrittig ist jedoch die Hyperaktivität des STN nach dem Verlust von dopaminergen Neuronen. Dies führt zu einer erhöhten Aktivität der Basalganglien-Ausgangskerne, welche nun verstärkt den Thalamus inhibieren und verursacht so eine verminderte Kortexaktivität (Bergman et al., 1994).

Eine weitere Möglichkeit der vermehrten Hemmung des Thalamus führt über den direkten Weg. Bei striatalem Dopaminmangel wird durch fehlende Erregung der D<sub>1</sub>-Rezeptoren der direkte, inhibitorische Einfluss des Striatums auf die Basalganglien-Ausgangskerne reduziert, was zu deren Enthemmung führt. Diese Hyperaktivität der Basalganglien-Ausgangskerne verursacht wiederum eine verstärkte Inhibition des Thalamus.

Abbildung 2 zeigt die Veränderungen in den Basalganglien bei der Parkinson-Erkrankung.

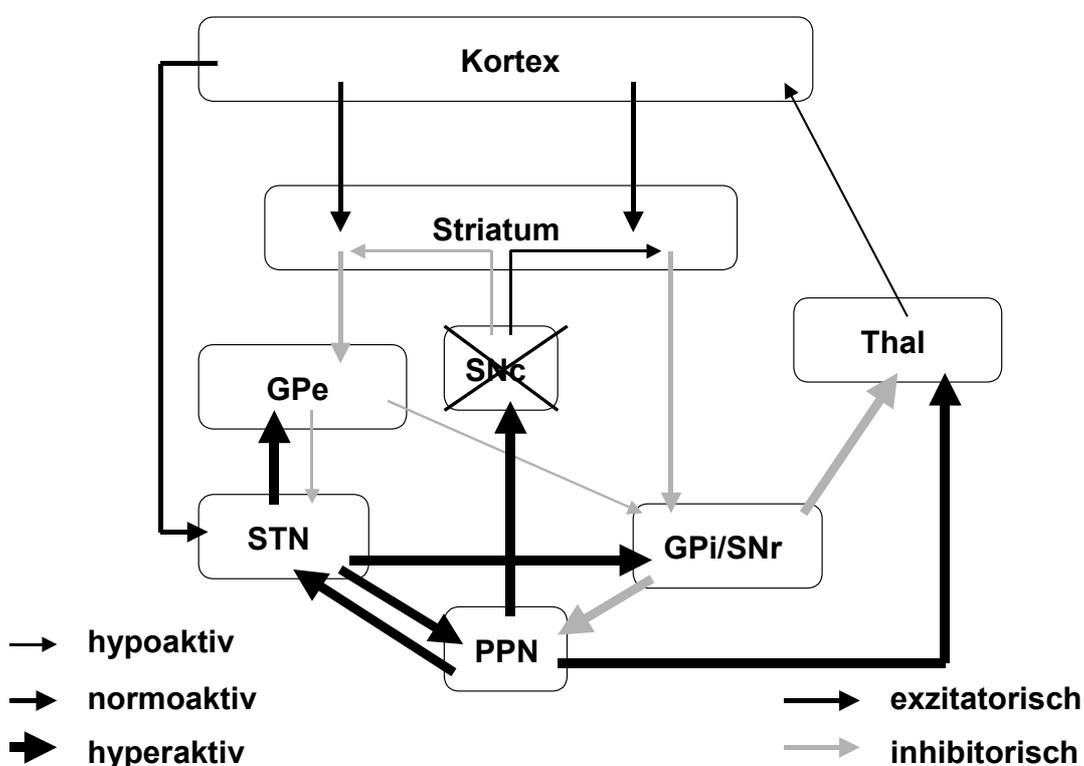


Abbildung 2: Basalganglienschema bei der Parkinson-Erkrankung

In den letzten Jahren wurde zunehmend versucht, aus den Kenntnissen über die Veränderungen in den Basalganglien therapeutischen Nutzen zu ziehen. So wurde eine Technik entwickelt, bei der durch operative Elektrodenimplantation selektiv ein bestimmtes Kerngebiet durch elektrische Stimulation inhibiert wird, wobei hier im Besonderen der STN als Zielstruktur einer solchen Tiefenhirnstimulation zunehmendes Interesse erfahren hat. Durch die reduzierte exzitatorische Wirkung von STN auf SNr/GPi soll deren hemmende Wirkung auf den

Thalamus reduziert werden. Erste Studien zeigen vielversprechende Erfolge bei der Bekämpfung sämtlicher motorischer Defizite bei medikamentös austherapierten Patienten (Limousin et al., 1995; Limousin et al., 1996; Rodriguez-Oroz et al., 2000; Katayama et al., 2001; Stolze et al., 2001; Figueiras-Mendez et al., 2002).

### **1.1.3. Das Tiermodell der Parkinson-Krankheit**

Der enorme Zugewinn an Wissen, der in den letzten Jahren auf dem Gebiet der Basalganglien stattgefunden hat, ist zu einem großen Teil auf die zahlreichen Tierversuche zurückzuführen. Sie konnten erheblich zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie beitragen.

Hierbei kommen in der Hauptsache zwei Tiermodelle der Parkinson-Erkrankung zum Einsatz. Zum einen besteht nach der Entdeckung von MPTP und seiner selektiven neurotoxischen Wirkung auf dopaminerge Neurone seit den achtziger Jahren die Möglichkeit, durch intravenöse Gabe bei Primaten ein halb- oder beidseitiges Parkinson-Syndrom zu erzeugen, wobei die halbseitige Läsion hierbei durch Injektion von MPTP in eine der beiden Karotiden erzielt wird (Matsumura, 2001a). Hierdurch wurde auch die Entwicklung neuer Therapieformen wie der Tiefenhirnstimulation ermöglicht (Bergman et al., 1990; Bergman et al., 1994; Wichmann et al., 1994b; Wichmann et al., 1994a; Benazzouz et al., 1996; Figueiras-Mendez et al., 2002).

Ein weiteres Tiermodell wurde an der Ratte etabliert, dieses wurde auch in den Versuchen zur vorliegenden Arbeit angewendet. Bei diesem Modell werden durch Injektion von 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) in die Substantia nigra pars compacta die dortigen dopaminergen Neurone zerstört (Hokfelt und Ungerstedt, 1973). Bei Ratten sind die motorischen Einschränkungen deutlich weniger ausgeprägt als bei Primaten, es lassen sich jedoch auch hier vor allem nach i.p. Injektion von Apomorphin deutliche Auffälligkeiten in der Motorik ausmachen (Cenci et al., 2002). Trotz der im Vergleich zum Affen größeren Abweichung des Rattenhirns vom menschlichen Gehirn (Hardman et al., 2002), bietet auch dieses Modell eine gute Möglichkeit, weitere Erkenntnisse über die Basal-

ganglien und deren Fehlfunktionen im Rahmen der Parkinson-Krankheit zu gewinnen (Cenci et al., 2002).

## **1.2. Der Nucleus pedunculopontinus**

### **1.2.1. Anatomie**

Der Nucleus pedunculopontinus liegt, wie schon der Name vermuten lässt, in enger Nachbarschaft zum oberen Kleinhirnstiel im rostralen Hirnstamm. Dorsal grenzt er an den Nucleus cuneiformis und die tiefen mesencephalischen Kerne, ventral ist die pontine Formatio reticularis gelegen. Nach kaudal ist ihm der Nucleus parabrachialis benachbart, die Substantia nigra und der Nucleus ruber sind rostral von ihm zu finden.

Der PPN ist eine sehr heterogene Struktur (Kang und Kitai, 1990). Neben den cholinergen Neuronen sind weitere, hauptsächlich glutamaterge Zellgruppen zu finden (Lavoie und Parent, 1994b). Diese Heterogenität hat dazu geführt, dass manche Autoren lediglich die cholinergen Neurone dem PPN zurechnen (Rye et al., 1987). Da beide Neuronengruppen aber in engem anatomischen und funktionellen Zusammenhang stehen, werden in der vorliegenden Arbeit sowohl die cholinergen als auch die nicht-cholinergen Populationen unter dem Begriff PPN zusammengefasst.

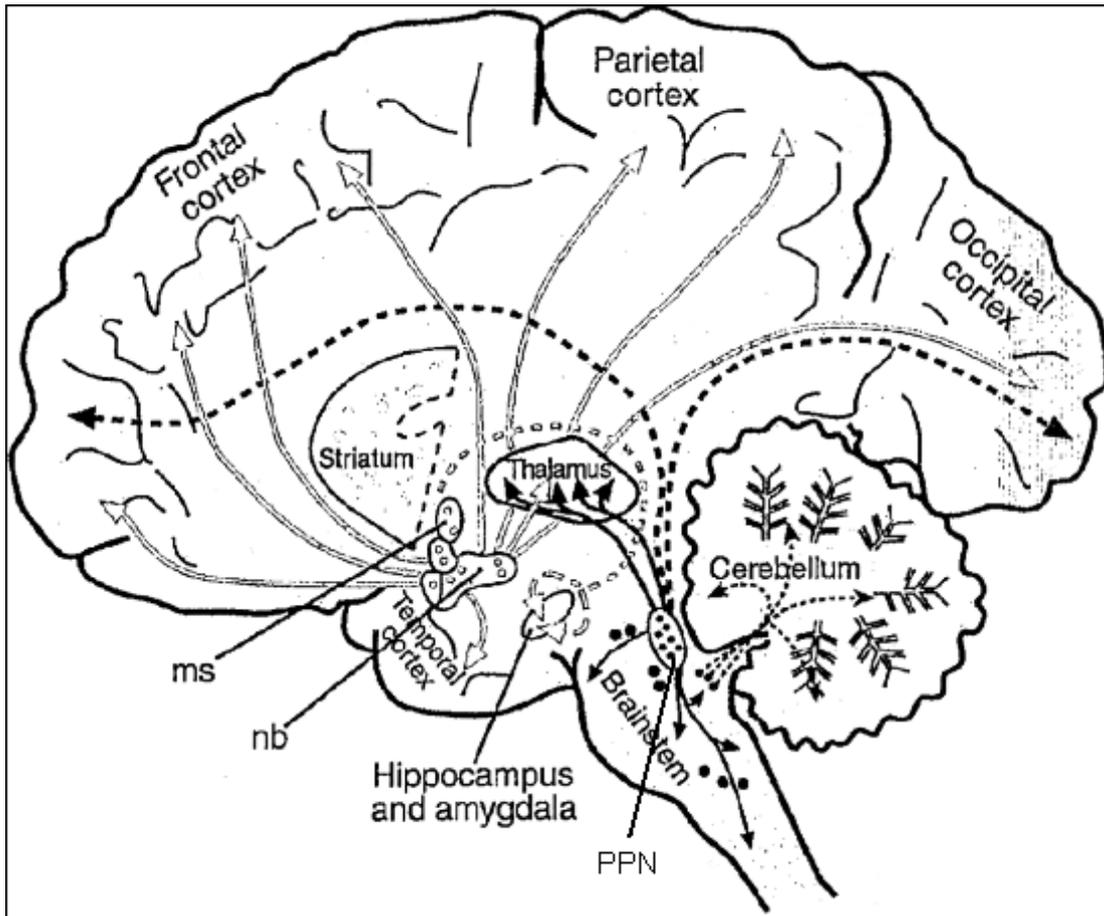


Abbildung 3: Cholinerge Systeme; modifiziert nach Perry in TINS 1999, Fig.1 (Perry et al., 1999)

### 1.2.2. Afferente Verbindungen zum PPN

Der PPN steht mit zahlreichen anderen Kerngebieten in Verbindung, wobei in der Substantia nigra pars reticulata die größte Inputquelle für den PPN vermutet wird (Noda und Oka, 1984; Granata und Kitai, 1991). Weitere Afferenzen erhält der PPN von STN, GP, Striatum, dem limbischen System (Ncl. accumbens, Substantia innominata), Locus coeruleus, den Raphe-Kernen und dem kontralateralen PPN (Inglis und Winn, 1995), sowie von den tiefen Kleinhirnkernen (Hazrati und Parent, 1992b). Hierbei bilden SNr und GP die stärksten inhibitorischen Afferenzen (GABA), der STN übt den stärksten exzitatorischen Einfluss auf den PPN aus (Glutamat).

Obwohl einige Studien davon ausgehen, dass hauptsächlich die nicht-cholinergen Neurone des PPN afferent mit den Basalganglien in Verbindung stehen (Rye et al., 1987; Steininger et al., 1992), ist anzunehmen, dass sowohl

cholinerge als auch nicht-cholinerge Neurone des PPN Signale aus den Basalganglien erhalten (Winn et al., 1997). Dies konnte unter anderem für die Substantia nigra gezeigt werden (Kang und Kitai, 1990).

### **1.2.3. Efferente Verbindungen des PPN**

Der PPN erhält nicht nur Informationen aus zahlreichen Kerngebieten, er moduliert auch selbst zahlreiche Strukturen. So konnten exzitatorische Verbindungen zur SNc (Scarnati et al., 1984; Beninato und Spencer, 1987; Beninato und Spencer, 1988; Di Loreto et al., 1992; Lavoie und Parent, 1994a; Futami et al., 1995; Charara et al., 1996), zum STN (Nomura et al., 1980), sowie zu GP, Striatum und Thalamus (Gonya-Magee und Anderson, 1983; Woolf und Butcher, 1986) nachgewiesen werden, wobei die bedeutendsten Verbindungen zu den Basalganglien wohl diejenigen zu SN und STN darstellen (Spann und Grofova, 1989; Lavoie und Parent, 1994c). Hier sind sowohl cholinerge als auch nicht-cholinerge Neurone beteiligt (Lavoie und Parent, 1994a; Takakusaki et al., 1996).

Des Weiteren projizieren Neurone des PPN in die Pons, die Medulla und das Rückenmark, zum limbischen System (Amygdala, Ncl. basalis magnocellularis) sowie zum kontralateralen PPN (Inglis und Winn, 1995).

In Abbildung 4 sind die wichtigsten Verbindungen noch einmal dargestellt.

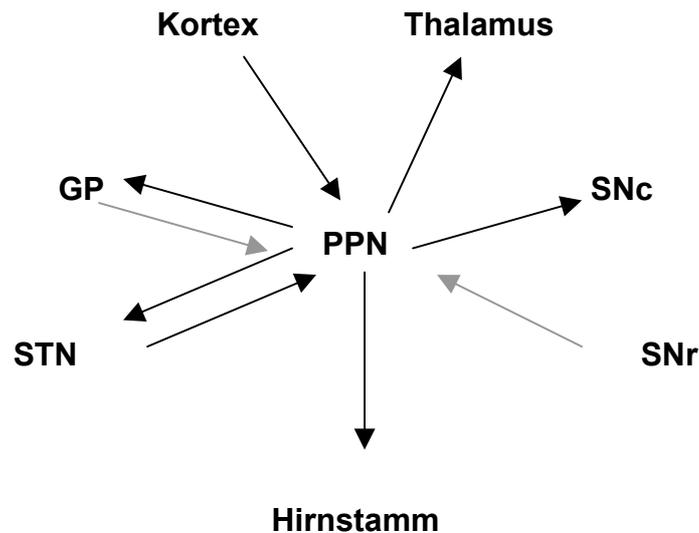


Abbildung 4: Afferenzen und Efferenzen des PPN (modifiziert nach Inglis in Progress in Neurobiology, 1995 (Inglis und Winn, 1995)). Exzitatorische Verbindungen sind in schwarz, inhibitorische Verbindungen in grau dargestellt.

#### 1.2.4. Funktionen

So zahlreich wie seine Verbindungen, so umfangreich sind auch die Aufgaben des PPN. Durch seine Verbindungen zum limbischen System spielt er eine große Rolle im Belohnungssystem, bei Motivation und Lernverhalten (Bechara und van der Kooy, 1992; Corrigall et al., 2002; Keating et al., 2002; Alderson et al., 2003; Homs-Ormo et al., 2003). Auch an der Steuerung des Schlaf-Wachrhythmus und des REM-Schlafes scheint der PPN beteiligt zu sein (Tortorello et al., 2002; Balatoni und Detari, 2003). Ebenso finden sich bei Aktivitätsänderungen des PPN Auffälligkeiten in der Motorik. So tritt beispielsweise beim Affen nach Läsion des PPN eine Akinese ähnlich dem Parkinson-Syndrom auf (Munro-Davies et al., 1999; Takada et al., 2000). Aufgrund dieser zahlreichen Funktionen des PPN liegt die Vermutung nahe, dass durch ihn eine Verknüpfung von limbischen, kognitiven und motorischen Informationen möglich ist (Shink et al., 1997; Winn et al., 1997).

#### 1.2.5. Der PPN und die Basalganglien

Wie bereits erwähnt steht der PPN mit zahlreichen Kernen der Basalganglien in Verbindung, besonders hervorzuheben sind hier die Substantia nigra und der Nucleus subthalamicus. STN und PPN üben gegenseitig einen exzitatorischen

Effekt auf den jeweils anderen Kern aus (Nomura et al., 1980; Breit et al., 2001). Der PPN ist in höherem Maße als der STN dazu in der Lage, die Aktivität der SNc und damit auch die Dopaminausschüttung im Striatum zu steigern (Forster und Blaha, 2003). Einen hemmenden Einfluss erfährt der PPN durch die SNr (Noda und Oka, 1984; Granata und Kitai, 1991).

Abbildung 5 zeigt die Verbindungen des PPN mit den Basalganglien.

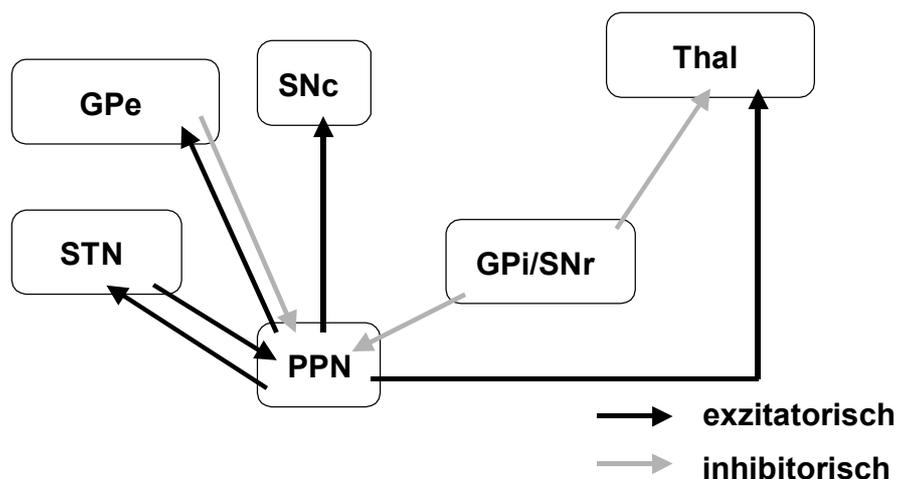


Abbildung 5: PPN und die Basalganglien

Auf die enge Verknüpfung von PPN und Basalganglien weist ebenfalls die Ähnlichkeit der Symptomatik infolge des Ausfalls von SNc bzw. PPN hin: In beiden Fällen kommt es zur Akinese (Munro-Davies et al., 1999). Dies ließe sich über die oben genannte exzitatorische Verbindung des PPN zur SNc erklären. Entfällt der aktivierende Einfluss des PPN, so wird weniger Dopamin ausgeschüttet, eine Situation, die funktionell mit dem Zustand bei einer Parkinson-Erkrankung vergleichbar wäre.

Unklar ist jedoch immer noch die Rolle des PPN beim Parkinson-Syndrom selbst. Während einige Autoren von einer Hypoaktivität des PPN nach SNc-Läsion ausgehen (Matsumura und Kojima, 2001b), konnten andere metabolische und elektrophysiologische Untersuchungen eine Hyperaktivität des Kerns zeigen (Orieux et al., 2000; Breit et al., 2001; Jeon et al., 2003). Sicher ist wohl eine erhöhte Aktivität der Afferenzen, ob hier jedoch der Einfluss der inhibitorischen SNr oder des exzitatorischen STN überwiegt, ist unklar (Carlson et al.,

1999). Beiden Kernen wird bei Ausfall der SNc eine Hyperaktivität zugesprochen.

In mehreren Studien konnte allerdings gezeigt werden, dass es beim Parkinson-Syndrom zu einem Untergang der cholinergen Neurone im PPN kommt, wobei ca. 50% der Neurone zu Grunde gehen. Dieser Zellverlust steht in positiver Korrelation zum Zellverlust der SNc (Jellinger, 1988; Zweig et al., 1989). Ob auch nicht-cholinerge Neurone betroffen sind und welche Mechanismen hierfür verantwortlich sind, ist jedoch unklar.

Aufgrund der zahlreichen Verknüpfungen zwischen Basalganglien und PPN wird diesem auch bei der Pathophysiologie des Morbus Parkinson eine zunehmend größere Rolle zugeschrieben. So lassen sich beispielsweise nicht alle Symptome durch die Hemmung der thalamo-kortikalen Schleife verstehen, hier bietet der PPN eine Erklärungsmöglichkeit für Symptome wie Schlafstörungen, Haltungs- und Gangschwierigkeiten und auch Akinese (Munro-Davies et al., 1999).

Aufgrund des vermuteten Zusammenhangs zwischen Veränderungen im PPN und dem Parkinson-Syndrom wurden am Affen bereits Versuche unternommen, durch Manipulation am PPN die Parkinson-Symptomatik günstig zu beeinflussen. So erreichte Nandi am Parkinson-Tiermodell des Affen durch Blockade hemmender Afferenzen zum PPN, also einer Aktivitätserhöhung des PPN, eine Besserung der Akinese (Nandi et al., 2002a; Nandi et al., 2002b). Hingegen konnte Takada beim Affen durch PPN-Läsion im Vorfeld einer MPTP-Behandlung, welche ein Parkinson-Syndrom induziert, eine neuroprotektive Wirkung erzielen, d.h. nach vorheriger PPN-Läsion waren erheblich höhere Mengen an MPTP nötig um die gleiche Schwere der Symptomatik zu erreichen als bei zuvor unbehandelten Tieren (Takada et al., 2000). Dies alles spricht dafür, dass eine Beeinflussung des PPN eventuell therapeutisch beim Parkinson-Syndrom genutzt werden kann.

### **1.3. In vivo Einzelzelleitung**

Die in den Versuchen zur vorliegenden Arbeit verwendete Technik ermöglicht Aussagen über die Aktivität einzelner Neurone in einem bestimmten Hirnareal.

Insbesondere erlaubt sie die Ermittlung von Frequenz und Feuermuster der Neurone. Die Technik ist seit langem etabliert und wird weltweit von zahlreichen Arbeitsgruppen angewendet (Benazzouz et al., 1995; Beurrier et al., 1999; Baron et al., 2002; Goldberg et al., 2002). Eine nähere Beschreibung findet sich im Teil „Material und Methoden“ im Kapitel „Elektrophysiologische Ableitung“, Seite 28.

#### **1.4. Fragestellung**

Nach PPN-Läsion lässt sich beim Affen eine Akinese beobachten (Kojima et al., 1997; Munro-Davies et al., 1999). Unklar ist, auf welchem Weg die Zerstörung des PPN zu einer Beeinflussung der Motorik führt, hier sind mehrere Möglichkeiten denkbar. Zum einen könnte der PPN über seine absteigenden Verbindungen Einfluss nehmen (Inglis und Winn, 1995). Andererseits wurde bei der PPN-Läsion aufgrund der Parallelität der Symptomatik zur SNc-Läsion und der exzitatorischen Verbindung des PPN zur SNc (Scarnati et al., 1984; Beninato und Spencer, 1987; Beninato und Spencer, 1988; Di Loreto et al., 1992; Lavoie und Parent, 1994a; Charara et al., 1996) eine Entstehung der Akinese über Beeinflussung der Basalganglien vermutet.

Um eine genauere Vorstellung von den Aktivitätsveränderungen in den Basalganglien nach SNc- bzw. PPN-Läsion zu erhalten und Hinweise auf Gemeinsamkeiten und Unterschiede in der Pathophysiologie von SNc- und PPN-Läsion zu gewinnen, wurden extrazelluläre in vivo Einzelzelleitungen in Striatum, GP, STN, SNr und PPN der Ratte durchgeführt. Dabei wurden folgende Versuchsgruppen untersucht:

unbehandelte Kontrolltiere

Tiere mit Läsion der SNc (Parkinson-Modell)

Tiere mit Läsion des PPN

eine Gruppe mit kombinierter SNc- und PPN-Läsion

Durch die Beobachtung der Aktivitätsänderungen (hier Feuerrate und Feuermuster) der den verschiedenen Kernen zugehörigen Neurone sollten

weitere Hinweise auf die Verknüpfungen innerhalb der Basalganglien sowie deren Beeinflussung durch und Einflussnahme auf den PPN gewonnen werden. Insbesondere sollten weitere Indizien für eine gemeinsame pathophysiologische Grundlage der Akinese nach dopaminergem Zellverlust (Parkinson-Symptomatik) und nach PPN-Läsion gefunden werden.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Die Versuche wurden sowohl an männlichen als auch an weiblichen Sprague Dawley Ratten durchgeführt, das Gewicht der Tiere bei Operation bzw. Ableitung lag zwischen 250 g und 350 g. Sie waren in Gruppen von vier bis sechs Tieren in Makrolonkäfigen (56,6 cm x 35 cm x 19 cm, Tecniplast, Pereg Waldkraiburg) untergebracht bei einem Licht/Dunkelrhythmus von 12/12 Stunden (Raumtemperatur: 23°C, relative Luftfeuchtigkeit 40-60%). Wasser und Standardfutter (Ssniff R/M-Haltung, nitrosamin-arm) standen ihnen unbegrenzt zur Verfügung. Nach operativen Eingriffen wurden die Tiere für einige Tage in Einzelkäfige gesetzt und mit in Wasser eingeweichem Standardfutter versorgt.

### **2.2. Stereotaktische Läsion**

Neben der Kontrollgruppe wurde mit drei weiteren Versuchsgruppen gearbeitet. Hierbei kamen zwei verschiedene Läsionstechniken zur Anwendung. Zum einen wurden bei einer Gruppe von Tieren die dopaminergen Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNc) mit 6-OHDA zerstört, zum anderen bei einer zweiten Gruppe der Nucleus pedunculopontinus (PPN) mit Ibotensäure läsioniert. Eine weitere Gruppe erhielt beide Läsionen.

Sämtliche Läsionen wurden ausschließlich an der rechten Gehirnhälfte durchgeführt.

#### **2.2.1. SNc-Läsion**

Hier wurden in der rechten Gehirnhälfte die dopaminergen Neurone der Substantia nigra pars compacta zerstört. Dies entspricht dem Modell eines halbseitigen Parkinson-Syndroms. Beim Parkinsonpatienten sind zwar in aller Regel, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß, beide Seiten betroffen, bei der Ratte lässt sich jedoch aufgrund der letalen Folgen eine doppelseitige Läsion nicht realisieren (Cenci et al., 2002). Auch handelt es sich bei der angewandten Läsion um eine totale dopaminerge Depletion, wohingegen bei Parkinsonpatienten häufig noch Restzellbestände zu finden sind. Aus Gründen der Vergleichbarkeit

innerhalb der Versuchsgruppe ist jedoch die vollständige Läsion das überwiegend angewandte Verfahren.

Die Bestimmung der exakten Läsionskoordinaten erfolgte aus dem Atlas von Paxinos und Watson (Paxinos und Watson, 1996). Hierbei wird der Schnittpunkt zwischen sagittaler und koronarer Schädelnaht, Bregma genannt, als Referenz- und Nullpunkt verwendet. Die Läsionskoordinaten lauteten für ein 290 g schweres Tier 5,30 mm posterior zu Bregma, 2,30 mm lateral zu Bregma und 7,50 mm unter der Schädeloberfläche (AP -5,30 / lat 2,30 / Dp 7,50).

Um eine möglichst selektive Wirkung des 6-Hydroxydopamins auf die dopaminergen Neurone der SNc zu erhalten, wurde den Tieren ca. 40 Minuten vor der Läsion zum Schutz der noradrenergen Neurone Desipramin (Sigma, Deisenhofen) i.p. gespritzt, welches die Wiederaufnahme von Noradrenalin hemmt (Bonagura et al., 1972; Curet et al., 1992). Die Dosis betrug 25 mg/kg Körpergewicht, die Konzentration 4 mg/ml NaCl.

Die Tiere wurden mit einer Ketamin/Xylazin-Narkose anästhesiert, wobei die Dosierung des Ketamins („Curamed“/CuraMED, Karlsruhe; Konzentration: 50 mg/ml) 100 mg/kg Körpergewicht betrug und die des Xylazins („Rompun“/Bayer, Leverkusen; Konzentration: 20 mg/ml) 5 mg/kg Körpergewicht. Die Verabreichung der Substanzen erfolgte intraperitoneal.

Waren die Tiere anästhesiert, so wurde die Kopfhaut rasiert und die Tiere zur Fixierung in einen Stereotaxierahmen (siehe Abbildung 7, Seite 33) eingespannt. Um eine Auskühlung zu verhindern wurden die Tiere auf ein ca. 1,5 cm dickes Stück Schaumstoff gelegt und mit einer Wärmeschutzdecke abgedeckt.

Mit einem Skalpell wurde die Kopfhaut median längs eingeschnitten (Schnittlänge ca. 1 cm) und der Schädelknochen durch Abreiben der Knochenhaut freigelegt, um einen besseren Überblick über die Knochennähte zu erhalten.

Über den Läsionskoordinaten wurde anschließend mit einem elektrischen Bohrer in die Schädeldecke ein Loch von ca. 1 mm Durchmesser gebohrt und die darunter liegende Dura mater entfernt. Anschließend wurde eine Glasspritze („micro syringe“/ Hamilton; 5 µl) mit 6-Hydroxydopamin-HCl (Sigma, Deisenhofen; Konzentration: 2 mg/ml), gelöst in Ascorbat (0,2 mg L-Ascorbinsäure (Sigma, Deisenhofen)/ml NaCl), befüllt. Diese Spritze wurde in eine Halterung an

einer zylinderförmigen Motoreinheit (DC-Actuator: M-230.25 von Physik Instrumente, Waldbronn; Genauigkeit: 1  $\mu\text{m}$ ) am Stereotaxierahmen eingebracht, welche es erlaubte, die Spritzenkanüle PC-gesteuert bis zur gewünschten Läsionstiefe einzubringen.

Die Kanüle wurde nun über den Läsionskoordinaten in Position gebracht und auf die vorgesehene Tiefe gefahren.

Von Hand wurden nun 4  $\mu\text{l}$  des 6-OHDA mit einer Rate von 0,5  $\mu\text{l}/\text{min}$  injiziert. Um eine gleichmäßige Verteilung des 6-OHDA in das umliegende Gewebe zu gewährleisten wurde die Kanüle nach der Injektion noch für ca. 5 Minuten am Läsionsort belassen. Anschließend wurde die Kanüle entfernt und die Kopfhaut wieder vernäht.

Die Tiere waren unter Beobachtung, bis sie aus der Narkose erwachten und wurden in den ersten Tagen nach dem Eingriff in Einzelhaltung untergebracht.

#### 2.2.1.1. Apomorphintest

7 Tage nach der Läsion wurde als Screeningmethode ein Apomorphintest vorgenommen, um die Läsionsqualität bei den einzelnen Tieren beurteilen zu können.

Hierfür wurde den Tieren Apomorphin (Teclapharm) in einer Dosis von 1,0 mg/kg Körpergewicht s.c. injiziert. Nach 20 Minuten wurde die Anzahl der Rotationen gezählt, welche das Tier innerhalb von 5 Minuten kontralateral zur läsierten Seite ausführte. Das Rotationsverhalten wird durch eine direkte agonistische Wirkung des Apomorphins am Dopaminrezeptor erklärt, wobei es sich postsynaptisch an die nach Läsion ipsilateral hochregulierten Dopaminrezeptoren anlagert und ein Rotationsverhalten in kontralateraler Richtung bezogen auf die Seite des Dopaminverlustes, also der Läsion, auslöst (Cenci et al., 2002).

Lag die Zahl der kontralateralen Rotationen über 20, so wurde das Tier als „gut läsiert“ klassifiziert und ca. 3 Wochen später der Ableitung zugeführt.

Der endgültige Beweis der gelungenen Läsion erfolgte nach Abschluss des Experiments histologisch durch eine immunhistochemische Färbung.

Tiere ohne ausreichendes Rotationsverhalten auf Apomorphin wurden durch eine Überdosis Urethan (Sigma, Deisenhofen) getötet.

### **2.2.2. PPN-Läsion**

Durch Injektion von Ibotensäure an zwei Stellen im PPN wurde dieser läsioniert. Es wurde Ibotensäure als Toxin verwendet, da dieses bei effektiver Zellzerstörung benachbarte Nervenfasern kaum beeinflusst (Dunbar et al., 1992; Rugg et al., 1992).

Die Läsionskoordinaten wurden wiederum aus dem Atlas von Paxinos (Paxinos und Watson, 1996) bestimmt. Sie lauteten für den ersten Läsionsort 7,40 mm posterior zu Bregma, 1,80 mm lateral zu Bregma und 7,50 mm unterhalb der Schädeloberfläche (AP -7,40 / lat 1,80 / Dp 7,50) sowie für den zweiten Läsionsort 8,10 mm posterior zu Bregma, 1,80 mm lateral zu Bregma und 7,00 mm unterhalb der Schädeloberfläche (AP -8,10 / lat 1,80 / Dp 7,00).

Da nach Vorversuchen eine Interaktion zwischen Ketamin (Antagonist am NMDA-Rezeptor) (Julien, 1997) und Ibotensäure (Agonist am NMDA-Rezeptor) (Inglis et al., 1993) vermutet wurde, fand die Anästhesierung bei diesem Eingriff mit Chloralhydrat (Sigma, Deisenhofen, Konzentration: 70 mg/ml NaCl) in einer Dosis von 300 mg/kg Körpergewicht statt.

Waren die Tiere anästhesiert, so wurden diese wie in 2.2.1 beschrieben nach Rasur der Kopfhaut in den Stereotaxierahmen eingespannt und für die Läsion vorbereitet.

Die Glasspritze („micro syringe“/ Hamilton; 5 µl) wurde mit 0,06 M Ibotensäure (Tocris; mit Hilfe von NaOH in 1xPBS gelöst) befüllt. Es wurden pro Läsionsort 0,5 µl der Ibotensäure injiziert, was einer Gesamtmenge von 30 nmol/Tier entspricht. Die Injektionsrate betrug 0,2 µl/min.

Nach den Injektionen wurde die Kanüle für jeweils ca. 5 Minuten am Läsionsort belassen, danach wurde die Kopfhaut vernäht und die Tiere bis zum Ende der Aufwachphase beobachtet. Die Unterbringung erfolgte in Einzelhaltung.

Ein reliabler Verhaltenstest zur Abschätzung des Läsionserfolges stand hier nicht zur Verfügung. Die Tiere wurden ca. 7 Tage nach dem Eingriff dem elektrophysiologischen Experiment zugeführt.

### 2.2.3. SNc+PPN-Läsion

Diese Versuchsgruppe erhielt beide Operationen, sowohl die Läsion der SNc als auch im Abstand von 3 Wochen die PPN-Läsion. Die elektrophysiologische Ableitung fand wiederum eine Woche nach PPN-Läsion statt. Die Vorgehensweise war dieselbe wie unter 2.2.1 und 2.2.2 beschrieben.

### 2.3. Elektrophysiologische Ableitung

Die Experimente wurden an folgenden Versuchsgruppen vorgenommen:

- unbehandelte Tiere (Gruppe „Normal“)
- Tiere mit Läsion der SNc (Gruppe „SNc-Läsion“), abgeleitet wurde ca. 4 Wochen nach Läsion (Ni et al., 2001b)
- Tiere mit Läsion des PPN (Gruppe „PPN-Läsion“), abgeleitet wurde ca. eine Woche nach Läsion (Kojima et al., 1997)
- SNc- und PPN-läsionierte Tiere (Gruppe „SNc+PPN-Läsion“), das Experiment fand 4 Wochen nach SNc-Läsion und eine Woche nach PPN-Läsion statt.

#### 2.3.1. Herstellung der Elektroden

Verwendet wurden glasüberzogene Wolframdraht-Elektroden, die selbst hergestellt wurden.

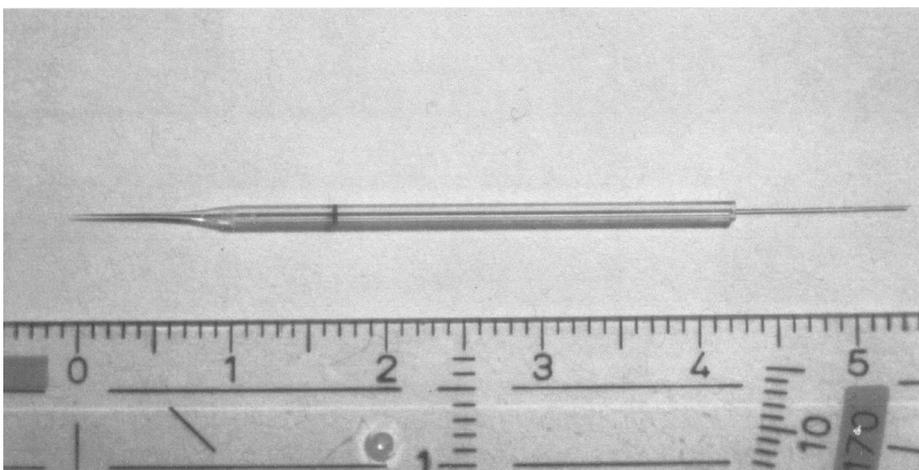


Abbildung 6: gebrauchsfertige Elektrode und Maßstab in cm

Hierfür wurde Wolframdraht (Eggers GmbH, Dürmentingen) mit einem Durchmesser von 120  $\mu\text{m}$  auf eine Länge von ca. 8 cm zurechtgeschnitten. Nach Reinigung mit Alkohol wurde durch elektrochemisches Ätzen (Ätzlösung: 700 ml  $\text{H}_2\text{O}$  dest., 497 g  $\text{NaNO}_3$ , 238 g  $\text{KOH}$ ) ein Ende des Drahtes angespitzt. Dazu wurden die Drähte in eine an einem Motor befestigte Halterung eingespannt und zwischen 10- und 15-mal ca. 2-3 mm tief in die Ätzlösung eingetaucht, wobei zwischen der metallischen Drahthalterung und der Ätzlösung (über einen Kohlestift) eine Spannung von ca. 8 Volt angelegt war. Nach mikroskopischer Kontrolle der Spitzen wurden die Drähte in Glaskapillaren von ca. 6 cm Länge eingeführt (Hilgenberg, Malsfeld: Mikropipetten 25  $\mu\text{l}$ ). Die so vorbereiteten Kapillaren wurden mit beiden Enden in einen Puller eingespannt, durch eine elektrische Heizwendel angeschmolzen und dabei manuell gezogen. So entstand über dem angespitzten Drahtende ein Glasüberzug. Um einen Stromfluss zu ermöglichen musste nun noch die geschlossene Glaschicht direkt an der Spitze durch mechanische Politur geöffnet werden (Micropipette Beveler BV-10; Sutter Instrument Company, Novato/Californien). Anschließend wurde mit einem Messgerät die Impedanz bestimmt. Für die elektrophysiologischen Experimente wurden Elektroden mit einer Impedanz von 4-10  $\text{M}\Omega$  verwendet.

### **2.3.2. Bestimmung der Koordinaten**

Alle Messungen fanden auf der rechten Hemisphäre (bei läsierten Tieren also ipsilateral zur Läsion) statt. Abgeleitet wurde in 5 Kerngebieten: im Striatum, im Globus pallidus lateralis (GP), im Nucleus subthalamicus (STN), in der Substantia nigra pars reticulata (SNr) und im Nucleus pedunculopontinus (PPN).

Um ein aussagekräftiges Bild von den untersuchten Kerngebieten erhalten zu können wurde jeder Kern an 6 festgelegten Positionen angesteuert.

Die Koordinaten hierfür wurden aus dem Atlas von Paxinos und Watson (Paxinos und Watson, 1996) bestimmt. Im Folgenden sind die Koordinaten für die einzelnen Kerngebiete (relativ zum Bregma) aufgelistet (Angaben in mm). Hierbei stehen bei den anterior-posterioren Komponenten (AP) der Koordinaten negative Werte für Distanzen posterior zu Bregma, positive Werte für Distanzen

anterior zu Bregma. Unter Dp (Depth, Tiefe) ist der gemessene Tiefenbereich (ab der Hirnoberfläche) angegeben.

#### 2.3.2.1. Striatum

Position	AP	lat	Dp
1.	1,50	1,70	2,50-7,00
2.	1,50	3,20	2,50-7,00
3.	0,70	2,00	2,50-7,00
4.	0,70	3,60	2,50-7,00
5.	-0,20	2,40	2,50-7,00
6.	-0,20	4,00	2,50-7,00

Tabelle 1: Koordinaten für die Ableitung im Striatum

#### 2.3.2.2. Globus pallidus

Position	AP	lat	Dp
1.	-0,80	2,80	4,50-7,50
2.	-0,80	3,40	4,50-7,50
3.	-1,10	2,80	4,50-7,50
4.	-1,10	3,40	4,50-7,50
5.	-1,40	2,80	4,50-7,50
6.	-1,40	3,40	4,50-7,50

Tabelle 2: Koordinaten für die Ableitung im GP

### 2.3.2.3. Nucleus subthalamicus

Position	AP	lat	Dp
1.	-3,60	2,30	6,50-8,50
2.	-3,60	2,70	6,50-8,50
3.	-3,90	2,30	6,50-8,50
4.	-3,90	2,70	6,50-8,50
5.	-4,20	2,30	6,50-8,50
6.	-4,20	2,70	6,50-8,50

Tabelle 3: Koordinaten für die Ableitung im STN

### 2.3.2.4. Substantia nigra pars reticulata

Position	AP	lat	Dp
1.	-4,80	1,80	6,00-8,80
2.	-4,80	2,70	6,00-8,80
3.	-5,30	1,80	6,00-8,80
4.	-5,30	2,70	6,00-8,80
5.	-5,80	1,80	6,00-8,80
6.	-5,80	2,70	6,00-8,80

Tabelle 4: Koordinaten für die Ableitung in der SNr

### 2.3.2.5. Nucleus pedunculopontinus

Position	AP	lat	Dp
1.	-7,60	4,10	4,50-8,00
2.	-7,60	4,40	4,50-8,00
3.	-7,80	4,10	4,50-8,00
4.	-7,80	4,40	4,50-8,00
5.	-8,00	4,10	4,50-8,00
6.	-8,00	4,40	4,50-8,00

Tabelle 5: Koordinaten für die Ableitung im PPN

Die Elektrode wurde für die Ableitung im PPN in der frontalen Ebene in einem Winkel von 18° zur Senkrechten positioniert (nach medial zeigend), um eine Verletzung des Sinus transversus zu vermeiden.

### **2.3.3. Vorbereitung des Experiments**

Die Tiere wurden durch intraperitoneale Verabreichung von Urethan (Sigma, Deisenhofen, Konzentration: 180 mg/ml NaCl) narkotisiert. Urethan bietet als Narkotikum den Vorteil, dass es eine stabile, lang anhaltende Narkose bietet. Hierbei entfällt auch die Beatmung des Tieres, welche bei der Ableitung Artefakte hervorrufen könnte. Urethan ist aufgrund dieser Vorteile in der Elektrophysiologie ein häufig verwendetes Narkotikum.

Die Initialdosis betrug 1200 mg/kg Körpergewicht, während des bis zu 14 Stunden dauernden Experiments wurde die Narkosetiefe regelmäßig überprüft und ggf. nachinjiziert.

Nach Wirkungseintritt des Urethans wurde das Tier in den Stereotaxierahmen eingespannt und wie in 2.2.1. beschrieben die Schädeldecke freigelegt.

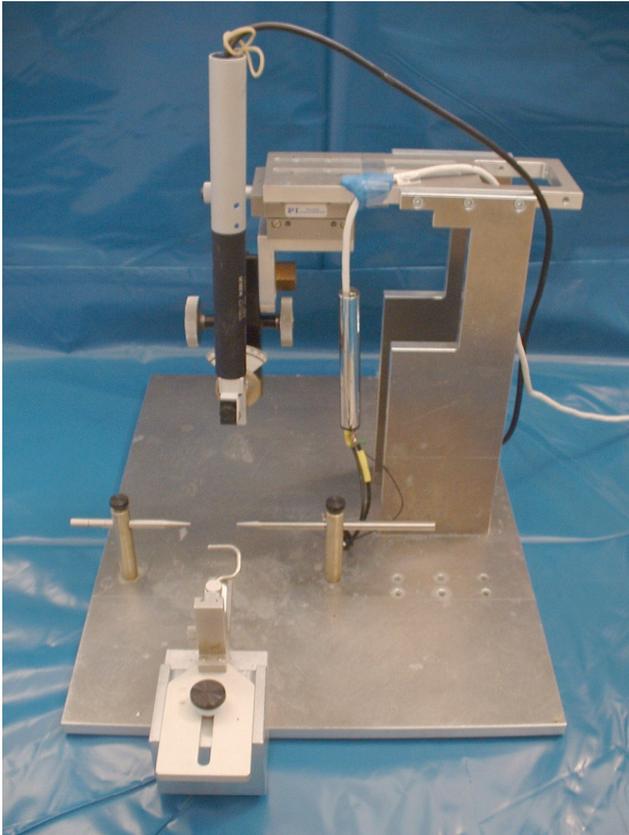


Abbildung 7: Stereotaxierahmen/Messapparatur

Es wurde über dem Messgebiet ein großflächiges Loch in die Schädeldecke gebohrt (ca. 7 mm x 3 mm), das Loch für den PPN wurde separat angefertigt.

Anschließend wurde die so freigelegte Dura mater entfernt.

Die Elektrode wurde in eine Halterung am Stereotaxierahmen eingespannt und die Nullposition (Bregma) bestimmt. Anschließend erfolgte die Einstellung auf das Zielgebiet (AP und laterale Komponente) mit Hilfe von zwei Mikrometerschlitten.

Die Hirnoberfläche wurde unmittelbar vor Messbeginn noch einmal mit NaCl und einem Wattestäbchen gereinigt. Zur Abschirmung gegen elektromagnetische Störfelder wurde um das Tier und die Elektrode ein Faradaykäfig aufgebaut.

### 2.3.4. Datenerfassung

Die von der Elektrode erfassten Signale wurden zehnfach vorverstärkt und mit dem Faktor 1000 endverstärkt (Microelectrode AC Amplifier 1800, AM-Systems, Carlsborg, USA) sowie Bandpass-gefiltert (300-5000 Hz). Die sampling rate (i.e. die Frequenz der Signaldetektion) betrug 20 kHz. Die Visualisierung des Ausgangssignals erfolgte über ein Oszilloskop (Tektronix 2215, 60 MHz), über eine A/D-Wandlerkarte (National Instruments, 6024E Serie) wurde das Signal digitalisiert und auf der Festplatte des Computers gespeichert.

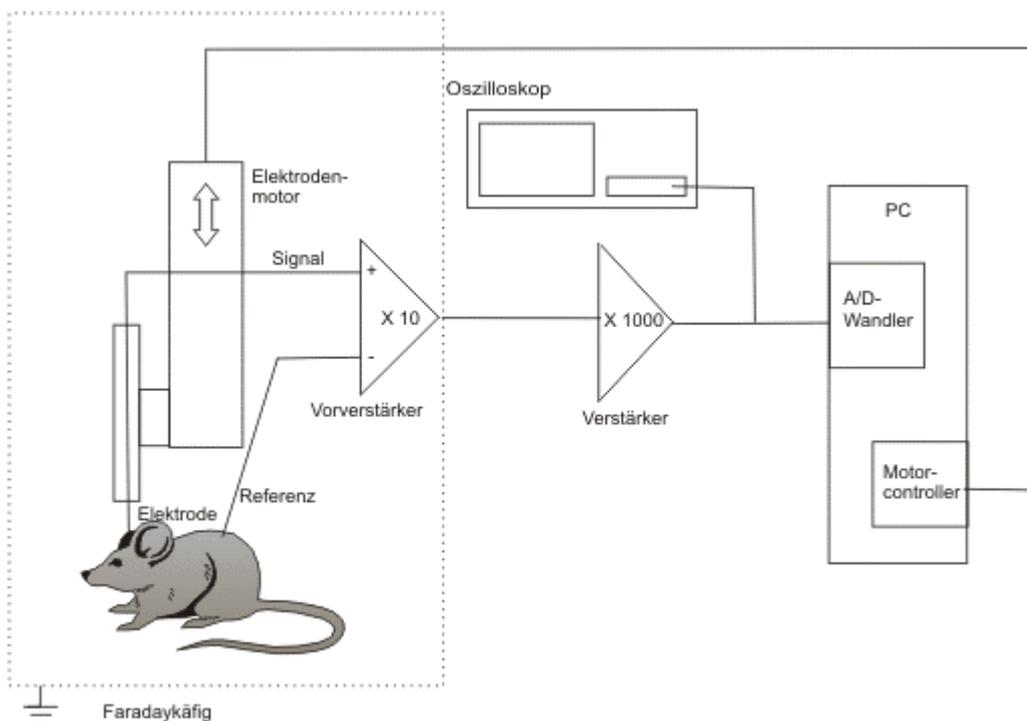


Abbildung 8: Schema Ableitungsapparatur

Nach Abschluss der Vorbereitungen wurde die Elektrode mit derselben Motor-einheit, welche auch bei den Läsionen verwendet wurde, bis auf die gewünschte Tiefe (mit Sicherheitsabstand oberhalb des Kerngebietes) in das Hirngewebe eingebracht. Anschließend wurde die Zielregion systematisch in Schritten von 10-50  $\mu\text{m}$  nach verwertbaren Signalen durchsucht. Hierbei wurden nur stabile, von einer einzelnen Zelle stammende Signale mit einem guten Signal/Rauschen-Verhältnis (3:1) aufgezeichnet. Von jedem Kern wurden 6 verschiedene Spuren abgetastet (siehe Kapitel 2.3.2, Seite 29).

War ein Kerngebiet vollständig abgetastet, so wurde als endgültiger Referenzpunkt für diesen Kern eine Markierung gesetzt. Hierfür wurde die Elektrode an der letzten Messposition belassen und mit Hilfe des Mikrostimulators A365 (WPI, USA) an der Elektrodenspitze durch vorübergehende konstante Stromeinwirkung (unipolar;  $I=10\ \mu\text{A}$ ,  $t=60\ \text{sec}$ ) ein Defekt von ca. 100-200  $\mu\text{m}$  Durchmesser erzeugt. Diese Markierung diente später bei der Rekonstruktion der Neuronenlokalisierung als Referenzpunkt für die Korrektur der Elektrodenposition. Die Markierung war nach der Messung jeden Kerngebietes erforderlich, da aufgrund der leicht gewölbten Hirnoberfläche vor jeder neuen Messung eine Eichung auf die Nullposition erfolgte. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass durch dieses Vorgehen die Aktivität der im Folgenden abgeleiteten Neurone beeinflusst wurde. Dies erscheint jedoch wenig wahrscheinlich, da die Markierung nur ein kleines Areal umfasste und zudem etwas unterhalb und somit außerhalb des eigentlichen Kerngebietes in der weißen Substanz durchgeführt wurde.

Nach Setzen der Markierung wurde die Elektrode aus dem Gewebe herausgefahren und auf das nächste Kerngebiet eingestellt. Es folgte eine Überprüfung der Impedanz um Schäden an der Geometrie der Elektrodenspitze detektieren und die Elektrode ggf. austauschen zu können sowie der erneute Abgleich auf die Nullposition (Hirnoberfläche).

## **2.4. Histologie**

### **2.4.1. Perfusion und Gehirnpräparation**

Im Anschluss an das elektrophysiologische Experiment wurden die Tiere mit einer Überdosis Urethan getötet und anschließend zur Gewebefixierung transkardial über die Aorta ascendens perfundiert. Zunächst wurde mit ca. 100 ml Kochsalzlösung vorgespült, anschließend mit ca. 200 ml 4% Paraformaldehyd-Lösung (PFA; Riedel-de Haen) fixiert. Nach Beendigung der Perfusion wurden die Tiere dekapitiert und die Gehirne vorsichtig aus dem Schädel herauspräpariert. Diese wurden sofort in obige 4% PFA-Lösung überführt, wo sie zwischen 4 und 12 Stunden zur Nachfixierung verblieben. Anschließend wurden die Gehirne zur Kryoprotektion in 20% Saccharose-Lösung (Saccharose gelöst

in NaCl) umgebettet und dort solange belassen, bis sie in der Zuckerlösung abgesunken waren (ca. 12-24 Stunden). Daraufhin wurden sie in Isopentan überführt, welches auf  $-20^{\circ}\text{C}$  heruntergekühlt worden war, und zur weiteren Aufbewahrung bis zur Anfertigung der Hirnschnitte bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

#### **2.4.2. Anfertigung der Hirnschnitte**

Mit Hilfe eines Kryostaten (Leica CM 3050, Bensheim, Deutschland) wurden von den gemessenen Strukturen sowie den läsionierten Kerngebieten koronare Schnitte von  $50\ \mu\text{m}$  Dicke angefertigt. Die zur Kontrolle und ggf. Korrektur der Elektrodenposition vorgesehenen Schnitte wurden direkt auf Objektträger („SuperFrost Plus“/ R. Langenbrinck, Emmendingen) aufgezogen, luftgetrocknet und später mit Kresyl-Violett gefärbt. Schnitte, welche für die Quantifizierung der Läsionen vorgesehen waren wurden bis zur Färbung „free-floating“ bei  $4^{\circ}\text{C}$  in 1xPBS mit 0,05% Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ) in so genannten „24-well-plates“ (2-3 Schnitte/well) aufbewahrt.

#### **2.4.3. Färbung mit Kresyl-Violett**

Diese Färbung wurde verwendet um die tatsächliche Position der Elektrode bzw. der elektrisch erzeugten Markierungen zu ermitteln.

Kresyl-Violett färbt als basischer Farbstoff im Besonderen die ribosomale RNA des granulären endoplasmatischen Retikulums an, welches als Ort intensiver Proteinbiosyntheseaktivität vor allem in Neuronen gut ausgebildet ist. So konnten verschiedene Kerngebiete voneinander abgegrenzt und die Lokalisation der Elektroden festgestellt werden.

##### **2.4.3.1. Verwendete Substanzen**

- Kresyl-Violett-Lösung: 100 mg Kresyl-Violett (Sigma, Deisenhofen) wurden unter Erwärmen (bis  $60^{\circ}\text{C}$ ) in 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$  dest. gelöst, nach Zugabe von 2 Tropfen 100% Eisessig wurde die Lösung filtriert und dunkel bei Raumtemperatur gelagert.
- $\text{H}_2\text{O}$  dest.
- 70% Ethanol

- 95% Ethanol
- 99% Ethanol
- Xylol
- Entellan (Merck)

#### 2.4.3.2. Färbeprotokoll

Im Wärmeschrank wurde zunächst die Kresyl-Violett-Lösung bei 60°C für ca. 10 Minuten erwärmt. Dann wurden die auf Objektträger aufgezogenen Schnitte in die Färbelösung eingebracht und für 10 bis 15 Minuten im Wärmeschrank belassen.

Anschließend wurden die Schnitte aus der Kresyl-Violett-Lösung entnommen und durch kurzes Eintauchen in H<sub>2</sub>O dest. überflüssiger Farbstoff entfernt, danach die Schnitte in aufsteigender Alkoholreihe entwässert. Dabei verblieben die Schnitte für 4 Minuten in 70% Ethanol und je 2 Minuten in 95% bzw. in 99% Ethanol. Im Anschluss wurden die Schnitte während einem 4 Minuten dauernden Bad in Xylol fixiert. Zum Schluss wurden die Schnitte mit Entellan (Merck) eingedeckelt.

#### **2.4.4. Histologische Kontrolle der Elektrodenposition**

Unter dem Lichtmikroskop wurde bei 50- bis 100-facher Vergrößerung anhand der mit Kresyl-Violett gefärbten Hirnschnitte die tatsächliche Position der Messelektroden mit dem Atlas von Paxinos und Watson (Paxinos und Watson, 1996) abgeglichen. Mit Hilfe der hierfür im Labor entwickelten Software „Reco“ (V 1.81) konnten so die sicher innerhalb des gewünschten Kernes liegenden Neurone identifiziert und die zugehörigen abgeleiteten Signale der Auswertung zugeführt werden. Die Abbildungen 9 bis 18 zeigen beispielhaft Schnitte zur Elektrodenlokalisierung in den unterschiedlichen Kerngebieten.

2.4.4.1. Striatum

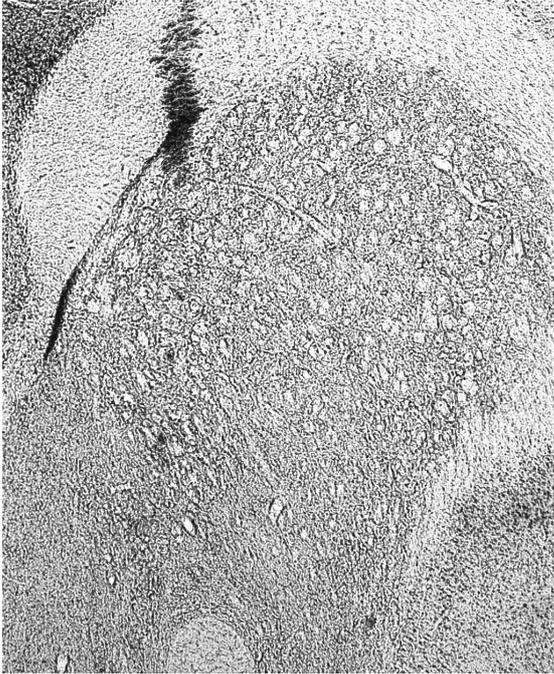


Abbildung 9: Histologischer Schnitt

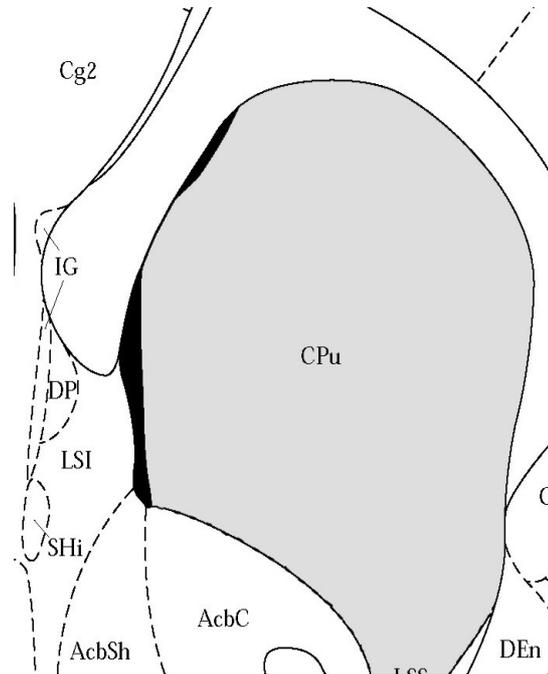


Abbildung 10: Atlasbild; AP 1,70 mm

2.4.4.2. Globus pallidus

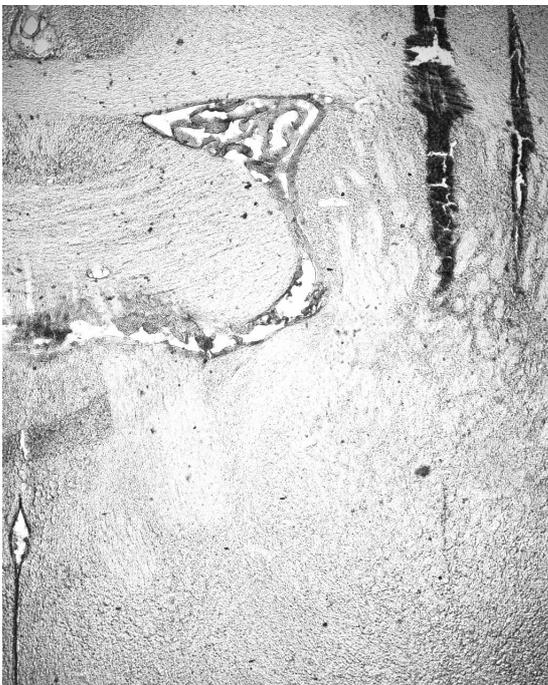


Abbildung 11: Histologischer Schnitt

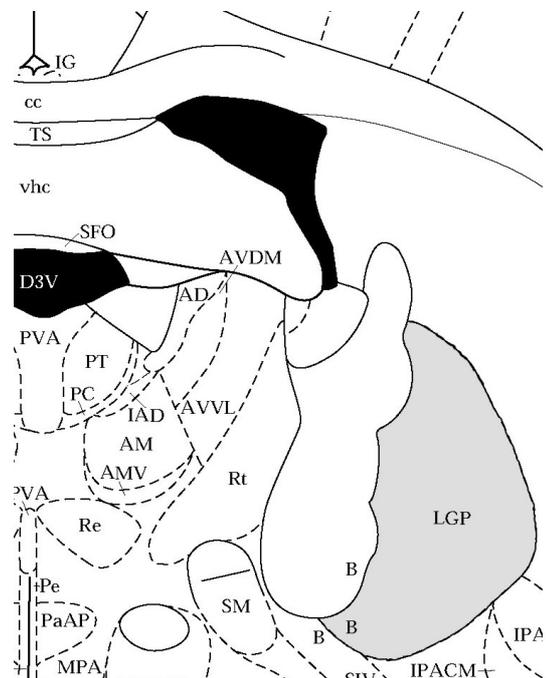


Abbildung 12: Atlasbild; AP -1,30 mm

2.4.4.3. Nucleus subthalamicus



Abbildung 13: Histologischer Schnitt

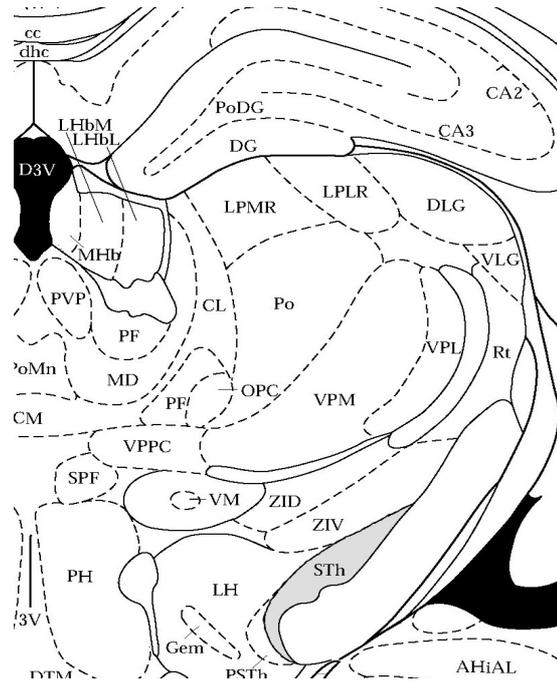


Abbildung 14: Atlasbild; AP -3,80 mm

2.4.4.4. Substantia nigra



Abbildung 15: Histologischer Schnitt

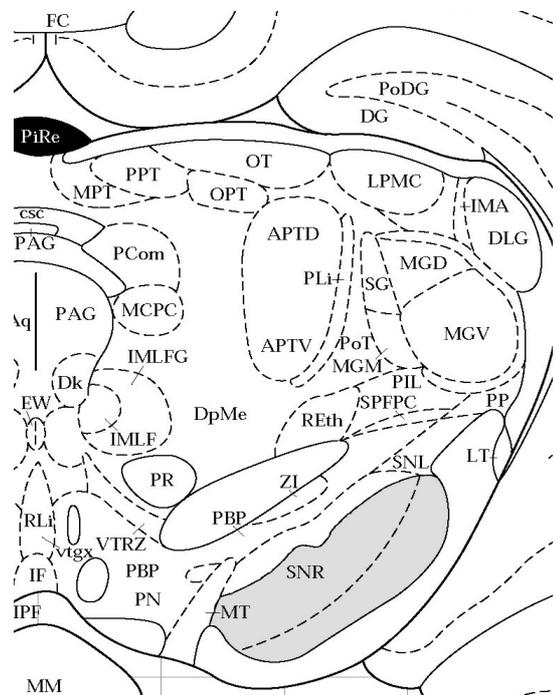


Abbildung 16: Atlasbild; AP -5,20 mm



- Ziegenserum (ZNS): Ziegennormalserum (Sigma, Deisenhofen) in den Konzentrationen 10%, 3%, 1%; gelöst in T-PBS
- Erstantikörper: monoklonaler Antikörper gegen Tyrosinhydroxylase (TH) aus der Maus (Dia Sorin); Konzentration: 1:1000 in 1% ZNS gelöst
- Zweitantikörper: Cytochromoxidase 2 gekoppelter Anti-Maus-Antikörper (Dianova, Hamburg); Konzentration: 1:200 in 1% ZNS gelöst.
- Moviol

#### 2.4.5.2. Färbeprotokoll

Die „free-floating“ aufbewahrten Schnitte wurden zunächst drei Mal mit T-PBS gewaschen. Darauf folgte eine Inkubation mit 10% ZNS für 30 Minuten bei Raumtemperatur, an die sich die Inkubation mit dem Erstantikörper anschloss. Diese fand über Nacht bei 4°C statt.

Anschließend wurden die Schnitte erneut drei Mal mit T-PBS gewaschen und für 10 Minuten mit 3% ZNS inkubiert. Danach erfolgte über ca. 45 Minuten die Inkubation mit dem Zweitantikörper, welche im Dunkeln bei Raumtemperatur stattfand. Abschließend wurden die Schnitte wiederum drei Mal mit T-PBS gewaschen, auf Objektträger aufgezogen, an der Luft getrocknet und schließlich mit Moviol eingedeckelt.

#### 2.4.6. **NADPH-Diaphorase-Färbung**

Mit Hilfe dieser Färbung wurde das Ausmaß des Zelluntergangs nach PPN-Läsion beurteilt. Es wurden selektiv Neurone mit vorhandener NADPH-Diaphorase-Aktivität angefärbt, unter anderem die cholinergen Neurone des PPN (Vincent und Kimura, 1992). Hierbei wird Nitro-Tetrazolium-Blue in Anwesenheit von NADPH von der NADPH-Diaphorase zu einem schwarzen Farbstoff reduziert. Unter dem Lichtmikroskop wurde dann im Seitenvergleich über die Läsionsqualität entschieden. Es wurden nur Tiere mit einem Läsionsausmaß >70% bei der Auswertung berücksichtigt (siehe auch Abbildung 24 und 25, Seite 48).

#### 2.4.6.1. Verwendete Substanzen

- 0,1 M Tris-Puffer (Sigma, Deisenhofen), pH 8,0
- Färbelösung, zusammengesetzt aus:
  - 0,8 mM Nitro-Tetrazolium-Blue (Sigma, Deisenhofen)
  - 0,5 mM NADPH (Sigma, Deisenhofen)
  - 8 mM Malat (Sigma, Deisenhofen),  
gelöst in obigem Tris-Puffer
- Ethanol (70%, 95%, 99%)
- Xylol
- Entellan (Merck)

#### 2.4.6.2. Färbeprotokoll (Scherer-Singler et al., 1983)

Zunächst wurden die „free-floating“ aufbewahrten Schnitte drei Mal in Tris-Puffer gewaschen, anschließend wurden sie für ca. 90 Minuten bei 37°C mit der Färbelösung inkubiert. Nach erneutem Waschen wurden die Schnitte auf Objektträger aufgezogen und in aufsteigender Alkoholreihe entwässert, in Xylol fixiert und mit Entellan eingedeckelt.

### **2.5. Auswertung der gewonnenen Daten**

#### **2.5.1. Spike-Klassifizierung und Analyse der Feuerungsrate**

Die aufgenommenen Signale wurden offline mit Hilfe der kommerziell erhältlichen Software „Spike2“ (Cambridge Electronic Design 1999, V 3.10, Cambridge, U.K.) analysiert. Hierbei werden alle Aktionspotentiale, deren Amplitude einen gewissen Schwellenwert (variierend je nach Signaleigenschaften) überschreitet, nach ihrer Form sortiert. Dies ermöglicht eine Trennung von „single-unit“ (stammen von einem einzelnen Neuron) und „multi-unit“ Signalen (setzen sich aus Aktionspotentialen - auch Spikes genannt - mehrerer Neurone zusammen). Für die als „single-unit“ klassifizierten Signale wurde eine Analyse der Zeitintervalle zwischen aufeinander folgenden Spikes (ISI=inter-spike interval) durchgeführt und so die mittlere Feuerungsrate in Hertz (Hz) bestimmt.

### 2.5.2. Analyse des Feuermusters

Für die Bestimmung des Feuermusters wurde ein im Labor entwickeltes Programm („Kaneoke“, V 1.12.2) verwendet, welches nach der Methode von Kaneoke und Vitek arbeitet (Kaneoke und Vitek, 1996).

Ausgangspunkt ist hierbei die Dichteverteilung der Spikes. Folgt diese einer Poisson-Verteilung (bei einem Signifikanzniveau von 5%), so wird ein zufälliges, unregelmäßiges Feuermuster (random) angenommen. Liegt keine Poisson-Verteilung vor, so wird die Schiefe der Verteilung untersucht, welche ein Maß für die Asymmetrie der Verteilungsfunktion ist. Hierbei gilt ein signifikant positiver Wert als Kriterium für ein salvenartiges (bursty) Feuermuster. Liegt jedoch eine symmetrische Verteilung vor, so geht man von einem regelmäßigen Feuermuster (tonic) aus.

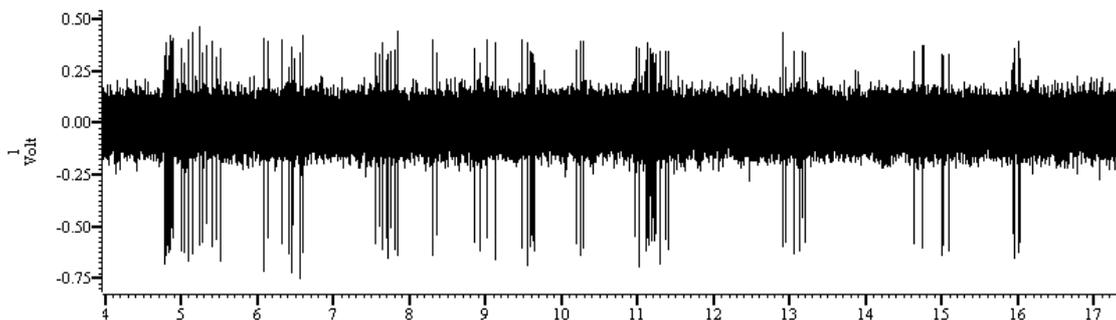


Abbildung 19: Beispiel Feuermuster „bursty“, Frequenz 4,6 Hz

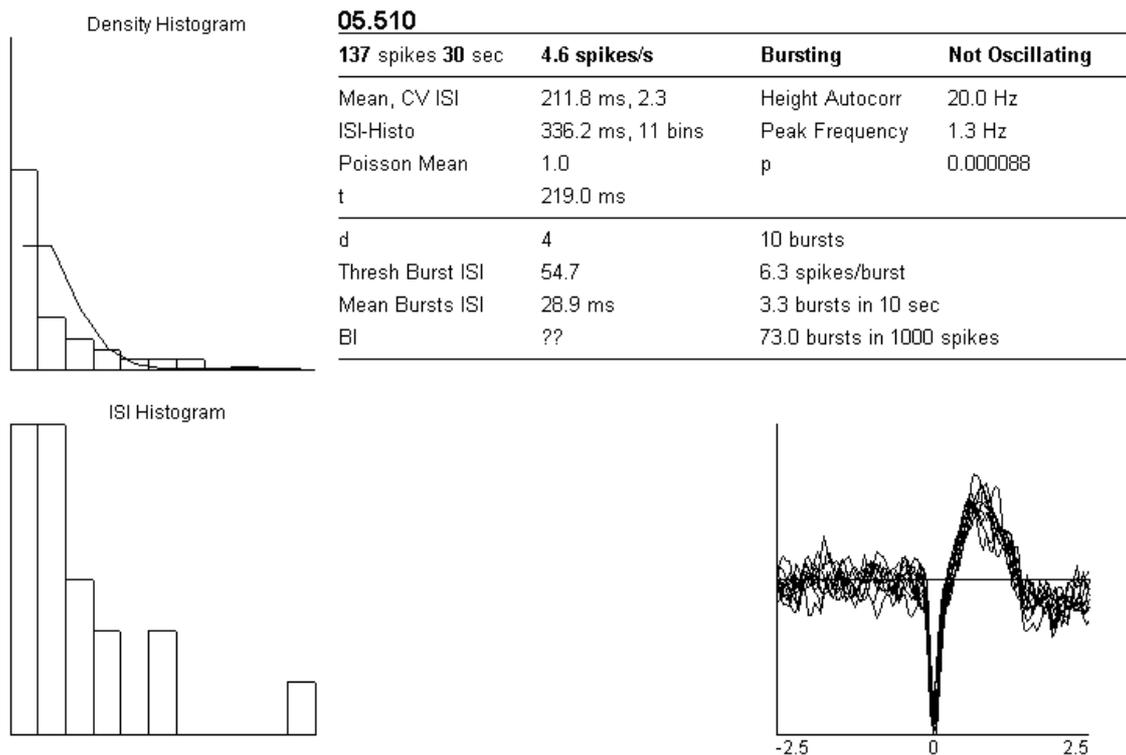


Abbildung 20: Salvenartiges Feuermuster nach Kaneoke. Dargestellt sind im Einzelnen (von links nach rechts): Dichtehistogramm, Interspike-Intervall-Histogramm, die Impulsform der Einzelimpulse. Entscheidend für die Zuordnung zur Klasse „bursty“ ist die Schiefe der Verteilung im Dichtehistogramm.

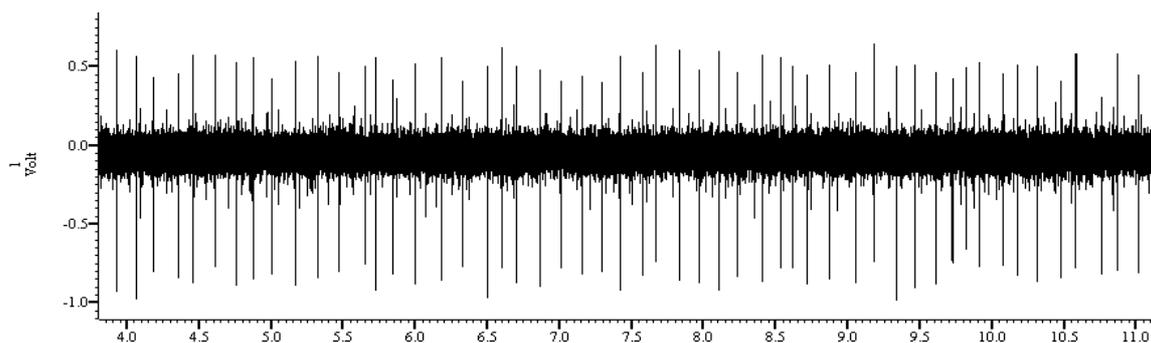


Abbildung 21: Beispiel Feuermuster „tonic“, Frequenz 7,7 Hz

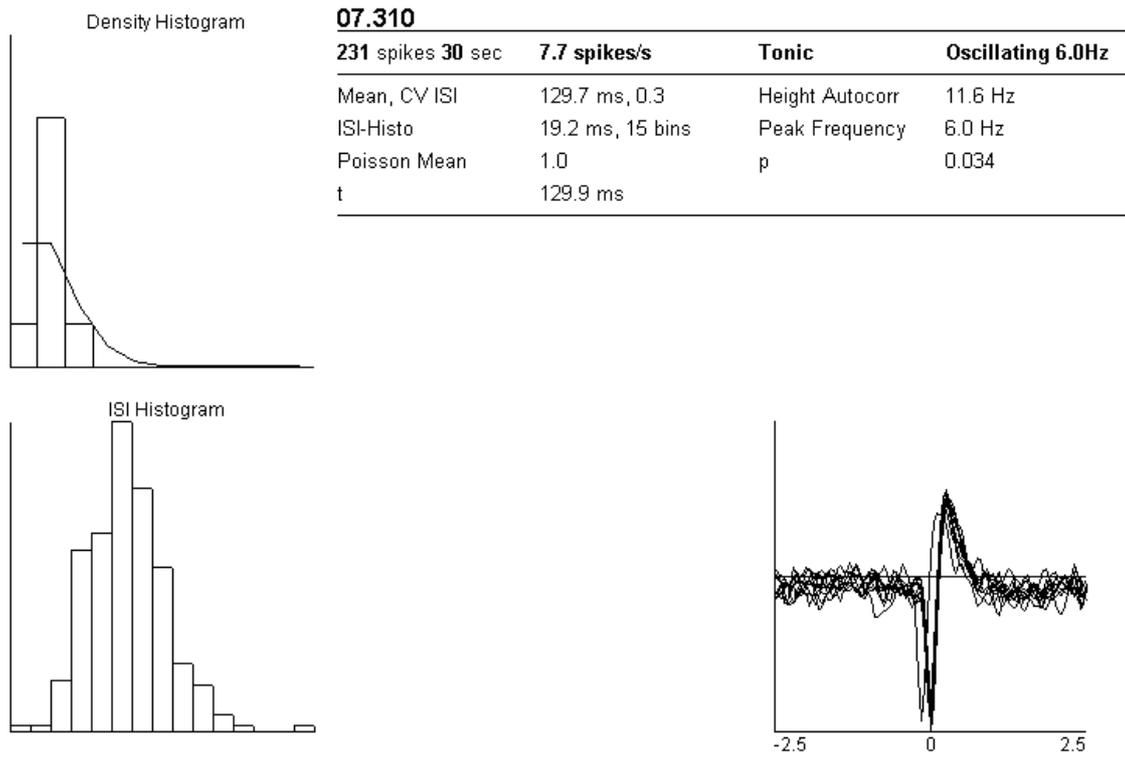


Abbildung 22: Tonisches Feuermuster nach Kaneoke. Dargestellt sind im Einzelnen (von links nach rechts): Dichtehistogramm, Interspike-Intervall-Histogramm, die Impulsform der Einzelimpulse. Charakteristisch ist die symmetrische Verteilung im Dichtehistogramm.

## 2.6. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des kommerziell erhältlichen Statistikprogramms „Jmp“ (SAS-Institute Inc., V 3.1.5). Es wurde der arithmetische Mittelwert der Feuerungsrate aller pro Kern und Versuchsgruppe berücksichtigten Neurone berechnet sowie der Standardfehler des Mittelwertes. Die mittleren Feuerungsraten der verschiedenen Versuchsgruppen wurden untereinander verglichen, zudem wurde mit Hilfe des Student's-t-test nach signifikanten Abweichungen vom Normalwert gesucht. Hierbei wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,01$ , d.h. <1% Irrtumswahrscheinlichkeit, vorausgesetzt. Abweichungen hiervon im Einzelfall sind im Ergebnisteil explizit erwähnt.

Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Test wurde mit demselben Programm nach signifikanten Verschiebungen im Bereich der Feuermuster gesucht. Hierbei mussten jedoch in einigen Versuchsgruppen Neurone mit einem bestimmten Feuermuster („bursty“) von der Suche nach signifikanten Änderungen aus-

geschlossen werden, da ihre Zellzahl zu gering war und der Test somit nicht zuverlässig gewesen wäre.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Histologische Kontrolle der Läsionen

##### 3.1.1. SNc-Läsion

Insgesamt wurden an 12 Tieren nach Läsion der SNc und positivem Apomorphintest elektrophysiologische Ableitungen vorgenommen. Bei der histologischen Läsionskontrolle zeigte ein Tier eine nur unvollständige Zerstörung der dopaminergen Neurone im Zielgebiet der Läsion, sodass 11 Tiere in die Auswertung eingingen.

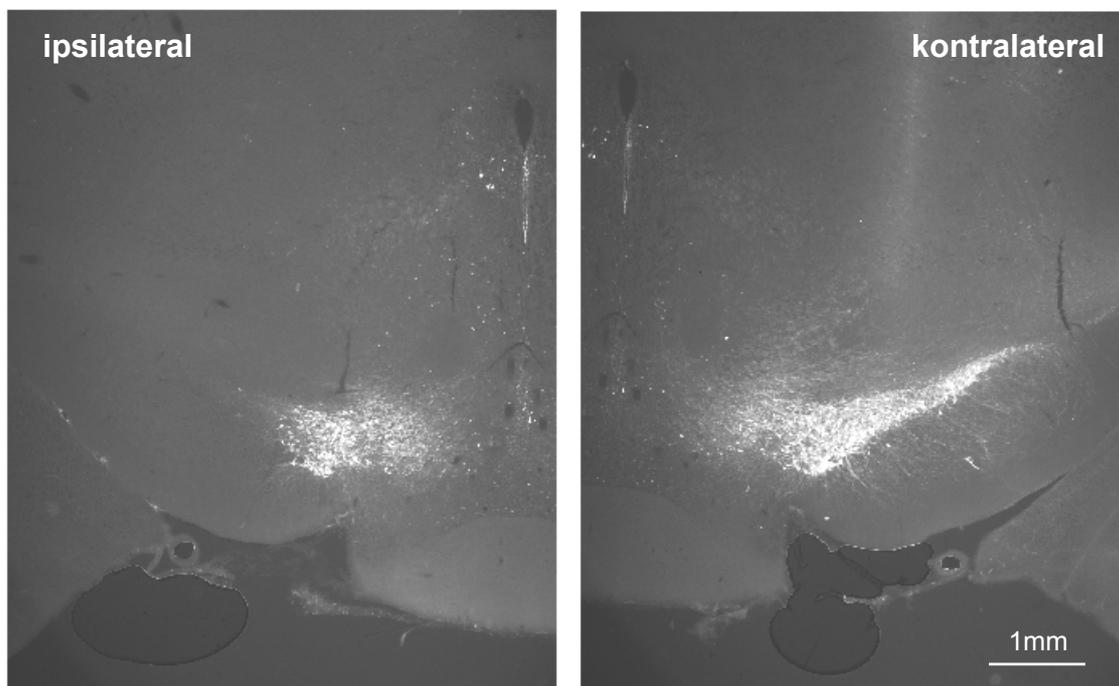


Abbildung 23: Immunhistochemische Färbung dopaminergener Neurone. Kontralateral zur Läsion sind die SNc und die medial gelegene VTA zu sehen, beide Strukturen enthalten dopaminerge Neurone. Auf der läsierten Hemisphäre werden im Bereich der SNc keine dopaminergen Neurone angefärbt, lediglich die tyrosinhydroxylasehaltigen Neurone der VTA sind angefärbt.

##### 3.1.2. PPN-Läsion

Hier ging der Ableitung kein Verhaltenstest auf eine gelungene Läsion voraus, jedoch konnte in Vorversuchen eine Läsionstechnik etabliert werden, welche zu einem hohen Prozentsatz ( über 80% der Tiere) an zufrieden stellend läsierten Tieren führte. Von 6 Tieren, an denen eine Messung vorgenommen wurde, musste ein Tier nach Kontrolle der Hirnschnitte auf Grund unbefriedigendem

Zellverlust (mehr als 30% der Zellen erhalten) von der Auswertung ausgeschlossen werden.

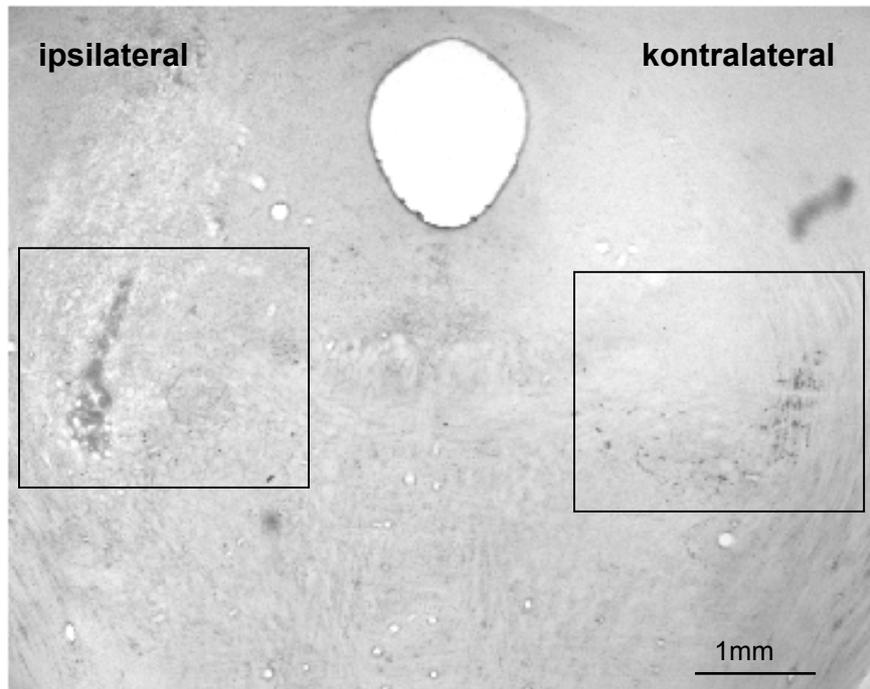


Abbildung 24: NADPH-Diaphorase-Färbung nach PPN-Läsion. Kontralateral zur Läsion sind die schwarz angefärbten Neurone des PPN zu erkennen, ipsilateral ist die Spur der Läsionskanüle zu sehen.

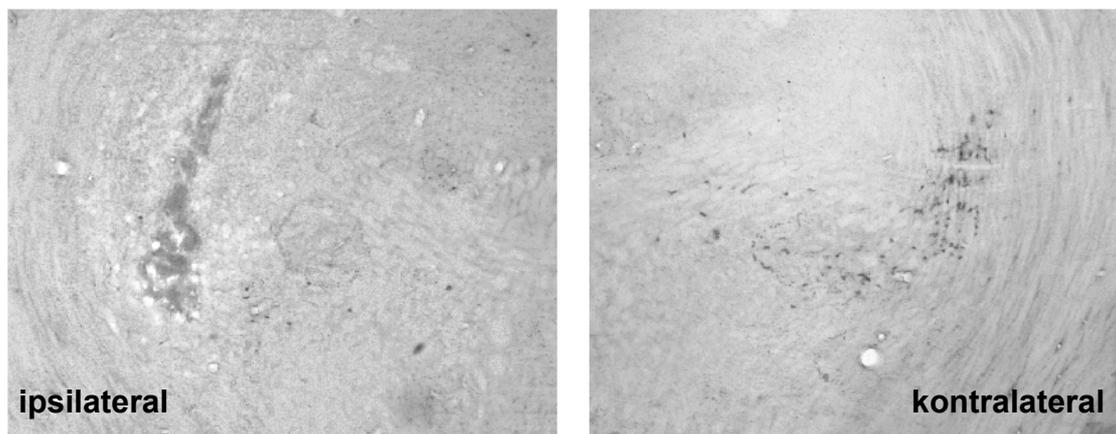


Abbildung 25a+b: Vergrößerte Ausschnitte aus Abbildung 3.2

### 3.1.3. SNc+PPN-Läsion

Abgeleitet wurde an 11 Tieren mit sowohl SNc- als auch PPN-Läsion. Histologisch wiesen lediglich 5 Tiere einen vollständigen Verlust dopaminerger Neuro-

ne der SNc und eine zufrieden stellende Läsion des PPN (weniger als 30% der Zellen erhalten) auf. Nur die Daten dieser Tiere wurden bei der Auswertung berücksichtigt.

### 3.2. Aktivitäten der abgeleiteten Kerngebiete

#### 3.2.1. **Striatum**

##### 3.2.1.1. Übersichtstabelle

Versuchsgruppe	FR [Hz] (mean ± s.e.)	Feuerungsmuster			n	N
		tonic	random	bursty		
Normal	8,0 ± 0,6	15%	41%	44%	135	3
SNc-Läsion	4,3 ± 0,6**	6%	26%	68%	167	4
PPN-Läsion	6,5 ± 0,7	14%	44%	41%	109	3
SNc+PPN-Läsion	3,8 ± 0,6**	12%	29%	58%	129	3

Tabelle 6: Übersichtstabelle Ergebnisse Striatum. Es sind für die vier Versuchsgruppen die mittlere Feuerungsrate (mean) und der Standardfehler (s.e.) in Hertz (Hz) aufgelistet. Signifikant vom Normalwert abweichende Werte sind gekennzeichnet (\*\*: p<0,01). Des Weiteren ist die prozentuale Verteilung der Feuermuster für die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“ angegeben. In den letzten beiden Spalten finden sich die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Neurone (n) und die Anzahl der abgeleiteten Tiere, welche bei der Auswertung berücksichtigt wurden (N).

##### 3.2.1.2. Feuerungsrate

Von den insgesamt 10 unbehandelten Tieren (Gruppe „Normal“), die einer Ableitung zugeführt wurden, wurde bei 3 Tieren die Aktivität im Striatum gemessen. In die Auswertung gingen 135 Neurone ein, es fand sich eine mittlere Feuerungsrate von 8,0 Hz. Nach Zerstörung der SNc sank die mittlere Feuerungsrate signifikant auf 4,3 Hz (p<0,01), es wurden hierbei 167 Neurone aus 4 Tieren bei der Auswertung berücksichtigt. Bei den drei im Striatum abgeleiteten Tieren mit PPN-Läsion wurde ein Trend in Richtung Absinken der Feuerungsrate auf 6,5 Hz festgestellt (nicht signifikant), in dieser Versuchsgruppe standen 109 Neurone für die Auswertung zur Verfügung. In der Gruppe „SNc+PPN-

Läsion“ war die mittlere Feuerungsrate im Vergleich zu Tieren mit singulärer PPN-Läsion sowie den Kontrolltieren mit  $p < 0,01$  signifikant erniedrigt und entsprach mit 3,8 Hz weitgehend dem Wert für SNc-läsionierte Tiere. Es gingen 129 Neurone von 3 Tieren in die Auswertung ein.

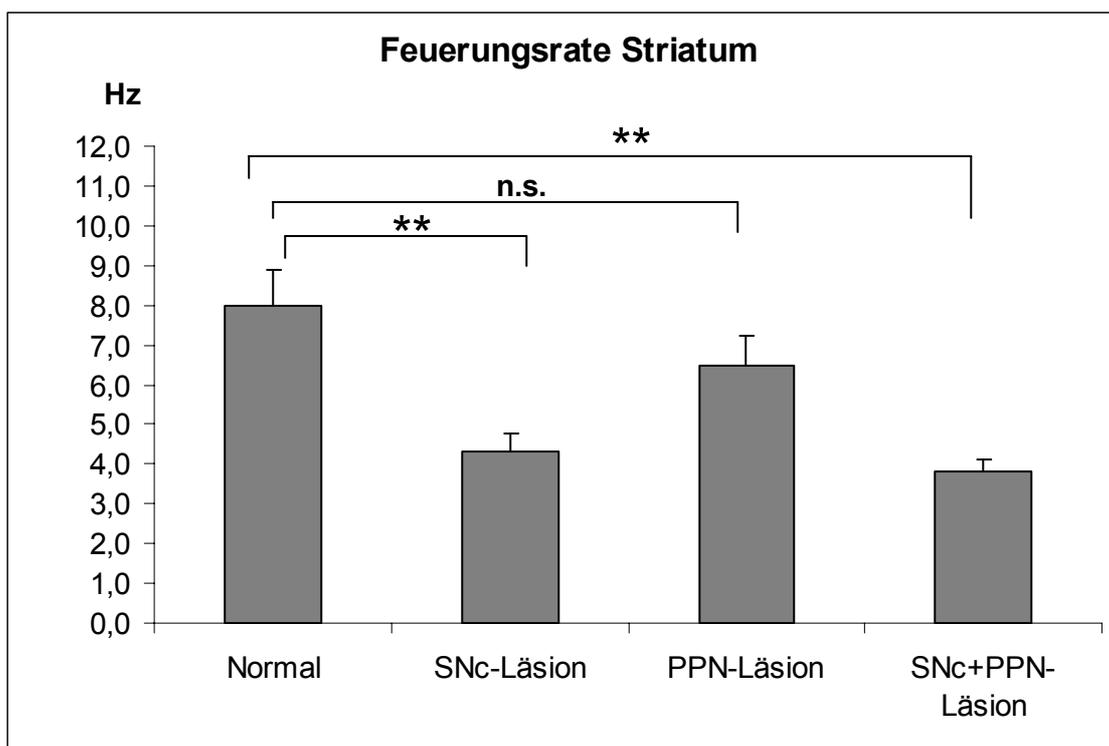


Diagramm 1: Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für das Striatum sowie signifikante Abweichungen vom Wert der Kontrolltiere (\*\*:  $p < 0,01$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.1.3. Feuerungsmuster

Bei Tieren der Gruppe „Normal“ fand sich eine gleichmäßige Verteilung des Feuerungsmusters zwischen „bursty“ (salvenartig, 44%) und „random“ (irregulär, 41%). Nur 15% der Neurone feuerten in einem tonischen Muster („tonic“).

Bei SNc-läsionierten Tieren ergab sich eine mit  $p < 0,01$  signifikante Verschiebung zu Gunsten des „bursty“ - Musters (68%), die Anzahl der Neurone mit irregulärem und tonischem Feuerungsmuster nahm ab (random: 26%, tonic: 6%). Nach Zellverlust im PPN fanden sich gegenüber unbehandelten Tieren nur unwesentliche Änderungen des Feuerungsmusters (random: 44%, bursty: 41%, tonic: 14%). Das Feuerungsmuster bei kombinierter SNc- und PPN-Läsion entsprach tendenziell der Verteilung nach SNc-Läsion: Es wurde ein Zuwachs an

Neuronen mit dem Feuermuster „bursty“ auf 58% gefunden, 29% feuerten irregulär und 12% tonisch. Diese Änderung des Feuermusters war gegenüber der singulären PPN-Läsion signifikant ( $p < 0,05$ ), jedoch nicht im Vergleich zu nicht-läsionierten Tieren.

Versuchsgruppe	tonic	random	bursty	gesamt
Normal	20	55	60	135
SNC-Läsion	10	44	113	167
PPN-Läsion	16	48	45	109
SNC+PPN-Läsion	16	38	75	129

Tabelle 7: Verteilung der Feuermuster im Striatum auf die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“. Es ist für jede Versuchsgruppe jeweils die Anzahl der Neurone angegeben, bei welchen das entsprechende Feuermuster gefunden wurde.

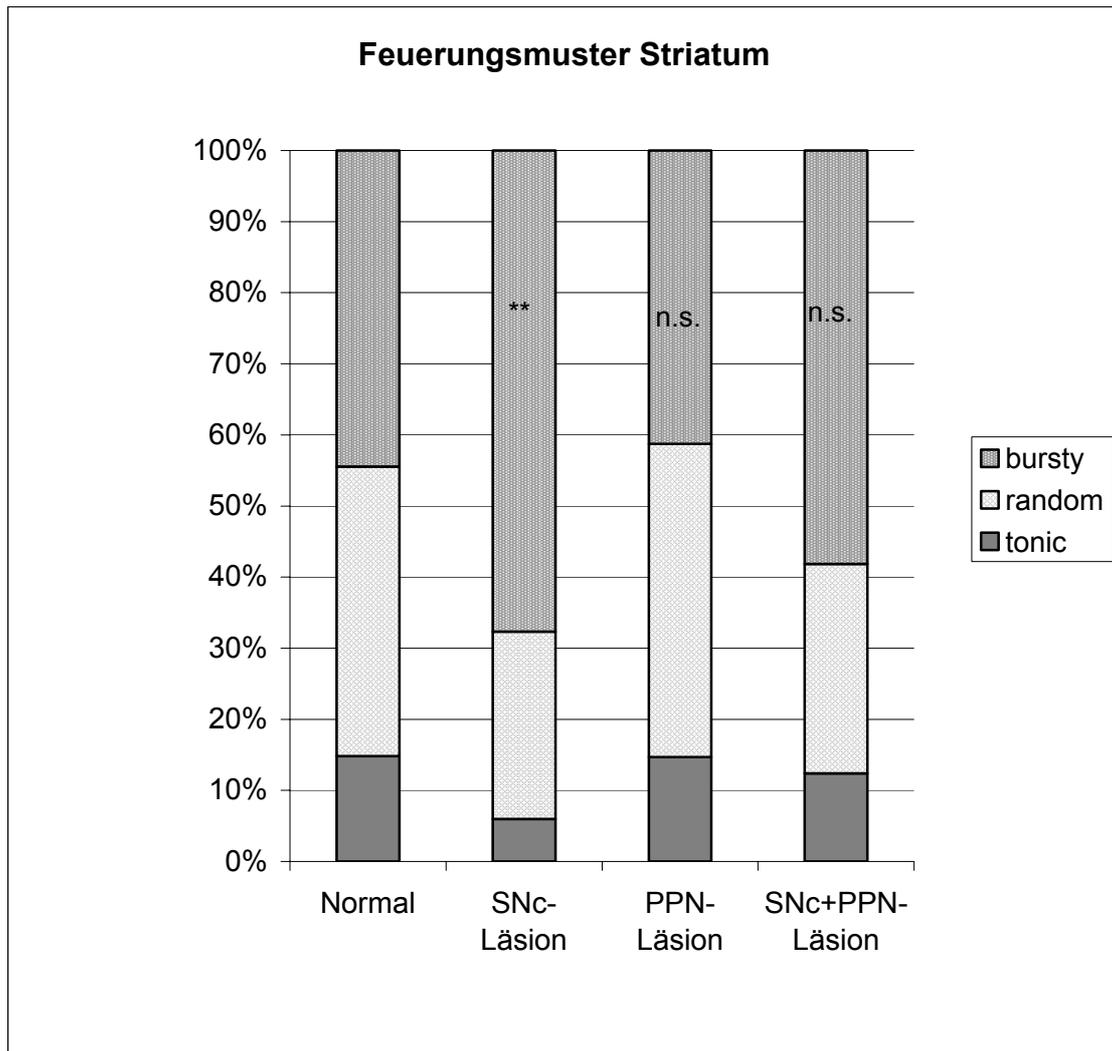


Diagramm 2: Prozentuale Verteilung der Feuermuster der verschiedenen Versuchsgruppen im Striatum und signifikante / deutliche Abweichungen von der Kontrollgruppe (\*\*:  $p < 0,01$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.2. Globus pallidus

#### 3.2.2.1. Übersichtstabelle

Versuchsgruppe	FR [Hz] (mean ± s.e.)	Feuerungsmuster			n	N
		tonic	random	bursty		
Normal	18,6 ± 1,2	80%	10%	10%	92	4
SNC-Läsion	25,1 ± 1,6**	88%	12%	0%	78	4
PPN-Läsion	24,3 ± 1,0**	91%	8%	1%	115	4
SNC+PPN-Läsion	17,7 ± 1,3	63%	24%	13%	97	5

Tabelle 8: Übersichtstabelle Ergebnisse GP. Es sind für die vier Versuchsgruppen die mittlere Feuerungsrate (mean) und der Standardfehler (s.e.) in Hertz (Hz) aufgelistet. Signifikant vom Normalwert abweichende Werte sind gekennzeichnet (\*\*:  $p < 0,01$ ). Des Weiteren ist die prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster für die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“ angegeben. In den letzten beiden Spalten finden sich die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Neurone (n) und die Anzahl der abgeleiteten Tiere, welche bei der Auswertung berücksichtigt wurden (N).

#### 3.2.2.2. Feuerungsrate

Die mittlere Feuerungsrate bei 4 abgeleiteten Kontrolltieren betrug 18,6 Hz, berücksichtigt wurden hierbei 92 Neurone. Im Vergleich hierzu fand sich nach SNC-Läsion eine signifikant ( $p < 0,01$ ) erhöhte Frequenz von 25,1 Hz. In dieser Gruppe gingen 78 Neurone bzw. 4 Tiere in die Auswertung ein. Nach Läsion des PPN kam es ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg der mittleren Feuerungsrate auf 24,3 Hz ( $p < 0,01$ ), wobei die Daten von 4 Tieren und 115 Neuronen verwendet werden konnten. Im Gegensatz zu den beiden letztgenannten Gruppen fand sich bei den 5 Tieren mit kombinierter SNC- und PPN-Läsion eine im Vergleich zu unbehandelten Tieren in der Tendenz leicht erniedrigte Feuerungsrate von 17,7 Hz (kein signifikanter Unterschied zur Gruppe „Normal“), gegenüber der solitären PPN-Läsion stellte dies eine signifikante Erniedrigung der Feuerungsrate dar ( $p < 0,01$ ). Hier gingen 97 Neurone in die Auswertung ein.

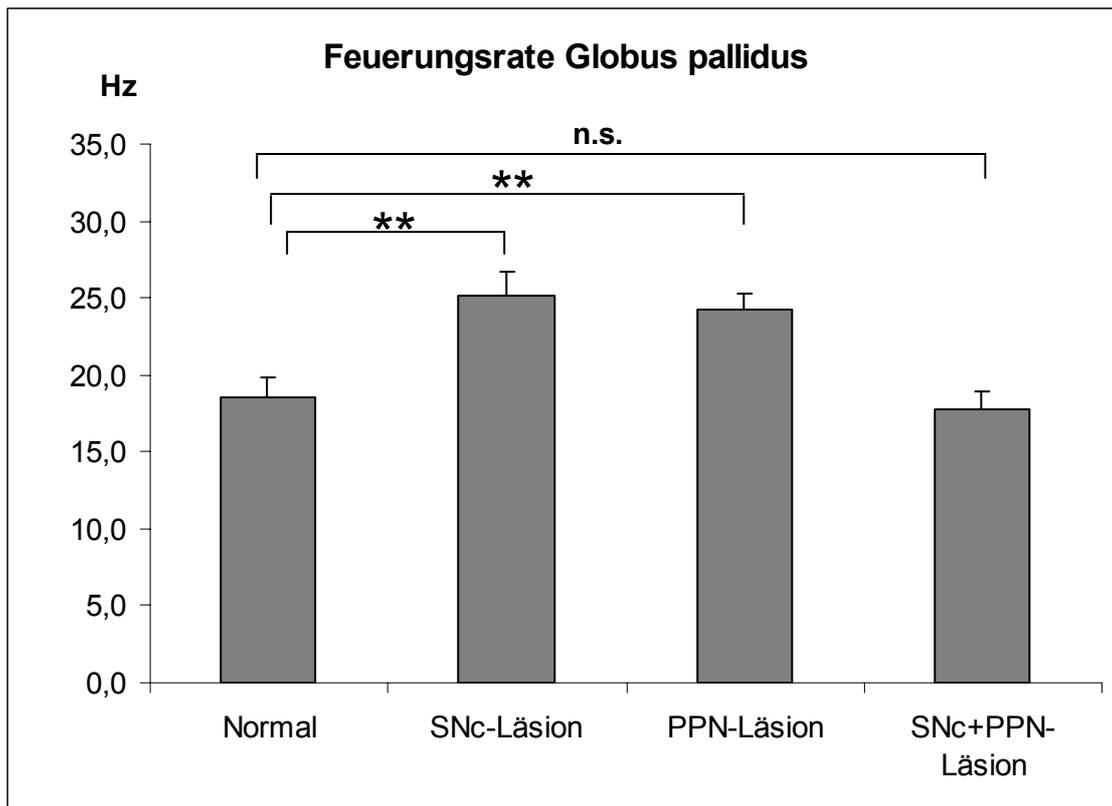


Diagramm 3: Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den GP sowie signifikante Abweichungen vom Wert der Kontrolltiere (\*\*:  $p < 0,01$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.2.3. Feuerungsmuster

Bei den Kontrolltieren wurden im GP 80% tonisch feuernde Neurone und je 10% mit „bursty“ bzw. „random“ Feuerungsmuster angetroffen. Nach Läsion der SNc erhöhte sich die Rate der tonisch feuernden Zellen auf 89%, 12% feuerten „random“. Es fanden sich keine Neurone mit „bursty“ - Muster, daher mussten Zellen dieser Kategorie von der Errechnung signifikanter Abweichungen ausgeschlossen werden. Im Vergleich zu Kontrolltieren ergab sich so keine signifikante Änderung des Feuerungsmusters. Dies war jedoch der Fall bei Tieren mit PPN-Läsion, hier kam es zu einer signifikanten Verschiebung ( $p < 0,01$ ) des Feuerungsmusters in Richtung der tonisch feuernden Neurone (91%), 8% feuerten „random“ und 1% „bursty“. In der Gruppe „SNc+PPN-Läsion“ fand sich hingegen ein starker Rückgang der Anzahl der Zellen mit dem Muster „tonic“ auf 63%, der Anteil der Zellen mit Feuerungsmuster „random“ bzw. „bursty“ lag bei 24% bzw. 13%. Trotz dieser deutlichen Tendenz fand sich hier nur ein

schwach signifikanter Unterschied zu unbehandelten Tieren ( $p < 0,05$ ), die Verschiebung des Feuermusters im Vergleich zu singulärer PPN-Läsion erwies sich jedoch als signifikant für  $p < 0,01$ .

Versuchsgruppe	tonic	random	bursty	gesamt
Normal	74	9	9	92
SNc-Läsion	69	9	0	78
PPN-Läsion	105	9	1	115
SNc+PPN-Läsion	61	23	13	97

Tabelle 9: Verteilung der Feuermuster im GP auf die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“. Es ist für jede Versuchsgruppe jeweils die Anzahl der Neurone angegeben, bei welchen das entsprechende Feuermuster gefunden wurde.

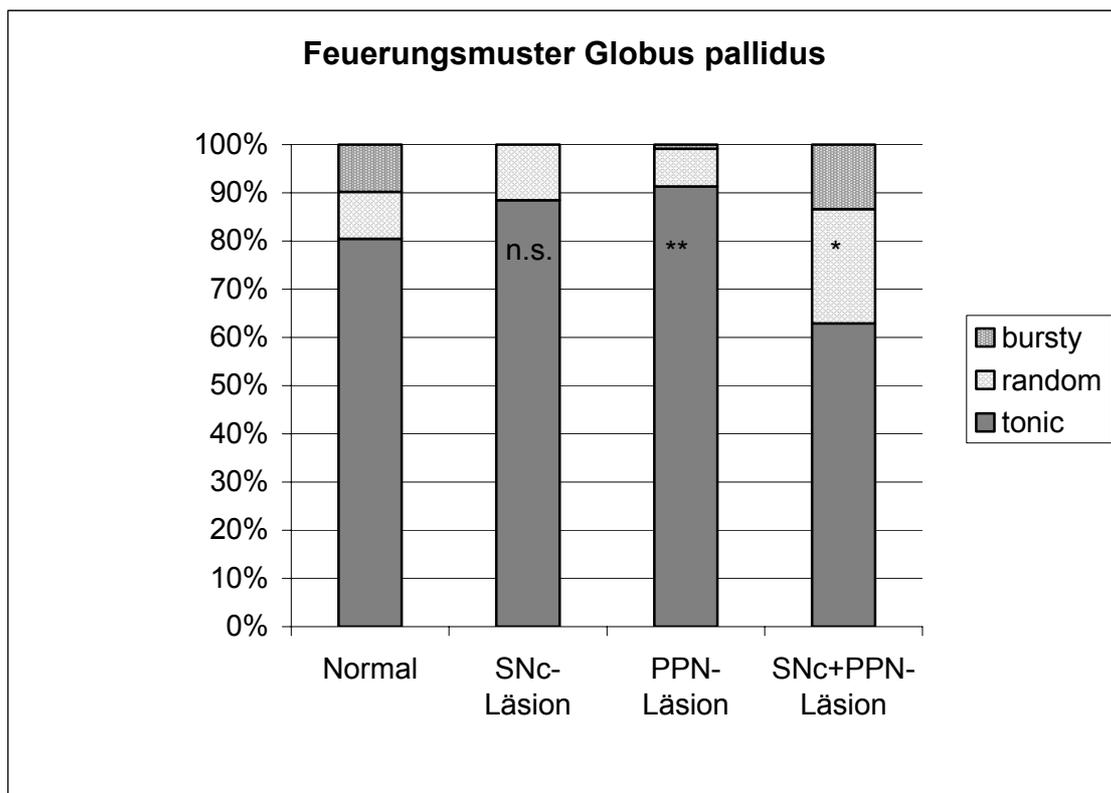


Diagramm 4: Prozentuale Verteilung der Feuermuster der verschiedenen Versuchsgruppen im GP und signifikante / deutliche Abweichungen von der Kontrollgruppe (\*\*:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.3. Nucleus subthalamicus

#### 3.2.3.1. Übersichtstabelle

Versuchs- gruppe	FR [Hz] (mean ± s.e.)	Feuerungsmuster			n	N
		tonic	random	bursty		
Normal	11,4 ± 0,8	66%	25%	9%	53	7
SNc-Läsion	19,3 ± 1,5**	54%	22%	25%	61	8
PPN-Läsion	15,1 ± 1,6*	65%	19%	16%	44	5
SNc+PPN- Läsion	8,4 ± 0,7	56%	17%	27%	59	5

Tabelle 10: Übersichtstabelle Ergebnisse STN. Es sind für die vier Versuchsgruppen die mittlere Feuerungsrate (mean) und der Standardfehler (s.e.) in Hertz (Hz) aufgelistet. Signifikant / deutlich vom Normalwert abweichende Werte sind gekennzeichnet (\*\*:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ). Des Weiteren ist die prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster für die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“ angegeben. In den letzten beiden Spalten finden sich die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Neurone (n) und die Anzahl der abgeleiteten Tiere, welche bei der Auswertung berücksichtigt wurden (N).

#### 3.2.3.2. Feuerungsrate

Unbehandelte Tiere wiesen eine mittlere Feuerungsrate von 11,4 Hz auf, hierfür konnte auf Daten von 7 Tieren und 53 Neuronen zurückgegriffen werden. Dem gegenüber war sowohl nach SNc- als auch nach PPN-Läsion die Feuerungsfrequenz erhöht. Aus den Daten von 8 Tieren und 61 Neuronen wurde für Tiere der Gruppe „SNc-Läsion“ ein signifikanter Anstieg der mittleren Feuerungsrate auf 19,3 Hz ermittelt ( $p < 0,01$ ). Nach PPN-Läsion war die Frequenz auf 15,1 Hz erhöht (nur signifikant für  $p < 0,05$ ), es gingen hier 5 Tiere und 44 Neurone in die Auswertung ein. In der Versuchsgruppe mit SNc- und PPN-Läsion fand sich nach Ableitung von 5 Tieren und 59 Neuronen im Vergleich zum Wert der Kontrolltiere eine tendenziell (nicht signifikant) erniedrigte Feuerungsrate von 8,4 Hz ( $p > 0,1$ ), dieser Wert stellte jedoch sowohl im Vergleich zur SNc- als auch zur PPN-Läsion eine signifikante Erniedrigung dar ( $p < 0,01$ ).

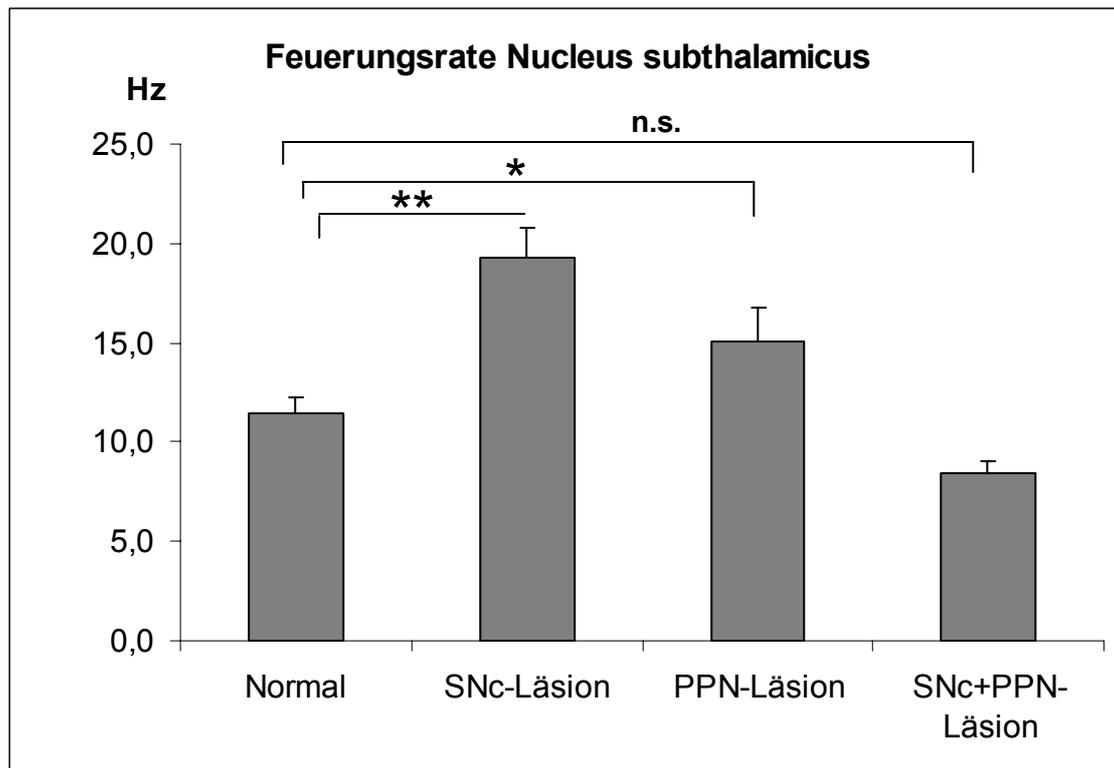


Diagramm 5: Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den STN sowie signifikante /deutliche Abweichungen vom Wert der Kontrolltiere (\*\*:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.3.3. Feuerungsmuster

Bei normalen Tieren fand sich bei den meisten Neuronen (66%) ein tonisches Feuerungsmuster, 25% feuerten irregulär („random“) und 9% „bursty“. Nach Läsion der SNc ließ sich eine starke Zunahme der „bursty“- Neurone auf 25% feststellen, hauptsächlich zu Lasten der tonisch aktiven Neurone (nur noch 54%). Der Anteil der Neurone mit Feuerungsmuster „random“ betrug 22%. Dies stellte eine deutliche, jedoch nicht signifikante Änderung des Feuerungsmusters dar. Im Gegensatz hierzu ließen sich nach PPN-Läsion keine wesentlichen Änderungen im Feuerungsmuster ausmachen, es fand lediglich eine geringe Verschiebung in Richtung „bursty“ statt (16%), diesmal jedoch zu Ungunsten der „random“- Neurone (19%). Der Anteil der tonisch feuernden Neurone blieb gleich (65%). Bei Tieren, welche sowohl eine SNc- als auch eine PPN-Läsion erhalten hatten, präsentierte sich ein Feuerungsmuster ähnlich demjenigen nach alleiniger SNc- oder PPN-Läsion, es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen diesen Gruppen gefunden werden. 27% der doppelt läsierten Tiere

zeigten ein „bursty“ - Muster, 56% eine tonische Aktivität und 17% feuerten irregulär. Die Verschiebung des Feuermusters im Vergleich zu unbehandelten Tieren war ausgeprägt, jedoch nur auf schwachem Niveau signifikant ( $p < 0,05$ ).

Versuchsgruppe	tonic	random	bursty	gesamt
Normal	35	13	5	53
SNC-Läsion	33	13	15	61
PPN-Läsion	29	8	7	44
SNC+PPN-Läsion	33	10	16	59

Tabelle 11: Verteilung der Feuermuster im STN auf die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“. Es ist für jede Versuchsgruppe jeweils die Anzahl der Neurone angegeben, bei welchen das entsprechende Feuermuster gefunden wurde.

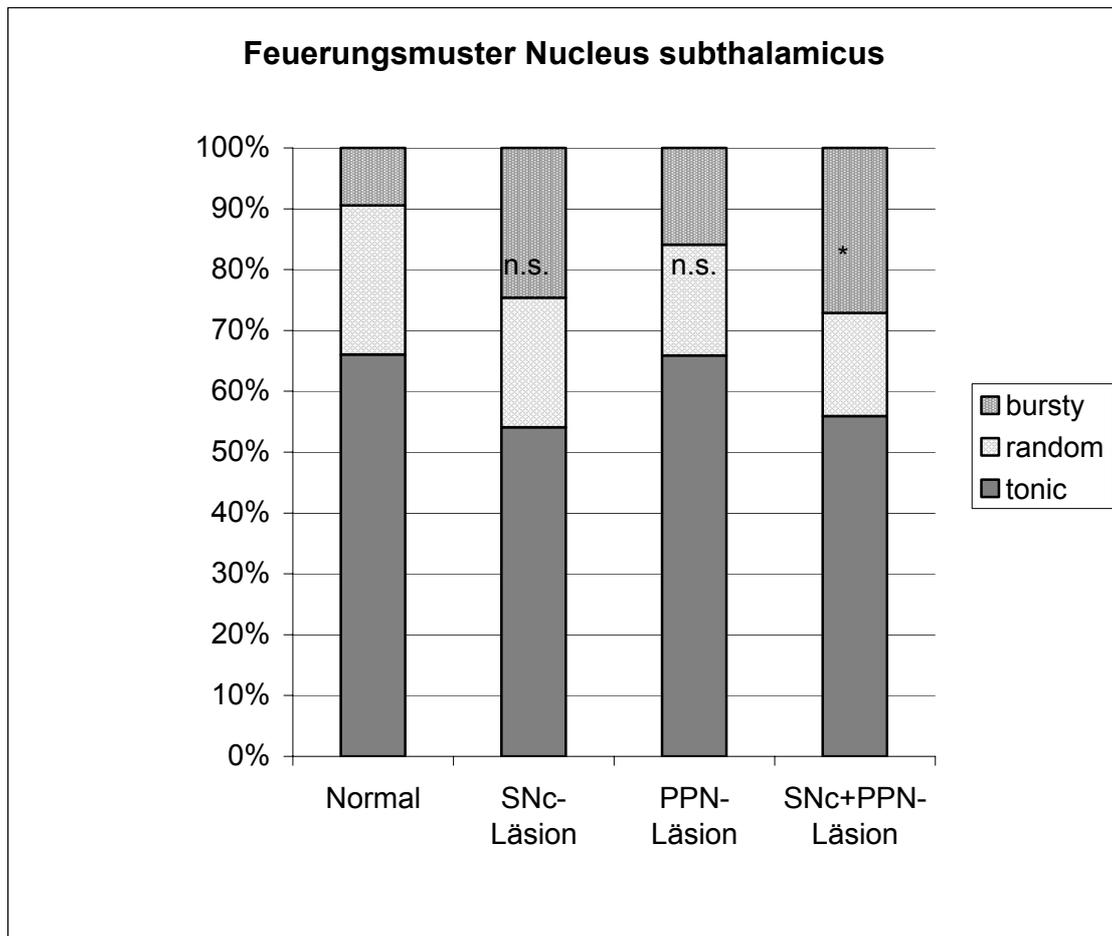


Diagramm 6: Prozentuale Verteilung der Feuermuster der verschiedenen Versuchsgruppen im STN und deutliche Abweichungen von der Kontrollgruppe (\*:  $p < 0,05$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.4. Substantia nigra pars reticulata

#### 3.2.4.1. Übersichtstabelle

Versuchs- gruppe	FR [Hz] (mean ± s.e.)	Feuerungsmuster			n	N
		tonic	random	bursty		
Normal	22,9 ± 1,9	84%	11%	4%	72	6
SNC-Läsion	22,9 ± 1,3	74%	21%	5%	98	7
PPN-Läsion	25,9 ± 1,3	91%	4%	4%	97	5
SNC+PPN- Läsion	15,6 ± 1,0**	72%	17%	11%	83	4

Tabelle 12: Übersichtstabelle Ergebnisse SNr. Es sind für die vier Versuchsgruppen die mittlere Feuerungsrate (mean) und der Standardfehler (s.e.) in Hertz (Hz) aufgelistet. Signifikant vom Normalwert abweichende Werte sind gekennzeichnet (\*\*:  $p < 0,01$ ). Des Weiteren ist die prozentuale Verteilung der Feuermuster für die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“ angegeben. In den letzten beiden Spalten finden sich die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Neurone (n) und die Anzahl der abgeleiteten Tiere, welche bei der Auswertung berücksichtigt wurden (N).

#### 3.2.4.2. Feuerungsrate

In der SNr wurde bei unbehandelten Tieren eine mittlere Frequenz von 22,9 Hz gefunden, es wurden Signale von 6 Tieren und 72 Zellen bei der Auswertung berücksichtigt. Die gleiche Feuerungsrate fand sich bei Tieren nach SNC-Läsion, wobei hier 98 Neurone von 7 Tieren zur Verfügung standen. Bei der Ableitung 5 PPN-läsionierter Tiere (97 Neurone) zeigte sich eine tendenziell (nicht signifikant) erhöhte Feuerungsrate von 25,9 Hz. Im Gegensatz dazu führte eine kombinierte Läsion von SNC und PPN zu einer im Vergleich zu den Kontrolltieren und zu Tieren mit singulärer SNC- bzw. PPN-Läsion signifikant ( $p < 0,01$ ) erniedrigten Frequenz von 15,6 Hz, hier gingen 4 Tiere und 83 Neurone in die Auswertung ein.

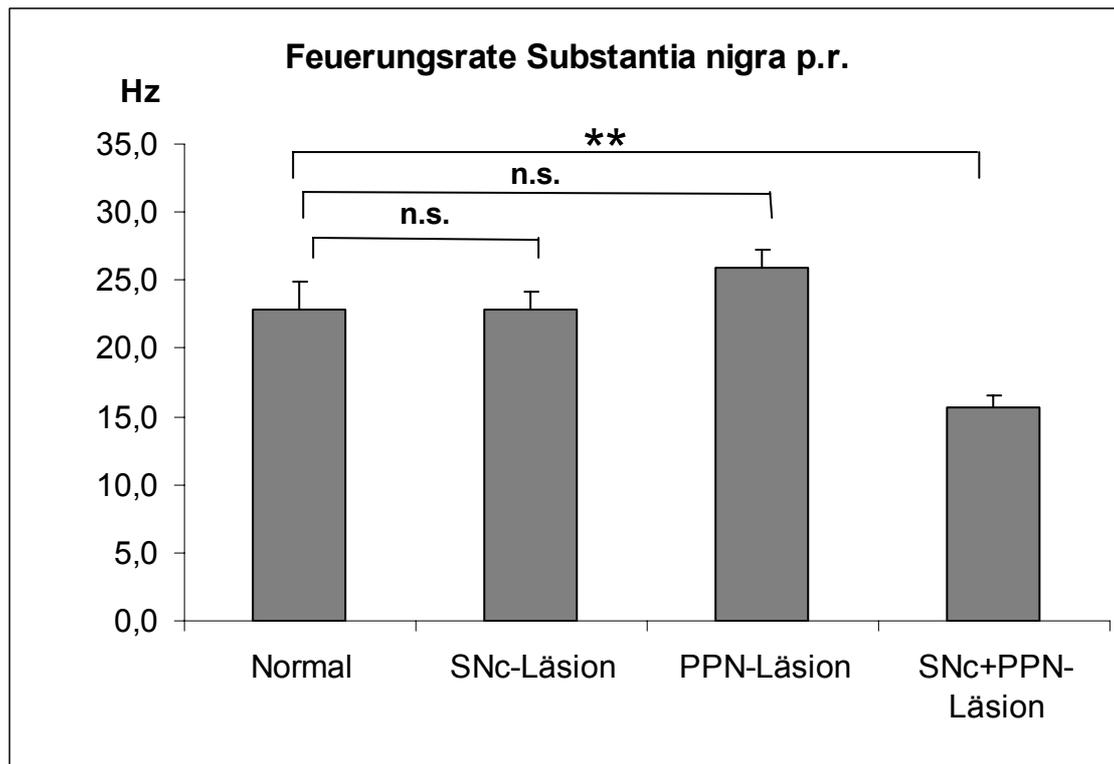


Diagramm 7: Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für die SNr sowie signifikante Abweichungen vom Wert der Kontrolltiere (\*\*:  $p < 0,01$ ; n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.4.3. Feuerungsmuster

Bei unbehandelten Tieren feuerte der überwiegende Anteil der Neurone tonisch (84%), der Anteil für „random“ - bzw. „bursty“ - Neurone betrug 11% bzw. 4%. Nach SNc-Läsion fanden sich nur noch 74% tonisch feuernde Neurone, 21% zeigten eine irreguläre („random“) und 5% eine „bursty“ Aktivität. Nachdem die Klasse „bursty“ wegen zu geringer Zellzahl von der statistischen Auswertung ausgeschlossen worden war, konnte diese deutliche Änderung des Feuermusters gegenüber der Gruppe „Normal“ jedoch nicht als signifikant eingestuft werden. Ebenfalls eine tendenzielle, nicht signifikante Verschiebung des Feuermusters, jedoch zu Gunsten der tonisch feuernden Neurone fand sich nach Läsion des PPN („tonic“ 91%, „random“ 4%, „bursty“ 4%), auch hier musste zuvor die Gruppe der „bursty“ feuernden Neurone vom statistischen Vergleich ausgeschlossen werden. In der Gruppe SNc+PPN-Läsion fand sich ein Rückgang der tonisch aktiven Neurone auf 72%, 17% feuerten irregulär und 11% „bursty“, dies stellte verglichen mit der Kontrollgruppe keine signifikante

Änderung des Feuermusters dar, jedoch kam es gegenüber den PPN-läsionierten Tieren zu einer signifikanten Abweichung ( $p < 0,01$ ).

Versuchsgruppe	tonic	random	bursty	gesamt
Normal	61	8	3	72
SNc-Läsion	72	21	5	98
PPN-Läsion	89	4	4	97
SNc+PPN-Läsion	60	14	9	83

Tabelle 13: Verteilung der Feuermuster in der SNr auf die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“. Es ist für jede Versuchsgruppe jeweils die Anzahl der Neurone angegeben, bei welchen das entsprechende Feuermuster gefunden wurde.

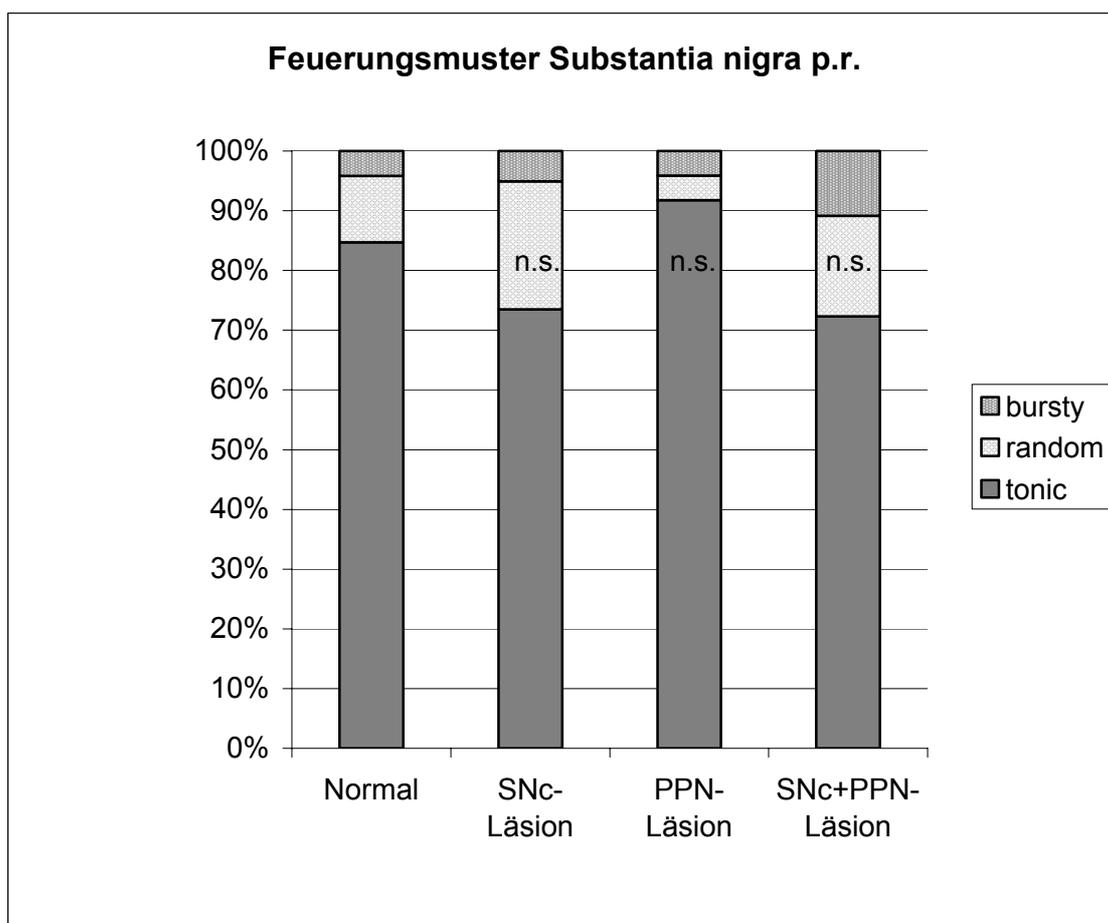


Diagramm 8: Prozentuale Verteilung der Feuermuster der verschiedenen Versuchsgruppen in der SNr (n.s.: nicht signifikant).

### 3.2.5. Nucleus pedunculopontinus

#### 3.2.5.1. Übersichtstabelle

Versuchsgruppe	FR [Hz] (mean ± s.e.)	Feuerungsmuster			n	N
		tonic	random	bursty		
Normal	10,4 ± 1,0	89%	5%	6%	63	4
SNc-Läsion	15,0 ± 1,3**	64%	28%	9%	69	5

Tabelle 14: Übersichtstabelle Ergebnisse PPN. Es sind für die zwei Versuchsgruppen die mittlere Feuerungsrate (mean) und der Standardfehler (s.e.) in Hertz (Hz) aufgelistet. Signifikant vom Normalwert abweichende Werte sind gekennzeichnet (\*\*:  $p < 0,01$ ). Des Weiteren ist die prozentuale Verteilung der Feuermuster für die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“ angegeben. In den letzten beiden Spalten finden sich die Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Neurone (n) und die Anzahl der abgeleiteten Tiere, welche bei der Auswertung berücksichtigt wurden (N).

#### 3.2.5.2. Feuerungsrate

Hier konnte nur bei unbehandelten Tieren und nach SNc-Läsion abgeleitet werden, da bei den anderen beiden Versuchsgruppen der PPN zuvor zerstört worden war. Bei den 4 unbehandelten Tieren und 63 Neuronen fand sich eine mittlere Feuerungsrate von 10,4 Hz, dem gegenüber war die Feuerungsrate nach Läsion der SNc signifikant ( $p = 0,01$ ) auf 15,0 Hz erhöht, es konnten in dieser Gruppe Daten von 69 Neuronen aus 5 Tieren für die Auswertung verwendet werden.

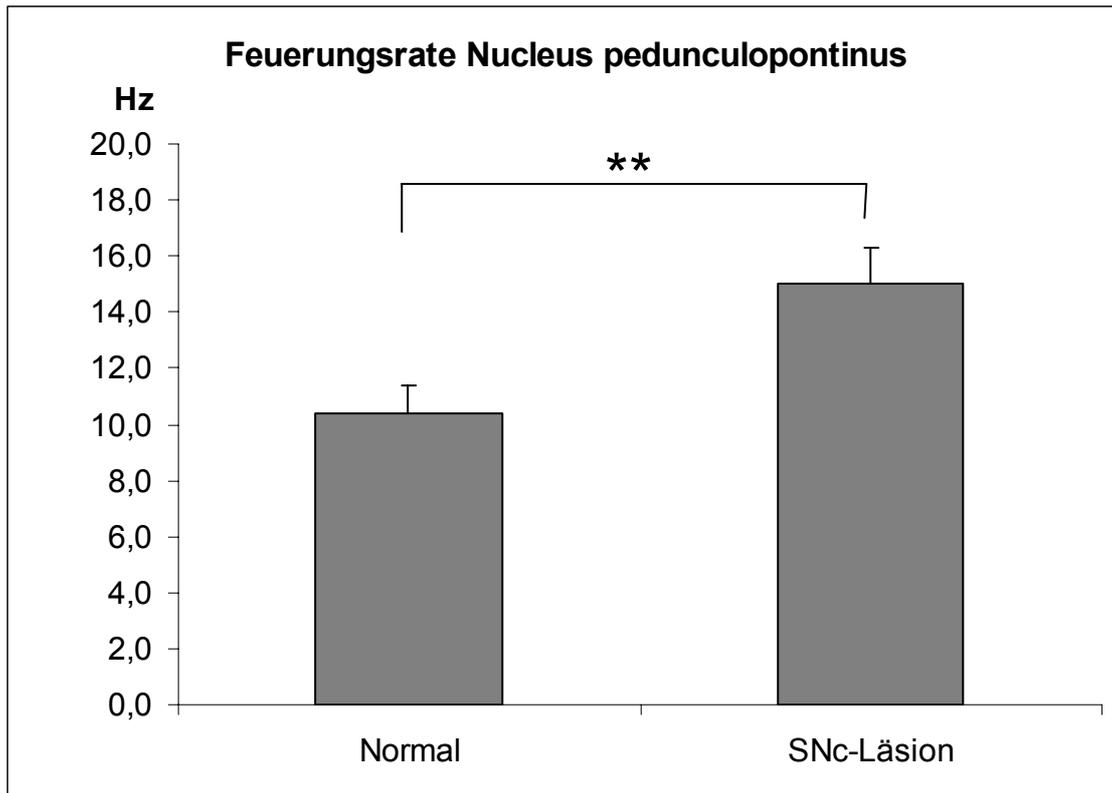


Diagramm 9: Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den PPN sowie signifikante Abweichungen vom Wert der Kontrolltiere (\*\*:  $p < 0,01$ ).

### 3.2.5.3. Feuerungsmuster

Bei Tieren der Gruppe „Normal“ fanden sich überwiegend Neurone mit tonischem Feuerungsmuster (89%), 6% feuerten „bursty“ und 5% „random“. Nach SNc-Läsion kam es zu einer signifikanten ( $p=0,01$ ) Änderung des Feuerungsmusters: Der Anteil der Neurone mit tonischem Feuerungsmuster nahm auf 64% ab, es stieg vor allem der Anteil der irregulär feuenden Neurone (28%), der Anteil der Neurone mit Feuerungsmuster „bursty“ betrug 9%.

Versuchsgruppe	tonic	random	bursty	gesamt
Normal	56	3	4	63
SNc-Läsion	44	19	6	69

Tabelle 15: Verteilung der Feuerungsmuster im PPN auf die drei Qualitäten „tonic“, „random“ und „bursty“. Es ist für beide Versuchsgruppen jeweils die Anzahl der Neurone angegeben, bei welchen das entsprechende Feuerungsmuster gefunden wurde.

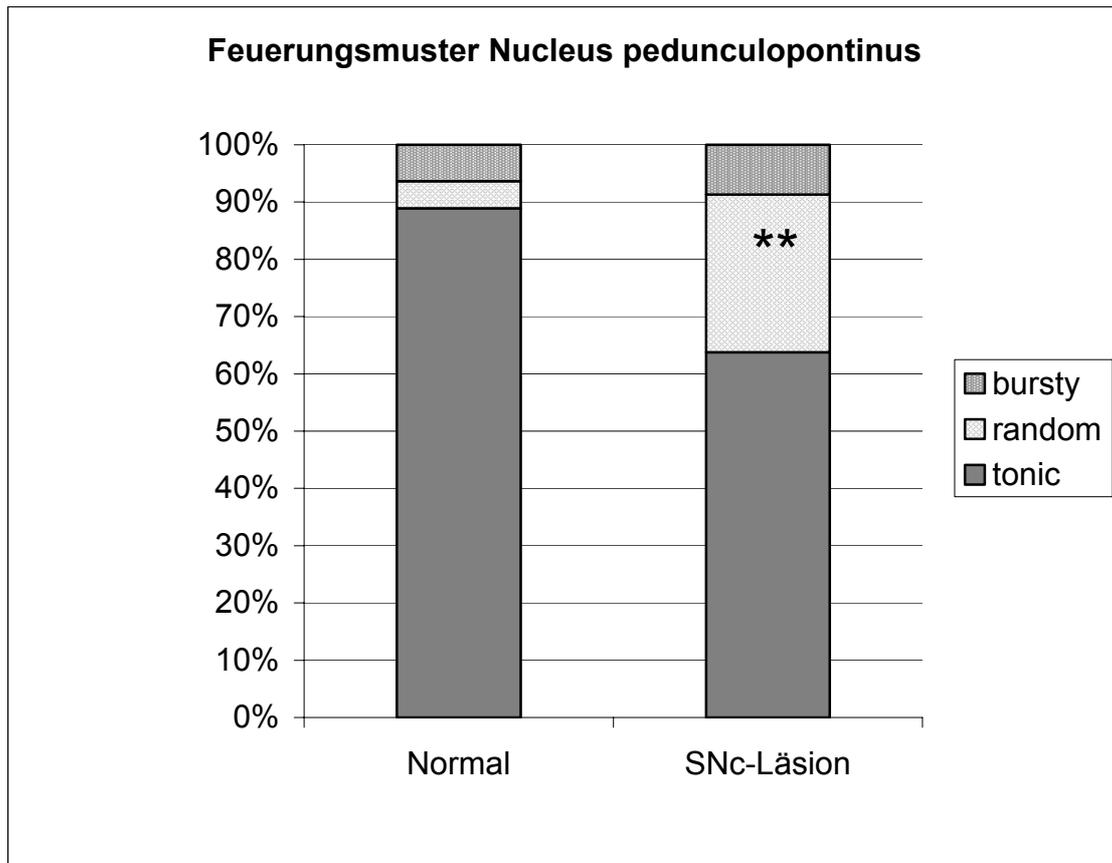


Diagramm 10: Vergleich der prozentualen Verteilung der Feuermuster der beiden Versuchsgruppen im PPN und signifikante Abweichungen von der Kontrollgruppe (\*\*:  $p < 0,01$ ).

## **4. Diskussion**

### **4.1. Neuronale Aktivität des Striatums**

Die bei unbehandelten Tieren ermittelte Feuerungsrate von 8,0 Hz entspricht Daten aus anderen elektrophysiologischen Studien (Wilson et al., 1990; Aosaki et al., 1994), ebenso das Vorherrschen von irregulären und salvenartigen Feuermustern. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass sich in der vorliegenden Arbeit bestimmte Neuronengruppen aufgrund mangelnder Ruheaktivität der Ableitung entzogen. Gerade die striatalen Projektionsneurone, auch „spiny projection neurons“ genannt, zeigen nur phasenweise messbare elektrophysiologische Aktivität (Wilson et al., 1990; Gerfen, 1992), bilden mit 90-95% jedoch den Hauptteil der striatalen Neurone (Smith und Bolam, 1990; Kawaguchi et al., 1995).

Bei SNC-läsionierten Tieren fand sich ein signifikantes Absinken der Feuerungsrate auf 4,3 Hz, es traten deutlich mehr Neurone mit einem Feuermuster der Qualität „bursty“ auf. Diese Veränderung der striatalen Aktivität ist vermutlich direkt durch den Wegfall der dopaminergen Innervation des Striatums durch die SNc bedingt, diese nimmt hauptsächlich über D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren Einfluss auf striatale Projektions- und Interneurone. Da D<sub>1</sub>-Rezeptoren eine exzitatorische Wirkung auf die Zelle vermitteln, könnte eine Dopamindepletion so direkt zu einer verminderten Zellaktivität führen. Von Interneuronen ist bekannt, dass die dort lokalisierten D<sub>2</sub>-Rezeptoren über eine Hemmung des inhibitorischen Inputs eine Aktivitätserhöhung der Zelle verursachen können. Ein Dopaminmangel würde hier somit ebenfalls zu einer Senkung der Aktivität führen (Pisani et al., 2000).

Nach Läsion des PPN waren keine signifikanten Abweichungen des Feuermusters von den Werten der Kontrolltiere festzustellen, es zeigte sich jedoch eine tendenzielle leichte, nicht signifikante Herabsetzung der Feuerungsrate (6,5 Hz). Dies könnte durch den Wegfall der exzitatorischen Verbindung des PPN zur SNc (Scarnati et al., 1984; Beninato und Spencer, 1987; Beninato und Spencer, 1988; Di Loreto et al., 1992; Lavoie und Parent, 1994a; Charara et al., 1996) erklärt werden, welche eine Verminderung der neuronalen Aktivität in der SNc verursachen würde und so analog zur Läsion der SNc zu einem er-

niedrigsten Dopaminspiegel im Striatum führen könnte. Des Weiteren existiert sowohl eine direkte exzitatorische Verbindung zwischen PPN und Striatum (Nakano et al., 1990) als auch eine indirekte Verbindung über den Thalamus (Woolf und Butcher, 1986). Auch über diese Wege ist eine Einflussnahme der PPN-Läsion auf die neuronale Aktivität im Striatum denkbar.

Der Effekt der kombinierten SNc- und PPN-Läsion kann nahezu als Summe der beiden Einzelläsionen gesehen werden. Wie nach SNc-Läsion kommt es zu einer Verschiebung des Feuermusters zu Gunsten der salvenartigen („bursty“) Aktivität, diese Änderung ist im Vergleich zur singulären PPN-Läsion signifikant ( $p < 0,05$ ). Die Feuerrate sinkt sogar noch stärker als bei alleiniger SNc-Läsion (3,8 Hz).

Allgemein lässt sich feststellen, dass die Läsion des PPN die Aktivität der striatalen Neurone weniger zu beeinflussen scheint als die SNc-Läsion, welche zu einem Dopaminmangel im Striatum führt. SNc- und PPN-Läsion scheinen einen additiven Effekt auf die Aktivität des Striatums zu haben. Durch die heterogene Neuronenpopulation des Striatums (Kawaguchi et al., 1995) gestaltet sich eine Interpretation dieser Daten jedoch äußerst schwierig, da mit den hier verwendeten Methoden nicht zwischen Signalen der unterschiedlichen Populationen, wie z. B. Projektions- und hemmenden Interneuronen unterschieden werden kann und somit deren möglicherweise differentes Verhalten unberücksichtigt bleibt.

#### **4.2. Neuronale Aktivität des Globus pallidus (GP)**

Bei unbehandelten Kontrolltieren wurde eine mittlere Feuerrate von 18,6 Hz gemessen. Dies stimmt gut mit Werten aus der Literatur überein (Kita und Kitai, 1991; Cooper und Stanford, 2000). Das Feuermuster war überwiegend tonisch (80%).

Nach Läsion der SNc erhöhte sich der Anteil der tonisch feuernden Neurone auf 89%, es wurden keine Neurone mit dem Feuermuster „bursty“ gefunden. Die Feuerrate stieg signifikant auf 25,1 Hz. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen mehrerer Studien, welche nach SNc-Läsion eine Erniedrigung der Feuerrate des GP finden (Pan und Walters, 1988; Fillion und Tremblay, 1991; Hassani et al., 1996). Dort wird diese Aktivitätsminderung im GP durch

den striatalen Dopaminmangel erklärt, welcher zu einer Enthemmung und damit zu einer verstärkten Aktivität inhibitorischer Afferenzen des Striatums zum GP führe. Metabolische Studien zeigen einen erhöhten Glucoseverbrauch im GP nach SNc-Läsion (Crossman et al., 1985; Porrino et al., 1987). Der Glucoseverbrauch wird als Indikator für die Aktivität der Afferenzen eines bestimmten Kerngebietes gesehen. Für den erhöhten Glucoseverbrauch im GP wurden die oben erwähnten hyperaktiven inhibitorischen Afferenzen aus dem Striatum verantwortlich gemacht, mit der Konsequenz einer erniedrigten Feuerungsrate des GP. Jedoch kommt ebenfalls eine Aktivitätserhöhung exzitatorischer Afferenzen, beispielsweise aus dem STN, als Ursache für den gesteigerten Glucoseverbrauch in Betracht, welche dann zu einer Hyperaktivität des GP führen würden.

Vila konnte nach SNc-Läsion im GP keine Erhöhung der Konzentration der Cytochromoxidase, einem metabolischen Marker für die neuronale Aktivität, beobachten (Vila et al., 1996).

Andere Studien ermittelten nach Läsion der SNc im GP eine erhöhte Konzentration der mRNA des Enzyms Glutamatdecarboxylase, welche für die Synthese des Neurotransmitters GABA benötigt wird (Kincaid et al., 1992; Soghomonian und Chesselet, 1992; Herrero et al., 1996a). Derselbe Effekt wurde nach Verabreichung von Haloperidol beobachtet, einem Neuroleptikum und Dopaminantagonisten welches häufig nach Langzeitanwendung Symptome ähnlich der Parkinson-Erkrankung hervorruft (Delfs et al., 1995). Dies würde wiederum die These einer erhöhten Aktivität des GP nach SNc-Läsion stützen.

Nach Läsion des PPN zeigt sich ein ganz ähnliches Bild wie bei den SNc-läsionierten Tieren. Auch hier kommt es zu einer signifikanten Zunahme der Feuerungsrate (24,3 Hz) und zu einer Erhöhung des Anteils tonisch aktiver Zellen. Dies kann als Indiz dafür gesehen werden, dass die elektrophysiologischen Veränderungen nach PPN-Läsion über eine Hypoaktivität der SNc vermittelt werden, welche durch den fehlenden exzitatorischen Input von PPN zu SNc hervorgerufen wird. In diesem Fall ähnelt die PPN-Läsion funktionell der SNc-Läsion.

Tiere mit kombinierter SNc- und PPN-Läsion wiesen im Vergleich zu Kontrolltieren eine nicht signifikant erniedrigte Feuerungsrate auf (17,7 Hz) und einen deutlich geringeren Anteil an Neuronen mit tonischem Feuermuster (63%). Diese Veränderungen sind gegensätzlich zum Effekt der Einzelläsionen, hier liegt sowohl im Vergleich zur singulären SNc- als auch zur singulären PPN-Läsion eine signifikante Erniedrigung der Feuerungsrate sowie Verschiebung des Feuermusters in Richtung „bursty“ vor ( $p < 0,01$ ). Hier liegt die Ursache vermutlich in einer veränderten Aktivität exzitatorischer Afferenzen des GP. So ist nach kombinierter Läsion die Aktivität des STN erniedrigt, welcher einen exzitatorischen Einfluss auf den GP hat. Dies könnte eine im Vergleich zur SNc-Läsion reduzierte Aktivität des GP verursachen.

#### **4.3. Neuronale Aktivität des Nucleus subthalamicus (STN)**

Bei Kontrolltieren wurde eine mittlere Feuerungsrate von 11,4 Hz gemessen. Die Neurone zeigten überwiegend eine tonische Aktivität (66%), 25% wiesen ein Feuermuster vom Typ „random“ auf, 9% feuerten salvenartig („bursty“). Nach Läsion der SNc kam es zu einem signifikanten Anstieg der Feuerungsrate auf 19,3 Hz und zu einer Verschiebung des Feuermusters zu Gunsten der Neurone mit „bursty“ Aktivität (25%). Diese Beobachtungen decken sich gut mit Ergebnissen aus anderen Studien (Hassani et al., 1996). Auch metabolische Studien zeigen eine Aktivitätssteigerung des STN im Parkinson-Modell (Vila et al., 2000). Nach dem klassischen Modell der Basalganglien wird die erhöhte Feuerungsrate des STN nach SNc-Läsion über eine Verringerung des inhibitorischen Einflusses des GP auf den STN erklärt. Andere Studien lassen dies jedoch unwahrscheinlich erscheinen, da gezeigt werden konnte, dass die STN-Hyperaktivität nach Läsion des GP geringer ausgeprägt ist als nach SNc-Läsion (Hassani et al., 1996). Eher scheinen die Veränderungen der Aktivität des GP nach SNc-Läsion durch den STN verursacht zu sein (Ni et al., 2000a), da der STN über einen starken exzitatorischen Einfluss auf den GP verfügt (Hamada und DeLong, 1992; Hazrati und Parent, 1992a).

In der vorliegenden Arbeit konnte im Widerspruch zum klassischen Modell der Basalganglien keine Aktivitätsverringerung des GP festgestellt werden, welche

für die Hyperaktivität des STN verantwortlich sein könnte. In den letzten Jahren wurden jedoch zunehmend andere Entstehungswege der subthalamischen Hyperaktivität diskutiert. So existieren exzitatorische Verbindungen von Kortex (Nambu et al., 2000) sowie PPN und Ncl. parafascicularis (PF) des Thalamus zum STN. Da für den Kortex eine Hypoaktivität nach SNc-Läsion gezeigt werden konnte (Orieux et al., 2002), scheint es eher unwahrscheinlich, dass dieser für die Hyperaktivität des STN verantwortlich ist. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass sowohl PPN als auch der Ncl. parafascicularis nach Läsion der SNc hyperaktiv sind und somit zur gesteigerten Aktivität des STN beitragen könnten (Orieux et al., 2000). Des Weiteren wird der STN direkt über Dopaminrezeptoren durch die SNc beeinflusst (Hassani et al., 1997). Der Untergang dopaminerger Neurone könnte sich so direkt auf die Aktivität des STN auswirken. Über die Art der Beeinflussung des STN durch Dopamin gibt es jedoch widersprüchliche Studienergebnisse. Es konnte sowohl die Existenz von D<sub>1</sub>- als auch D<sub>2</sub>-Rezeptoren nachgewiesen werden (Johnson et al., 1994; Parry et al., 1994; Francois et al., 2000; Ni et al., 2001a). Während Ni nach Injektion von D<sub>1</sub>-Agonisten einen exzitatorischen Effekt beobachtete (Ni et al., 2001a), zeigte sich jedoch bei Hassani und Feger, dass Dopaminagonisten zu einer Verringerung der Feuerungsrate im STN führen, sowohl über D<sub>1</sub>- als auch D<sub>2</sub>-Rezeptoren (Hassani und Feger, 1999). In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die Injektion von Dopaminantagonisten in den STN bei der Ratte zu einer Erhöhung des Muskeltonus (analog zum Rigor der Parkinsonpatienten) führt, welche durch eine Hyperaktivität des STN verursacht sein könnte (Hemshley et al., 2002). Dies spricht dafür, dass Dopamin selbst einen inhibitorischen Effekt auf den STN hat und so eine Läsion der SNc über einen Dopaminmangel im STN direkt zu einer Erhöhung der Feuerungsrate führen könnte.

Nach Läsion des PPN beobachtet man wie auch nach Läsion der SNc eine Tendenz zu einer erhöhten Feuerungsrate im STN (15,1 Hz), sowie einen erhöhten Anteil von Neuronen mit „bursty“ Feuermuster, dies war jedoch keine signifikante Änderung gegenüber der Kontrollgruppe. Der PPN besitzt eine exzitatorische Verbindung zum STN. Nach einer Läsion wäre also zunächst ein Rückgang der Feuerungsrate zu erwarten. Die Hyperaktivität nach PPN-Läsion

könnte aber durch eine Aktivitätsminderung der SNc, ähnlich dem Parkinson-Modell, erklärt werden, welche durch den Wegfall der ebenfalls exzitatorischen Verbindung von PPN zu SNc entstehen könnte. Möglicherweise beeinflusst der PPN den STN stärker über diese Zwischenstation als über die direkte efferente Verbindung.

Nach Kombination von SNc- und PPN-Läsion findet sich im Vergleich zur Einzelläsion der SNc kein verändertes Feuermuster. Anders gesagt: Die zusätzliche Läsion des PPN scheint sich kaum auf das Feuermuster auszuwirken. Anders jedoch bei der Feuerrate. Hier findet sich ein nicht signifikanter Trend zu einer Erniedrigung der Feuerrate im Vergleich zu den Kontrolltieren auf 8,4 Hz. Diese Veränderung steht in signifikantem Gegensatz ( $p < 0,01$ ) zu den Effekten der Einzelläsionen, nach welchen jeweils eine Erhöhung der Feuerrate zu beobachten war. Eine mögliche Erklärung wäre, dass eine Läsion des PPN nach SNc-Läsion nicht zu einer weiteren Steigerung der Feuerrate beitragen kann, da nach SNc-Läsion (entspricht maximaler Inaktivität) keine zusätzliche Verminderung der Aktivität der SNc durch Verringerung des exzitatorischen Inputs vom PPN möglich ist und somit keine weitere Enthemmung des STN stattfinden kann. Es könnte nun zum Tragen kommen, dass durch die Läsion des PPN eine exzitatorische Verbindung zum STN entfällt. Diese Verminderung von exzitatorischen Afferenzen könnte trotz Enthemmung durch Dopaminmangel zu einer Normo-/Hypoaktivität des STN führen. Zusätzlich existiert über die glutamatergen Afferenzen des Ncl. parafascicularis (Canteras et al., 1990; Mouroux und Feger, 1993), welcher vom PPN exzitatorisch innerviert wird (Woolf und Butcher, 1986), eine indirekte exzitatorische Verbindung vom PPN zum STN. Über diesen Weg könnte eine PPN-Läsion ebenfalls zur Reduktion des exzitatorischen Inputs und somit zur Aktivitätsminderung im STN beitragen.

#### **4.4. Neuronale Aktivität der Substantia nigra pars reticulata (SNr)**

Für die SNr lag bei den nicht-läsionierten Tieren die mittlere Feuerrate bei 22,9 Hz, es lag überwiegend ein tonisches Feuermuster vor. Diese Ergeb-

nisse stehen im Einklang mit anderen Studien (Sanderson et al., 1986; MacLeod et al., 1990; Gulley et al., 2002).

In diesen Studien konnte wie auch in der vorliegenden Arbeit nach SNc-Läsion eine konstante bzw. nicht signifikant erhöhte Feuerungsrate der SNr beobachtet werden. Allerdings wurde dort ein deutlicherer Abfall des Anteils tonisch feuern-der Neurone zu Gunsten der Zellen mit „bursty“ Feuermuster festgestellt, wohingegen hier lediglich ein Rückgang der tonischen Neurone von 84% auf 74% ermittelt wurde und die Zahl der salvenartig aktiven Neurone konstant blieb. Nach dem klassischen Modell der Basalganglien wird nach Läsion der SNc eine Hyperaktivität der SNr angenommen, die auf der Hyperaktivität des STN beruht, welcher exzitatorische Verbindungen zur SNr besitzt. In dieser Arbeit konnte trotz Hyperaktivität des STN keine Hyperaktivität der SNr festgestellt werden. Die Ursache könnte in einer gleichzeitigen Steigerung des inhibitorischen Einflusses auf die SNr liegen. So erhält die SNr inhibitorische Afferenzen vom GP (Bolam und Smith, 1992; Smith et al., 1994; Bevan et al., 1996), welcher sich in dieser Studie als hyperaktiv erwies. Diese hyperaktiven hemmenden Efferenzen des GP zur SNr wären somit eine mögliche Ursache für die fehlende Hyperaktivität der SNr nach SNc-Läsion trotz hyperaktivem STN.

Das Feuermuster der SNr hingegen zeigte nach Läsion Veränderungen im Vergleich zu den Kontrolltieren. Hier könnte die Ursache in einer veränderten Feuerungsrate bzw. einem veränderten Feuermuster des STN liegen, denn schon in anderen Studien konnte ein erheblicher Einfluss des STN auf das Feuermuster der SNr festgestellt werden (Tseng et al., 2000). Dort führte eine Läsion des STN bei Tieren mit SNc-Läsion zu einer signifikanten Reduktion der Zellen mit „bursty“ Aktivität.

Nach Läsion des PPN zeigt sich in der SNr ein Trend zu einer leichten Erhöhung der Feuerungsrate, welcher sich nicht als signifikant erwies. Zugleich kommt es zu einem schwachen Anstieg der tonisch feuern- den Neurone. Letzteres ist gegenläufig zu den Veränderungen nach Läsion der SNc. Denkbar ist, dass das Feuermuster der SNr in erheblicher Weise vom Feuermuster des STN abhängig ist. So sind bei diesen beiden Kernen die Veränderungen nach SNc- bzw. PPN-Läsion gegensinnig: SNc-Läsion führt zu einem Rück-

gang, PPN-Läsion zu einer Erhöhung des Anteils der Neurone mit tonischem Feuermuster. Die leichte Erhöhung der Feuerrate kann man durch die Hyperaktivität des STN erklären, sowie durch die im Vergleich zur SNc-Läsion stärkere dopaminerge, exzitatorische Innervation der SNr, welche jedoch im Vergleich zu Normaltieren aufgrund des fehlenden exzitatorischen Einflusses des PPN auf die SNc erniedrigt sein dürfte.

Tiere mit kombinierter Läsion von SNc und PPN zeigen eine signifikant reduzierte Feuerrate (15,6 Hz) im Vergleich zu unbehandelten und singularläsionierten Tieren, sowie gegenüber Kontrolltieren eine tendenzielle und im Vergleich zu PPN-läsionierten Tieren signifikante Abweichung im Feuermuster ( $p < 0,01$ ). Es kommt hier zu einem Absinken des Anteils tonischer Neurone und einer Zunahme von „bursty“ Aktivität. Auch hier kann der STN für diese Veränderungen verantwortlich gemacht werden, da seine Hypoaktivität zu einem Mangel an exzitatorischen Afferenzen zur SNr führt. Auch der Untergang dopaminergischer Neurone und der Zellverlust im PPN tragen über eine Verminderung erregender Fasern direkt zur Aktivitätsminderung in der SNr bei. Das Feuermuster ähnelt eher dem Zustand nach SNc-Läsion, jedoch ist die Zunahme von unregelmäßig („random“) aktiven Zellen nicht ganz so ausgeprägt. Wie schon bei Striatum und STN scheint die zusätzliche PPN-Läsion hier nur einen sehr geringen Effekt auf das Feuermuster zu besitzen.

#### **4.5. Neuronale Aktivität des Nucleus pedunculopontinus (PPN)**

Beim PPN handelt es sich um eine heterogene Struktur (Kang und Kitai, 1990) vor allem bestehend aus cholinergen und glutamatergen Neuronen (Lavoie und Parent, 1994b). Es konnte hier nicht zwischen verschiedenen Neuronengruppen differenziert werden, so dass nur die gemittelten Daten für beide Populationen bestimmt wurden. Unklar bleibt, ob die unterschiedlichen Neuronengruppen ein hiervon abweichendes Verhalten zeigen. Die ermittelte Feuerrate bei Kontrolltieren lag bei 10,4 Hz, nach SNc-Läsion zeigte sich ein Anstieg der Feuerrate auf 15,0 Hz. Zwar gehen einige Autoren von einer Hypoaktivität des PPN nach SNc-Läsion aus (Aziz et al., 1991; Matsumura und Kojima, 2001b), in anderen Studien konnte jedoch in Übereinstimmung mit den Ergeb-

nissen der vorliegenden Arbeit ebenfalls ein Anstieg der Feuerungsrate nach SNc-Läsion gezeigt werden (Orioux et al., 2000; Breit et al., 2001; Jeon et al., 2003), ebenso eine Verschiebung des Feuerungsmusters von tonic zu random. Verursacht wird diese Aktivitätssteigerung vermutlich durch die Hyperaktivität des STN, welcher über Glutamat einen exzitatorischen Einfluss auf den PPN ausübt. Es konnte gezeigt werden, dass die Veränderungen nach SNc-Läsion durch Läsion des STN aufgehoben werden können (Breit et al., 2001). Der exzitatorischen Verbindung des STN zum PPN stehen jedoch inhibitorische Affenzen der SNr zum PPN entgegen, welche den exzitatorischen Effekt des STN antagonisieren könnten, da laut klassischem Basalganglien-Modell die SNr im Parkinson-Zustand ebenfalls hyperaktiv ist. Diese Hyperaktivität konnte in dieser Studie allerdings nicht gezeigt werden. In jedem Fall scheint der exzitatorische Einfluss des STN auf die Aktivität des PPN zu überwiegen.

#### **4.6. Veränderungen nach Läsion der SNc (Parkinsonmodell der Ratte)**

Die unilaterale Injektion von 6-OHDA in die Substantia nigra pars compacta verursacht einen vollständigen Verlust der dortigen dopaminergen Neurone. Dies führt zu einem Dopaminmangel in Striatum, STN und GP (Smith und Kieval, 2000). Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie ist zu vermuten, dass dieser Dopaminmangel direkt zu einer Hyperaktivität im STN führt. Aus der Hyperaktivität des STN mit seinen exzitatorischen, glutamatergen Verbindungen resultiert eine Hyperaktivität des GP und des PPN sowie ein verändertes Feuerungsmuster in PPN und SNr. Diese Aktivitätsänderungen in SNr und PPN könnten über die Verbindung dieser beiden Kerne zum Thalamus (Woolf und Butcher, 1986; Alexander und Crutcher, 1990) die Aktivität motorischer Kortexareale beeinflussen und so die Störungen im Bereich der Motorik nach SNc-Läsion bzw. bei der Parkinson-Krankheit hervorrufen. Die folgende Abbildung zeigt in einem modifizierten Schema die Verhältnisse in den Basalganglien nach Läsion der SNc.

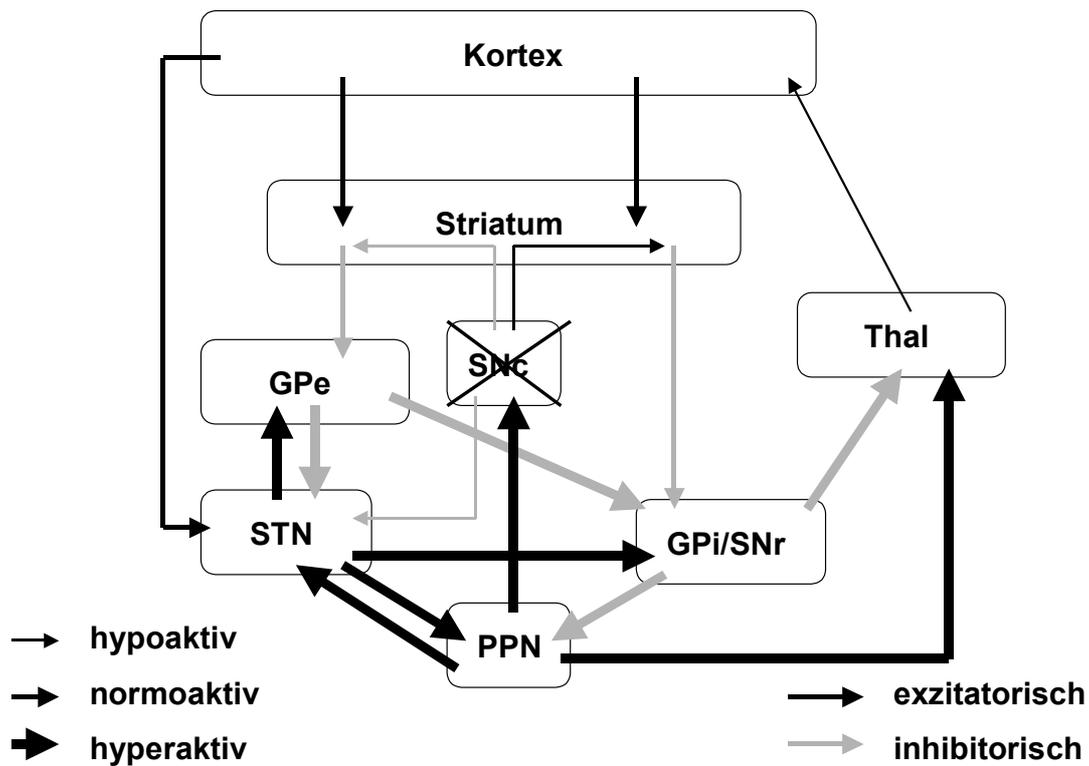


Abbildung 26: Modifiziertes Basalganglien-Modell. Zustand nach SNc-Läsion.

#### 4.7. Veränderungen nach Läsion des PPN

Nach PPN-Läsion kann beim Affen eine Akinese ähnlich dem Parkinson-Syndrom beobachtet werden (Munro-Davies et al., 1999; Takada et al., 2000). Dies, sowie Forschungsergebnisse welche auf eine Hypoaktivität des PPN im Parkinson-Zustand hinweisen (Matsumura und Kojima, 2001b) veranlasst unter anderem Nandi (Nandi et al., 2002a; Nandi et al., 2002b) zu der Annahme, die Akinese im Parkinson-Zustand sei nicht durch die Beeinflussung von Thalamus und Kortex durch die Basalganglien ausgelöst („upstream“) sondern vielmehr Ausdruck der Aktivitätsveränderung in den Verknüpfungen der BG mit dem PPN und dessen Verbindungen zu Hirnstamm („downstream“).

Die Ergebnisse dieser Studie können diese These nicht stützen. Vielmehr finden sich aufgrund der nach PPN-Läsion erhöhten Aktivitäten von GP und STN Anzeichen dafür, dass die durch PPN-Läsion hervorgerufene Akinese über denselben Mechanismus wie die Akinese im Parkinson-Zustand weitergeleitet wird. Denn das Fehlen der direkten, exzitatorischen Verbindungen von PPN zu

GP und STN bietet keine Erklärungsmöglichkeit für die Aktivitätserhöhung von GP und STN nach PPN-Läsion. Es könnte aber der Wegfall des exzitatorischen Einflusses des PPN auf die SNc zu deren Aktivitätsminderung führen. Die so entstehende Hypoaktivität der SNc könnte analog der SNc-Läsion über eine Reduktion des inhibitorischen Einflusses der SNc auf den STN dessen Hyperaktivität verursachen. Letztere ist dann möglicherweise über exzitatorische Effereenzen verantwortlich für die Hyperaktivität in GP und SNr bei Tieren mit PPN-Läsion.

Dass SNc- und PPN-Läsion aber nicht völlig gleichzusetzen sind, zeigen die Unterschiede in der Beeinflussung des Feuermusters in STN und SNr. So ist der Dopaminmangel im STN nach Läsion des PPN vermutlich nicht so ausgeprägt wie nach SNc-Läsion. Abbildung 27 zeigt das modifizierte Schema der Basalganglien nach Läsion des PPN.

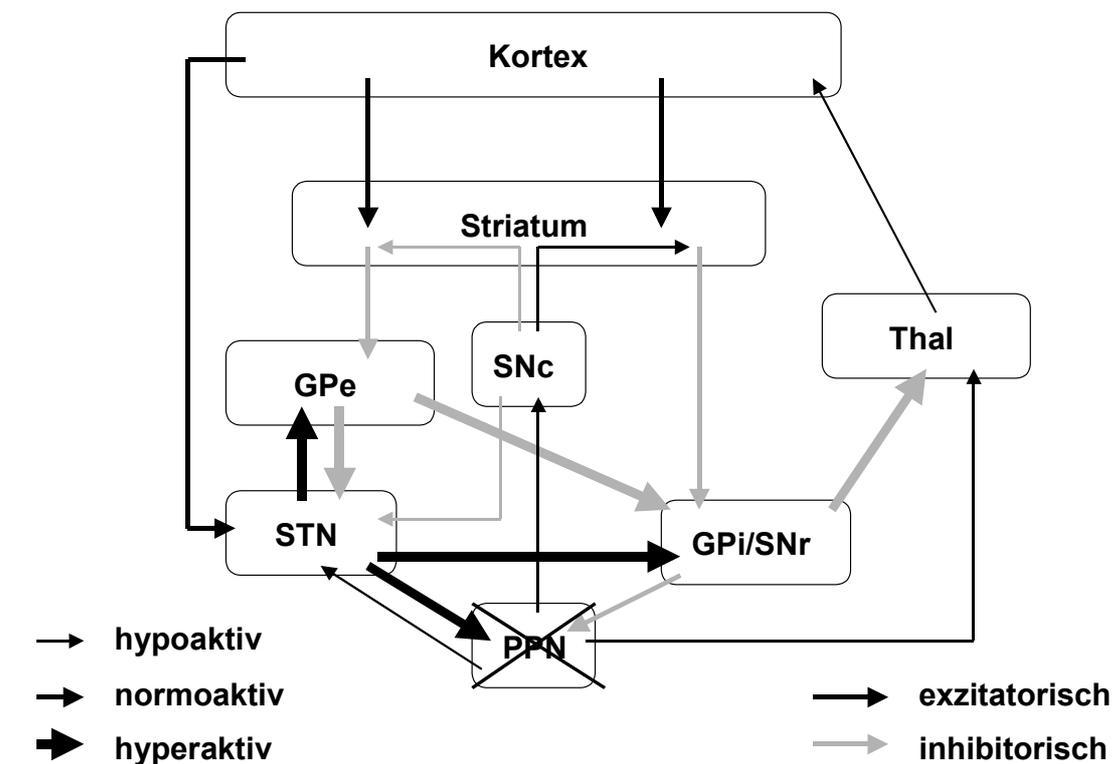


Abbildung 27: Modifiziertes Basalganglien-Modell. Zustand nach PPN-Läsion.

#### **4.8. Veränderungen nach Läsion von SNc und PPN**

Hier zeigt sich ein völlig anderes Bild als nach Einzelläsion von SNc oder PPN. In STN und GP kommt es im Gegensatz zu einfach läsierten Tieren nach Kombinationsläsion zu keinen signifikanten Veränderungen der Feuerungsrate, in der SNr ist sogar ein signifikantes Absinken der Feuerungsrate zu beobachten. Eine Deutung dieser Ergebnisse gestaltet sich schwierig. Wenn man davon ausgeht, dass die Hyperaktivität des STN nach PPN-Läsion durch eine Aktivitätsminderung der SNc entsteht, so ist anzunehmen, dass nach einer SNc-Läsion durch die Läsion des PPN keine weitere Steigerung der Feuerungsrate stattfinden kann, da die SNc bereits inaktiv ist. Dafür spricht die Tatsache, dass die Feuermuster nach SNc- und PPN- Läsion weitgehend den Feuermustern nach SNc-Läsion entsprechen, es findet also keine weitere Beeinflussung durch die Läsion des PPN statt. Nach Läsion von SNc und PPN steht der STN unter folgenden konkurrierenden Einflüssen: Zum einen entfällt die Hemmung über die SNc, dies würde zu einer Aktivitätssteigerung führen. Andererseits entfällt ebenfalls der erregende Einfluss des PPN auf den STN, welches eine Aktivitätsminderung verursachen könnte, welche nach singulärer PPN-Läsion nicht zum Tragen kommt. Über letztere Verbindung könnte die fehlende Hyperaktivität des STN erklärt werden. Diese Normo-/Hypoaktivität wiederum bedingt durch eine Verringerung des exzitatorischen Einflusses auf GP und SNr deren Aktivitätsverringern. Es ist jedoch unklar, ob diese Normalisierung bzw. Abschwächung der Aktivität von STN und SNr zu einer Besserung der nach alleiniger SNc-Läsion entstandenen Symptome führt. In diesem Fall wäre eine Manipulation des PPN als eine neue Therapiemöglichkeit des Parkinson-Syndroms denkbar. Abbildung 28 zeigt schematisch die Aktivitätsänderungen der Basalganglien nach kombinierter Läsion von SNc und PPN.

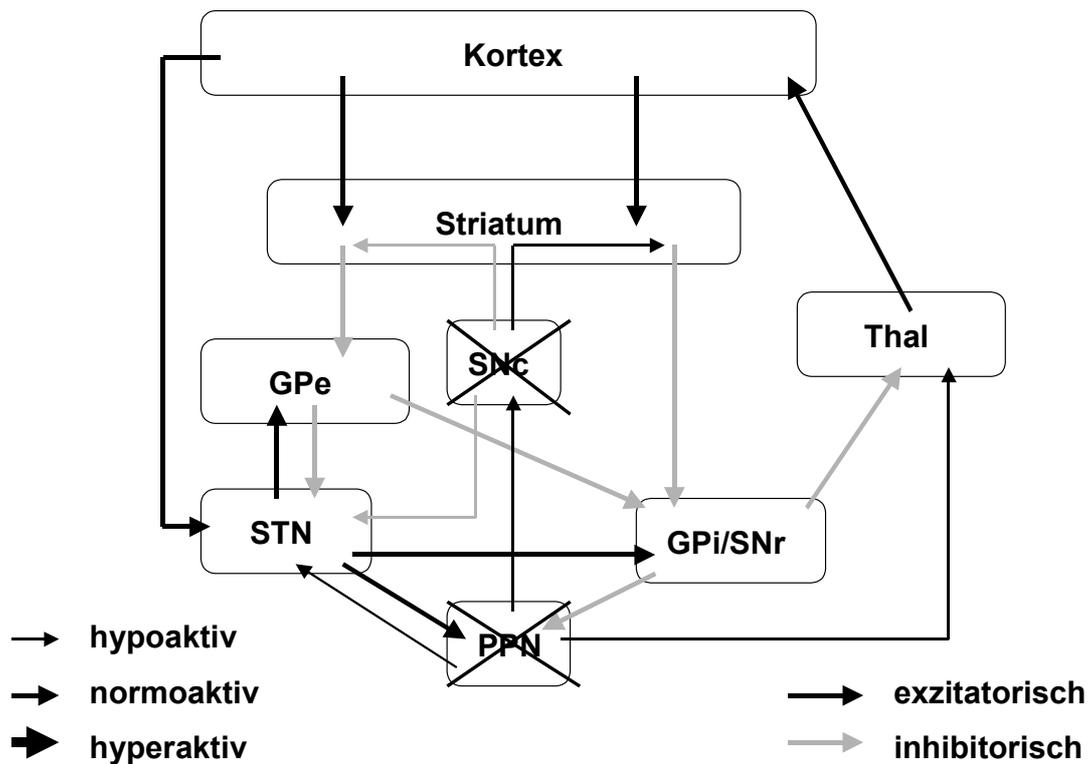


Abbildung 28: Modifiziertes Basalganglien-Modell. Zustand nach SNc- und PPN-Läsion.

#### 4.9. Neues Basalganglien-Modell

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie zahlreiche weitere Arbeiten (Crossman et al., 1985; Porrino et al., 1987, Vila et al., 1996; Kincaid et al., 1992; Soghomonian und Chesselet, 1992; Herrero et al., 1996a; Hassani et al., 1996; Ni et al., 2000a) geben Anlass zu einigen Modifikationen des klassischen Basalganglien-Modells. So ist zu vermuten, dass die dopaminerge Verbindung von SNc zu STN eine viel bedeutendere Rolle einnimmt, als ihr bisher zugestanden wurde. Möglicherweise hat der Wegfall dieser Verbindung eine bedeutende Rolle bei der Entstehung der Veränderungen in den Aktivitäten der Basalganglien nach Läsion der SNc.

Der Einfluss des GP auf den STN scheint jedoch geringer zu sein, als nach dem klassischen Schema der Basalganglien (siehe Abbildung 1, Seite 9) zu vermuten ist, vielmehr scheint der STN die Aktivität des GP zu steuern. Es zeigt sich auch, dass der PPN einen modulierenden Einfluss auf die Aktivität der SNc

nimmt. So zeigt sich nach Läsion des PPN und Unterbrechung seiner exzitatorischen Verbindung zur SNc eine ähnliche Aktivitätsänderung in den Basalganglien wie nach SNc-Läsion. Des Weiteren sind STN und PPN in der Lage über einen Feedback-Mechanismus (SNc-STN-PPN-SNc) bei reduzierter Aktivität der SNc kompensatorisch einen gesteigerten exzitatorischen Einfluss auf die SNc auszuüben (Bezard und Gross, 1998). Dieser kompensatorische Vorgang könnte erklären, warum erste motorische Symptome der Parkinson Erkrankung erst bei einem Verlust von ca. 80% der dopaminergen Neurone der SNc auftreten (Löschmann und Schulz, 1997). Diese exzitatorische Verbindung könnte auch pathophysiologisch beim Parkinson-Syndrom eine bedeutende Rolle spielen: ein gesteigerter exzitatorischer Input über den Mechanismus der Exzitotoxizität (siehe Kapitel 1.1.2, Seite 13) könnte nach initialem Zelluntergang zu einem vermehrten Verlust dopaminergen Neurone in der SNc führen und so das Fortschreiten der Erkrankung beschleunigen.

Abbildung 29 zeigt das modifizierte Basalganglien-Modell.

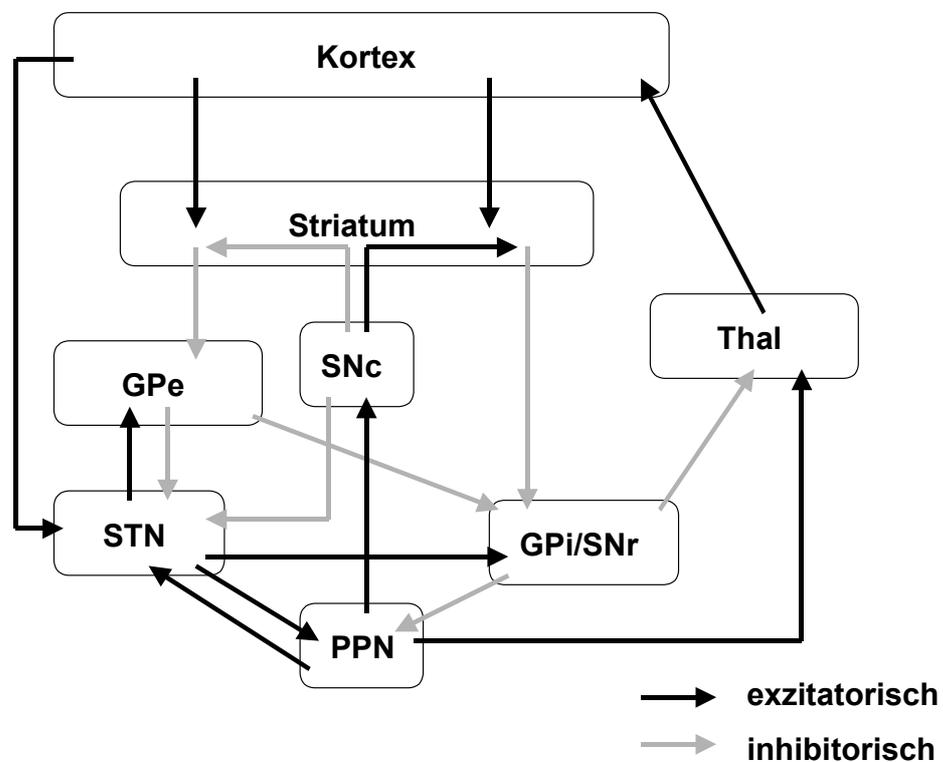


Abbildung 29: Modifiziertes Basalganglien-Modell.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe von extrazellulärer in vivo Einzelzelleitung die Aktivitätsänderungen in den Basalganglien nach Läsion der Substantia nigra pars compacta und des Nucleus pedunculopontinus untersucht. Ziel hierbei war, einen genaueren Einblick in die Bedeutung des PPN für die Aktivität der Basalganglien zu erhalten und Hinweise dafür zu finden, ob die nach PPN-Läsion beim Primaten auftretende Akinese auf den gleichen pathophysiologischen Veränderungen beruht wie die Parkinson-Symptomatik nach dopaminergem Zellverlust in der SNc.

Nach Läsion des PPN konnte eine Hyperaktivität des STN sowie des GP festgestellt werden. Derartige Aktivitätsänderungen sind auch nach SNc-Läsion zu beobachten. Dies lässt vermuten, dass die nach PPN-Läsion beobachtete Akinese mit der Akinese im Rahmen eines Parkinson-Syndroms in pathophysiologischem Zusammenhang steht. Eine gemeinsame Ursache der Bewegungsstörung könnte in der Aktivitätsreduktion der dopaminergen Neurone der SNc liegen, welche möglicherweise nach Läsion des PPN durch den Wegfall der exzitatorischen Verbindungen von PPN zu SNc verursacht wird und eine Situation vergleichbar der nach SNc-Läsion hervorrufen könnte.

Nach SNc-Läsion zeigte sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien eine deutliche Hyperaktivität des STN. Im Widerspruch zu anderen Studien, welche die Ursache der STN-Hyperaktivität in einer Hypoaktivität des GP vermuten, steht jedoch die in den Versuchen zu dieser Arbeit aufgetretene Hyperaktivität des GP. Diese ist vermutlich Folge der Hyperaktivität des STN, die Ursache der Aktivitätssteigerung des STN wäre somit in anderen Strukturen zu suchen, beispielsweise in Thalamus, PPN, SNc oder Kortex. Neben dem GP zeigte auch der PPN eine Hyperaktivität nach SNc-Läsion, welche möglicherweise einen nicht unbedeutenden Anteil an den motorischen Symptomen der Parkinson-Krankheit hat.

Nach kombinierter Läsion von SNc und PPN fand weitgehend eine Normalisierung der Aktivitäten der Basalganglien statt, STN und GP zeigten hier keine Hyperaktivität. Diese Aktivitätsminderung im Vergleich zur SNc-Läsion ist vermutlich bedingt durch den fehlenden exzitatorischen Input des PPN auf den

STN. Diese Ergebnisse lassen hoffen, dass eine Beeinflussung des PPN zu einer Reduktion der motorischen Symptome des Parkinson-Syndroms führen könnte. Dann wäre mit der Inhibition des PPN ein neues therapeutisches Prinzip zur Behandlung der Parkinson-Krankheit denkbar.

## 6. Verzeichnis der Abkürzungen

6-OHDA	6-Hydroxydopamin
ACh	Acetylcholin
bursty	„salvenartig“, Kategorie bei der Einteilung der Feuermuster
CPu	engl.: caudate putamen, entspricht Striatum
d.h.	das heißt
EP	Nucleus entopeduncularis, entspricht GPi beim Primaten
FP	Feuermuster (engl. „firing pattern“)
FR	Feuerrate
ggf.	gegebenenfalls
GP	Globus pallidus lateralis (entspricht GPe des Primaten)
GPe	externer Globus pallidus, entspricht GP der Ratte
GPi	interner Globus pallidus, entspricht EP der Ratte
i.p.	intra peritoneal
LGP	engl.: lateral globus pallidus, entspricht GP
M	molare/r/s
NaCl	0,9% Kochsalzlösung (isoton)
NADPH	reduzierte Form des Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP <sup>+</sup> )
n.s.	nicht signifikant
p	Irrtumswahrscheinlichkeit, p=0,01 entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%
PBS, 1x	phosphatgepufferte Kochsalzlösung, isoton; pH 7,4
PBS, 10x	phosphatgepufferte Kochsalzlösung, zehnfach isoton; pH 7,4
PF	Nucleus parafascicularis des Thalamus
PFA	Paraformaldehyd
PPN	Nucleus pedunculo pontinus
PPTg	engl.: pedunculo pontine tegmental nucleus, entspricht PPN
random	„unregelmäßig“, Kategorie bei der Einteilung der Feuermuster
s.c.	subkutan („subcutaneus“)
s.e.	Standardfehler

SNc	Substantia nigra pars compacta
SNr	Substantia nigra pars reticulata
sog.	so genannte/r/s
STh	engl.: subthalamic nucleus, entspricht STN
STN	Nucleus subthalamicus
Thal	Thalamus
tonic	„gleich-/regelmäßig“; Kategorie bei der Einteilung der Feuermuster
ZNS	Ziegennormalserum

## 7. Verzeichnis der Abbildungen, Diagramme und Tabellen

Abbildung 1:	Schematische Darstellung der Basalganglien .....	9
Abbildung 2:	Basalganglienschema bei der Parkinson-Erkrankung.....	14
Abbildung 3:	Cholinerge Systeme.....	17
Abbildung 4:	Afferenzen und Efferenzen des PPN .....	19
Abbildung 5:	PPN und die Basalganglien .....	20
Abbildung 6:	Elektrode.....	28
Abbildung 7:	Stereotaxierahmen/Messapparatur.....	33
Abbildung 8:	Schema Ableitungsapparatur .....	34
Abbildung 9:	Histologischer Schnitt Striatum .....	38
Abbildung 10:	Atlasbild Striatum .....	38
Abbildung 11:	Histologischer Schnitt GP .....	38
Abbildung 12:	Atlasbild GP .....	38
Abbildung 13:	Histologischer Schnitt STN .....	39
Abbildung 14:	Atlasbild STN .....	39
Abbildung 15:	Histologischer Schnitt SNr .....	39
Abbildung 16:	Atlasbild SNr .....	39
Abbildung 17:	Histologischer Schnitt PPN .....	40
Abbildung 18:	Atlasbild PPN .....	40
Abbildung 19:	Beispiel Feuermuster „bursty“ .....	43
Abbildung 20:	Salvenartiges Feuermuster nach Kaneoke .....	44
Abbildung 21:	Beispiel Feuermuster „tonic“ .....	44
Abbildung 22:	Tonisches Feuermuster nach Kaneoke.....	45
Abbildung 23:	Immunhistochemische Färbung dopaminerge Neurone .....	47
Abbildung 24:	NADPH-Diaphorase-Färbung nach PPN-Läsion.....	48
Abbildung 25:	Vergrößerte Ausschnitte aus Abbildung 24.....	48
Abbildung 26:	Modifiziertes BG-Modell. Zustand nach SNc-Läsion .....	75
Abbildung 27:	Modifiziertes BG-Modell. Zustand nach PPN-Läsion .....	76
Abbildung 28:	Modifiziertes BG-Modell. Zustand nach SNc- +PPN-Läsion ...	78
Abbildung 29:	Modifiziertes Basalganglien-Modell.....	79

Diagramm 1:	Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für das Striatum	50
Diagramm 2:	Prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster im Striatum.....	52
Diagramm 3:	Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den GP .....	54
Diagramm 4:	Prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster im GP .....	55
Diagramm 5:	Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den STN .....	57
Diagramm 6:	Prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster im STN.....	59
Diagramm 7:	Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für die SNr.....	61
Diagramm 8:	Prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster in der SNr.....	62
Diagramm 9:	Mittlere Feuerungsraten und Standardfehler für den PPN .....	64
Diagramm 10:	Prozentuale Verteilung der Feuerungsmuster im PPN.....	65

Tabelle 1:	Koordinaten für die Ableitung im Striatum.....	30
Tabelle 2:	Koordinaten für die Ableitung im GP .....	30
Tabelle 3:	Koordinaten für die Ableitung im STN.....	31
Tabelle 4:	Koordinaten für die Ableitung in der SNr.....	31
Tabelle 5:	Koordinaten für die Ableitung im PPN.....	31
Tabelle 6:	Übersichtstabelle Ergebnisse Striatum .....	49
Tabelle 7:	Verteilung der Feuerungsmuster im Striatum.....	51
Tabelle 8:	Übersichtstabelle Ergebnisse GP .....	53
Tabelle 9:	Verteilung der Feuerungsmuster im GP .....	55
Tabelle 10:	Übersichtstabelle Ergebnisse STN .....	56
Tabelle 11:	Verteilung der Feuerungsmuster im STN.....	58
Tabelle 12:	Übersichtstabelle Ergebnisse SNr .....	60
Tabelle 13:	Verteilung der Feuerungsmuster in der SNr.....	62
Tabelle 14:	Übersichtstabelle Ergebnisse PPN .....	63
Tabelle 15:	Verteilung der Feuerungsmuster im PPN.....	64

## 8. Literaturverzeichnis

Aizman O, Brismar H, Uhlen P, Zettergren E, Levey AI, Forssberg H, Green-gard P, Aperia A (2000) Anatomical and physiological evidence for D1 and D2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. *Nat Neurosci* 3:226-230.

Albin RL, Greenamyre JT (1992) Alternative excitotoxic hypotheses. *Neurology* 42:733-738.

Alderson HL, Faulconbridge LF, Gregory LP, Latimer MP, Winn P (2003) Behavioural sensitisation to repeated d-amphetamine: effects of excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus. *Neuroscience* 118:311-315.

Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266-271.

Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M (1994) Effect of the nigrostriatal dopamine system on acquired neural responses in the striatum of behaving monkeys. *Science* 265:412-415.

Aziz TZ, Peggs D, Sambrook MA, Crossman AR (1991) Lesion of the subthalamic nucleus for the alleviation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism in the primate. *Mov Disord* 6:288-292.

Balatoni B, Detari L (2003) EEG related neuronal activity in the pedunculopontine tegmental nucleus of urethane anaesthetized rats. *Brain Res* 959:304-311.

Baron MS, Wichmann T, Ma D, DeLong MR (2002) Effects of transient focal inactivation of the basal ganglia in parkinsonian primates. *J Neurosci* 22:592-599.

Beal MF (2003) Mitochondria, oxidative damage, and inflammation in Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 991:120-131.

Bechara A, van der Kooy D (1992) A single brain stem substrate mediates the motivational effects of both opiates and food in nondeprived rats but not in deprived rats. *Behav Neurosci* 106:351-363.

Benazzouz A, Boraud T, Feger J, Burbaud P, Bioulac B, Gross C (1996) Alleviation of experimental hemiparkinsonism by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus in primates: a comparison with L-Dopa treatment. *Mov Disord* 11:627-632.

Benazzouz A, Piallat B, Pollak P, Benabid AL (1995) Responses of substantia nigra pars reticulata and globus pallidus complex to high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats: electrophysiological data. *Neurosci Lett* 189:77-80.

Beninato M, Spencer RF (1987) A cholinergic projection to the rat substantia nigra from the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Brain Res* 412:169-174.

Beninato M, Spencer RF (1988) The cholinergic innervation of the rat substantia nigra: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *Exp Brain Res* 72:178-184.

Bergman H, Wichmann T, DeLong MR (1990) Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 249:1436-1438.

Bergman H, Wichmann T, Karmon B, DeLong MR (1994) The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 72:507-520.

Beurrier C, Congar P, Bioulac B, Hammond C (1999) Subthalamic nucleus neurons switch from single-spike activity to burst-firing mode. *J Neurosci* 19:599-609.

Bevan MD, Booth PA, Eaton SA, Bolam JP (1998) Selective innervation of neostriatal interneurons by a subclass of neuron in the globus pallidus of the rat. *J Neurosci* 18:9438-9452.

Bevan MD, Crossman AR, Bolam JP (1994) Neurons projecting from the entopeduncular nucleus to the thalamus receive convergent synaptic inputs from the subthalamic nucleus and the neostriatum in the rat. *Brain Res* 659:99-109.

Bevan MD, Magill PJ, Terman D, Bolam JP, Wilson CJ (2002) Move to the rhythm: oscillations in the subthalamic nucleus-external globus pallidus network. *Trends Neurosci* 25:525-531.

Bevan MD, Smith AD, Bolam JP (1996) The substantia nigra as a site of synaptic integration of functionally diverse information arising from the ventral pallidum and the globus pallidus in the rat. *Neuroscience* 75:5-12.

Bezard E, Gross CE (1998) Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism: towards a dynamic approach. *Prog Neurobiol* 55:93-116.

Blandini F, Nappi G, Tassorelli C, Martignoni E (2000) Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 62:63-88.

Bolam JP, Smith Y (1992) The striatum and the globus pallidus send convergent synaptic inputs onto single cells in the entopeduncular nucleus of the rat: a double anterograde labelling study combined with postembedding immunocytochemistry for GABA. *J Comp Neurol* 321:456-476.

Bonagura V, Cassebaum L, Dangman K, Freund J, Cabbat F, Dembiec D, Heikkila R, Cohen G (1972) Protection by desipramine of 6-hydroxydopamine

induced damage to adrenergic nerve terminals in mouse heart. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 4:163-171.

Breit S, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL, Benazzouz A (2001) Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway induces an increase of neuronal activity of the pedunculo-pontine nucleus, which is reversed by the lesion of the subthalamic nucleus in the rat. *Eur J Neurosci* 14:1833-1842.

Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, Ricardo JA (1988) Somatosensory inputs to the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 458:53-64.

Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, Ricardo JA (1990) Afferent connections of the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 513:43-59.

Carlson JD, Pearlstein RD, Buchholz J, Iacono RP, Maeda G (1999) Regional metabolic changes in the pedunculo-pontine nucleus of unilateral 6-hydroxydopamine Parkinson's model rats. *Brain Res* 828:12-19.

Cenci MA, Whishaw IQ, Schallert T (2002) Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat? *Nat Rev Neurosci* 3:574-579.

Charara A, Smith Y, Parent A (1996) Glutamatergic inputs from the pedunculo-pontine nucleus to midbrain dopaminergic neurons in primates: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde labeling combined with postembedding glutamate and GABA immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 364:254-266.

Chesselet MF, Delfs JM (1996) Basal ganglia and movement disorders: an update. *Trends Neurosci* 19:417-422.

Cooper AJ, Stanford IM (2000) Electrophysiological and morphological characteristics of three subtypes of rat globus pallidus neurone in vitro. *J Physiol* 527 Pt 2:291-304.

Corrigall WA, Coen KM, Zhang J, Adamson L (2002) Pharmacological manipulations of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in the rat reduce self-administration of both nicotine and cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 160:198-205.

Crossman AR, Mitchell IJ, Sambrook MA (1985) Regional brain uptake of 2-deoxyglucose in N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism in the macaque monkey. *Neuropharmacology* 24:587-591.

Curet O, De Montigny C, Blier P (1992) Effect of desipramine and amphetamine on noradrenergic neurotransmission: electrophysiological studies in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 221:59-70.

Delfs JM, Anegawa NJ, Chesselet MF (1995) Glutamate decarboxylase messenger RNA in rat pallidum: comparison of the effects of haloperidol, clozapine and combined haloperidol- scopolamine treatments. *Neuroscience* 66:67-80.

Di Loreto S, Florio T, Scarnati E (1992) Evidence that non-NMDA receptors are involved in the excitatory pathway from the pedunculo pontine region to nigrostriatal dopaminergic neurons. *Exp Brain Res* 89:79-86.

Dunbar JS, Hitchcock K, Latimer M, Rugg EL, Ward N, Winn P (1992) Excitotoxic lesions of the pedunculo pontine tegmental nucleus of the rat. II. Examination of eating and drinking, rotation, and reaching and grasping following unilateral ibotenate or quinolinate lesions. *Brain Res* 589:194-206.

Figueiras-Mendez R, Regidor I, Riva-Meana C, Magarinos-Ascone CM (2002) Further supporting evidence of beneficial subthalamic stimulation in Parkinson's patients. *Neurology* 58:469-470.

Filion M, Tremblay L (1991) Abnormal spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Brain Res* 547:142-151.

Forster GL, Blaha CD (2003) Pedunculo pontine tegmental stimulation evokes striatal dopamine efflux by activation of acetylcholine and glutamate receptors in the midbrain and pons of the rat. *Eur J Neurosci* 17:751-762.

Francois C, Savy C, Jan C, Tande D, Hirsch EC, Yelnik J (2000) Dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the normal state, in MPTP-treated monkeys, and in Parkinson's disease patients. *J Comp Neurol* 425:121-129.

Freeman A, Ciliax B, Bakay R, Daley J, Miller RD, Keating G, Levey A, Rye D (2001) Nigrostriatal collaterals to thalamus degenerate in parkinsonian animal models. *Ann Neurol* 50:321-329.

Futami T, Takakusaki K, Kitai ST (1995) Glutamatergic and cholinergic inputs from the pedunculo pontine tegmental nucleus to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. *Neurosci Res* 21:331-342.

Gerfen CR (1992) The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci* 15:133-139.

Goldberg JA, Boraud T, Maraton S, Haber SN, Vaadia E, Bergman H (2002) Enhanced synchrony among primary motor cortex neurons in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine primate model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 22:4639-4653.

Gonya-Magee T, Anderson ME (1983) An electrophysiological characterization of projections from the pedunculo pontine area to entopeduncular nucleus and globus pallidus in the cat. *Exp Brain Res* 49:269-279.

Granata AR, Kitai ST (1991) Inhibitory substantia nigra inputs to the pedunculo-pontine neurons. *Exp Brain Res* 86:459-466.

Gulley JM, Kosobud AE, Rebec GV (2002) Behavior-related modulation of substantia nigra pars reticulata neurons in rats performing a conditioned reinforcement task. *Neuroscience* 111:337-349.

Hamada I, DeLong MR (1992) Excitotoxic acid lesions of the primate subthalamic nucleus result in reduced pallidal neuronal activity during active holding. *J Neurophysiol* 68:1859-1866.

Hardman CD, Henderson JM, Finkelstein DI, Horne MK, Paxinos G, Halliday GM (2002) Comparison of the basal ganglia in rats, marmosets, macaques, baboons, and humans: volume and neuronal number for the output, internal relay, and striatal modulating nuclei. *J Comp Neurol* 445:238-255.

Hassani OK, Feger J (1999) Effects of intrasubthalamic injection of dopamine receptor agonists on subthalamic neurons in normal and 6-hydroxydopamine-lesioned rats: an electrophysiological and c-Fos study. *Neuroscience* 92:533-543.

Hassani OK, Francois C, Yelnik J, Feger J (1997) Evidence for a dopaminergic innervation of the subthalamic nucleus in the rat. *Brain Res* 749:88-94.

Hassani OK, Mouroux M, Feger J (1996) Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neuroscience* 72:105-115.

Hazrati LN, Parent A (1992a) Convergence of subthalamic and striatal efferents at pallidal level in primates: an anterograde double-labeling study with biocytin and PHA-L. *Brain Res* 569:336-340.

Hazrati LN, Parent A (1992b) Projection from the deep cerebellar nuclei to the pedunculo-pontine nucleus in the squirrel monkey. *Brain Res* 585:267-271.

Hazrati LN, Parent A (1992c) The striatopallidal projection displays a high degree of anatomical specificity in the primate. *Brain Res* 592:213-227.

Hemsley KM, Farrall EJ, Crocker AD (2002) Dopamine receptors in the subthalamic nucleus are involved in the regulation of muscle tone in the rat. *Neurosci Lett* 317:123-126.

Herrero MT, Levy R, Ruberg M, Javoy-Agid F, Luquin MR, Agid Y, Hirsch EC, Obeso JA (1996a) Glutamic acid decarboxylase mRNA expression in medial and lateral pallidal neurons in the MPTP-treated monkey and patients with Parkinson's disease. *Adv Neurol* 69:209-216.

Herrero MT, Levy R, Ruberg M, Luquin MR, Villares J, Guillen J, Faucheux B, Javoy-Agid F, Guridi J, Agid Y, Obeso JA, Hirsch EC (1996b) Consequence of nigrostriatal denervation and L-dopa therapy on the expression of glutamic acid decarboxylase messenger RNA in the pallidum. *Neurology* 47:219-224.

Hokfelt T, Ungerstedt U (1973) Specificity of 6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurones: an electron and fluorescence microscopic study with special reference to intracerebral injection on the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 60:269-297.

Homs-Ormo S, Coll-Andreu M, Satorra-Marin N, Arevalo-Garcia R, Morgado-Bernal I (2003) Effects of pedunculo-pontine tegmental nucleus lesions on emotional reactivity and locomotion in rats. *Brain Res Bull* 59:495-503.

Inglis WL, Dunbar JS, Winn P (1993) Barbiturate anaesthesia reduces the neurotoxic effects of quinolinate but not ibotenate in the rat pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Neurosci Lett* 156:78-82.

Inglis WL, Winn P (1995) The pedunculo-pontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog Neurobiol* 47:1-29.

Jellinger K (1988) The pedunculo-pontine nucleus in Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51:540-543.

Jeon MF, Ha Y, Cho YH, Lee BH, Park YG, Chang JW (2003) Effect of ipsilateral subthalamic nucleus lesioning in a rat parkinsonian model: study of behavior correlated with neuronal activity in the pedunculo-pontine nucleus. *J Neurosurg* 99:762-767.

Johnson AE, Coirini H, Kallstrom L, Wiesel FA (1994) Characterization of dopamine receptor binding sites in the subthalamic nucleus. *Neuroreport* 5:1836-1838.

Julien R (1997) *Drogen und Psychopharmaka*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg:342-350.

Kaneoke Y, Vitek JL (1996) Burst and oscillation as disparate neuronal properties. *J Neurosci Methods* 68:211-223.

Kang Y, Kitai ST (1990) Electrophysiological properties of pedunculo-pontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra reticulata. *Brain Res* 535:79-95.

Katayama Y, Kasai M, Oshima H, Fukaya C, Yamamoto T, Ogawa K, Mizutani T (2001) Subthalamic nucleus stimulation for Parkinson disease: benefits observed in levodopa-intolerant patients. *J Neurosurg* 95:213-221.

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995) Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18:527-535.

Keating GL, Walker SC, Winn P (2002) An examination of the effects of bilateral excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus on responding to sucrose reward. *Behav Brain Res* 134:217-228.

Kincaid AE, Albin RL, Newman SW, Penney JB, Young AB (1992) 6-Hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal pathway alter the expression of glutamate decarboxylase messenger RNA in rat globus pallidus projection neurons. *Neuroscience* 51:705-718.

Kita H (1992) Responses of globus pallidus neurons to cortical stimulation: intracellular study in the rat. *Brain Res* 589:84-90.

Kita H, Kitai ST (1987) Efferent projections of the subthalamic nucleus in the rat: light and electron microscopic analysis with the PHA-L method. *J Comp Neurol* 260:435-452.

Kita H, Kitai ST (1991) Intracellular study of rat globus pallidus neurons: membrane properties and responses to neostriatal, subthalamic and nigral stimulation. *Brain Res* 564:296-305.

Kitai ST, Deniau JM (1981) Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res* 214:411-415.

Kojima J, Yamaji Y, Matsumura M, Nambu A, Inase M, Tokuno H, Takada M, Imai H (1997) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett* 226:111-114.

Lavoie B, Parent A (1994a) Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *J Comp Neurol* 344:232-241.

Lavoie B, Parent A (1994b) Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the mesopontine tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *J Comp Neurol* 344:190-209.

Lavoie B, Parent A (1994c) Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *J Comp Neurol* 344:210-231.

Levy R, Hazrati LN, Herrero MT, Vila M, Hassani OK, Mouroux M, Ruberg M, Asensi H, Agid Y, Feger J, Obeso JA, Parent A, Hirsch EC (1997) Re-

evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and Parkinsonian states. *Neuroscience* 76:335-343.

Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Broussolle E, Perret JE, Benabid AL (1995) Bilateral subthalamic nucleus stimulation for severe Parkinson's disease. *Mov Disord* 10:672-674.

Limousin P, Pollak P, Hoffmann D, Benazzouz A, Perret JE, Benabid AL (1996) Abnormal involuntary movements induced by subthalamic nucleus stimulation in parkinsonian patients. *Mov Disord* 11:231-235.

Löschmann PA, Schulz JB (1997) Degenerative Erkrankungen der Basalganglien. *Klinische Neurobiologie*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg:245-280.

MacLeod NK, Ryman A, Arbuthnott GW (1990) Electrophysiological properties of nigrothalamic neurons after 6-hydroxydopamine lesions in the rat. *Neuroscience* 38:447-456.

Masuhr KF, Neumann M (1998) *Neurologie*, 4. Auflage. Hippokrates Verlag Stuttgart:189-196.

Matsumura M (2001a) Experimental parkinsonism in primates. *Stereotact Funct Neurosurg* 77:91-97.

Matsumura M, Kojima J (2001b) The role of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in experimental parkinsonism in primates. *Stereotact Funct Neurosurg* 77:108-115.

Mintz I, Hammond C, Guibert B, Leviel V (1986) Stimulation of the subthalamic nucleus enhances the release of dopamine in the rat substantia nigra. *Brain Res* 376:406-408.

Mouroux M, Feger J (1993) Evidence that the parafascicular projection to the subthalamic nucleus is glutamatergic. *Neuroreport* 4:613-615.

Munro-Davies LE, Winter J, Aziz TZ, Stein JF (1999) The role of the pedunculo-pontine region in basal-ganglia mechanisms of akinesia. *Exp Brain Res* 129:511-517.

Murer MG, Riquelme LA, Tseng KY, Pazo JH (1997) Substantia nigra pars reticulata single unit activity in normal and 6OHDA-lesioned rats: effects of intrastriatal apomorphine and subthalamic lesions. *Synapse* 27:278-293.

Nakanishi H, Kita H, Kitai ST (1991) Intracellular study of rat entopeduncular nucleus neurons in an in vitro slice preparation: response to subthalamic stimulation. *Brain Res* 549:285-291.

Nakano K, Hasegawa Y, Tokushige A, Nakagawa S, Kayahara T, Mizuno N (1990) Topographical projections from the thalamus, subthalamic nucleus and pedunculo-pontine tegmental nucleus to the striatum in the Japanese monkey, *Macaca fuscata*. *Brain Res* 537:54-68.

Nambu A, Llinas R (1994) Electrophysiology of globus pallidus neurons in vitro. *J Neurophysiol* 72:1127-1139.

Nambu A, Tokuno H, Hamada I, Kita H, Imanishi M, Akazawa T, Ikeuchi Y, Hasegawa N (2000) Excitatory cortical inputs to pallidal neurons via the subthalamic nucleus in the monkey. *J Neurophysiol* 84:289-300.

Nambu A, Tokuno H, Takada M (2002) Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci Res* 43:111-117.

Nandi D, Aziz TZ, Giladi N, Winter J, Stein JF (2002a) Reversal of akinesia in experimental parkinsonism by GABA antagonist microinjections in the pedunculo-pontine nucleus. *Brain* 125:2418-2430.

Nandi D, Aziz TZ, Liu X, Stein JF (2002b) Brainstem motor loops in the control of movement. *Mov Disord* 17:S22-27.

Ni Z, Bouali-Benazzouz R, Gao D, Benabid AL, Benazzouz A (2000a) Changes in the firing pattern of globus pallidus neurons after the degeneration of nigrostriatal pathway are mediated by the subthalamic nucleus in the rat. *Eur J Neurosci* 12:4338-4344.

Ni ZG, Gao DM, Benabid AL, Benazzouz A (2000b) Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway induces a transient decrease of firing rate with no change in the firing pattern of neurons of the parafascicular nucleus in the rat. *Neuroscience* 101:993-999.

Ni Z, Gao D, Bouali-Benazzouz R, Benabid AL, Benazzouz A (2001a) Effect of microiontophoretic application of dopamine on subthalamic nucleus neuronal activity in normal rats and in rats with unilateral lesion of the nigrostriatal pathway. *Eur J Neurosci* 14:373-381.

Ni ZG, Bouali-Benazzouz R, Gao DM, Benabid AL, Benazzouz A (2001b) Time-course of changes in firing rates and firing patterns of subthalamic nucleus neuronal activity after 6-OHDA-induced dopamine depletion in rats. *Brain Res* 899:142-147.

Noda T, Oka H (1984) Nigral inputs to the pedunculo-pontine region: intracellular analysis. *Brain Res* 322:332-336.

Nomura S, Mizuno N, Sugimoto T (1980) Direct projections from the pedunculo-pontine tegmental nucleus to the subthalamic nucleus in the cat. *Brain Res* 196:223-227.

Orieux G, Francois C, Feger J, Hirsch EC (2002) Consequences of dopaminergic denervation on the metabolic activity of the cortical neurons projecting to the subthalamic nucleus in the rat. *J Neurosci* 22:8762-8770.

Orieux G, Francois C, Feger J, Yelnik J, Vila M, Ruberg M, Agid Y, Hirsch EC (2000) Metabolic activity of excitatory parafascicular and pedunculo-pontine inputs to the subthalamic nucleus in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience* 97:79-88.

Pan HS, Walters JR (1988) Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decreases the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. *Synapse* 2:650-656.

Parent A, Smith Y (1987) Differential dopaminergic innervation of the two pallidal segments in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Brain Res* 426:397-400.

Parry TJ, Eberle-Wang K, Lucki I, Chesselet MF (1994) Dopaminergic stimulation of subthalamic nucleus elicits oral dyskinesia in rats. *Exp Neurol* 128:181-190.

Paxinos G, Watson C (1996) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press San Diego.

Perry E, Walker M, Grace J, Perry R (1999) Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends Neurosci* 22:273-280.

Piallat B, Benazzouz A, Benabid AL (1996) Subthalamic nucleus lesion in rats prevents dopaminergic nigral neuron degeneration after striatal 6-OHDA injection: behavioural and immunohistochemical studies. *Eur J Neurosci* 8:1408-1414.

Pisani A, Bonsi P, Centonze D, Calabresi P, Bernardi G (2000) Activation of D2-like dopamine receptors reduces synaptic inputs to striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 20:RC69.

Plenz D, Kital ST (1999) A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature* 400:677-682.

Porrino LJ, Burns RS, Crane AM, Palombo E, Kopin IJ, Sokoloff L (1987) Changes in local cerebral glucose utilization associated with Parkinson's syndrome induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the primate. *Life Sci* 40:1657-1664.

Raz A, Feingold A, Zelanskaya V, Vaadia E, Bergman H (1996) Neuronal synchronization of tonically active neurons in the striatum of normal and parkinsonian primates. *J Neurophysiol* 76:2083-2088.

Robledo P, Feger J (1990) Excitatory influence of rat subthalamic nucleus to substantia nigra pars reticulata and the pallidal complex: electrophysiological data. *Brain Res* 518:47-54.

Rodriguez-Oroz MC, Gorospe A, Guridi J, Ramos E, Linazasoro G, Rodriguez-Palmero M, Obeso JA (2000) Bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Neurology* 55:S45-51.

Rugg EL, Dunbar JS, Latimer M, Winn P (1992) Excitotoxic lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus of the rat. I. Comparison of the effects of various excitotoxins, with particular reference to the loss of immunohistochemically identified cholinergic neurons. *Brain Res* 589:181-193.

Rye DB, Saper CB, Lee HJ, Wainer BH (1987) Pedunculo-pontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the meso-pontine tegmentum. *J Comp Neurol* 259:483-528.

Sanderson P, Mavoungou R, Albe-Fessard D (1986) Changes in substantia nigra pars reticulata activity following lesions of the substantia nigra pars compacta. *Neurosci Lett* 67:25-30.

Scarnati E, Campana E, Pacitti C (1984) Pedunculo-pontine-evoked excitation of substantia nigra neurons in the rat. *Brain Res* 304:351-361.

Scherer-Singler U, Vincent SR, Kimura H, McGeer EG (1983) Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry. *J Neurosci Methods* 9:229-234.

Shink E, Sidibe M, Smith Y (1997) Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey: II. Topography and synaptic organization of pallidal efferents to the pedunculo-pontine nucleus. *J Comp Neurol* 382:348-363.

Smith AD, Bolam JP (1990) The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones. *Trends Neurosci* 13:259-265.

Smith Y, Kieval JZ (2000) Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends Neurosci* 23:S28-33.

Smith Y, Parent A (1988) Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain Res* 453:353-356.

Smith Y, Wichmann T, DeLong MR (1994) Synaptic innervation of neurones in the internal pallidal segment by the subthalamic nucleus and the external pallidum in monkeys. *J Comp Neurol* 343:297-318.

Soghomonian JJ, Chesselet MF (1992) Effects of nigrostriatal lesions on the levels of messenger RNAs encoding two isoforms of glutamate decarboxylase

in the globus pallidus and entopeduncular nucleus of the rat. *Synapse* 11:124-133.

Spann BM, Grofova I (1989) Origin of ascending and spinal pathways from the nucleus tegmenti pedunculopontinus in the rat. *J Comp Neurol* 283:13-27.

Steininger TL, Rye DB, Wainer BH (1992) Afferent projections to the cholinergic pedunculopontine tegmental nucleus and adjacent midbrain extrapyramidal area in the albino rat. I. Retrograde tracing studies. *J Comp Neurol* 321:515-543.

Stolze H, Klebe S, Poepping M, Lorenz D, Herzog J, Hamel W, Schrader B, Raethjen J, Wenzelburger R, Mehdorn HM, Deuschl G, Krack P (2001) Effects of bilateral subthalamic nucleus stimulation on parkinsonian gait. *Neurology* 57:144-146.

Takada M, Matsumura M, Kojima J, Yamaji Y, Inase M, Tokuno H, Nambu A, Imai H (2000) Protection against dopaminergic nigrostriatal cell death by excitatory input ablation. *Eur J Neurosci* 12:1771-1780.

Takada M, Nishihama MS, Nishihama CC, Hattori T (1988) Two separate neuronal populations of the rat subthalamic nucleus project to the basal ganglia and pedunculopontine tegmental region. *Brain Res* 442:72-80.

Takakusaki K, Shiroyama T, Yamamoto T, Kitai ST (1996) Cholinergic and non-cholinergic tegmental pedunculopontine projection neurons in rats revealed by intracellular labeling. *J Comp Neurol* 371:345-361.

Tortorolo P, Morales FR, Chase MH (2002) GABAergic mechanisms in the pedunculopontine tegmental nucleus of the cat promote active (REM) sleep. *Brain Res* 944:1-9.

Tseng KY, Riquelme LA, Belforte JE, Pazo JH, Murer MG (2000) Substantia nigra pars reticulata units in 6-hydroxydopamine-lesioned rats: responses to striatal D2 dopamine receptor stimulation and subthalamic lesions. *Eur J Neurosci* 12:247-256.

Vila M, Levy R, Herrero MT, Faucheux B, Obeso JA, Agid Y, Hirsch EC (1996) Metabolic activity of the basal ganglia in parkinsonian syndromes in human and non-human primates: a cytochrome oxidase histochemistry study. *Neuroscience* 71:903-912.

Vila M, Perier C, Feger J, Yelnik J, Faucheux B, Ruberg M, Raisman-Vozari R, Agid Y, Hirsch EC (2000) Evolution of changes in neuronal activity in the subthalamic nucleus of rats with unilateral lesion of the substantia nigra assessed by metabolic and electrophysiological measurements. *Eur J Neurosci* 12:337-344.

Vincent SR, Kimura H (1992) Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* 46:755-784.

Wichmann T, Bergman H, DeLong MR (1994a) The primate subthalamic nucleus. I. Functional properties in intact animals. *J Neurophysiol* 72:494-506.

Wichmann T, Bergman H, DeLong MR (1994b) The primate subthalamic nucleus. III. Changes in motor behavior and neuronal activity in the internal pallidum induced by subthalamic inactivation in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 72:521-530.

Wilson CJ, Chang HT, Kitai ST (1990) Firing patterns and synaptic potentials of identified giant aspiny interneurons in the rat neostriatum. *J Neurosci* 10:508-519.

Winn P, Brown VJ, Inglis WL (1997) On the relationships between the striatum and the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Crit Rev Neurobiol* 11:241-261.

Wolf NJ, Butcher LL (1986) Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Res Bull* 16:603-637.

Zweig RM, Jankel WR, Hedreen JC, Mayeux R, Price DL (1989) The pedunculo-pontine nucleus in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 26:41-46.

## 9. Veröffentlichung

Teile der Ergebnisse dieser Doktorarbeit sind veröffentlicht worden:

Breit S\*, Lessmann L\*, Benazzouz A, Schulz JB (2005) Unilateral lesion of the pedunculo-pontine nucleus induces hyperactivity in the subthalamic nucleus and in the substantia nigra in the rat. Eur J Neurosci 22:2283-2294.

\*gemeinsame Erstautorschaft

## 10. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei all denjenigen bedanken, die auf unterschiedlichste Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. J. B. Schulz danke ich für die Überlassung des Themas sowie die freundliche und überaus engagierte Unterstützung, die ich durch ihn in jeder Phase der Erstellung dieser Doktorarbeit erfahren habe. Bei Dr. S. Breit möchte ich mich für die vertrauensvolle Zusammenarbeit und für die intensive Betreuung bedanken. Der gesamten AG Neurodegeneration danke ich für die methodischen Hilfestellungen sowie für die gute Arbeitsatmosphäre. Annette Martin war mir bei dieser Arbeit eine besondere Stütze. Gemeinsam lösten wir viele Probleme, vorwiegend im Zusammenhang mit der Methodenetablierung. Für die äußerst nette Kooperation bin ich ihr sehr dankbar. Der AG Thier danke ich für die freundliche Erlaubnis zur Mitbenutzung von Räumlichkeiten und Geräten sowie für die große Hilfsbereitschaft bei allen elektrophysiologischen Problemen. Bei meinem Mann bedanke ich mich ganz herzlich für die unersetzlichen aufmunternden Worte wann immer sie nötig waren und für die Hilfestellungen bei Computerproblemen aller Art.

Ein besonderer Dank gilt jedoch meinen Eltern, auf deren Unterstützung ich mich jederzeit verlassen konnte. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

## 11. Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Linda Maria Leßmann, geb. Selten  
Geburtsdatum: 10. Januar 1980  
Geburtsort: Böblingen  
Eltern: Gerhard Selten und Gudrun Selten, geb. Thunberg

### Ausbildung:

August 1986 - Juli 1990      Grundschule Königsknoll in Sindelfingen  
August 1990 - Juni 1999      Stiftsgymnasium Sindelfingen, Allgemeine Hochschulreife  
Oktober 1999 - Mai 2006      Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
März 2003                      Annahme der vorliegenden Promotion an der Abteilung für Neurologie des Universitätsklinikums Tübingen  
12. Mai 2006                    Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung