

# **Modulation der Basalganglienaktivität durch Tiefe Hirnstimulation**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Schäuffele, Ruven

2016

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. S. Breit  
2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Schwarz

meiner Familie

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Allgemein .....	1
1.1.1	Epidemiologie .....	1
1.1.2	Einteilung in 4 Gruppen von Parkinson-Syndromen .....	2
1.1.3	Genetischer Hintergrund des Parkinson-Syndroms.....	3
1.2	Symptome .....	4
1.3	Diagnosestellung.....	5
1.4	Pathophysiologie.....	5
1.4.1	Substantia nigra pars compacta (SNc) .....	8
1.4.2	Putamen und Striatum .....	8
1.4.3	Lateraler Globus pallidus (LGP).....	8
1.4.4	Nucleus subthalamicus (STN) .....	9
1.4.5	Substantia nigra pars reticulata (SNr).....	9
1.4.6	Medialer Globus pallidus (MGP).....	9
1.5	Tiermodelle .....	10
1.5.1	6-Hydroxydopamin-Modell (6-OHDA).....	10
1.5.2	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin (MPTP) .....	10
1.6	Therapiemöglichkeiten .....	10
1.7	Medikamentöse Therapie.....	10
1.7.1	Dopamin / L-Dopa.....	11
1.7.2	Dopaminagonisten.....	11
1.7.3	Abbauhemmung (MAO-Hemmer, COMT-Hemmer).....	11
1.7.4	Amantadin (Unklarer Wirkmechanismus) .....	12
1.7.5	Anticholinergika .....	12
1.8	Interventionelle Therapien bei Parkinson-Syndromen.....	12

1.8.1	Läsionieren .....	12
1.8.2	Tiefe Hirnstimulation (DBS) .....	13
1.9	Fragestellung .....	17
2	Material und Methoden .....	18
2.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen.....	18
2.2	Hardware.....	18
2.2.1	Stimulationselektrode .....	18
2.2.2	Ableitungselektroden .....	19
2.2.3	Mikromotor independent-4 „i4“ .....	19
2.2.4	Verstärker ARIS-22.....	20
2.3	Versuchsaufbau .....	21
2.4	Software Neuro-Guide.....	25
2.5	In vivo Versuche an Ratten .....	25
2.6	Tiefe Hirnstimulation und elektrophysiologische Ableitung.....	27
2.7	Perfusion und Gehirnpräparation .....	28
2.7.1	Herstellung der benötigten Lösungen .....	28
2.8	Histologie .....	29
2.9	Signalanalyse.....	30
2.9.1	Signalverhalten random.....	30
2.9.2	Signalverhalten tonic .....	32
2.9.3	Signalverhalten bursting .....	33
2.10	Statistik .....	34
3	Ergebnisse.....	35
3.1	Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten der SNr.....	35
3.2	Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten des MGP .....	37
3.3	Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten des LGP .....	40

3.4	Histologische Kontrolle.....	43
4	Diskussion .....	45
4.1	Modulation der SNr-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation .....	45
4.2	Modulation der MGP-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation ...	46
4.3	Modulation der LGP-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation ....	47
5	Zusammenfassung.....	49
6	Literaturverzeichnis .....	50
7	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift .....	58
8	Danksagung .....	59
9	Lebenslauf .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

## Abkürzungsverzeichnis

μA	Mikroampère
μm	Mikrometer
6-OHDA	6-Hydroxydopamin
ACh	Acetylcholin
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome
ATP13A2	Probable cation-transporting ATPase 13A2
CNC	Computerized Numerical Control
COMPARE	Cognition and Mood in Parkinson Disease
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CSP 468	Cooperative Studies Program 468
CV-ISI	Coefficient of variation of interspike-intervall
DBS	Deep brain stimulation, Tiefe Hirnstimulation,
ET	Essentieller Tremor
FBX07	F-box only protein 7
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
Glu	Glutamat
HD	Huntington Disease, Chorea Huntington
HFS	Hochfrequenz-Stimulation
Hz	Hertz
i4	Independent 4
IPS	Idiopathisches Parkinson-Syndrom
IVC	Isolated ventilated cage-system
LGP / GPe	Lateraler Globus Pallidus / globus pallidus externus
LRRK2	Leucine-rich repeat kinase 2
MAO	Mono-Aminooxidase
MDS	Movement disorder society
MGP / GPi	Medialer Globus Pallidus / globus pallidus internus
MPPP	1-Methyl-4-Phenyl-4-Propion-oxy-Piperidin
MPTP	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine
NSTAPS	Subthalamic nucleus versus globus pallidus bilateral deep brain stimulation for advanced Parkinson's disease
PARK 1-17	Genorte der Parkinson Erkrankung
PARK-DJ1	Protein-DJ1
PBS	Phosphate buffered saline, Phosphat-gepufferte Salzlösung
PD	Parkinson disease, Morbus Parkinson
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
PFA	Paraformaldehyd
PINK1	PTEN-induced putative kinase 1
PS	Parkinson-Syndrom
SLC6A3	Sodium-dependent dopamine transporter
SNc	Substantia nigra pars compacta
SNCA	Alpha-Synuclein
SNr	Substantia nigra pars reticulata

STN	Nucleus subthalamicus
TAF1	Transcription initiation factor TFIID subunit 1
UPDRS	Unified Parkinson's Disease Rating Scale
VA	Nucleus ventralis anterior
VIM	Ventraler intermediärer Thalamus
VLa	anterior ventral lateral nucleus of thalamus
VPS35	Vacuolar protein sorting-associated protein 35



# **1 Einleitung**

## **1.1 Allgemein**

Die Parkinson'sche Erkrankung (PD – Parkinson disease) ist eine chronisch progrediente neurodegenerative Erkrankung. Sie wurde erstmals 1817 vom englischen Arzt James Parkinson beschrieben. In seiner Veröffentlichung „An essay on the Shaking Palsy“ beschrieb er die noch heute geltenden klassischen Symptome Rigor, Tremor, Akinese und posturale Instabilität an 6 Patienten<sup>1</sup>. Hinzu kommen weitere Begleitsymptome wie sensorische Symptome (Dysästhesien, Schmerzen, Hyposmie), vegetative Symptome (Störungen von Blutdruck, Temperaturregulation, Blasen- und Darmfunktion sowie sexuelle Funktionen), psychische Symptome (v.a. Depression), Schlafstörungen, kognitive Symptome (frontale Störungen, im fortgeschrittenen Stadium Demenz).

### **1.1.1 Epidemiologie**

Die Erkrankung tritt in allen Altersstufen auf, wobei die späte Form deutlich überwiegt. Die juvenile Form (juvenile-onset PD) tritt vor dem 20. Lebensjahr in Erscheinung, die frühe Form (early-onset PD) vor dem 50. Lebensjahr und die späte Form (late-onset) tritt nach dem 50. Lebensjahr auf.

Die Inzidenz der Erkrankung beträgt ca. 150 Fälle pro 100.000 Einwohner. Die Prävalenz (altersabhängig) liegt bei 65-jährigen bei 0,6% und steigt bis auf 2,6% bei 85-jährigen an<sup>2</sup>. In Anbetracht des demografischen Wandels wird in der westlichen Bevölkerung ein Anstieg auf das Vierfache in den nächsten 20 Jahren erwartet.

### **1.1.2 Einteilung in 4 Gruppen von Parkinson-Syndromen**

Die Parkinson-Syndrome können in 4 Hauptgruppen eingeteilt werden (nach der deutschen Gesellschaft für Neurologie, aktuell gültige Einteilung seit 2012)

#### *1. Idiopathisches Parkinson-Syndrom, ca. 75% aller Parkinson-Syndrome (PS)*

- Akinetisch-rigider Typ
- Äquivalenz-Typ
- Tremordominanz-Typ
- Monosymptomatischer Ruhetremor (selten)

#### *2. Genetische Formen des PS*

#### *3. PS im Rahmen anderer neurodegenerativer Erkrankungen (atypische PS)*

- Multisystematrophie
  - Parkinson-Typ
  - zerebellärer Typ
- Demenz vom Lewy-Körper-Typ
- Progressive supranukleäre Blickparese
- Kortikobasale Degeneration

#### *4. Symptomatische (sekundäre) PS*

- Medikamenteninduziert
  - Klassische Neuroleptika, Antiemetika, Reserpin
  - Lithium
  - Kalziumantagonisten: Cinnarizin, Flunarizin
  - Valproinsäure
- Tumorbedingt
- Posttraumatisch
- Toxininduziert (Kohlenmonoxid, Mangan)
- Entzündlich (AIDS-Enzephalopathie, seltene Enzephalitiden)
- Metabolisch (M. Wilson, Hypoparathyreoidismus)

Die Einteilung erfolgt nach Hoehn und Yahr aus dem Jahr 1967<sup>3</sup> und beschreibt die klinische Beeinträchtigung. Seit 1987 existiert eine modifizierte Hoehn und Yahr Skala, die eine detailliertere Einteilung zulässt. Heutzutage wird die

Einteilung meistens mit Hilfe der Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) durchgeführt. Diese wurde von der Movement disorder society (MDS) noch genauer spezifiziert als MDS-UPDRS<sup>4</sup>. Sie wird zur Verlaufsbeurteilung herangezogen und ist unterteilt in folgende Bereiche: Kognitive Funktionen, Verhalten und Stimmung, Aktivitäten des täglichen Lebens, motorische Untersuchung. Durch Befragung des Patienten werden 0 bis 199 Punkte vergeben: 0 Punkte bedeutet keine Behinderung, 199 Punkte bedeutet maximale Einschränkung für den Patienten.

### ***1.1.3 Genetischer Hintergrund des Parkinson-Syndroms***

Es lassen sich mittlerweile viele genetische Ursachen für die Erkrankung nachweisen. Marras et al<sup>5</sup> hatten dies 2012 als Nomenklaturvorschlag zusammengefasst: Es gibt hierbei autosomal-dominante, autosomal-rezessive sowie X-chromosomale Erbgänge, die jeweils unterschiedliche Proteine kodieren und als Ursache für die Heterogenität der Parkinson'schen Erkrankung verantwortlich sind (Tabelle 1).

Tabelle 1: genetischer Hintergrund der erblichen Parkinson-Krankheit

Genform	Gen- lokus	Gen	Häufig- keit	Nomen- klatur- vorschlag (Marras et al 2012 <sup>5</sup> )	Protein
auto- somal dominant	PARK1	<i>SNCA</i> <sup>6</sup>	Selten	PARK-SNCA	Alpha-Synuclein
	PARK8	<i>LRRK2</i> <sup>7-9</sup>	1%-2%	PARK- LRRK2	Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2
	PARK17	<i>VPS35</i> <sup>10-14</sup>	Selten	PARK- VPS35	Vacuolar protein sorting- associated protein 35
auto- somal rezessiv	PARK2	<i>PARK2</i> <sup>15</sup>	1%	PARK- PARKIN	Parkin
	PARK6	<i>PINK1</i> <sup>16,17</sup>	Selten	PARK-PINK1	Serine/threonine-protein kinase PINK1
	PARK7	<i>PARK7</i> <sup>18</sup>	Selten	PARK-DJ1	Protein DJ-1
	PARK9	<i>ATP13A2</i> <sup>19</sup>	Selten	PARK- ATP13A2	Probable cation- transporting ATPase 13A2
	PARK15	<i>FBX07</i> <sup>20,21</sup>	Selten	PARK- FBX07	F-box only protein 7
	SLC6A3	<i>SLC6A3</i> <sup>22</sup>	Selten	None	Sodium-dependent dopamine transporter
X- chromo- somal	PARK12	<i>TAF</i> <sup>123,24</sup>	Selten	DYT/TAF1	Transcription initiation factor TFIID subunit 1

## 1.2 Symptome

Als erster Hinweis auf eine eventuell spätere Erkrankung kann eine Reduktion des Riechvermögens hindeuten<sup>25,26</sup>. Dieses Symptom ist häufig die Erstmanifestation der Erkrankung, bleibt jedoch oft nicht diagnostiziert. Die Bradykinese / Akinese stellt eines der Hauptsymptome (Minussymptome) dar. Hierdurch kommt es zu einer deutlichen Verlangsamung bei der Bewegungsinitiierung. Der Tremor (Plussymptomatik) beginnt meist

asymmetrisch und bleibt im Krankheitsverlauf häufig einseitig verstärkt. Er tritt in Ruhe auf und hat eine Frequenz von ca. 5 Hz. Neben dem Rigor (Plussyptomatik) kommen oft gestörte Stellreflexe (posturale Instabilität) hinzu.

### **1.3 Diagnosestellung**

Die Diagnose wird klinisch gestellt. Als Untermauerung dieser gelten das asymmetrische Auftreten der Symptome und das gute Ansprechen auf die Gabe von Levodopa oder Apomorphin.

### **1.4 Pathophysiologie**

Bei dieser neurodegenerativen Erkrankung gehen dopaminerge Zellen in der Substantia nigra pars compacta (SNc) unter<sup>27-29</sup>. Zusätzlich lagern sich pathologische Lewy-Körperchen in der Substantia nigra ab, welche für die Erkrankung pathognomonisch sind. Hierbei handelt es sich um intrazytoplasmatische Proteinaggregate in der SNc.

Pathophysiologisch besteht durch den Untergang der dopaminergen Zellen ein Ungleichgewicht zwischen den Neurotransmittern Dopamin und Acetylcholin<sup>30,31</sup>. Der Mangel an Dopamin ist verantwortlich für die Minus-symptome (Hypo-/Akinese) und die gestörten Stellreflexe, der Überschuss an Acetylcholin (ACh) löst die Plussyptome (Tremor und Rigor) aus. Weiter können noch andere Bahn- und Transmittersysteme betroffen sein<sup>32,33</sup>, welche in wechselnder Ausprägung Schlafstörungen, Antriebsstörungen, Gedächtnisstörungen, vegetative Störungen und Depressionen hervorrufen.

Zum Verständnis der Parkinson'schen Erkrankung wurde von Alexander und DeLong ein Basalganglienmodell entwickelt (Abbildung 1).

Diese anatomische und funktionelle Basalganglienschleife wurde schon mehrfach erforscht und beschrieben<sup>34-36</sup>. Insgesamt 5 verschiedene Schleifen werden beschrieben, welche die Information vom Kortex verarbeiten und dorthin zurückgeben. Neben der motorischen Schleife existieren zwei assoziative Schleifen sowie eine okulomotorische und eine limbische Schleife<sup>34</sup>.

Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der motorischen Schleife. Hierbei spielt der Nucleus subthalamicus (STN) eine entscheidende Rolle<sup>37</sup>. Die Grundlagen für das Modell (siehe Abbildung 1) wurde an experimentellen Tierstudien Ende der 80er Jahre entwickelt. Dieses Modell kann einen Teil der motorischen Symptome des IPS (idiopathisches Parkinson-Syndrom) erklären<sup>34,35</sup>. Insbesondere die motorische Schleife, ist für das Verständnis der kardinalen Merkmale des IPS von essentieller Bedeutung.

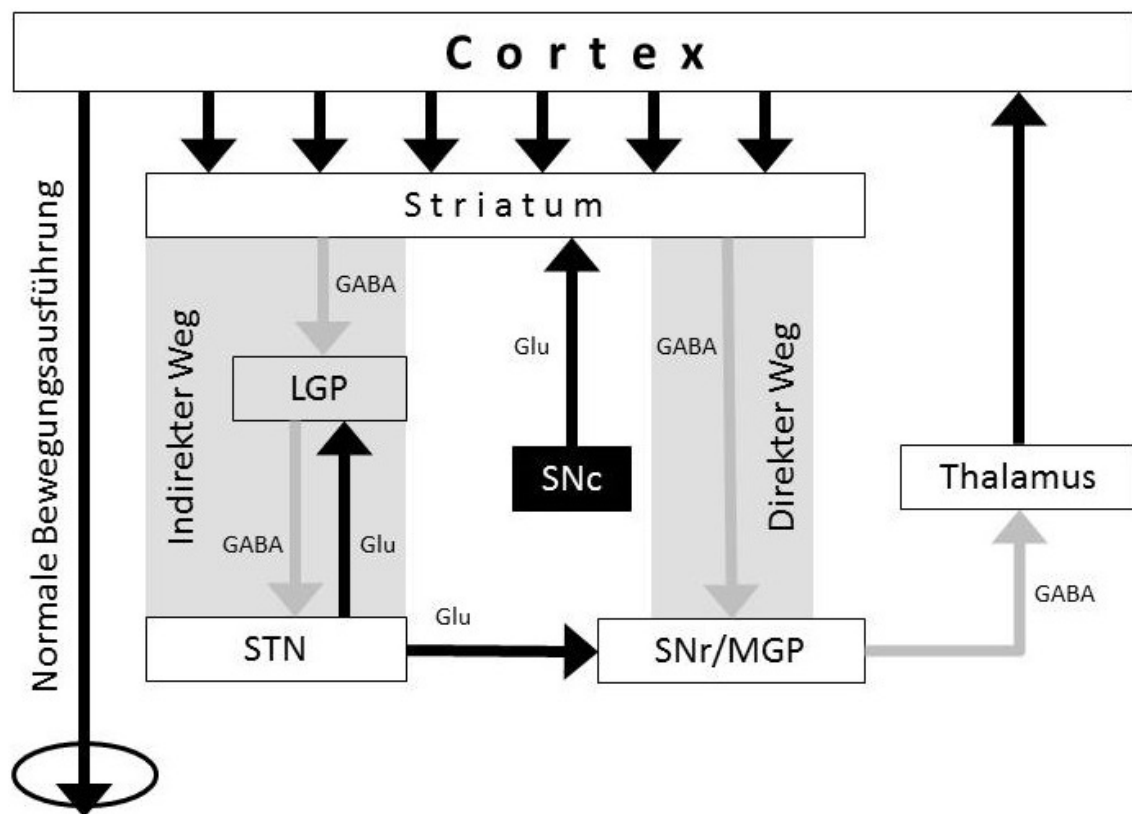


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Basalganglien-Thalamokortikalen-Kreislaufs nach Alexander und DeLong, (Basalganglienmodell) im Normalzustand. Die exzitatorische Übertragung ist hier schwarz dargestellt.

Unter Zuhilfenahme der Abbildung 1 wird deutlich, dass die exzitatorische Übertragung (hier schwarz dargestellt) via Glutamat (Glu) erfolgt. Es gibt einen direkten und indirekten Weg. Im direkten Weg wird ohne Zwischenkerne (monosynaptisch) über GABA die striatale Erregung zu den Ausgangskernen SNr und MGP weitergeleitet. Über den indirekten Weg wird die Erregung über GABAerge Verbindungen zum LGP geleitet, der seinerseits mittels GABAergen Projektionen die Information zum STN weiterleitet. Der STN projiziert über

glutamaterge Synapsen zu den Ausgangsstrukturen (SNr/MGP)<sup>38-41</sup>. Hierbei wirkt die nigrostriatale Bahn der SNc modulierend auf das Striatum. Sie aktiviert über D<sub>1</sub>-Rezeptoren die Neurone des direkten Pfades und hemmt über D<sub>2</sub>-Rezeptoren die Neurone des indirekten Pfades. Durch diesen dualen Mechanismus lässt sich die Entstehung des Parkinson-Syndroms erklären. Im Parkinsonzustand (Abbildung 2) degenerieren in der SNc die dopaminergen Neurone. Das Dopamindefizit führt über eine Kaskade von Aktivitätsänderungen zu einer gesteigerten neuronalen Aktivität des STN und folglich der Ausgangsstrukturen MGP/SNr<sup>42,43</sup>. Als Folge dessen werden der Thalamus mit seinen thalamokortikalen Projektionen und die Kerngebiete des Hirnstamms gehemmt. Somit kommt es zur Hemmung der Bewegungsinitiierung und korrekten Bewegungskontrolle, was für die Bradykinese (Kardinalsymptom) ursächlich ist.

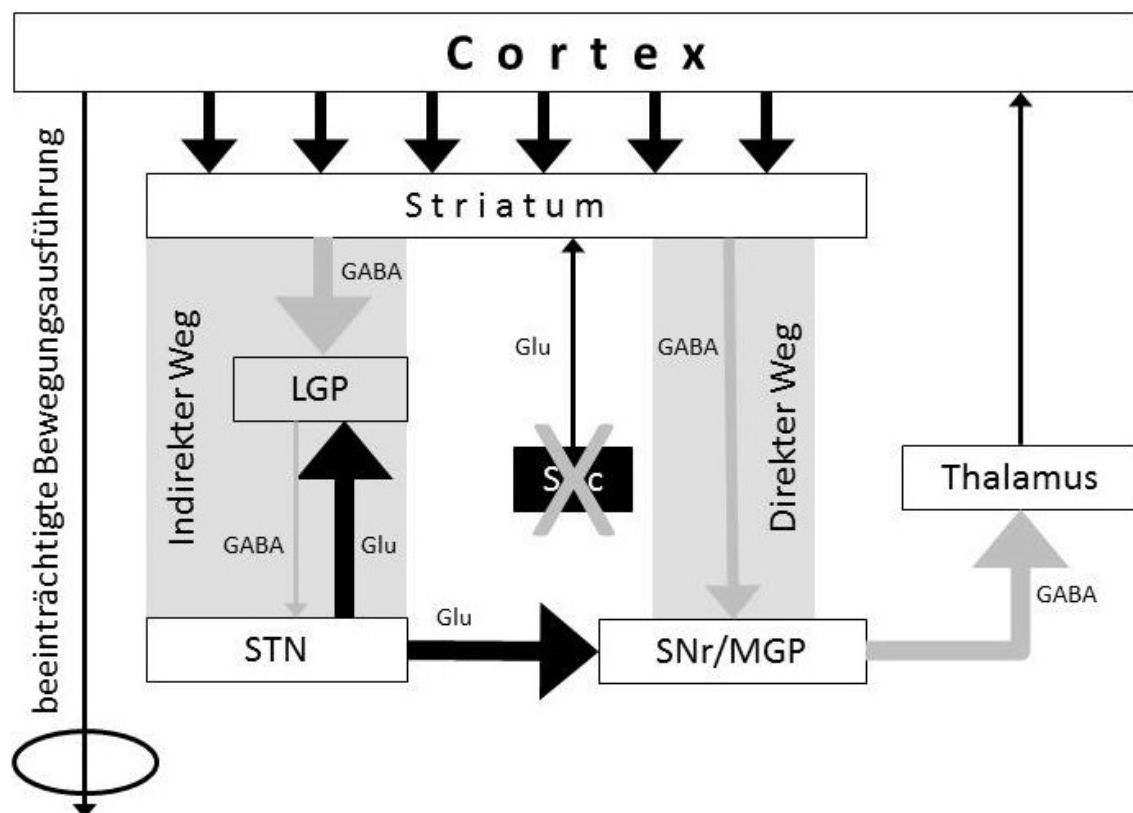


Abbildung 2: Basalganglienmodell nach Alexander und DeLong im Parkinsonzustand (Degeneration oder Läsion der SNc). Die verdickten Pfeile symbolisieren die efferenten Projektionen der hyperaktiven / hypoaktiven Kerngebiete.

Im Folgenden wird auf die Kerne im Genauen eingegangen:

#### **1.4.1 *Substantia nigra pars compacta (SNc)***

Die Substantia nigra pars compacta innerviert den Nucleus subthalamicus (STN), das Striatum, sowie beide Kerngebiete des Globus pallidus (GPi / MGP und GPe / LGP)<sup>44</sup>. Bei der SNc handelt es sich um den dopaminergen Anteil der Substantia nigra. Die Signalübertragung geschieht mittels verschiedener Dopaminrezeptoren, insbesondere D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren<sup>45</sup>. Alexander und Crutcher zeigten 1990, dass die D<sub>1</sub>-Rezeptoren zu einer Aktivierung der GABAergen Striatumneurone führen und die D<sub>2</sub>-Rezeptoren eine inhibitorische Wirkung vermitteln<sup>34</sup>.

#### **1.4.2 *Putamen und Striatum***

Das Putamen und der Nucleus caudatus hängen bereits in der frühen embryonalen Entwicklung zusammen. Im Verlauf der embryonalen Entwicklung werden sie durch das Durchwachsen der Capsula interna morphologisch getrennt, sind aber noch durch feine Streifen mit grauer Hirnsubstanz verbunden und werden deshalb zusammen als Streifkörper (Striatum) bezeichnet.

Das Striatum bildet die Haupteingangsstruktur der Basalganglien und hat mindestens sechs unterschiedliche Populationen an Neuronen, wovon die meisten GABAerg sind und in den MGP / SNr projizieren (direkter Weg). Der indirekte Weg läuft über den LGP und den STN.

#### **1.4.3 *Lateraler Globus pallidus (LGP)***

Es gibt eine unterschiedliche Nomenklatur zwischen den verschiedenen Spezies. Dem Globus pallidus externus (GPe) des Primaten entspricht bei der Ratte der laterale Globus pallidus (LGP). Dieser hat mehrere Neurone<sup>46</sup>, die alle inhibitorisch wirken. Inhibitorische Afferenzen kommen aus dem Striatum, sowie exzitatorische Afferenzen aus dem STN. Über beide Kerne kann der Kortex Einfluss auf den LGP nehmen<sup>47</sup>. Es zeigt sich eine topografische Organisation der striatopallidalen Projektionen<sup>48</sup>.



#### **1.4.4 Nucleus subthalamicus (STN)**

Der STN enthält glutamaterge Neurone<sup>49</sup> und ist hiermit die einzige exzitatorisch wirkende Struktur der Basalganglien. Der Kern ist mit dem LGP reziprok in Verbindung und bildet somit ein Netzwerk, das die Fähigkeit besitzt als „Schrittmacher der Basalganglien“ zu wirken<sup>50</sup>. Kommen bei der Modulation der rhythmogenen Eigenschaften Fehler vor, kann dies zur Genese des Tremors bei Parkinson-Patienten beitragen<sup>51</sup>. Zusätzlich erhält der STN inhibitorische Afferenzen vom Striatum. Hierdurch kann man den STN neben dem Striatum als weitere Eingangsstruktur der Basalganglien ansehen<sup>52</sup>. Der STN steht zudem in wechselseitiger Verbindung mit der Substantia nigra pars compacta (SNc). Durch vermehrte Aktivität kann die Dopaminausschüttung in der SNc erhöht werden. In der Studie von Hassani et al<sup>53</sup> konnte eine Hypoaktivität im STN nachgewiesen werden, nachdem er eine Dopaminagonist-Infusion am Untersuchungsobjekt infundierte. Die Gruppe von Hemsley<sup>54</sup> konnte eine Tonuserhöhung der Muskulatur beobachten, als er in den STN Dopamin injizierte, was für eine inhibitorische Wirkung von Dopamin auf den STN spricht. Die Wirkung ist dem Parkinson-Syndrom ähnlich.

Weitere Efferenzen vom STN gehen zu den Ausgangskernen der Basalganglien (SNr und MGP). Als Transmitter ist hierbei das erregende Glutamat (Glu) wirksam.

#### **1.4.5 Substantia nigra pars reticulata (SNr)**

Die SNr ist ein wichtiger Ausgangskern der Basalganglien im Mesencephalon. Afferente Neurone kommen vom Striatum und vom Nucleus subthalamicus. Die eingehenden Informationen werden an den Thalamus mittels GABA weitergegeben. Hierdurch kommt es zu einer verstärkten oder abgeschwächten Hemmung des Thalamus<sup>34</sup>. Weiter projiziert die SNr auch zum Colliculus superior<sup>55</sup>.

#### **1.4.6 Medialer Globus pallidus (MGP)**

Der MGP ist eine weitere Ausgangsstruktur der Basalganglien. Er inhibiert den Thalamus direkt über GABA<sup>34</sup>.

## **1.5 Tiermodelle**

Zur Erforschung des Parkinson-Syndroms wurden zwei wichtige Tiermodelle entwickelt, bei denen die Parkinson-Symptome gezielt ausgelöst werden.

### **1.5.1 6-Hydroxydopamin-Modell (6-OHDA)**

Bei dem 6-Hydroxydopamin-Modell (6-OHDA-Modell)<sup>56</sup> wird gezielt in die Substantia nigra 6-OHDA injiziert. Hierdurch wird eine Degeneration der nigrostriatalen Neurone ausgelöst, was wiederum Parkinson-Symptome hervorruft. Dieses Modell gilt als Grundlage der Parkinsonforschung an Ratten und Mäusen.

### **1.5.2 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin (MPTP)**

Lange Zeit hatte man kein geeignetes Modell für die Erklärung und Erforschung des Parkinson-Syndroms im Jahr 1982 traten vermehrt die typischen Parkinsonsymptome an jungen Menschen auf. Man fand heraus, dass diese Symptomatik nach Injektion von synthetischem Heroin (MPPP: 1-Methyl-4-phenyl-4-propion-oxy-piperidin), das durch MPTP (1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridin) verunreinigt war, entstand. Basierend auf dieser Erkenntnis wurde ein MPTP-Affenmodell entwickelt, um die Parkinson'sche Erkrankung gründlicher zu erforschen. Durch systemisches Verabreichen des Neurotoxins MPTP im Tierversuch konnte man Parkinson-Symptome hervorrufen<sup>57-60</sup>. MPTP hemmt die mitochondriale Atmungskette der dopaminergen Zellen in der Substantia nigra (SNr) und führt zur Apoptose<sup>61-63</sup>.

## **1.6 Therapiemöglichkeiten**

Die Therapie des IPS ist heutzutage nur symptomatisch möglich. Der Start der medikamentösen Therapie wird meist dadurch eingeleitet, dass der Patient in seinen alltäglichen Aktivitäten stark eingeschränkt ist.

## **1.7 Medikamentöse Therapie**

Als Ziel versucht man das Ungleichgewicht der Transmitter Acetylcholin und Dopamin wieder herzustellen. Aufgrund der längerfristig auftretenden Nebenwirkungen wie Dyskinesien und On-/Off-Phänomene (plötzlicher Wechsel zwischen Unbeweglichkeit und guter Beweglichkeit) spielt das Alter des

Patienten eine entscheidende Rolle. Für die Therapie werden verschiedene Stoffklassen eingesetzt, die nachfolgend aufgelistet sind:

### **1.7.1 Dopamin / L-Dopa**

Wirkung: Akinese > Rigor > Tremor

L-Dopa: Um überhaupt eine Aufnahme in das zentrale Nervensystem zu erreichen muss eine Vorstufe verabreicht werden (L-Dopa). Im Gehirn wird es im präsynaptischen Neuron unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung durch eine Dopadecarboxylase in das wirksame Dopamin umgewandelt. Da dieses Enzym auch in der Peripherie vorkommt und das Dopamin zum Großteil hier verstoffwechselt werden würde, wird es grundsätzlich in Kombination mit einem peripheren Dopadecarboxylasehemmer (Benserazid, Carbidopa) verabreicht. Das Verhältnis ist mit 4:1 Anteilen nicht variabel. Durch die Zugabe von Benserazid und Carbidopa kann die Dosis des verabreichten L-Dopa deutlich reduziert werden. Somit können die unerwünschten Nebenwirkungen in der Peripherie (Übelkeit, Erbrechen, Hypotonie bei Therapiebeginn) weitestgehend umgangen werden. Carbidopa und Benserazid können die Blut-Hirnschranke nicht überwinden und haben somit keine zentrale Wirkung.

### **1.7.2 Dopaminagonisten**

Wirkspektrum wie Dopamin

Non-Ergot-Dopaminagonisten: Pramipexol, Ropinirol, Piribedil, Rotigotin

Ergot-Dopaminagonisten: Bromocriptin, Cabergolin, Lisurid, Pergolid,  $\alpha$ -Dihydroergocriptin

Die Ergotamin-Derivate stimulieren direkt die postsynaptischen Neurone. Die Wirkung ist vom Degenerationszustand der präsynaptischen Neurone (Wirkungsort von L-Dopa) unabhängig und erklärt die Wirksamkeit auch noch im fortgeschrittenen Krankheitsstadium. Die Wirkdauer ist meistens länger als die von L-Dopa, daher zeigen sich auch weniger dosisabhängige Schwankungen der motorischen Funktionen.

### **1.7.3 Abbauphemmung (MAO-Hemmer, COMT-Hemmer)**

MAO-B-Hemmer: Selegelin, Rasagilin

Hemmung des Transmitterabbaus: Verlängerung der Dopaminwirkung bzw. Verminderung des L-Dopa-Bedarfs.

COMT-Hemmer: Entacapon, Tolcapon

Nur in Kombination mit L-Dopa. Diese Pharmakogruppe hemmt den Dopaminabbau, weswegen Dopamin länger wirkt.

#### **1.7.4 Amantadin (Unklarer Wirkmechanismus)**

Wirkung: Akinese > Rigor > Tremor

Amantadin: Die Wirkung wurde zufällig entdeckt<sup>64</sup>. Es zeigt sich ein rascher Wirkungseintritt, jedoch nach einigen Monaten auch ein schneller Wirkungsverlust.

#### **1.7.5 Anticholinergika**

Wirkung: Tremor > Rigor, kaum Akinese

(Biperiden, Metixen, Trihexyphenidyl)

Diese Stoffgruppe wirkt gut gegen den Tremor, jedoch mit anticholinergen peripheren Nebenwirkungen (Mundtrockenheit, Akkomodations- und Miktionsstörungen, Obstipation, Tachykardie). Außerdem erfolgt eine zentrale Erregung, weswegen Halluzinationen bis hin zu psychotischen Zuständen und als schwere Nebenwirkung das Zentrale Anticholinerge Syndrom auftreten können.

## **1.8 Interventionelle Therapien bei Parkinson-Syndromen**

### **1.8.1 Läsionieren**

Spiegel und Wycis stellten 1947 in Philadelphia erstmals die Stereotaxie mit den Möglichkeiten der Pallidotomie und Thalamotomie vor<sup>65</sup>. Dadurch war es möglich Bewegungsstörungen operativ zu behandeln. Dies geschah durch das Setzen von gezielten Läsionen (Elektrokoagulation, chemische / radioaktive oder kryogene Zerstörung). In den darauffolgenden Jahren wurden viele Gehirnregionen läsioniert und die Methode wurde stets weiterentwickelt. Heute sind die einseitige VIM-Thalamotomie (VIM: ventraler intermediärer Thalamus) und die Pallidotomie als Therapieverfahren obsolet, da sie irreversible Schäden am Gehirn verursachen.

In den 70-er und 80-er Jahren kamen die stereotaktischen Operationen durch die Einführung von L-Dopa fast zum Erliegen. Später kam es zu einem Wiederaufleben aufgrund der nicht behandelbaren Nebenwirkungen der medikamentösen Therapie des Parkinson-Syndroms.

### **1.8.2 Tiefe Hirnstimulation (DBS)**

Die DBS gilt aufgrund der Reversibilität als Standardtherapie bei dem medikamentös atherapierten Parkinson-Syndrom, sofern die Patienten die Voraussetzungen erfüllen. Diese sind:

- Die Zielsymptome müssen Dopa-sensitiv sein.
- Es muss eine schwere und objektive Beeinträchtigung bestehen.
- Schwere Allgemeinerkrankungen und eine Demenz müssen ausgeschlossen sein.
- Neurochirurgische Kontraindikationen (Blutungsneigung, ausgeprägte Hirnatrophie) müssen ausgeschlossen sein.

Seit Einführung der DBS durch Benabid et al 1987<sup>66</sup> steht eine weitere Möglichkeit zur Behandlung von Bewegungsstörungen zur Verfügung. Die DBS hat sich in den letzten 20 Jahren zu einer weit verbreiteten Methode entwickelt, die neben dem Parkinson-Syndrom auch andere neurologische Erkrankungen wie z.B. Chorea Huntington (HD) oder andere dystone Erkrankungen lindern kann<sup>67-69</sup>. Dabei wird gezielt in die Schaltkreise der Basalganglien eingegriffen.

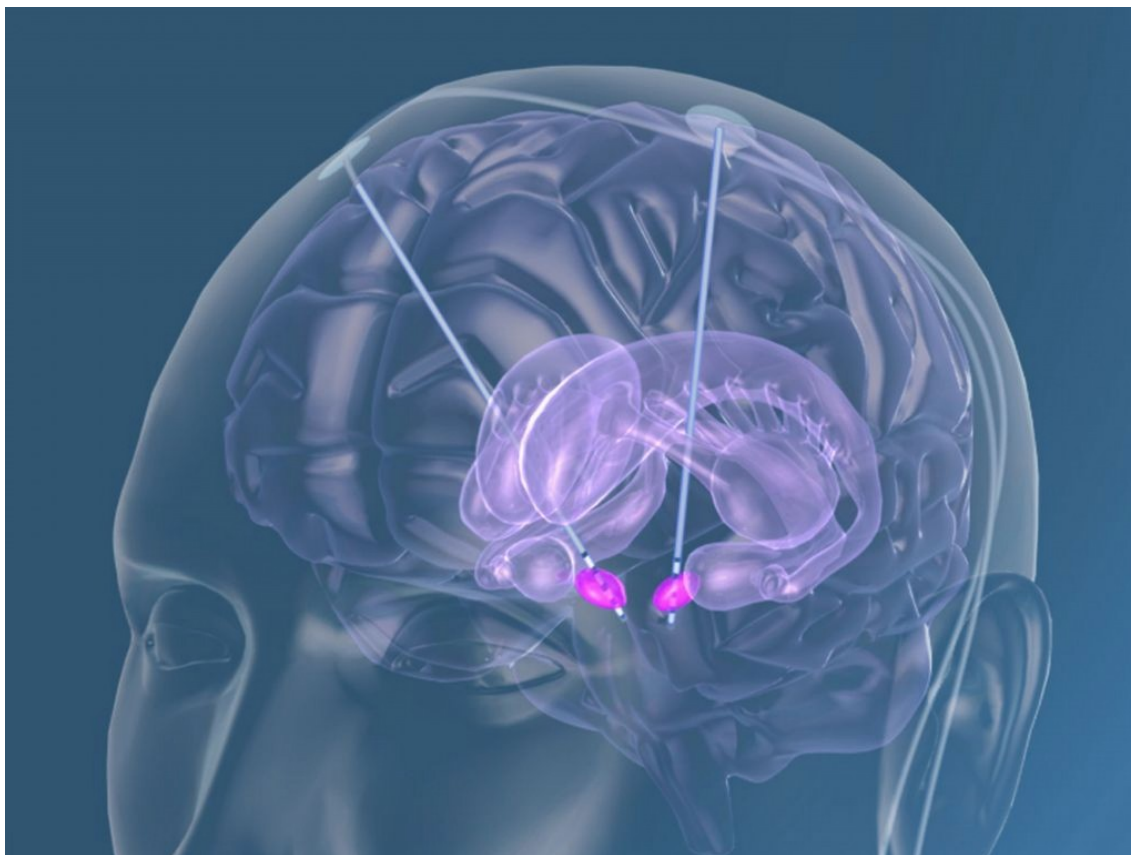
Die ersten Erfolge der DBS verzeichneten Benabid et al im ventralen intermediären Thalamus (VIM)<sup>66,70</sup>. Dabei wird ein sehr guter Effekt in der Behandlung des essentiellen Tremors erzielt, jedoch treten kaum Effekte bezüglich anderer Parkinson-Symptome auf. Mitte der 90-er Jahre berichteten Benabid und Limousin nahezu gleichzeitig die Stimulation im Nucleus subthalamicus (STN)<sup>67,71</sup>. Die gezielte Hochfrequenz-Stimulation (HFS) im STN zeigte, dass die Bradykinese und der Rigor reduziert werden<sup>72</sup> und dadurch Medikamentendosen verringert werden können<sup>67,73,74</sup>. Erst ab einer Frequenz von 100 Hz treten die ähnlichen Effekte auf wie beim chirurgischen Läsionieren und man spricht von HFS<sup>73,75</sup>. In drei kontrollierten Studien konnte gezeigt

werden, dass die DBS die motorischen Fluktuationen und die Lebensqualität auch dann noch verbessert wenn die medikamentöse Therapie dies nicht mehr erreicht<sup>76-78</sup>.

Mittlerweile liegen vier randomisierte, kontrollierte klinische Studien vor, in denen entweder im Globus pallidus internus (GPi) oder im STN mittels HFS stimuliert und verglichen wird. Hierbei konnte kein signifikanter Unterschied in der UPDRS-Motorskala gefunden werden.

- Anderson et al<sup>79</sup> zeigten 12 Monate nach Operation an 23 Patienten keinen Unterschied zwischen STN und GPi-Stimulation beim UPDRS-motorischen Score.
- Die COMPARE Studie<sup>80</sup> zeigte ebenso an 52 Patienten keine signifikanten Unterschiede.
- Im Artikel der CSP 468 Studiengruppe<sup>77</sup> wurde multizentrisch an 299 Patienten kein signifikanter Unterschied gesehen.
- In der NSTAPS Studie<sup>81</sup> wurde an 128 Patienten (multizentrisch) kein signifikanter Unterschied in den Primärzielen nach 12 Monaten nachgewiesen.

### Implantation und Platzierung des Stimulators



**Abbildung 3: Bild der platzierten Elektroden, mit freundlicher Genehmigung der Fa. Medtronic, Minnesota USA**

In der Abbildung 3 sieht man eine bilaterale Hirnstimulation. Vor der eigentlichen Operation werden in einem ambulanten Eingriff mehrere Knochenanker platziert, an denen später die Implantationsapparatur festgeschraubt wird. Mit den einliegenden Knochenankern wird der Kopf im Kernspin oder im CT abgebildet. Es lassen sich dann in der präoperativen Planungsphase mit Hilfe bildgebender Verfahren verschiedene Elektrodenpositionen errechnen um die beste Platzierungsmöglichkeit sowie das geringste Risiko (insbesondere Blutungen) zu bestimmen und zu visualisieren. Ein spezieller Halteapparat wird für den Patienten angefertigt, bei dem die Ausgangswinkel für die zu implantierenden Elektroden vorgegeben sind. Während der OP im Wachzustand erfolgt die Fixierung der Implantationsapparatur an den vorher implantierten Knochenankern. Die Eintrittsstellen der Elektroden am Schädel werden markiert und punktuell aufgebohrt. Dann erfolgt die Implantation vorläufiger Elektroden. In Zusammenarbeit mit den Neurologen

können die Neurochirurgen die exakte Position der Elektroden mikrometergenau erarbeiten. Während der Implantation wird mit speziellen Testverfahren mittels Stimulation direkt untersucht, wie sich die Symptome des Parkinson-Syndroms am Patienten verändern und verbessern. Ist die korrekte Elektrodenposition gefunden, werden die vorläufigen Elektroden durch endgültige Elektroden ausgetauscht und dann mit Knochenzement sowie einer kleinen Platte am Schädel fixiert. Abschließend erfolgt der Rest der Operation in Vollnarkose. Es wird eine subkutane Tasche für den Impulsgeber unterhalb des Schlüsselbeins präpariert und anschließend die Elektrodenkabel subkutan am Schädel und Hals entlang zum Impulsgeber heruntergeführt und angeschlossen. Vor Beendigung der Operation wird erneut die Funktionalität des Systems überprüft.

Durch die 4 Stimulationsbereiche an den Elektroden kann man den wirksamsten auswählen und kontinuierlich stimulieren. Die Feineinstellung lässt sich je nach Patientenbedürfnis adaptieren. Dies hat im Vergleich zum Läsionieren den Vorteil, dass die Bereiche variiert werden können und durch unterschiedliche Stromstärke und Frequenz eine Feinanpassung erfolgen kann.

### Komplikationen

Die Letalität oder schwere Morbidität innerhalb der ersten 30 Tage lag 2007 in Deutschland bei 0,4%. Die bleibende chirurgische Morbidität lag bei 1%<sup>82</sup>, wobei die häufigste Komplikation eine intrazerebrale Blutung war (2,2%), gefolgt von Pneumonie (0,6%). Es gab keinen relevanten Unterschied zwischen den 5 untersuchten Kliniken.

### Wirkmechanismus

Es ist noch immer nicht vollständig geklärt, welche genaue Wirkung die DBS auf das Gehirn hat. McIntyre fasst die vier bestehenden Hypothesen folgendermaßen zusammen<sup>83</sup>:

1. **Depolarisationsblockade**<sup>84,85</sup>: Bei diesem möglichen Wirkmechanismus wird die direkte Hemmung von spannungsabhängigen Natrium- und Calciumkanälen in der Umgebung der Stimulationselektrode beschrieben (Depolarisationsblock).



2. **synaptische Hemmung**<sup>86</sup>: Hierbei beschreiben Dostrovsky et al eine retrograde Erregung inhibitorischer Afferenzen und eine Freisetzung von GABA (GABAerge Hemmung). Intraoperativ konnte in dieser Studie nachgewiesen werden, dass nach Einzelimpulsen eine reversible Hemmung mit einer Dauer von 10-25 ms hervorgerufen wird, was auch der Zeit einer GABAergen synaptischen Hemmung entspricht.
3. **synaptische Depression**<sup>87</sup>: Eine weitere Hypothese erklärt die Wirkungsweise der DBS mit der Erschöpfung des Neurotransmitterpools, aufgrund der hohen Stimulationsfrequenz. Dies führt zu einer synaptischen Depression. Ab welcher Frequenz dies auftritt hängt von den Eigenschaften der Neuronen ab und konnte bisher noch nicht bei der DBS nachgewiesen werden.
4. **Signalmaskierung („Jamming“)**<sup>88</sup>: Diese Hypothese besagt, dass durch die Hochfrequenz-Stimulation (HFS) das ursprünglich übermittelte physiologische Signal durch die DBS „überschrieben“ wird und dann keinen Informationsgehalt mehr besitzt. Hierdurch kann der Effekt der DBS bei akinetischen und hyperkinetischen Syndromen erklärt werden.

## 1.9 Fragestellung

In der vorliegenden experimentellen Dissertation wurde an Wildtyp-Ratten die Reaktion der Basalganglien auf Hochfrequenz-Stimulation (HFS) untersucht. Hierdurch wird versucht die Reaktionen und die Behandlungsmöglichkeiten der Tiefen Hirnstimulation (DBS, deep brain stimulation) im Krankheitsbild des Parkinsons genauer zu verstehen. Die Kerne der Basalganglien, die in dieser Arbeit untersucht wurden sind: Die Substantia nigra pars reticulata (SNr), der mediale Globus pallidus (MGP), der laterale Globus pallidus (LGP), sowie als Stimulationskern der Nucleus subthalamicus (STN).

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Für die Versuche wurden 23 erwachsene Sprague-Dawley Ratten (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) verwendet. Ihr Gewicht betrug 262 - 380 g. Die Tiere wurden unter artgerechter Haltung, Licht, Temperatur und Luftfeuchtigkeit gehalten. Sie bekamen Standardfutter (Kliba Nafag, Provimi Kliba AG, Kaiseraugst, Schweiz) und Wasser ad libitum und wurden zu 2 bis 4 Individuen in isoliert ventilierten Käfigsystemen (IVC, engl.: isolated ventilated Cage-systems) (48,0 x 37,5 x 21,0 cm, Indulab AG, Gams, Schweiz) bei einem Licht/Dunkelrhythmus von 12/12 Stunden gehalten. Die Raumtemperatur betrug 22°C und die relative Luftfeuchtigkeit 50-60%. Alle Tierexperimente lehnten sich an die Richtlinie 86/609/EWG vom 24. November 1986 an. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universität Tübingen bewilligt, entsprechend der Tierversuchsnummer: N11/08.

### **2.2 Hardware**

#### **2.2.1 Stimulationselektrode**

Als Stimulationselektrode (Abbildung 4, FHC, Bowdoinham Maine, USA) wurde eine modifizierte standardmäßige, konzentrische Bipolarelektrode mit einer Länge von 100 mm verwendet. Diese Elektrode ist so modifiziert, dass sie einen dünneren Durchmesser hat und in zwei Führungssiebe passt (Beschreibung siehe Abbildung 7, Kapitel 2.3). Die Isolierung besteht aus Epoxydharz und innerhalb der Elektrode sind negativer (Inner Pole) und positiver Pol (Outer Pole) durch eine Epoxydversiegelung getrennt. Der Durchmesser des positiven Pols beträgt 200 µm und der des negativen Pols 50 µm. Der positive Pol umgibt konzentrisch den negativen Pol an der Elektrodenspitze. Das Innere des Schaftes ist mit Polyimid beschichtet und von einem Schrumpfschlauch umgeben. Die Pole treten am Schaft aus und enden in Pins, die an die Buchsen des Stimulationskabels angeschlossen werden. An der Elektrodenspitze breitet sich zwischen den beiden Polen ein elektrisches Feld aus wodurch die Zellen stimuliert werden.

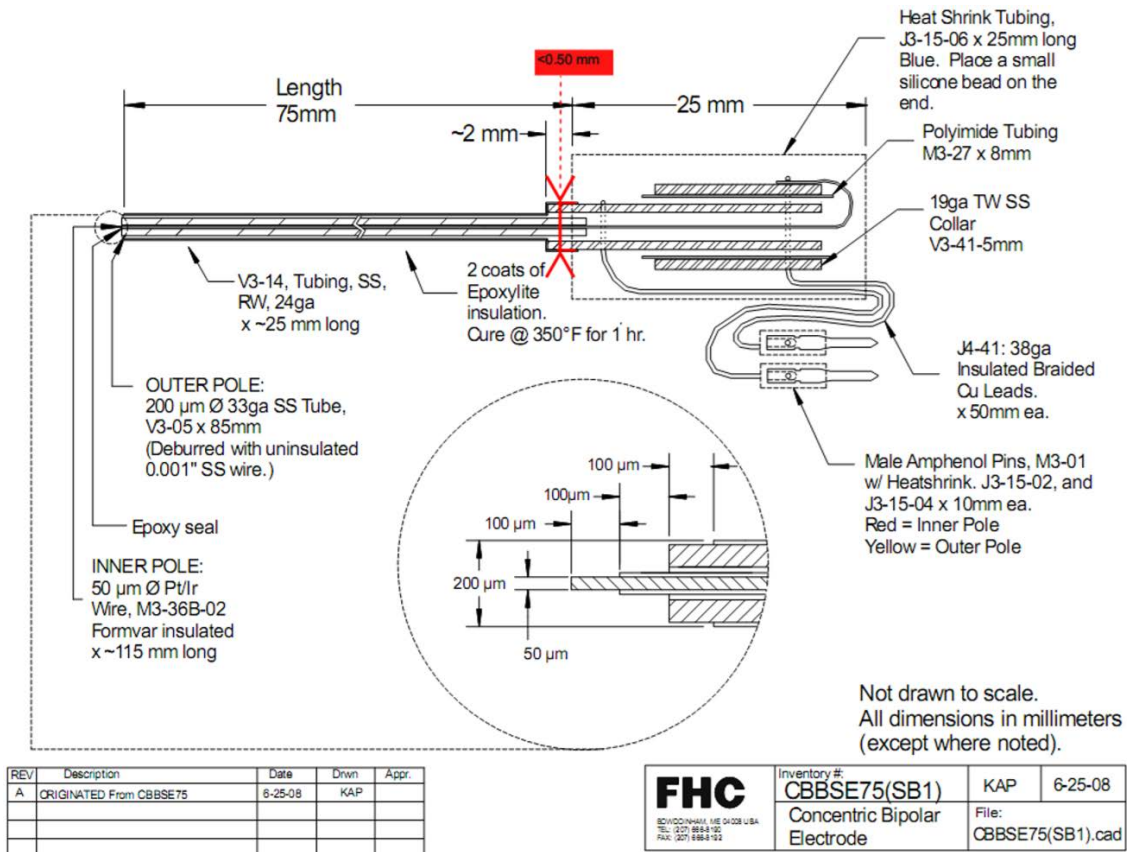


Abbildung 4: modifizierte Stimulationselektrode (FHC, Bowdoinham Maine, USA) mit einem dünneren Schaft

### 2.2.2 Ableitungselektroden

Zum Ableiten wurden Standard-Wolfram-Elektroden (FHC, Bowdoinham Maine, USA) gewählt, die eine Länge von 75 mm haben. Der Durchmesser des Schaftes beträgt 200 µm und die Isolierung besteht wie bei der Stimulations-elektrode aus Epoxydharz. Die Spitze ist nicht abgerundet und hat eine Standardform. Die Elektrode endet oberhalb des Schaftes in einem männlichen Pin, der an die Elektrodenhalterungen, welche zu den Motoren führen, angesteckt wird.

### 2.2.3 Mikromotor independent-4 „i4“

Das „i4“ (Prototypversion, Neurostar, Sindelfingen, Deutschland) steht für das „i4-Vorschubmodul“ und besitzt 4 getrennt ansteuerbare, unabhängige Mikro-motoren (i4 = Independent 4). Ein Motor bewegt die bipolare Stimulations-

elektrode, die den STN ansteuert, die restlichen 3 Motoren steuern die monopolaren Ableitungselektroden, die in LGP, MGP und SNr platziert wurden.

#### **2.2.4 Verstärker ARIS-22**

Der Verstärker ARIS-22 (Abbildung 5, Neurostar, Sindelfingen, Deutschland) besteht aus Vorverstärker, Verstärker, Filter, Stimulationsgenerator, Impedanzmessungs- und Datenaufnahmemodul. Das Modul ließ sich durch den PC ansteuern, ebenso konnte der PC das i4-Vorschubmodul steuern.



Abbildung 5: ARIS-22, Neurostar Sindelfingen

## 2.3 Versuchsaufbau

Im Folgenden (Abbildung 6) ist der schematische Versuchsaufbau dargestellt. Die Ratte befindet sich in einem Faraday-Käfig aus Lochblech (gestrichelte Linie, Eigenbau 45 x 45 x 45 cm) inklusive dem stereotaktischen Halteapparat Stoelting (Wood Dale, Illinois, USA) sowie dem i4 (Prototyp, Neurostar, Sindelfingen, Deutschland) mit den Elektroden. Die Elektrodenkabel wurden miteinander nach außen geführt und an das Stimmulationsmodul sowie an den ARIS-22 angeschlossen.

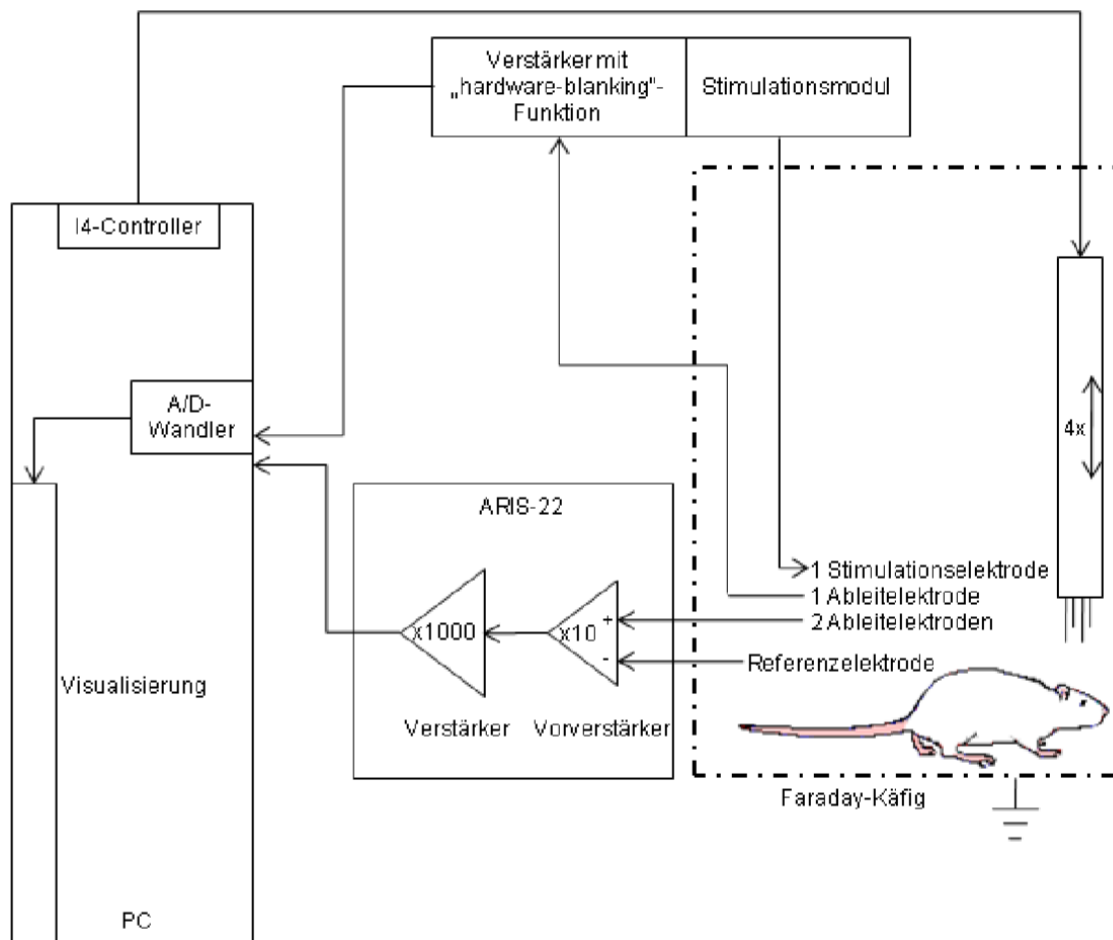
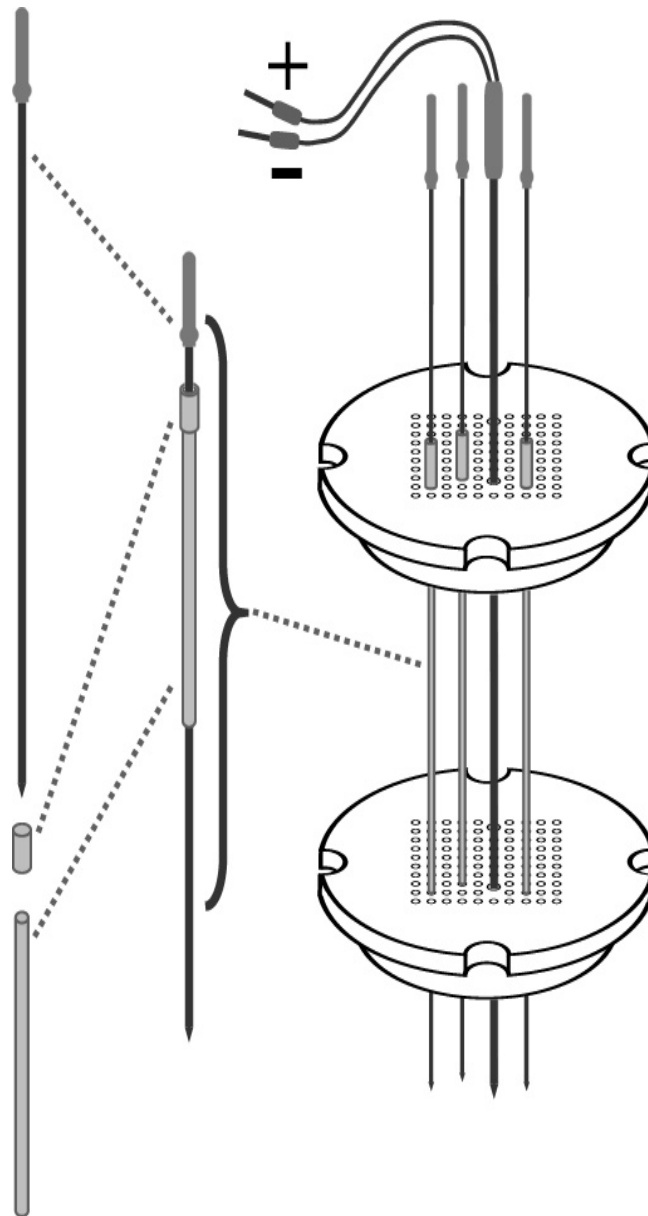


Abbildung 6: Versuchsaufbau der AG Breit, Hertie-Institut Tübingen



**Abbildung 7: Führungssiebe und Führungsröhrchen mit Elektroden, Eigenbau der AG Breit, Tübingen.**

Für die Ableitung wurden drei unipolare Elektroden (Ableitungselektroden) und eine bipolare Elektrode (Stimulationselektrode) benutzt. Sie wurden durch eigens hergestellte Halterungen aus Lumbalpunktionskanülen (Abbildung 7) in exakter Position gehalten. Die Elektroden wurden via Verbindungsstücke über Mikromotoren des i4 mit dem stereotaktischen Apparat (Stoelting Co, Wood Dale, Illinois, USA) verbunden. Mit Hilfe einer CNC-Fräse wurden zwei spezielle Führungssiebe hergestellt, die Löcher in einer 10 x 10 Matrix besitzen.

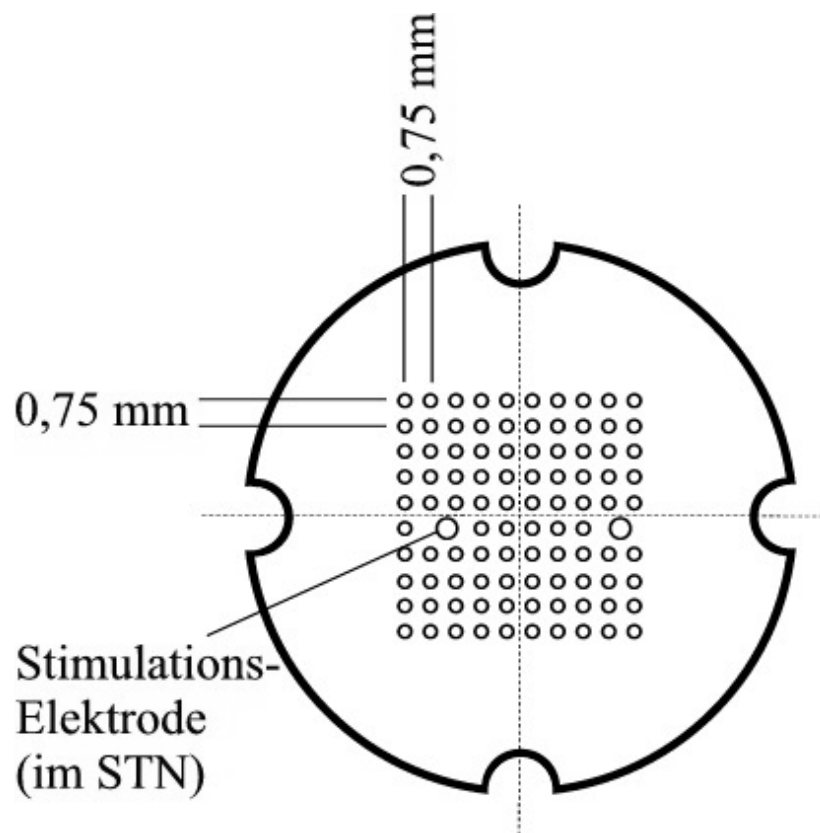
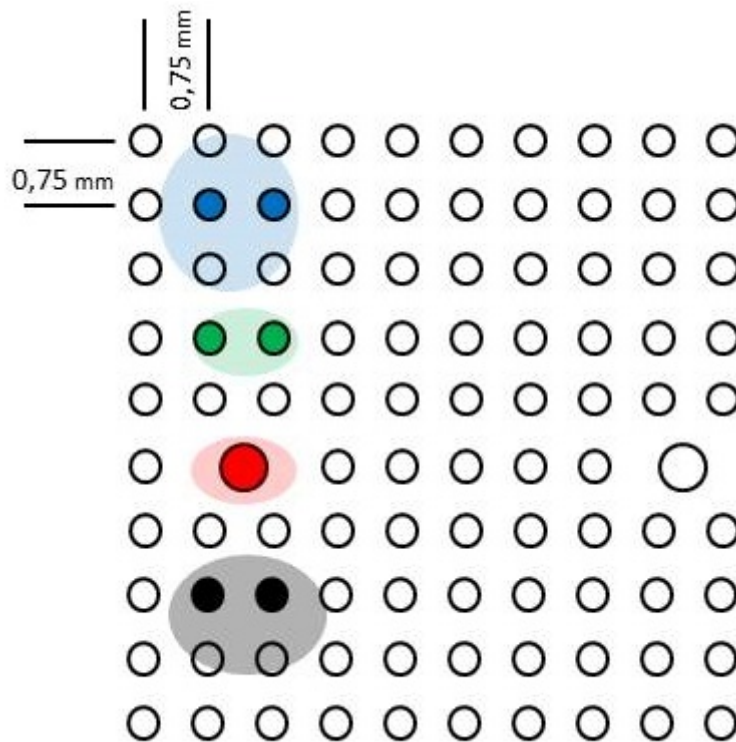


Abbildung 8: Ansicht eines Führungssiebes von oben

Die Bohrungen haben einen definierten Abstand von 0,75 mm mit einem Durchmesser von 500  $\mu\text{m}$  (Abbildung 8). Um eine noch genauere Präzision zu erlangen wurden die Ableitungselektroden mit Führungsröhrchen in den beiden Sieben befestigt.



**Abbildung 9: Bereiche für die Elektroden: LFP blau, MGP grün, STN rot und SNr schwarz**

Die verschiedenen Kernbereiche sind in Abbildung 9 dargestellt. Die Kerngebiete sind wie folgt gekennzeichnet: blau steht für LFP, grün für MGP, rot für STN und schwarz für SNr. Es gibt mehrere Möglichkeiten um die Elektroden in den entsprechenden Kernbereichen zu platzieren (farbige Markierung). Die Stimulationselektrode (rot) besitzt einen größeren Durchmesser (bipolare Elektrode).



## **2.4 Software Neuro-Guide**

Neuro-Guide (Version 1.0.314, Neurostar, Sindelfingen, Deutschland) ist ein Programm zum Ableiten der Aktionspotentiale, sowie eine Software zum Steuern der Befehle, die direkt an die 4 Mikromotoren des i4 weitergegeben werden. Es erlaubt eine Visualisierung in Echtzeit. Die Potentiale, welche die Elektroden erfassen, werden 10fach vorverstärkt, gefiltert und 1000fach endverstärkt und erneut gefiltert. Die Digitalisierung erfolgt über eine A/D-Wandlerkarte (6024E-Serie, National Instruments Germany, München, Deutschland). Es wird ein Bandpassfilter von 300 Hz bis 5000 Hz verwendet, die Abtastrate beträgt 50 kHz. Die aufgenommenen Potentiale werden in Echtzeit auf der Festplatte des Computers gespeichert und auf dem Bildschirm dargestellt.

## **2.5 In vivo Versuche an Ratten**

Zur Narkose wurde Urethan ( $C_3H_7NO_2$ , Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) (1,2 g/kg KG i.p.) verwendet, das zur chemischen Stoffgruppe der Carbamate gehört. Es dient in der tierexperimentellen Forschung als langwirkendes Injektionsnarkotikum. Dabei beeinflusst es kaum die elektrische Aktivität im Gehirn.

Nach Betäubung wurden sie in den stereotaktischen Rahmen (Stoelting, Wood Dale, Illinois, USA) an den äußeren Gehörgängen und an den oberen Schneidezähnen eingespannt, sodass die Knochenpunkte Bregma und Lambda auf gleicher Höhe sind (engl.: flat skull position). Die korrekten Koordinaten für die elektrophysiologischen Ableitungen wurden aus dem Rattenatlas Paxinos<sup>89</sup> entnommen. Um den Schädelknochen an der darüber liegenden Stelle freizulegen wurde das Fell und die Haut entsprechend präpariert. Das Bregma wurde mit Hilfe eines Operationsmikroskops (Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Deutschland) aufgesucht und mit einem Stift markiert. Anschließend wurde vorsichtig ein 7 x 12 mm großes Loch links-posterior des Bregmas mit einer kleinen Fräse gefräst. Die Koordinaten wurden in Millimeterschritten in Entfernung zum Bregma aufgesucht [AP: +1 / -7mm; Lat: +1 / +5mm]. Der Abstand zur Mittellinie sollte mindestens einen Millimeter betragen, damit der

Sinus sagittalis superior nicht beschädigt wird. Die harte Hirnhaut (Dura mater) wurde vorsichtig mit einer feinen Pinzette abgezogen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Spinnwebhaut (Arachnoidea) unversehrt blieb.

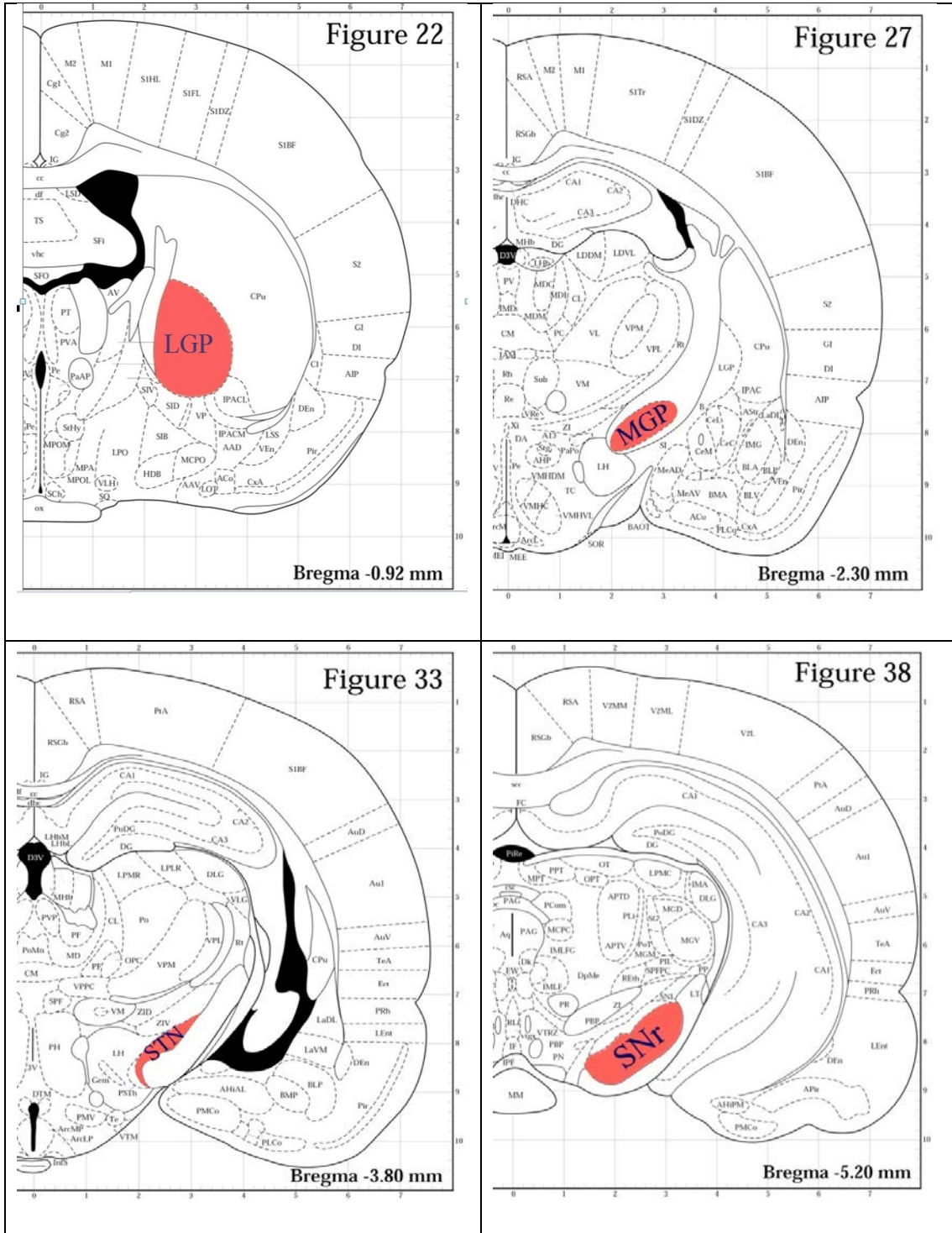


Abbildung 10: Position der Kerne STN, LGP MGP und SNr nach dem Rattenatlas von Paxinos

Für die korrekte Elektrodenposition wurde die Stimulationselektrode mit Hilfe des Mikroskops genau über das Bregma positioniert. Von dort aus wurde mit Hilfe von Mikrometerschrauben am stereotaktischen Apparat der exakte Ausgangspunkt für die Stimulationselektrode aufgesucht (Abbildung 10).

Dies konnte mit Hilfe des Rattenatlas nach Paxinos<sup>89</sup> bewerkstelligt werden. Bei einer Ratte mit Idealgewicht (290 g) ist die Ausgangsposition für den Kern STN nach dem Atlas bei AP: -3,60 mm und Lat: +2,30 mm. Die Position der restlichen Ableitungselektroden ist durch das Sieb vorgegeben.

Bei Ratten die über 350 g schwer waren, wurde der Abstand von Lambda (Schnittpunkt der Sutura lambdoidea und der Sutura sagittalis) zu Bregma vermessen, der nach Rattenatlas 9 mm beträgt. Die Abweichungen dieses Abstandes wurden nach einer linearen Interpolation adaptiert, die für drei Kategorien im Atlas festgelegt sind: juvenile Ratten (180 g), 290 g schwere Ratten und adulte Ratten (436 g). Die interpolierten Koordinaten wurden dann auf die Zielkoordinaten des STN übertragen.

## 2.6 Tiefe Hirnstimulation und elektrophysiologische Ableitung

Folgendes Material wurde verwendet:

- 18% Urethan i.p. (Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland) (180 mg/ml)
- 3 Ableitungselektroden (Wolfram-Mikroelektrode, FHC Inc. Bowdoinham, Maine, USA)
- 1 Stimulationselektrode (konzentrische Bipolarelektrode, FHC Inc. Bowdoinham, Maine, USA)

Die Elektroden wurden unter mikroskopischer Kontrolle in 50 µm-Schritten soweit vorgefahren, bis sie die Gehirnoberfläche berührten, was man auch an dem deutlichen Störsignal im Ableitungsprogramm NeuroGuide sehen kann. Alle Elektroden wurde in Kenntnis der Kerntiefe nach dem Paxinos-Atlas grob platziert. Die Stimulationselektrode wurde bis ca. 1000 µm vor den Kern STN

bewegt, dann wurde in 50  $\mu\text{m}$ -Schritten weiter vorgerückt bis die korrekte Ausgangstiefe eingestellt war (7500  $\mu\text{m}$ ). Dasselbe Verfahren wurde mit den Ableitungselektroden in der entsprechenden Tiefe durchgeführt:

- LGP: Ausgangstiefe bei 5000  $\mu\text{m}$
- MGP: Ausgangstiefe bei 7200  $\mu\text{m}$
- SNr: Ausgangstiefe bei 7500  $\mu\text{m}$

Als Hilfe kann man bei den Ableitungselektroden direkt die Aktionspotenziale beobachten.

Die Kerne wurden systematisch nach Spikes abgesucht und in jeder Tiefe im STN mit 100  $\mu\text{A}$ , 10 Sek., 130 Hz sowie einer Impulsbreite von 60  $\mu\text{s}$  stimuliert und insgesamt eine Minute abgeleitet. Vor der Stimulation wurde 20 Sekunden aufgezeichnet, nach der Stimulation 30 Sekunden. Bis zu 4 Versuchsreihen wurden mittels Trajektorien (Elektrodeneinstichpunkte) pro Versuchstier durchgeführt. Dafür wurde die gesamte Versuchsanordnung nach lateral (400  $\mu\text{m}$ ) oder posterior (500  $\mu\text{m}$ ) versetzt. Für die histologische Kontrolle wurde das Gehirn mit Gleichstrom markiert (in der Regel mit 15 sec, 50  $\mu\text{A}$ ).

## **2.7 Perfusion und Gehirnpräparation**

### **2.7.1 Herstellung der benötigten Lösungen**

- 10% PFA: 100 g PFA in 1 Liter destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$  auf 60°C erhitzen; Zugabe von 2 ml N NaOH; nach Erkalten, pH auf 7,4 einstellen und bei 4°C aufbewahren (Langzeit-Aufbewahrung möglich).
- 4% PFA: 40 ml 10% PFA in 10 ml 10fach PBS mit 50 ml destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$  auffüllen.
- PBS: 80 g NaCl, 2 g KCl, 26,8 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  und 2,4 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in 800 ml destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$  lösen und pH auf 7,4 einstellen. Danach mit destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$  auf 1 Liter auffüllen und autoklavieren.
- 30% Saccharoselösung: 30 g Saccharose in 100 ml destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$ .

Für die histologische Aufarbeitung wurden die Ratten mit einer Überdosis 18% Urethan (3,6 g/kg KG) getötet und auf einer Styroporplatte auf dem Rücken liegend an den Extremitäten fixiert und anschließend sofort intrakardial perfundiert. Dafür wurde der Bauchraum unterhalb des Zwerchfells mit einem Rippenbogenrandschnitt geöffnet und über einen Zwerchfellschnitt die Thoraxhöhle eröffnet. Anschließend wurde die Aorta descendens mit einer Gefäßklemme (Péan) direkt oberhalb des Zwerchfells abgeklemmt. Durch eine mediane Sternotomie wurde der Thorax vollständig eröffnet um einen guten Zugang zum Herzen zu bekommen. Es wurde eine kleine Inzision in das linke Kammermyokard vorgenommen und eine stumpfe Kanüle über die linke Herzkammer in der Aorta ascendens vorgeschoben und dort mit Hilfe einer kleinen Klemme fixiert. Der rechte Vorhof wurde eröffnet, damit das Blut und die Perfusionslösungen herauslaufen können. Die Ratten wurden mit 200 ml physiologischer Kochsalzlösung (0,9% NaCl) und anschließend mit 200 ml 4% PBS-gepuffertes Paraformaldehyd (PFA) (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) perfundiert. Der Erfolg zeigte sich daran, dass die Ratte steif wurde. Anschließend wurde der Kopf luxiert und der Schädel freigelegt. Durch eine Pinzette und eine Knochenzange (Luer) wurde der Knochen vorsichtig stückchenweise abgebrochen, bis das Gehirn frei lag. Die Hirnnerven zwischen Gehirn und Schädelbasis wurden durchtrennt und das Gehirn wurde am Riechhirn abgesetzt, in ein Gefäß mit 4% PBS-gepuffertem PFA gegeben und bei 4°C für 24 Stunden aufbewahrt. Anschließend wurde das Gehirn in eine 30%ige Saccharoselösung (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) eingelegt und für die histologische Aufarbeitung weitergeleitet.

## **2.8 Histologie**

Die histologischen Schnitte wurden in Kooperation mit dem Anatomischen Institut in Århus, Dänemark angefertigt. Dafür wurden sie in 30% Saccharose eingelegt und verschickt. Es wurden 40 µm dünne Schnitte angefertigt<sup>90,91</sup>.

Die Nissl Färbung erfolgte mit 0,1% Toluidinblau in Citratpuffer (pH 4,0) bei Raumtemperatur. Die Schnitte wurden für 4 min getaucht, mit destilliertem Wasser gewaschen und mit einer aufsteigenden Alkoholreihe bis 99%

entwässert. Anschließend wurden sie mit Xylol infiltriert und auf einen Objektträger mit Depex aufgebracht<sup>92</sup>. Abschließend wurden die fertigen Schnitte eingescannt.

## **2.9 Signalanalyse**

Die Signalanalyse wurde mit Hilfe des Programms SpeedSort (Version 2.1.1b1, Firma Neurostar, Sindelfingen) durchgeführt und erfolgte automatisiert. Grundlegend waren multifaktorielle Informationen zu Spike-Form, Spike-Statistik und Spike-Zeitmarken-Statistik. Darüber hinaus wurden nur Signale mit einem Signal-Rausch-Verhältnis größer als 3:1 berücksichtigt. Das Spike-Muster wird in Anzahl der detektierten Spikes in einem definierten Zeitintervall bestimmt (spikes/s) und wurde nach der entwickelten Methode von Kaneoke und Vitek<sup>93</sup> analysiert. Hierdurch werden drei Feuermuster festgelegt, die statistisch streng definiert sind: Random, tonic und bursting.

### **2.9.1 Signalverhalten random**

Beim Signalverhalten random ist die Dichteverteilung entsprechend einer Poisson-Verteilung angeordnet. 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.

In Abbildung 11 ist oben der Zeitachse dargestellt, links darunter die Dichteverteilung (Discharge Density Histogramm, DDH) und das Interspike-Intervall Histogramm. Rechts daneben sieht man die Messdaten und die Spikeformen.

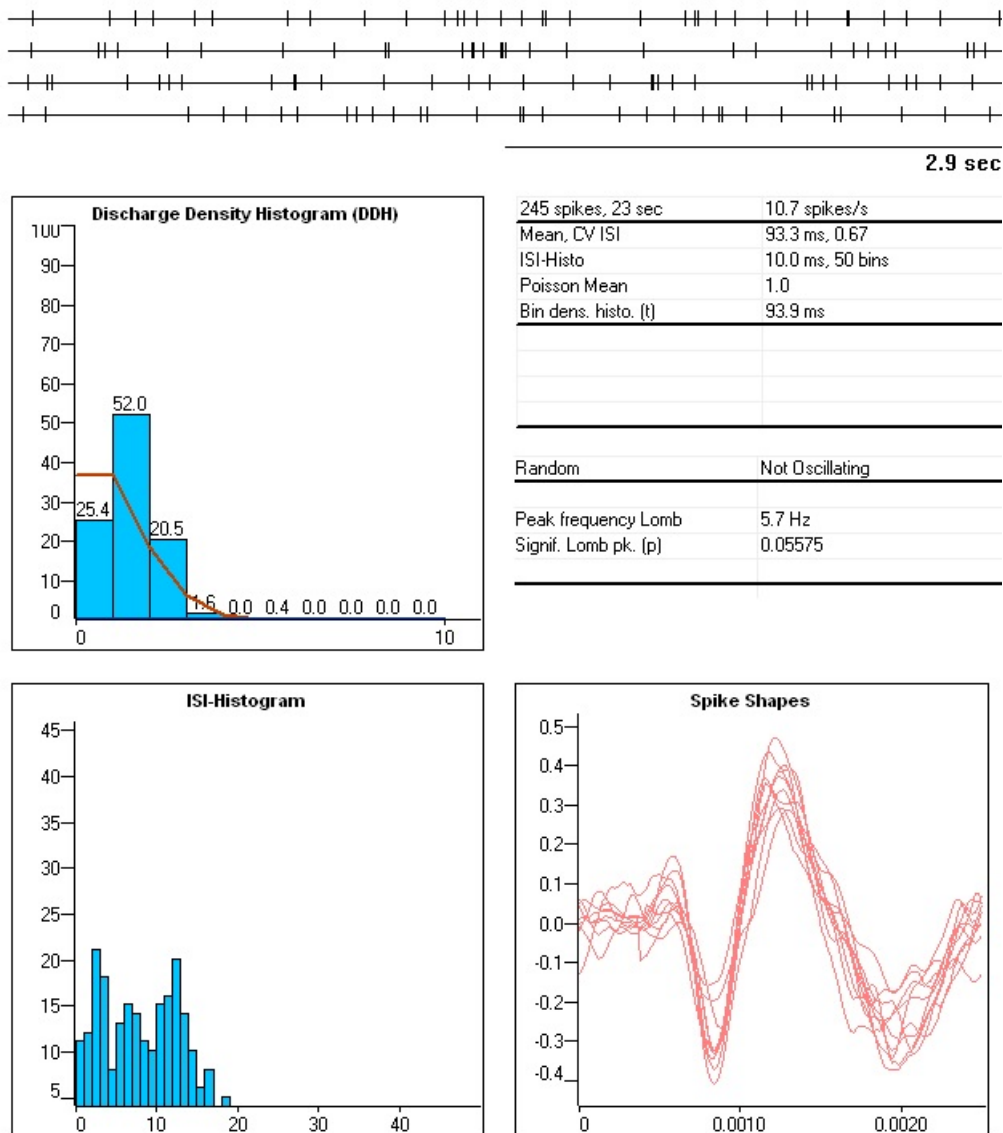


Abbildung 11: Verteilungsmuster random nach Kaneoke und Vitek: Ganz oben ist der Zeitachse, darunter links das Discharge Density Histogramm (DDH, Dichteverteilung) und das Interspike-Intervall-Histogramm (ISI). Rechts sind die Messdaten und die Spikeformen dargestellt.

### 2.9.2 Signalverhalten tonic

Beim Signalverhalten tonic wird ein regelmäßiges Feuermuster mit einer symmetrischen Dichteverteilung definiert. In regelmäßigen Abständen feuert das Neuron hierbei Spikes, die eine streng symmetrische Dichteverteilung haben. In Abbildung 12 ist ein Neuron mit einer Feuerrate von 5,2 spikes/s dargestellt, welches dem Feuerverhalten tonic entspricht. Das Dichteverteilungshistogramm hat eine symmetrische Verteilung.

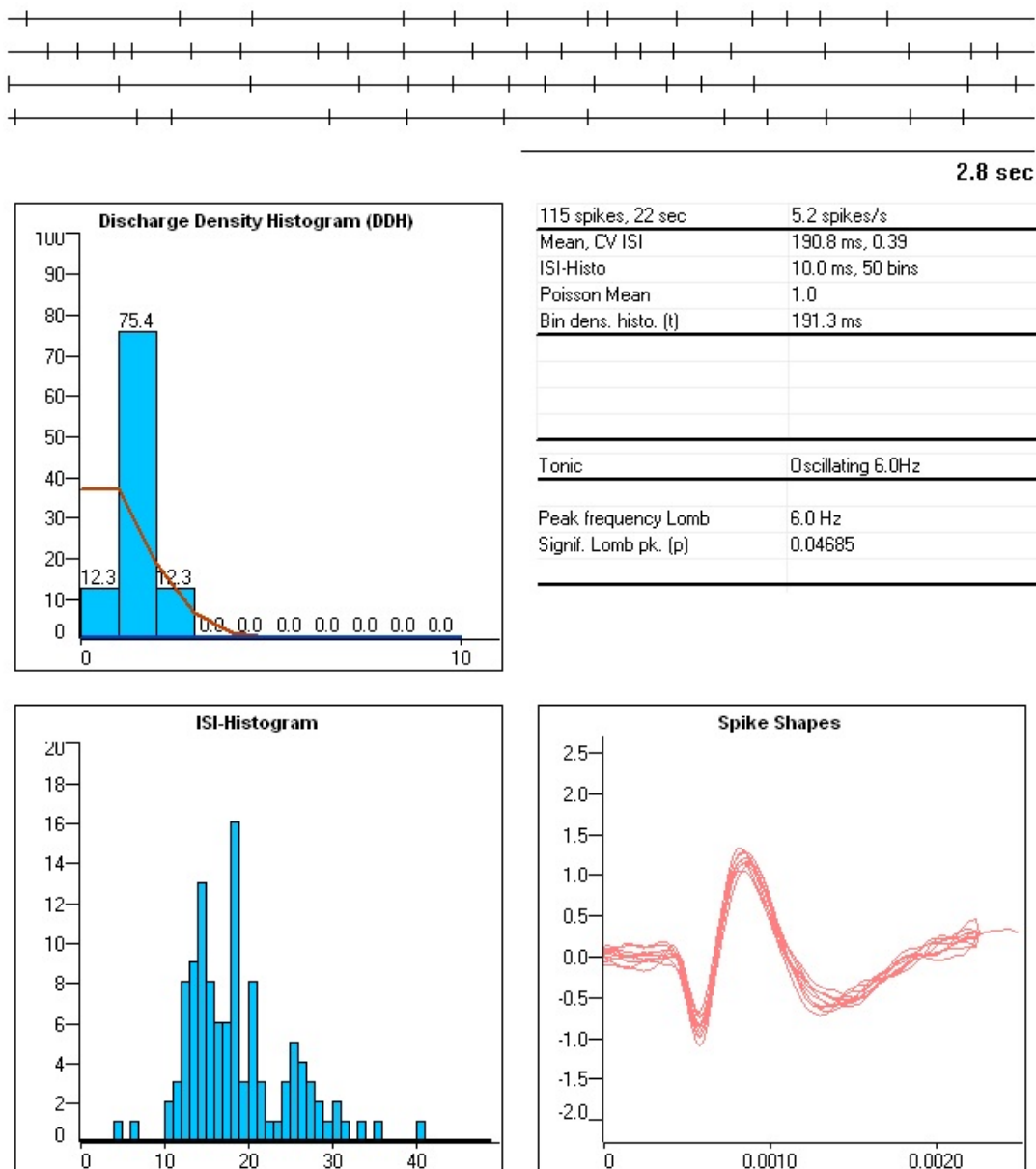


Abbildung 12: Verteilungsmuster tonic nach Kaneoke und Vitek: Ganz oben ist der Zeitachse, darunter links das Discharge Density Histogramm (DDH, Dichteverteilung) und das interspike-Intervall-Histogramm (ISI). Rechts sind die Messdaten und die Spikeformen dargestellt.



### 2.9.3 Signalverhalten bursting

Liegt keine Poisson-Verteilung vor, wird der Schiefegrad der Dichteverteilung ermittelt, also die Asymmetrie der Verteilungsfunktion untersucht. Wenn das Ergebnis sich signifikant von einer Poisson-Verteilung unterscheidet, die Schiefe der Dichteverteilung signifikant positiv ist und mindestens 4 Spikes pro Salve vorliegen, spricht man von einem salvenartigen (bursting) Verteilungsmuster (Abbildung 13).

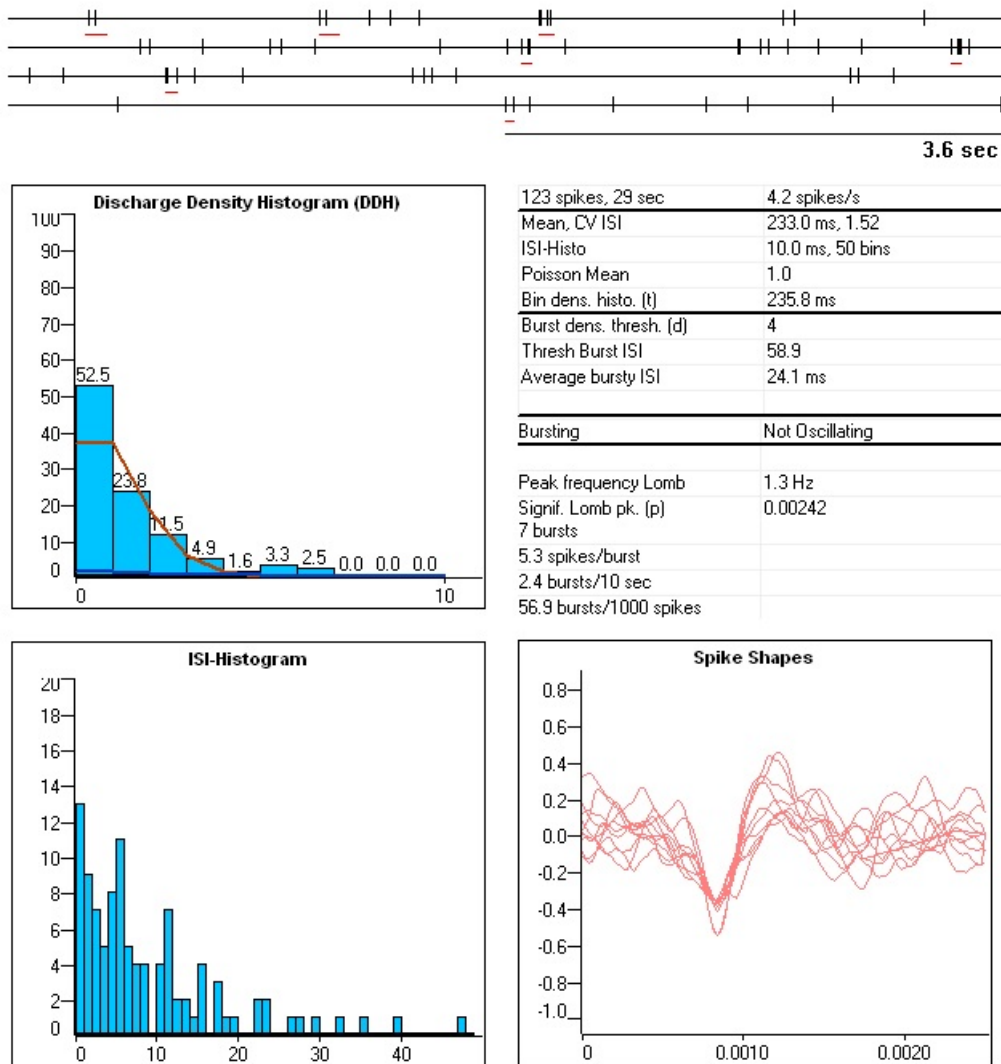


Abbildung 13: Verteilungsmuster bursting nach Kaneoke und Vitek: Ganz oben ist der Zeitachse, darunter links das Discharge Density Histogramm (DDH, Dichteverteilung) und das Interspike-Intervall-Histogramm (ISI). Rechts sind die Messdaten und die Spikeformen dargestellt.

## 2.10 Statistik

Unter Zuhilfenahme des Statistikprogramms JMP (Version 11, SAS-Institute Inc, Toronto, Kanada) wurden die Daten mit Hilfe des  $t$ -Tests untersucht. Hierdurch kann ein Gruppenvergleich der Feuerungsraten erfolgen. Auch kann mit Hilfe dieses Tests das Signalverhalten vor, während und nach der Stimulation untersucht werden. Als statistisch signifikant wurde die allgemein übliche Irrtumswahrscheinlichkeit von <5% angenommen ( $p < 0,05$ ).

Mit Hilfe des  $\chi^2$ -Test (Chi<sup>2</sup>-Test) konnte ein Vergleich der Feuerungsmuster tonic-random-bursting erfolgen.

Es wurde in jedem Kern die Haupt-Spikeform analysiert.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten der SNr

In die Auswertung der SNr wurden  $n=30$  Neurone einbezogen. Die Grundaktivität der SNr hat eine Feuerungsrate von  $15,9 \pm 8,5$  spikes/s. Nach Stimulation im STN zeigte sich ein signifikanter Abfall ( $p < 0,0001$ ) der Feuerungsrate auf  $8,3 \pm 7,1$  spikes/s (Abbildung 14).

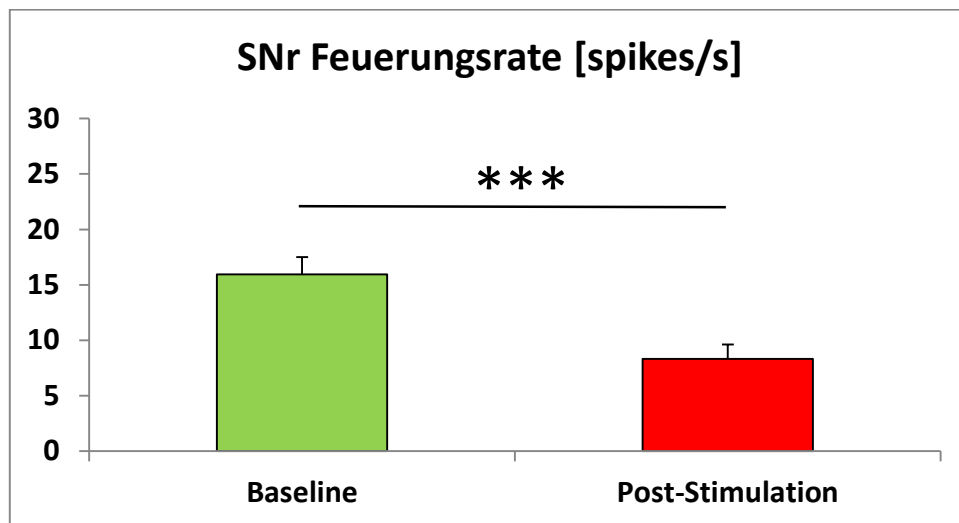


Abbildung 14: Feuerungsrate der SNr: Baseline und Post-Stimulation

In Abbildung 15 sieht man das Entladungsmuster eines Neurons in der SNr. Es sind 9 Sek. vor und 10 Sek. nach Stimulation aufgezeichnet. Die Stimulation ist zur Veranschaulichung unterbrochen und nicht abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Abfall nach Stimulation.

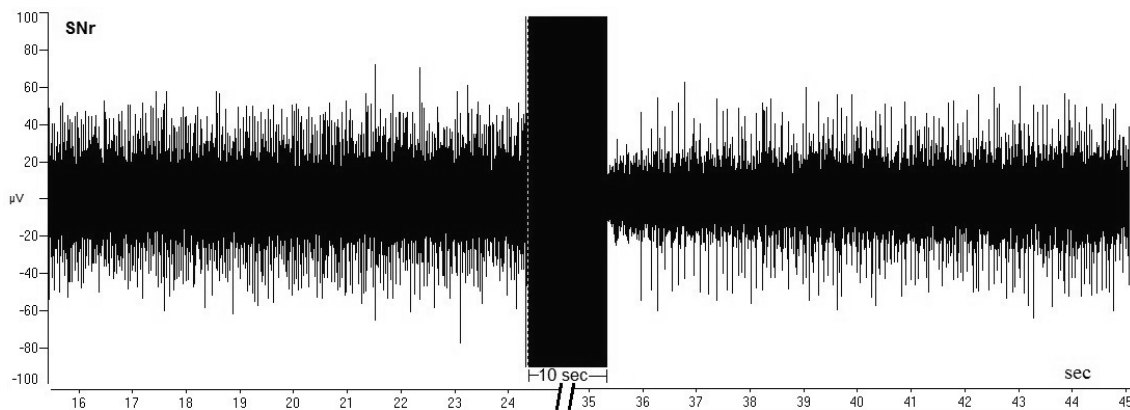


Abbildung 15: Aktionspotentiale vor und nach Stimulation eines Neurons im SNr

In Abbildung 16 ist die prozentuale Veränderung des Feuermusters in der SNr aufgetragen. Das Muster tonic kommt vor Stimulation am häufigsten vor (83%), gefolgt von random (17%). Nach Stimulation zeigt sich ein Verhältnis von tonic 47%, random 50% und bursting 3%. Es zeigt sich eine signifikante Veränderung der Feuermusterverteilungen vor und nach Stimulation ( $p < 0,05$ , Chi<sup>2</sup>-Test).

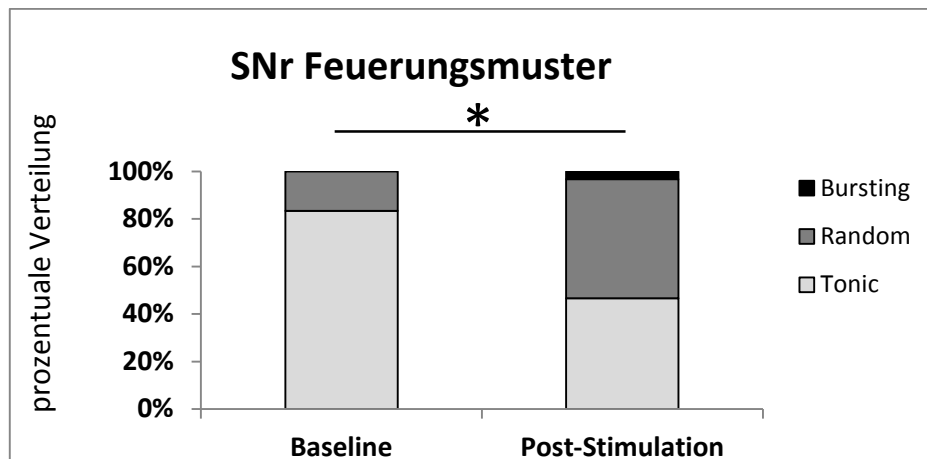


Abbildung 16: prozentuale Veränderung des Feuermusters in der SNr

Als Maß für das Feuermuster ist der Variationskoeffizient des Interspike-Intervalls (Coefficient of variation of interspike-intervall, CV-ISI) in Abbildung 17 abgebildet. Je geringer der Wert ist, desto regelmäßiger ist das Feuermuster. Man sieht einen signifikanten Anstieg von  $0,52 \pm 0,20$  auf  $0,71 \pm 0,27$  ( $p < 0,01$ ).

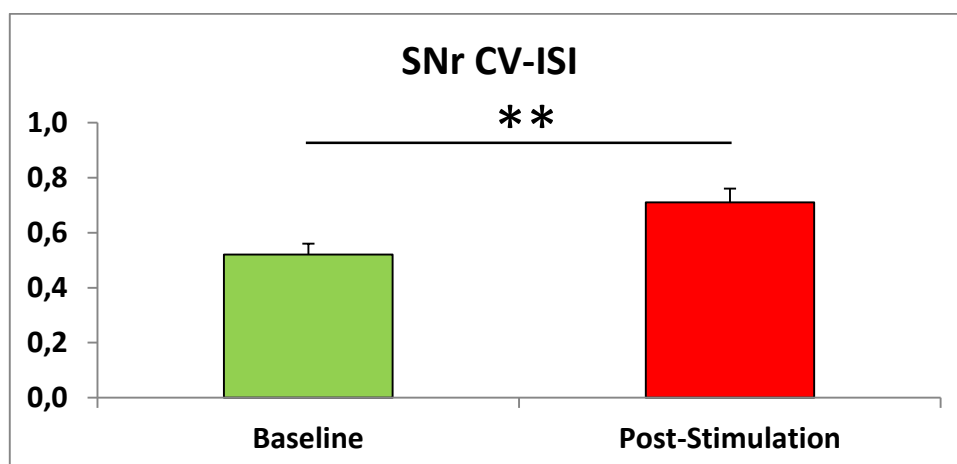


Abbildung 17: CV-ISI im Kern SNr, Baseline und Post-Stimulation

### 3.2 Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten des MGP

In die Auswertung des MGP wurden n=25 Neurone einbezogen. Die Grundaktivität im MGP hat eine Feuerungsrate von  $21,8 \pm 11,0$  spikes/s. Nach Stimulation im STN zeigte sich ein signifikanter Abfall ( $p < 0,0001$ ) der Feuerungsrate auf  $11,3 \pm 5,9$  spikes/s (Abbildung 18).

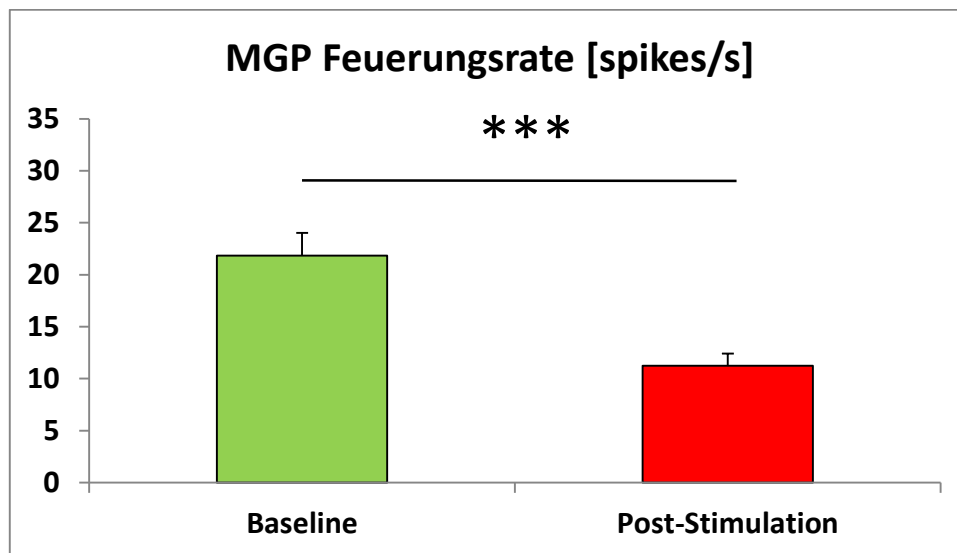


Abbildung 18: Feuerungsrate des MGP: Baseline und Post-Stimulation

In Abbildung 19 sieht man das Entladungsmuster eines Neurons im MGP. Es sind 8 Sek. vor und 10 Sek. nach Stimulation zu sehen. Die Stimulation ist zur Veranschaulichung unterbrochen und nicht abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Abfall nach Stimulation.

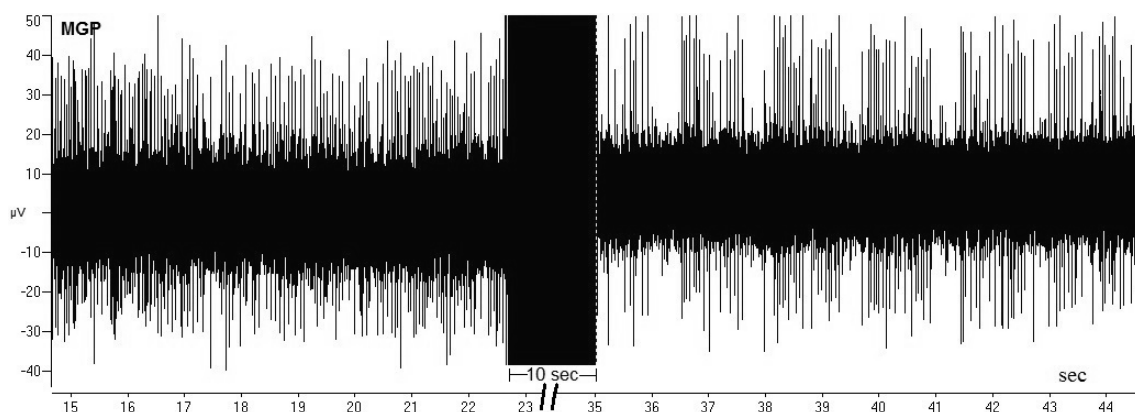


Abbildung 19: Aktionspotentiale vor und nach Stimulation eines Neurons im MGP

Als Maß für das Feuermuster ist der Variationskoeffizient des Interspike-Intervalls (Coefficient of variation of interspike-intervall, CV-ISI) in Abbildung 20 abgebildet. Je geringer der Wert ist, desto regelmäßiger ist das Feuermuster. Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg von  $0,66 \pm 0,11$  auf  $0,83 \pm 0,40$  ( $p < 0,05$ ).

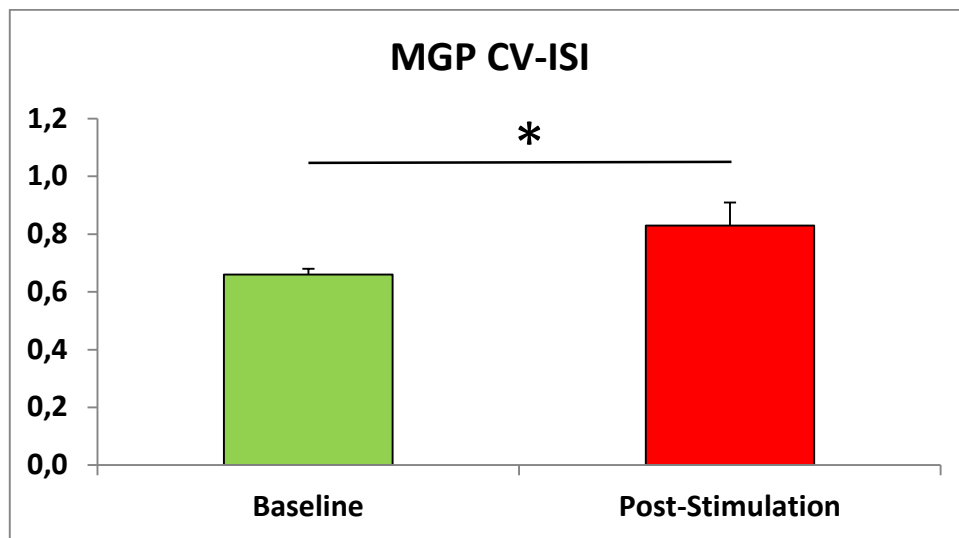


Abbildung 20: CV-ISI im Kern MGP, Baseline und Post-Stimulation

In Abbildung 21 sind SNr und LGP zusammen dargestellt. Es zeigt sich hierbei ein signifikanter Abfall in beiden Kernen, insbesondere im MGP sieht man für wenige Sekunden eine vollständige Blockierung.

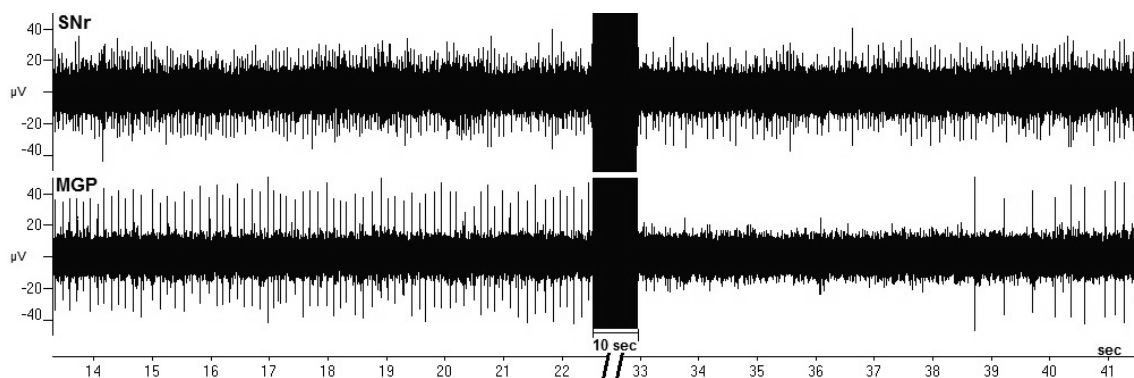


Abbildung 21: SNr und MGP zusammen, signifikanter Abfall der Feuerraten im SNr und MGP

In Abbildung 22 ist die prozentuale Veränderung des Feuermusters im MGP aufgetragen. Das Muster random kommt vor Stimulation am häufigsten vor (56%), gefolgt von tonic (44%). Nach Stimulation überwiegt das Muster tonic (48%) gefolgt von random (40%), sowie einem Anteil von 12% nach dem bursting-Muster. Es zeigt sich keine signifikante Veränderung der Feuermusterverteilungen vor und nach Stimulation ( $p > 0,05$ , Chi<sup>2</sup>-Test).

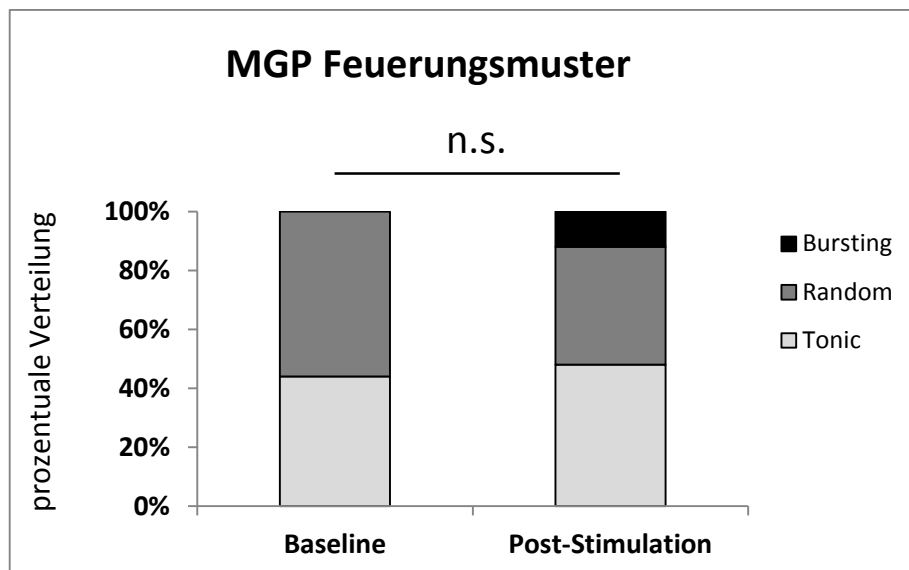


Abbildung 22: prozentuale Veränderung des Feuermusters im MGP

### 3.3 Stimulationseinfluss auf das Feuerungsverhalten des LGP

In die Auswertung des LGP wurden n=70 Neurone einbezogen. Die Grundaktivität im LGP hat eine Feuerungsrate von  $16,4 \pm 7,8$  spikes/s. Nach Stimulation im STN zeigte sich ein signifikanter Anstieg ( $p < 0,0001$ ) der Feuerungsrate auf  $22,5 \pm 9,3$  spikes/s (Abbildung 23).

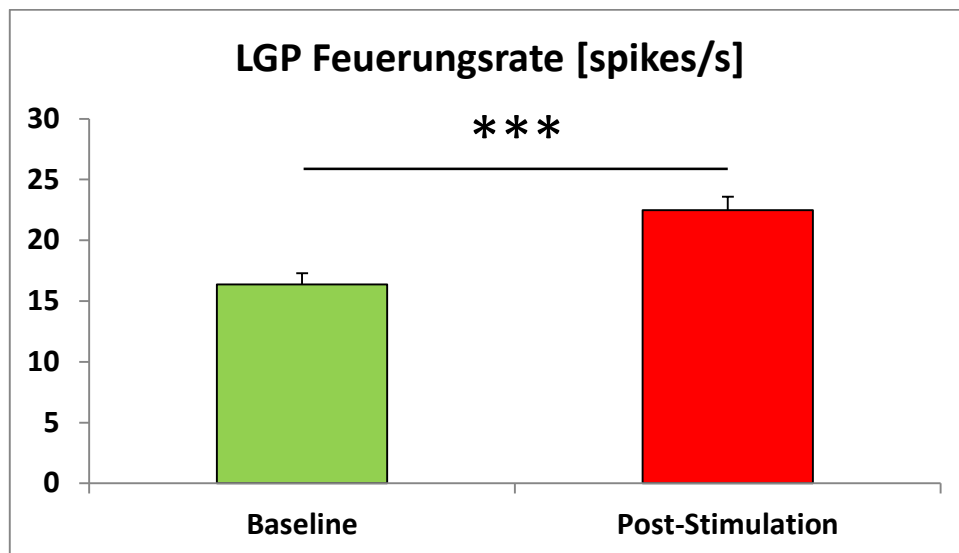


Abbildung 23: Feuerungsrate des LGP: Baseline und Post-Stimulation

In Abbildung 24 sieht man das Entladungsmuster eines Neurons im LGP. Es sind 8 Sek. vor und 10 Sek. nach Stimulation zu sehen. Die Stimulation ist zur Veranschaulichung unterbrochen und nicht abgebildet. Es zeigt sich ein signifikanter Abfall nach Stimulation.

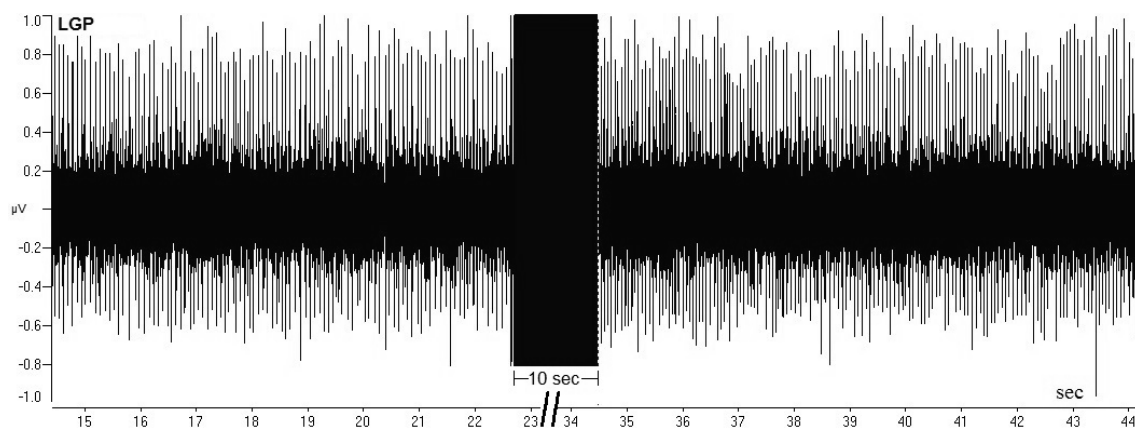


Abbildung 24: Aktionspotentiale vor und nach Stimulation eines Neurons im LGP



Als Maß für das Feuermuster ist der Variationskoeffizient des Interspike-Intervalls (Coefficient of variation of interspike-intervall, CV-ISI) in Abbildung 25 abgebildet. Je geringer der Wert ist, desto regelmäßiger ist das Feuermuster. Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg von  $0,40 \pm 0,18$  auf  $0,49 \pm 0,15$  ( $p < 0,0001$ ).

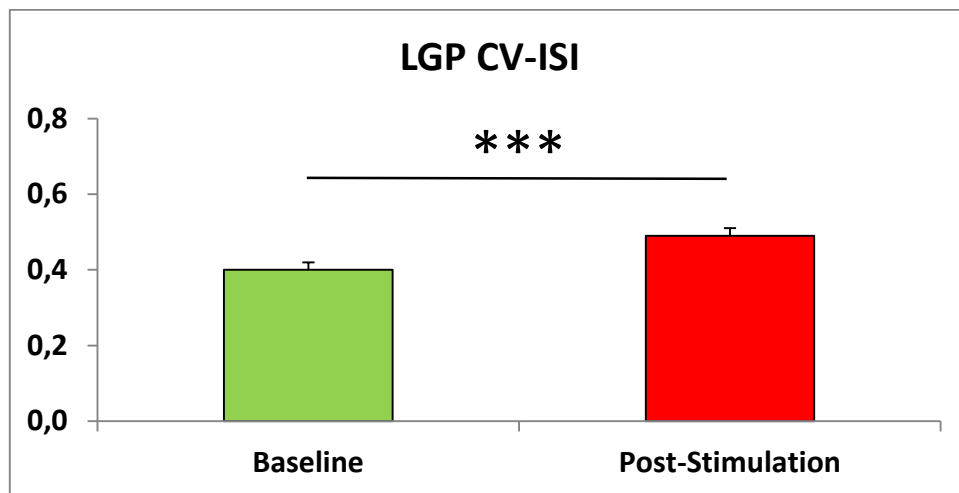


Abbildung 25: CV-ISI im Kern LGP, Baseline und Post-Stimulation

In Abbildung 26 ist die prozentuale Veränderung des Feuermusters im LGP aufgetragen. Am häufigsten kommt tonic vor (93%), gefolgt von random (7%). Nach Stimulation zeigt sich ein Verhältnis von tonic (81%) und random (19%). Es zeigt sich eine signifikante Veränderung der Feuermuster-Verteilungen vor und nach Stimulation ( $p < 0,05$ , Chi<sup>2</sup>-Test).

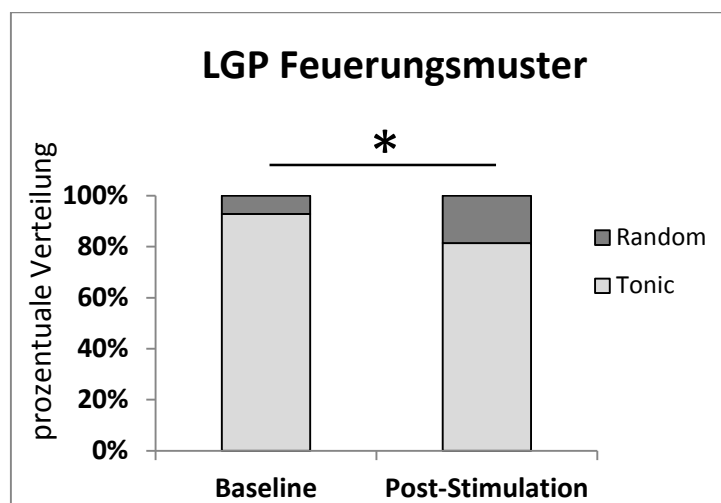
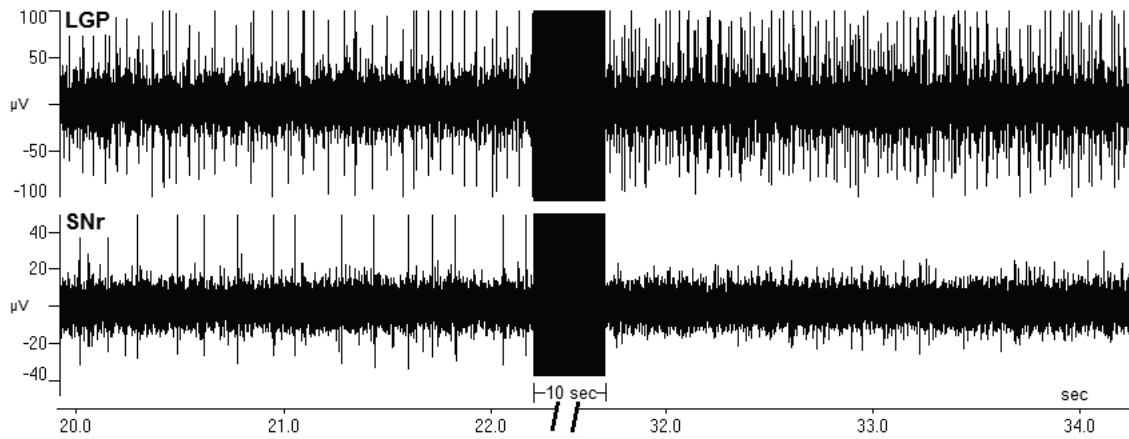


Abbildung 26: prozentuale Veränderung des Feuermusters im LGP

In Abbildung 27 sind LGP und SNr zusammen dargestellt. Es zeigt sich eine signifikante Zunahme der Feuerungsrate im LGP, während die Feuerungsrate im SNr nach STN-Stimulation vollständig inhibiert ist.



**Abbildung 27: Feuerungsrate im LGP und SNr nach STN-DBS. Zur Veranschaulichung ist die Stimulation unterbrochen dargestellt**

### 3.4 Histologische Kontrolle

Die eingescannten Histologieschnitte konnten mit Hilfe der Markierung durch den Gleichstrom (50  $\mu$ A, 15 sec) sowie durch die sichtbare Spur der Elektrode im Gehirn verfolgt werden (Abbildung 28). Mit Hilfe des Rattenatlas von Paxinos sowie der vorgegebenen Schichtdicken (40  $\mu$ m) konnte das Kerngebiet zugeordnet werden. Die Trajektorie der dicken Stimulationselektrode konnte direkt gesehen werden, die Ableitungselektroden konnten mit Hilfe der genauen Koordinaten (Abstand zur Stimulationselektrode) sowie der Tiefen im Gehirn zu den entsprechenden Kerngebieten (LGP, MGP, SNr) zugeordnet werden.

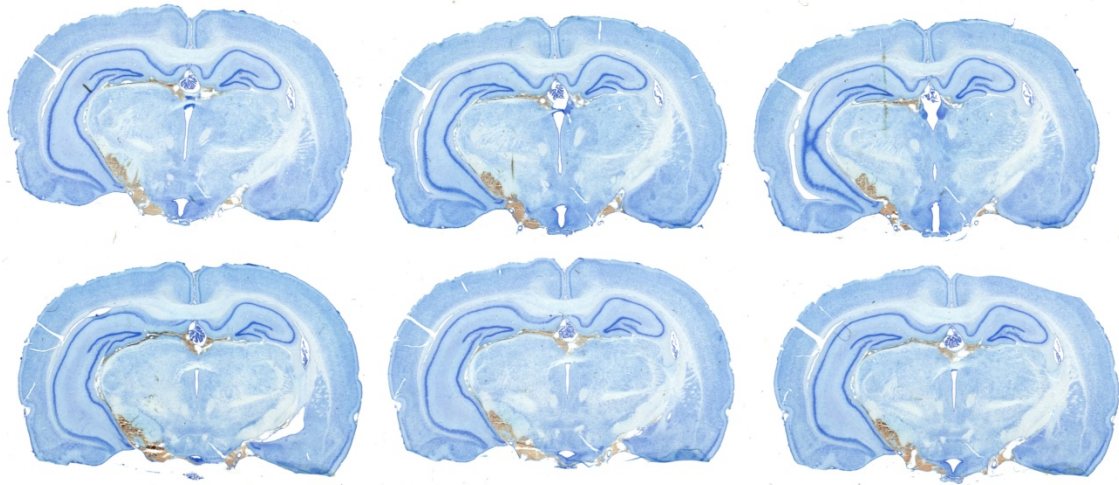
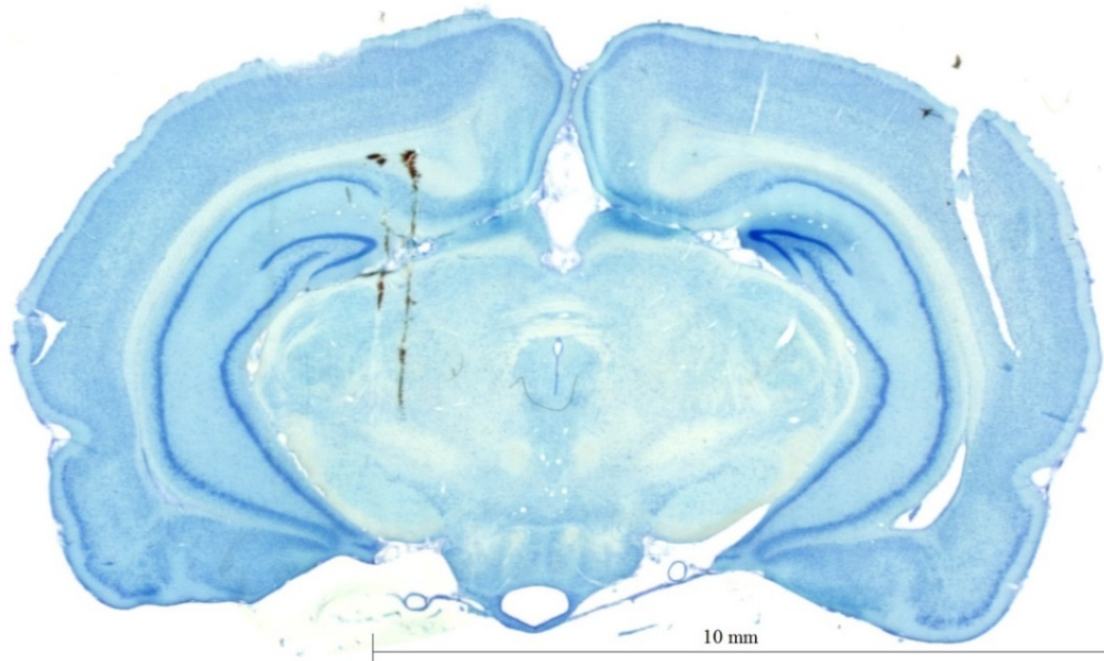


Abbildung 28: Objektträger mit 6 Histologieschnitten, Nissl-Färbung

In Abbildung 29 ist ein histologisches Schnittbild vergrößert dargestellt und zeigt zwei Elektrodenspuren der Stimulationselektrode, die im STN platziert wurden.



**Abbildung 29: sichtbare Elektrodenspuren der Stimulationselektrode, Nissl-Färbung**

## 4 Diskussion

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind:

- Die Hochfrequenzstimulation des STN führt zu einer Inhibition der Aktivität mit einer signifikanten Reduktion der Feuerungsrate in der SNr und im MGP und zu einer signifikanten Erhöhung der Feuerungsrate im LGP.
- Die Hochfrequenzstimulation des STN führt zu einer Zunahme der Unregelmäßigkeit des Feuerungsverhaltens mit signifikanter Erhöhung des Variationskoeffizienten des Interspike-Intervalls in allen drei Projektionskernen. Das Feuermuster veränderte sich signifikant in der SNr und im LGP mit Reduktion des prozentualen Anteils tonischer Aktivität.

### 4.1 Modulation der SNr-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation

Die HFS des STN mit einer Amplitude von 100  $\mu\text{A}$ , einer Stimulationsfrequenz von 130 Hz und einer Impulsbreite von 60  $\mu\text{s}$  führt zu einer Inhibition und zu einer Zunahme der Feuerungs-Unregelmäßigkeit der SNr mit signifikanter Abnahme der Feuerungsrate der SNr und mit signifikanter Zunahme des Variationskoeffizienten des ISI (Interspike-Intervall) in der SNr. In einer früheren Studie konnten bei Stimulationsamplituden von 100  $\mu\text{A}$  keine Änderungen der Aktivität der SNr festgestellt werden, Stimulationsamplituden von über 300  $\mu\text{A}$  führten hingegen zu einer über ca. 1 Minute anhaltenden Hemmung der nigralen Aktivität<sup>94</sup>. Eine weitere frühere Studie zeigte ebenfalls eine deutliche Inhibition der SNr unter Stimulation mit 100  $\mu\text{A}$ , bei allerdings methodischen Schwächen hinsichtlich der Validität der Signalauswertung aufgrund erheblicher Stimulationsartefakte<sup>95</sup>. Eine an wachen Ratten durchgeführte Studie zeigte sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Antworten der SNr während effektiver HFS des STN<sup>96</sup>. Die Inhibition der nigralen Aktivität konnte nicht nur in

intakten Tieren, sondern auch im 6-OHDA Parkinson-Modell der Ratte nachgewiesen werden<sup>97</sup>. Zahlreiche Studien belegen eine Hyperaktivität des STN und der Ausgangskerne der Basalganglien MGP (GPi) und SNr im 6-OHDA Modell der Ratte und im MPTP-Primatenmodell<sup>43,98,99</sup>. Die in dieser Arbeit nachgewiesene Hemmung der SNr Aktivität unter HFS des STN wirkt der durch den Parkinson-Zustand bedingten Hyperaktivität der SNr entgegen und bietet eine Erklärung für die therapeutische Wirkung der HFS des STN bei der Parkinson'schen Erkrankung. Die Veränderung des Feuermusters (Abnahme des Anteils der tonischen Aktivität) lässt sich am ehesten durch die von der Stimulation induzierte Unterbrechung der natürlichen Modulation durch den im Normalzustand tonisch feuernden STN erklären. Mögliche Erklärungen für die durch HFS des STN induzierte Hemmung der Aktivität der SNr sind:

- Inhibition der STN-Aktivität durch HFS des STN mit konsekutiver Reduktion des exzitatorischen Weges der glutamatergen Projektion vom STN zur SNr.
- Retrograde Aktivierung des LGP durch HFS des STN mit konsekutiver Aktivierung der GABAergen Projektionen vom LGP zur SNr.

## **4.2 Modulation der MGP-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation**

Die HFS des STN mit einer Amplitude von 100  $\mu$ A, einer Stimulationsfrequenz von 130 Hz und einer Impulsbreite von 60  $\mu$ s führt zu einer Inhibition und zu einer Zunahme der Feuermuster-Unregelmäßigkeit des MGP mit signifikanter Abnahme der Feuerrate des MGP und mit signifikanter Zunahme des Variationskoeffizienten des ISI im MGP. Ähnlich zur Modulation der SNr konnten in einer früheren Studie bei Stimulationsamplituden von 100  $\mu$ A keine Änderungen der Aktivität des MGP festgestellt werden. Stimulationsamplituden von über 300  $\mu$ A führten hingegen zu einer über ca. ½ Minute anhaltenden Hemmung des MGP<sup>94</sup>. Die in dieser Arbeit nachgewiesene Hemmung der MGP-Aktivität unter HFS des STN bietet, ähnlich wie im Falle der SNr, eine Erklärung für die therapeutische Wirkung bei der Parkinson'schen Erkrankung.

Hierbei wirkt die Inhibition des MGP (durch HFS im STN) der im Parkinson-Zustand induzierten Hyperaktivität des GPi (MGP) entgegen. Die Analogie zur SNr lässt sich auch beim MGP, dem zweiten Ausgangskern der Basalganglien, hinsichtlich der möglichen Erklärungen für die durch HFS des STN induzierte Hemmung der Aktivität der MGP argumentativ weiterführen:

- Inhibition der STN-Aktivität durch HFS des STN mit konsekutiver Reduktion des exzitatorischen Weges der glutamatergen Projektion vom STN zum MGP.
- Retrograde Aktivierung des LGP durch HFS des STN mit konsekutiver Aktivierung der GABAergen Projektionen vom LGP zum MGP.

#### **4.3 Modulation der LGP-Aktivität durch STN-Hochfrequenzstimulation**

Die HFS des STN mit einer Amplitude von 100  $\mu$ A, einer Stimulationsfrequenz von 130 Hz und einer Impulsbreite von 60  $\mu$ s führt zu einer Aktivierung und zu einer Zunahme der Feuerungs-Unregelmäßigkeit des LGP mit signifikanter Zunahme der Feuerungsrate der LGP und mit signifikanter Zunahme des Variationskoeffizienten des ISI im LGP. Die Aktivierung des LGP konnte ebenfalls in einer früheren Studie, allerdings erst bei Stimulationsamplituden von über 300  $\mu$ A beobachtet werden, mit einer Rückkehr zur basalen Feuerungsrate über ca. 1 ½ Minuten<sup>94</sup>. Im Gegensatz dazu fanden sich in zwei weiteren Studien eine Inhibition des LGP unter Stimulation mit 100  $\mu$ A, bei allerdings methodischen Schwächen hinsichtlich der Validität der Signalauswertung aufgrund erheblicher Stimulationsartefakte<sup>95,100</sup>. Eine an wachen Ratten durchgeführte Studie zeigte sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Antworten des LGP während effektiver HFS des STN<sup>96</sup>. Die in dieser Arbeit nachgewiesene Zunahme der Aktivität im LGP lässt sich am ehesten durch eine retrograde Aktivierung des LGP über die LGP-Axone zum STN erklären.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die HFS des STN die Aktivität aller drei untersuchten Projektionskerne LGP, SNr und MGP moduliert. Die Ausgangsstrukturen der Basalganglienkerne SNr und MGP wurden durch die HFS des STN inhibiert. Diese Inhibition steht im Einklang mit der klinisch nachgewiesenen Wirkung der HFS des STN bei der Parkinson'schen Erkrankung und in den Parkinson Tiermodellen. Im Gegensatz dazu kam es unter HFS des STN zu einer Aktivierung des LGP, jenes Kernes, der mit dem STN durch reziproke exzitatorische und inhibitorische Projektionen verschaltet ist. Die Aktivierung des LGP könnte zu einer vermehrten Ausschüttung des Neurotransmitters GABA in den pallidalen Afferenzen des STN und somit zur Hemmung des STN beitragen.

Im Vergleich zu früheren Studien bietet die aktuelle Arbeit den methodischen Vorteil, dass die Wirkung der STN-HFS auf die Projektionskerne des STN an der gleichen Gruppe von Tieren untersucht wurde, wobei die Aktivität der drei Projektionskerne über drei individuell platzierte Ableitungselektroden gleichzeitig aufgezeichnet wurde. Des Weiteren hat die Stimulation des STN mit einer moderaten Stimulationsamplitude von 100  $\mu$ A den Vorteil einer fokalbegrenzten Stromausbreitung und somit der Vermeidung von relevanter Mitaktivierung angrenzender Hirnregionen.



## 5 Zusammenfassung

Die Hochfrequenzstimulation des STN hat sich im Verlauf der letzten zwei Jahrzehnte zu einer etablierten Behandlungsmethode der Parkinson'schen Erkrankung entwickelt. Dennoch ist der Wirkmechanismus der HFS des STN weiterhin unklar. Zahlreiche Studien an Parkinson Tiermodellen belegen eine Hyperaktivität des STN und der nachgeschalteten Ausgangsstrukturen der Basalganglien SNr und MGP (GPi), diese Hyperaktivität wird als funktionelles Korrelat der Akinese bei der Parkinson'schen Erkrankung betrachtet.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Modulation der STN-Projektionskerne des LGP, SNr und MGP durch die HFS des STN. Dabei wurde bei intakten, narkotisierten Ratten über in LGP, SNr und MGP platzierten Ableitungselektroden die Änderung der Aktivität unmittelbar nach HFS des STN im Vergleich zur basalen Aktivität untersucht.

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass die HFS des STN zu einer Inhibition der Aktivität der SNr und des MGP und zu einer Aktivierung des LGP führte. Des Weiteren konnte eine Zunahme der Unregelmäßigkeit des Feuerungsverhaltens in allen drei Projektionskernen nachgewiesen werden.

Die Inhibition der Ausgangsstrukturen der Basalganglien SNr und MGP steht im Einklang mit der klinisch nachgewiesenen Wirkung der HFS des STN im Sinne einer Aufhebung der Hyperaktivität dieser Kernregionen im Parkinson-Zustand. Die Aktivierung des LGP könnte zu einer vermehrten Ausschüttung des Neurotransmitters GABA in den pallidalen Afferenzen des STN und somit zur Inhibition des STN beitragen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Parkinson, J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* **14**, 223-236; discussion 222 (2002).
2. de Rijk, M.C., *et al.* Prevalence of Parkinson's disease in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology* **54**, S21-23 (2000).
3. Hoehn, M.M. & Yahr, M.D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* **17**, 427-442 (1967).
4. Goetz, C.G., *et al.* Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **22**, 41-47 (2007).
5. Marras, C., Lohmann, K., Lang, A. & Klein, C. Fixing the broken system of genetic locus symbols: Parkinson disease and dystonia as examples. *Neurology* **78**, 1016-1024 (2012).
6. Polymeropoulos, M.H., *et al.* Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* **276**, 2045-2047 (1997).
7. Funayama, M., *et al.* A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Annals of neurology* **51**, 296-301 (2002).
8. Paisan-Ruiz, C., *et al.* Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron* **44**, 595-600 (2004).
9. Zimprich, A., *et al.* Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* **44**, 601-607 (2004).
10. Vilarino-Guell, C., *et al.* VPS35 mutations in Parkinson disease. *American journal of human genetics* **89**, 162-167 (2011).
11. Zimprich, A., *et al.* A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *American journal of human genetics* **89**, 168-175 (2011).
12. Lesage, S., *et al.* Identification of VPS35 mutations replicated in French families with Parkinson disease. *Neurology* **78**, 1449-1450 (2012).
13. Sheerin, U.M., *et al.* Screening for VPS35 mutations in Parkinson's disease. *Neurobiology of aging* **33**, 838 e831-835 (2012).

14. Sharma, M., *et al.* A multi-centre clinico-genetic analysis of the VPS35 gene in Parkinson disease indicates reduced penetrance for disease-associated variants. *Journal of medical genetics* **49**, 721-726 (2012).
15. Kitada, T., *et al.* Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* **392**, 605-608 (1998).
16. Valente, E.M., *et al.* Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *American journal of human genetics* **68**, 895-900 (2001).
17. Valente, E.M., *et al.* Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* **304**, 1158-1160 (2004).
18. van Duijn, C.M., *et al.* Park7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *American journal of human genetics* **69**, 629-634 (2001).
19. Ramirez, A., *et al.* Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nature genetics* **38**, 1184-1191 (2006).
20. Di Fonzo, A., *et al.* FBXO7 mutations cause autosomal recessive, early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome. *Neurology* **72**, 240-245 (2009).
21. Paisan-Ruiz, C., *et al.* Early-onset L-dopa-responsive parkinsonism with pyramidal signs due to ATP13A2, PLA2G6, FBXO7 and spatacin mutations. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **25**, 1791-1800 (2010).
22. Kurian, M.A., *et al.* Homozygous loss-of-function mutations in the gene encoding the dopamine transporter are associated with infantile parkinsonism-dystonia. *The Journal of clinical investigation* **119**, 1595-1603 (2009).
23. Lee, L.V., Kupke, K.G., Caballar-Gonzaga, F., Hebron-Ortiz, M. & Muller, U. The phenotype of the X-linked dystonia-parkinsonism syndrome. An assessment of 42 cases in the Philippines. *Medicine* **70**, 179-187 (1991).
24. Graeber, M.B. & Muller, U. The X-linked dystonia-parkinsonism syndrome (XDP): clinical and molecular genetic analysis. *Brain Pathol* **2**, 287-295 (1992).
25. Wattendorf, E., *et al.* Olfactory impairment predicts brain atrophy in Parkinson's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **29**, 15410-15413 (2009).
26. Haehner, A., Hummel, T. & Reichmann, H. Olfactory dysfunction as a diagnostic marker for Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother* **9**, 1773-1779 (2009).

27. Tapper, V.J. Pathophysiology, assessment, and treatment of Parkinson's disease. *Nurse Pract* **22**, 76-78, 80, 85 passim (1997).
28. Gibb, W.R. Functional neuropathology in Parkinson's disease. *Eur Neurol* **38 Suppl 2**, 21-25 (1997).
29. Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D. & Stricker, E.M. Partial damage to nigrostriatal bundle: compensatory changes and the action of L-dopa. *J Neural Transm Suppl* **29**, 217-232 (1990).
30. Berlitz. *Basiswissen Neurologie*, (Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2007).
31. Charlton, C.G. & Crowell, B., Jr. Parkinson's disease-like effects of S-adenosyl-L-methionine: effects of L-dopa. *Pharmacol Biochem Behav* **43**, 423-431 (1992).
32. Braak, H., Rub, U., Gai, W.P. & Del Tredici, K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm* **110**, 517-536 (2003).
33. Braak, H., *et al.* Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *Journal of neurology* **249 Suppl 3**, III/1-5 (2002).
34. Alexander, G.E. & Crutcher, M.D. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends in neurosciences* **13**, 266-271 (1990).
35. Albin, R.L., Young, A.B. & Penney, J.B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences* **12**, 366-375 (1989).
36. Marani, E., Heida, T., Lakke, E.A. & Usunoff, K.G. The subthalamic nucleus. Part I: development, cytology, topography and connections. *Adv Anat Embryol Cell Biol* **198**, 1-113, vii (2008).
37. Benarroch, E.E. Subthalamic nucleus and its connections: Anatomic substrate for the network effects of deep brain stimulation. *Neurology* **70**, 1991-1995 (2008).
38. Groenewegen, H.J. & Berendse, H.W. Connections of the subthalamic nucleus with ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat. *The Journal of comparative neurology* **294**, 607-622 (1990).
39. Feger, J. & Robledo, P. The Effects of Activation or Inhibition of the Subthalamic Nucleus on the Metabolic and Electrophysiological Activities Within the Pallidal Complex and Substantia Nigra in the Rat. *The European journal of neuroscience* **3**, 947-952 (1991).

40. Parent, A. & Hazrati, L.N. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain research. Brain research reviews* **20**, 91-127 (1995).
41. Yelnik, J. Functional anatomy of the basal ganglia. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **17 Suppl 3**, S15-21 (2002).
42. Filion, M. Effects of interruption of the nigrostriatal pathway and of dopaminergic agents on the spontaneous activity of globus pallidus neurons in the awake monkey. *Brain research* **178**, 425-441 (1979).
43. Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B. & DeLong, M.R. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *Journal of neurophysiology* **72**, 507-520 (1994).
44. Smith, Y. & Kieval, J.Z. Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends in neurosciences* **23**, S28-33 (2000).
45. Aizman, O., *et al.* Anatomical and physiological evidence for D1 and D2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. *Nature neuroscience* **3**, 226-230 (2000).
46. Nambu, A. & Llinas, R. Electrophysiology of globus pallidus neurons in vitro. *Journal of neurophysiology* **72**, 1127-1139 (1994).
47. Kita, H. Responses of globus pallidus neurons to cortical stimulation: intracellular study in the rat. *Brain research* **589**, 84-90 (1992).
48. Hazrati, L.N. & Parent, A. The striatopallidal projection displays a high degree of anatomical specificity in the primate. *Brain research* **592**, 213-227 (1992).
49. Smith, Y. & Parent, A. Neurons of the subthalamic nucleus in primates display glutamate but not GABA immunoreactivity. *Brain research* **453**, 353-356 (1988).
50. Plenz, D. & Kital, S.T. A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus. *Nature* **400**, 677-682 (1999).
51. Bevan, M.D., Magill, P.J., Terman, D., Bolam, J.P. & Wilson, C.J. Move to the rhythm: oscillations in the subthalamic nucleus-external globus pallidus network. *Trends in neurosciences* **25**, 525-531 (2002).
52. Levy, R., *et al.* Re-evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and Parkinsonian states. *Neuroscience* **76**, 335-343 (1997).
53. Hassani, O.K. & Feger, J. 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 (1999).
54. Hemsley, K.M., Farrall, E.J. & Crocker, A.D. Dopamine receptors in the subthalamic nucleus are involved in the regulation of muscle tone in the rat. *Neuroscience letters* **317**, 123-126 (2002).
  55. Liu, P. & Basso, M.A. Substantia nigra stimulation influences monkey superior colliculus neuronal activity bilaterally. *Journal of neurophysiology* **100**, 1098-1112 (2008).
  56. Mendez, J.S. & Finn, B.W. Use of 6-hydroxydopamine to create lesions in catecholamine neurons in rats. *Journal of neurosurgery* **42**, 166-173 (1975).
  57. Langston, J.W., Forno, L.S., Rebert, C.S. & Irwin, I. Selective nigral toxicity after systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain research* **292**, 390-394 (1984).
  58. Mitchell, I.J., Cross, A.J., Sambrook, M.A. & Crossman, A.R. Sites of the neurotoxic action of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the macaque monkey include the ventral tegmental area and the locus coeruleus. *Neuroscience letters* **61**, 195-200 (1985).
  59. Jenner, P., *et al.* 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in the common marmoset. *Neuroscience letters* **50**, 85-90 (1984).
  60. Burns, R.S., *et al.* A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A* **80**, 4546-4550 (1983).
  61. Nicklas, W.J., Vyas, I. & Heikkila, R.E. Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* **36**, 2503-2508 (1985).
  62. Schapira, A.H., *et al.* Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry* **54**, 823-827 (1990).
  63. Cleeter, M.W., Cooper, J.M. & Schapira, A.H. Irreversible inhibition of mitochondrial complex I by 1-methyl-4-phenylpyridinium: evidence for free radical involvement. *Journal of neurochemistry* **58**, 786-789 (1992).
  64. Schwab, R.S., England, A.C., Jr., Poskanzer, D.C. & Young, R.R. Amantadine in the treatment of Parkinson's disease. *Jama* **208**, 1168-1170 (1969).
  65. Spiegel, E.A., Wycis, H.T., Marks, M. & Lee, A.J. Stereotaxic Apparatus for Operations on the Human Brain. *Science* **106**, 349-350 (1947).

66. Benabid, A.L., Pollak, P., Louveau, A., Henry, S. & de Rougemont, J. Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease. *Appl Neurophysiol* **50**, 344-346 (1987).
67. Limousin, P., *et al.* Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet* **345**, 91-95 (1995).
68. Krack, P., *et al.* Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *The New England journal of medicine* **349**, 1925-1934 (2003).
69. Breit, S., Schulz, J.B. & Benabid, A.L. Deep brain stimulation. *Cell Tissue Res* **318**, 275-288 (2004).
70. Benabid, A.L., *et al.* [Treatment of Parkinson tremor by chronic stimulation of the ventral intermediate nucleus of the thalamus]. *Rev Neurol (Paris)* **145**, 320-323 (1989).
71. Benabid, A.L., *et al.* Acute and long-term effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg* **62**, 76-84 (1994).
72. Benabid, A.L., *et al.* Long-term electrical inhibition of deep brain targets in movement disorders. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **13 Suppl 3**, 119-125 (1998).
73. Moro, E., *et al.* The impact on Parkinson's disease of electrical parameter settings in STN stimulation. *Neurology* **59**, 706-713 (2002).
74. Romito, L.M., *et al.* Bilateral high frequency subthalamic stimulation in Parkinson's disease: long-term neurological follow-up. *J Neurosurg Sci* **47**, 119-128 (2003).
75. Dostrovsky, J.O. & Lozano, A.M. Mechanisms of deep brain stimulation. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **17 Suppl 3**, S63-68 (2002).
76. Deuschl, G., *et al.* A randomized trial of deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *The New England journal of medicine* **355**, 896-908 (2006).
77. Follett, K.A., *et al.* Pallidal versus subthalamic deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *The New England journal of medicine* **362**, 2077-2091 (2010).
78. Williams, A., *et al.* Deep brain stimulation plus best medical therapy versus best medical therapy alone for advanced Parkinson's disease (PD SURG trial): a randomised, open-label trial. *The Lancet. Neurology* **9**, 581-591 (2010).

79. Anderson, V.C., Burchiel, K.J., Hogarth, P., Favre, J. & Hammerstad, J.P. Pallidal vs subthalamic nucleus deep brain stimulation in Parkinson disease. *Archives of neurology* **62**, 554-560 (2005).
80. Okun, M.S., *et al.* Cognition and mood in Parkinson's disease in subthalamic nucleus versus globus pallidus interna deep brain stimulation: the COMPARE trial. *Annals of neurology* **65**, 586-595 (2009).
81. Odekerken, V.J., *et al.* Subthalamic nucleus versus globus pallidus bilateral deep brain stimulation for advanced Parkinson's disease (NSTAPS study): a randomised controlled trial. *The Lancet. Neurology* **12**, 37-44 (2013).
82. Voges, J., *et al.* Thirty days complication rate following surgery performed for deep-brain-stimulation. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **22**, 1486-1489 (2007).
83. McIntyre, C.C., Savasta, M., Kerkerian-Le Goff, L. & Vitek, J.L. Uncovering the mechanism(s) of action of deep brain stimulation: activation, inhibition, or both. *Clin Neurophysiol* **115**, 1239-1248 (2004).
84. Beurrier, C., Bioulac, B., Audin, J. & Hammond, C. High-frequency stimulation produces a transient blockade of voltage-gated currents in subthalamic neurons. *Journal of neurophysiology* **85**, 1351-1356 (2001).
85. Magarinos-Ascone, C., Pazo, J.H., Macadar, O. & Buno, W. High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus silences subthalamic neurons: a possible cellular mechanism in Parkinson's disease. *Neuroscience* **115**, 1109-1117 (2002).
86. Dostrovsky, J.O., *et al.* Microstimulation-induced inhibition of neuronal firing in human globus pallidus. *Journal of neurophysiology* **84**, 570-574 (2000).
87. Zucker, R.S. & Regehr, W.G. Short-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology* **64**, 355-405 (2002).
88. Montgomery, E.B., Jr. & Baker, K.B. Mechanisms of deep brain stimulation and future technical developments. *Neurol Res* **22**, 259-266 (2000).
89. Paxinos, G., Watson, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press (1996).
90. Bjarkam, C.R., Pedersen, M. & Sorensen, J.C. New strategies for embedding, orientation and sectioning of small brain specimens enable direct correlation to MR-images, brain atlases, or use of unbiased stereology. *J Neurosci Methods* **108**, 153-159 (2001).
91. Sorensen, J.C., Bjarkam, C.R., Danielsen, E.H., Simonsen, C.Z. & Geneser, F.A. Oriented sectioning of irregular tissue blocks in relation to computerized



- scanning modalities: results from the domestic pig brain. *J Neurosci Methods* **104**, 93-98 (2000).
92. Larsen, M., Bjarkam, C.R., Ostergaard, K., West, M.J. & Sorensen, J.C. The anatomy of the porcine subthalamic nucleus evaluated with immunohistochemistry and design-based stereology. *Anat Embryol (Berl)* **208**, 239-247 (2004).
  93. Kaneoke, Y. & Vitek, J.L. Burst and oscillation as disparate neuronal properties. *J Neurosci Methods* **68**, 211-223 (1996).
  94. Benazzouz, A., Piallat, B., Pollak, P. & Benabid, A.L. Responses of substantia nigra pars reticulata and globus pallidus complex to high frequency stimulation of the subthalamic nucleus in rats: electrophysiological data. *Neuroscience letters* **189**, 77-80 (1995).
  95. Burbaud, P., Gross, C., Benazzouz, A., Coussemaeq, M. & Bioulac, B. Reduction of apomorphine-induced rotational behaviour by subthalamic lesion in 6-OHDA lesioned rats is associated with a normalization of firing rate and discharge pattern of pars reticulata neurons. *Experimental brain research* **105**, 48-58 (1995).
  96. Shi, L.H., Luo, F., Woodward, D.J. & Chang, J.Y. Basal ganglia neural responses during behaviorally effective deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats performing a treadmill locomotion test. *Synapse* **59**, 445-457 (2006).
  97. Benazzouz, A., *et al.* Effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus on the neuronal activities of the substantia nigra pars reticulata and ventrolateral nucleus of the thalamus in the rat. *Neuroscience* **99**, 289-295 (2000).
  98. Filion, M. & Tremblay, L. Abnormal spontaneous activity of globus pallidus neurons in monkeys with MPTP-induced parkinsonism. *Brain research* **547**, 142-151 (1991).
  99. Murer, M.G., Riquelme, L.A., Tseng, K.Y. & Pazo, J.H. Substantia nigra pars reticulata single unit activity in normal and 6OHDA-lesioned rats: effects of intrastriatal apomorphine and subthalamic lesions. *Synapse* **27**, 278-293 (1997).
  100. Ryu, S.B., *et al.* Neuronal Responses in the Globus Pallidus during Subthalamic Nucleus Electrical Stimulation in Normal and Parkinson's Disease Model Rats. *The Korean journal of physiology & pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology* **17**, 299-306 (2013).

## **7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde in der Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt Neurodegenerative Erkrankungen (HIH) unter Betreuung von Herrn PD Dr. Sorin Breit durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn PD Dr. Sorin Breit.

Die Versuche wurde nach Einarbeitung durch die Doktorandin Peggy Heide, sowie durch den Betreuer und Doktorvater PD Dr. Sorin Breit von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch PD Dr. Sorin Breit eigenständig.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Die Datenrecherche für die vorliegende Dissertation wurde selbstständig durchgeführt.

Für die histologische Präparation wurden die Rattengehirne in das anatomische Institut nach Århus (Dänemark) verschickt und die histologische Aufarbeitung wurde durch Herrn Dr. Bjarkam durchgeführt.

Die Herstellung des Faraday-Käfigs, sowie die zwei Elektrodenhalterungen (Siebe) erfolgten in Kooperation mit dem Feinmechanik-Labor der Augenklinik Tübingen.

## 8 Danksagung

Vielen Dank möchte ich meinem Doktorvater und Betreuer Herrn PD Dr. Sorin Breit für das interessante Thema und die Unterstützung während der Versuche und der Auswertungsphase aussprechen.

Ferner danke ich dem anatomischen Institut in Århus, insbesondere dem Mitarbeiter Herrn Dr. Bjarkam, in dessen Kooperation die histologische Aufarbeitung der Gehirne durchgeführt wurden.

Weiterhin danke ich Herrn Willmann aus dem Feinmechanik-Labor der Augenklinik an der Universität Tübingen für die Herstellung der Führungssiebe zur Ableitung mittels einer CNC-Fräse, sowie des Faraday-Käfigs.

Meiner Ehefrau Dr. Mirjam Schäuffele und unseren zwei Kindern danke ich für den familiären Rückhalt während der Verfassung der Dissertation.

Herzlichen Dank möchte ich auch an meine Schwestern Dorit und Gudrun, sowie Herrn Dipl. Ing. Raphael Adamietz und meiner Ehefrau Dr. Mirjam Schäuffele für das Korrekturlesen aussprechen.

Abschließend möchten ich noch meinen Eltern danken, die mir mein Medizinstudium ermöglichten und mich auch sonst immer unterstützt haben.