

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Physiologie I (Neurophysiologie)
Geschäftsführender Direktor:
Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape

**Laterale Erregungsausbreitung in der
Hirnrinde bei Reizung spezifischer
sensorischer Afferenzen (Ratte).**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms- Universität Münster

vorgelegt von

Bleis, Hannah-Lena

aus Bremen

2019

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms- Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Mathias Herrmann

1. Berichterstatter: Univ. -Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. L. Eckardt

Tag der mündlichen Prüfung: 08.08.2019

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Physiologie I (Neurophysiologie)
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H.-C. Pape
Referent: Univ.-Prof. Dr. E.-J. Speckmann
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. L. Eckardt

ZUSAMMENFASSUNG

Laterale Erregungsausbreitung in der Hirnrinde bei Reizung spezifischer sensorischer Afferenzen (Ratte).

Bleis, Hannah-Lena

Die Fragestellung dieser Arbeit ist, ob eine laterale Erregungsausbreitung bei Aktivierung des primär-sensorischen Hirnrinden-Areals in angrenzende primär-motorische und sekundär-somatosensorische Hirnrinden-Areale direkt stattfindet. Die Untersuchungen wurden mit konventionellen, evozierten Potentialen und unter Einsatz von spannungsempfindlichen Farbstoffen durchgeführt. Die Aktivierung der afferenten Systeme erfolgte durch elektrische Einzelimpulse.

Es ergab sich, dass in allen Versuchen eine laterale Erregung unabhängig von der Aktivierungsstärke und dem neuronalen Erregungsniveau nachgewiesen werden konnte. Die durch afferente Reizung ausgelöste Erregung ist innerhalb der infragranulären Schichten ausgeprägter als in den supragranulären. Vor allem ortsnah zur Stimulations-elektrode ist dies besonders im primär-somatosensorischen Areal deutlich. Die Tendenz geht dahin, dass mit dem Abstand zur Stimulationselektrode die neuronale Erregung abnimmt. Vor allem im flächenmäßig ausgedehnten sekundär-somatosensorischen Kortex ist die Erregung umso stärker, je weiter medial zum primär-somatosensorischen Kortex eine Aktivität abläuft. Um eine rekurrente Verbindung zum Thalamus und damit eine indirekte laterale Erregungsausbreitung über den thalamischen „Umweg“ auszuschließen, wurde die Verbindung zwischen Thalamus und Kortex vor Versuchsbeginn durchtrennt. Folglich erfolgt die Weiterleitung der evozierten Erregungen direkt in lateral angrenzende Areale. Ferner ergab sich, dass sich die lateralen Erregungsausbreitungen in die primär-motorischen und sekundär-somatosensorischen Hirnrinden-Areale nicht merklich unterscheiden.

Insgesamt sind offensichtlich die Sensorik und Motorik bereits auf der Ebene der Großhirnrinde eng miteinander gekoppelt. Die tierexperimentelle Arbeit wurde mit dem Schreiben vom 14.02.2017 (AZ: 84-02.05.20.13.027, Kopie siehe 9.) genehmigt.

Tag der mündlichen Prüfung: 08.08.2019

EIDESSTAATLICHE ERKLÄRUNG

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Dissertation mit dem Titel: „Laterale Erregungsausbreitung in der Hirnrinde bei Reizung spezifischer sensorischer Afferenzen (Ratte)“

im:

Institut für Physiologie 1
(Neurophysiologie)

des Universitätsklinikums Münster

unter der Anleitung von:

Univ.-Prof. Dr. med. E.-J. Speckmann

1. selbstständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen angefertigt und sonst kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen habe,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Bleis, Hannah-Lena



Münster, 08.08.2019

Die vorliegende Arbeit ist der Wissenschaft gewidmet.

Inhalt

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	9
2.1 Versuchstiere	9
2.2 Narkose und Dekapitation	9
2.3 Präparation des Gehirns	11
2.4 Herstellung der Hirnschnitte	12
2.5 Aufbewahrung der Hirnschnitte und physiologische Lösungen	29
2.6 Färben der Schnitte	31
2.7 optischer Platz mit Versuchskammer	33
2.8 Elektrophysiologische Technik zur Evokation und Registrierung von Feldpotentialänderungen in Neuronen Populationen	36
2.9 Optische Technik zur Registrierung von Membranpotentialänderungen in Neuronen Populationen	38
2.10 Versuchsanordnung	43
2.11 Versuchsprotokoll	47
2.12 Auswertung und Darstellung der Messergebnisse	49
3. Ergebnisse	51
3.1 Versuch 1	51
3.2 Versuch 2	58
3.3 Versuch 3	77
3.4 Versuch 4	98
3.5 Versuch 5	119
3.6 Versuch 6	138
3.7 Zusammenfassende Beschreibung der Messergebnisse	161
4. Diskussion	164
4.1 Zielsetzung	164
4.2 Evaluation der Ergebnisse	164

4.3	Ergebnisse in der Literatur	165
4.3a	Anatomie Mensch und Ratte	165
4.3b	Funktion und Forschungslage	170
4.4	Schlussfolgerung	171
5.	Zusammenfassung	172
6.	Literatur	173
7.	Danksagung	178
8.	Lebenslauf	179
9.	Anhang	I - III
	Anzeige nach §4 Abs. 3 Tierschutzgesetz	I
	Abbildungsverzeichnis	II
	Tabellenverzeichnis	III

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit stammt aus dem Gebiet der Neurowissenschaften und ist ausgerichtet auf das System der somato-viszeralen Sensibilität als Teilgebiet des sensorischen Systems des Menschen. Zunächst stellt sich die Frage, was das sensorische System ist und wofür wir es brauchen. Das sensorische System stellt die Fähigkeit des Menschen, äußere und innere Reize wahrzunehmen: zu tasten, fühlen, schmecken, riechen, hören und sehen. Ohne das sensorische System kann der menschliche Organismus nicht überleben. Es ist die Voraussetzung für ein „lebendes“ Gehirn und somit einen lebenden Menschen (Speckmann 2017, S. 24-36).

Um zu leben und seine Funktionen aufrecht zu erhalten, ist das Gehirn auf Energie angewiesen. Diese Energie muss das Gehirn selbstständig produzieren. Dazu ist, zum Beispiel, die Aufnahme von Kohlenhydraten, Fetten, und Eiweißen notwendig, die in der Umwelt enthalten sind. Voraussetzung zur Nutzung dieser Stoffe ist, dass die Nahrung primär gesehen und dann mit den Händen oder Hilfswerkzeugen, wie einer Gabel, dem Mund zugeführt wird. Über den Mund und das angeschlossene Magen-Darm-System gelangt die Nahrung weiter in den systemischen Kreislauf und somit letztlich zum Gehirn. Das Sehen und Tasten ist Teil des sensorischen Systems des Menschen. Der Mensch ist also gleichermaßen Teil der Umwelt wie auf die Umwelt angewiesen (Speckmann 2017, S. 24-47).

Zur Verdeutlichung dient, als Beispiel, das mit Schinken und Butter belegte Frühstücksbrötchen, welches alle Substrate, Eiweiße, Kohlenhydrate und Fette enthält (Speckmann 2017, S. 26). Liegt es auf dem Tisch, muss es primär vom Menschen mit den Augen und/oder den tastenden Händen gemerkt werden. Durch diesen Akt wird das Brötchen zur Merk-Welt. Im Anschluss muss das Brötchen genommen und gegessen werden, beschrieben durch die Wirk-Welt, welche durch das Greifen motorischer Natur ist. Die Gesamtheit von Merk-Welt und Wirk-Welt bildet unsere Umwelt (Speckmann 2017, S. 22-47).

Welche sensorischen Teilsysteme hat der Mensch zur Verfügung? Diese Frage soll im Weiteren geklärt werden. Der Mensch verfügt über unterschiedliche sensorische Systeme: das visuelle, das auditorische, das gustatorische, das olfaktorische, das vestibuläre sowie das somato-viszerale System. Diese Teilsysteme lassen sich weiter in Sinneskanäle und zugehörige Empfindungen gliedern (Speckmann 2017, Tab. S. 102). Zum visuellen Sinneskanal gehört die Wahrnehmung „Sehen“, zum auditorischen Sinneskanal die Wahrnehmung „Hören“, zum gustatorischen Sinneskanal die Wahrnehmung „Schmecken“, zum olfaktorischen System die Wahrnehmung „Riechen“ und zum vestibulären System die Wahrnehmung „Empfindung von Beschleunigungen“. Das System der somato-viszeralen Sensibilität gliedert sich wiederum in drei Teilgebiete mit jeweiligen Sinneskanälen und Wahrnehmungen, welche im Folgenden genauer betrachtet werden (Speckmann 2017, Tab. S. 102).

Allen dieser genannten Teilsysteme ist gemein, dass sie äußerst spezifische Sinnesrezeptoren und spezifische Wege der Informations-Weiterleitung haben, welche in topographisch fest zugeordnete Areale in der Hirnrinde projizieren. Insgesamt handelt es sich also um spezifische Sinnessysteme. Neben dem spezifischen sensorischen System des Menschen existieren auch unspezifische Systeme (Speckmann 2017, S. 157). Sowohl über spezifische Projektionen in die Hirnrinde als auch über unspezifische Projektionen verarbeitet das menschliche Gehirn Informationen. Unspezifische Systeme nehmen ihren Ausgang nicht von definierten Rezeptoren der Teilsysteme, sondern erhalten Information aus sämtlichen Nervenfasern, die in das Gehirn aufsteigen. Somit folgen sie auch nicht dem klassischen Weg der Umschaltstationen, zum Beispiel über die spezifischen Thalamuskern, wie es von den spezifischen Projektionen bekannt ist.

Ferner verfügt das unspezifische System nicht über spezifische Projektionsareale in der Hirnrinde. Es projiziert über das gesamte Gehirn, unabhängig davon, woher die Reizinformationen stammten. Es ist durch Modulatoren, welche ähnlich wie Transmitter an neuronalen Synapsen funktionieren, moduliert. Diese Modulatoren verändern die Weiterleitung und Übertragung der neuronalen Information in ihrer Effektivität, sie haben jedoch keinen Einfluss auf eine An- beziehungsweise Abschaltung dieser. Eric Kandel (2012, S. 422) formulierte es sehr treffend:

“Modulating systems modify the action of mediating systems: they do not turn them on or shut them off. In this way they are like the volume dial, rather than the on-off switch, of a radio.”

Die Modulator-Systeme sind weitläufig und anatomisch oft schwer nachvollziehbar im Nervensystem verzweigt. Ihre Wirkungsentfaltung ist häufig weit von ihrer Bildungsstätte und dem Freisetzungsort ihrer Botenstoffe entfernt (Speckmann 2017, S. 161). Noradrenalin, zum Beispiel, wird, unter anderem, im Nebennieren-Mark gebildet, entfaltet seine Wirkung aber, außer in dem Versorgungsteil unseres Organismus, auch in der, topographisch weiter entfernten, Hirnrinde. Modulatoren lassen sich hinsichtlich ihrer Wirkung klassifizieren in „Glücks-Modulatoren“, „soziale Bindungs-Modulatoren“ und „Stress-Modulatoren“. Den „Glücks-Modulatoren“ Dopamin, Serotonin und den Endorphinen ist eine spezifische, für den Menschen positiv wahrgenommene, effektverstärkende Veränderung der Informations-Weiterleitung gemein, die ihren Namen erklären. Über Dopamin kann eine „Belohnungs- Vorhersage“, über, in das Gehirn aufsteigende Informationen, gegeben werden. Endorphine bewirken eine Schmerzhemmung und Serotonin, unter anderem, eine Vermittlung von „Zufriedenheit“. Bei den „soziale Bindungs-Modulatoren“, wie Oxytozin und Vasopressin, stehen soziale Zuwendung durch Aufbau von Empathie und Vertrauen („mütterliches Verhalten“) im Vordergrund. Zu den „Stress-Modulatoren“ zählen a) Noradrenalin, b) Cortisol und c) Acetylcholin. Ihre, den zentralnervösen Mechanismus „stressenden“, Wirkungseffekte beinhalten a) eine Fokussierung der Aufmerksamkeit und/oder Kreislaufaktivierung, b) eine Aktivierung des Stoffwechsels und c) Lernen und Gedächtnisbildung/Gedächtnisstimulation über muskarinische und hauptsächlich nikotinische Rezeptoren (Speckmann 2017, S. 161-166).

Für die folgenden Untersuchungen wird das System der somato-viszeralen Sensibilität ausgewählt. Unter somato-viszerale Sensibilität fallen folgende Empfindungen: Tastempfindung, Temperaturempfindung und Schmerzempfindung. Die Sinneskanäle gehen von folgenden Rezeptoren aus: Mechanorezeptoren, Thermorezeptoren und Nozizeptoren. Diese Rezeptoren, zum Beispiel in der menschlichen Haut, reagieren auf mechanische, thermische oder nozizeptive Reize und ermöglichen, als „erster Berührungspunkt“ mit der Umwelt oder dem eigenen

Körper, die Registrierung von Reizen. Die Weiterleitung der Reizinformation läuft über Zwischenstationen in das Gehirn, genauer in die Hirnrinde, wo der Reiz zunächst empfunden und dann mit Hilfe des Gedächtnisses wahrgenommen wird (Speckmann 2012, S. 99, S. 102, S. 103, S. 104, S. 105).

Der genaue Informationsweg der Sensorik vom Rezeptor bis in das Gehirn wird anhand der Mechanorezeption, also dem Ertasten eines Frühstücksbrötchen oder einer Rose, zum Beispiel, erläutert. Mechanorezeptoren, zum Beispiel in der Haut der Finger, sind an periphere Nervenfasern angeschlossen, die als sensorische Afferenzen zunächst in das Rückenmark ziehen. Die Zellkörper dieser Nerven sind in sensorischen Ganglien situiert, noch außerhalb des Rückenmarks. Im Rückenmark steigt die Reiz-Information über afferente Nervenfasern bis in die Übergangsregion Rückenmark-Gehirn (Medulla oblongata) auf. Dort liegt ein Neuronen Kerngebiet. In diesen Kernen erfolgt die Umschaltung der primären mechanischen Afferenzen auf nachfolgende Nervenfasern mittels Synapsen. Synapsen bewirken eine Informationsübertragung von Neuron zu Neuron über Transmitter. Diese Informationen ziehen, nach Umschaltung auf das zweite Neuron, weiter zum Thalamus. In seinen spezifischen Kernen erfolgt eine erneute Umschaltung und Weiterleitung zum Gyrus postcentralis der Hirnrinde. Im Gyrus postcentralis kommen die dritten afferenten Neurone in synaptischen Kontakt mit ortsständigen Zellen und werden übertragen auf ein viertes Neuron. Insgesamt leiten also 4 Nervenzellen die sensorische Information vom Rezeptor bis zur Hirnrinde. Ein ungestörter Informationsfluss zwischen diesen Stationen ist die unabdingbare Voraussetzung für Empfindung und Wahrnehmung (Speckmann 2012, S. 99, S. 102, S. 103, S. 104, S. 105).

Die Zellen der Hirnrinde, die für somato-viszerale Sensibilität zuständig sind, liegen beim Menschen in der Windung hinter der Zentralfurche (Sulcus centralis), im Gyrus postcentralis. Dieser Teil der Hirnrinde wird als primäres somato-sensorisches Rindenfeld (S1) bezeichnet und weist die typische 6-schichtige Gliederung der Hirnrinde in funktionelle Kolumnen auf (Luhmann 2013, S. 279). Anhand der Schichten ist die kortikale Erregungsausbreitung innerhalb eines primären Rindenfeldes nachvollziehbar: Afferenzen aus den Thalamuskernen gelangen zunächst in die Schicht IV, dann über Schicht II/III in Schicht V, von Schicht V zu

Schicht VI um dann wieder zurück zum Thalamus geleitet zu werden (Luhmann 2013, S. 279). Die kortikale Informationsverarbeitung beginnt also im primären Rindenfeld als Empfindung und wird über unimodale Assoziationskortex an multimodale Assoziationskortex im parietalen, temporalen, parahippokampalen und zingulären Kortex weitergeleitet, um zu einer Wahrnehmung zu werden. Man spricht von einer sequenziellen und parallelen Informationsverarbeitung (Luhmann 2013, S. 275-289).

Als Neugeborenes sind noch keine Informationen im Gehirn abgespeichert. Der sensorische Reiz verläuft zunächst nur in das zugehörige primäre Rindenareal, wo er lediglich empfunden wird. Im Laufe des Lebens kommt es zu einer immer komplexeren Weiterleitung und Informationsverarbeitung kortikaler Erregung: Durch Lernen und Erfahrung kommt es zur Ausbildung und Verknüpfung von Assoziationsarealen und somit zur Gedächtnisbildung. Die Verknüpfung einer bloßen Empfindung mit Assoziationen aus dem Gedächtnis führt zur Wahrnehmung. Eine Empfindung bekommt somit auch emotionale Bedeutung (Speckmann 2017, S. 149, S. 167-178).

Ausgangspunkt für die folgenden Untersuchungen ist die Fragestellung der lateralen Erregungsausbreitung in der Hirnrinde bei Reizung spezifischer sensorischer Afferenzen (Ratte). Mit spezifischen sensorischen Afferenzen sind die sensorischen „3.Neurone“, die zuvor in den spezifischen Thalamuskernen umgeschaltet wurden, gemeint. Experimentell untersucht wird die Erregungs-Ausbreitung dieser spezifischen Neurone, bei Reizung unmittelbar vor Eintritt in die Hirnrinde. Außen vor bleiben so möglichst viele der, oben beschriebenen, unspezifischen Neurone, die unter Umgehung des Thalamus direkt in die Hirnrinde und/oder subkortikale Regionen laufen und Ergebnisse verfälschen könnten. Interessant ist, ob Erregung nur in Schicht IV innerhalb der funktionellen Kolumnen des sensorischen Kortex-Areals oder auch in lateral angrenzenden Rindenarealen, ohne vorherige Rückkehr über den Thalamus (über Schicht VI), stattfindet.

Diese Fragestellung soll tierexperimentell mit Ratten untersucht werden. Bisher gibt es in der Forschung gute Erfahrungen mit Rattenversuchen und aufgrund ihrer ausgeprägten Somatosensorik eignen sich diese Tiere sehr gut zu Beantwortung der

Fragestellung dieser Arbeit. Im Hinblick auf die Untersuchungstechnik stehen grundsätzlich zwei Methoden zur Verfügung. Zum einen Feldpotentiale, zum anderen die Membranpotentiale vieler Neurone in einer Population mit Hilfe spannungsempfindlicher Farbstoffe. Zur Begründung der Auswahl dieser Technik werden im Folgenden die Entstehungsmechanismen der Feldpotentiale und die Wirkungsweise der spannungsempfindlichen Farbstoffe beschrieben.

Feldpotentiale sind Potentiale im Umfeld von Nervenzellen, die sich mittels extrazellulären Elektroden ableiten lassen (Köhling et al. 2013, S. 250). Die Entstehung von Feldpotentialen lässt sich in drei Schritten zusammenfassen. Schritt 1: Das Ruhemembranpotential ist zunächst innerhalb der gesamten Nervenzelle gleich. Die Aktivierung einer exzitatorischen Synapse, zum Beispiel im oberen Teil der Nervenzelle, führt zum Einstrom positiv geladener Ionen. Schritt 2: Durch den Kationen Einstrom wird das Membranpotential an dieser Stelle der Nervenfasern vermindert, es entsteht ein Potentialgefälle im Intra- und Extrazellulärraum entlang der Membran. Schritt 3: Dieses Potentialgefälle löst Längsströme von Kationen intra- und extrazellulär entlang der Nervenzellmembran aus. Extrazellulär fließen sie über den Widerstand, den der Extrazellulärraum für den Ionenfluss darstellt. Es kommt zu Spannungsunterschieden und somit zur Generierung des Feldpotentials (Speckmann 2012, S. 58-61).

Folgern lässt sich daraus, dass Feldpotentiale als sekundäre Feldeffekte gemessen werden, da keine direkte Messung der Veränderung des Membranpotentials erfolgt, sondern sekundär der Spannungsabfall am Widerstand, hervorgerufen durch die extrazellulären Ionenströme, gemessen wird. Feldpotentiale erlauben also keinen genauen Rückschluss auf den ursprünglichen Ort der Erregungs-Entstehung, sie sind weitestgehend Erregungsort-unspezifisch und im Prinzip unendlich weit ausgedehnt (Speckmann 2012, S. 60, S. 175; Köhling et al. 2013, S. 250-253; Speckmann et al. 2015, S. 60-70; Speckmann et al. 2011, S. 17-31).

Bei den spannungsempfindlichen Farbstoffen (Voltage Sensitive Dyes VSD) hingegen erfolgt ein direktes, simultanes Messen der Membranpotentiale. Diese Methode ist also äußerst Erregungsort-spezifisch (Grundsätzliche Beschreibungen zitiert nach Speckmann 2012 S. 162-182; Cohen and Salzberg 1978; Ebner and

Chen 1985; Köhling et al. 2000, 2002; Straub et al. 2003; Grinvald and Hildesheim 2004; Petsche et al. 1978).

Die Wirkungsweise der VSD funktioniert wie folgt: Zunächst wird ein spannungssensitiver Farbstoff in die Doppellipidmembran der Nervenzellen eingebracht. Dann werden diese mit Licht einer farbstoffspezifischen Wellenlänge bestrahlt. Korrespondierend zur Membranpotential-Änderung ändert sich die Fluoreszenz des Farbstoffs: Eine Depolarisation führt zu einer Abnahme, eine Hyperpolarisation zu einer Zunahme der Fluoreszenz. Mithilfe eines Mikroskops und Fotodioden („Belichtungsmesser“) können diese Veränderung und somit die Membranpotentiale ortsspezifischer Neurone bestimmt werden. Beim VSD-Verfahren erfolgt die zeitliche Auflösung in Millisekunden. (Speckmann 2012, Abbildung 6.6, S. 176, S. 175- S. 182; Grundsätzliche Beschreibungen zitiert nach Broicher und Speckmann 2012; Cohen and Salzberg 1978; Ebner and Chen 1985; Köhling et al. 2000, 2002; Straub et al. 2003; Grinvald and Hildesheim 2004, S. 162-182)

Durch die kurze Einleitung zu diesen beiden Techniken wird deutlich, dass sich, zur Untersuchung der Fragestellung, die Methode der VSD besser eignet als die Registrierung von Feldpotentialen. Da die VSD Membranpotenzialschwankungen aufzeigen, erlauben sie die Registrierung exakter ortsgerechter Nervenzellerregung. Eine Fluoreszenzausbreitung in unterschiedliche Areale ist also ein Beweis für neuronale Aktivität in genau diesen Bereichen. Somit ist eine mögliche laterale Erregungsausbreitung innerhalb von Millisekunden feststellbar. Im Gegensatz dazu stellen Feldpotential-Ableitungen die elektrische Summation unendlich vieler Nervenzellen raumübergreifend dar. Sie liefern weder einen genauen Aufschluss über den Ort der Entstehung des elektrischen Potentials, noch liefern sie mit Sicherheit einen richtigen Messwert: Kommt es versehentlich zur Elektrodenplatzierung direkt über dem extrazellulären Widerstand, ist das elektrische Potenzial gleich null, obwohl Feldpotentiale elektrisch erregter Nervenzellen theoretisch da sind (Speckmann 2012, S. 162-182).

Zusammenfassend besteht das Ziel dieser Untersuchung darin, die Erregungsausbreitung spezifischer sensorischer Afferenzen in der Hirnrinde direkt und lokal zu untersuchen. Die Reizung erfolgt unmittelbar am Eingang zur Hirnrinde.

Dadurch ist gewährleistet, dass ein Großteil der Afferenzen des unspezifischen Systems ausgeklammert bleibt.

2. Material und Methoden

Im Folgenden werden Material und Methodik der Experimente erläutert.

2.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden Gehirnschnitte von männlichen und weiblichen Ratten vom Typ „Wistar Unilever“ verwendet (Firma Envigo, Horst, Limburg, NL). Die Tiere sind ausgewachsen und haben ein Durchschnittsgewicht von 300-400g.

Die Genehmigung der Bezirksregierung Münster, für die tierexperimentellen Versuche, liegt vor (AZ: 84-02.05.20.13.027, Kopie siehe 9.).

2.2 Narkose und Dekapitation

Um das zu untersuchende Hirn-Gewebe zu erhalten und die Vitalität für die Versuche zu sichern, bedarf es einer strikten, zeitlich genau getakteten Schrittabfolge: Zunächst muss das Tier narkotisiert werden, damit das Gehirn entnommen werden kann. Dies geschieht im Narkosegefäß (Abb. 2.1), befindlich im Digestorium (Abb. 2.2), mittels Isofluran (AbbVie Deutschland GmbH & Co.KG, Ludwigshafen). In das Narkosegefäß werden 5-10 Tropfen (20 Tropfen = 1 ml) Isofluran geträufelt, die Ratte anschließend überführt und das Gefäß mit einem Kolben luftdicht verschlossen. Nach ein paar Minuten im Narkosegefäß, wird der Narkosestatus überprüft. Das Tier sollte ruhig auf der Seite liegen, sich nicht mehr bewegen und auf Berührung mit der Pinzette keine Reaktion zeigen. Erst wenn das Tier tief narkotisiert ist, kann es versetzt werden in das Dekapitationsgerät.



Abb. 2.1 Narkosegefäß im Digestorium
(Institut für Physiologie I, Münster 2017)



Abb. 2.2 Narkosegefäß vergrößert
(Institut für Physiologie I, Münster 2017)

In tiefer Narkose erfolgt die Dekapitation: das Tier wird so ausgerichtet, dass der Übergang Kopf/Hals zum Rumpf unter der Schneide liegt. Durch ein schnelles, kräftiges, Herunterdrücken des Schneidemessers wird der Kopf der Ratte vom restlichen Körper abgetrennt und im Anschluss auf eine Eisplatte gelegt. Mit Hilfe eines Skalpells wird das Kopffell durch einen Median-Sagittalschnitt geschlitzt und die darunter liegende Schädeldecke aufgebrochen. Unter Spülung mit ACSF (artificial cerebrospinal fluid, Yamamoto I-Versuchslösung, Tab. 2.1), wird das Gehirn von Calvaria und Hirnhäuten frei-präpariert und kann dem Kopf entnommen werden.

2.3 Präparation des Gehirns

Im nächsten Schritt wird das Gehirn so präpariert, dass die, für die Versuche relevanten, Hirnstrukturen dargestellt sind. Auf einer gekühlten, mit ACSF (Yamamoto-I-Lösung) beschichteten, Glasplatte werden die Bulbi olfactorii und das Cerebellum mittels eines Skalpell entfernt. Anschließend wird das Gehirn durch einen Median-Sagittalschnitt geteilt in linke und rechte Hemisphäre (Abb. 2.4). Durch die Kühlung bleibt das Gewebe formstabil und gut schneidbar. Gleichzeitig wird durch die Kühlung der Hirnstoffwechsel reduziert. Abb. 2.3 zeigt schematisch das Gehirn der Ratte, Abb. 2.4 die oben beschriebene Trennprozedur.

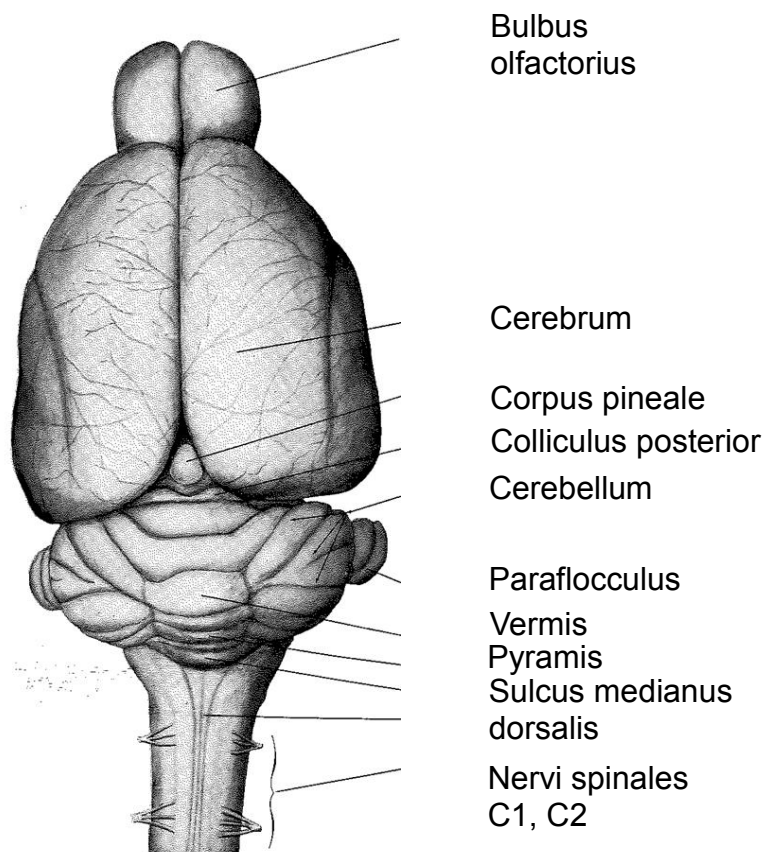


Abb. 2.3 Gehirn Ratte von dorsal. C1, C2: Zervikalsegment 1 und 2 (Zeman and Innes, 1963, S. 22).

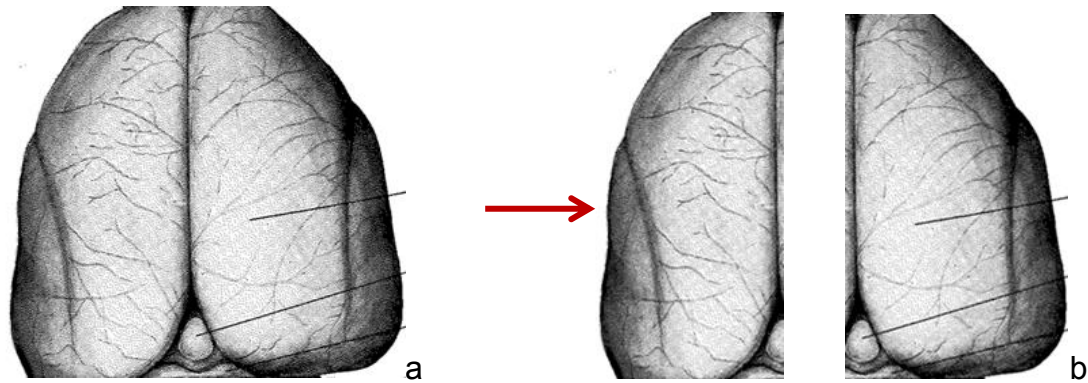


Abb. 2.4 a) Gehirn nach Entfernen des Riechhirns und Kleinhirns; b) linke und rechte Hemisphäre (modifiziert nach Zeman and Innes, 1963, S. 22).

2.4 Herstellung der Hirnschnitte:

Im Kontext der Fragestellung dieser Arbeit ist es wichtig, die Regionen festzulegen, aus denen die Frontalschnitte gewonnen werden sollen. Dazu dienen die folgenden schematischen Abbildungen der rechten Rattenhirn-Hemisphäre. Die linke Hemisphäre verhält sich weitestgehend analog. Die Abbildungen (Abb. 2.5a-l) zeigen, wie der primär-somatosensorische Kortex und die angrenzenden motorischen und sekundär-somatosensorischen Kortizes topographisch gegliedert sind:

Abb. 2.5 Übersicht über die funktionellen Hirnrindenareale bei der Ratte. Die verwendeten Daten: Paxinos, G. and Watson, C. 1998, London, UK, 1998, unter Hinzuziehung von: Tracey 2004, S. 797-807 und Zeman and Innes 1963.

Abb. 2.5a Zusammenfassung aller motorischen und sensorischen Rindenfelder; dorsale Ansicht.

- ◆ M2 sekundärer motorischer Kortex (secondary motor cortex) M2
 - M1 primärer motorischer Kortex (primary motor cortex) M1
 - ▲ S1J primärer somatosensorischer Kortex, Kiefer (primary somatosensory cortex, jaw region) S1J
 - × S1JO primärer somatosensorischer Kortex, Kinn und seitlicher Kopf (primary somatosensory cortex, jaw region, oral surface) S1JO
 - ✱ S1FZ primärer somatosensorischer Kortex, Vorderpfoten (primary somatosensory cortex, forelimb region) S1FL
 - S1DZ primärer somatosensorischer Kortex, agranuläre Zone (primary somatosensory cortex, dysgranular region) S1DZ
 - + S1ULP primärer somatosensorischer Kortex, Oberlippe (primary somatosensory cortex, upper lip region) S1ULP
 - S1HL primärer somatosensorischer Kortex, Hinterpfoten (primary somatosensory cortex, hindlimb region) S1HL
 - S1BF primärer somatosensorischer Kortex, Vibrissen (primary somatosensory cortex, barrel field) S1BF
 - ◆ S1Tr primärer somatosensorischer Kortex, Rumpf (primary somatosensory cortex, trunk region) S1Tr
 - S2 sekundärer somatosensorischer Kortex (secondary somatosensory cortex) S2
- X-Achse = Abstand zur Sutura sagittalis in mm (0 mm – 10 mm)
Y-Achse = Abstand zu Bregma in mm (-0,5 mm bis +0,5 mm)
Bregma = Schnittpunkt Sutura coronalis und Sutura sagittalis

Abb. 2.5a Zusammenfassung aller motorischen und sensorischen Rindenzellen; dorsale Ansicht.

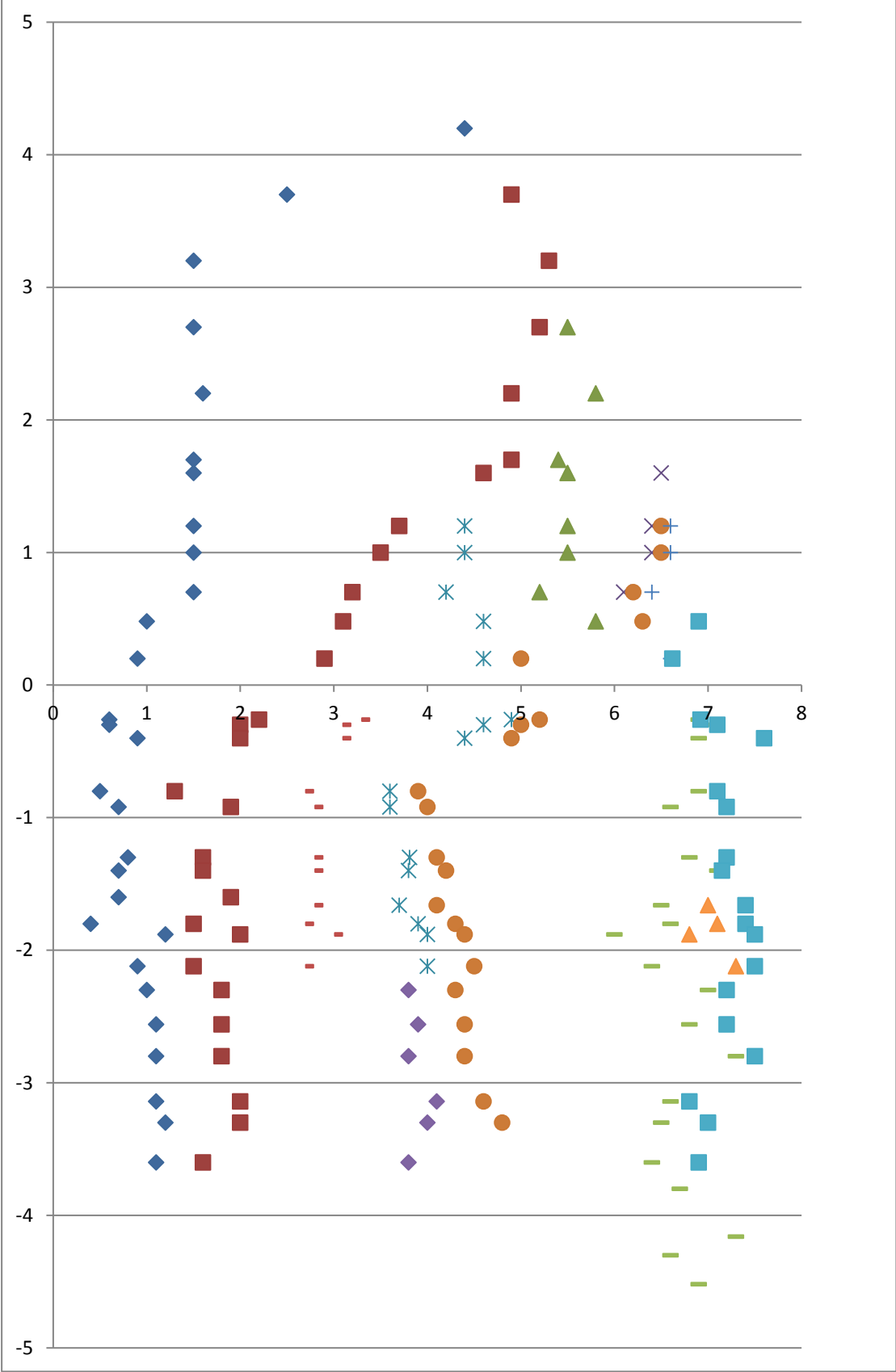


Abb. 2.5b-I Detaillierte Darstellung der einzelnen Rindenfelder von frontomedial nach dorsolateral.

- mediale Begrenzung des entsprechenden Areals
- ◆ laterale Begrenzung des entsprechenden Areals
- ▲ laterale Begrenzung des Gehirns

Abb. 2.5b sekundärer motorischer Kortex (secondary motor cortex) M2

Abb. 2.5c primärer motorischer Kortex (primary motor cortex) M1

Abb. 2.5d primärer somatosensorischer Kortex, Kiefer (primary somatosensory cortex, jaw region) S1J

Abb. 2.5e primärer somatosensorischer Kortex, Kinn und seitlicher Kopf (primary somatosensory cortex, jaw region, oral surface) S1JO

Abb. 2.5f primärer somatosensorischer Kortex, Vorderpfoten (primary somatosensory cortex, forelimb region) S1FL

Abb. 2.5g primärer somatosensorischer Kortex, agranuläre Zone (primary somatosensory cortex, dysgranular region) S1DZ

Abb. 2.5h primärer somatosensorischer Kortex, Oberlippe (primary somatosensory cortex, upper lip region) S1ULP

Abb. 2.5i primärer somatosensorischer Kortex, Hinterpfoten (primary somatosensory cortex, hindlimb region) S1HL

Abb. 2.5j primärer somatosensorischer Kortex, Vibrissen (primary somatosensory cortex, barrel field) S1BF

Abb. 2.5k primärer somatosensorischer Kortex, Rumpf (primary somatosensory cortex, trunk region) S1Tr

Abb. 2.5l sekundärer somatosensorischer Kortex (secondary somatosensory cortex) S2

Abb. 2.5b Sekundärer motorischer Kortex (secondary motor cortex) M2

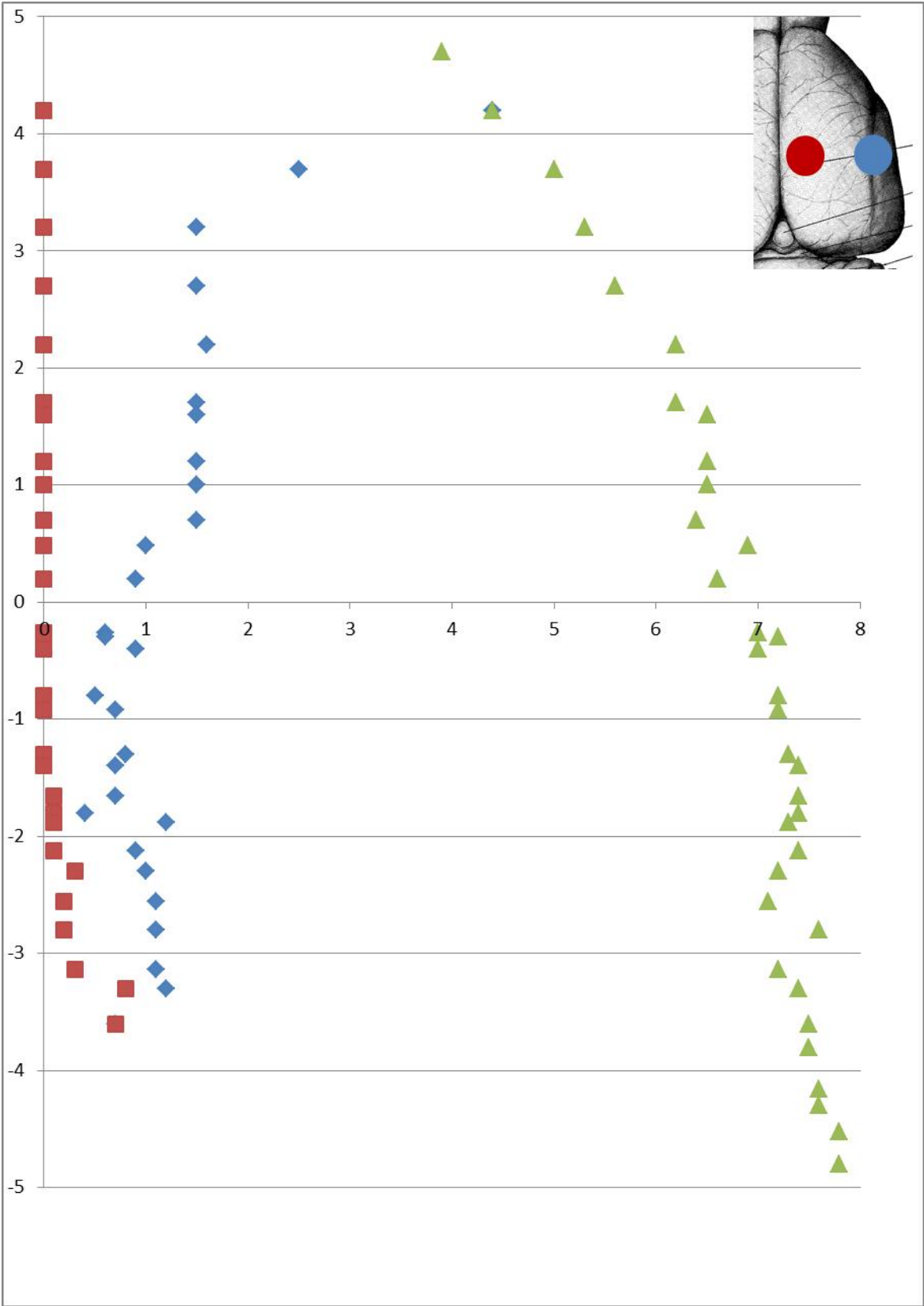


Abb. 2.5c Primärer motorischer Kortex (primary motor cortex) M1

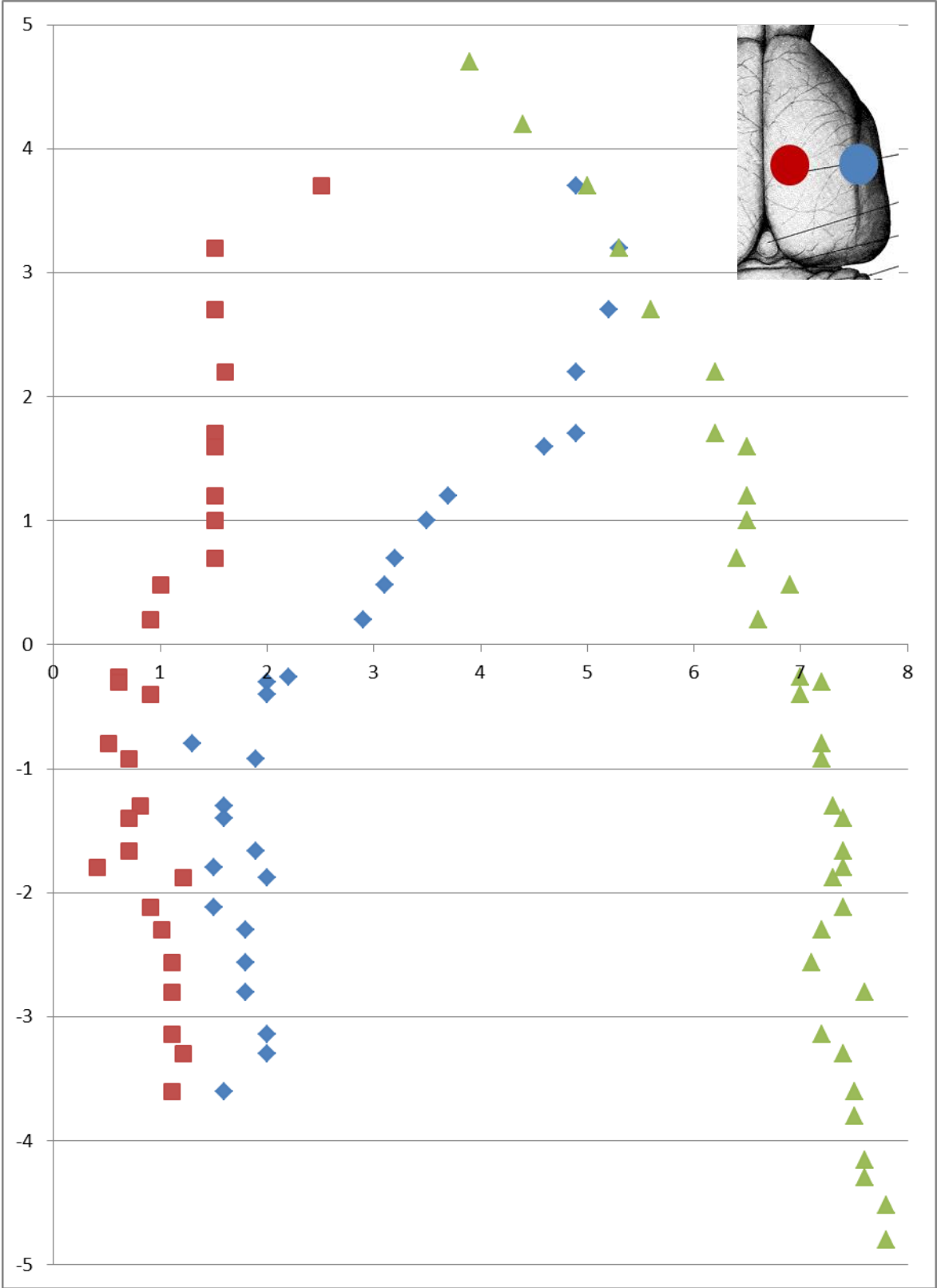


Abb. 2.5d Primärer somatosensorischer Kortex, Kiefer (primary somatosensory cortex, jaw region) S1J

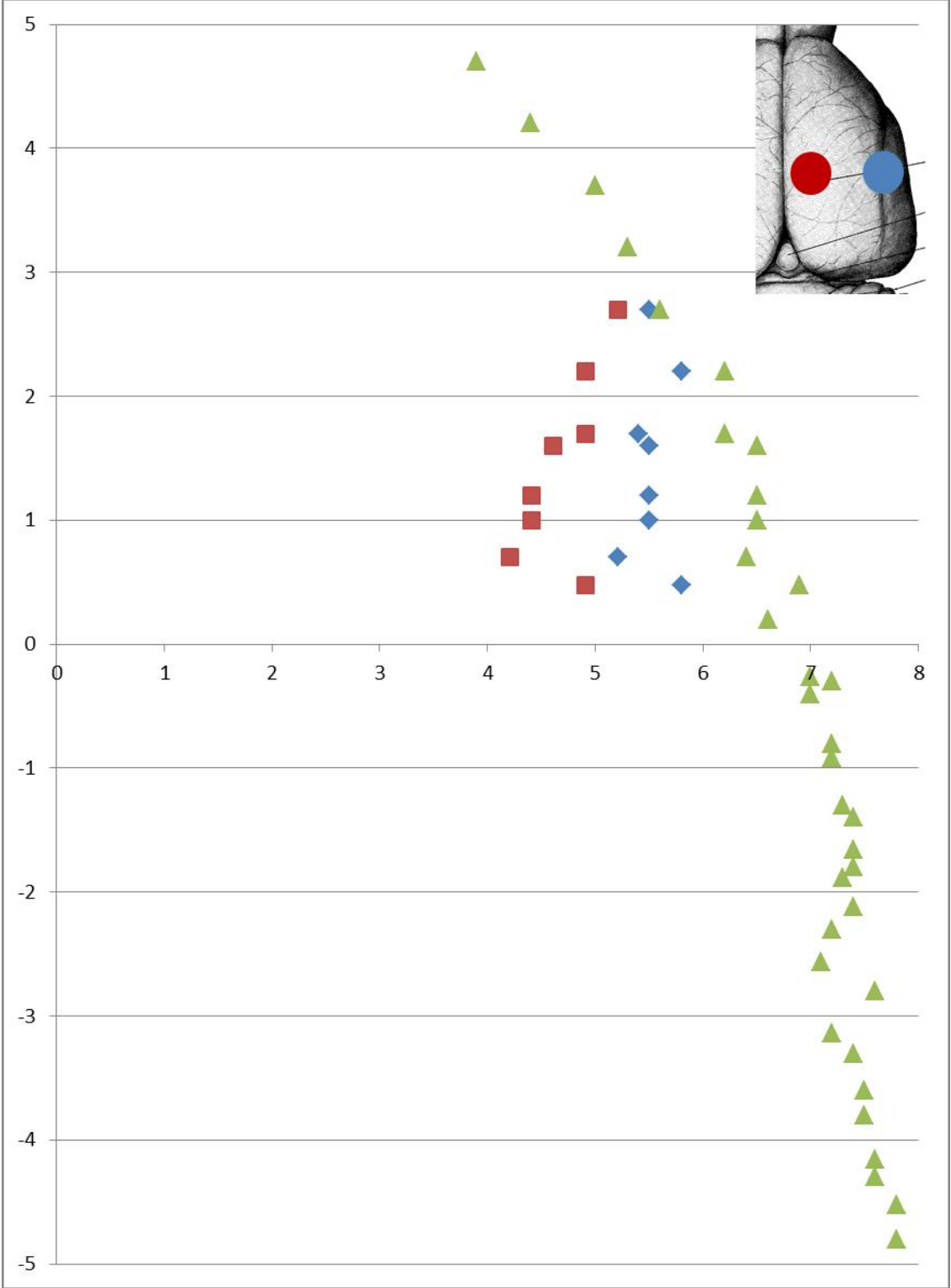


Abb. 2.5e Primärer somatosensorischer Kortex, Kinn und seitlicher Kopf (primary somatosensory cortex, jaw region, oral surface) S1JO

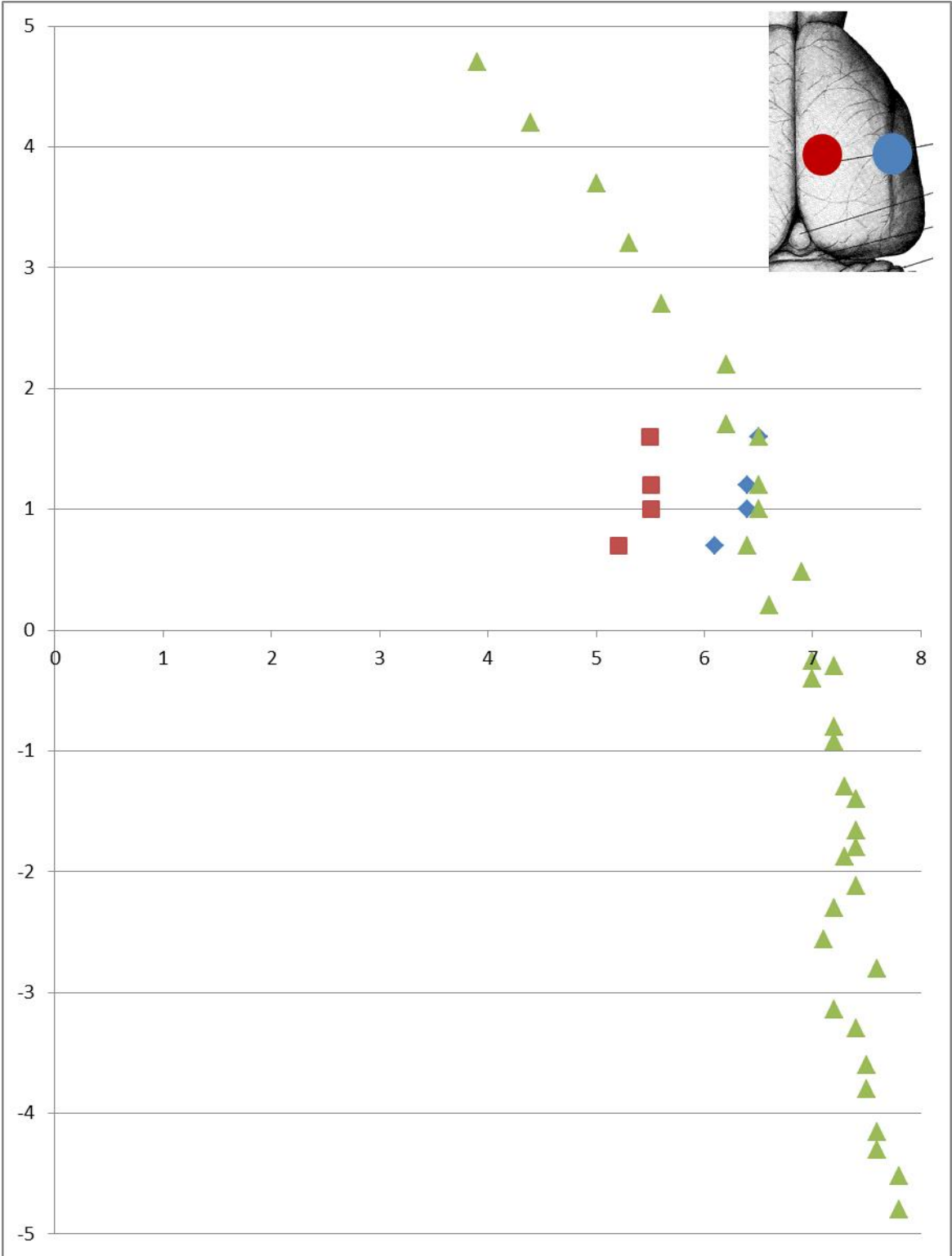


Abb. 2.5f Primärer somatosensorischer Kortex, Vorderpfoten (primary somato-sensory cortex, forelimb region) S1FL

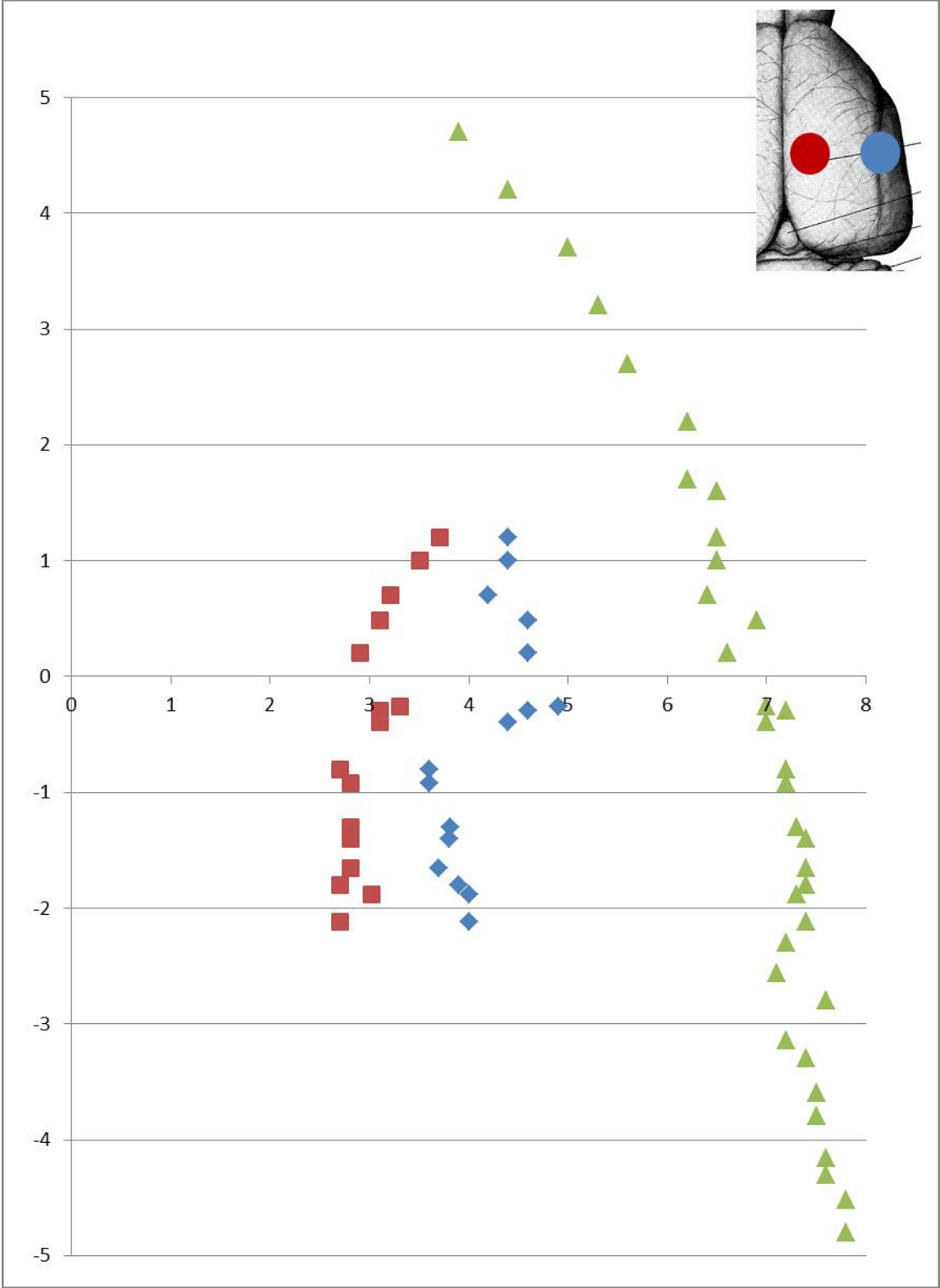


Abb. 2.5g Primärer somatosensorischer Kortex, agranuläre Zone (primary somatosensory cortex, dysgranular region) S1DZ

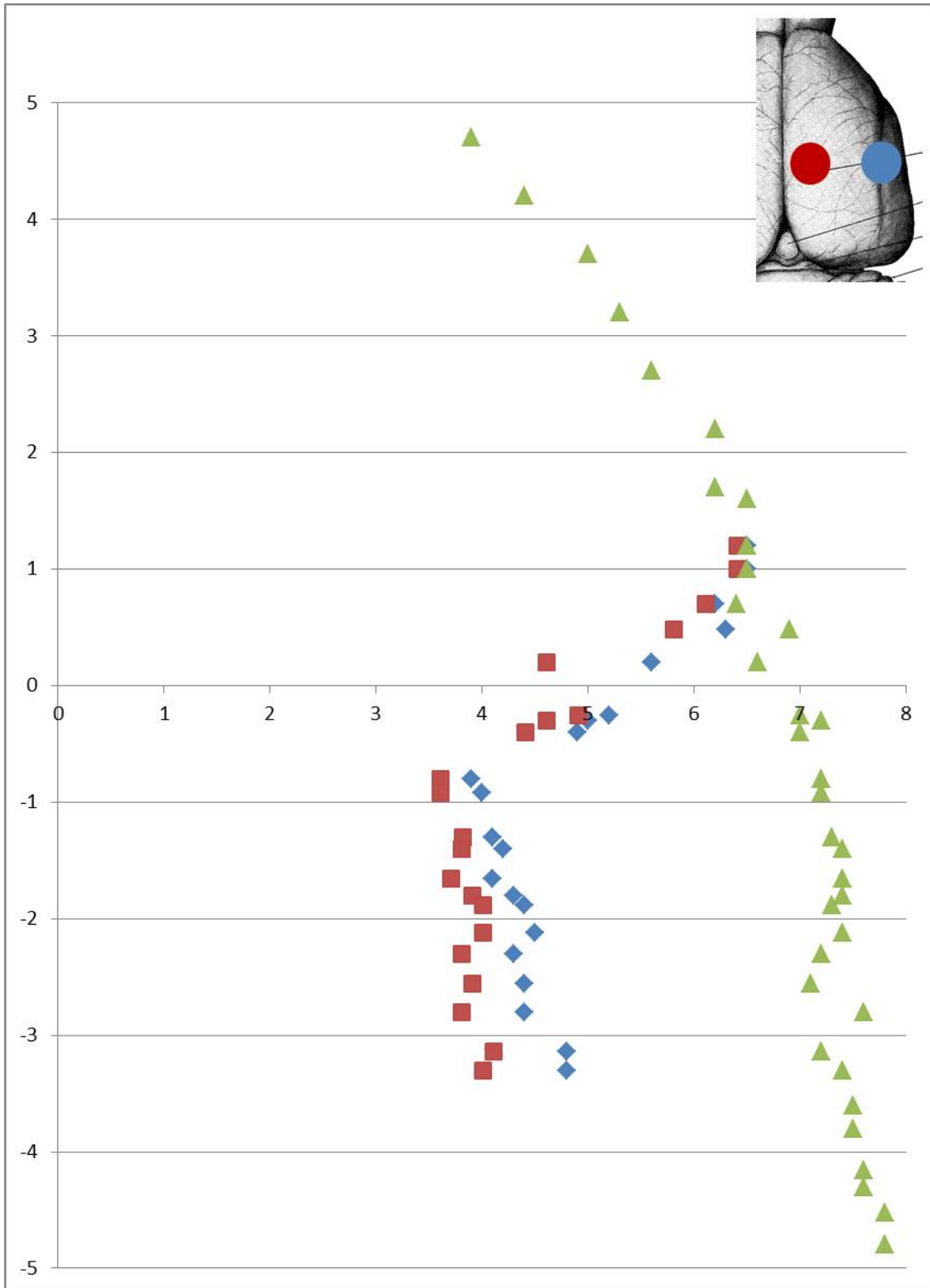


Abb. 2.5h Primärer somatosensorischer Kortex, Oberlippe (primary somatosensory cortex, upper lip region) S1ULP

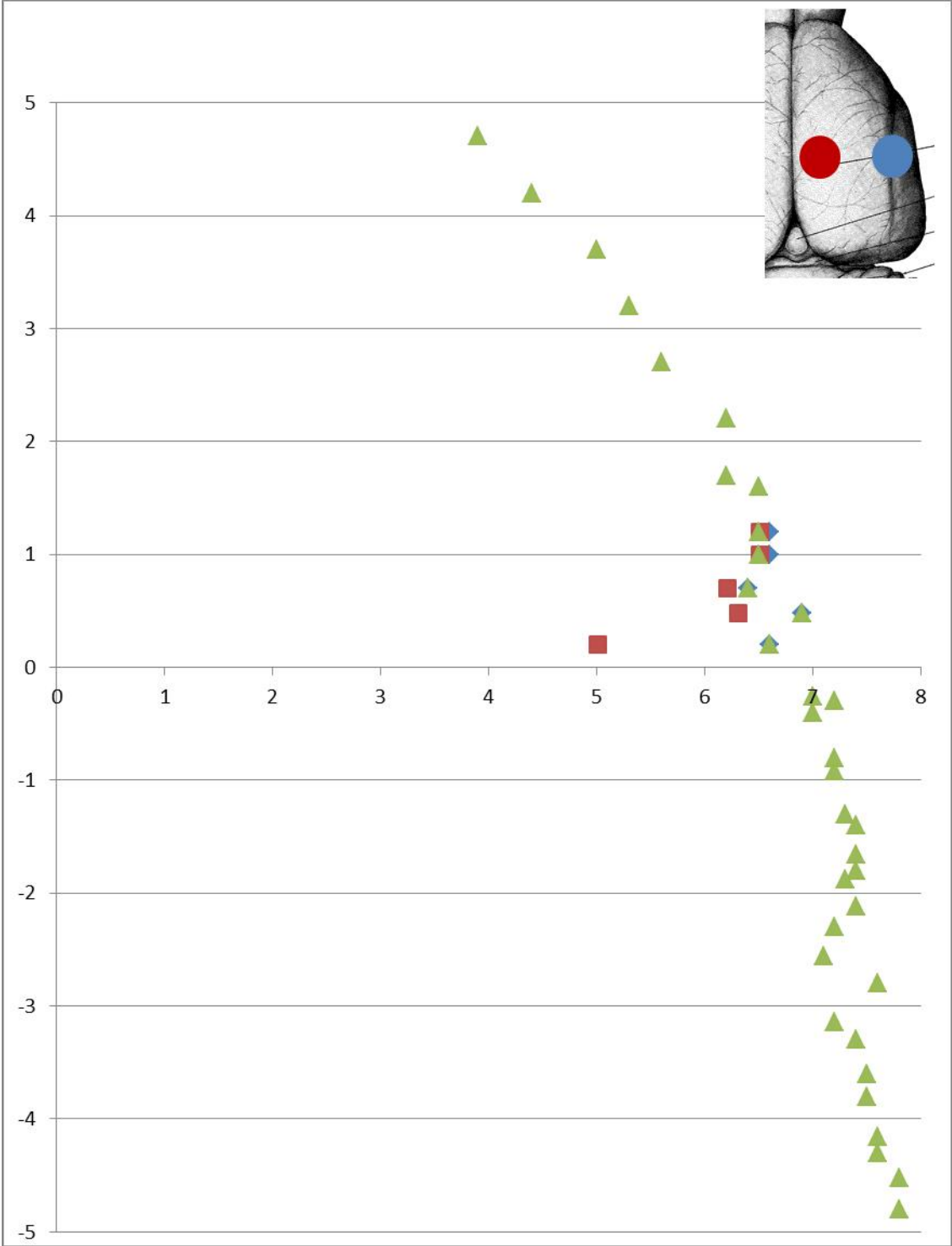


Abb. 2.5i Primärer somatosensorischer Kortex, Hinterpfoten (primary somatosensory cortex, hindlimb region) S1HL

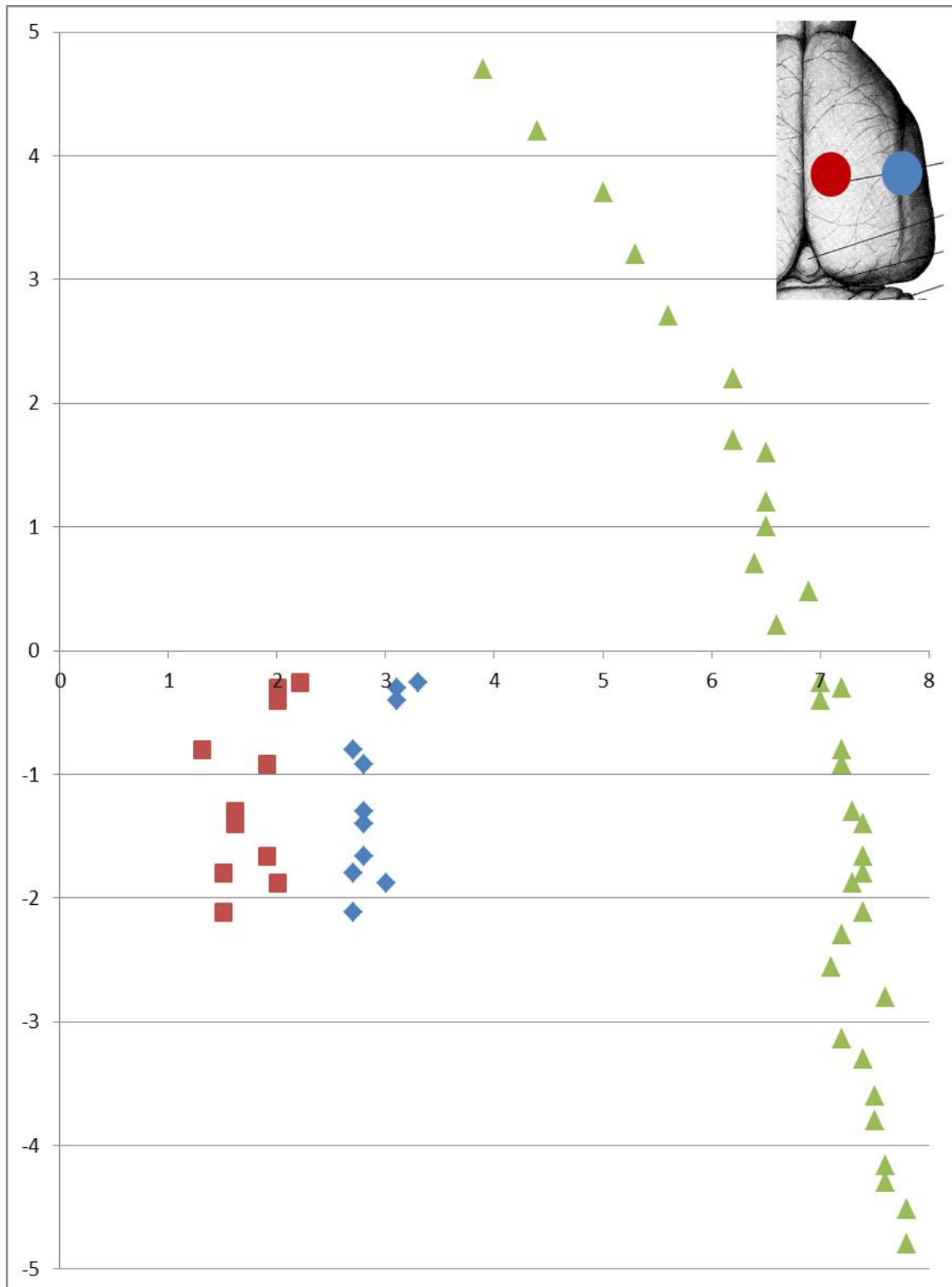


Abb. 2.5j Primärer somatosensorischer Kortex, Vibrissen (primary somatosensory cortex, barrel field) S1BF

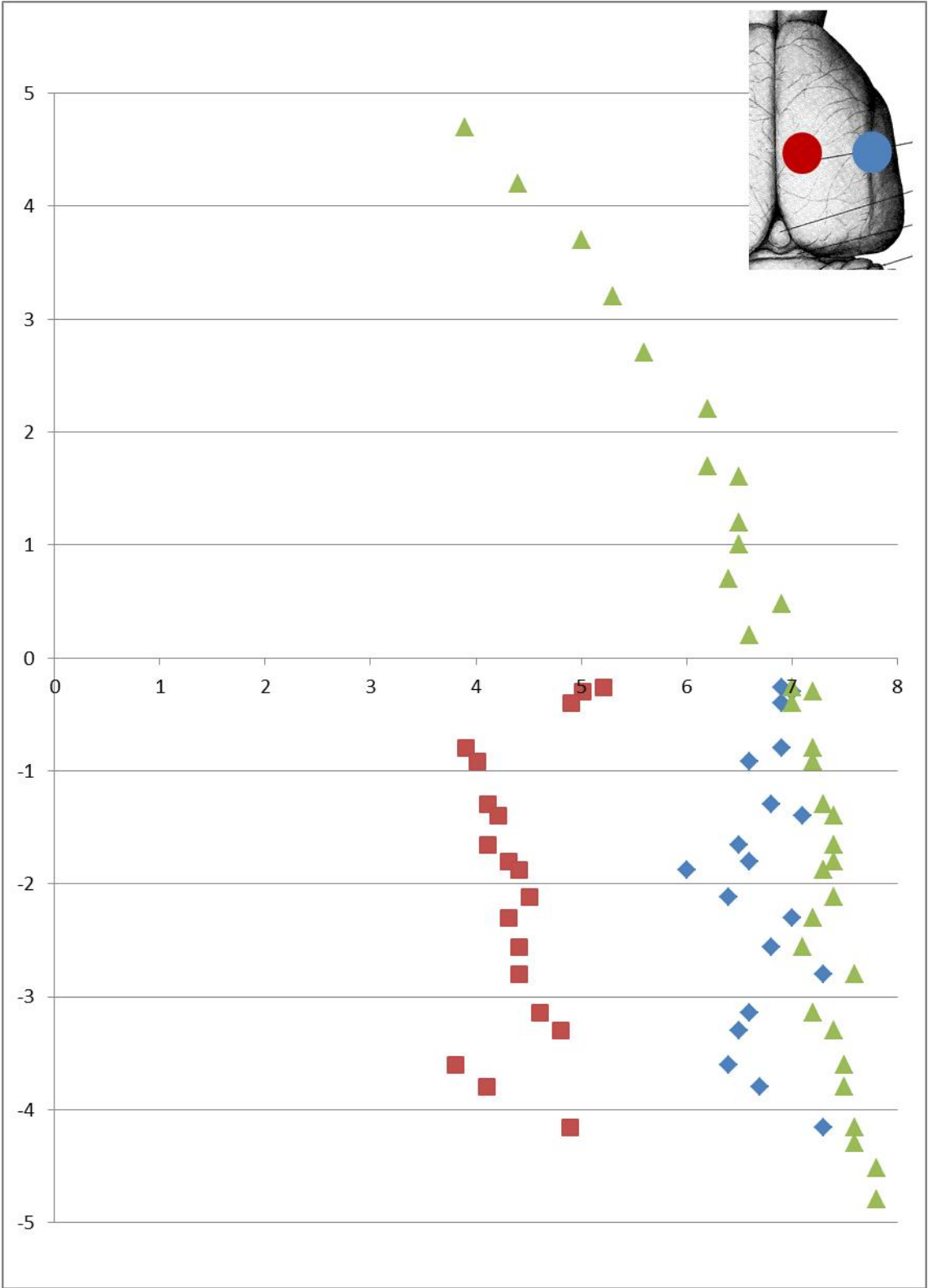


Abb. 2.5k Primärer somatosensorischer Kortex, Rumpf (primary somatosensory cortex, trunk region) S1Tr

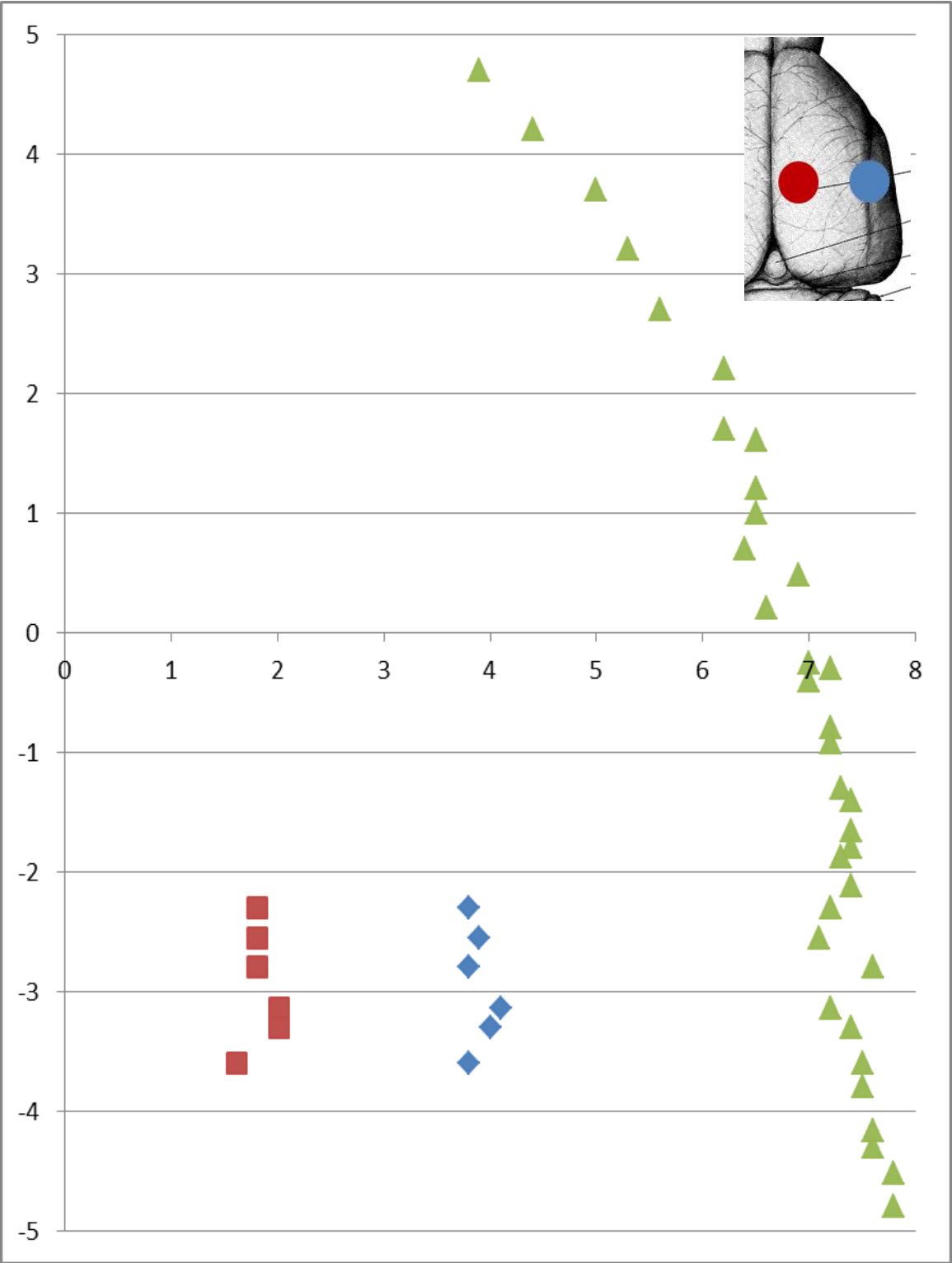
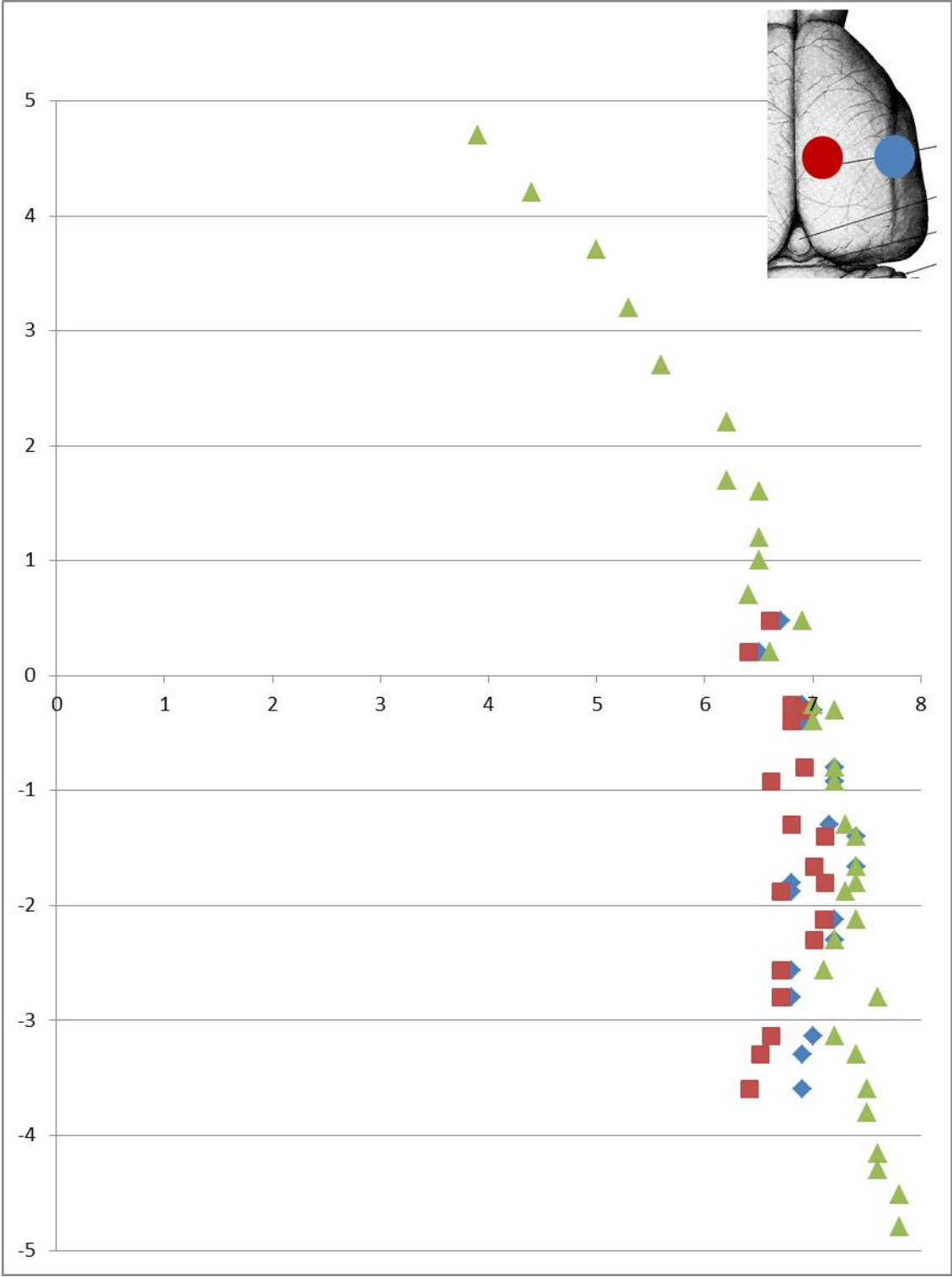


Abb. 2.5I Sekundärer somatosensorischer Kortex (secondary somatosensory cortex) S2



Mit Hilfe der obigen Abbildungen ist es möglich, die zu reizende Region des verwendeten Hirnschnitts auszuwählen. In Anbetracht der Fragestellung sind diejenigen primär- somatosensorischen Bereiche interessant, welche nach medial oder lateral an sekundär-somatosensorische oder motorische Areale grenzen. Nur so lässt sich feststellen, ob sich neuronale Erregung über primär-somatosensorische Rindenareale ausdehnt und somit auch in benachbarten Arealen zeitgleich stattfindet, oder aber in den primär-somatosensorischen Arealen bleibt. Zwei Regionen sind, aufgrund ihrer großen sensorischen Rindenfelder und günstigen „nachbarschaftlichen“ Beziehungen, besonders gut geeignet: Abb. 2.6 markiert jeweils, über die roten Querlinien a und b, die Schnittebene dieser ausgewählten Regionen und den entsprechenden Frontalschnitt (Abb. 2.7) auf gleicher Höhe.

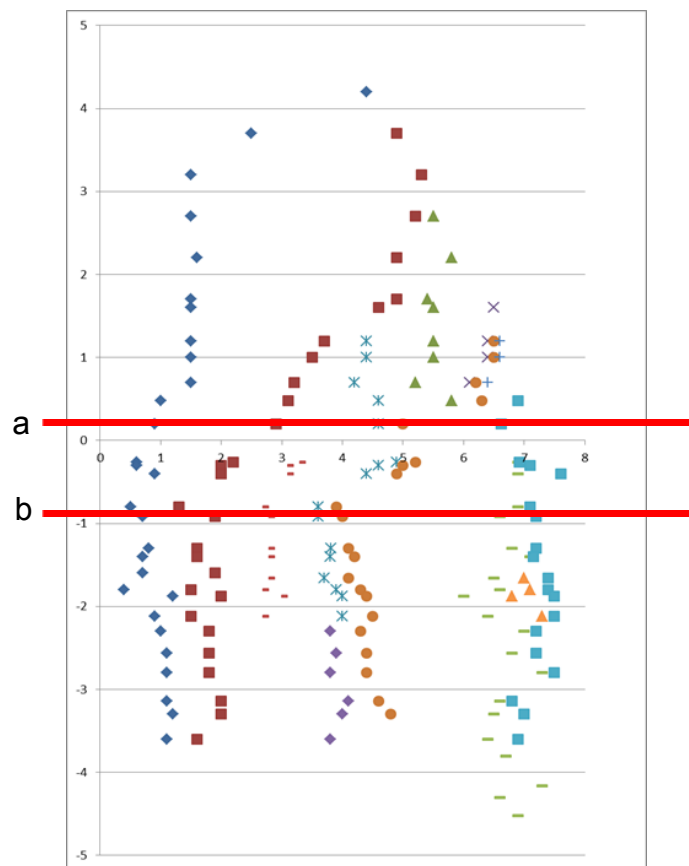


Abb. 2.6 Hirnrindenbereich, aus dem die Schnitte gewonnen werden. Die rote Linie a liegt bei Bregma 0.20 mm, die rote Linie b bei Bregma -0.92 mm. Symbole wie in Legende zu Abb. 2.5a beschrieben.

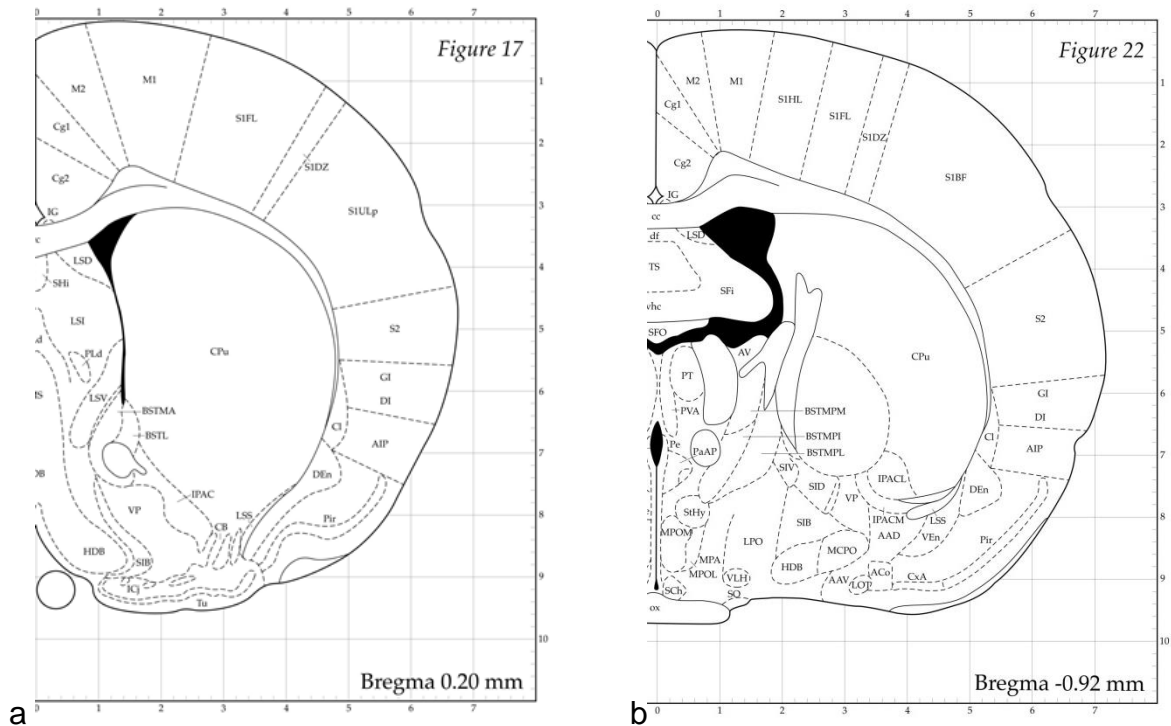


Abb. 2.7 Horizontalschnitte aus Paxinos und Watson 1998, S. 22, entsprechend der Schnittebene a (2.7a) und b (2.7b) in Abb. 2.6

Betrachtet man die obigen beiden Frontalschnitte, wird deutlich, warum sich genau diese Regionen für die Fragestellung eignen: In Abb. 2.7a ist das primär-somatosensorische Areal (S1FL, S1DZ, S1ULP) zum einen flächenmäßig sehr ausgedehnt, sodass sich die Reizelektrode gut platzieren lässt, zum anderen grenzt es nach medial an den primär-motorischen Kortex und nach lateral an den sekundär-somatosensorischen Kortex. Es ist also beidseitig von nicht-primärsensorischen Arealen umgeben. Hier würde sich als Ausgangspunkt der Reizung, zum Beispiel, das breite primär-somatosensorische Areal für die Vorderpfoten (S1FL) anbieten, da es nach medial direkt an den motorischen Kortex grenzt und eine laterale Erregungsausbreitung somit gut festzustellen ist. Gleiches gilt für die Abb. 2.7b: Als Reizausgangspunkt ist der flächenmäßig große Barrel-Kortex (S1BF) gut geeignet, welcher nach lateral direkt an den sekundär-somatosensorischen Kortex grenzt. Eine mögliche Erregungsausbreitung über den Barrel-Kortex hinaus lässt sich hier ebenso gut reproduzieren.

Nach der Auswahl der Schnittebene, wird die Herstellung der Frontalschnitte im Folgenden beschrieben. Zur Anfertigung von 500 µm dünnen Hirnschnitten für die

Versuchskammer, wird das Gehirn im Slice-Gerät (McIlwain Tissue Chopper, The Mickle Laboratory Engineering Co. LTD) mit etwas Kleber auf dem Positionsblock fixiert. Wichtig ist, dass es, zur Vitalerhaltung, ständig von Inkubationslösung umgeben ist. In regelmäßigen Abständen fährt die Schneidemaschine mit ihrem Schneidemesser vor und zurück und fertigt Schnitte in der entsprechenden Schichtdicke an, vergleichbar mit einer Brot-Schneidemaschine. Abb. 2.8 zeigt das Slice-Gerät und den Slice-Vorgang.

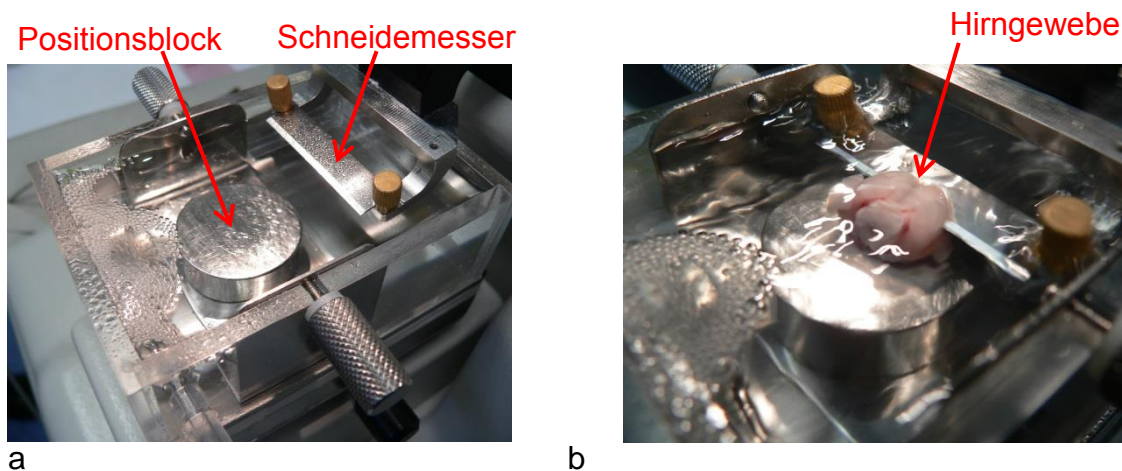


Abb. 2.8 a) Slice-Gerät mit Schneidemesser und Positionsblock, umspült von Inkubationslösung; b) Slice-Vorgang: Schneidemesser fertigt Hirnschnitte in gleichmäßigen Schichtdicken ($0.5 \mu\text{m}$) an (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. Erwin-Josef Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017).

2.5 Aufbewahrung der Hirnschnitte und physiologische Lösungen

Verwendbare Schnitte, in denen der sensorische Neokortex gut dargestellt ist und das Gewebe nicht verletzt oder angerissen ist, ruhen für 30 min in einer, auf 32 Grad Celsius temperierten, Carbogen- Begasungskammer (YI-Lösung, Begasungskammer: Abb. 2.9). Dies ist nötig, da die Nervenzellen, durch die Präparation „gestresst“ wurden und eine Zeit lang physiologische Verhältnisse zur „Erholung“ benötigen. Erfahrungen zeigen, dass die Reaktionsgeschwindigkeit im neuronalen Gewebe, in Bezug zu dem dafür benötigten Sauerstoff, bei einer Temperatur von 32 Grad Celsius am besten funktioniert. Bei höheren Temperaturen, wie zum Beispiel 37 Grad, wäre die Reaktionsgeschwindigkeit deutlich höher und es würde mehr Sauerstoff pro Zeit benötigt. Da der Hämoglobinspeicher des Bluts in dieser

künstlichen O₂-Begasung wegfällt, würde nicht genug Sauerstoff pro Zeit verfügbar sein und die Zellen absterben (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017). Die physiologischen Lösungen (Tab. 2.1) entsprechen (bis auf wenige, für den Vitalitätserhalt der Zellen aber vernachlässigbare Modifikationen im Versuchsprotokoll) dem Liquor cerebrospinalis, also der extrazellulären Flüssigkeits-Zusammensetzung im Gehirn. Die Lösungen wurden über Jahrzehnte von Yamamoto ausgearbeitet und werden heutzutage weltweit in neurophysiologischer Hirnforschung verwendet.

Nr.	Name	NaCl (mmol/l)	KCl (mmol/l)	NaH ₂ PO ₄ (mmol/l)	MgSO ₄ (mmol/l)	NaHCO ₃ (mmol/l)	CaCl ₂ (mmol/l)	Glucose (mmol/l)
1	Yamamoto I (Präinkubation)	124	4	1,24	1,3	26	1	10
2	Yamamoto II (ACSF-Lösung, Inkubation)	124	4	1,24	1,3	26	2	10
3	Magnesiumfreie Inkubationslösung	124	4	1,24	-	26	2	10

Tab. 2.1 Übersicht über die im Versuch verwendeten Lösungen in zeitlicher Abfolge und molarer Zusammensetzung (Yamamoto, 1972).

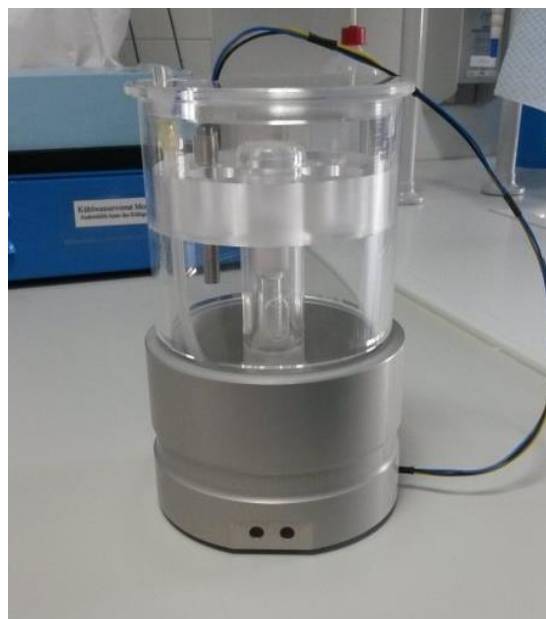


Abb. 2.9 Begasungskammer

2.6 Färben der Schnitte

Nach 60 Minuten werden die Schnitte in die Färbekammer umgesetzt und dort 60 min eingefärbt, mit einem Gemisch aus 999 μ l Inkubationslösung und 125 μ l eines photosensitiven Styrylgruppenderivats (RH 795, Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad), das als Fluoreszenzfarbstoff fungiert. Während dieser 60 Minuten sind eine Temperatur von 30 Grad Celsius sowie eine durchgängige Begasung mit Carbogen, zur Sauerstoffversorgung und pH-Aufrechterhaltung, gewährleistet. Durch leichte Vibration des Bades wird die Flüssigkeit gleichmäßig mit Farbstoff und Carbogen durchsetzt. Die Färbekammer ist eine lichtdichte Kammer, um einem Ausbleichen des Farbstoffs und der Nervenzellschädigung, durch freigesetzte Sauerstoffradikale, entgegenzuwirken. Anschließend werden die gefärbten Schnitte wieder in die, auf 30 Grad Celsius temperierte, Carbogen-Begasungskammer überführt und der nicht-membrangebundene Farbstoff ausgewaschen. Abb. 2.10 zeigt die Färbekammer.

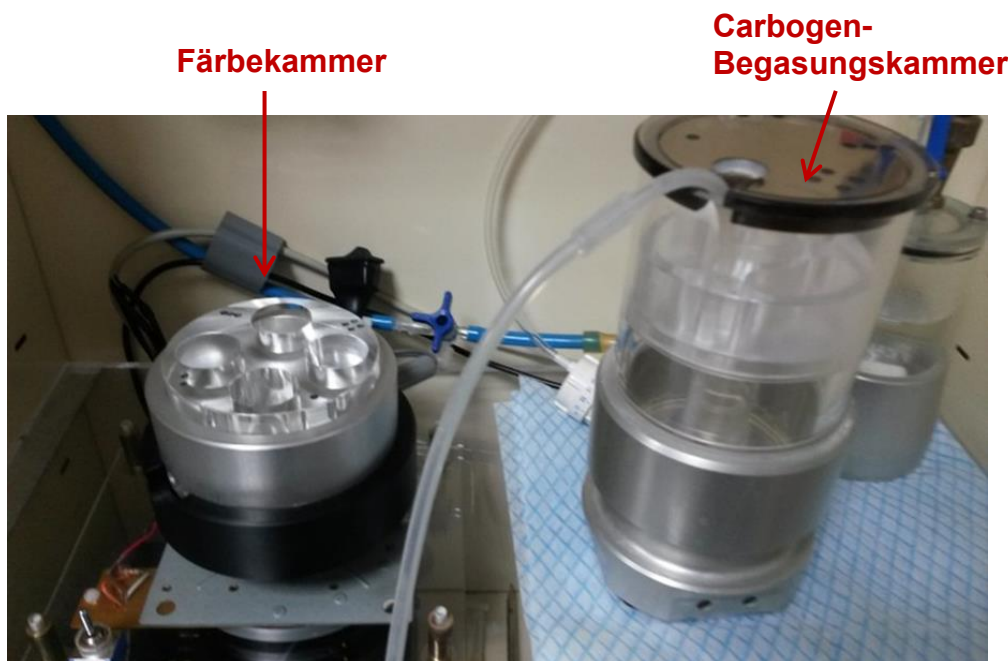


Abb. 2.10 Geöffneter, lichtdichter Wandschrank: Sicht auf Färbekammer und Carbogen-Begasungskammer, Schläuche für konstante Carbogen-Begasung (Institut für Physiologie I, Münster 2017)

Nach Auswaschen des nicht-gebundenen Farbstoffs wird der Schnitt, mit Hilfe eines Rotmarderhaar-Pinsels, unter ein Lichtmikroskop positioniert und nochmals zurecht geschnitten: Das Zwischenhirn, in welchem, unter anderem, der Thalamus lokalisiert ist, wird von der Hirnrinde abgetrennt, um im Versuch eine Umleitung der Erregung über die Thalamuskern („Rückkopplungsweg“) ausschließen zu können. Nach der Trennprozedur wird das Rinden-Präparat in die Versuchskammer (Abb. 2.11) eingelegt. Ein Pumpensystem gewährleistet die Bepflügelung des Gewebes mit Inkubationslösung. Währenddessen erfolgen die Elektrodenplatzierung im Schnitt und eine Anfertigung digitaler Fotografien des Versuchsaufbaus.

2.7 Optischer Platz mit Versuchskammer

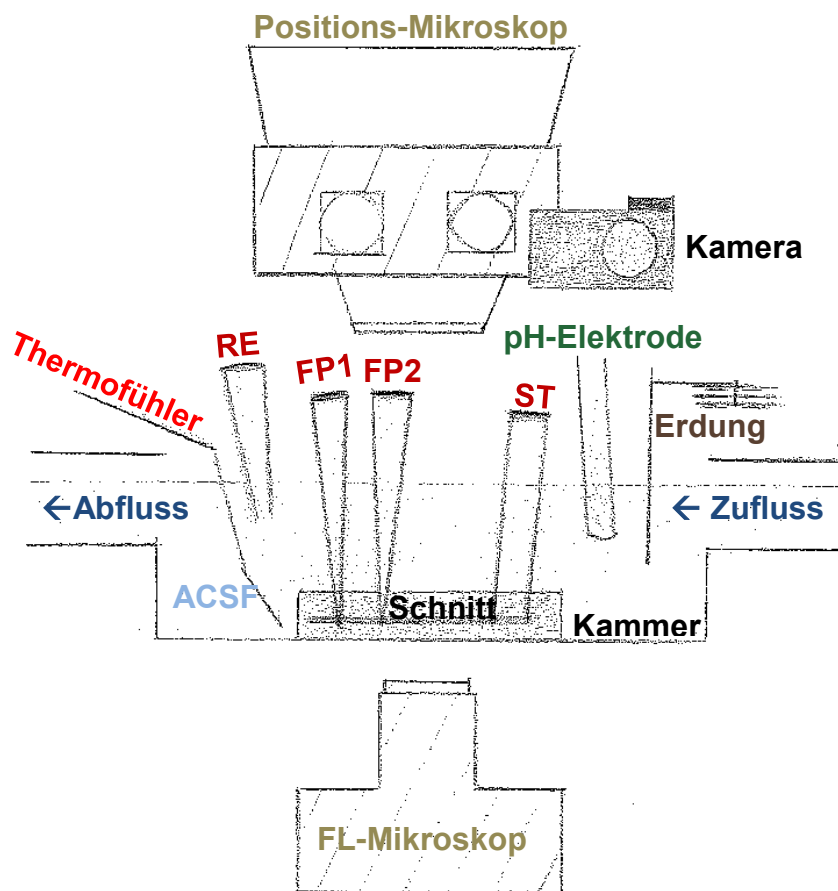


Abb. 2.11 Schematischer Aufbau der Versuchskammer; mit ihr ist es möglich, bioelektrische Aktivität in lebenden Hirnschnitten mit Hilfe elektrophysiologischer, konventioneller Methoden (Feldpotentialen) und anhand von spannungssensitiven Farbstoffen zu registrieren (Quelle: optischer Platz, Institut Physiologie I, Münster, 2017). FL-Mikroskop: Fluoreszenz-Mikroskop; ST: Gabelförmige Stimulationselektrode; FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentialen RE: Referenzelektrode; pH-Elektrode zur kontinuierlichen Messung des pH-Wertes; ACSF: Artificial-Cerebro-Spinal-Fluid; künstliche, cerebrale Extrazellulärflüssigkeit

Als Versuchskammer dient ein flaches breites Becken mit zwei Öffnungen, eine für den Zufluss, eine für den Abfluss. Die Zufluss-Öffnung ist an eine extern gelegene Pumpanlage gekoppelt. Diese sorgt für eine ausreichende Überspülung des Hirnschnittes mit den Versuchslösungen. Das Volumen des Flüssigkeitsstromes wird über ein, an die Pumpanlage angeschlossenes, Dosiersystem kontrolliert und

konstant gehalten. Um eine ausreichende Nährstoffversorgung des Hirngewebes zu gewährleisten, ist die Durchlaufgeschwindigkeit auf 0.9-1 ml Flüssigkeit pro Minute einzustellen. Die Abflussöffnung ist wiederum selbst an ein Saugsystem angeschlossen, welches dafür sorgt, die in der Versuchskammer befindliche, künstliche Cerebrospinalflüssigkeit, ab einem gewissen Flüssigkeitspegel, abfließen zu lassen. Zum Gelingen des Versuches sind ein durchgängiger Flüssigkeitsaustausch und ein, plan auf dem Becken-Boden liegendes, Schnittpräparat erforderlich, da es sonst zu Verwirbelungen durch das Fließen der Flüssigkeiten käme. Die Versuchskammer, der in ihr befindliche Hirnschnitt und die verwendete Flüssigkeit, werden, nach wie vor, über eine Heizung auf 32 Grad Celsius temperiert. Des Weiteren kontrolliert ein Thermofühler die richtige Temperatur im Becken und die Nachregulation dieser. Die pH-Elektrode im Versuchsbecken ist nötig, um den pH-Wert der verwendeten Lösung auf physiologische Werte von 7,35 und 7,5 zu überprüfen. Eine Abweichung wird durch Dosis-Erhöhung/-Verminderung der Carbogenbegasung eingestellt. Zudem ist eine Erdung in der Versuchskammer angebracht.

Über der Versuchskammer befindet sich ein Positions-Mikroskop (Carl Zeiss, Göttingen), welches hilft, den Hirnschnitt zentral zu positionieren und die Elektroden korrekt zu platzieren. Über eine Digitalkamera (EOS D30, Canon, Krefeld) und die damit kompatible Software (Remote Capture, Canon, Krefeld), erfolgen anschließend digitale Übersichtsaufnahmen zum Versuchsaufbau und zur Array-Platzierung. Um ein Ausbleichen des Farbstoffs zu verhindern, kompensiert eine längere Belichtungszeit von 2 Sekunden die geringere Beleuchtungsintensität. (Quelle: E.-J. Speckmann 2017, Institut für Physiologie I, Münster, persönliche Mitteilungen; Hufendieck, F. 2015, S. 3-7). Abb. 2.12 zeigt den oben beschriebenen, sogenannten „optischen Platz“: ein Gesamtsystem, zusammengesetzt aus funktionellen Einzelsystemen, unter anderem der Versuchskammer, welches das Registrieren von spannungssensitiven Farbstoffen in Neuronen-Populationen ermöglicht. Abb. 2.13 zeigt, als Ausschnitt des optischen Platzes, die Elektrodenmanipulatoren in der Versuchskammer, und, ansatzweise, das Objektiv des Fluoreszenz-Mikroskops.

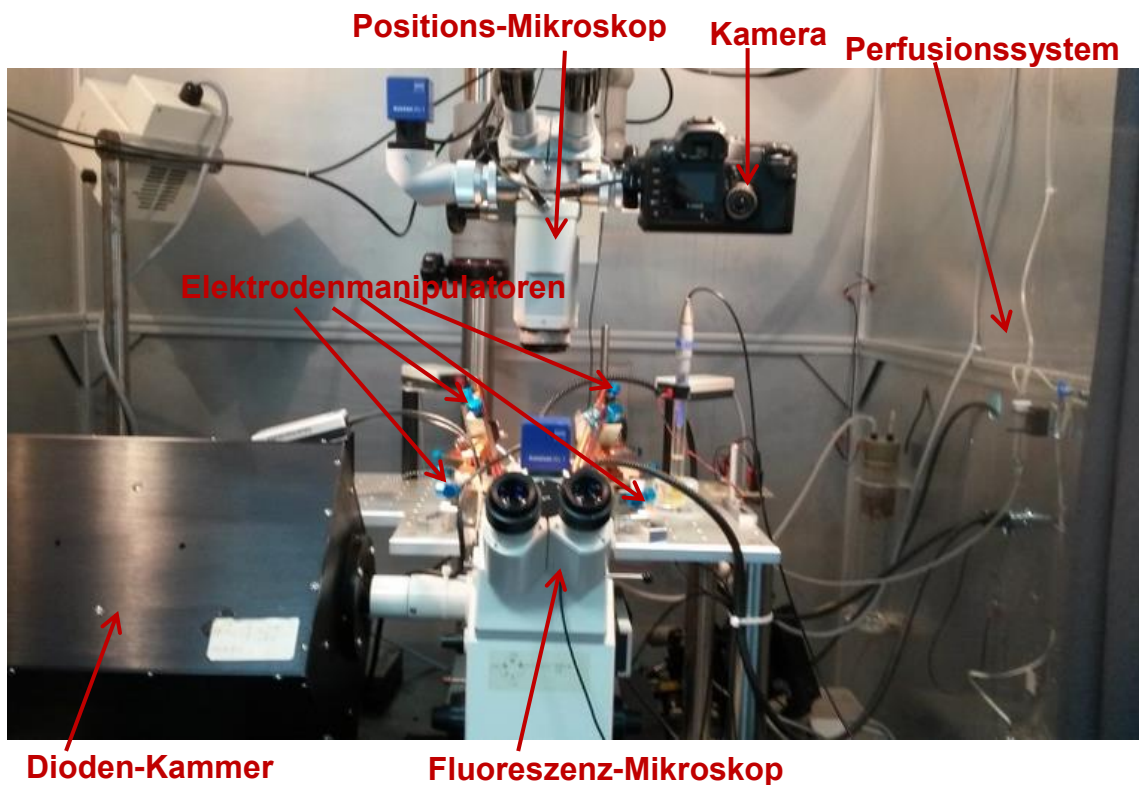


Abb. 2.12 Optischer Platz; Detailgetreue Ablichtung von Versuchsbecken, Elektroden, Kamera, Perfusionsystem, Fluoreszenz-Mikroskop, Positions-Mikroskop (Quelle: Institut für Physiologie I, Münster, 2017)

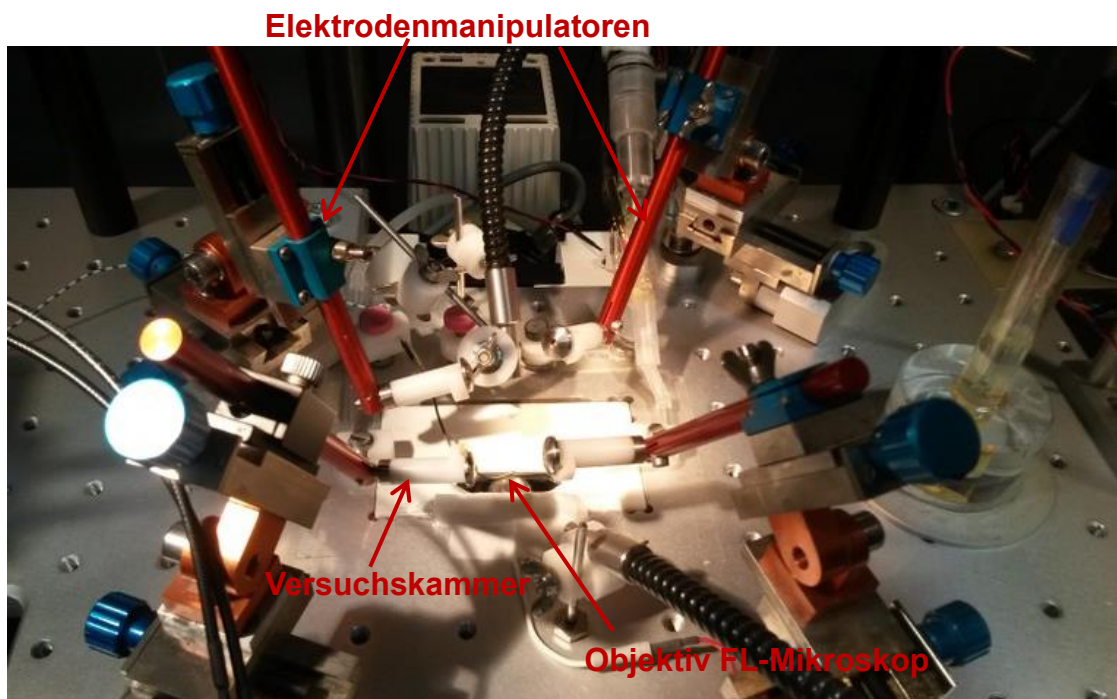


Abb. 2.13 Ausschnitt optischer Platz: Detailgetreue Ablichtung der vier Elektrodenmanipulatoren um die Versuchskammer, unterhalb der Versuchskammer ist das Objektiv des Fluoreszenz (FL) -Mikroskops zu erkennen (Quelle: Institut für Physiologie I, Münster, 2017).

Wie sich der oben beschriebene, zeitliche Ablauf von „Narkose bis Versuch“ gliedert, ist der Übersicht halber noch einmal im folgenden Zeitstrahl (Abb. 2.14) schematisch zusammengefasst:

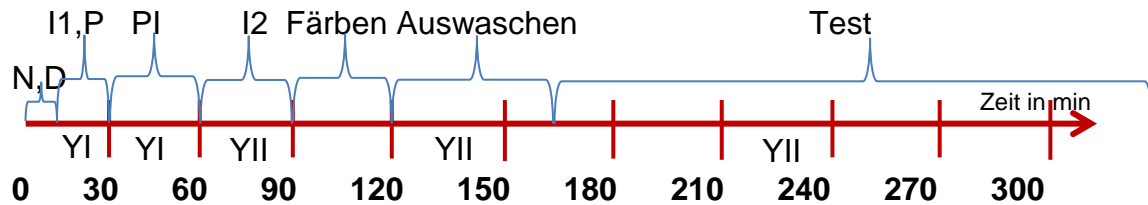


Abb. 2.14 Zeitliche Zusammenfassung der Arbeitsschritte von der Narkose bis zum Versuch in Minuten (min). N= Narkose, D= Dekapitation, I1= Inkubation 1, P= Präparation, I2= Inkubation 2, PI= Präinkubation, YI= Yamamoto I-Lösung, YII= Yamamoto II -Lösung (siehe Tab. 2.1.)

2.8 Elektrophysiologische Technik zur Evokation und Registrierung von Feldpotentialänderungen in Neuronenpopulationen

Das elektrophysiologische Verfahren im Versuch funktioniert wie folgt: Die Reizung neuronaler Strukturen erfolgt durch elektrische Impulse, welche in einem, extern gelegenen, Generator ausgelöst und über eine Reizelektrode (gabelförmige Stimulationselektrode ST, siehe Abb. 2.11) in das Hirngewebe weitergeleitet werden. Jeder Reizzyklus besteht aus drei Einzelreizen, die Ergebnisse werden anschließend durch eine Software (AxoScope10, Axon Instruments, Inverurie, Aberdeenshire, Schottland) zu einem Mittelwert verrechnet, um Störfaktoren gering zu halten. Die Reizdauer beträgt stets 100 μ s, die in jeder Versuchsphase angewendeten Stromstärken liegen bei 10 mA (100%) und 5 mA (50%), beginnend mit der größten Stromstärke (zu berücksichtigen ist, dass ein Kurzschluss des Reizstromes durch die Badlösung erfolgt). Die Reizelektrode wird mit Hilfe eines Mikromanipulators in das Hirngewebe eingebracht (Abb. 2.11). In diesem Fall am afferenten Eingang zur Hirnrinde des primär-sensorischen Kortex, genau da, wo die Afferenzen aus dem Thalamus in den primär-sensorischen Kortex eintreten.

Des Weiteren werden, zur Ableitung der durch die Reizung entstehenden Feldpotentiale, zwei Glaselektroden benötigt (Abb. 2.11, FP1 und FP2). Diese bestehen aus Filamentborosilikat-Glaskapillaren und wurden zuvor selbstgefertigt mittels eines horizontalen Elektrodenziehgeräts (DMZ-Universal Puller, Zeitz-Instrumente, München). Hergestellt werden Glas-Elektroden mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm sowie einem Innendurchmesser von 0,87 mm. Die Spitzendurchmesser betragen zwischen 8 und 10 μm . Die Glaselektroden werden luftblasenfrei mit ACSF-Lösung gefüllt und in den Hirnschnitt, mit Hilfe von Mikromanipulatoren, in folgende Regionen platziert: FP1 in die supragranuläre Schicht des primär-sensorischen Kortex und FP2 in die infragranuläre Schicht desselben. Die Ableitungselektroden haben Widerstände von 0,5 M Ω bis 2 M Ω , je nach Spitzendurchmesser.

Eine weitere Elektrode im Versuchsaufbau ist die Referenzelektrode (siehe Abb. 2.11, RE). Sie ist luftblasenfrei mit Kaliumchlorid (ca. 3 Mol/l) gefüllt und von der Badlösung durch eine Fritte getrennt. Fritten finden Verwendung, da sie nur einen Flüssigkeits-Widerstand aufweisen, nicht aber einen elektrischen Widerstand und somit elektrischen Strom gut leiten. Gegen die Referenzelektrode werden die generierten Feldpotentiale abgeleitet. Dadurch, dass die beiden Ableitelektroden FP1, FP2 und die Referenzelektrode mit einem Verstärker verbunden sind, ist ein symmetrisches System vorhanden, sodass nur die von den Nervenzellen generierten Potentiale verstärkt werden. Die Verstärkerkette zeigt im oberen Bereich eine Grenzfrequenz von 1 kHz, im unteren Bereich eine Grenzfrequenz von 0 Hz.

Die gemessenen Potentiale werden auf zwei Arten aufgezeichnet: Einmal über einen horizontalen Direktschreiber (Rikadenki, Rikadenki Electronics GmbH, Freiburg im Breisgau), welcher die Kurve der Potentialänderungen direkt aufzeichnet. Dieser mechanische Schreiber hat eine obere Grenzfrequenz von 5 Hz. Zum anderen werden die Potentiale durch das, oben genannte, speziell dafür entwickelte Computerprogramm (AxoScope, Version 9.0.2.05, Axon Instruments, Foster City, Kalifornien, USA) für den gesamten Frequenzbereich auf die Festplatte des Computers gespeichert.

2.9 Optische Technik zur Registrierung von Membranpotentialänderungen in Neuronenpopulationen

Das Prinzip der optischen Technik beruht auf fluoreszierenden Farbstoffen, welche in der Lage sind, Membranpotentialänderungen ortsgerecht, durch bildliches „Leuchten“, wieder zu geben. Sie liefern also eine Aussage über den Polarisationszustand aller Neurone innerhalb eines Nervenzellverbandes und sind höchst ortsspezifisch. Um Membranpotentialänderungen aufzeigen zu können, muss der Fluoreszenz-Farbstoff zunächst in die Membran der Nervenzellen eingelagert werden. Das Einfärben der Hirnschnitte erfolgt mit dem Fluoreszenzfarbstoff RH 795 (Invitrogen, Life Technologies), einem Fluoreszenz-Farbstoff aus der Styrylgruppe (Abb. 2.16), in der Färbekammer (Abb. 2.10). Der Farbstoff diffundiert in das Gewebe, lagert sich in die Doppellipidmembran der Nervenzellen ein und emittiert in diesem Zustand, nach Anregung, Licht. Abb. 2.15 zeigt schematisch das Verfahren:

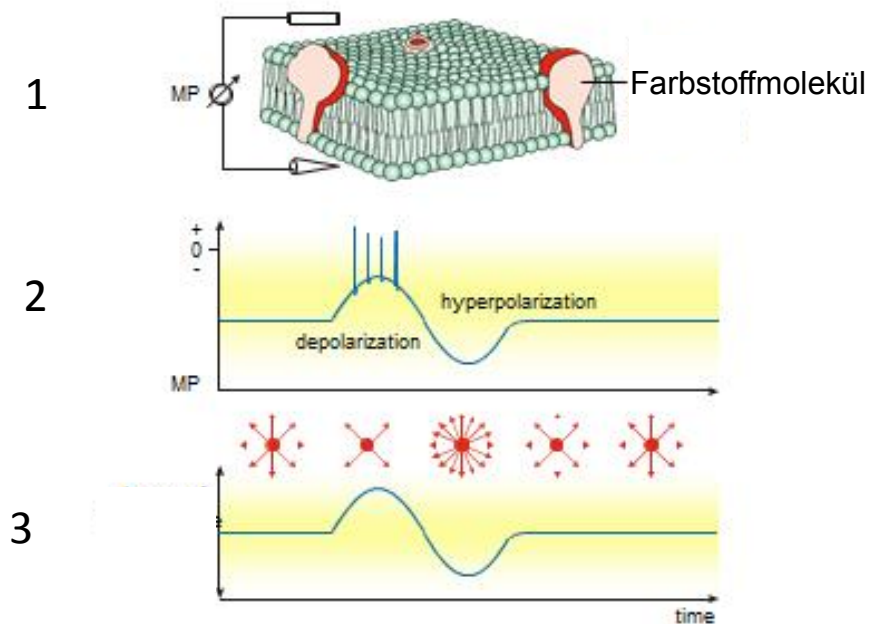


Abb. 2.15 Prinzip der Membranpotentialregistrierung mittels VSD: 1) Einlagerung der Farbstoff-Moleküle in die neuronale Doppelmembran. 2) Eine Spannungsänderung im neuronalen Gewebe führt zur Lageänderung der Farbstoffmoleküle innerhalb der Membran. 3) Durch die Lageänderung kommt es zu einer Veränderung der Fluoreszenzeigenschaften des Farbstoffs bei Veränderung des Polarisationszustandes der Nervenzellen: Eine Depolarisation (Erregungszunahme) führt zu einer Abnahme der Fluoreszenz, eine Hyperpolarisation (Erregungsabnahme) zu einer Zunahme der Fluoreszenz. MP= Membranpotential, depolarization= Depolarisation, hyperpolarization= Hyperpolarisation (Speckmann, 2012, S. 173-182).

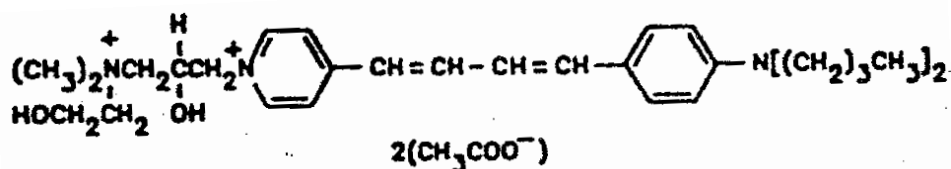


Abb. 2.16 Strukturformel des Fluoreszenz-Farbstoffs RH795: Organische Kohlenstoffverbindung mit zwei aromatischen Benzolringen (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017).

Der Farbstoff RH795 wurde gewählt, da er, im Vergleich zu anderen möglichen Fluoreszenzfarbstoffen, das beste Signal-Rausch Verhältnis bei geringer Phototoxizität und Ausbleichung hat (Prof. Dr. E.-J. Speckmann: persönliche Mitteilungen: Institut für Physiologie I, Münster 2017). Da das Gehirn nicht überall dieselbe Struktur aufweist, verteilt sich der Farbstoff während des Färbeprozesses ungleichmäßig. Zudem nimmt die Farbintensität im Laufe der Versuchszeit aufgrund eines Ausbleichens und Auswaschens des Farbstoffs ab. Lösen kann man dieses Problem, indem die Fluoreszenzsignale immer in Relation zur vorhandenen Restlichtintensität (Resting Light Intensity RLI) gewertet werden. Die erforderlichen RLI-Werte müssen, während des Versuchs, in regelmäßigen Abständen gemessen werden. Ist der Fluoreszenzfarbstoff in der Färbekammer in die Membran diffundiert, kann die Fluoreszenz, also die elektrische Aktivität der Neuronenmembranen, am optischen Platz registriert werden. Abb. 2.17 illustriert das Prinzip der Fluoreszenzregistrierung:

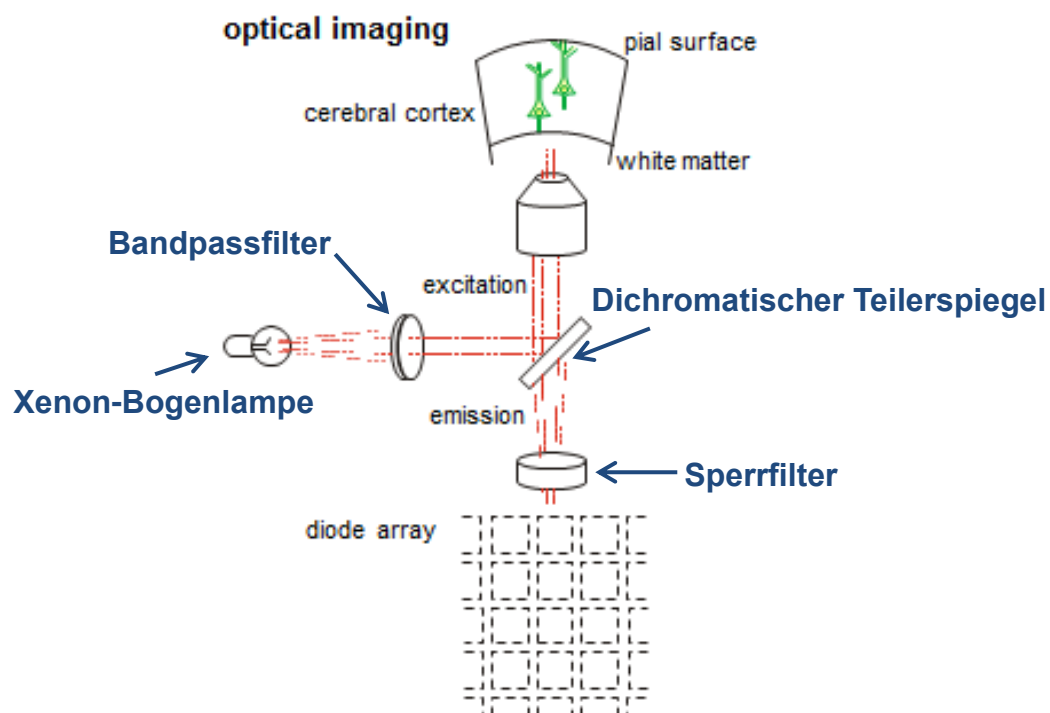


Abb. 2.17 Schematische Darstellung der optischen Fluoreszenzregistrierung (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017).

Der Fluoreszenzfarbstoff wird über eine Xenon-Kurzbogenlampe (XBO 75W Osram, Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) angeregt. Sie strahlt Licht in nahezu gleicher Intensität in allen Wellenlängen aus. Auf den Hirnschnitt wird letztlich nur das Licht derjenigen Wellenlänge projiziert, welches für die Fluoreszenzanregung benötigt wird. Dazu durchläuft das emittierte Licht der Xenon-Bogenlampe mehrere Lichtfilter, welche die Wellenlängen auf genau diese „fluoreszenz-aktiven“ Spektren konzentrieren: Als Erstes passiert das Licht einen Bandpassfilter, welcher nur Licht der Wellenlängen über 580 nm und Wellenlängen zwischen 536 nm und 556 nm (grün) durchlässt. Die konzentrierten Lichtwellenlängen treffen, als Zweites, auf einen dichromatischen Teilerspiegel (Abb. 2.17), welcher nur durchlässig für Wellenlängen über 580 nm ist. Alle Wellenlängen unter 580 nm, also diejenigen, die das Fluoreszenzmolekül im Fluoreszenzfarbstoff optimal anregen, werden vom Teilerspiegel vollständig reflektiert und rechtwinklig auf den, in der Versuchskammer befindlichen, Schnitt geleitet. Die Farbstoffmoleküle werden zur Fluoreszenz angeregt, das heißt, sie gehen in den „erregten“ Zustand über und emittieren während des Rückfalls in ihren vorherigen, „unerregten“ Zustand Energie in Form von fluoreszierenden Lichtwellen. Wiederum passieren diese Lichtwellen einen Sperrfilter (Abb. 2.17), bevor sie auf ein hexagonales, aus 464 Fotodioden bestehendes Diodenarray geleitet werden. Gekennzeichnet werden die Fotodiodenarrays durch rote Lichtpunkte, die die Mitte und die Seiten des Hexagons markieren und zur Positionierung im Schnittpräparat wesentlich sind.

In der Abb. 2.18 werden die einzelnen Sperrfilter und ihre zugehörigen Wellenlängen nochmals farbig illustriert: Der Bandpassfilter selektiert zunächst in „grünes“ und „rotes“ Licht. Der folgende, dichromatische Teilerspiegel ist nur durchlässig für Licht roter Wellenlänge und somit wird das Licht grüner Wellenlänge reflektiert und in den Hirnschnitt umgelenkt. Aus dem Hirnschnitt tritt es senkrecht aus und rotes und grünes Licht treffen gemeinsam auf die letzte „Sperrstation“, den Sperrfilter. Dieser ist nicht durchlässig für Licht unter 580 nm, sodass letztlich ausschließlich „rotes“ Licht in das Foto-Diodenarray eintritt.

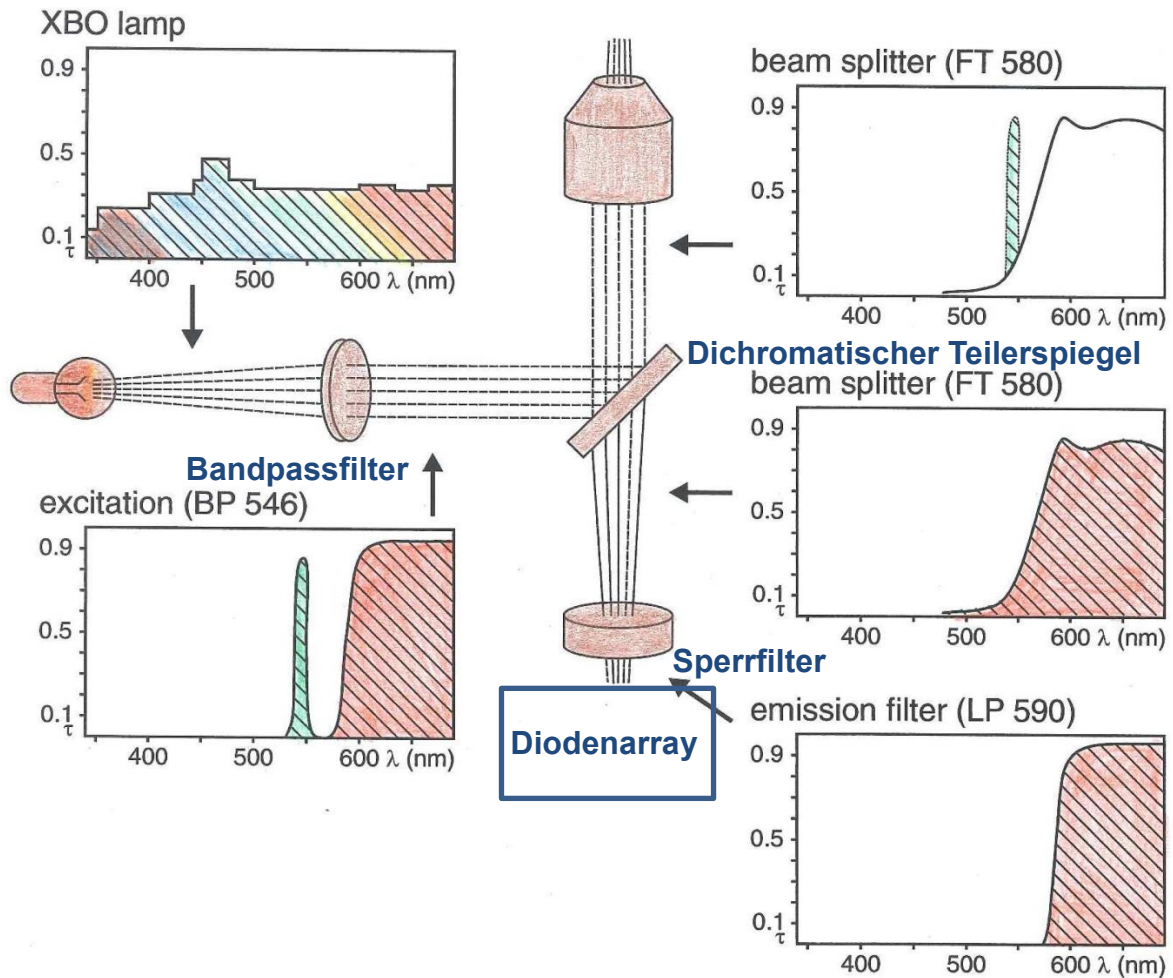


Abb. 2.18 Weg des Lichtstrahls ausgehend von der Xenon-Bogen-Lampe bis in das Diodenarray und Konzentrierung der Licht-Wellenlängen durch den Weg durch einzelne, selektive Sperrfilter (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017).

Eine Fluoreszenz-Abnahme verläuft direkt proportional zum Betrag der Veränderung im Membranpotential und zeigt somit den genauen Depolarisationszustand der betrachteten Zellen (Broicher und Speckmann, 2012). Wenn der Graph bildlich nach unten abweicht (Abb. 2.15) nehmen das Membranpotential und die Fluoreszenz zu. Umgekehrt nimmt die Fluoreszenz ab, wenn das Potential abnimmt und der Graph nach oben abweicht (Abb. 2.15). Der Fluoreszenzabfall und die Depolarisation der Membran korrelieren also: Eine veränderte Lichtemission lässt auf eine momentane Veränderung des Membranpotentials unterschiedlicher Zellen im Neuronen-Verband schließen (Hufendieck, 2015, S. 10-15).

Die Feldpotential-Registrierung erfolgt über die beiden Ableitelektroden FP1 und FP2. Um die Fluoreszenz, also die relative Membranpotential-Änderung der stimulierten Neuronen, zu registrieren, bedarf es zudem eines Systems, welches optische Signale aufnehmen kann. Dies geschieht über ein Fotodiodenarray: 464 Einzeldioden, hexagonal ausgerichtet (Abb. 2.20).

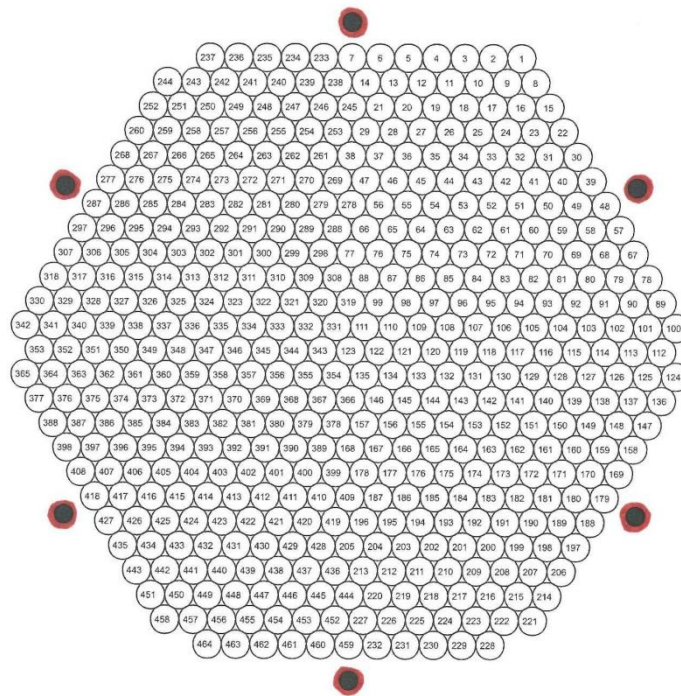


Abb. 2.20 Schematische Darstellung des Fotodioden-Hexagons, bestehend aus 464 Einzeldioden. Die Kennzeichnung der Position dieses Dioden-Arrays im Versuchsaufbau erfolgt durch rote Lichtpunkte, die die Seiten des Hexagons markieren (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017)

Es werden definierte Positionen im Hirnschnitt festgelegt, die das Dioden-Array, zur Registrierung der Fluoreszenz, computergesteuert anfährt. Abb. 2.21 zeigt die Abfolge dieser Positionsreihenfolge innerhalb einer Versuchsreihe. In Position 0 und 3 der Abb. 2.21 befindet sich das Array jeweils unter den Feldpotential-Elektroden FP1 und FP2, vgl. Abb. 2.19. Überall, wo das Dioden-Array positioniert ist, werden die Neuronen, bzw. der spannungssensitive Farbstoff in der Neuronenmembran, belichtet und so Erregung sichtbar gemacht. Da das Dioden-Array auch lateral angrenzende Rindenareale ansteuert (z.B. Position 1 und 2, Areal S2; Position 4, Areal M1; Abb. 2.21), ist eine mögliche laterale Erregungsausbreitung, ausgehend von der Stimulationselektrode, feststellbar.

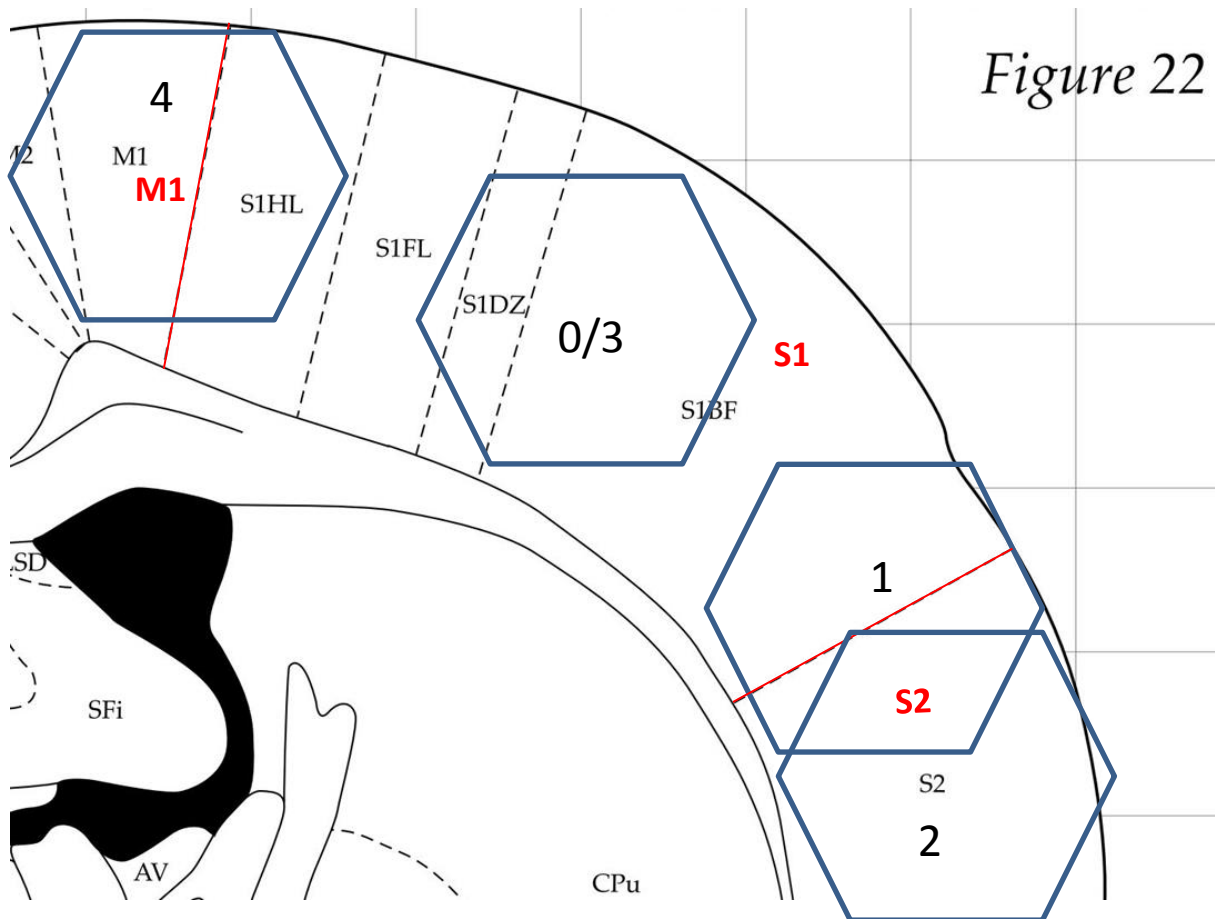


Abb. 2.21 Ausschnitt Coronalschnitt Neokortex Ratte (Bregma - 0.92 mm). Die nummerierten, blauen Hexagone stehen schematisch für das Fotodiodenarray. Sie markieren, in aufsteigender Ziffern-Reihenfolge, die wechselnde Position des Arrays innerhalb einer Versuchsreihe. Die roten Striche markieren den Übergang vom primär-sensorischen Kortex (S1) zum primär-motorischen Kortex (M1) und den Übergang von S1 zum sekundär-sensorischen Kortex (S2) (modifiziert aus Paxinos and Watson, 1998, Figure 22).

Je Versuch variiert die Zuordnung der Position zu den entsprechenden Hirnarealen geringfügig. Je nach coronaler Schnitthöhe des nach dem Slice-Vorgang ausgewählten Hirnschnitts sind, vor allem die somatosensorischen Rindenfelder, verschieden ausgedehnt, vergleiche Abb. 2.5.

Die Fläche des Hirngewebes, die vom Array erfasst wird und dementsprechend der Belichtung ausgesetzt wird, hängt von der Vergrößerung des Mikroskop-Objektivs ab. In diesem Fall wird das Objektiv mit 20-facher Vergrößerung verwendet, welches einer aufgenommenen Fläche von 0,464 mm² entspricht. Jede Belichtungsphase umfasst 3 Einzelbelichtungen, die jeweils ca. 1300 ms andauern. Als Ergebnis wird

aus diesen 3 Belichtungen der Mittelwert gebildet. Bei jeder Belichtung des Fluoreszenzfarbstoffes entstehen toxische Radikale, die das Hirngewebe schädigen. Daher wird, bei gleicher Dioden-Array-Position, zum Schutz des Hirnschnitts zwischen den Belichtungsphasen jeweils 5 Minuten gewartet.

Alle Ergebnisse des Versuchs können mit der Auswertungssoftware Neuroplex (Red Shirt Imaging, LLC, Fairfield, Connecticut, USA) berechnet und für jede Einzeldiode graphisch dargestellt werden. Es ergeben sich, analog zur Anzahl der Einzeldioden, 464 Einzelkurven als Funktion der Zeit.

2.11 Versuchsprotokoll

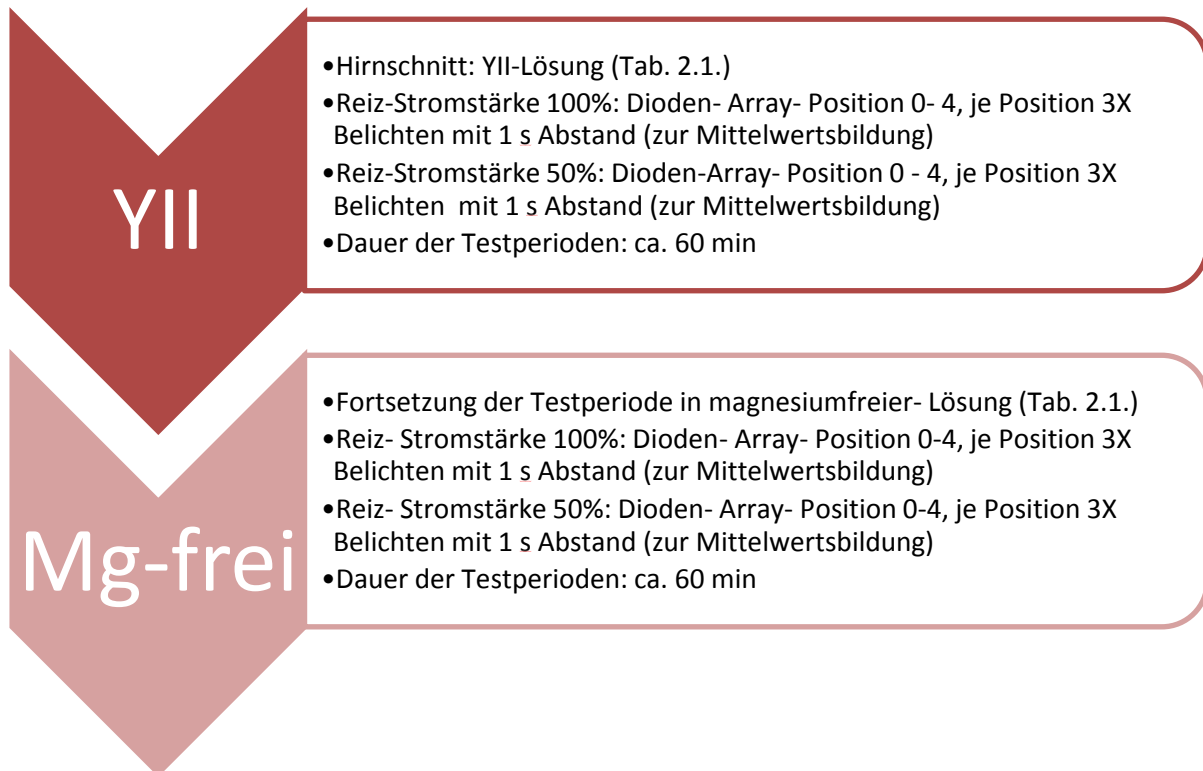


Abb. 2.22 Schematische Darstellung der Versuchsgliederung. Für die Nummerierung der Dioden- Arrays siehe Abb. 2.21.

Anhand der Abb. 2.22 lässt sich der prinzipielle Versuchsablauf, exemplarisch für einen Hirnschnitt, erklären. In der YII-Phase des Versuchs wird der Hirnschnitt in der Versuchskammer von YII-Lösung umspült. Das Dioden- Array befindet sich zunächst in Position 0 (Abb. 2.21.): Die Nerven werden gereizt mit einer Stromstärke von 10 mA (100% Stromstärke) und das Dioden- Array in dieser Position 3 mal belichtet mit ca. 1 s zeitlichem Intervall. Dann wird, Computer-gesteuert, Position 1 angefahren und der Vorgang wiederholt. Nachdem das Dioden- Array alle Positionen abgefahren hat, kehrt es zurück zu Position 0. Dort beginnt dieser Ablauf erneut, jedoch mit 5 mA, also nur noch 50% der anfänglichen Reizstromstärke.

Wieder an Position 0 angekommen, werden die Lösungen getauscht. Über das Perfusionssystem gelangt jetzt, statt YII-Lösung, magnesiumfreie Lösung über den Zufluss in die Versuchskammer und umspült den Hirnschnitt. Es wird 30 min gewartet, bevor die Belichtung für die Position 0, erneut mit 100% Reiz- Stromstärke,

beginnt. Diese Pause ist wichtig, damit sich in der Versuchskammer ausschließlich magnesiumfreie Lösung befindet und die YII- Lösung, welche über den Abfluss der Versuchskammer abläuft, vollständig ersetzt wird und der Schnitt mit magnesiumfreier Lösung durchdrungen wird. Es folgen Positionen 1 bis 4 des Dioden- Array, analog zur vorausgegangenen Testphase mit YII- Lösung. Danach wird dasselbe mit 50% Reiz- Stromstärke durchgeführt. Die, für die Erregungsweiterleitung relevanten, neuronalen Rezeptoren des sensorischen Areals sind die Glutamat-Rezeptoren. Bei einem geringen Erregungsniveau besteht im Ionenkanal des Glutamat-Rezeptors vom NMDA-Typ eine Blockierung durch ein Magnesium-Ion. Im Versuch mit der magnesiumfreien Lösung bedingt der Magnesium-Entzug durch eine Freigabe des NMDA- Rezeptors eine gesteigerte Erregbarkeit der Neuronen (persönliche Mitteilungen: Prof. Dr. E.-J. Speckmann, Institut für Physiologie I, Münster 2017). Welche Rolle der freie NMDA-Rezeptor für die laterale Erregungsausbreitung spielt, soll mit dieser Versuchs-Lösung untersucht werden.

Nachdem die Reizung mit unterschiedlichen Stromstärken in den beiden, verschiedenen Lösungen stattgefunden hat, wird der Frontalschnitt gewechselt. Die beiden Feldpotential-Elektroden sowie die Stimulationselektrode werden, statt in den Barrel-Kortex (S1, Abb. 2.19), zum Beispiel in das primär-sensorische Areal für die Vorderpfoten (S1FL) positioniert. Statt der magnesiumfreien Lösung, bspült zunächst wieder YII- Versuchslösung die Versuchskammer. Das Dioden- Array wird in Position 0 gebracht und der Versuchsablauf beginnt von vorne (Abb. 2.22).

2.12 Auswertung und Darstellung der Messergebnisse

Ausgewertet und graphisch visualisiert werden die evozierten Feldpotentiale (Abb. 2.23) und die zeitliche Fluoreszenzveränderung innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80 und 100ms nach Reizauslösung (Abb. 2.24). Aus den 464 Einzelkurven des belichteten Foto-Dioden-Arrays, die diese Fluoreszenzveränderung visualisieren, werden exemplarisch jeweils 8 Kurven aus der supragranulären Schicht und 8 Kurven aus der infragranulären Schicht gemittelt. Ferner werden, der besseren Vergleichbarkeit der Aktivität der Hirnregionen und der zeitlichen Aktivitätsveränderung innerhalb einer Hirnregion halber, aus diesen Daten Balkendiagramme erstellt. Der Fragestellung dieser Arbeit folgend, wurden die Daten wiederum in einer Balkendiagramm-Übersicht speziell für die lateral- angrenzenden Hirnrindenareale (primär-motorischer Kortex und sekundär-somatosensorischer Kortex) komprimiert. In den Balkendiagrammen wird jeweils zwischen Versuchslösung, Reizstärke und supra- und infragranulärer Schicht unterschieden. An jedem Versuchstag wurden zudem digitale Aufnahmen des Versuchsaufbaus und der Array-Position im Hirnschnitt angefertigt. Da es sich um einen lichtempfindlichen Farbstoff handelt, „leidet“ teilweise die Qualität der digitalen Aufnahme zum Schutz des Fluoreszenzfarbstoffs und die Bilder sind entsprechend dunkel. Abb. 2.23 zeigt die Darstellung der evozierten Feldpotentiale:

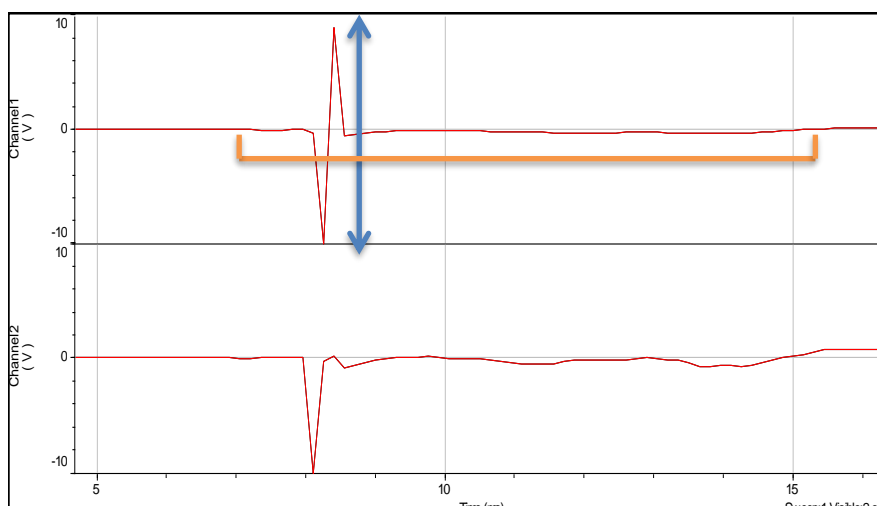


Abb. 2.23 Evozierte Feldpotentiale schematisch dargestellt, Y-Achse: Spannung in mV, X-Achse: Zeit in ms. Deutlich erkennbar ist der „Population Spike“ (blauer Pfeil, Y-Achse), als Antwort der Neuronen auf die Reizauslösung, sowie die Dauer der Entladung (X-Achse) zurück zum Ursprungszustand (Y=0; gelbe Linie).

Die registrierten Feldpotentiale sind der Beweis für stattfindende neuronale Aktivität, unabhängig von der Fluoreszenzregistrierung.

Die zeitliche Fluoreszenzveränderung wird in Form einer Kurve als Funktion der Zeit dargestellt. Abb. 2.24 zeigt diese Kurve. Um die zeitliche Fluoreszenzveränderung nachzuvollziehen, wird die Amplitude innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80 und 100 ms nach Reizauslösung gemessen. In Relation zur Amplitude bei Reizauslösung liefern diese Amplituden dann jeweils die Werte der relativen Amplitudenänderung, die wiederum tabellarisch festgehalten und in Form von Balkendiagrammen (exemplarisch Abb. 3.1.5, Abb. 3.1.6) visualisiert werden. Die gemessenen Werte sind relative Messwerte, da die Fluoreszenzabnahme in Relation zur Restlichtintensität gemessen wird. Die Werte der relativen Amplitudenänderung 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung sind den Balkendiagrammen jeweils als Datentabelle beigefügt (Abb. 3.1- 3.6). Eine Fluoreszenzveränderung, in der Auswertung als Amplitudenzunahme beschrieben, bedeutet, dass sich der Depolarisationszustand der Nervenmembranen ändert, was als neuronale Erregung zu verstehen ist.

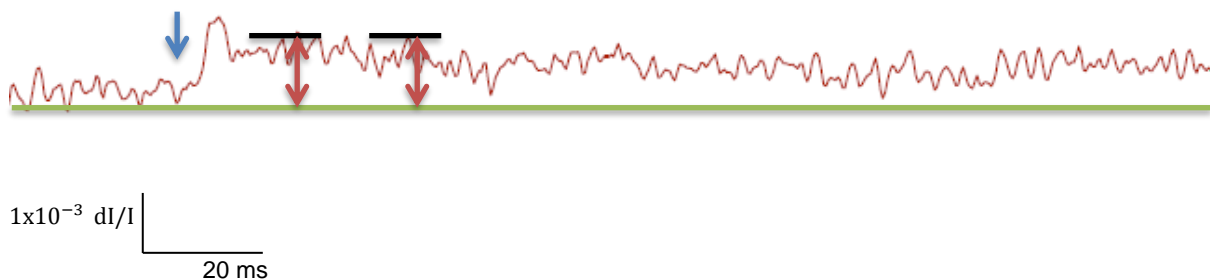


Abb. 2.24 Schematische Darstellung der zeitlichen Fluoreszenzveränderung der optischen Signale. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizauslösung, grüne Linie: Gerade durch den Amplituden-Wert zum Zeitpunkt der Reizauslösung. Die roten Pfeile zeigen exemplarisch die Messung der Amplituden 20 ms und 40 ms nach Reizauslösung. Messung der Werte 60, 80 und 100 ms nach Reizauslösung analog. X-Achse in ms, Y-Achse in $1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$.

3. Ergebnisse

Zu Beginn werden die Ergebnisse der Versuche 1 bis 6 systematisch dargestellt. Im Anschluss daran werden die Messergebnisse zusammengefasst.

3.1 Versuch 1

Abb. 3.1.1a-c Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer (FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale, RE: Reizelektrode) und festgelegte Positionen des Dioden-Arrays (rote Punkte im Hirnschnitt) mit jeweiliger Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex = Position 0; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex = Position 1; M1: primär-motorischer Kortex, Position 2

Abb. 3.1.2 Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Dioden-Array-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitätsgraphen (Reizstärke 100%), sortiert nach Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex Position 1; M1: primär-motorischer Kortex, Position 2) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen Areale. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Ansicht der Rindenareale sortiert von medial nach lateral. Zeiteichung und Achsenskalierung siehe 3.1.3 und 3.1.5

Abb. 3.1.3 Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S2 s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, supragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 2, supragranulär; S1 i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S2 i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; M1 i: primär-motorischer Kortex, Position 2, infragranulär). Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Dauer des gesamten Kurvenausschnittes 1300 ms.

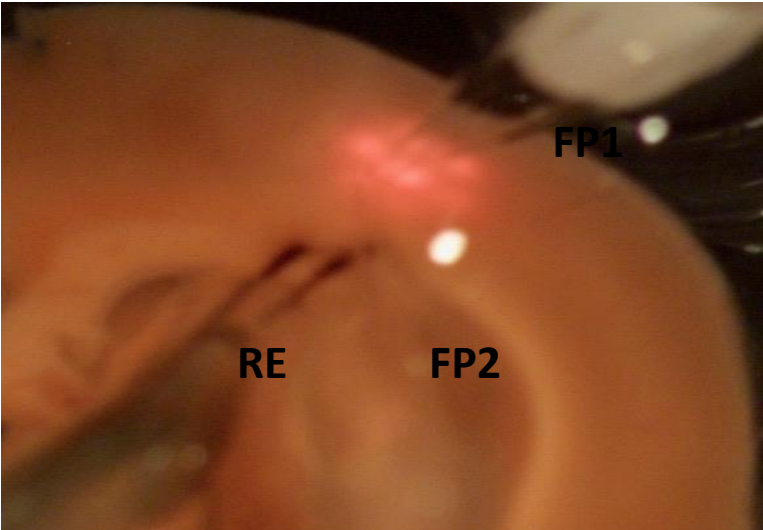
Abb. 3.1.4 Graphische Darstellung der Feldpotentiale (Versuchslösung: Yamamoto II, Reizstärke 100%)

Abb. 3.1.5a, b Balkendiagramm-Übersicht der Fluoreszenzaktivität innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung bei 100%iger Reizstärke, sortiert nach Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex Position 1; M1: primär-motorischer Kortex, Position 2) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen, numerische Werte in Datentabelle) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

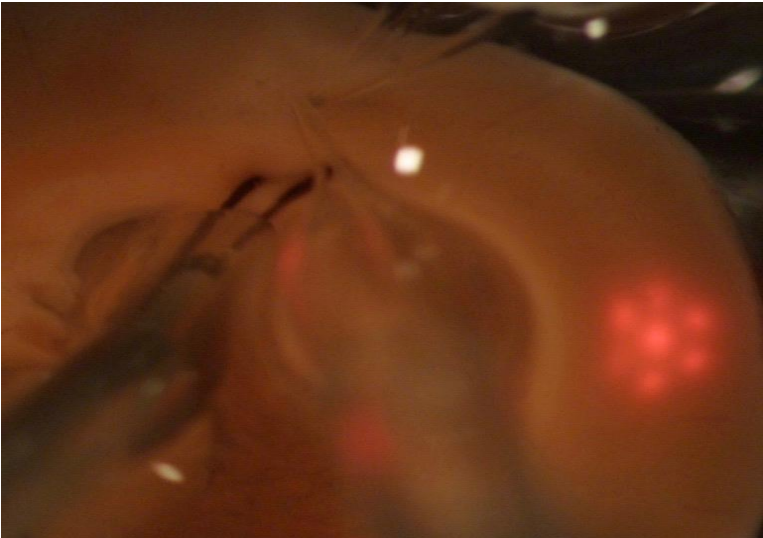
Abb. 3.1.6 Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären und infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, bei Reizstärke 100% und Versuchslösung Yamamoto II. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.1.7 Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, bei Reizstärke 100% und Versuchslösung Yamamoto II. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

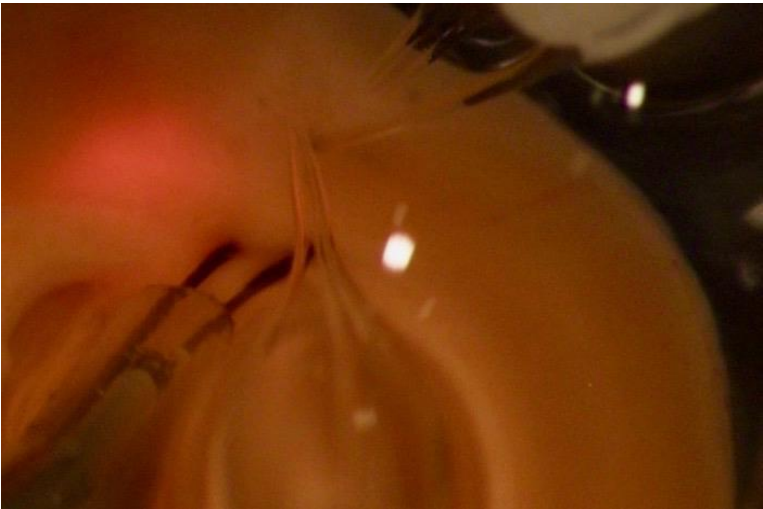
Abb. 3.1.1



a: Position 0: S1



b: Position 1: S2



c: Position 2: M1

Abb. 3.1.2 Yamamoto II, 100%

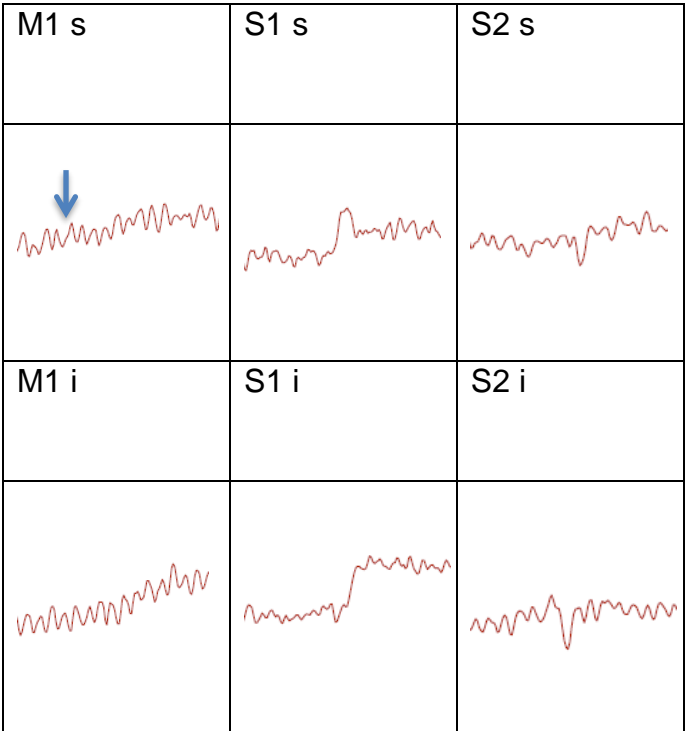
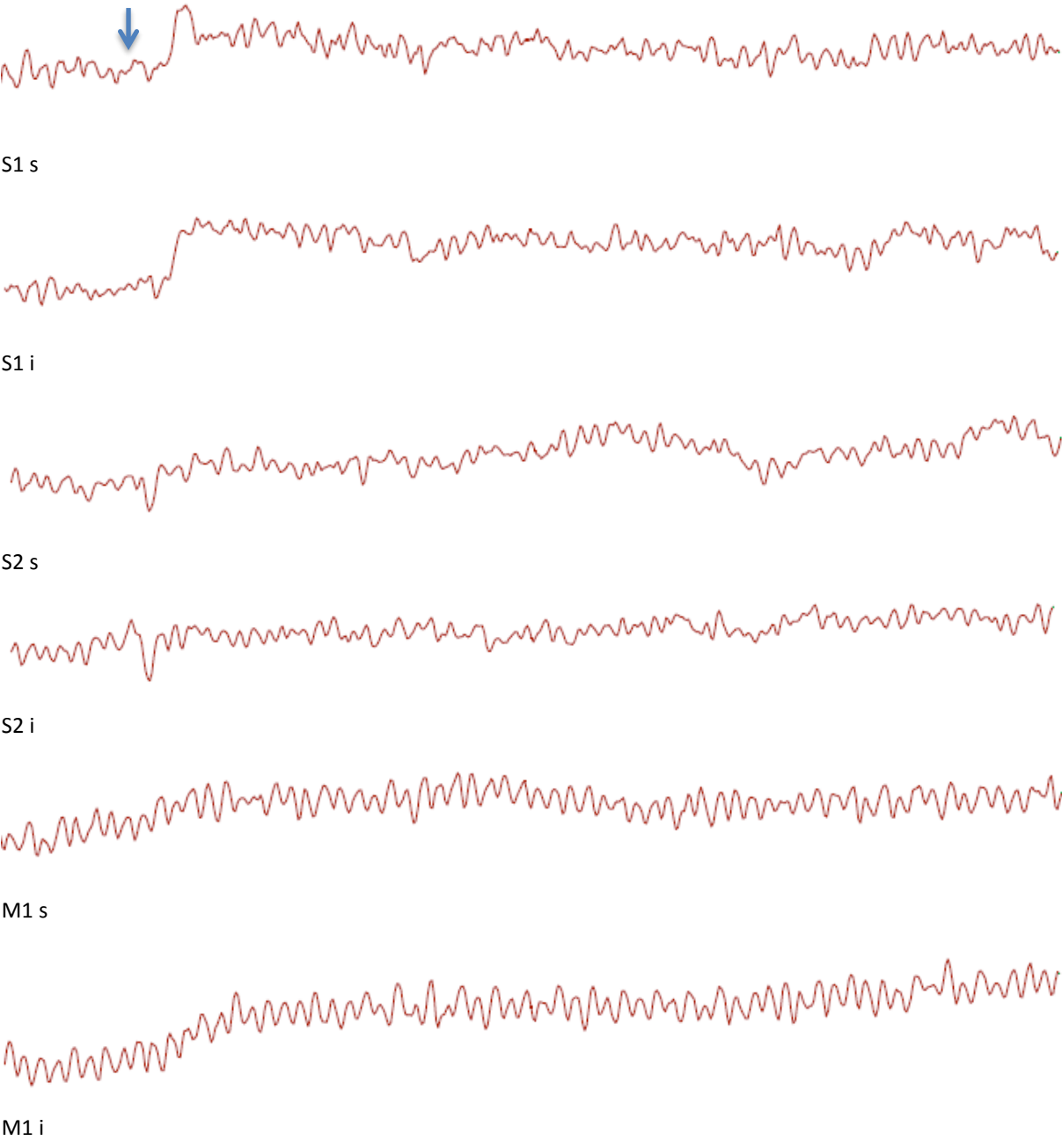


Abb. 3.1.3 Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.1.2



$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ | 40 ms

Abb. 3.1.4 Feldpotentiale

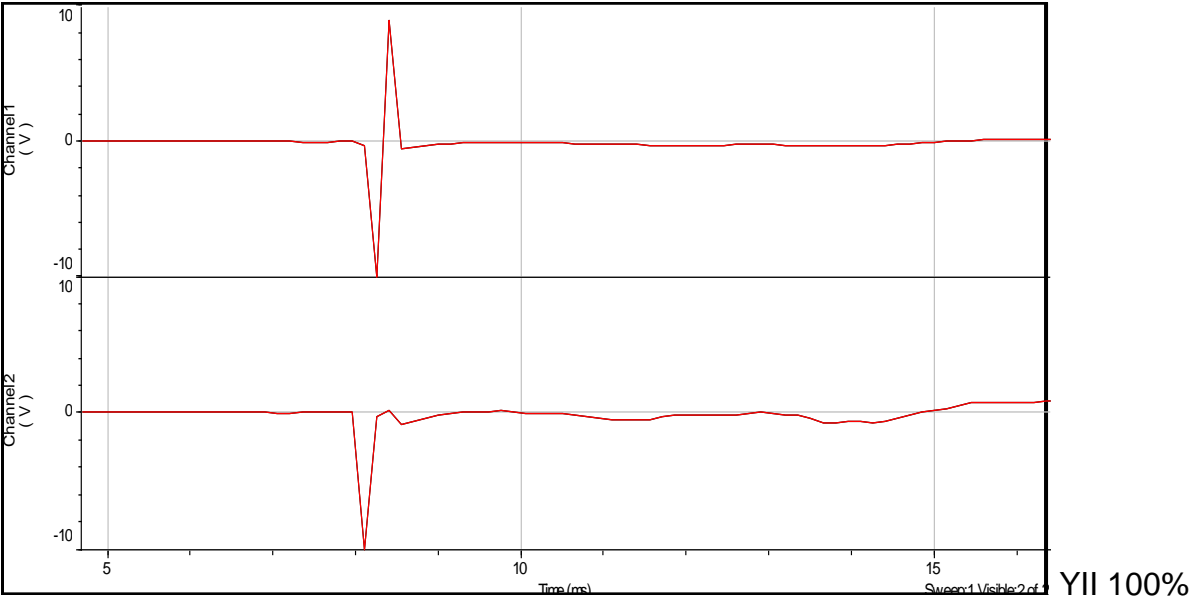
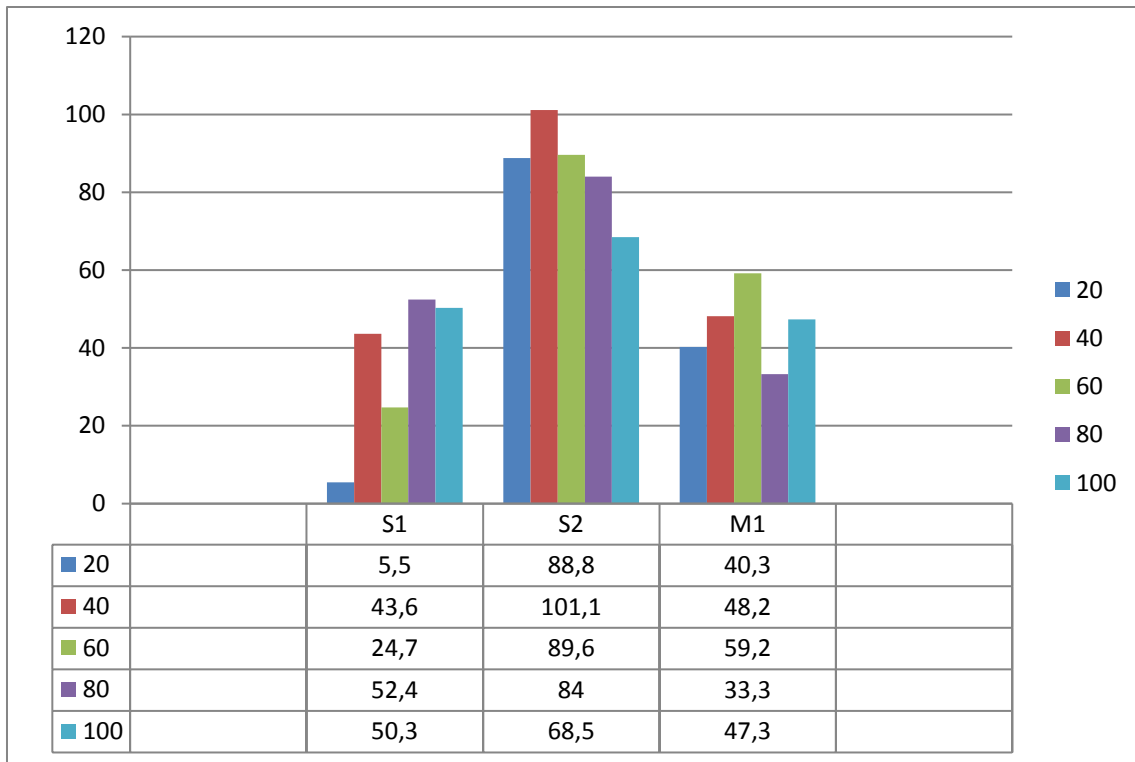


Abb. 3.1.5

a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



b) Yamamoto II, 100%, infragranulär

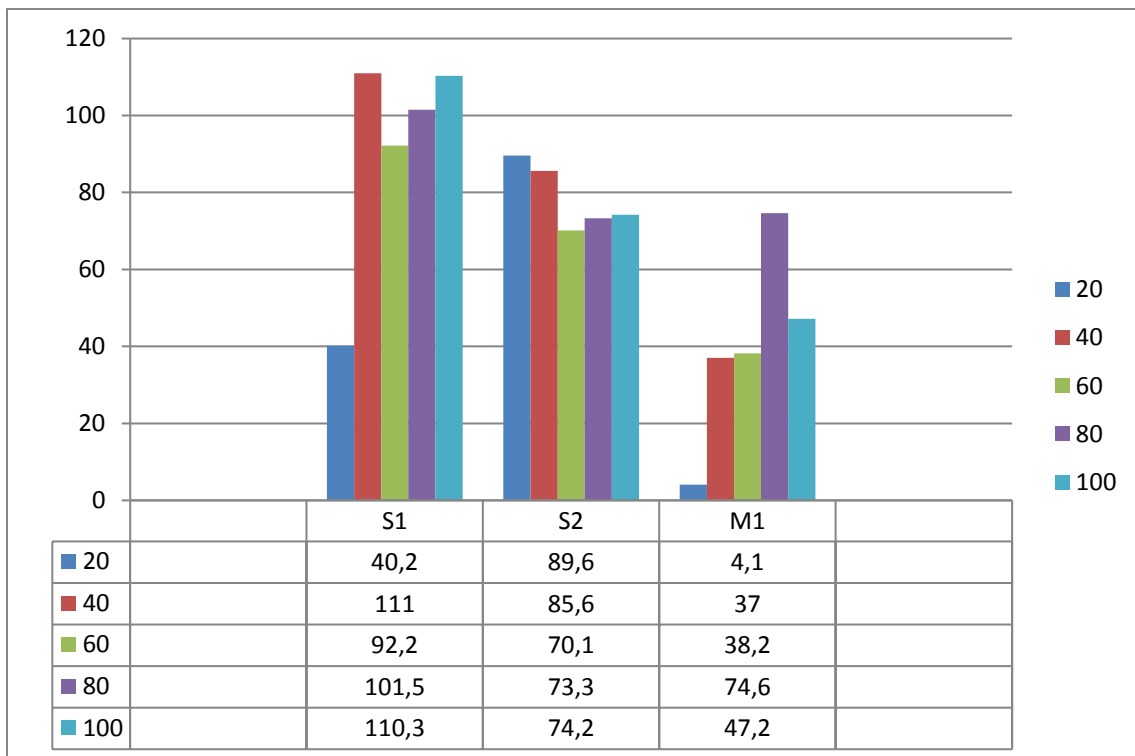
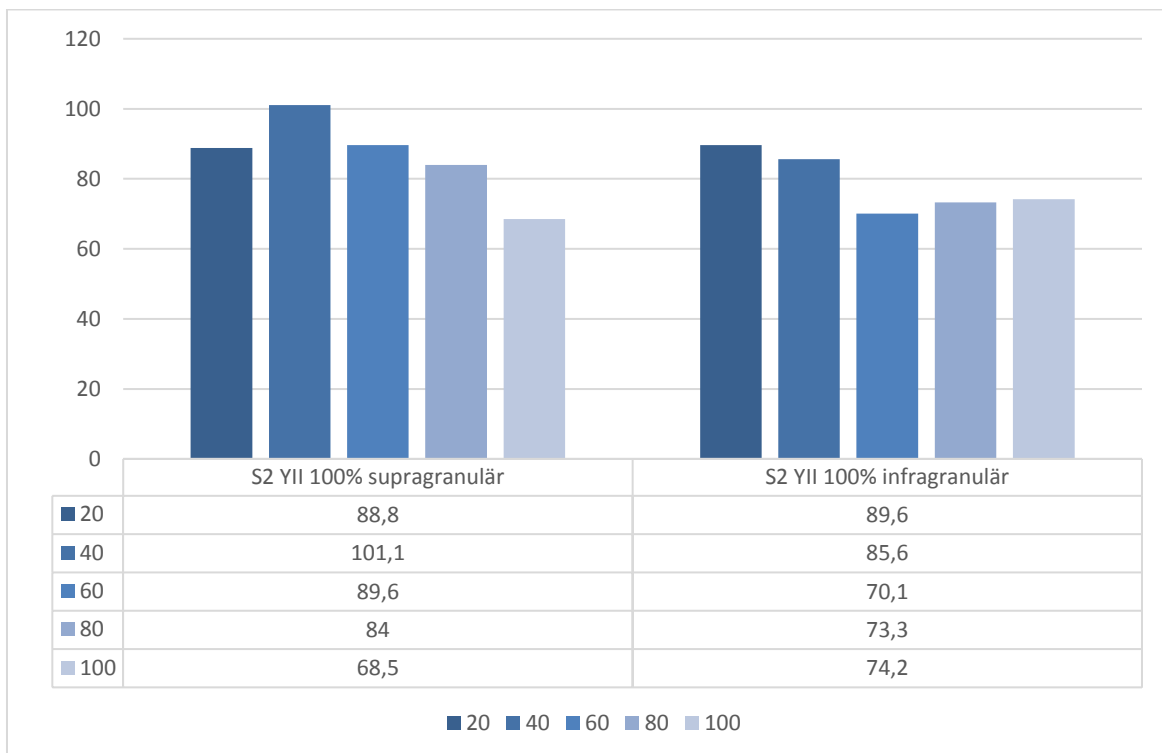


Abb.3.1.6 Motorik



Abb.3.1.7 sekundär-Somatosensorik



3.2 Versuch 2

Abb. 3.2.1 a) Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer, FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale (FP), RE: Reizelektrode; b-f) Positionen des Diodenarrays (rote Punkte im Hirnschnitt) und Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1 K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3, M1: primär-motorischer Kortex, Position 4

Abb. 3.2.2a-5a Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Diodenarray-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitäts-graphen, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Ansicht der Rindenareale sortiert von medial nach lateral. Zeiteichung und Achsenskalierung siehe 3.2.2b-5b und 3.2.7a-h.

Abb. 3.2.2b-5b Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S2a s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, supragranulär; S2b s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, supragranulär; S1K s: primär-somatosensorischer Kortex Kontrolle, Position 3, supragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 4, supragranulär S1 i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S2a i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; S2b i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, infragranulär; S1K i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 3, infragranulär; M1 i: primär-motorischer Kortex, Position 4, infragranulär). Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Dauer des gesamten Kurvenausschnittes 1300 ms.

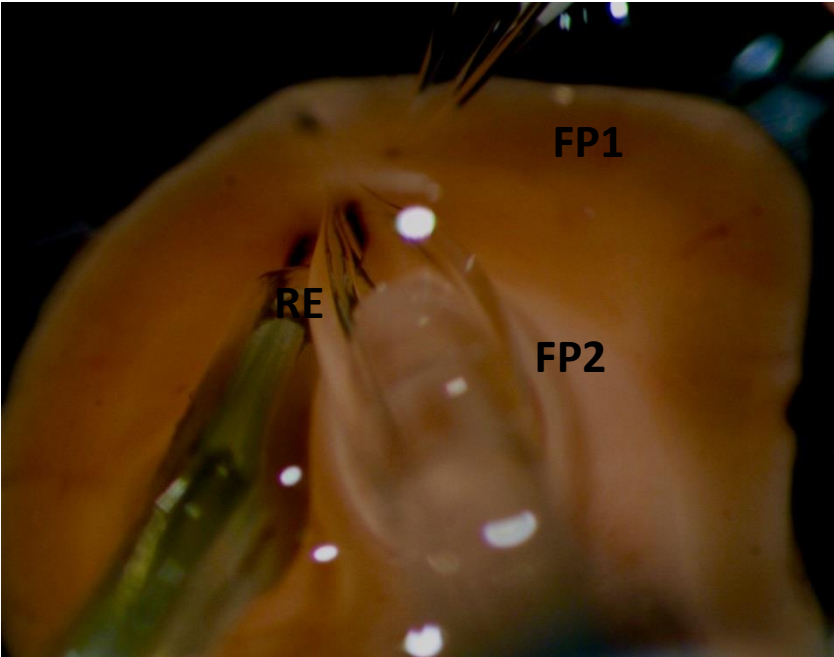
Abb. 3.2.6a-d Graphische Darstellung der Feldpotentiale sortiert nach Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) und Reizstärke (100%, 50%)

Abb. 3.2.7a-h Balkendiagramm-Übersicht der Graphen innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

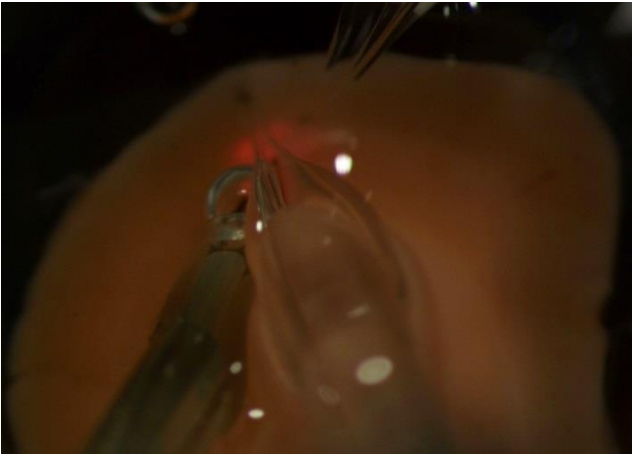
Abb. 3.2.8 a) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg), b) graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.2.9 a) Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg),
b) Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg).
Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

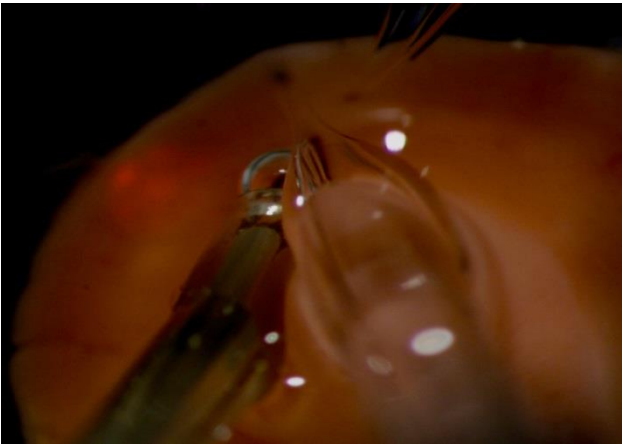
Abb. 3.2.1



a: Versuchsaufbau



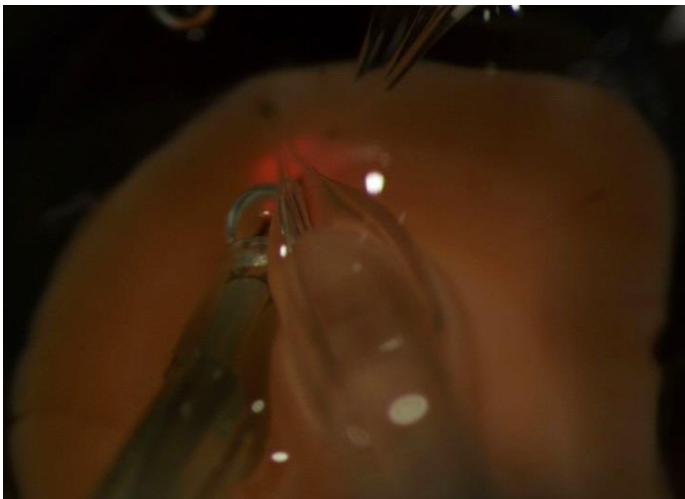
b: Position 0: S1



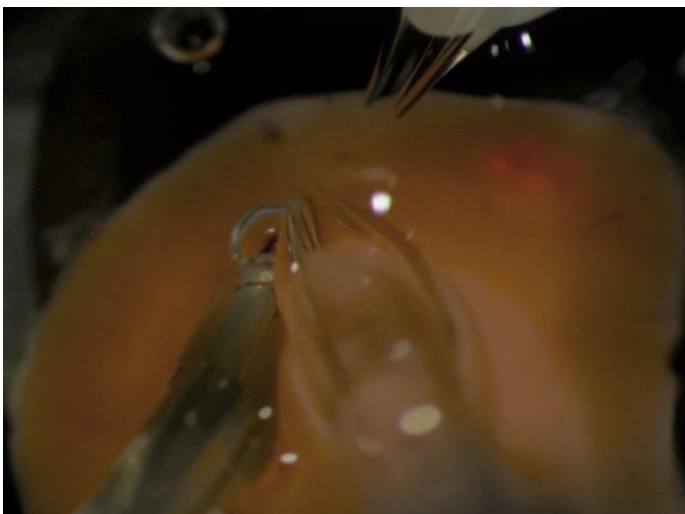
c: Position 1: S2a



d: Position 2: S2b



e: Position 3: S1 K



f: Position 4: M1

Abb. 3.2.2a YII 100%

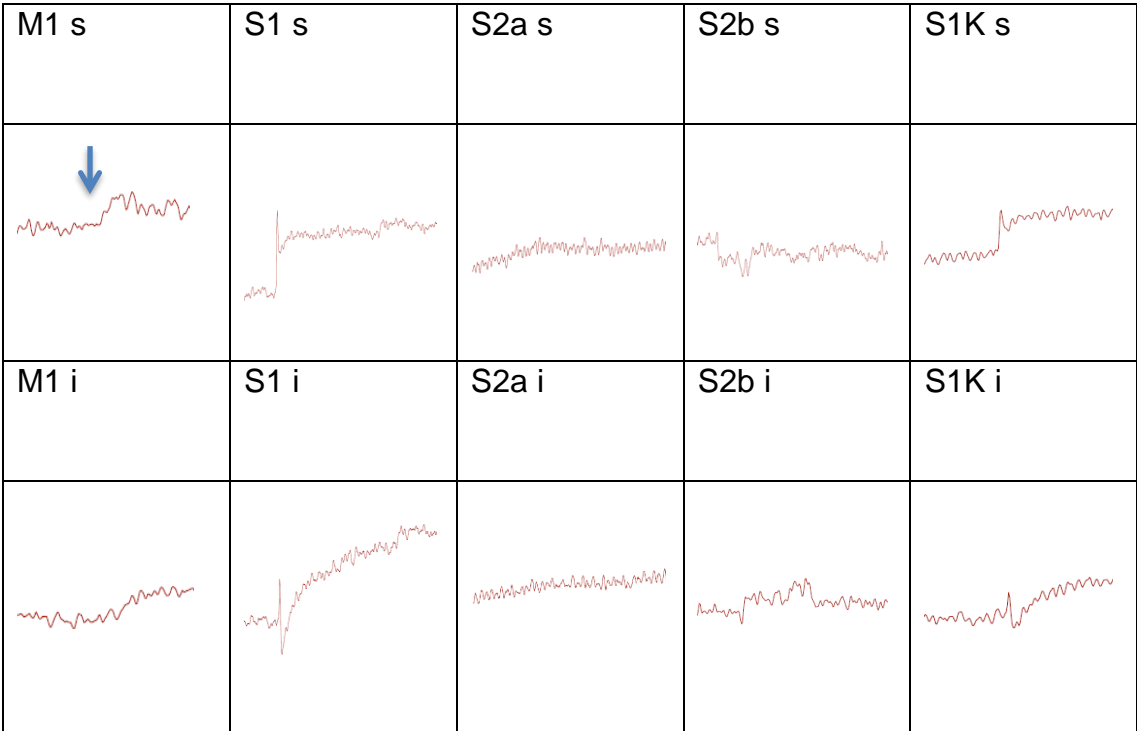


Abb. 3.2.2b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.2a

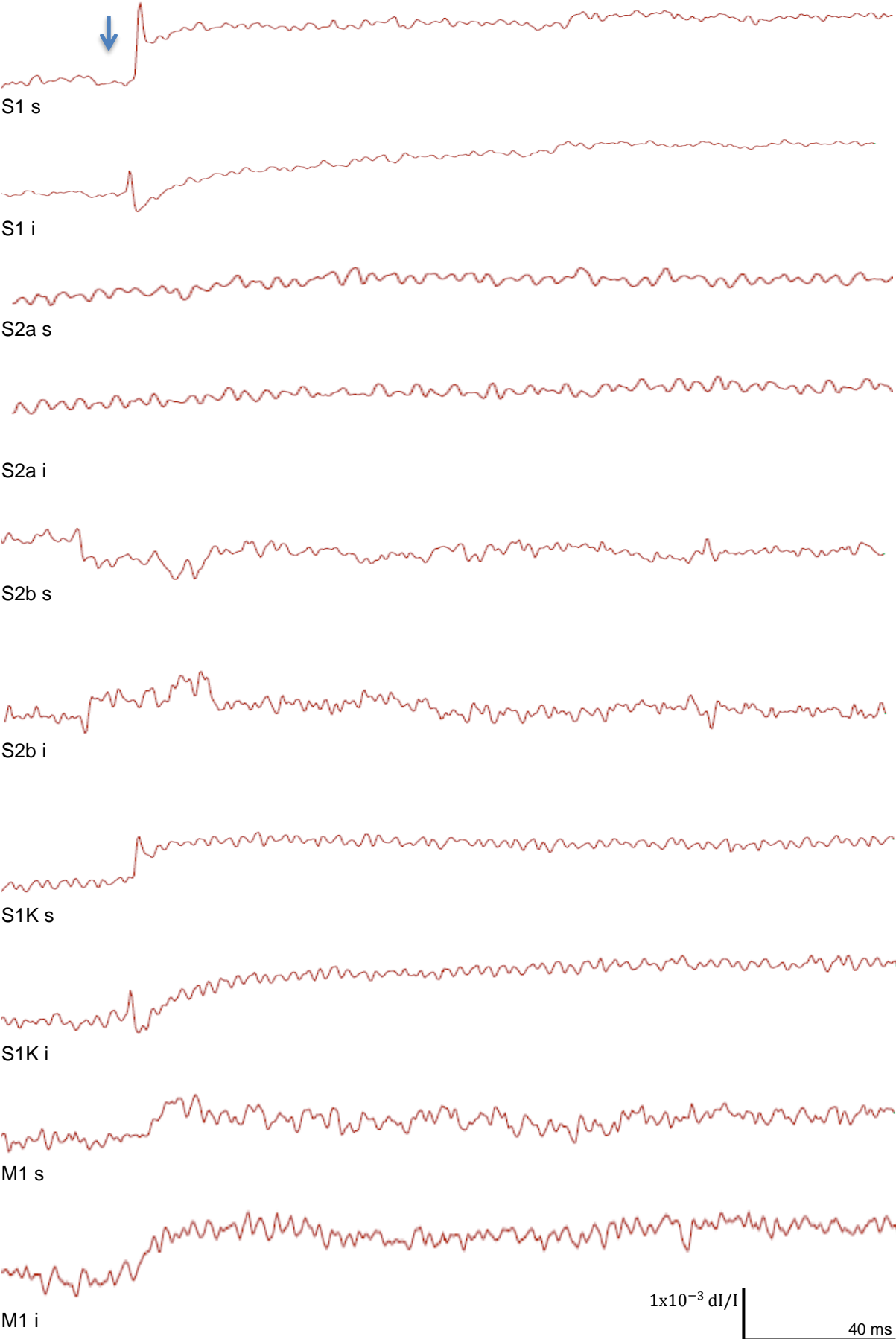


Abb. 3.2.3a YII 50%

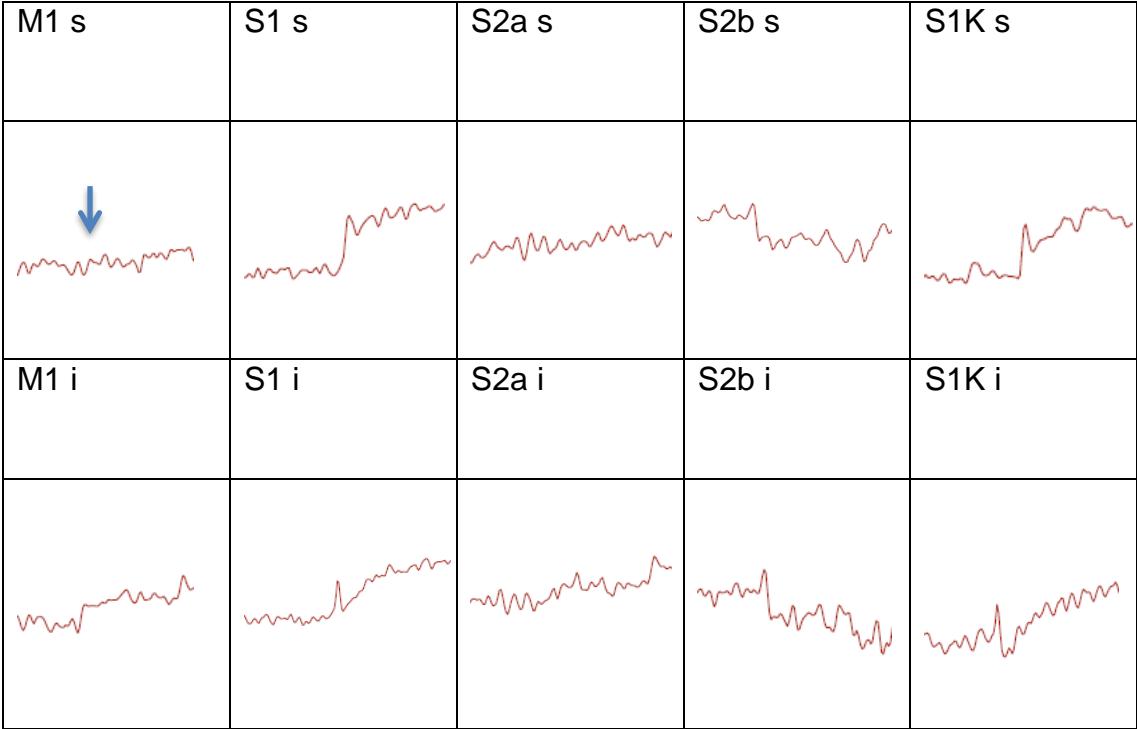


Abb. 3.2.3b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.3a

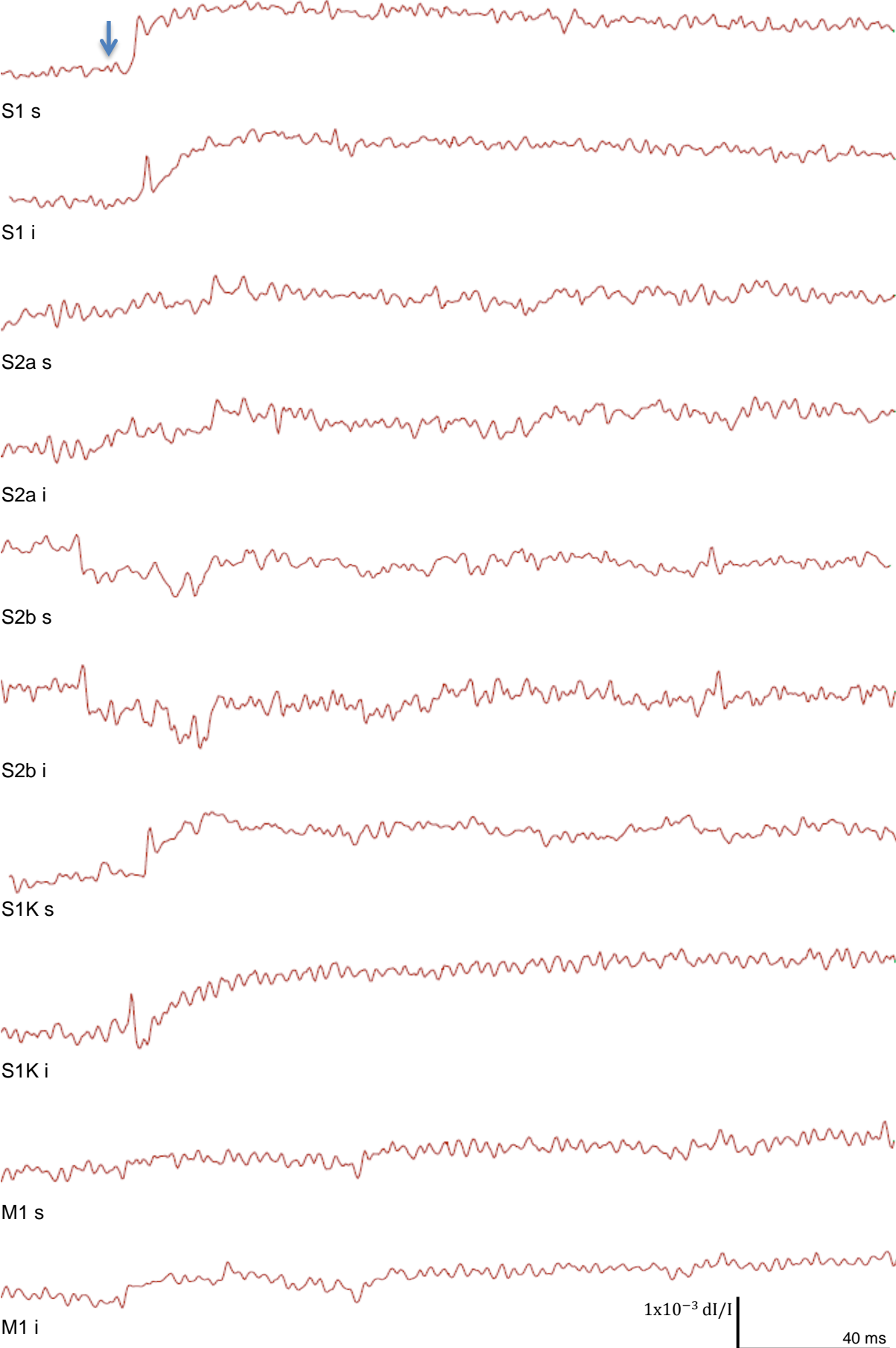


Abb. 3.2.4a OMg, 100%

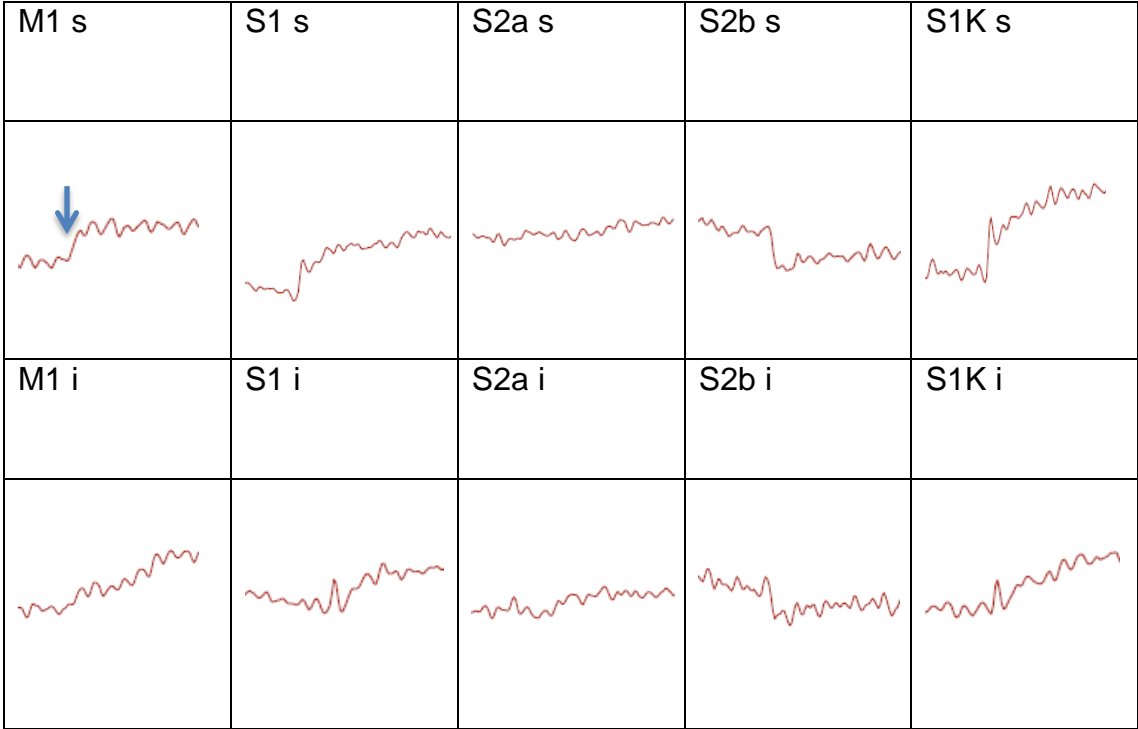


Abb. 3.2.4b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.4a

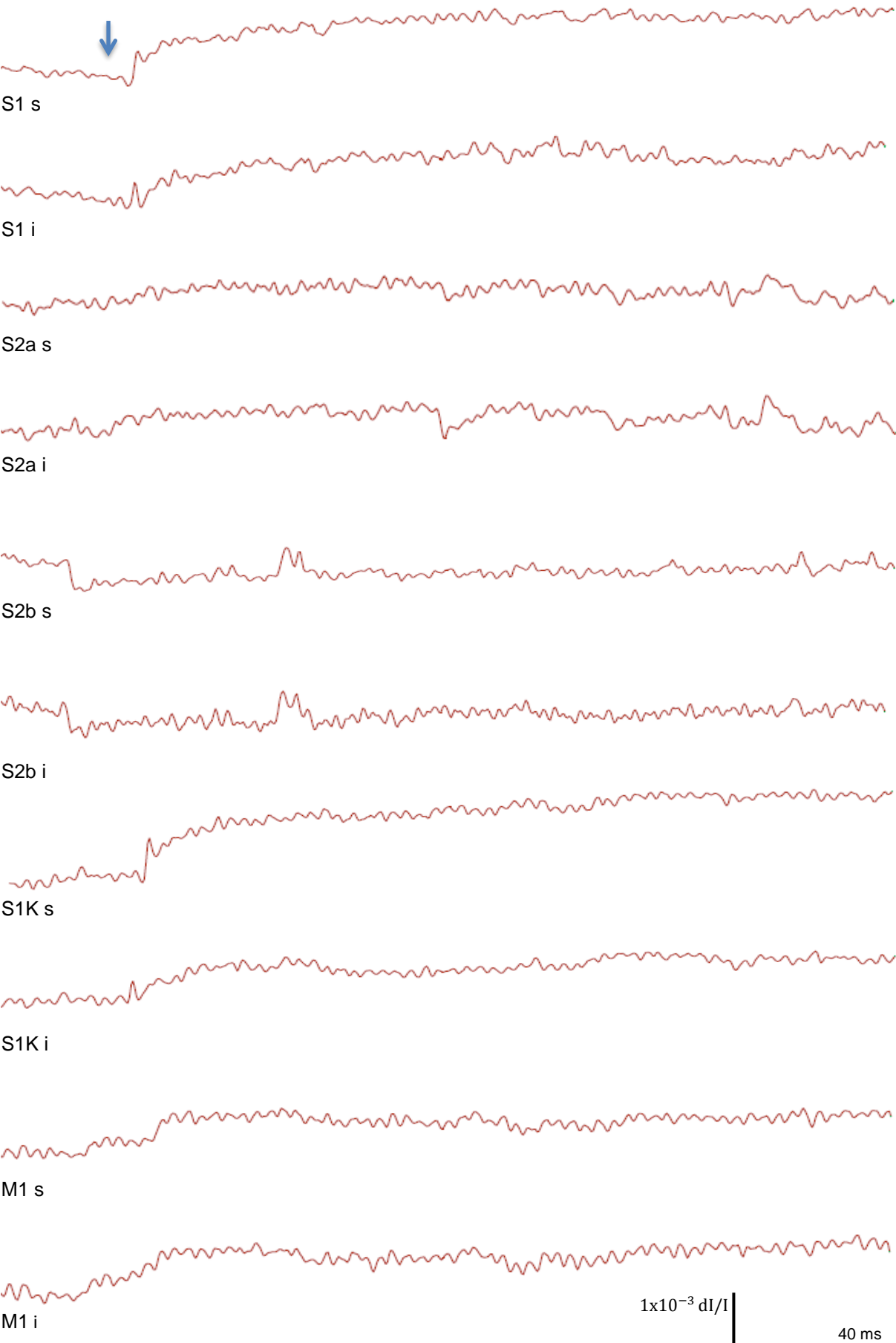


Abb. 3.2.5a OMg 50%

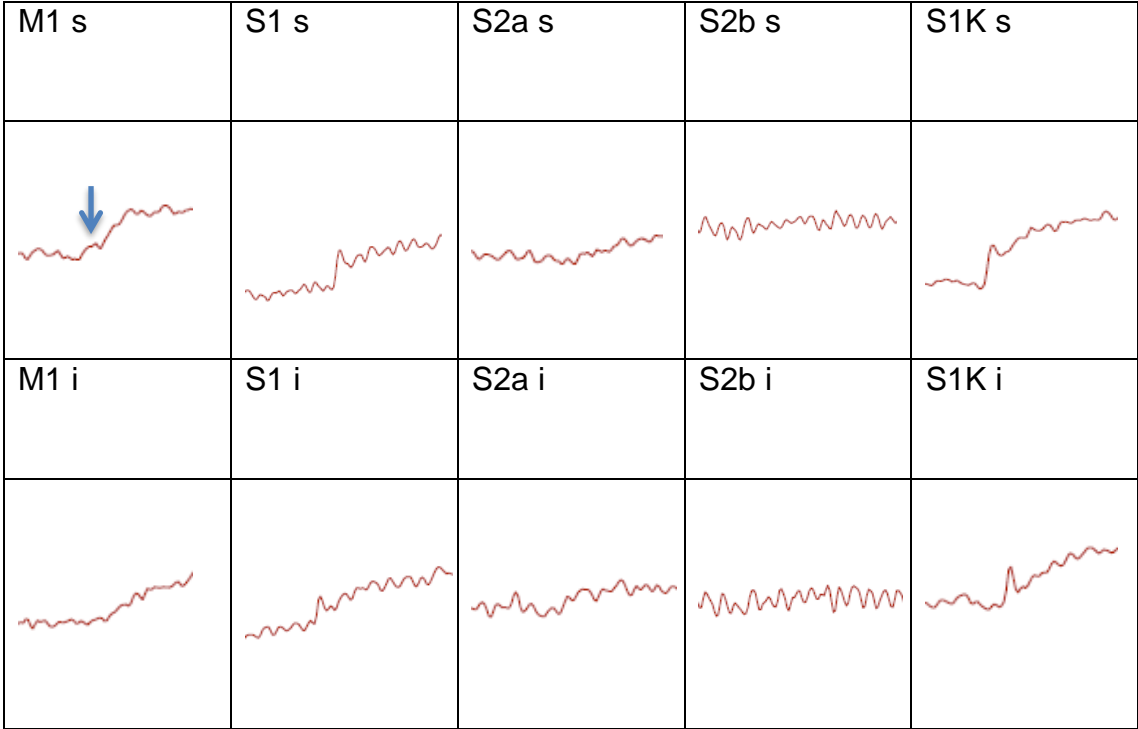


Abb. 3.2.5b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.5a

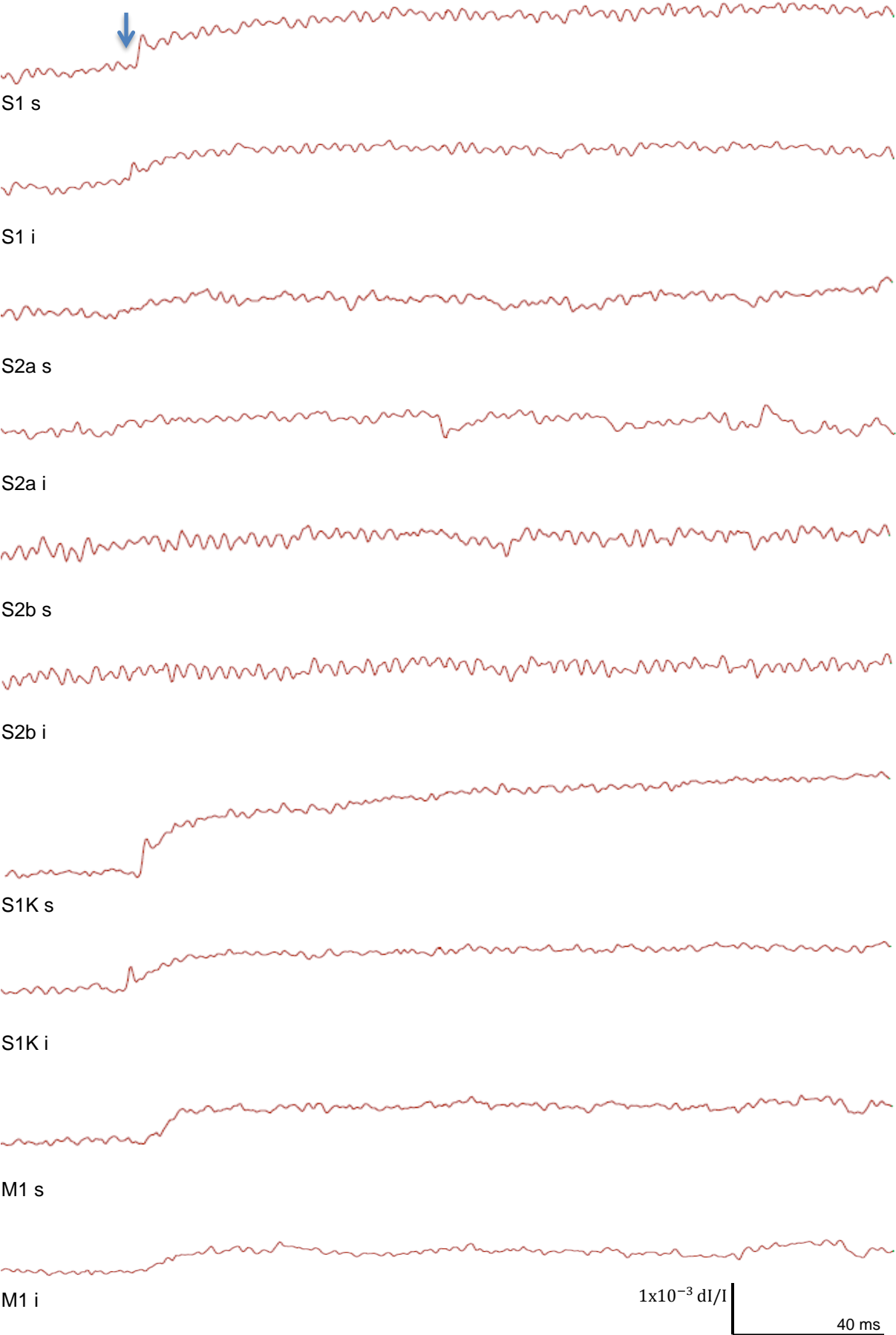
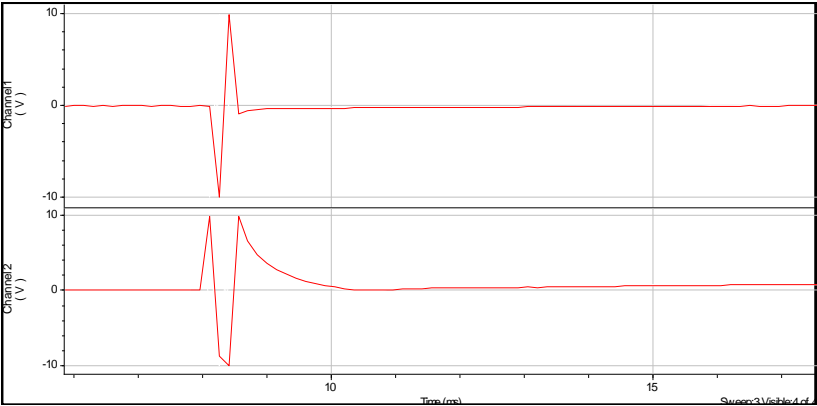
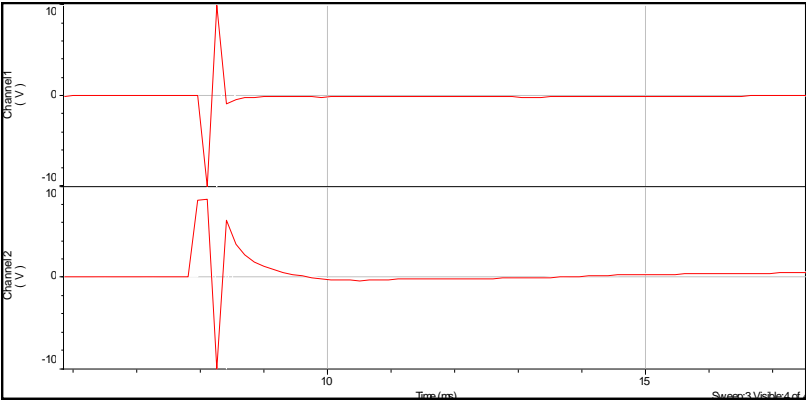


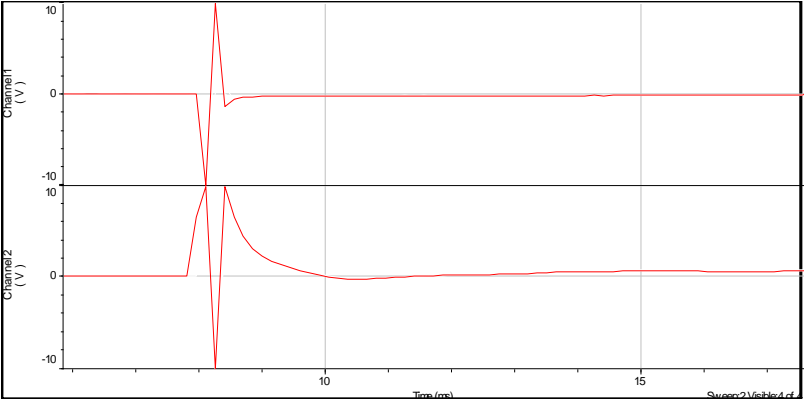
Abb. 3.2.6 Feldpotentiale



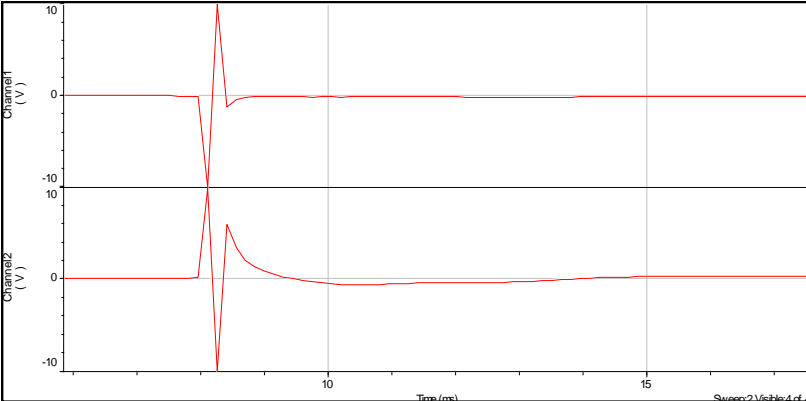
a: YII 100%



b: YII 50%



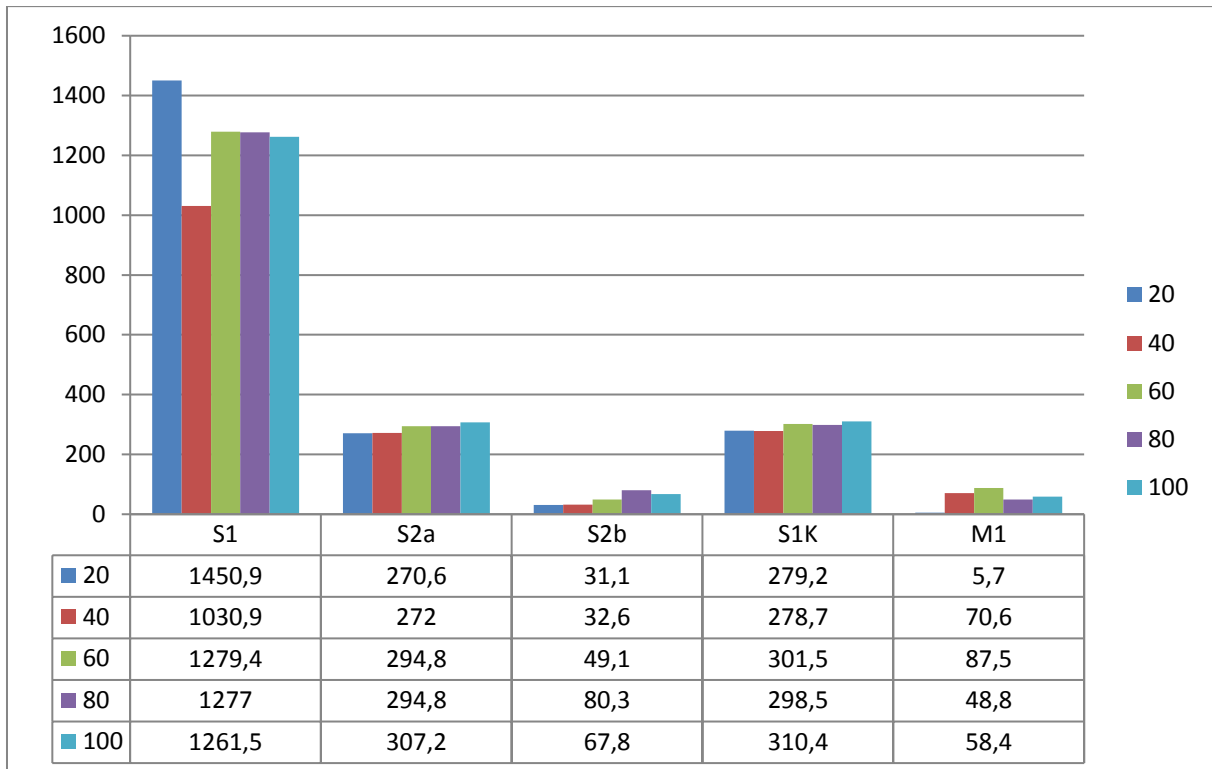
c: OMg 100%



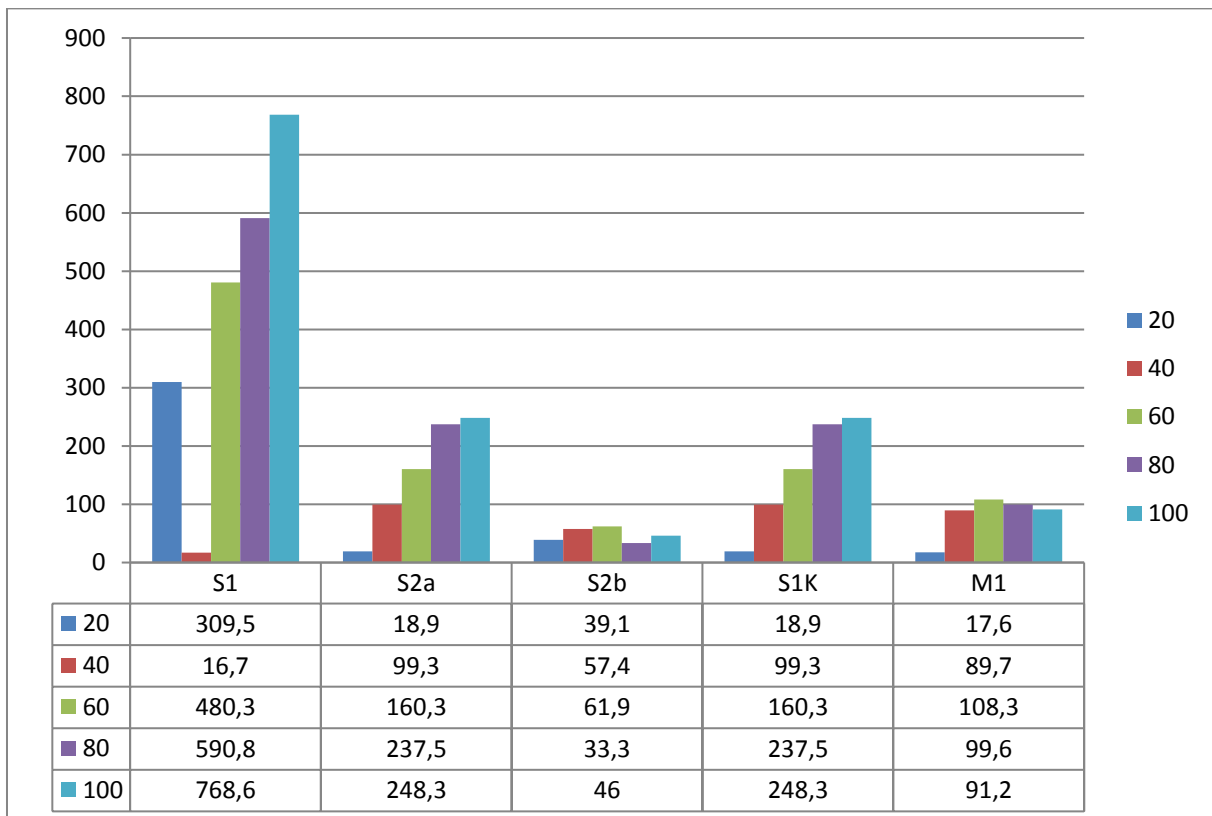
d: OMg 50%

Abb. 3.2.7

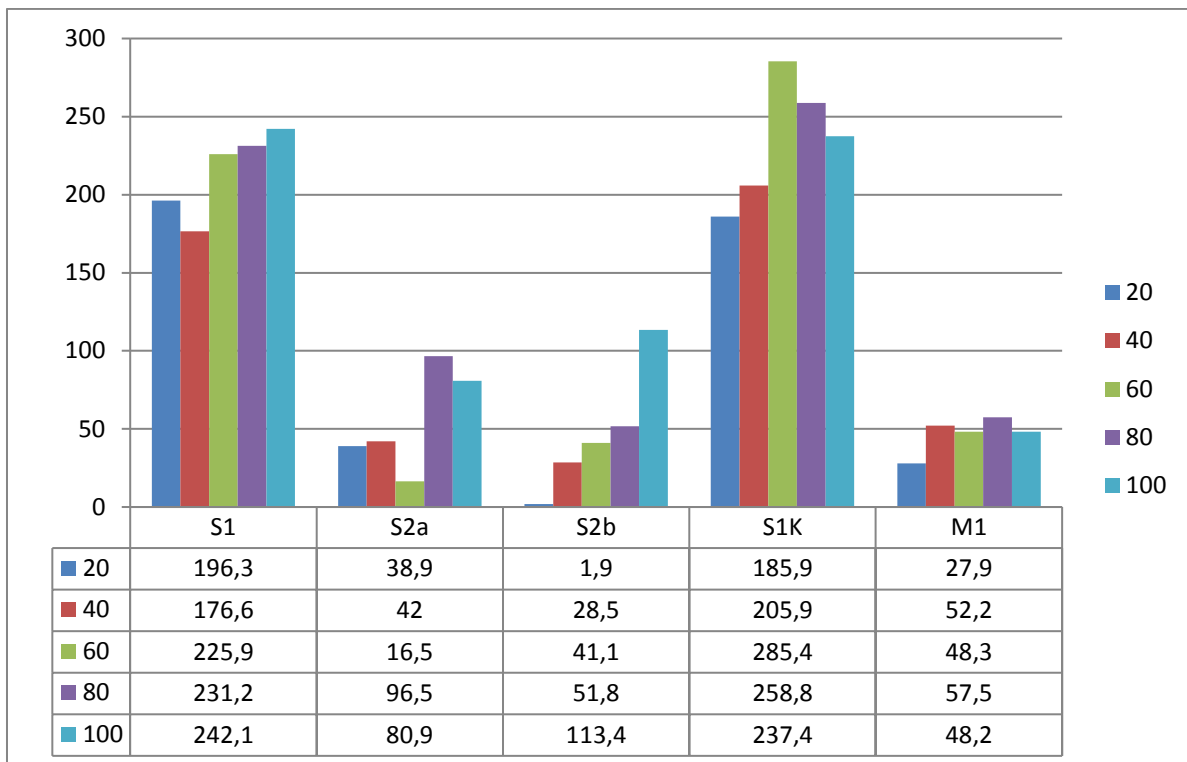
a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



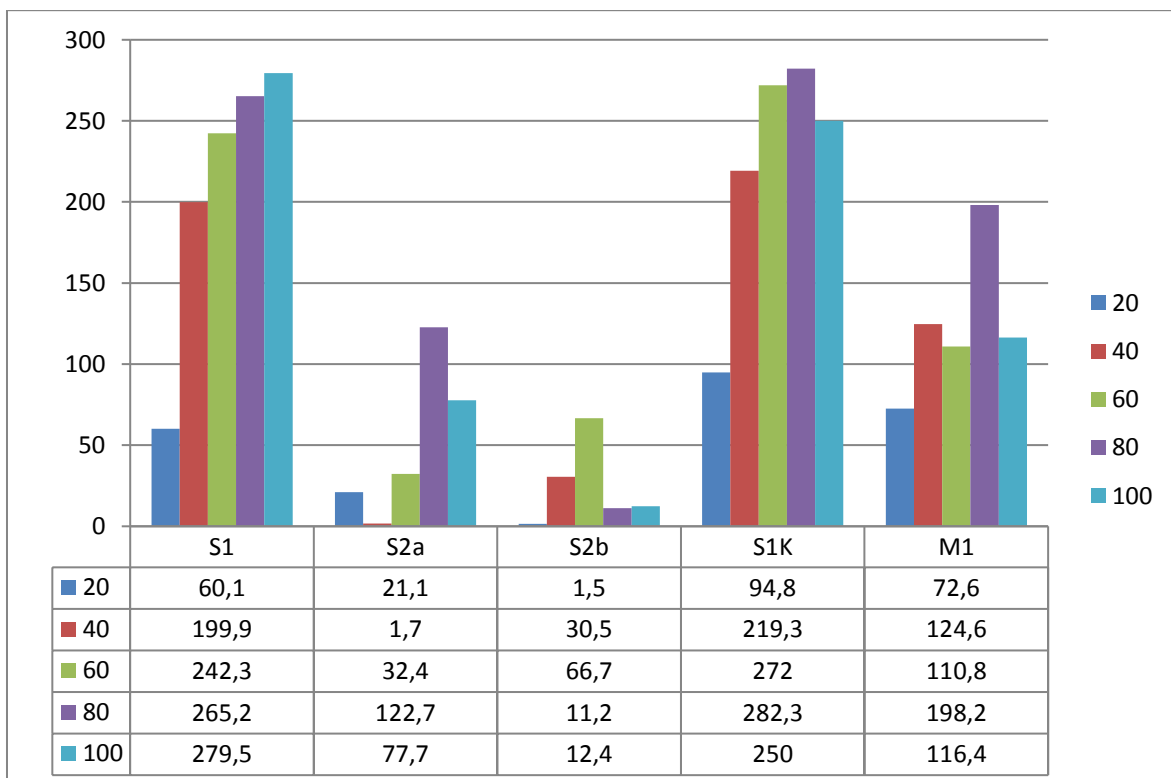
b) Yamamoto II, 100%, infragranulär



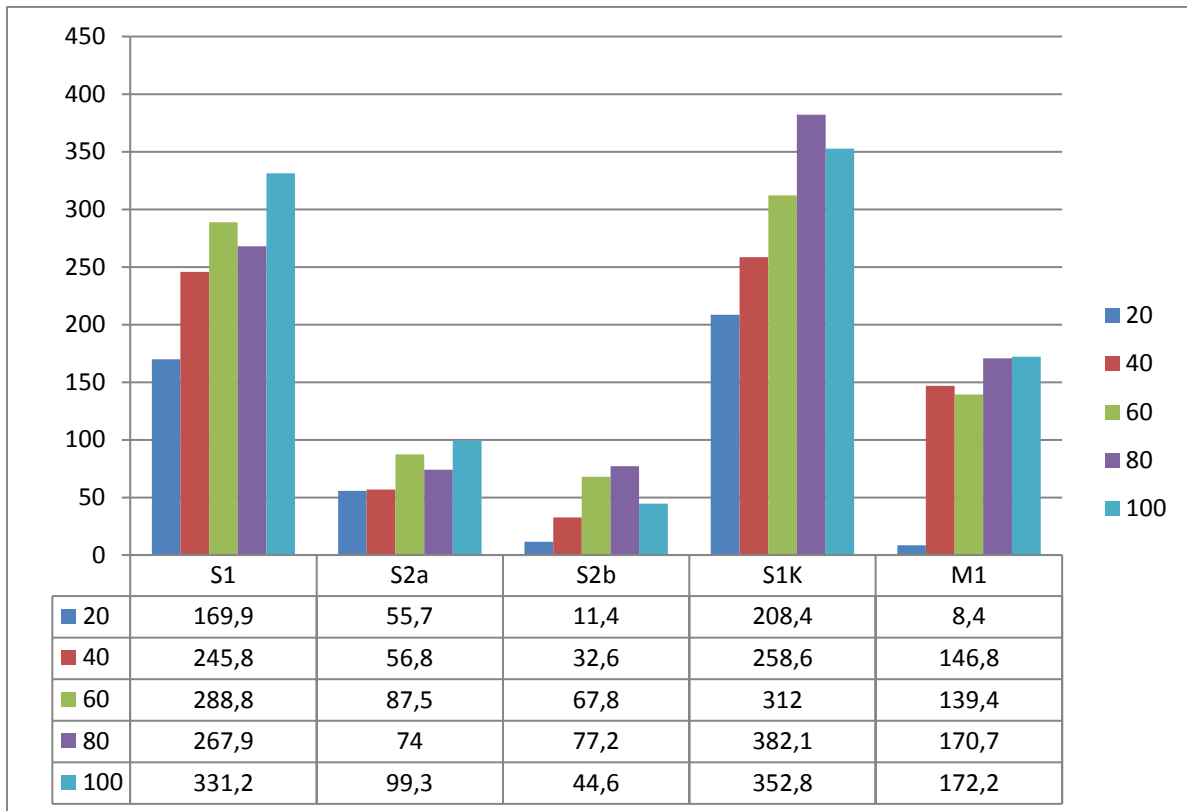
c) Yamamoto II, 50% supragranulär:



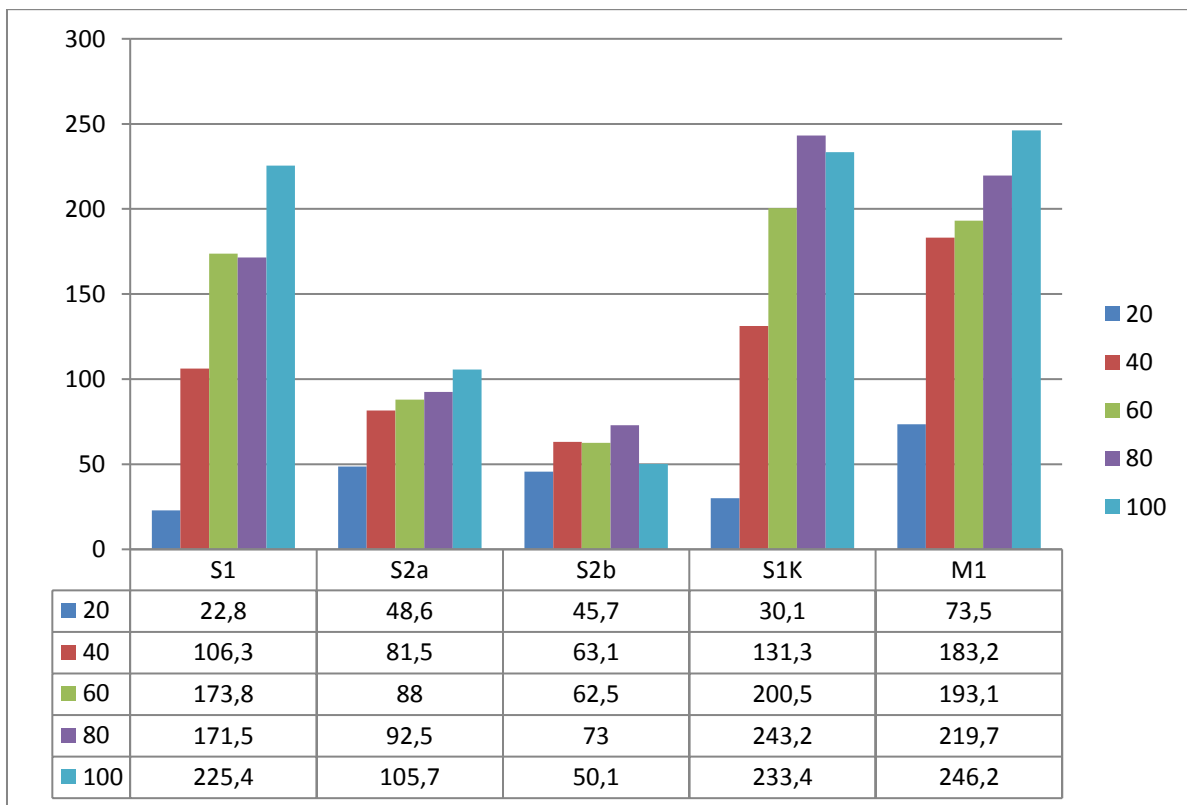
d) Yamamoto II, 50% infragranulär:



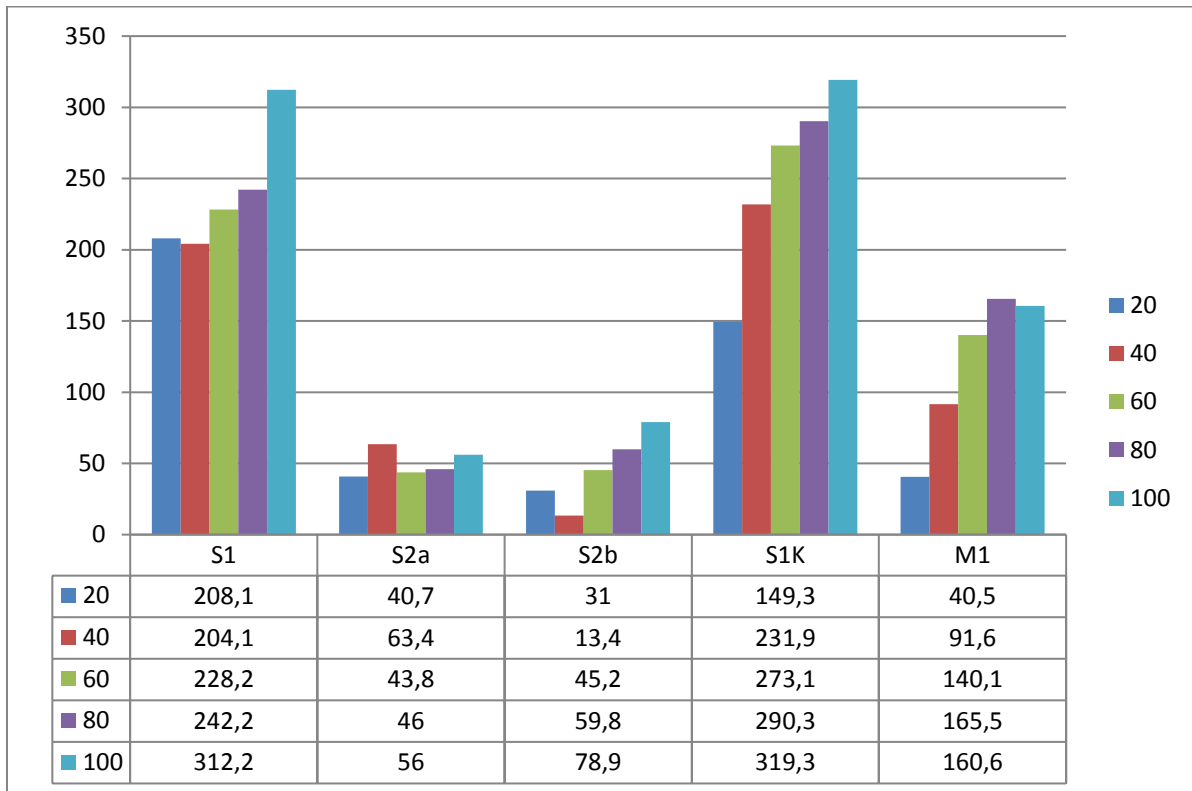
e) OMg, 100%, supragranulär



f) OMg, 100%, infragranulär



g) OMg, 50%, supragranulär



h) OMg, 50%, infragranulär

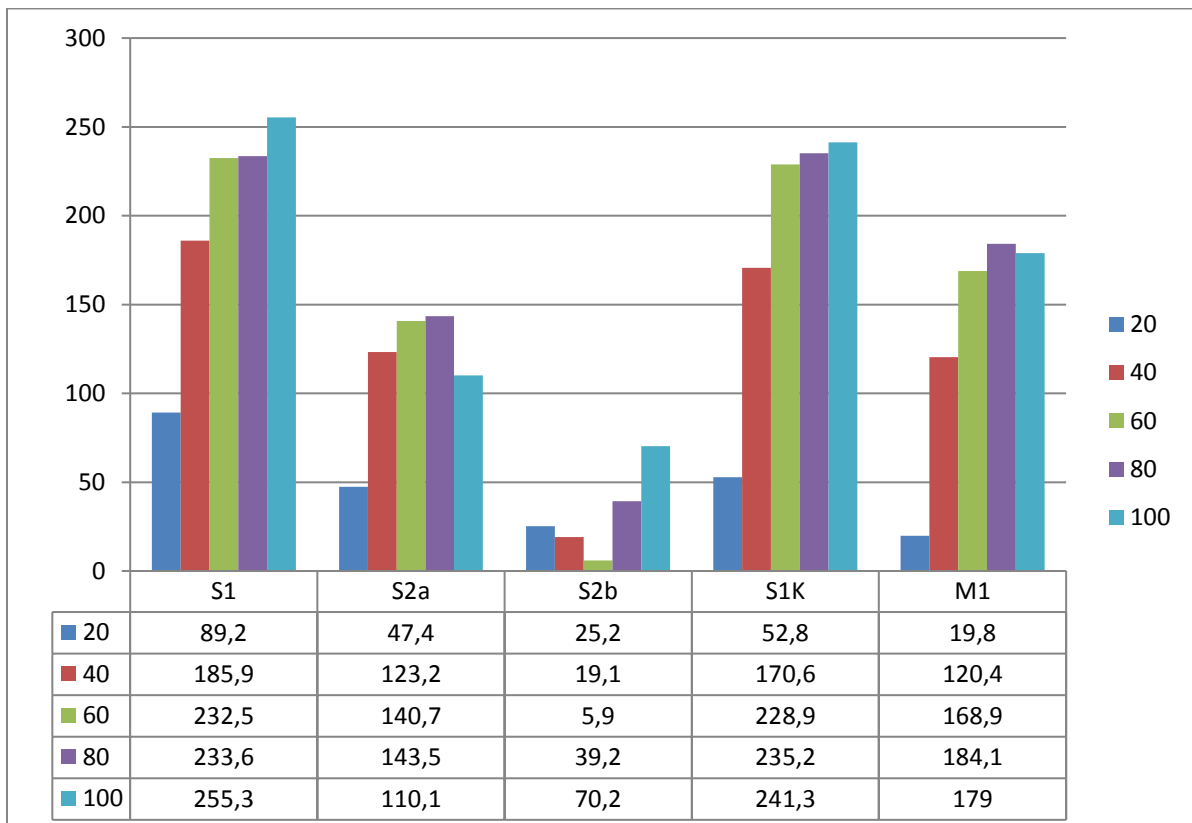
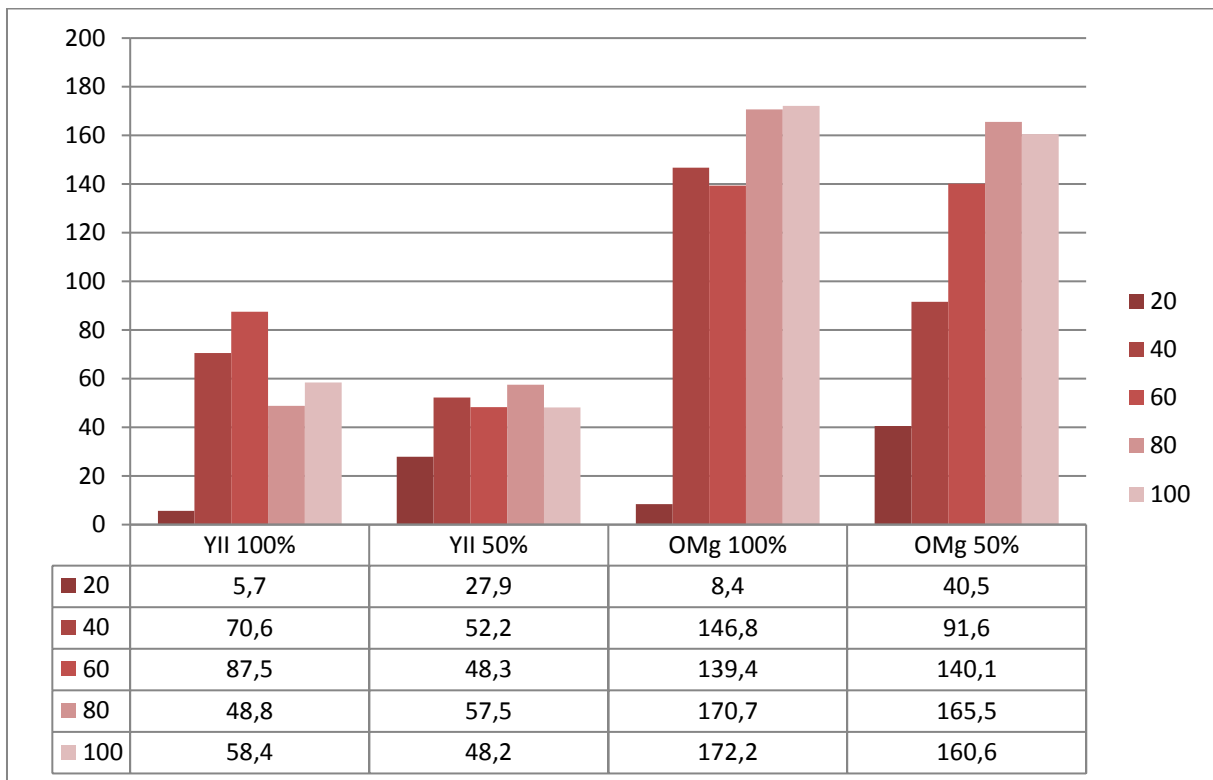
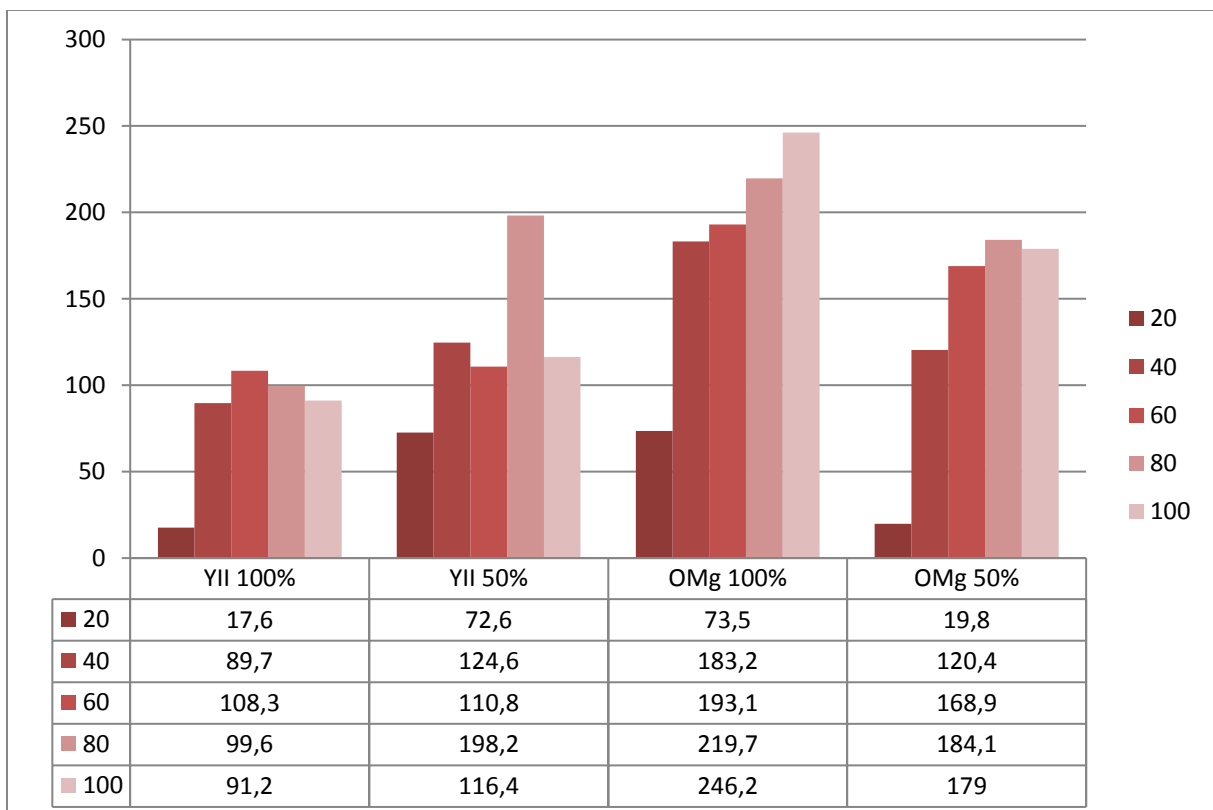


Abb.3.2.8 Motorik

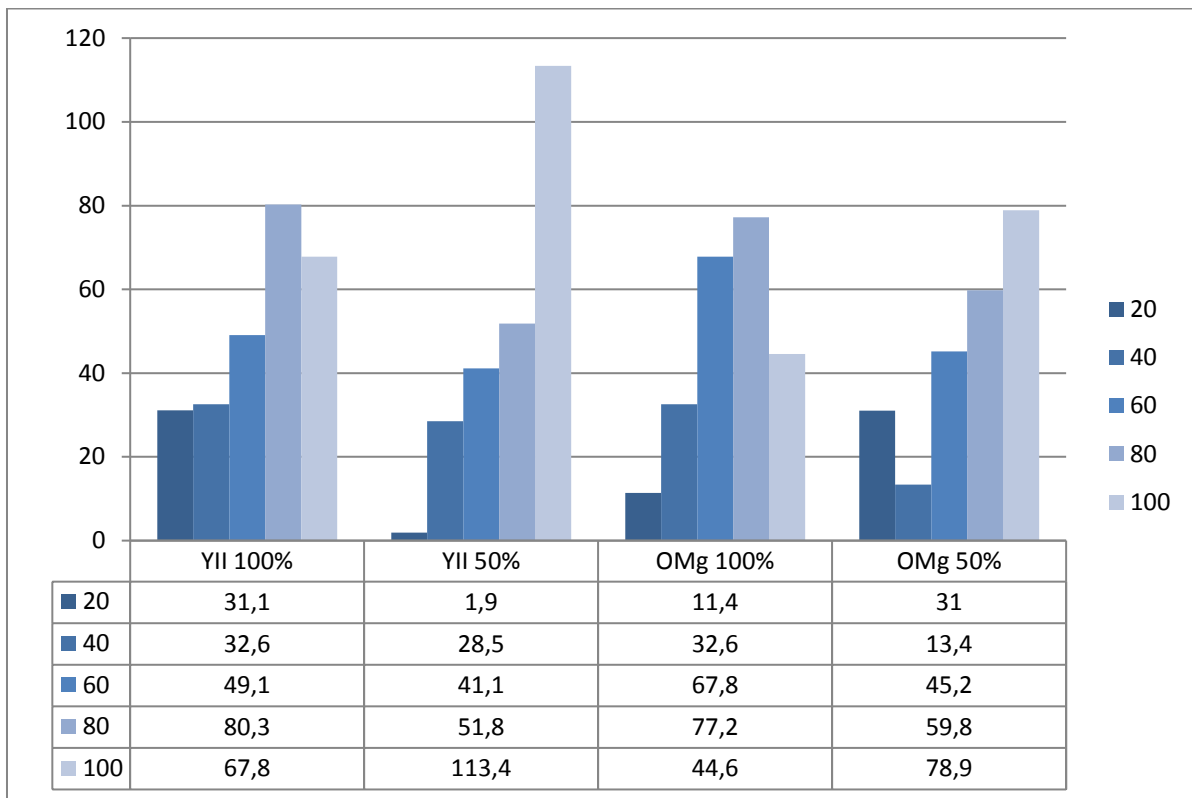


a) supragranulär

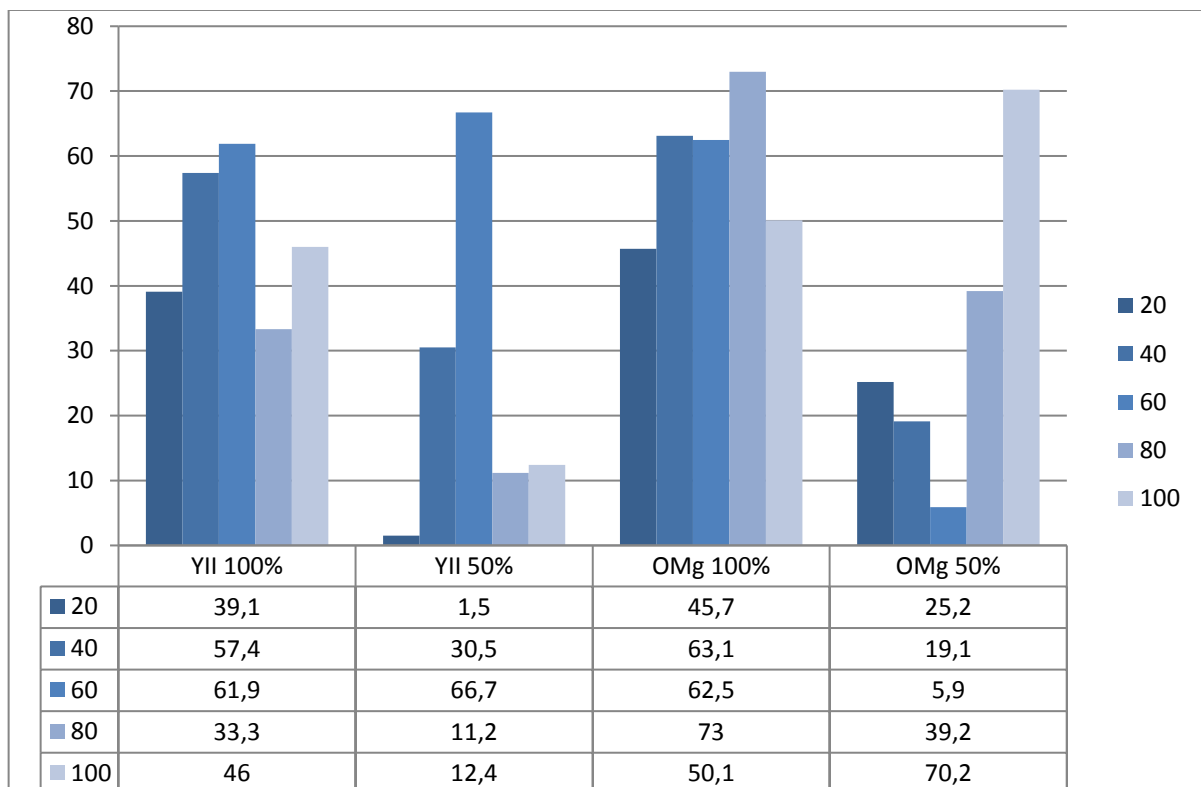


b) infragranulär

Abb. 3.2.9 sekundär-Somatosensorik



a) supragranulär



b) infragranulär

3.3 Versuch 3

Abb. 3.3.1 a) Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer, FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale (FP), RE: Reizelektrode, b-f) Positionen des Dioden-Arrays (rote Punkte im Hirnschnitt) und Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zum sekundär-somatosensorischen Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3, M1: primär-motorischer Kortex, Position 4.

Abb. 3.3.2a-3.3.5a Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Diodenarray-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitätsgraphen, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zum sekundär-somatosensorischen Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Zeiteichnung und Achsenskalierung siehe 3.3.2b-5b und 3.3.7a-h

Abb. 3.3.2b-3.3.5b Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S1/2 s: Übergang primär-motorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, supragranulär; S2 s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, supragranulär; S1K s: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3, supragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 4, supragranulär; S1a i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S1/S2 i: Übergang primär-motorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; S2 i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, infragranulär; S1K i: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3, infragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 4, infragranulär). Dauer des gesamten Kurvenausschnitts 1300 ms.

Abb. 3.3.6a-d Graphische Darstellung der Feldpotentiale sortiert nach Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) und Reizstärke (100%, 50%).

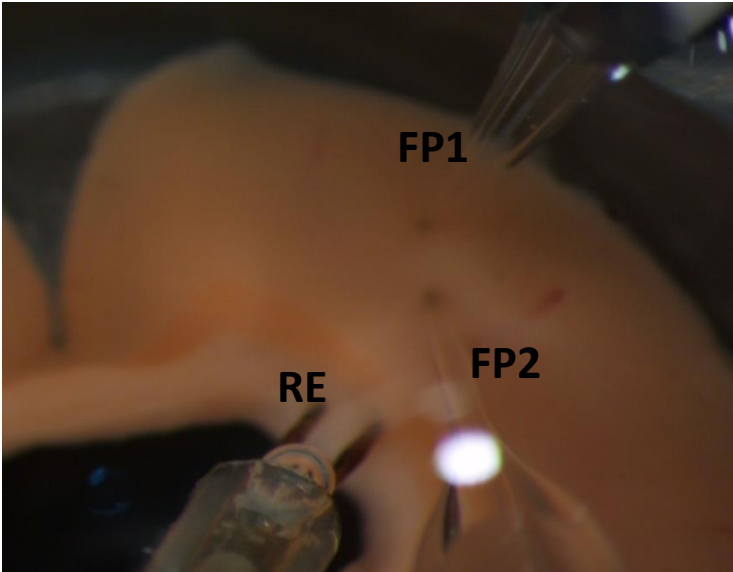
Abb. 3.3.7a-h Balkendiagramm-Übersicht der Graphen innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zum sekundär-somatosensorischen Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S1K: primär-somatosensorischer Kortex, Kontrolle, Position 3, M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.3.8 a) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) b) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur

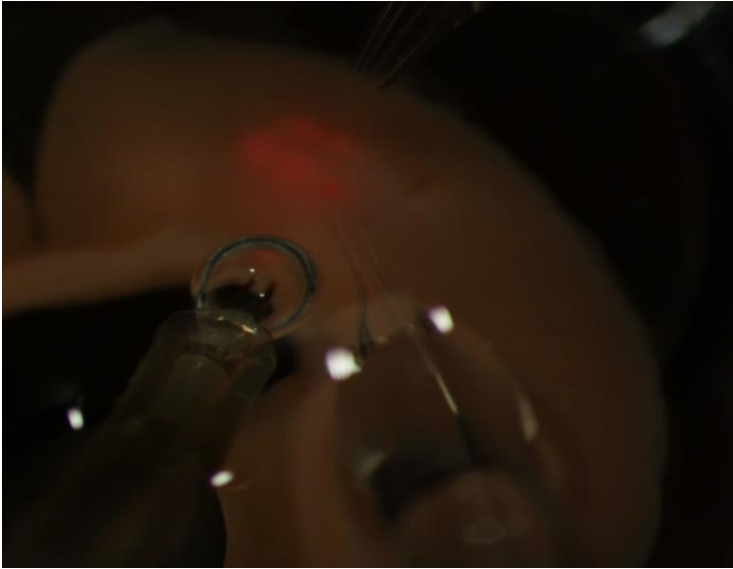
Ausgangsaktivität.

Abb. 3.3.9 Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg),
b) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.3.1



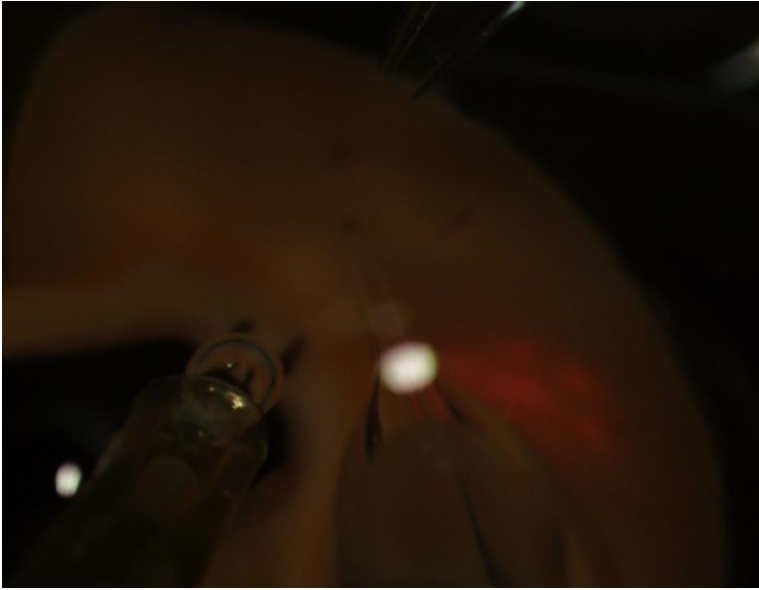
a: Versuchsaufbau



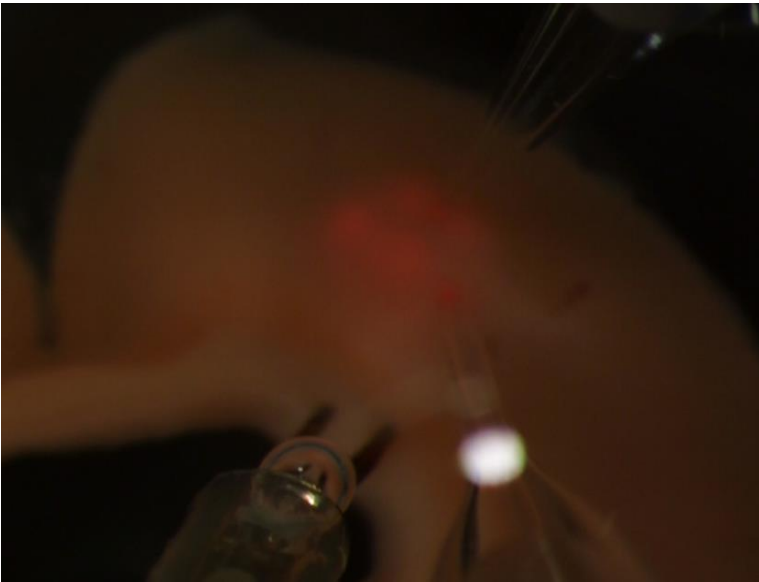
b: Position 0: S1



c: Position 1: S1/S2



d: Position 2: S2



e: Position 3: S1 K



f: Position 4: M1

Abb. 3.3.2a YII 100%

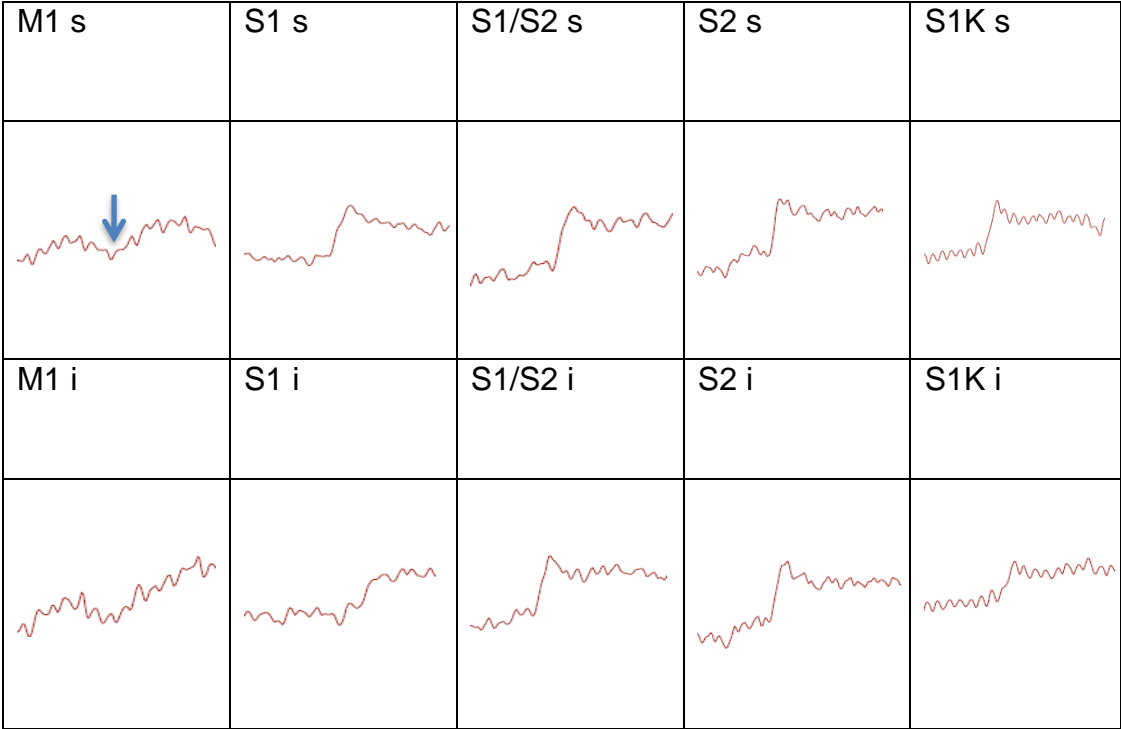


Abb. 3.3.2b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.2a

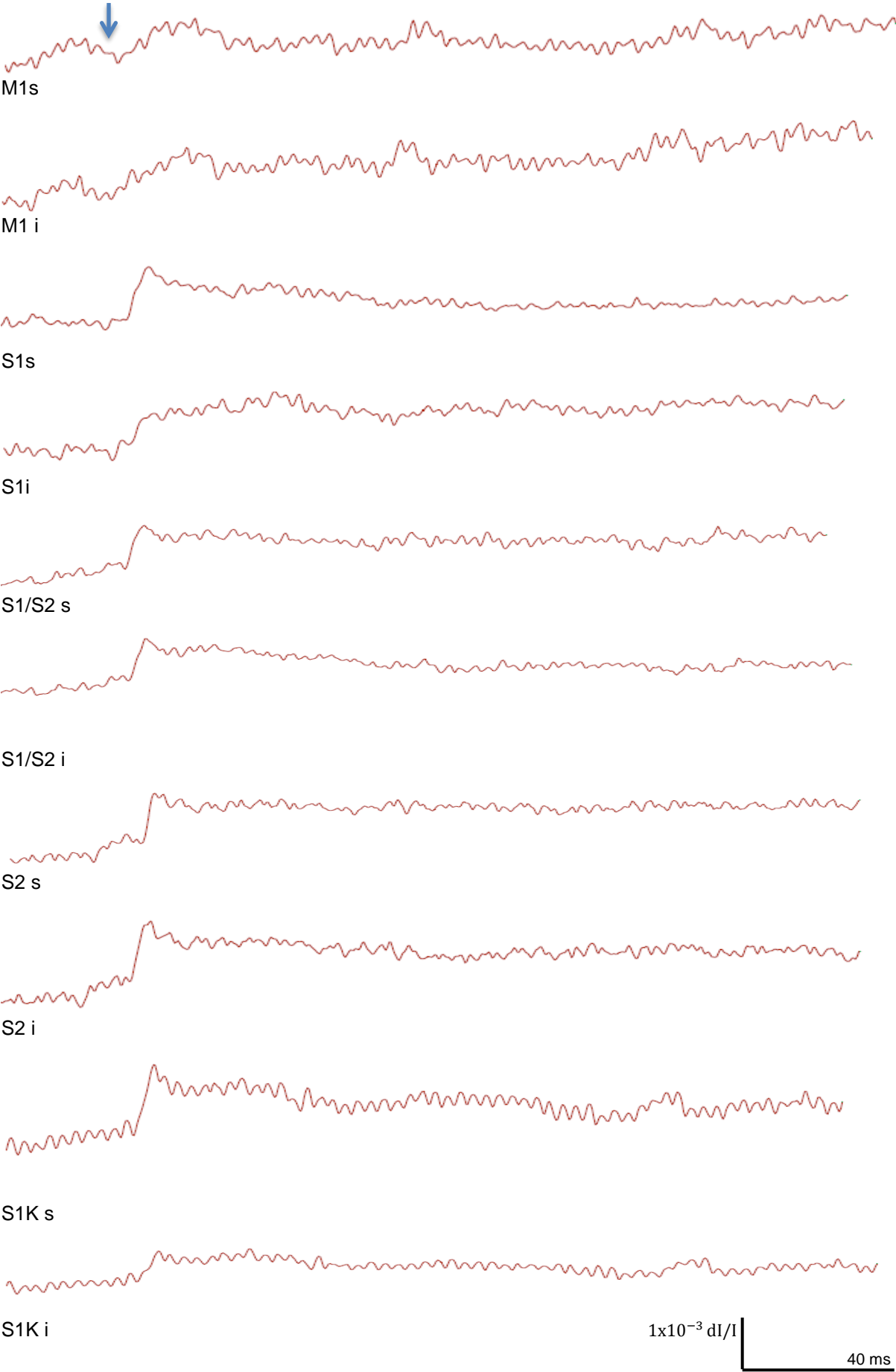


Abb. 3.3.3a YII 50%

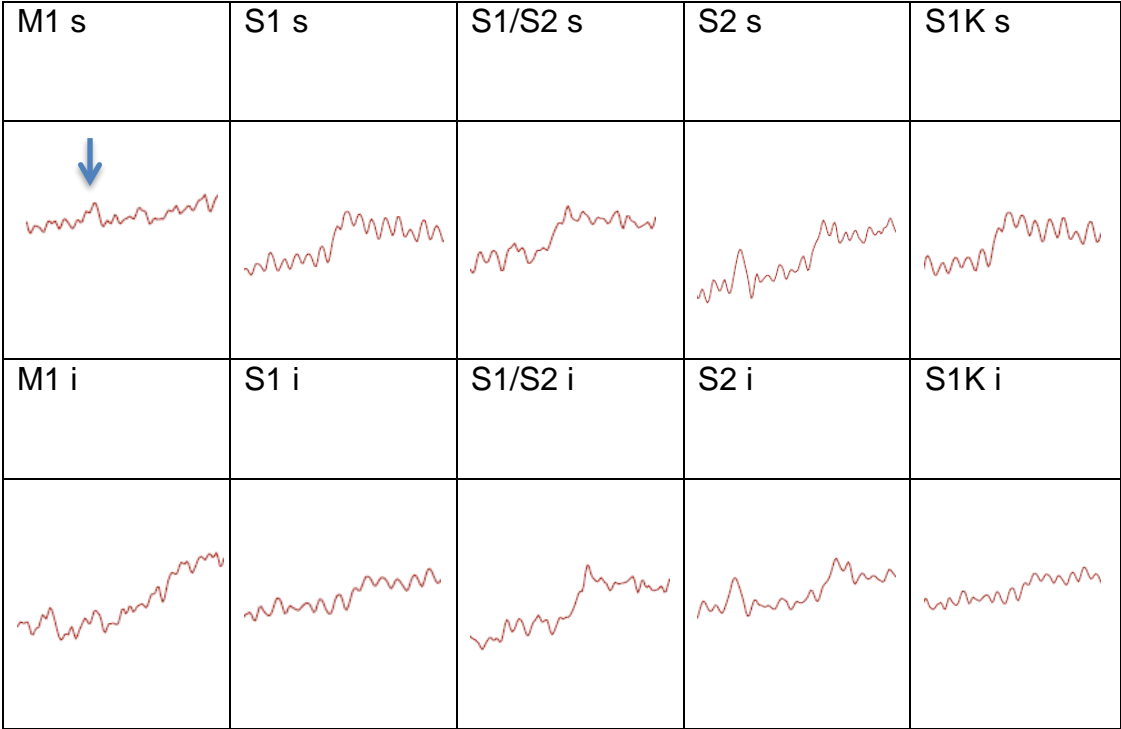


Abb. 3.3.3b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.3a

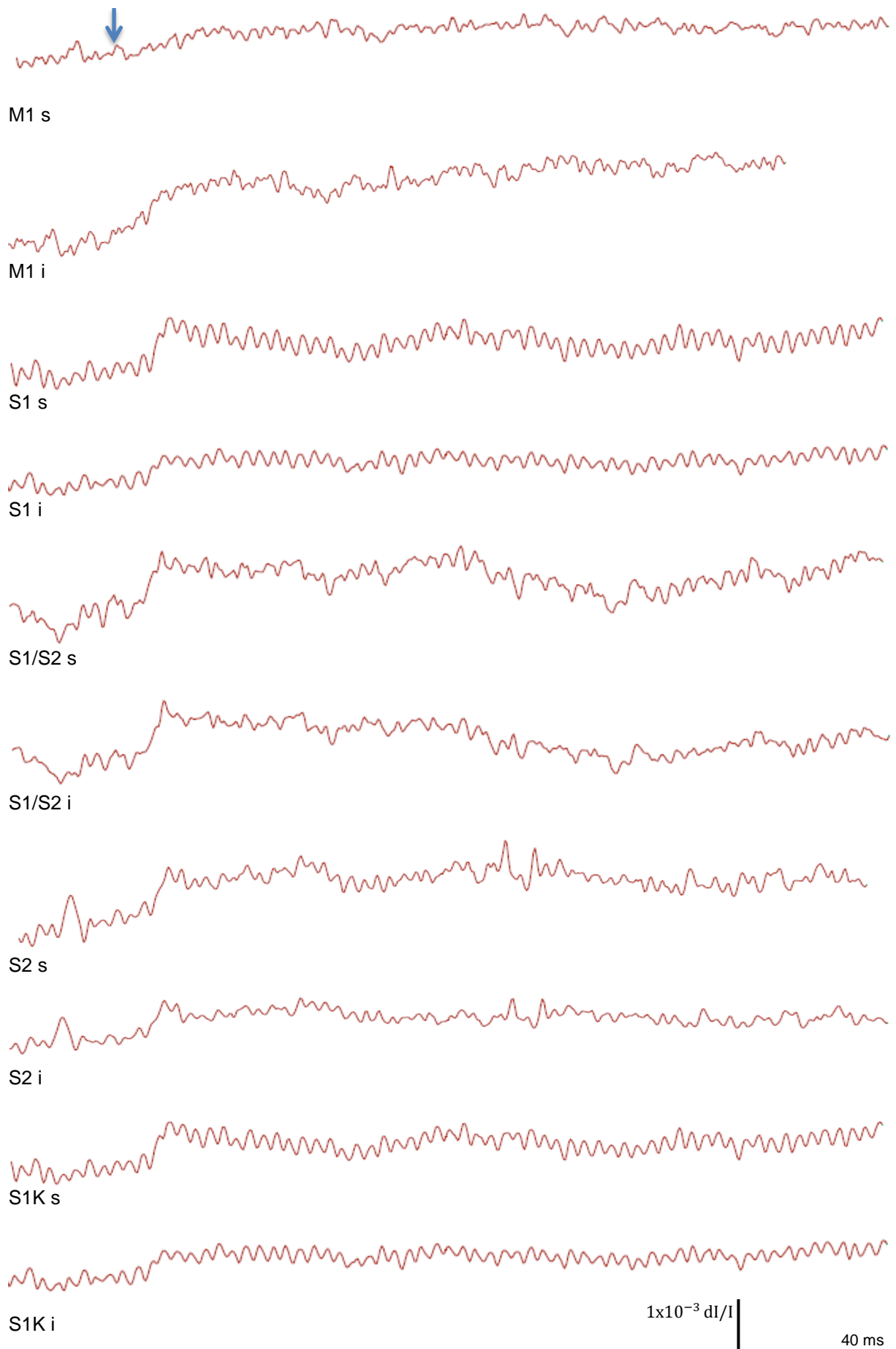


Abb. 3.3.4a 0Mg 100%

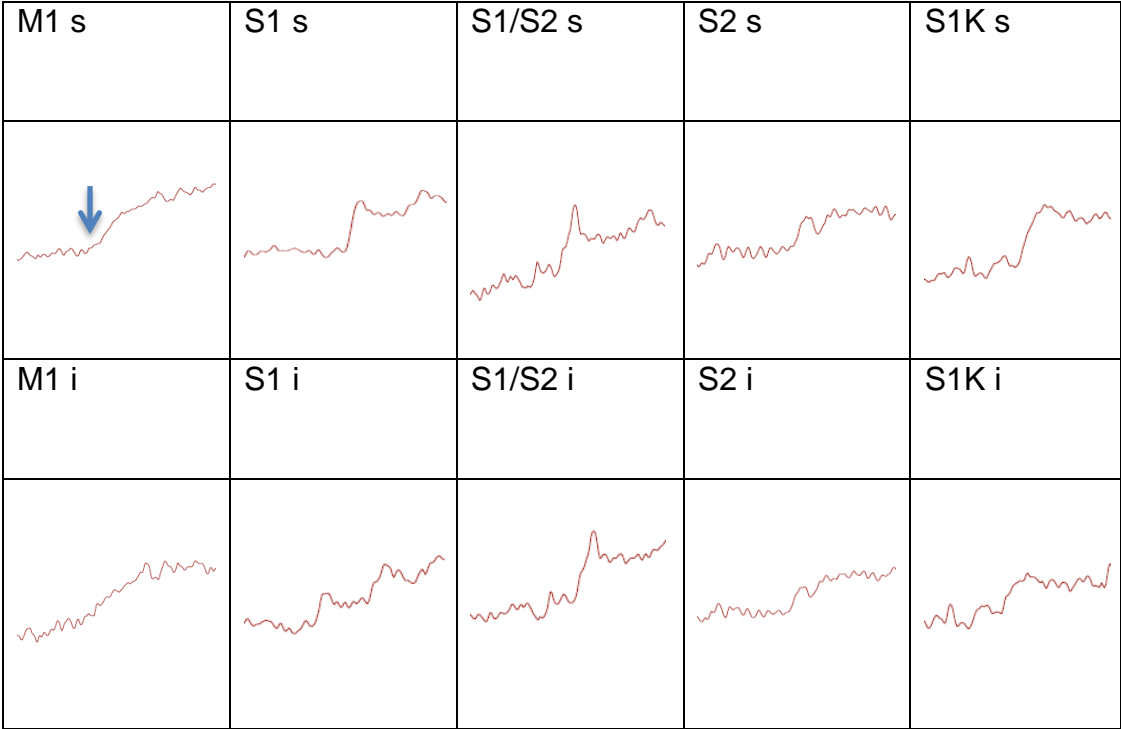
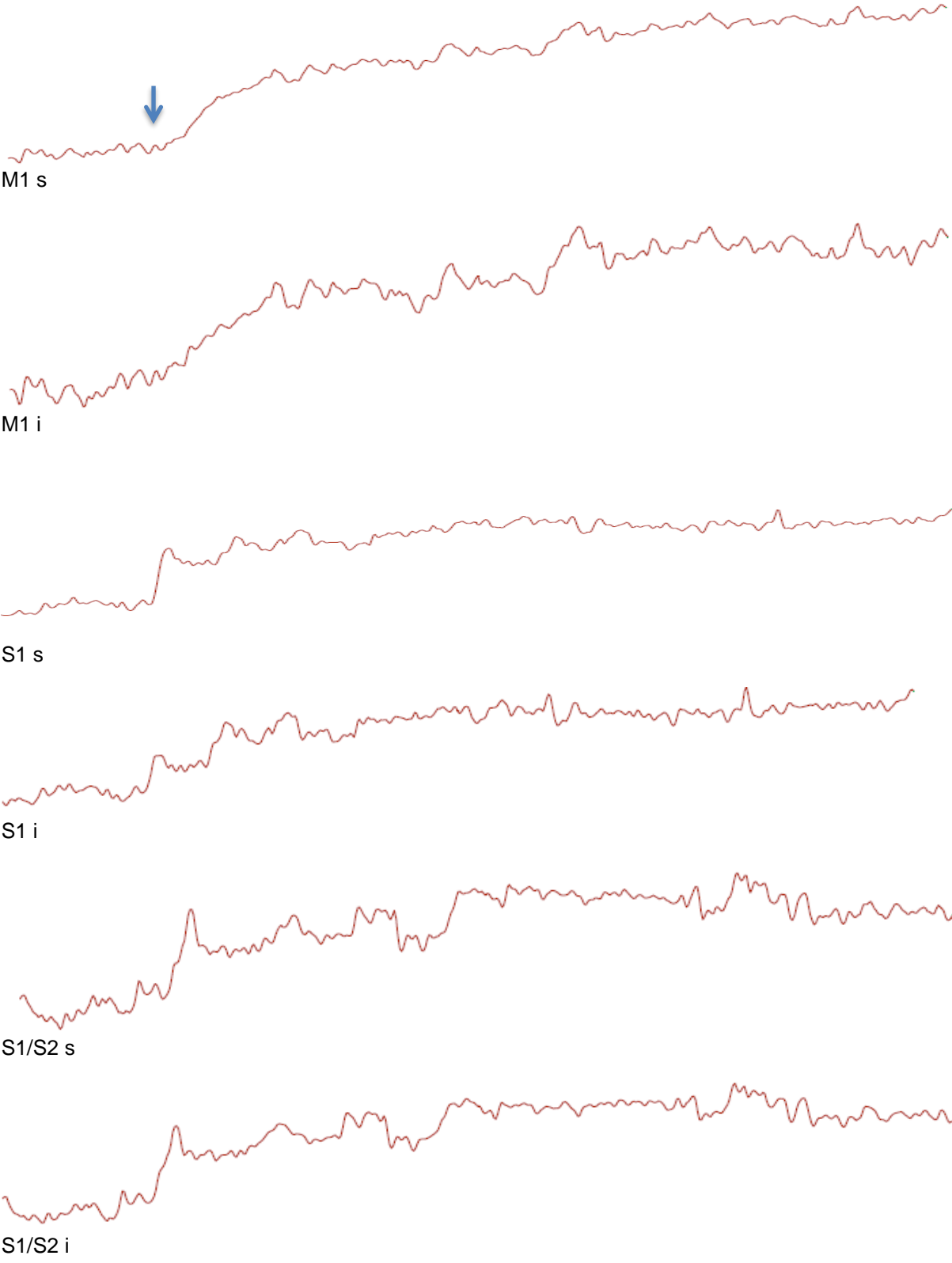
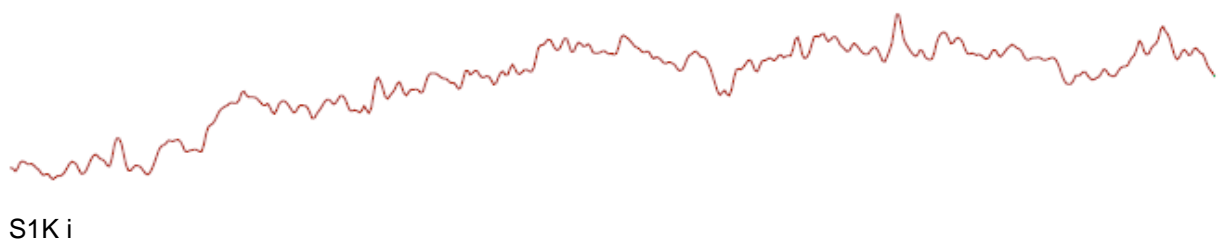
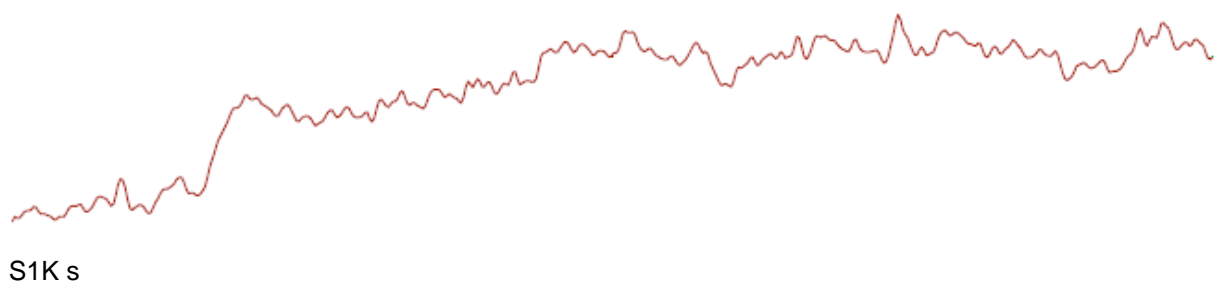
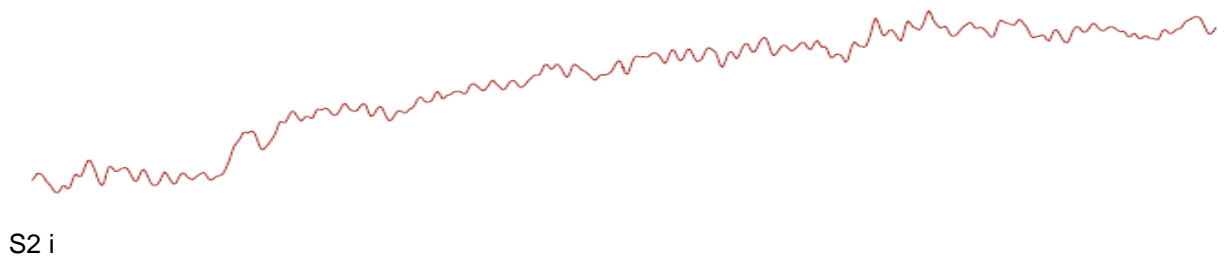
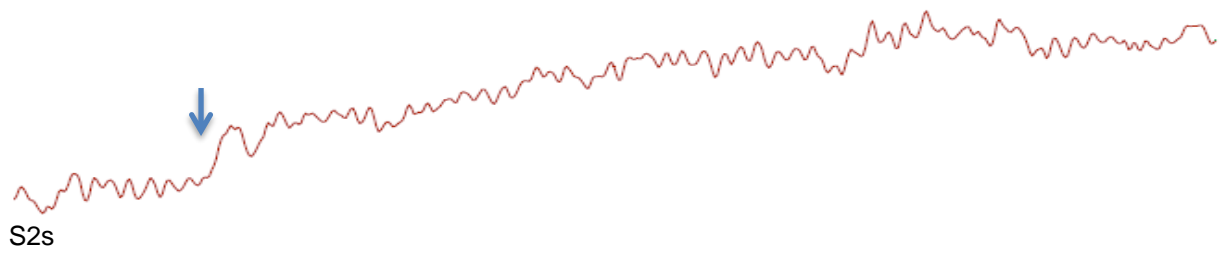


Abb. 3.3.4b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.4a



$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ | 40 ms



$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$
40 ms

Abb. 3.3.5a 0Mg 50%

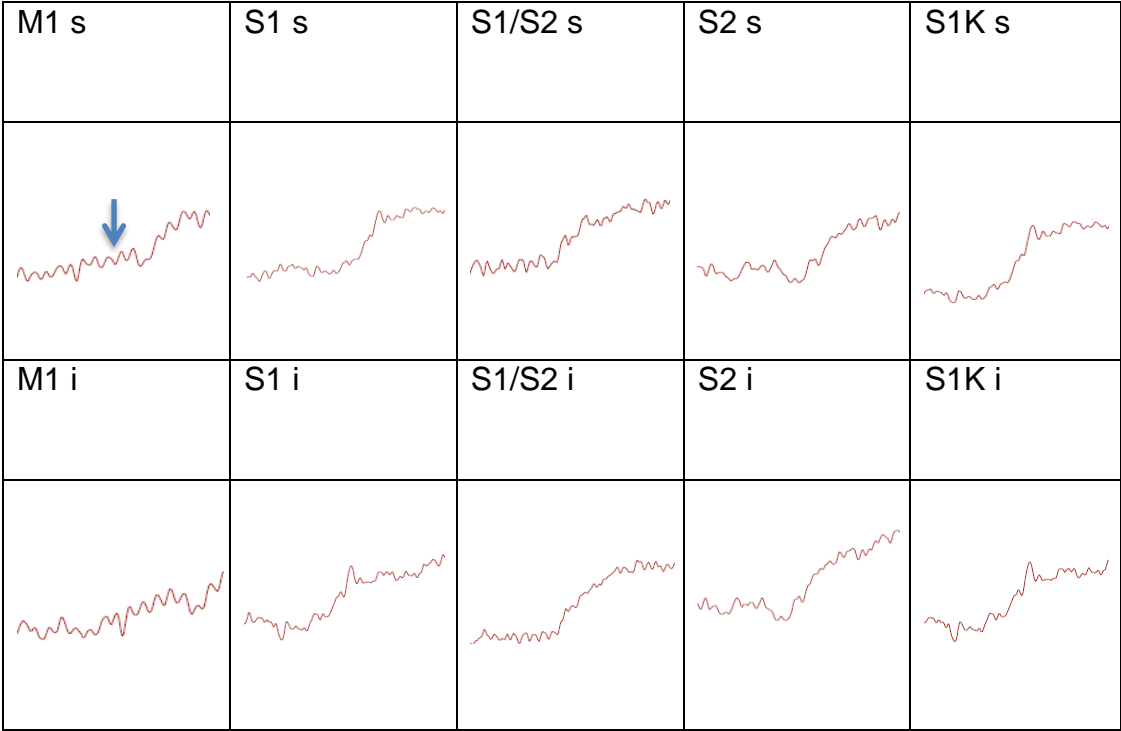
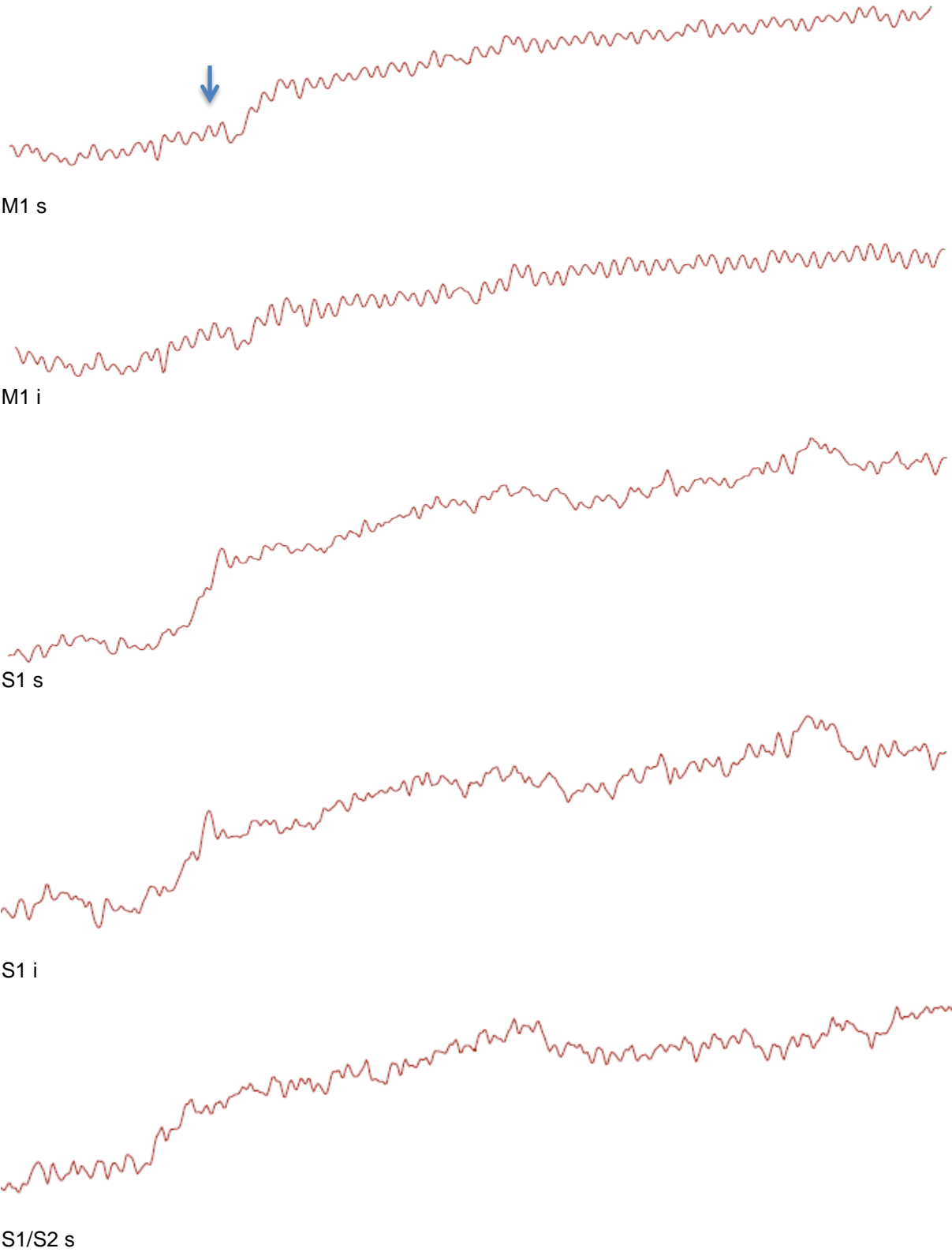


Abb. 3.3.5b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.5a



$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms

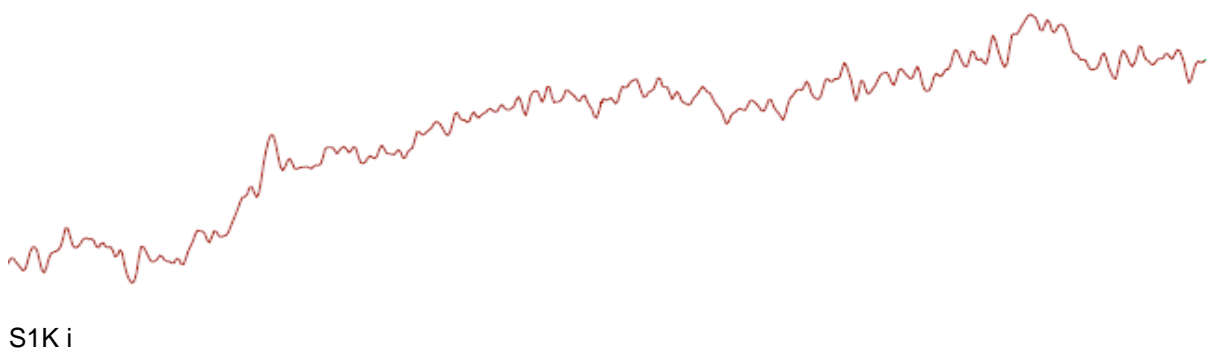
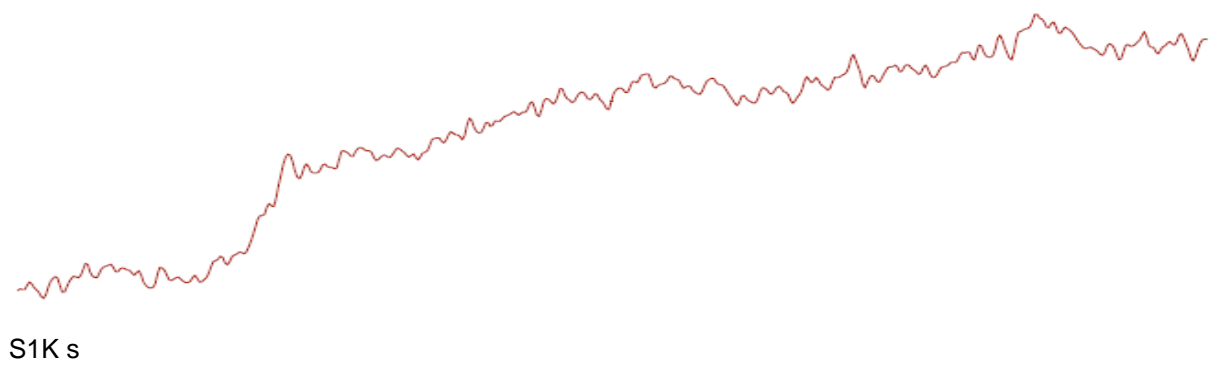
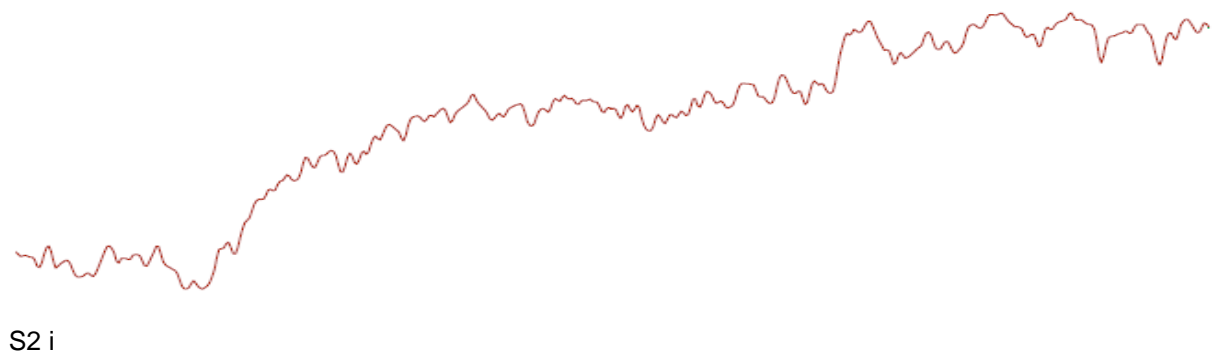
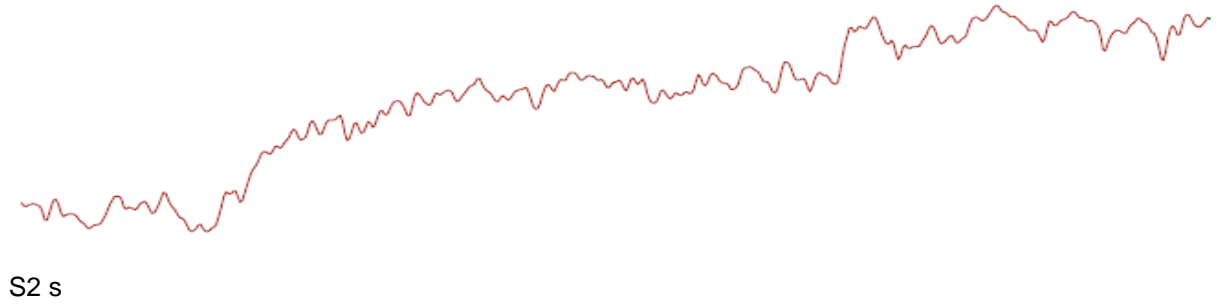
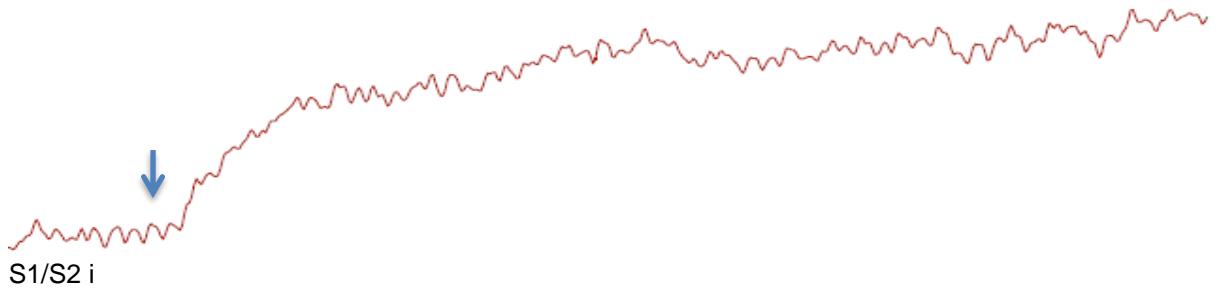
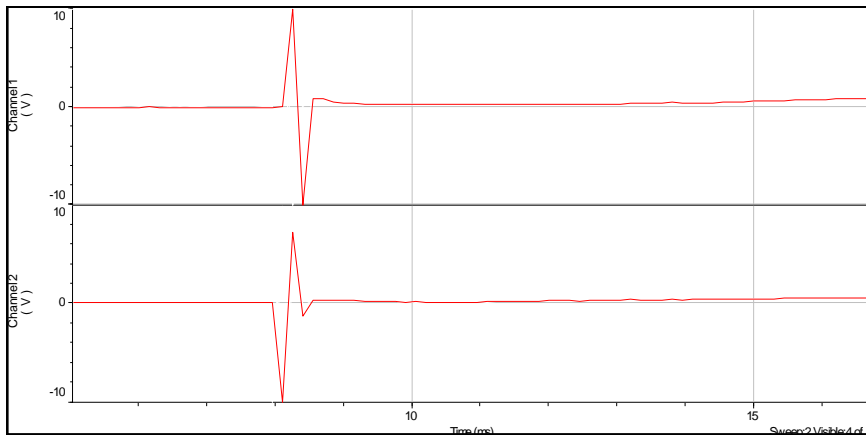
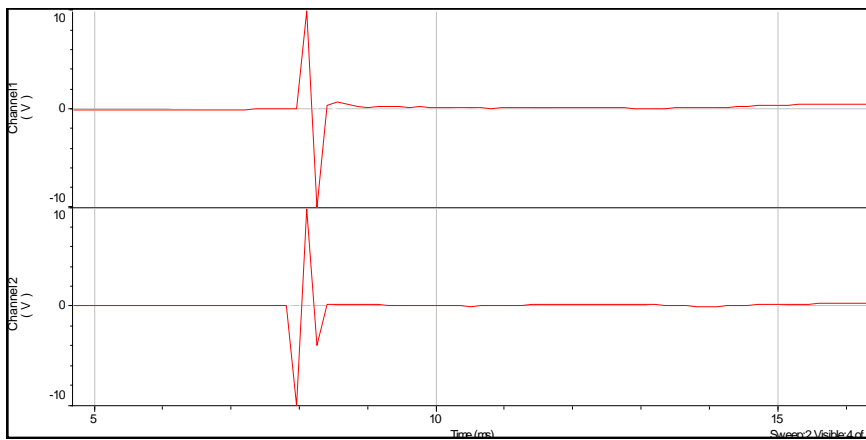


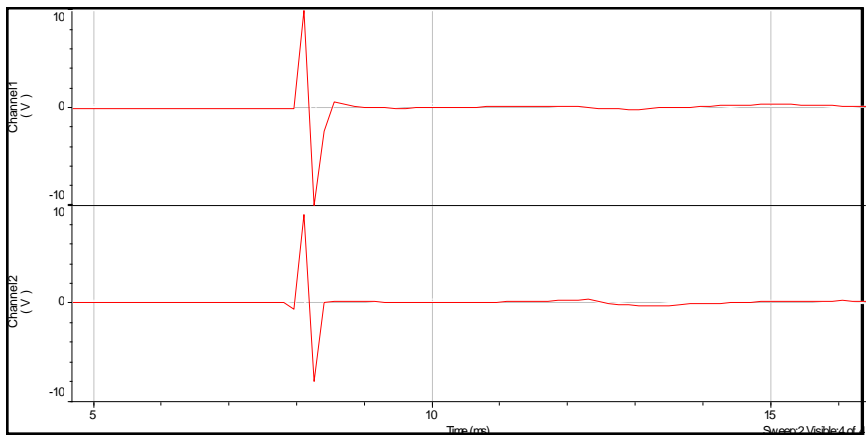
Abb. 3.3.6 Feldpotentiale



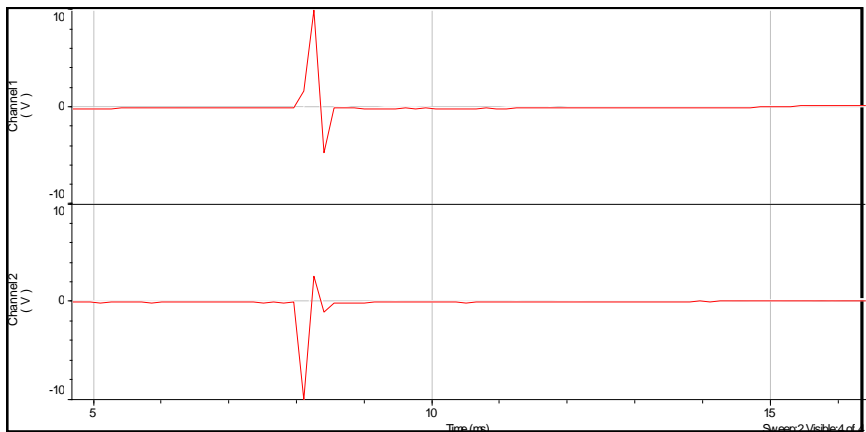
a: YII 100%



b: YII 50%



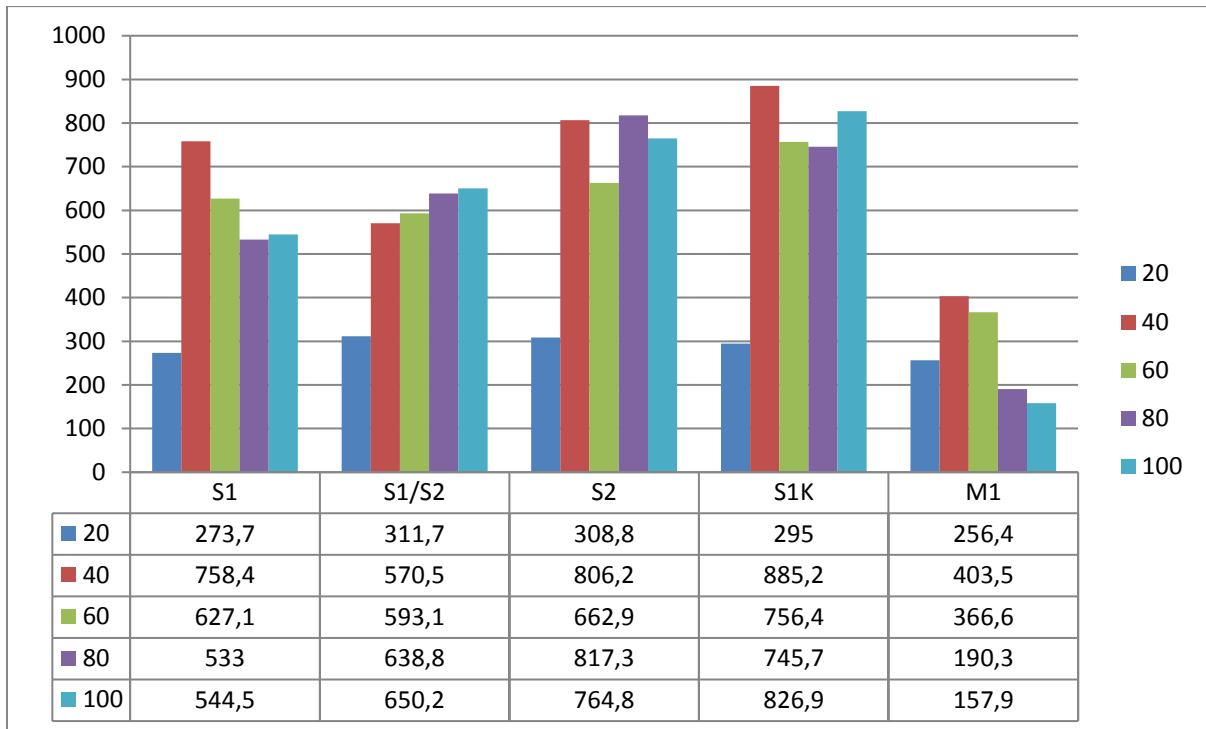
c: OMg 100%



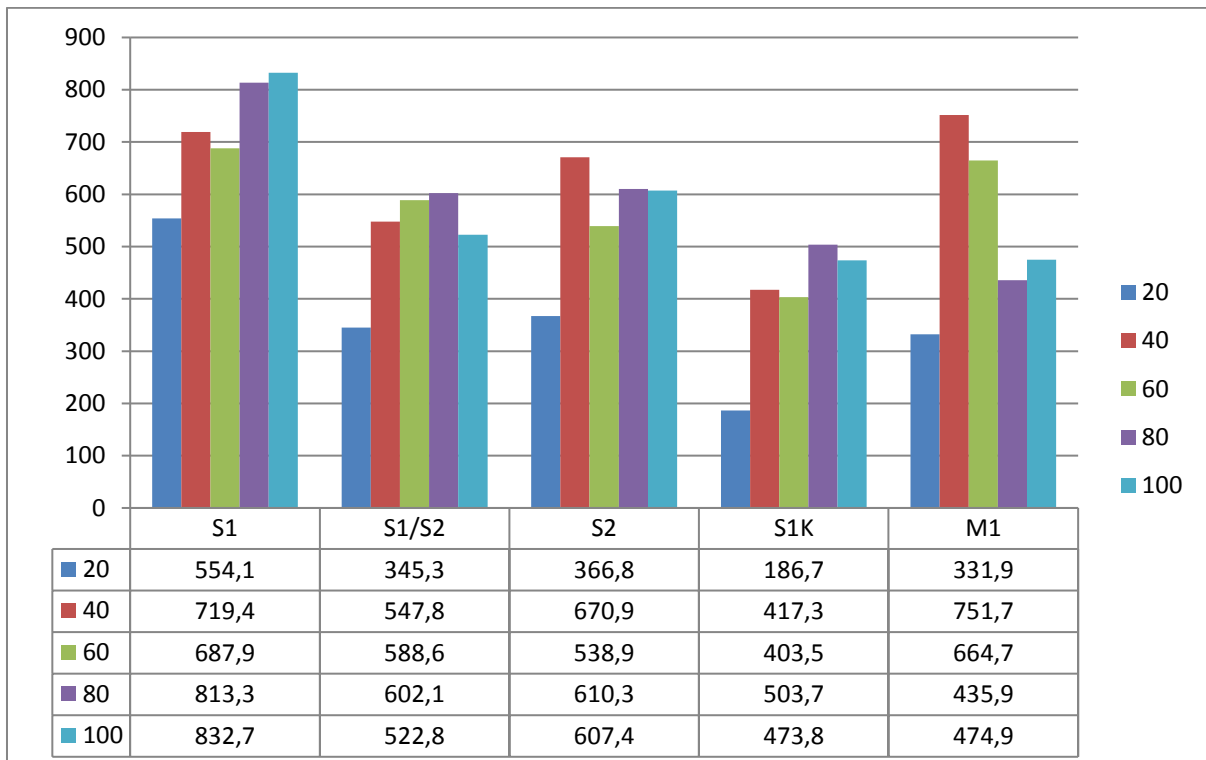
d: OMg 50%

Abb. 3.3.7

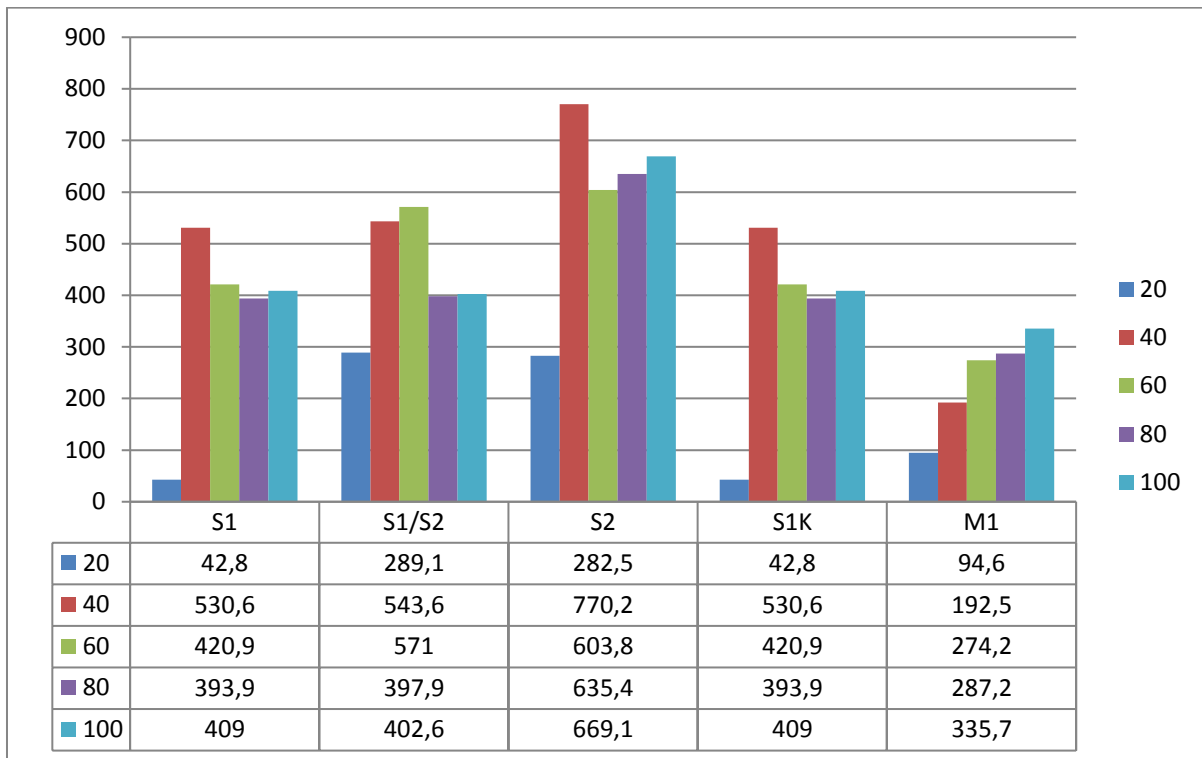
a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



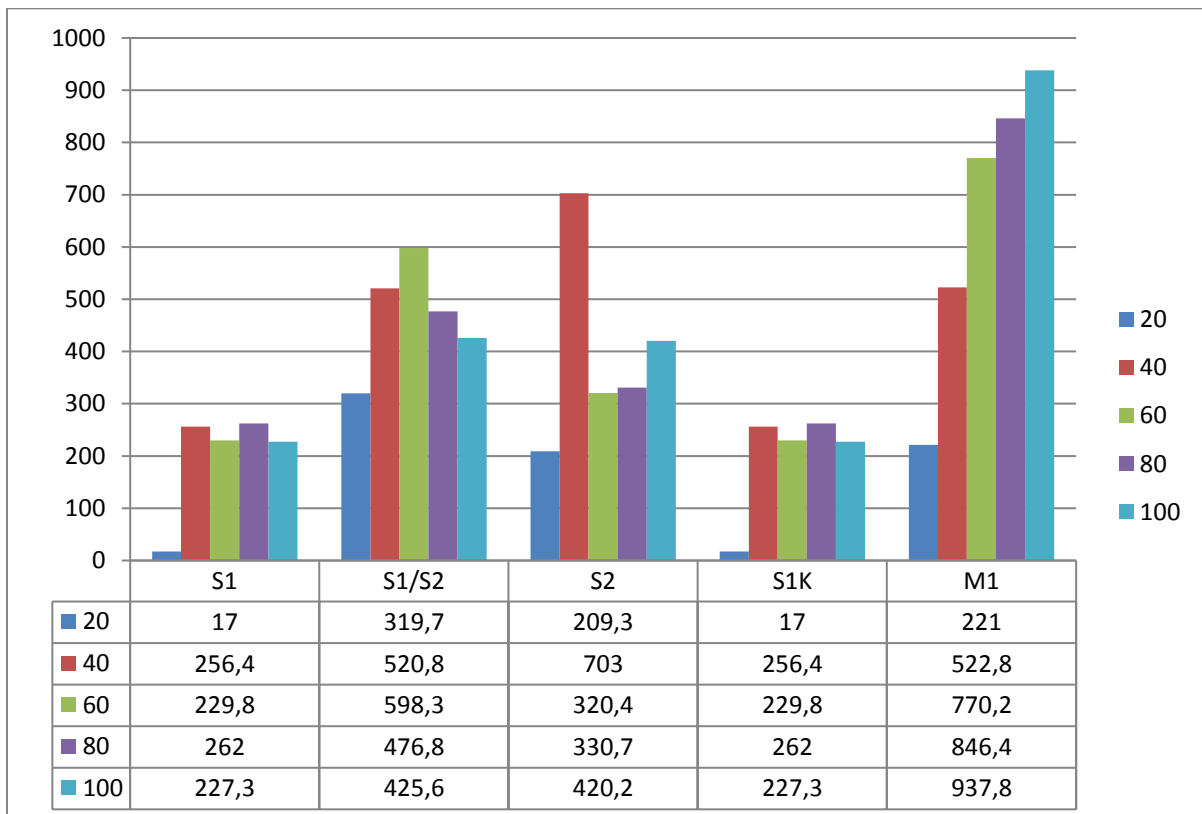
b) Yamamoto II, 100%, infragranulär



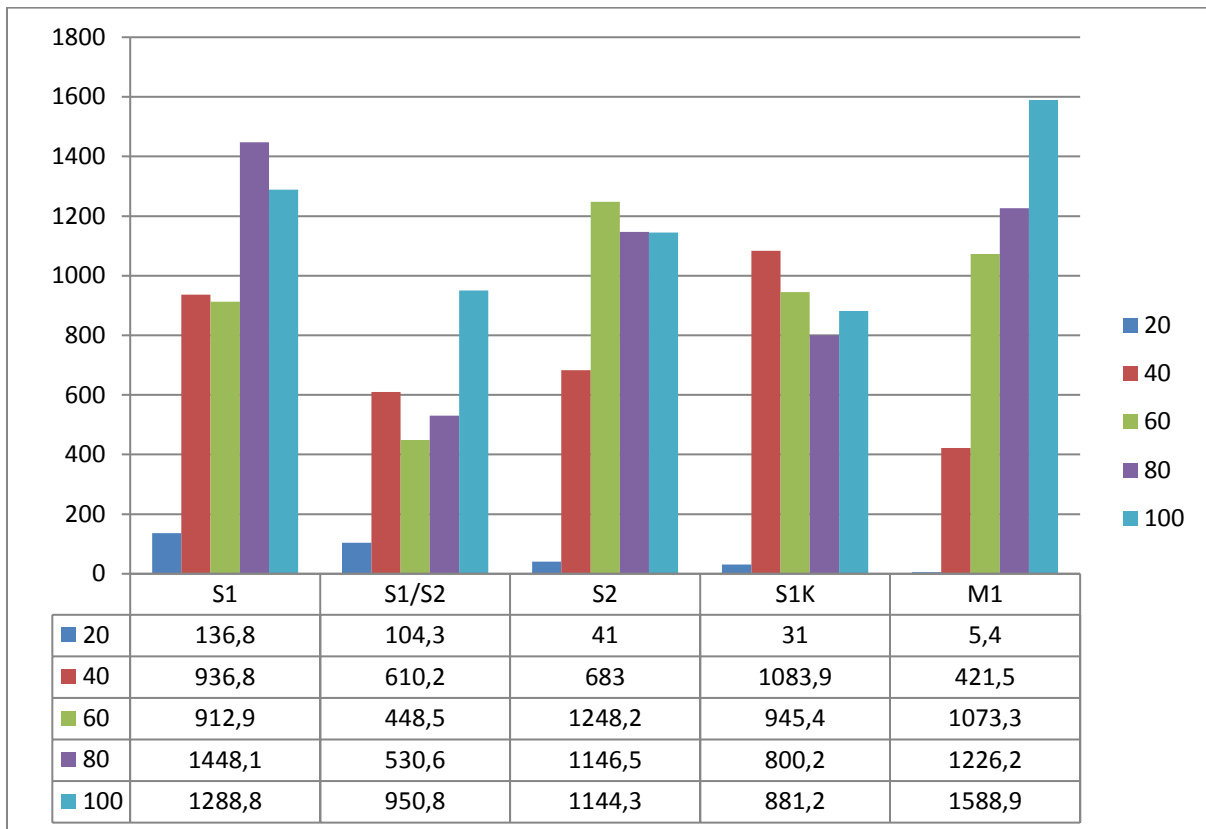
c) Yamamoto II, 50%, supragranulär:



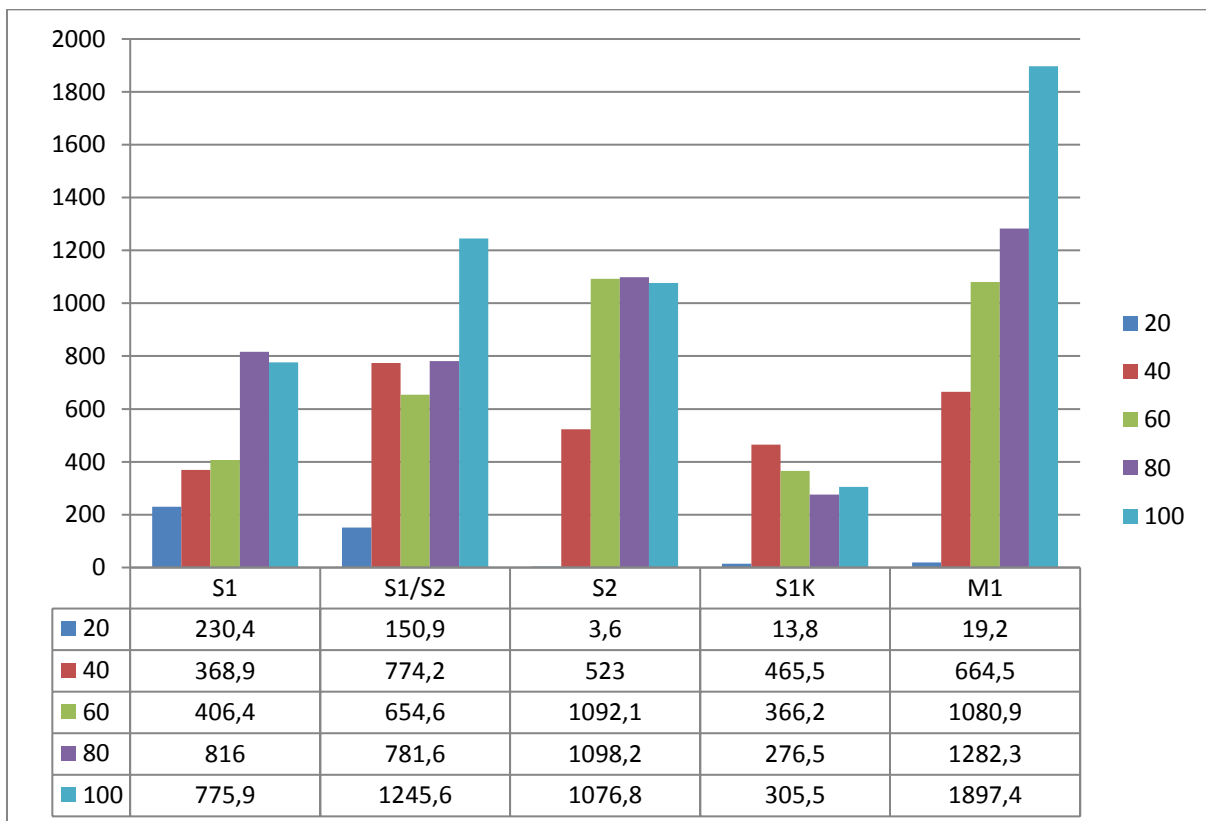
d) Yamamoto II, 50%, infragranulär:



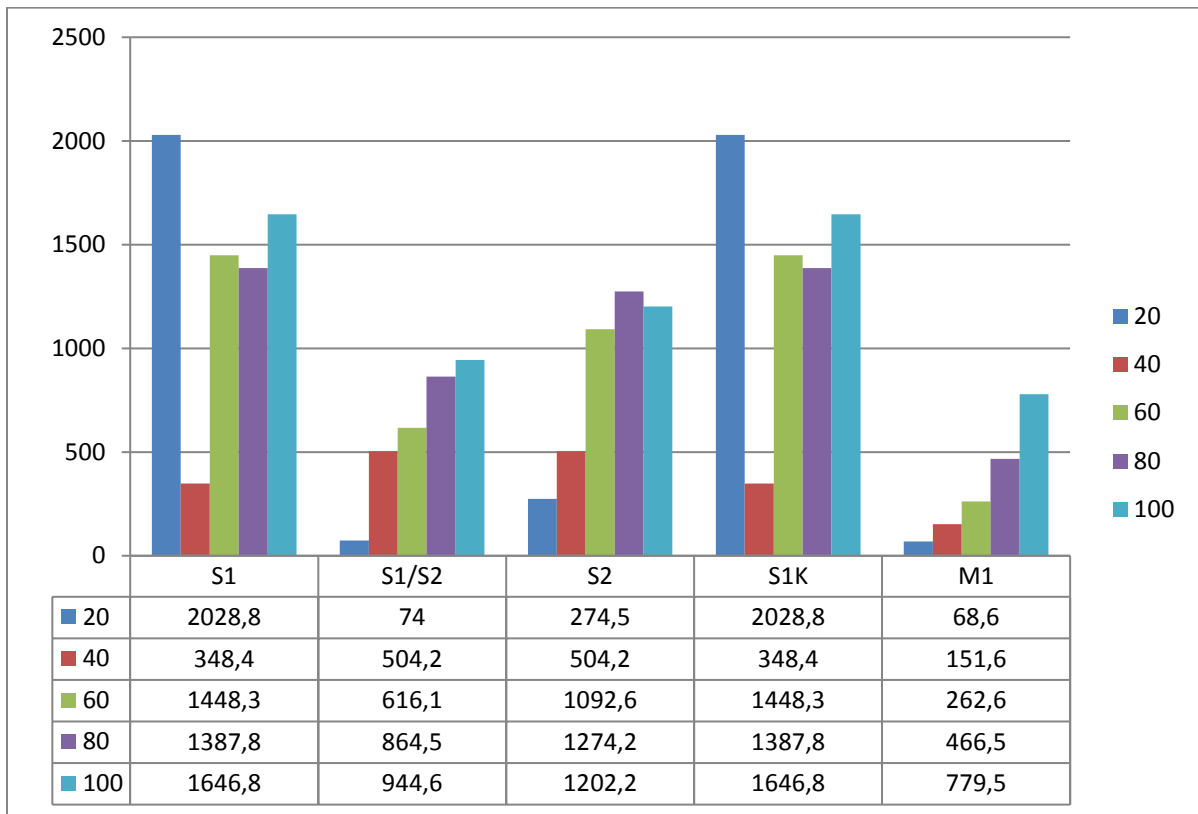
e) OMg, 100%, supragranulär



f) OMg, 100%, infragranulär



g) OMg, 50%, supragranulär



h) OMg, 50%, infragranulär

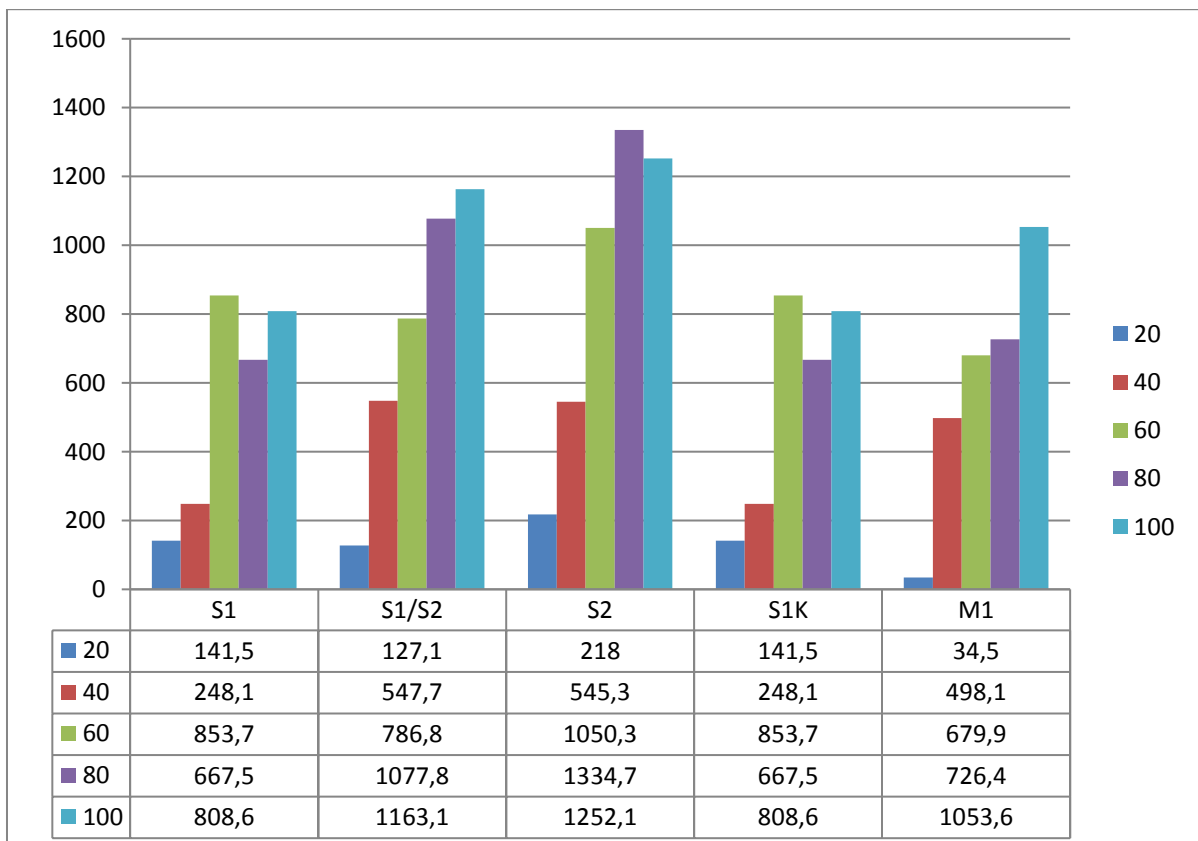
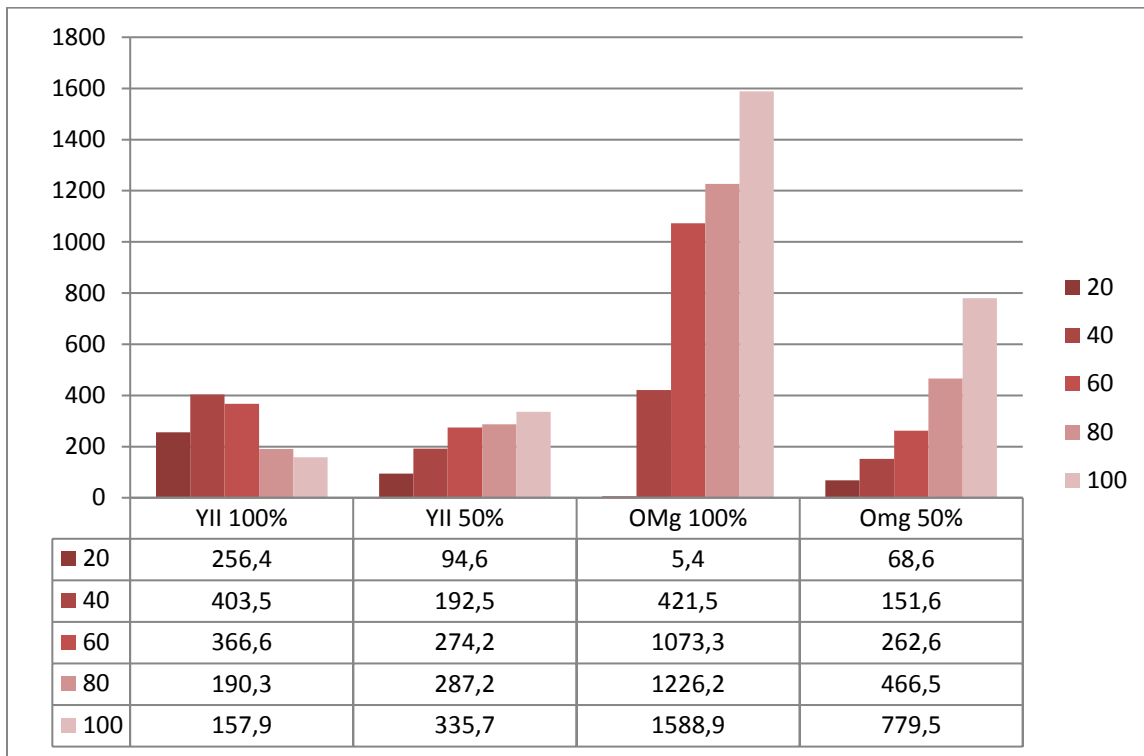
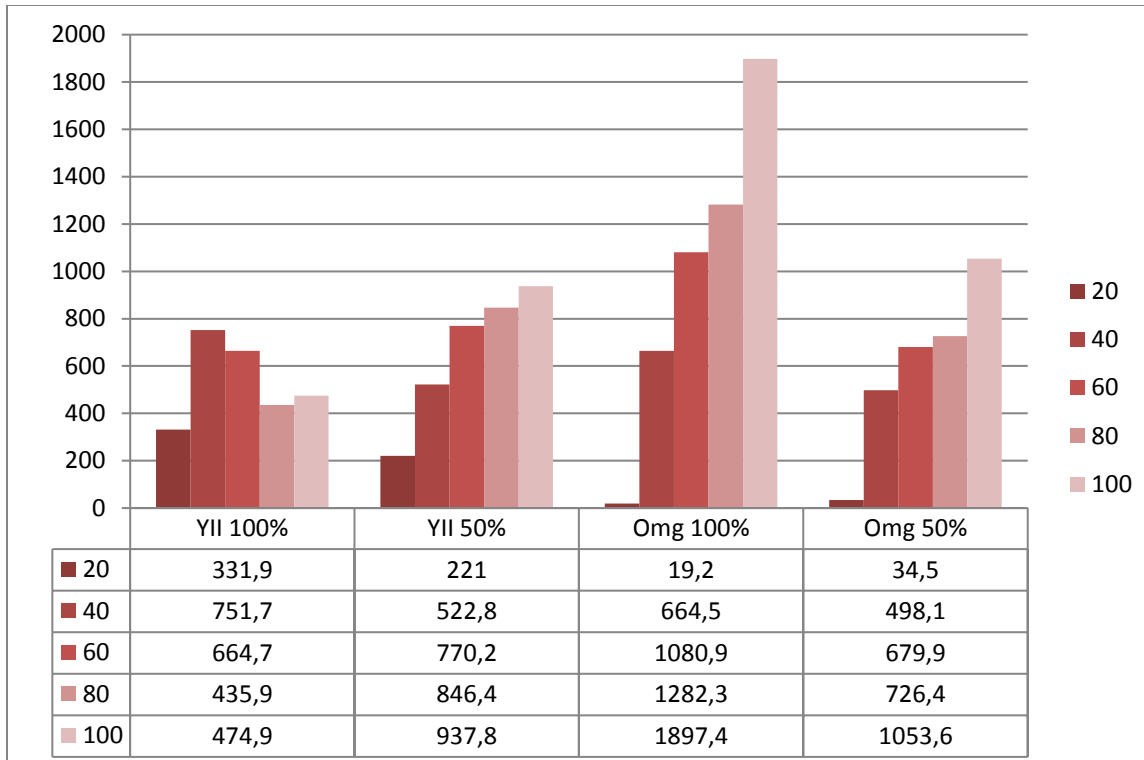


Abb. 3.3.8 Motorik

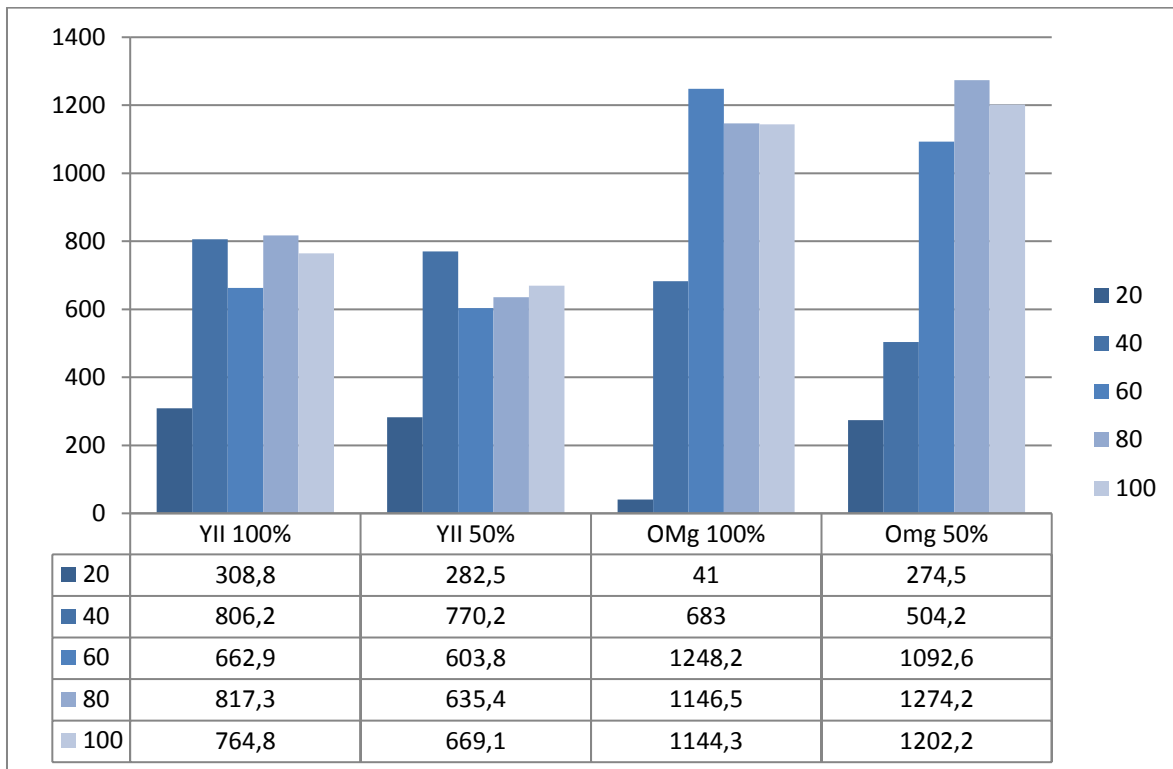


a) supragranulär

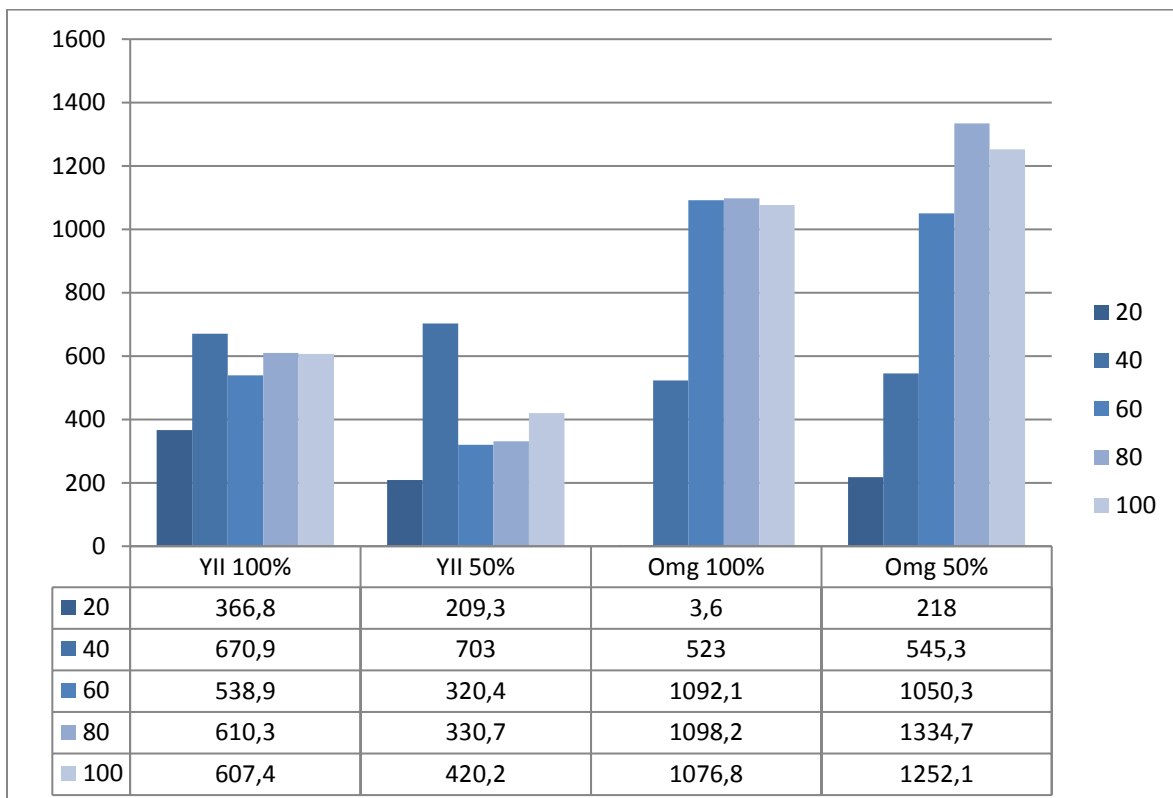


b) infragranulär

Abb. 3.3.9 sekundär-Somatosensorik



a) supragranulär



b) infragranulär

3.4 Versuch 4

Abb. 3.4.1 a) Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer, FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale (FP), RE: Reizelektrode, b) Positionen des Dioden-Arrays (rote Punkte im Hirnschnitt) und Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1a: primär-motorischer Kortex, Position 3; M1b: primär-motorischer Kortex, Position 4.

Abb. 3.4.2a- 3.4.5a Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Diodenarray-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitäts-graphen, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1a: primär-motorischer Kortex, Position 3; M1b: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Ansicht der Rindenareale sortiert von medial nach lateral. Zeiteichung und Achsenskalierung siehe 3.4.2b-5b und 3.4.7a-h.

Abb. 3.4.2b-3.4.5b Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S1/S2 s: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, supragranulär; S2 s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, supragranulär; M1a s: primär-motorischer Kortex, Position 3, supragranulär; M1b s: primär-motorischer Kortex, Position 4, supragranulär; S1 i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S1/S2 i: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; S2 i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, infragranulär; M1a i: primär-motorischer Kortex, Position 3, infragranulär; M1b i: primär-motorischer Kortex, Position 4, infragranulär). Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizeinwirkung. Dauer des gesamten Kurvenausschnittes 1300 ms.

Abb. 3.4.6a-d Graphische Darstellung der Feldpotentiale sortiert nach Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) und Reizstärke (100%, 50%)

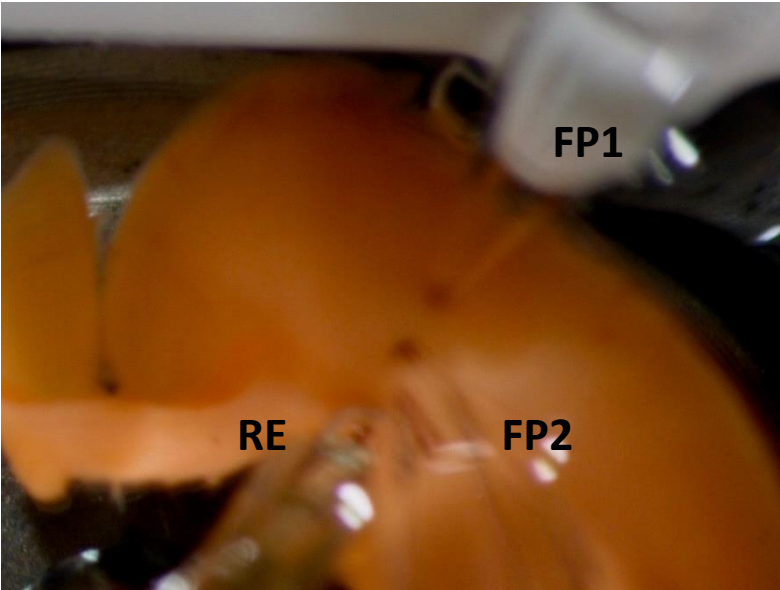
Abb. 3.4.7a-h Balkendiagramm-Übersicht der Graphen innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1a: primär-motorischer Kortex, Position 3; M1b: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.4.8 a) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg), b) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur

Ausgangsaktivität.

Abb. 3.4.9 Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg),
b) Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg).
Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

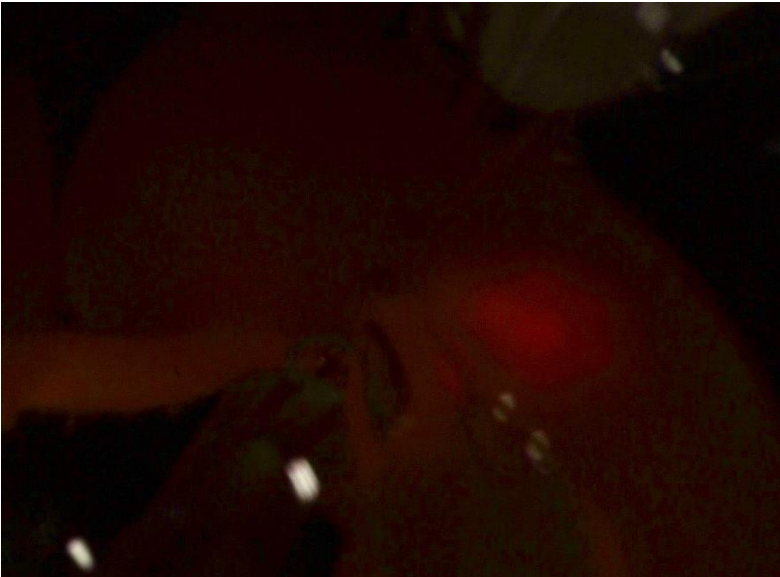
Abb. 3.4.1



a: Versuchsaufbau



b: Position 0: S1



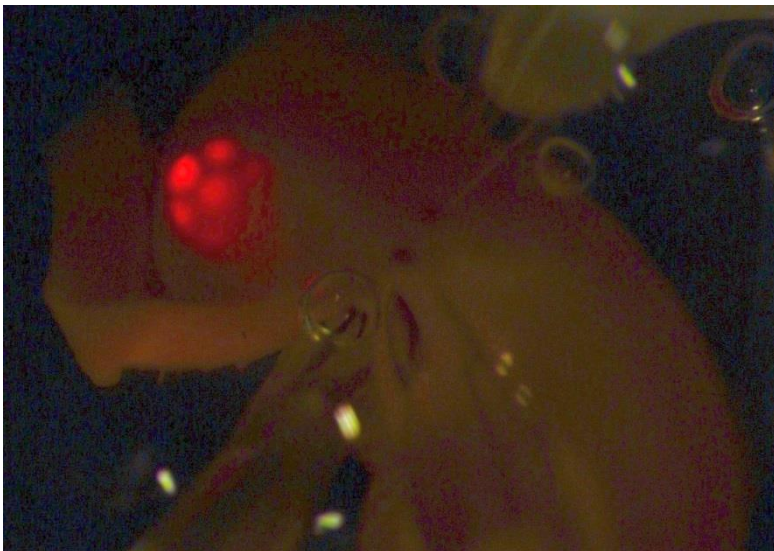
c: Position 1: S1/S2



d: Position 2: S2



e: Position 3: M1a



f: Position 4: M1b

Abb. 3.4.2a YII 100%

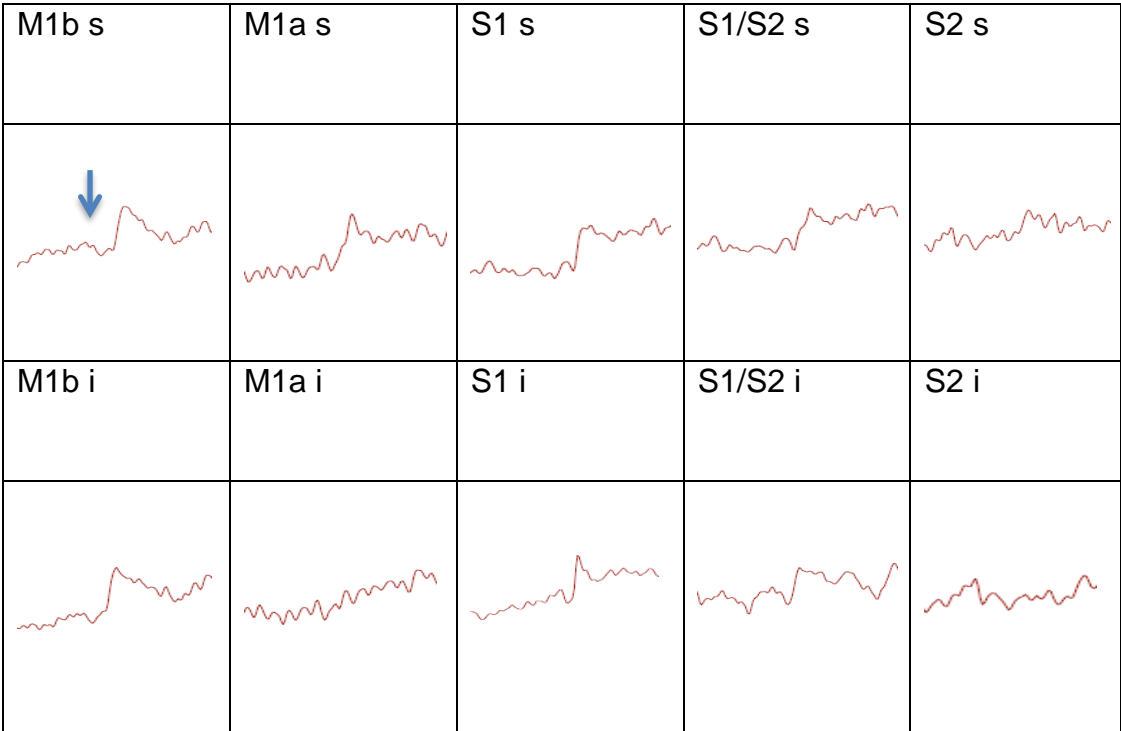


Abb. 3.4.2b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.2a

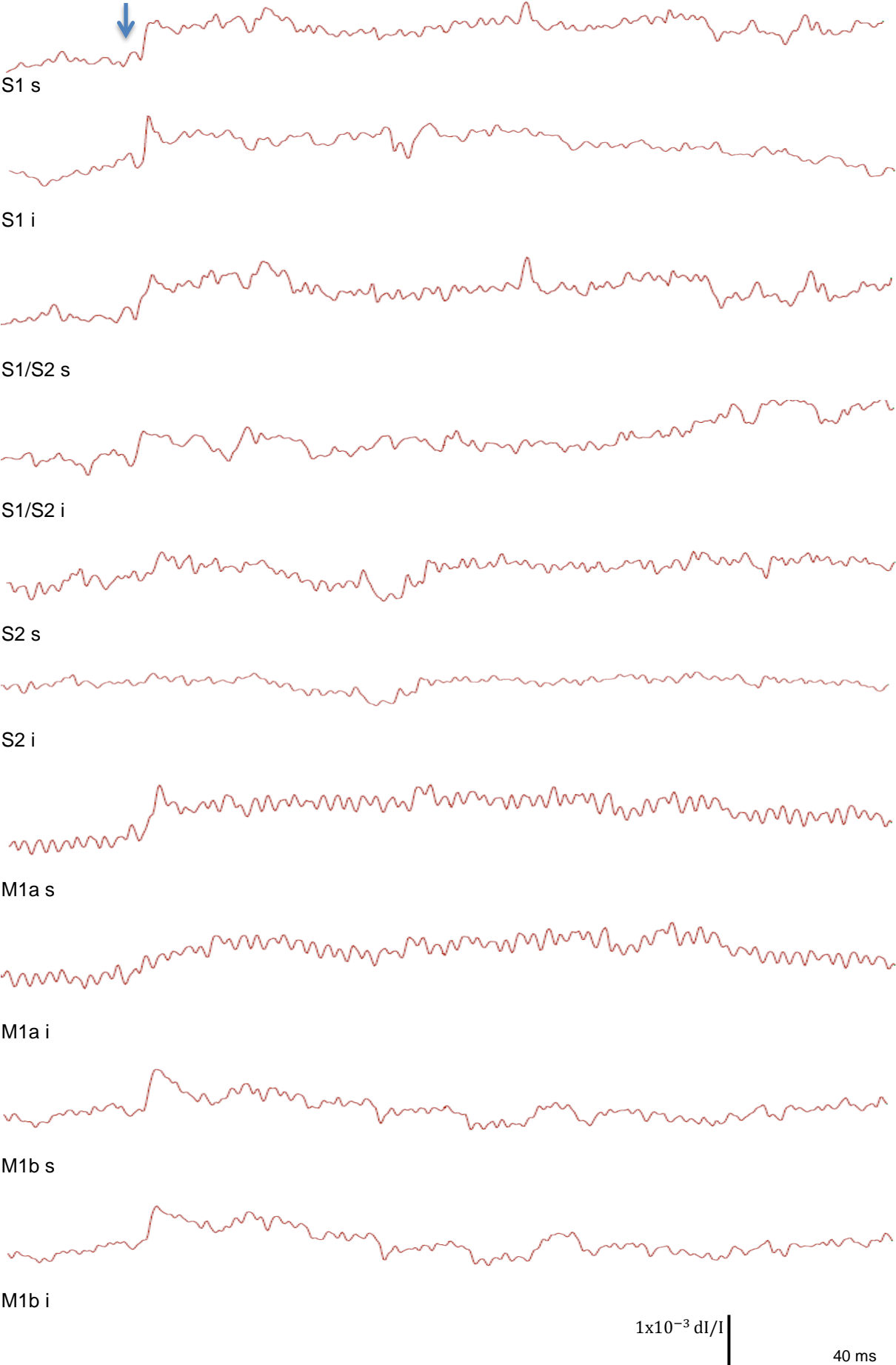


Abb. 3.4.3a YII 50%

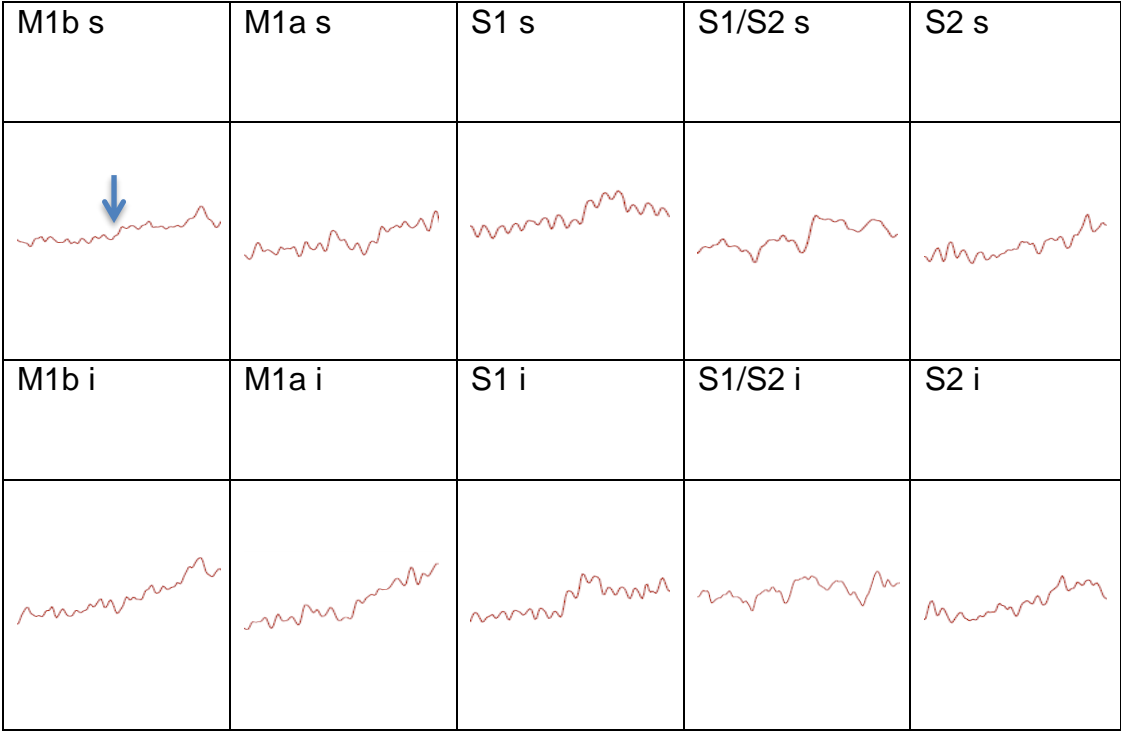
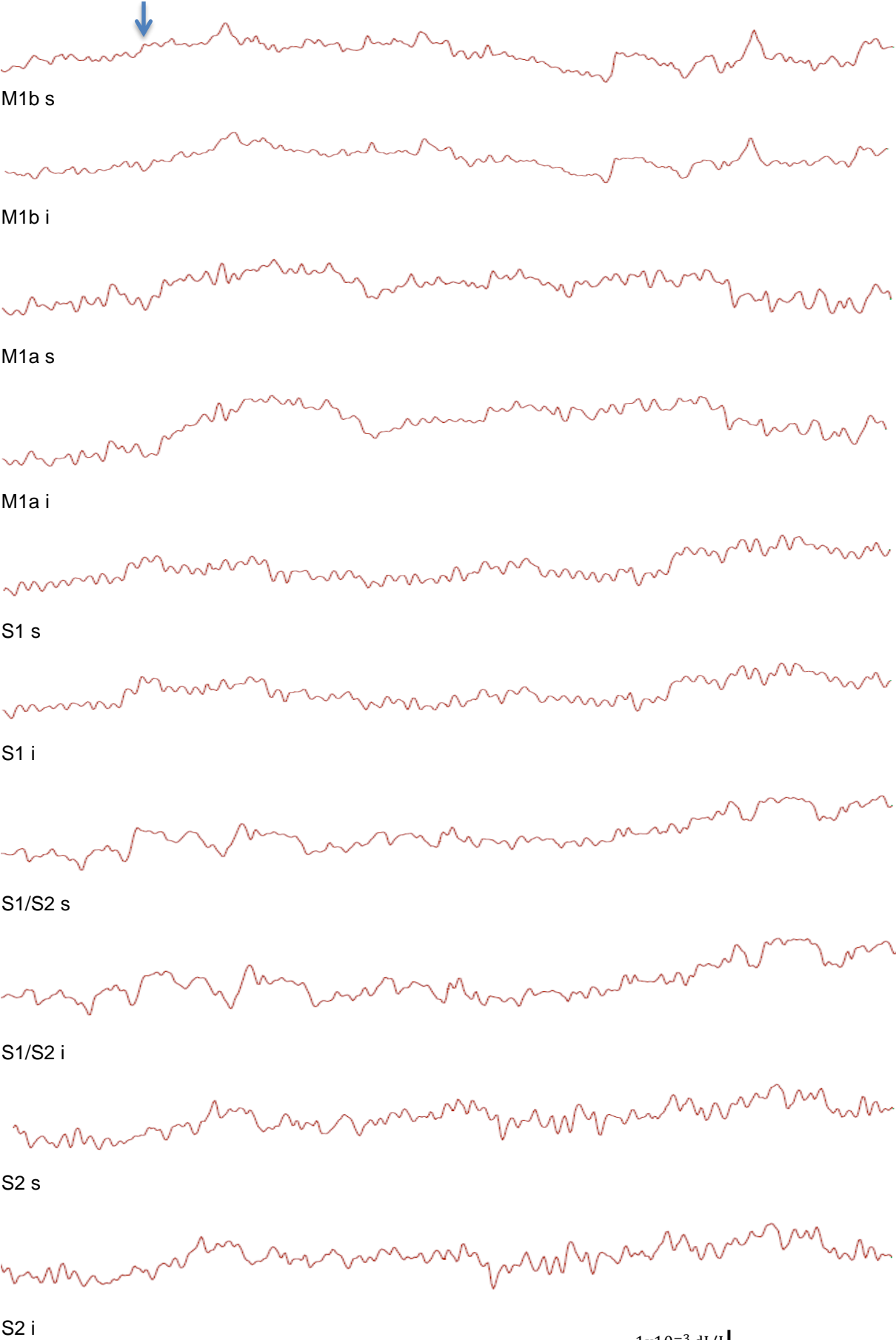


Abb. 3.4.3b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.3a



$1 \times 10^{-3} \text{ dl/l}$ | 40 ms

Abb. 3.4.4a OMg 100%

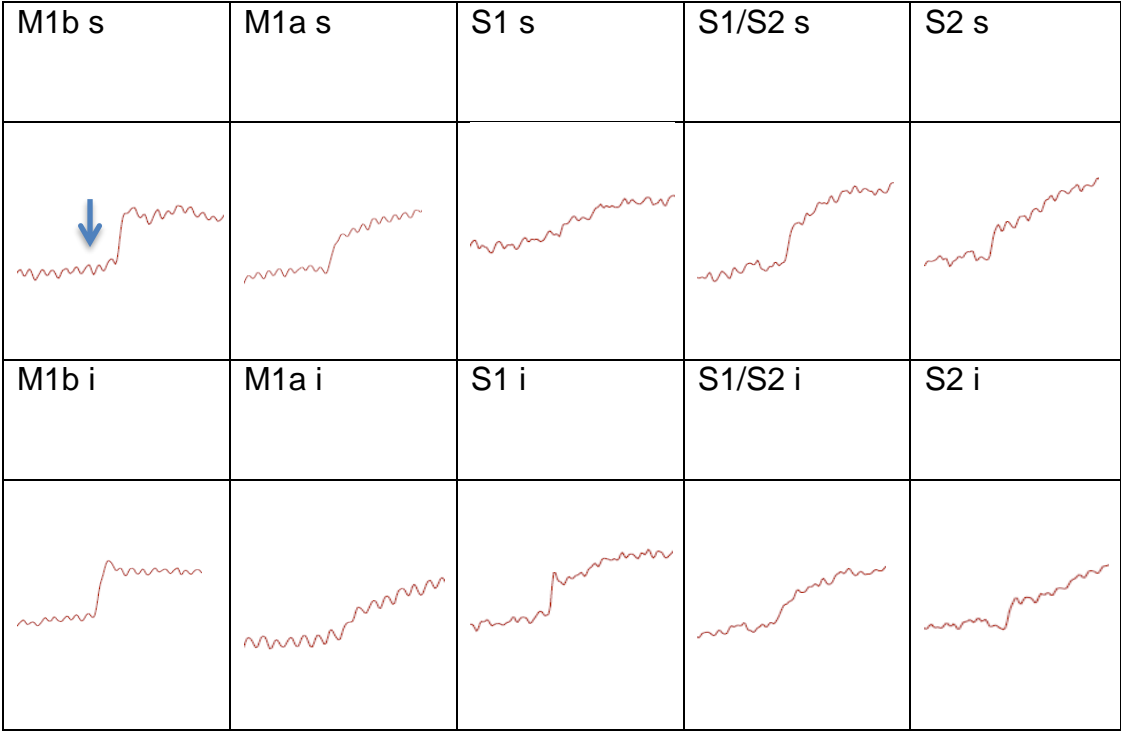
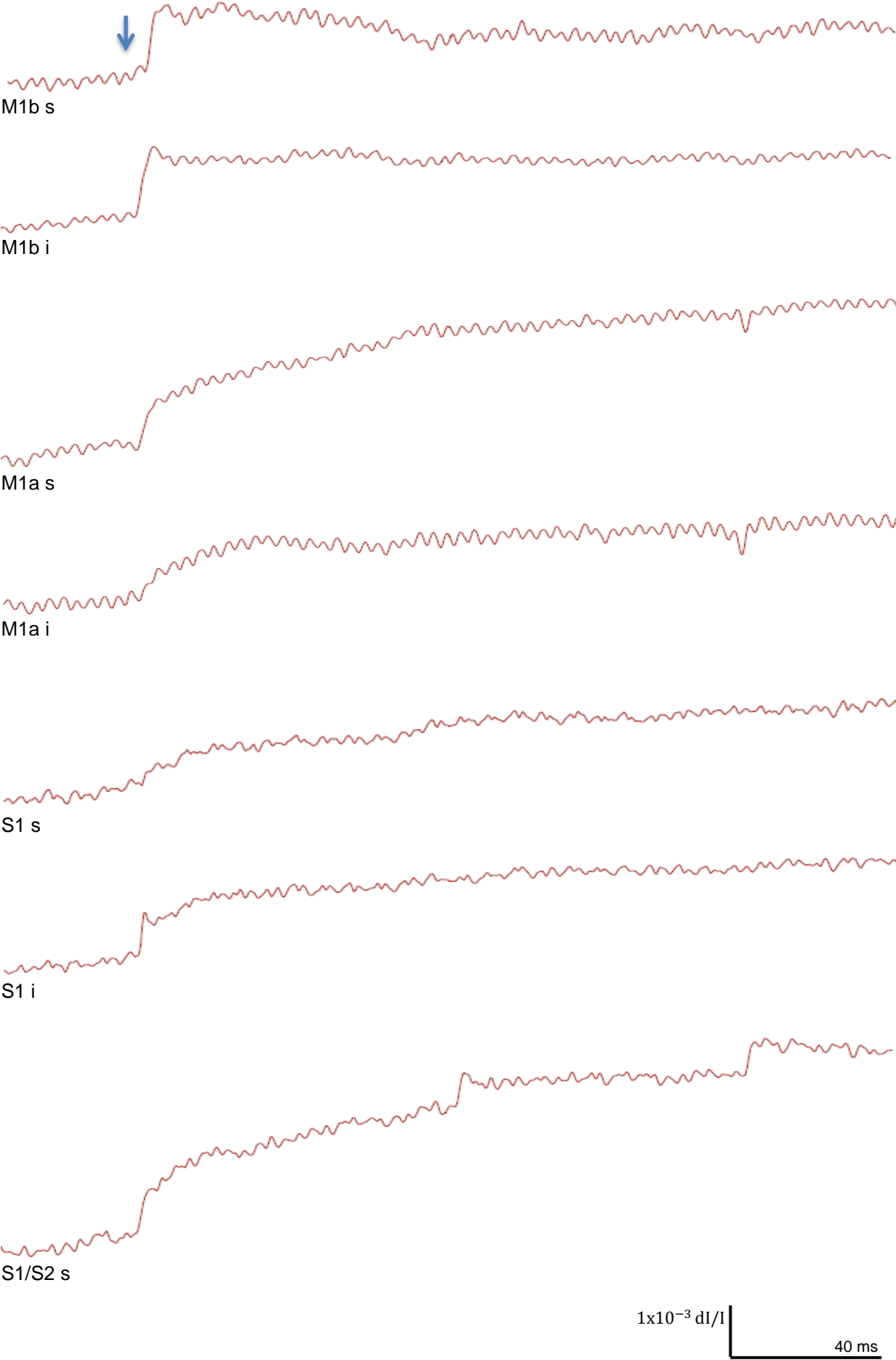
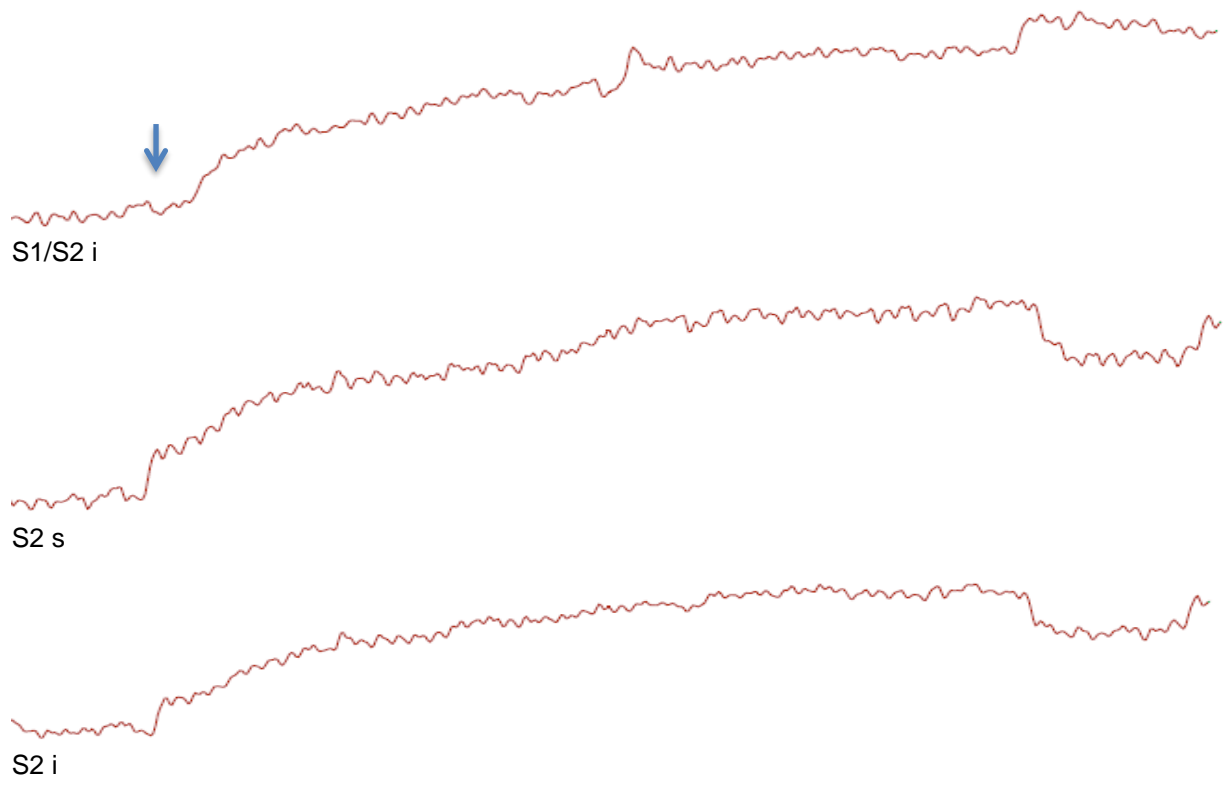


Abb. 3.4.4b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.4a





$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms

Abb. 3.4.5a OMg 50%

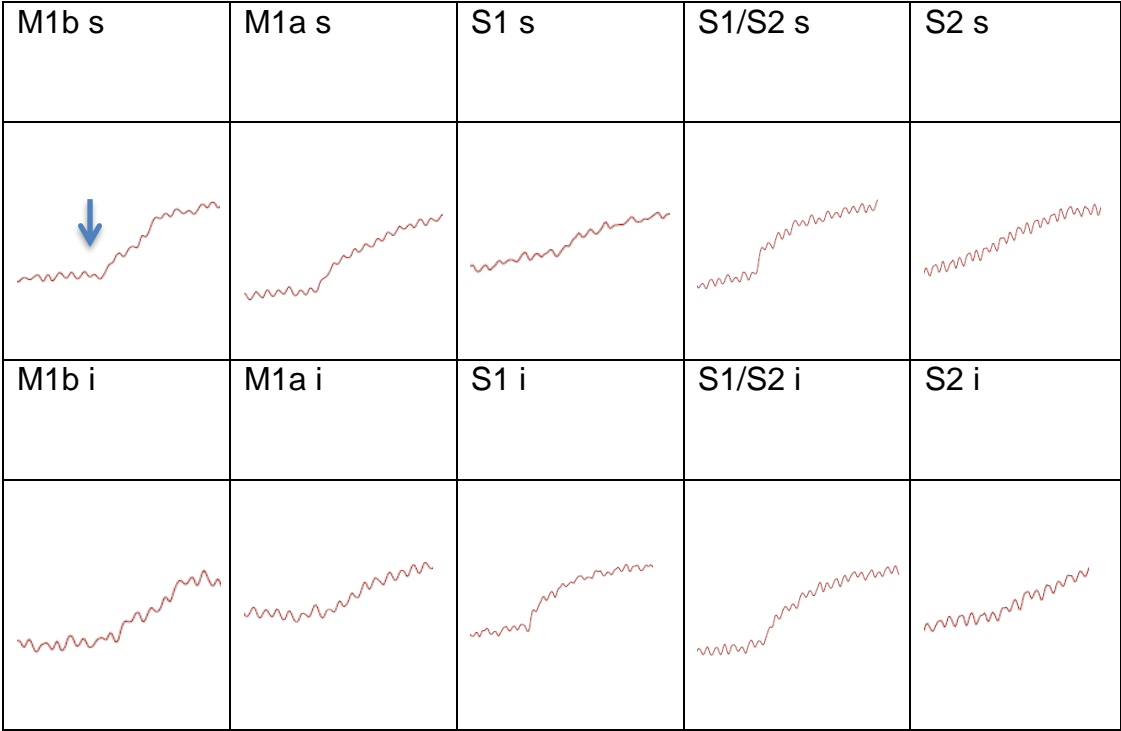
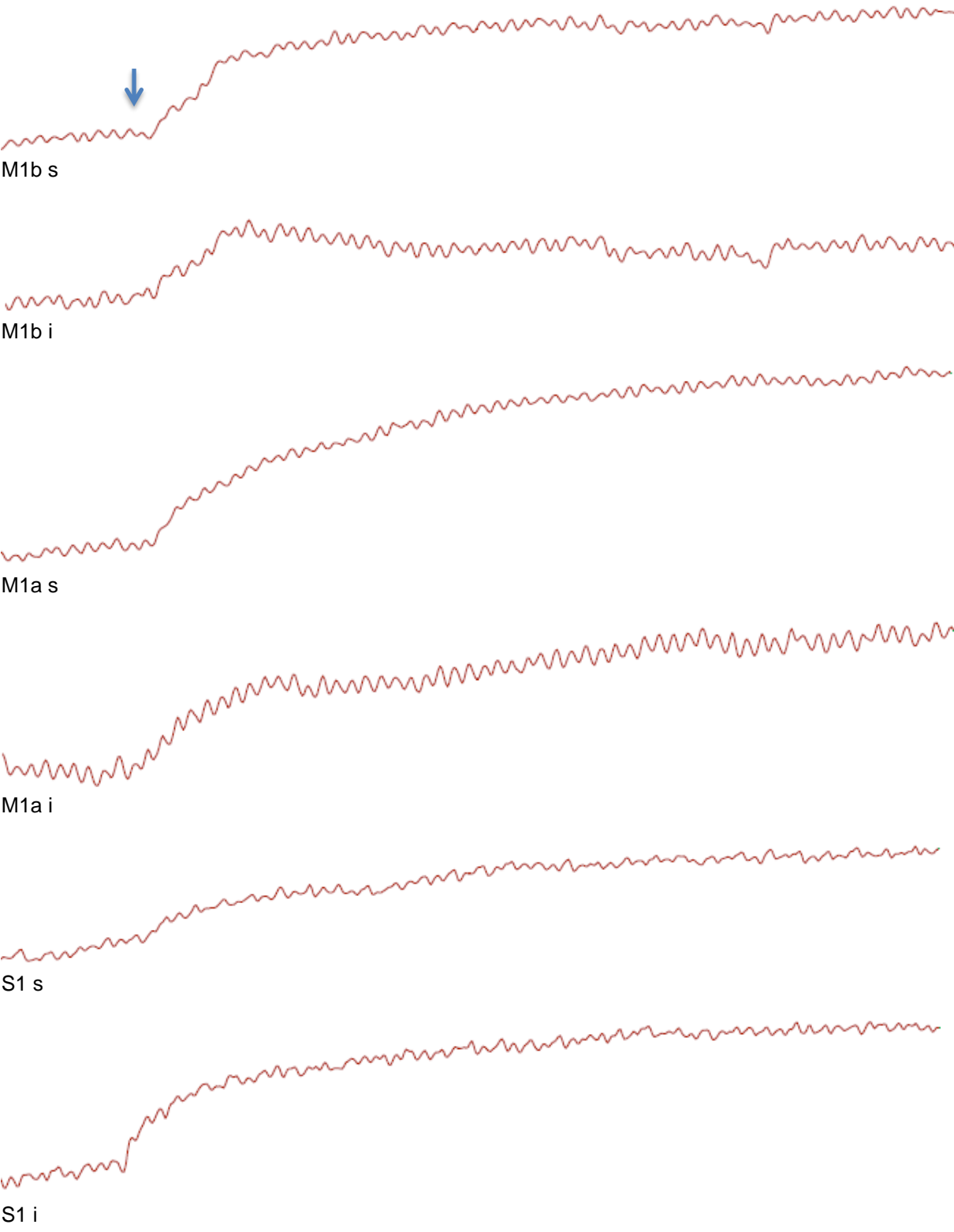
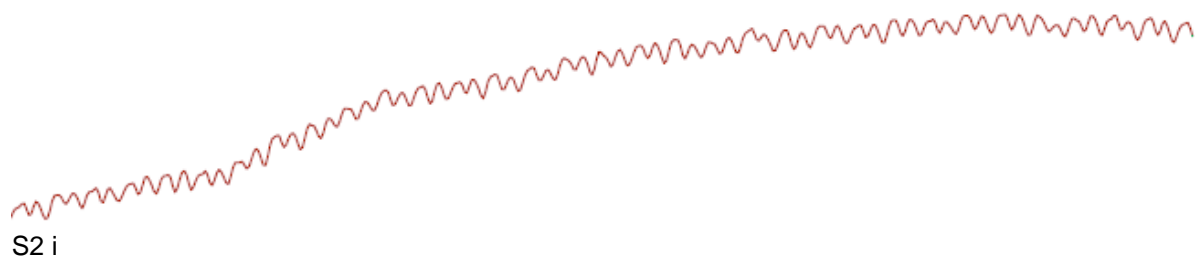
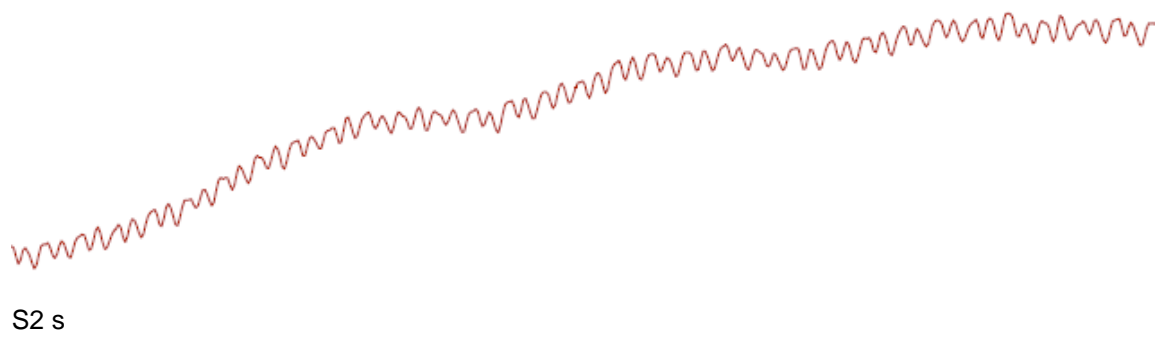
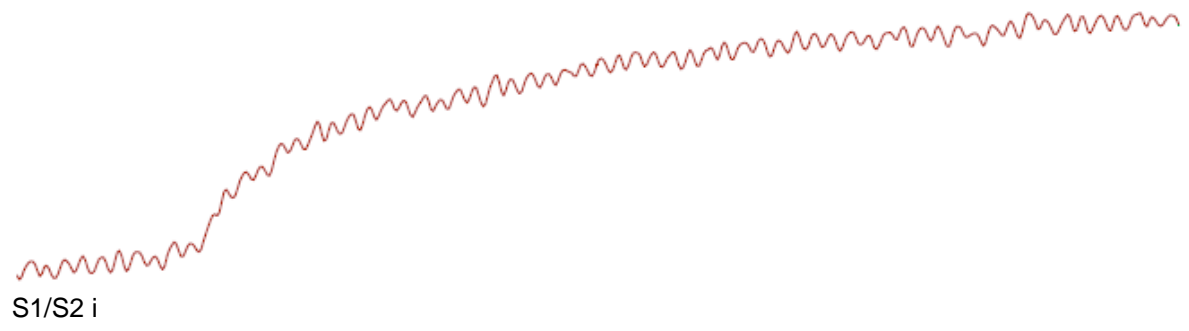
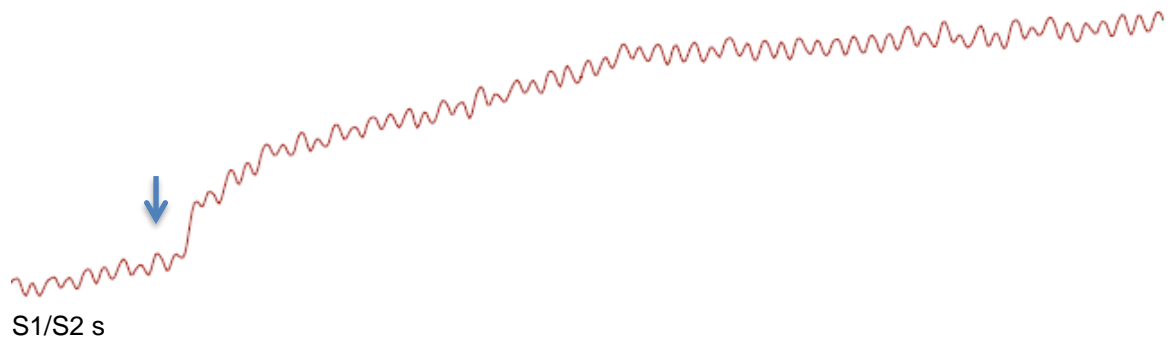


Abb. 3.4.5b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.5a



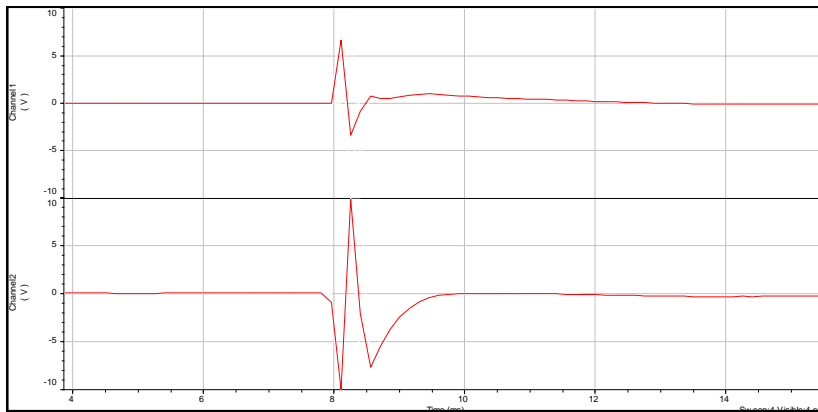
$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms



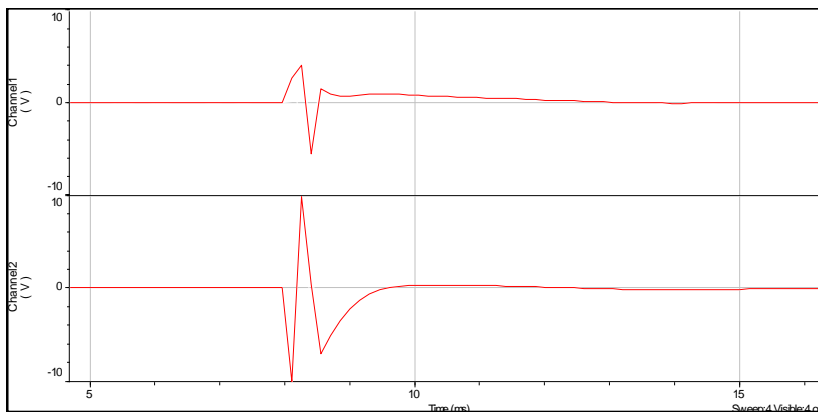
1×10^{-3} dI/l

40 ms

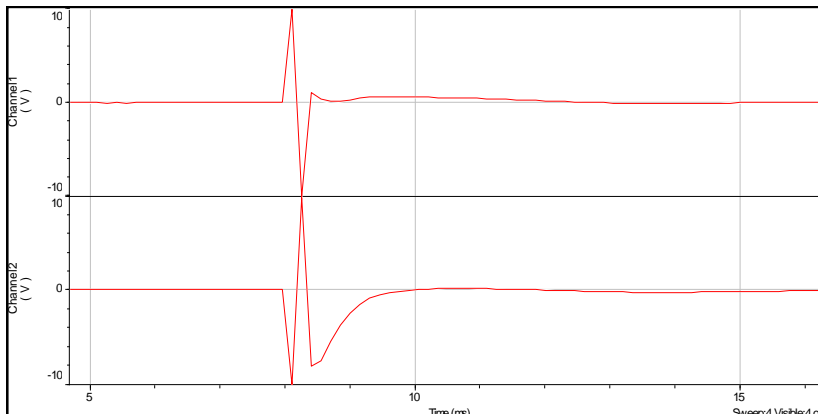
Abb. 3.4.6 Feldpotentiale



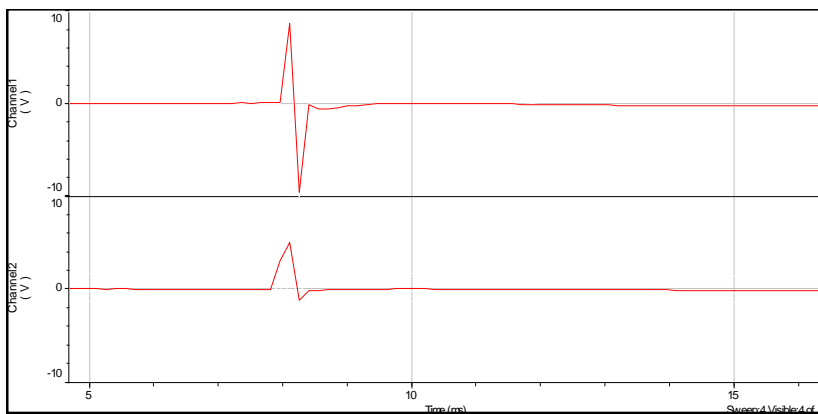
a:YII 100%



b:YII 50%



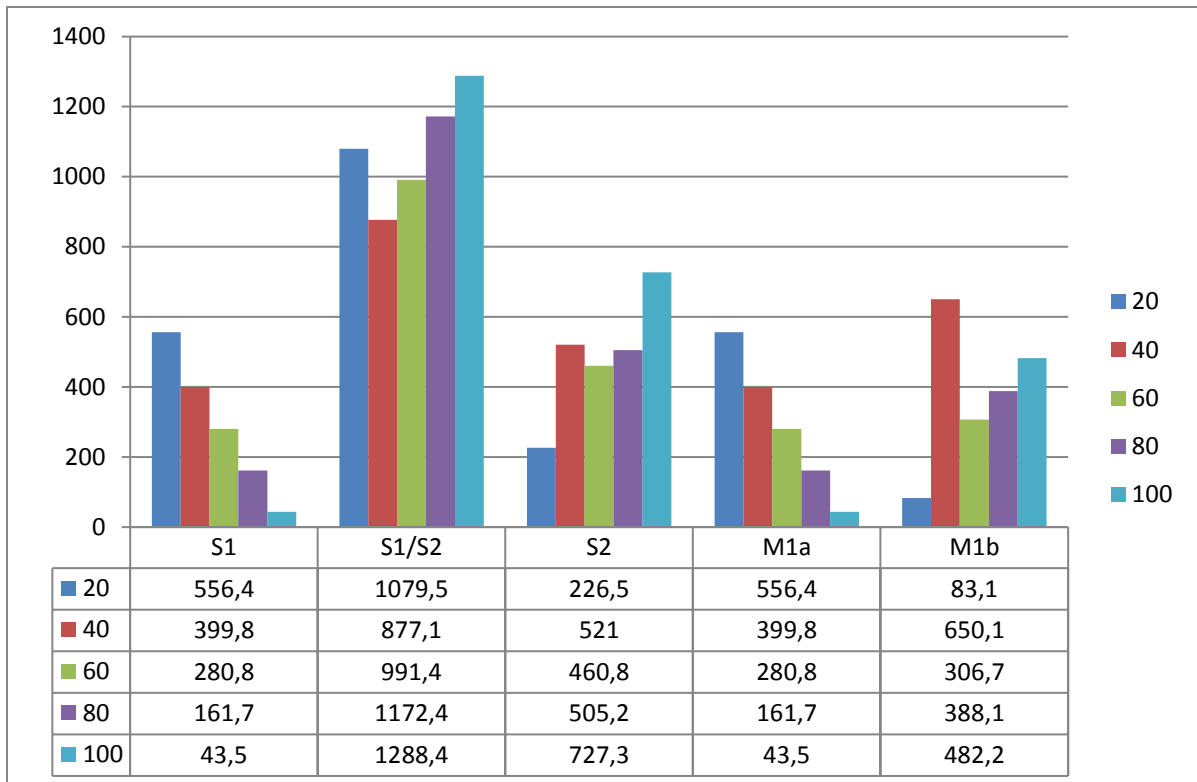
c:OMg 100%



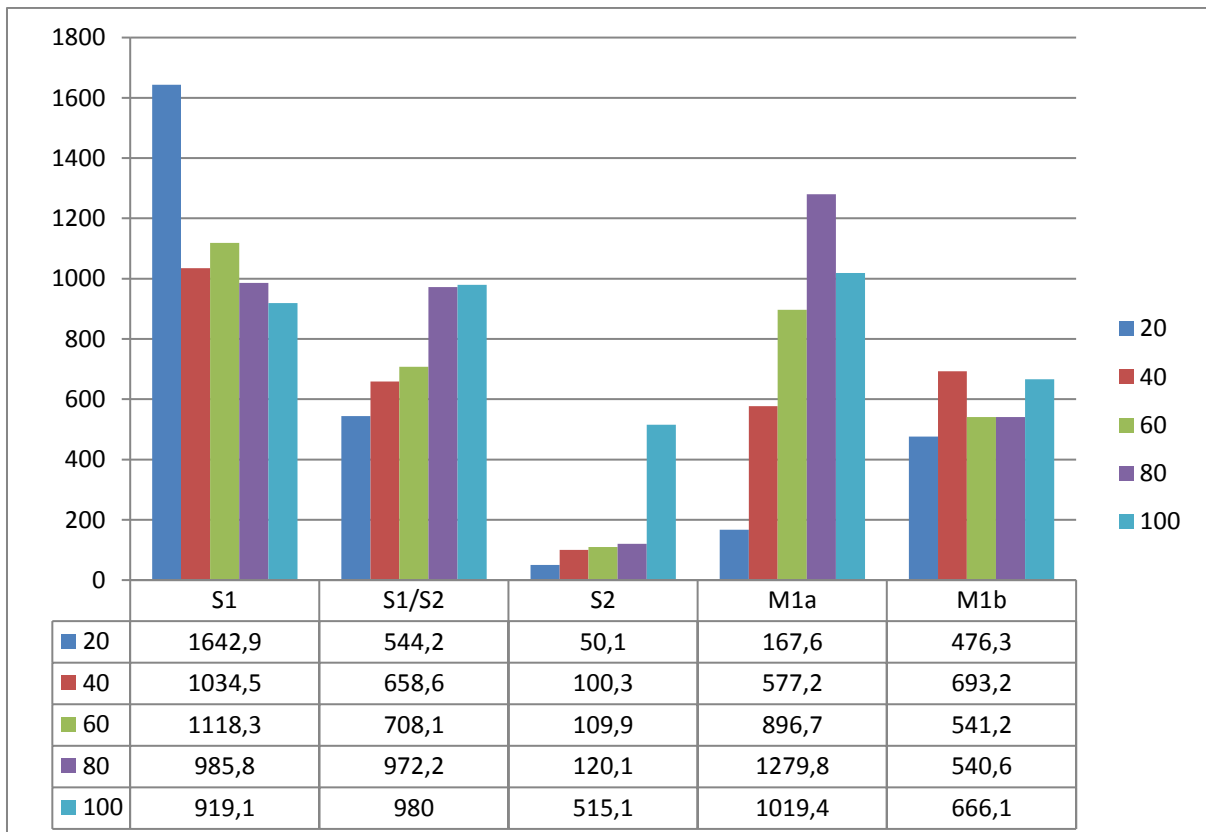
d:OMg 50%

Abb. 3.4.7

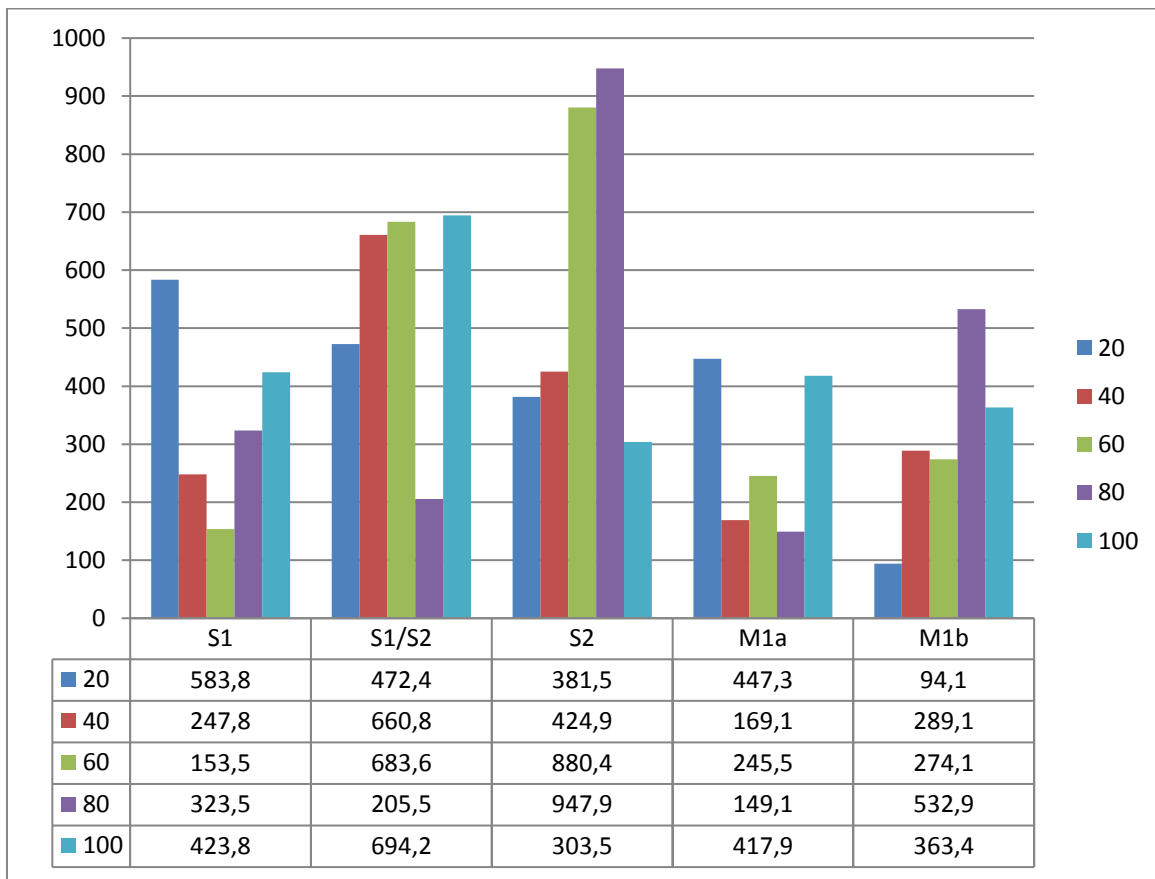
a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



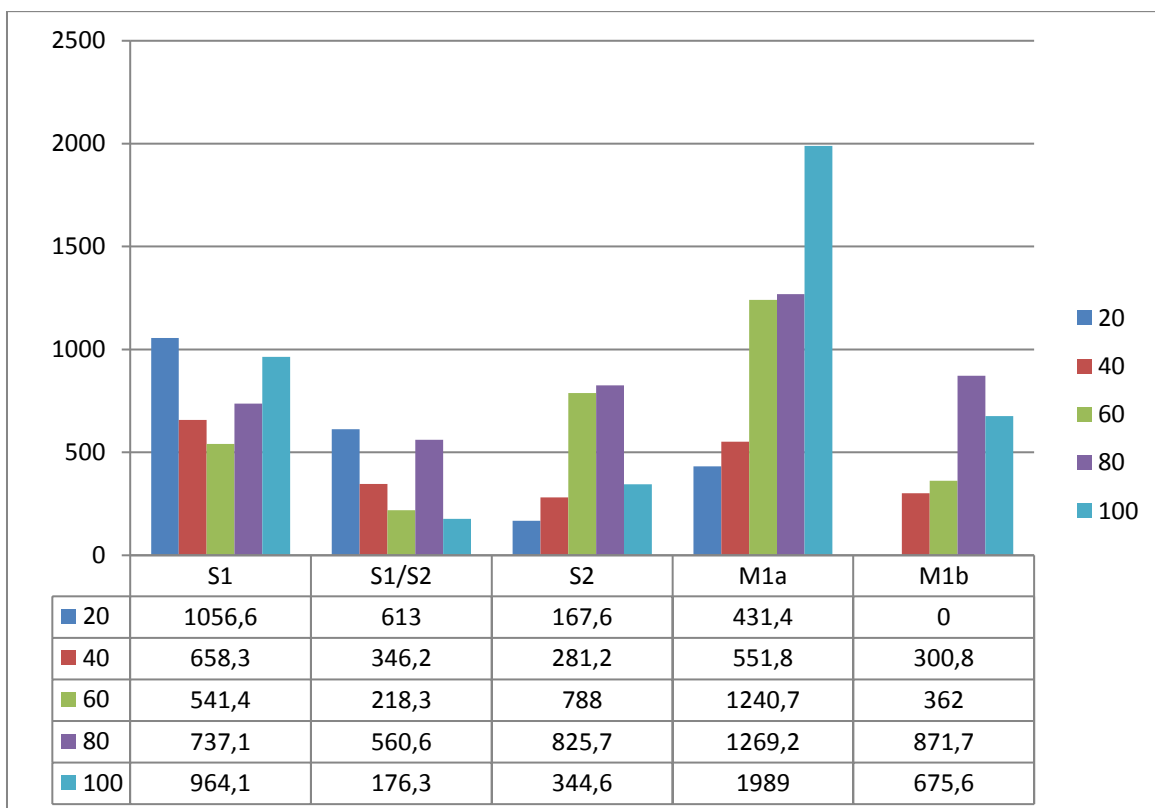
b) Yamamoto II, 100%, infragranulär



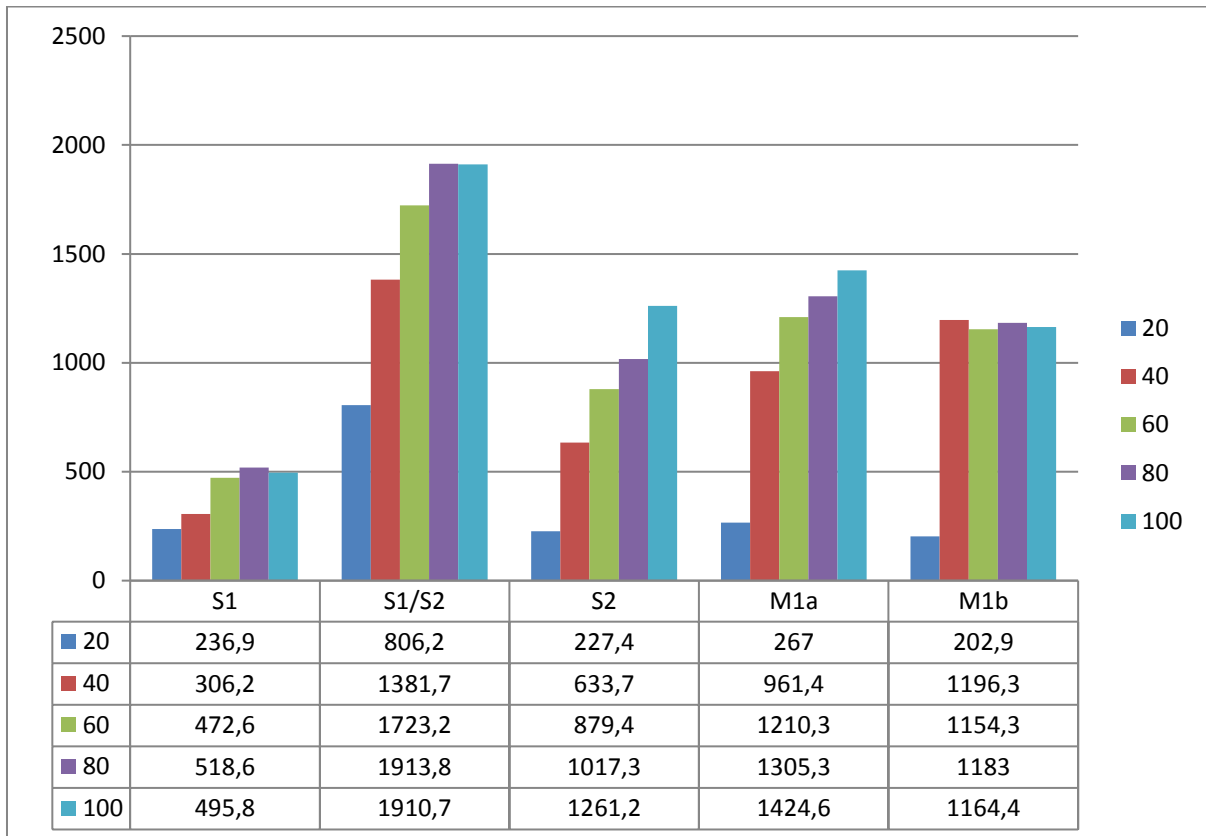
c) Yamamoto II, 50%, supragranulär



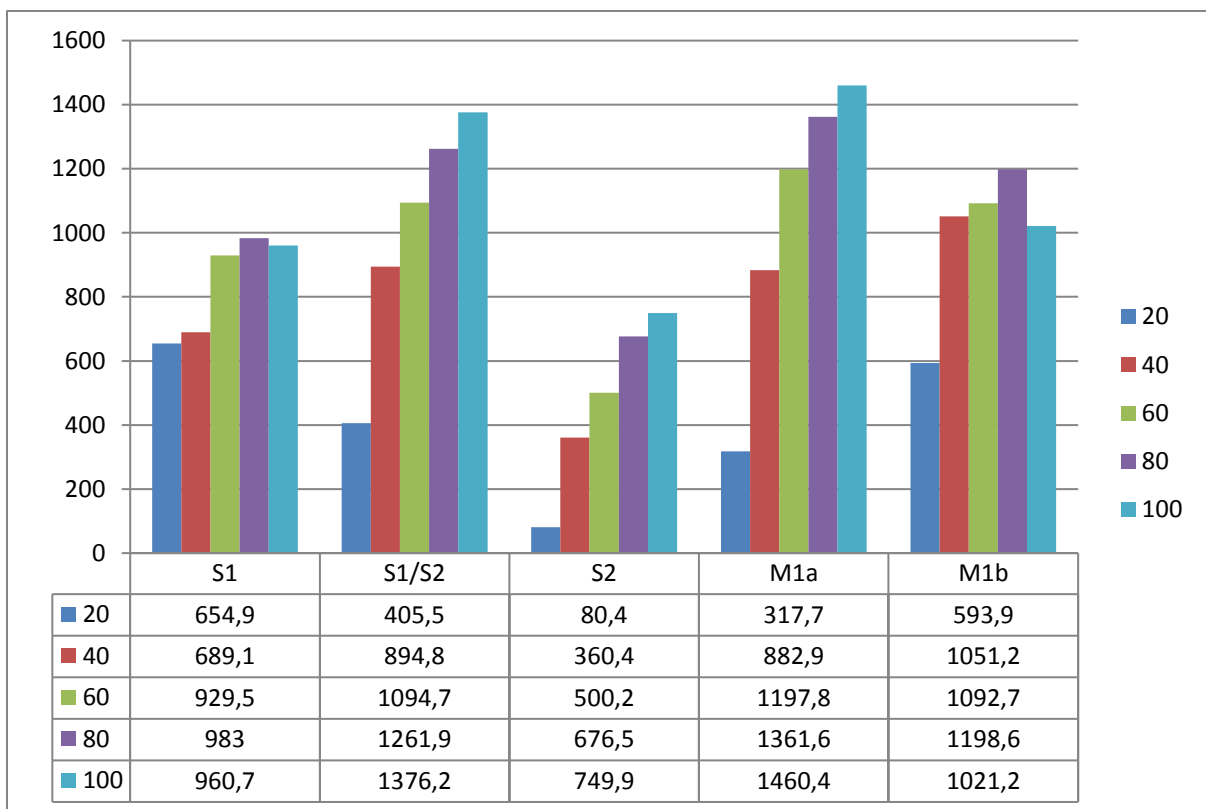
d) Yamamoto II, 50%, infragranulär



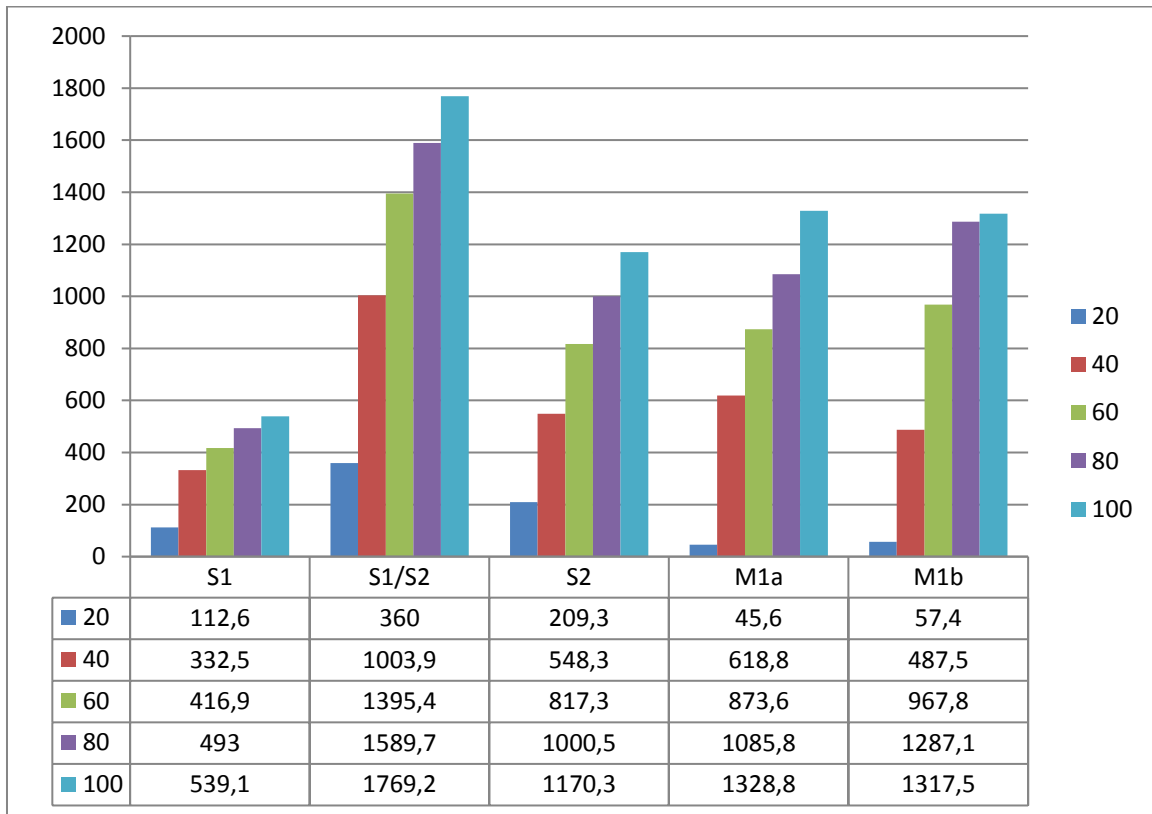
e) OMg, 100%, supragranulär



f) OMg, 100%, infragranulär



g) OMg, 50%, supragranulär



h) OMg, 50%, infragranulär

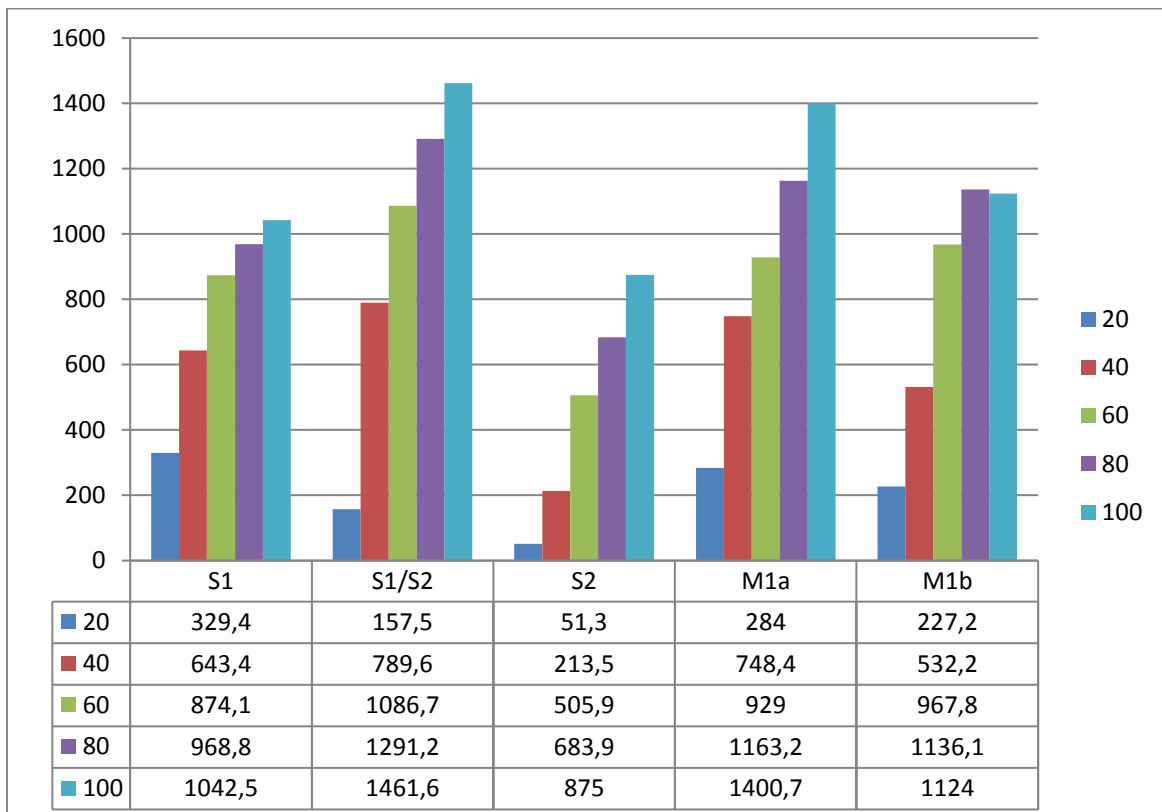
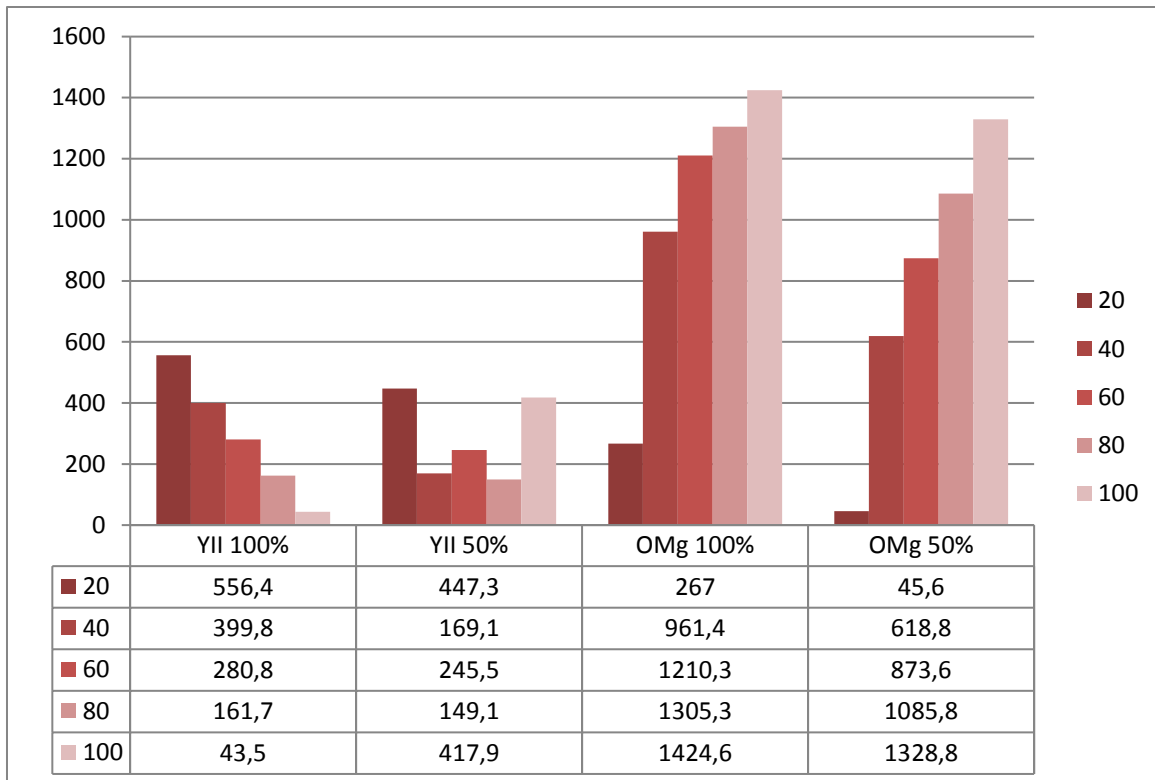
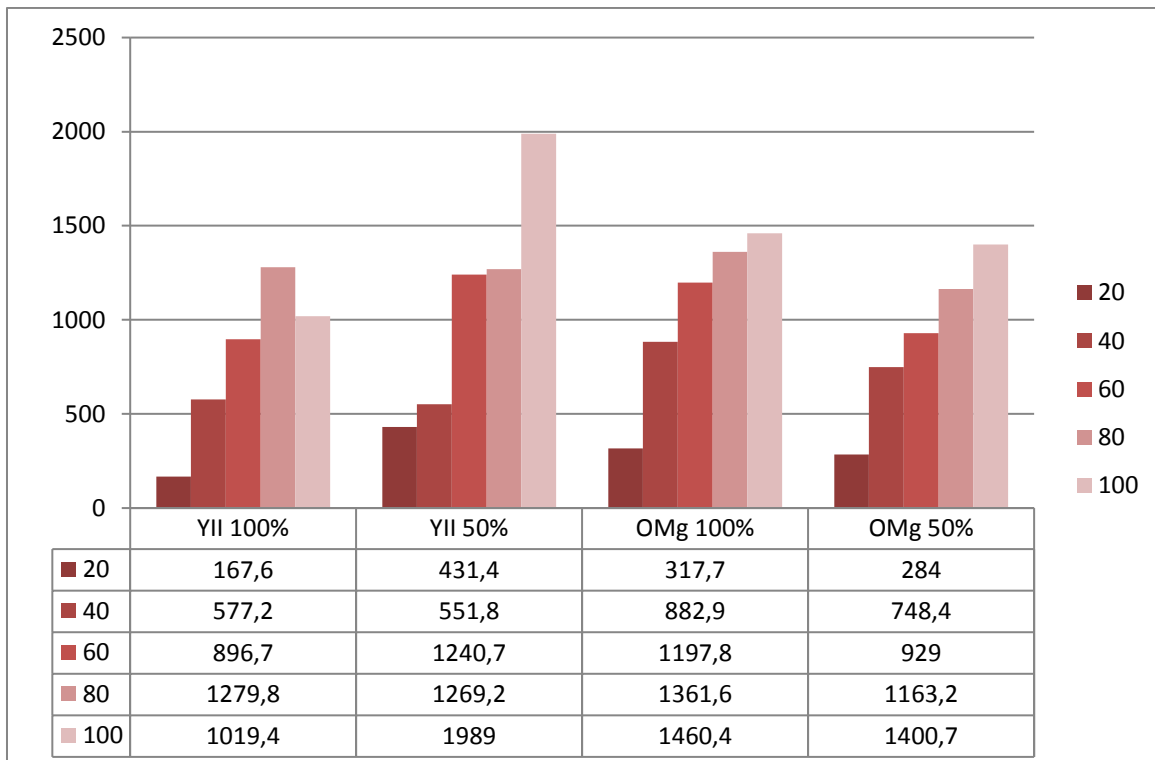


Abb. 3.4.8 Motorik

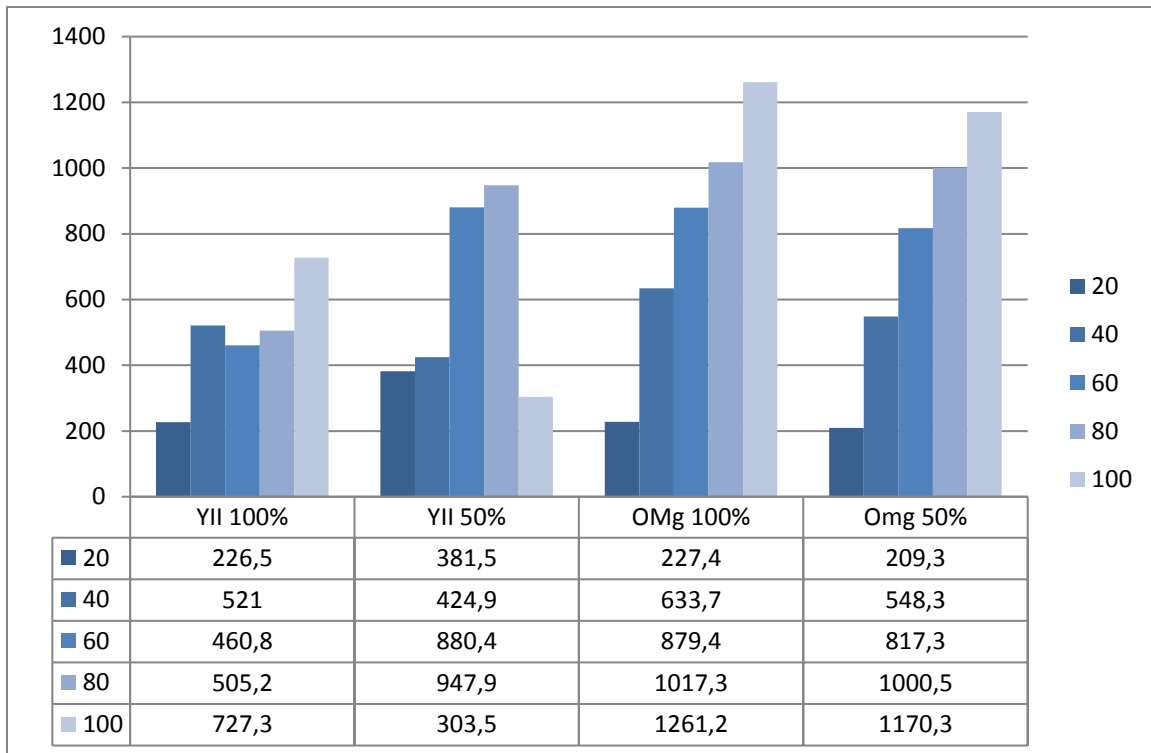


a) supragranulär

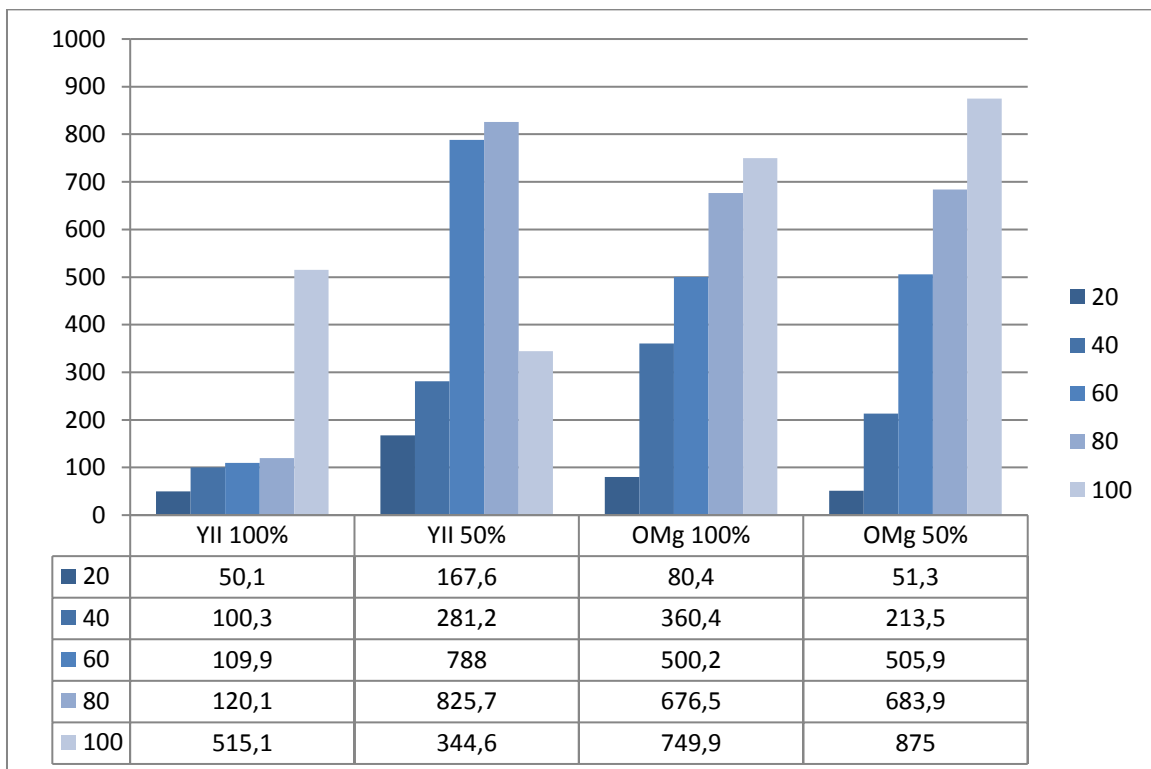


a) infragranulär

Abb. 3.4.9 sekundär- Somatosensorik



a) supragranulär



b) infragranulär

3.5 Versuch 5

Abb. 3.5.1 a) Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer, FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale (FP), RE: Reizelektrode, b) Positionen des Dioden-Arrays (rote Punkte im Hirnschnitt) und Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1: primär-motorischer Kortex, Position 3.

Abb. 3.5.2a-3.5.5a Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Dioden-Array-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitäts-graphen, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1: primär-motorischer Kortex, Position 3) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Ansicht der Rindenareale sortiert von medial nach lateral. Zeiteichnung und Achsenskalierung siehe 3.5.2b-5b und 3.5.7a-h

Abb. 3.5.2b-3.5.5b Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S2a s: sekundär-somatosensorischer Kortex Position 1, supragranulär; S2b s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, supragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 3, supragranulär; S1 i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S2a i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; S2b i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, infragranulär; M1 i: primär-motorischer Kortex, Position 3, infragranulär). Dauer des gesamten Kurvenausschnitts 1300 ms.

Abb. 3.5.6a-d Graphische Darstellung der Feldpotentiale, sortiert nach Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) und Reizstärke (100%, 50%).

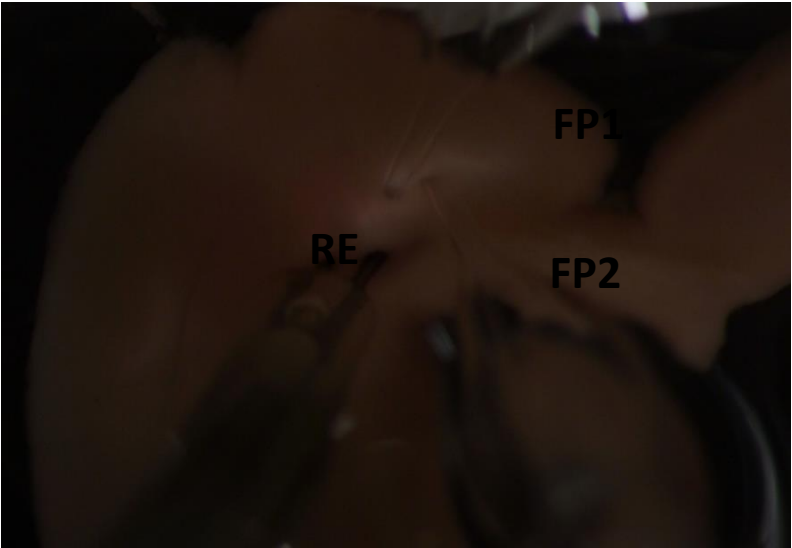
Abb. 3.5.7a-h Balkendiagramm-Übersicht der Graphen innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; M1: primär-motorischer Kortex, Position 3) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.5.8 a) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg), b) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.5.9 Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg), b) Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung,

sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg).
Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80,
100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige
Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in
Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.5.1



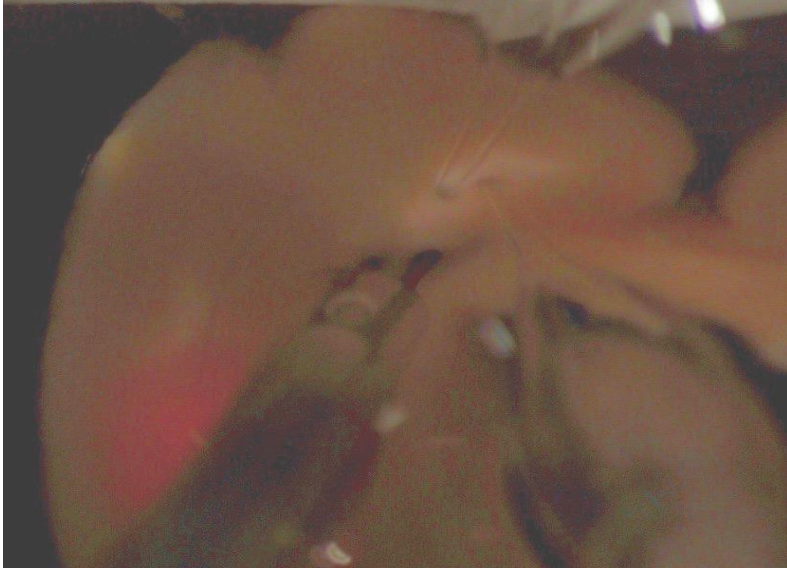
a: Versuchsaufbau



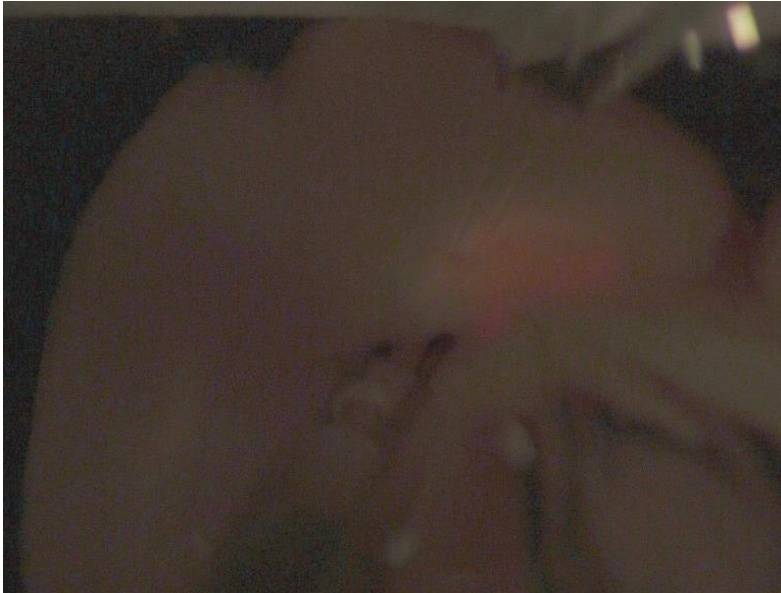
b: Position 0: S1



c: Position 1: S2a



d: Position 2: S2b



e: Position 3: M1

Abb. 3.5.2a YII 100%

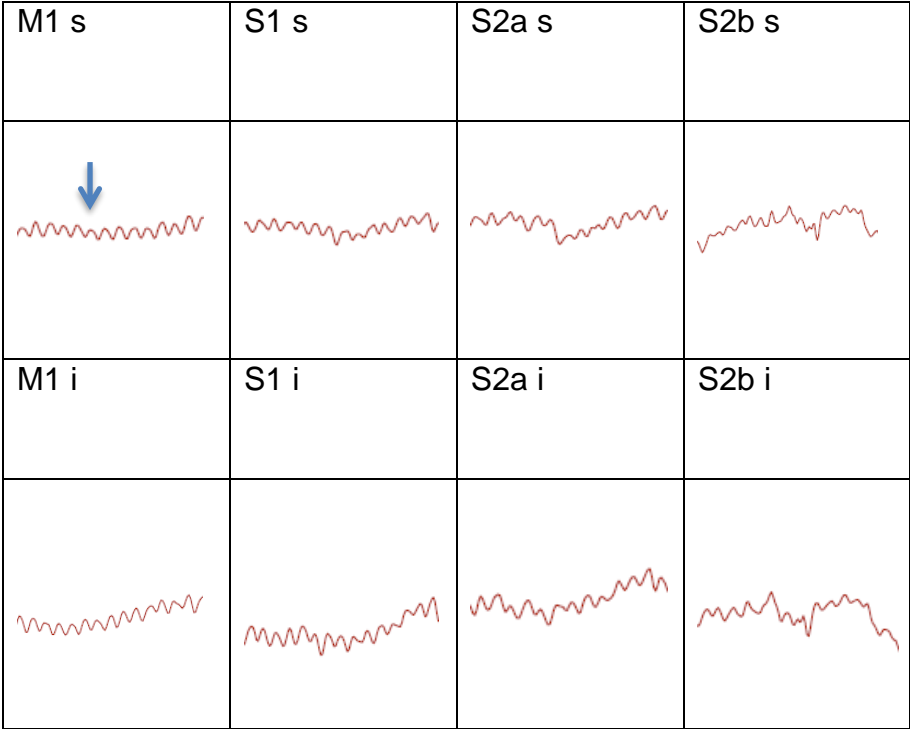


Abb. 3.5.2b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.2a

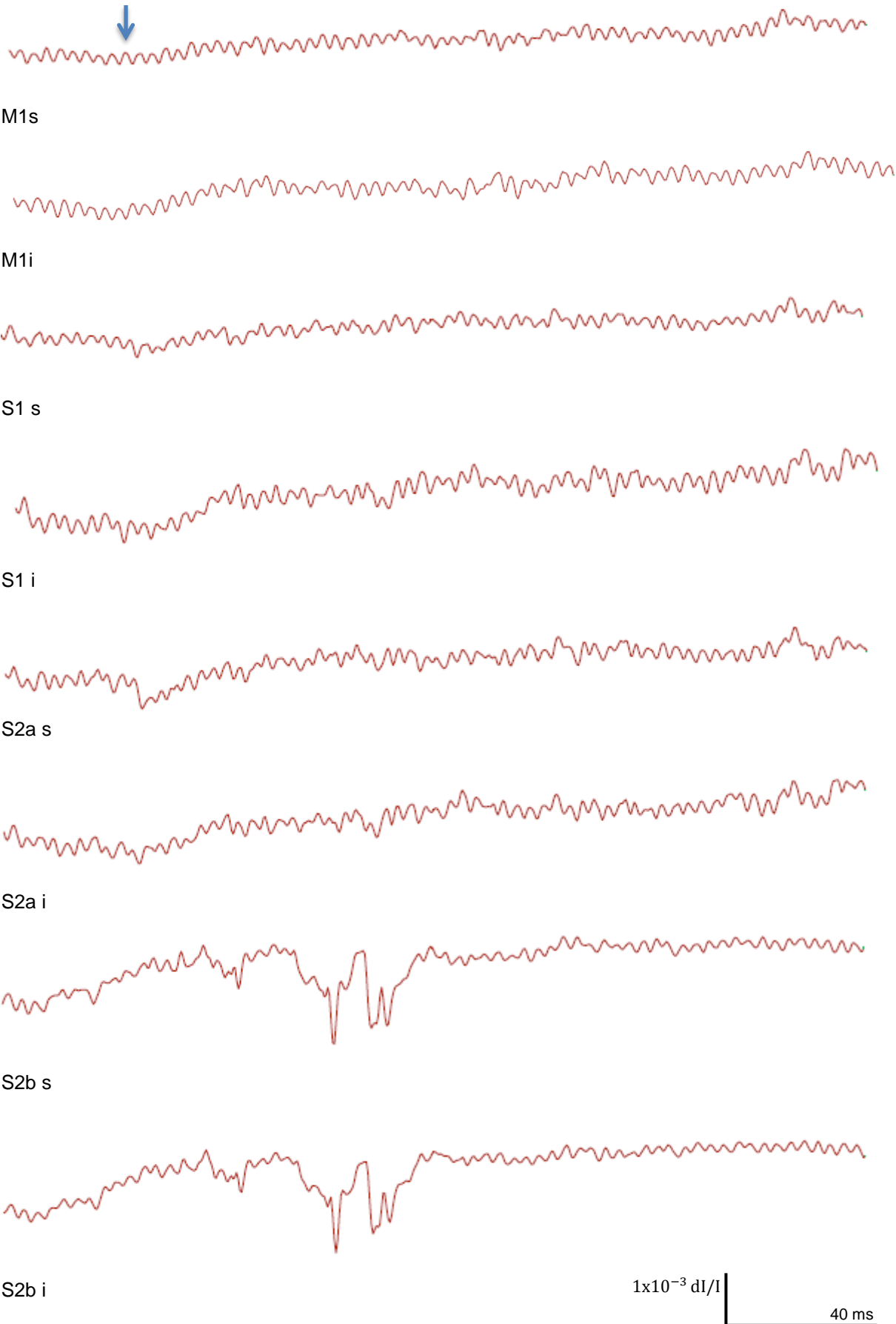


Abb. 3.5.3a YII 50%

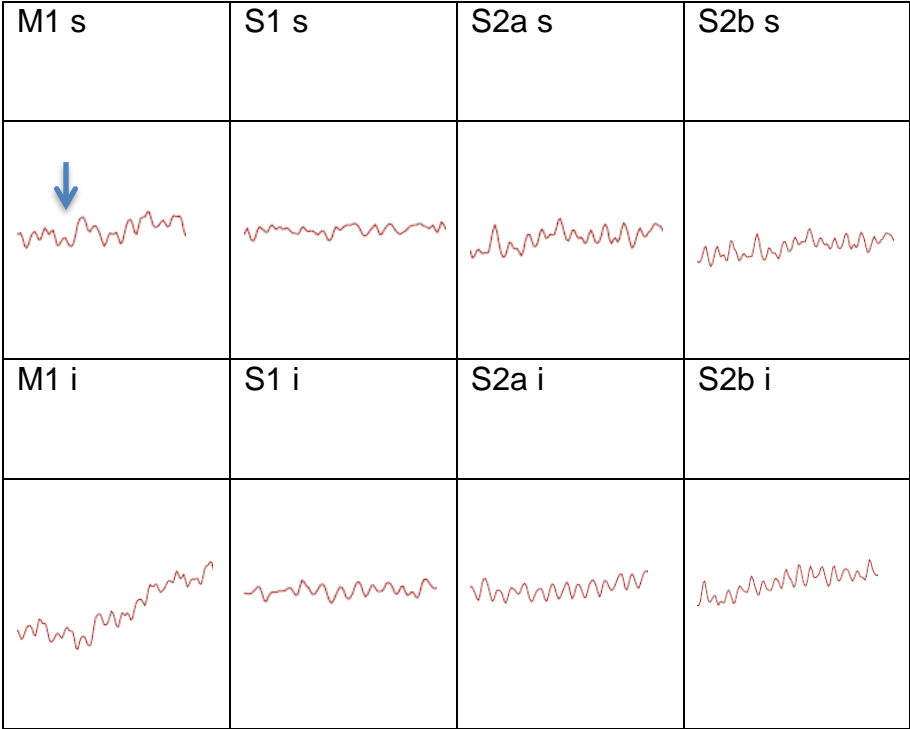
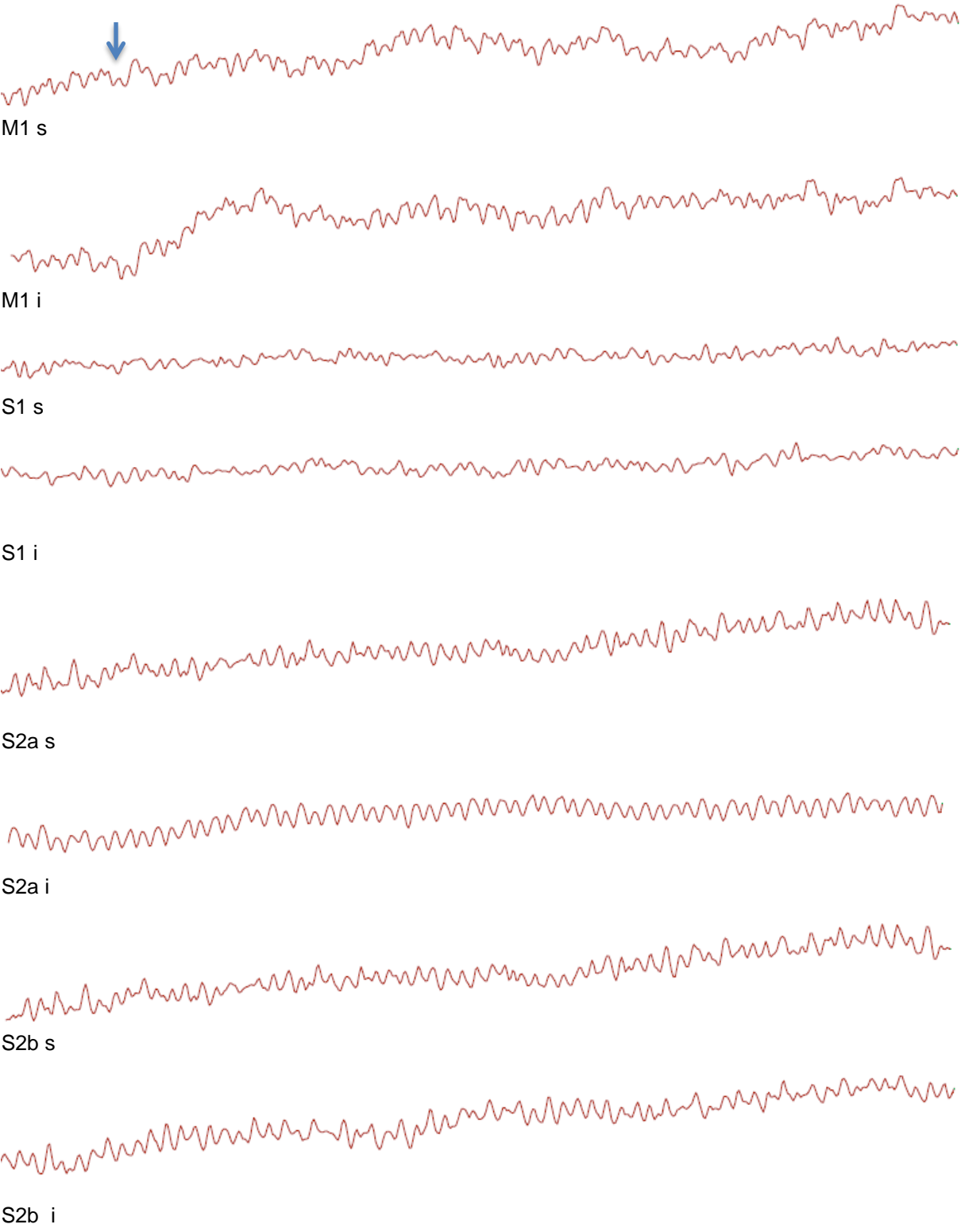


Abb. 3.5.3b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.3a



$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ | 40 ms

Abb. 3.5.4a OMg, 100%

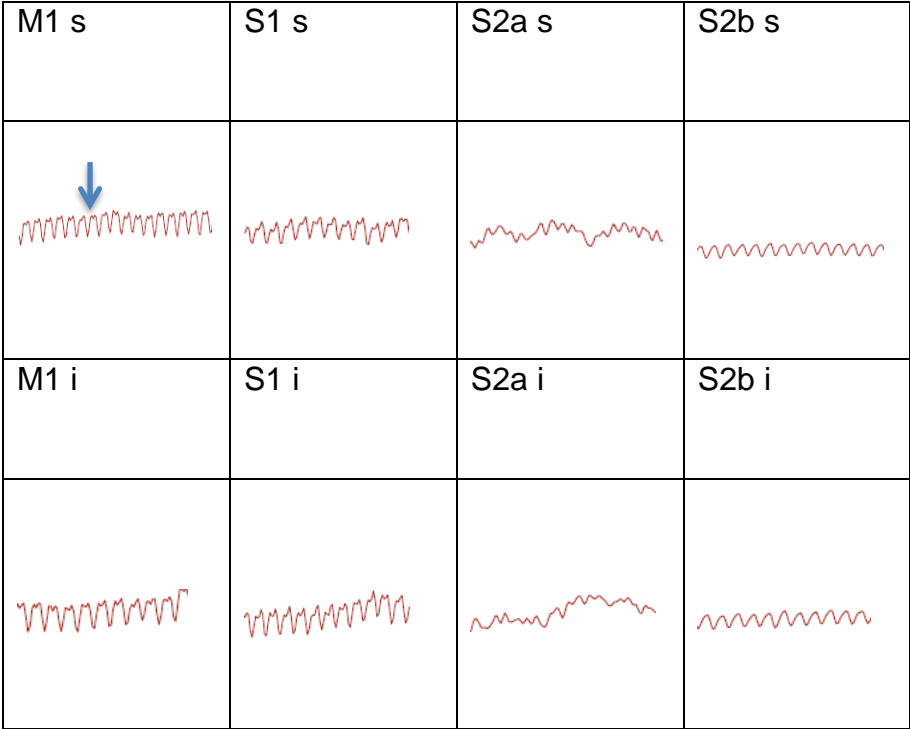
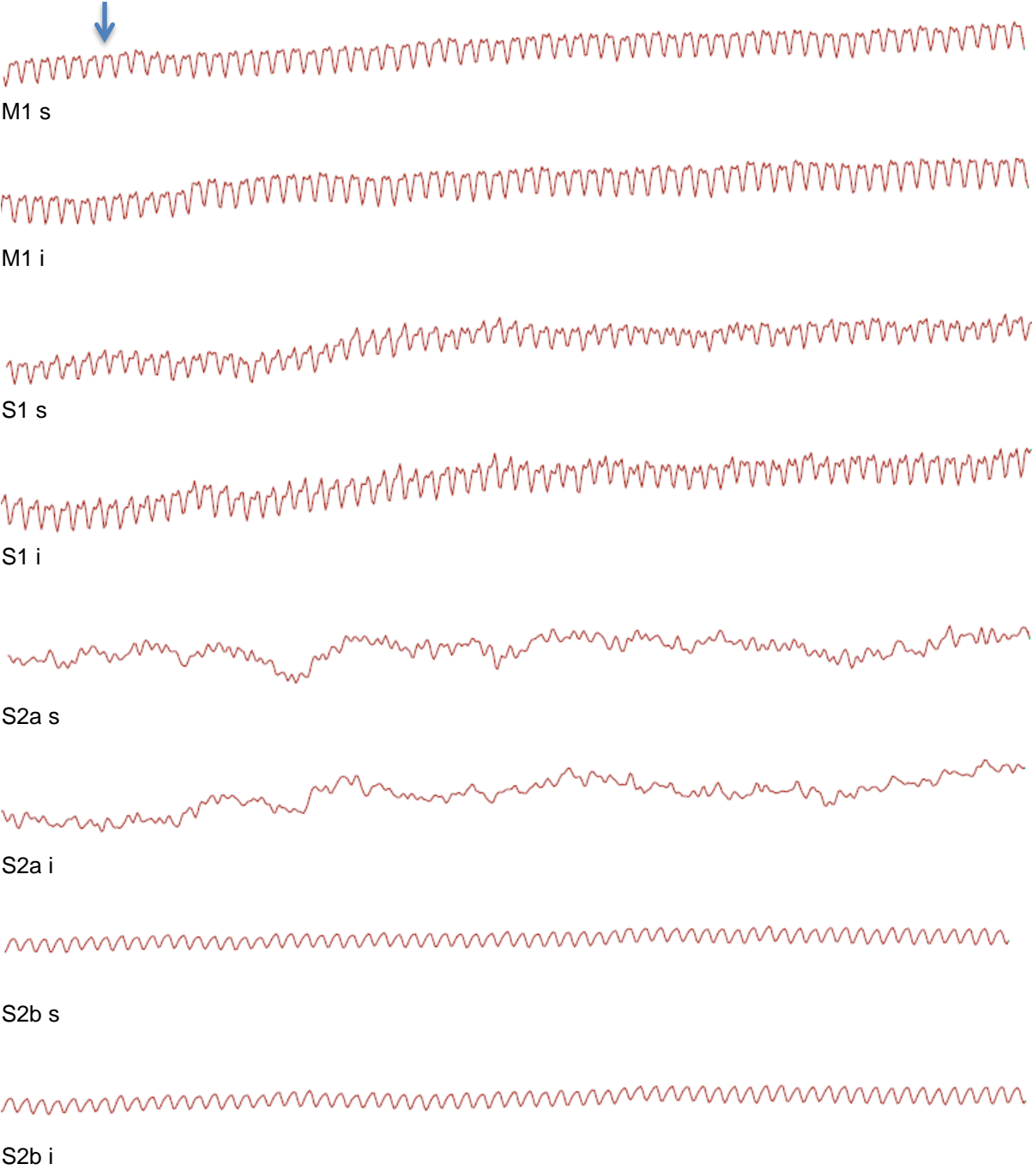


Abb. 3.5.4b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.4a



1×10^{-3} dI/I

40 ms

Abb. 3.5.5a OMg, 50%

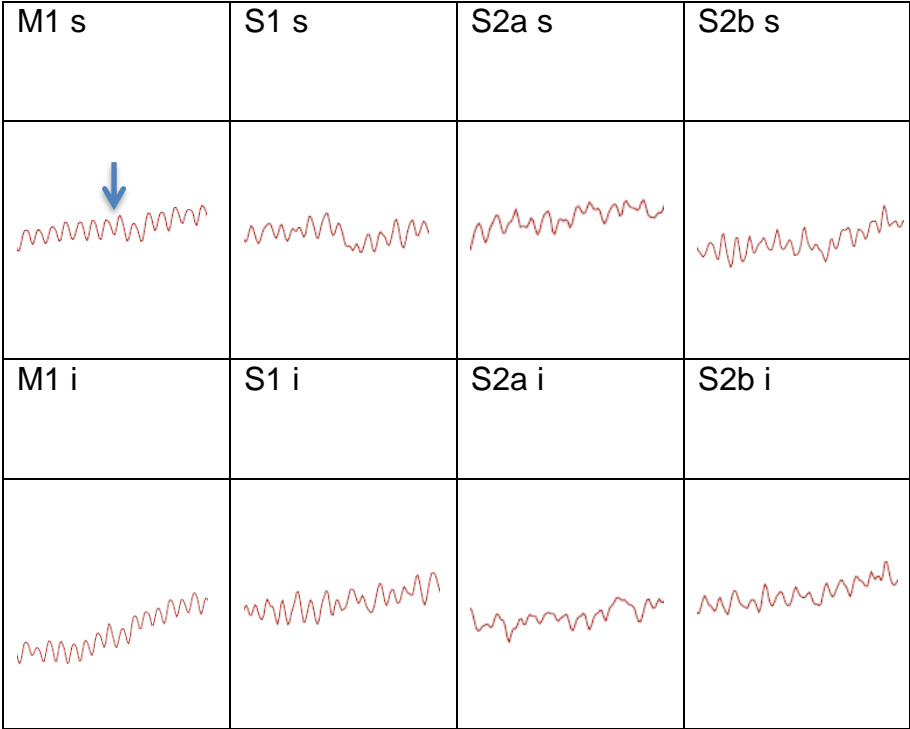
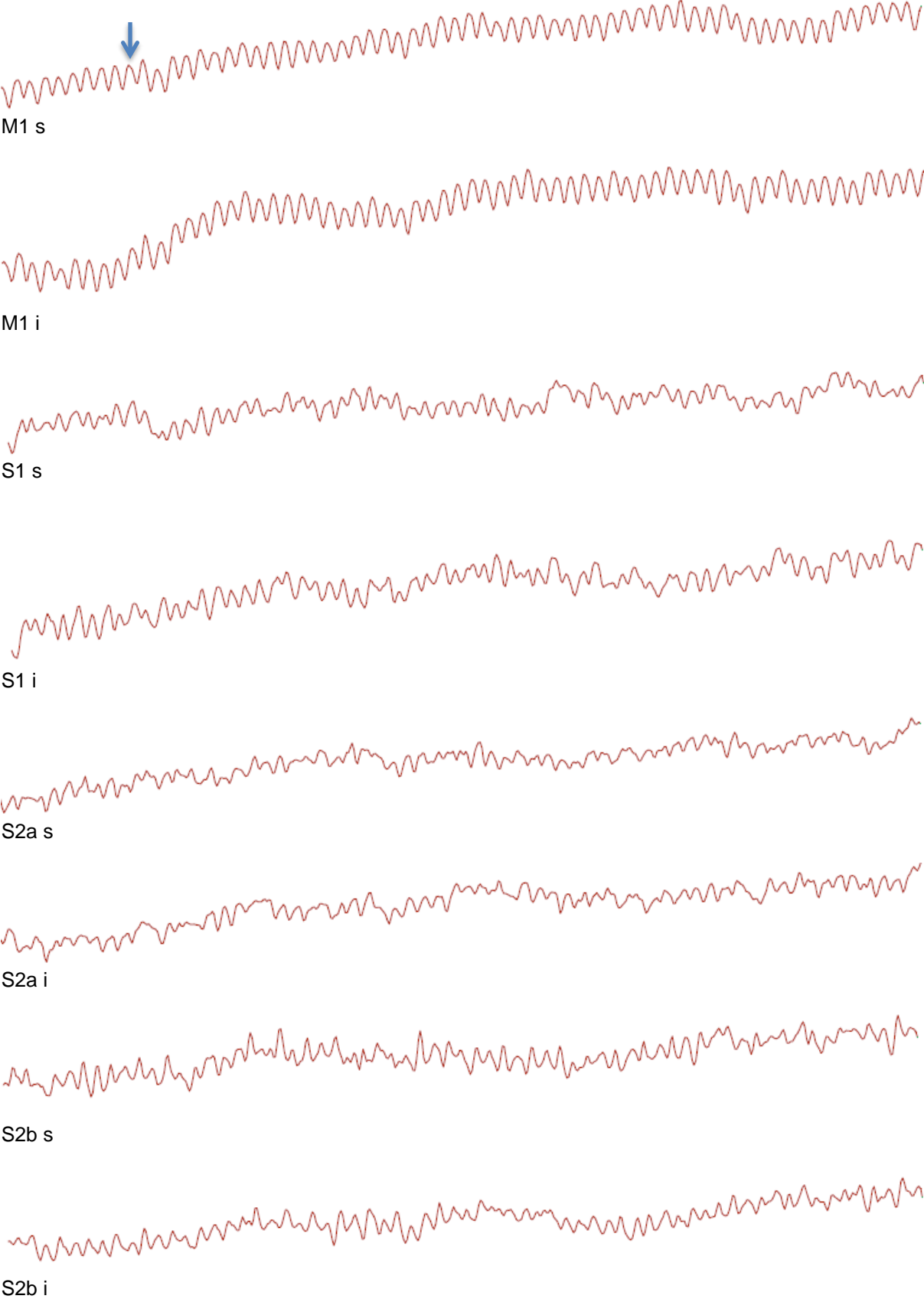
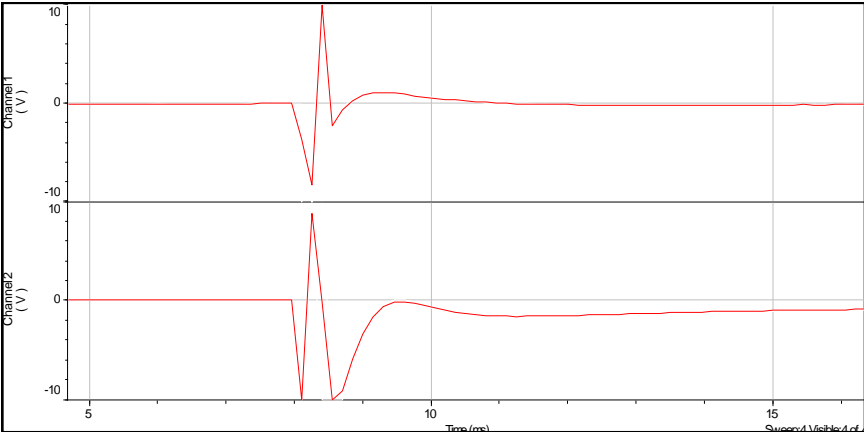


Abb. 3.5.5b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.5a

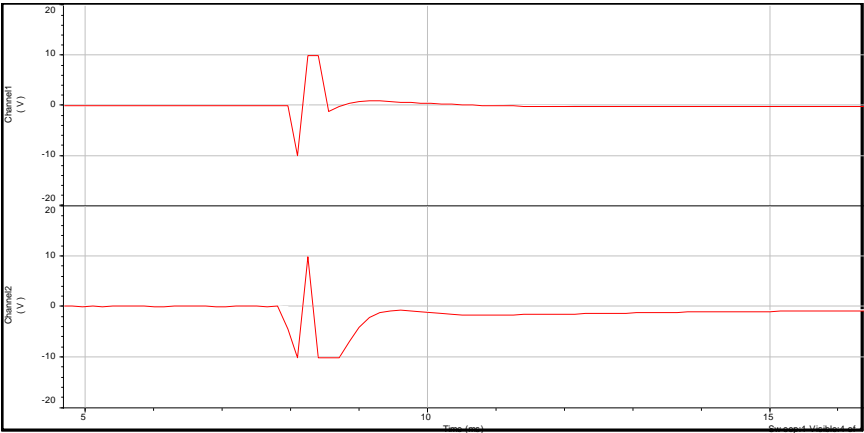


$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ | 40 ms

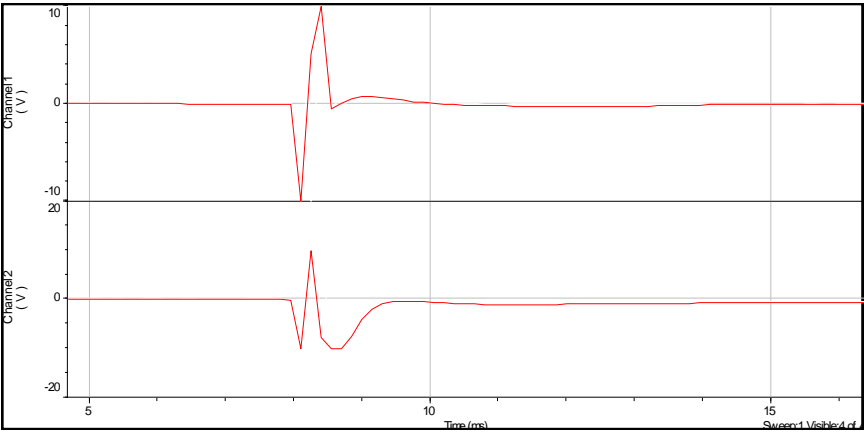
Abb. 3.5.6 Feldpotentiale



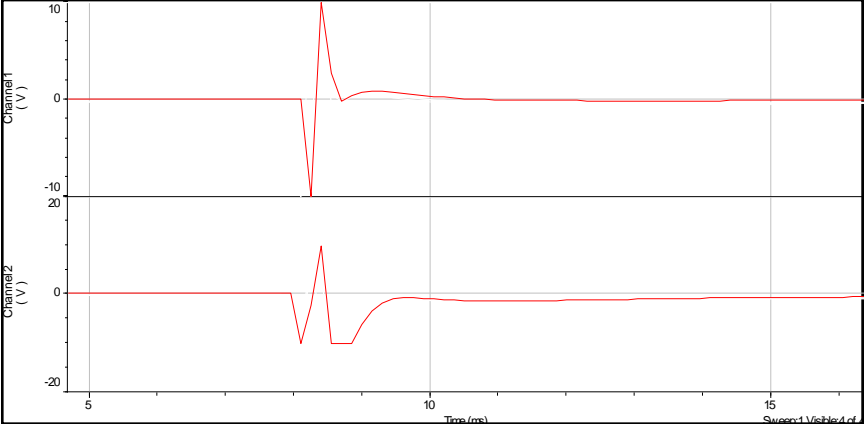
a: YII, 100%



b: YII, 50%



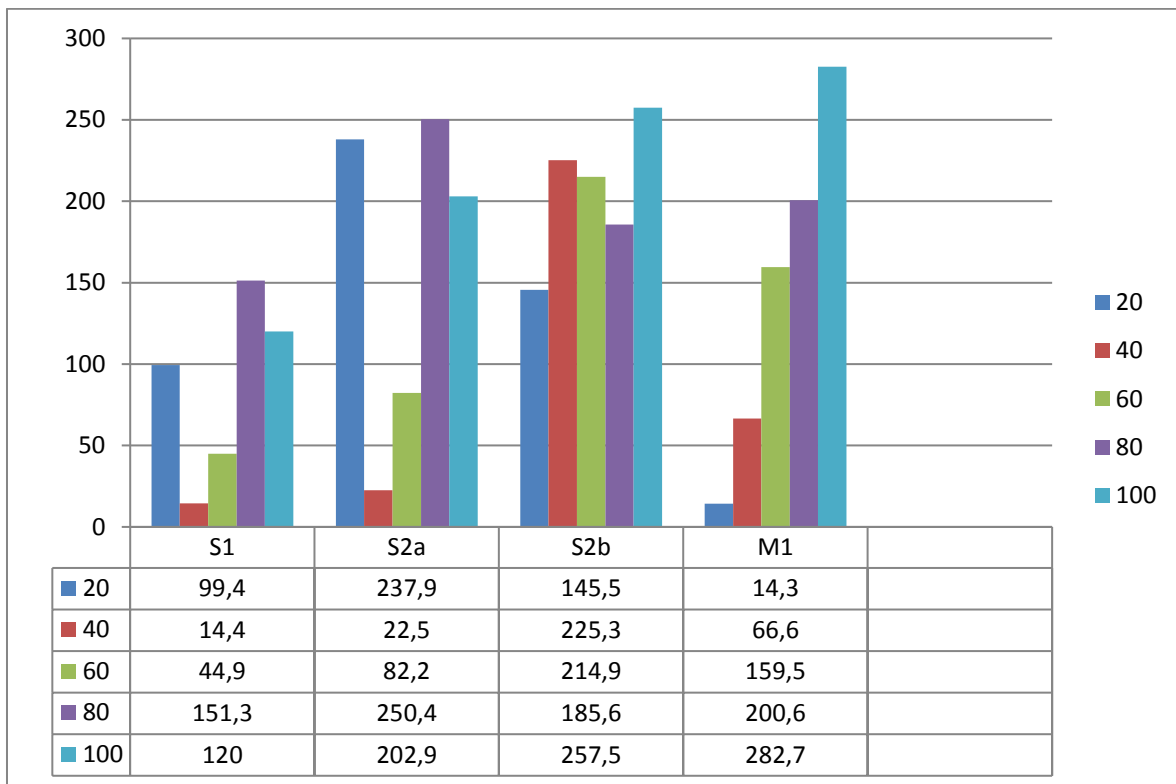
c: OMg, 100%



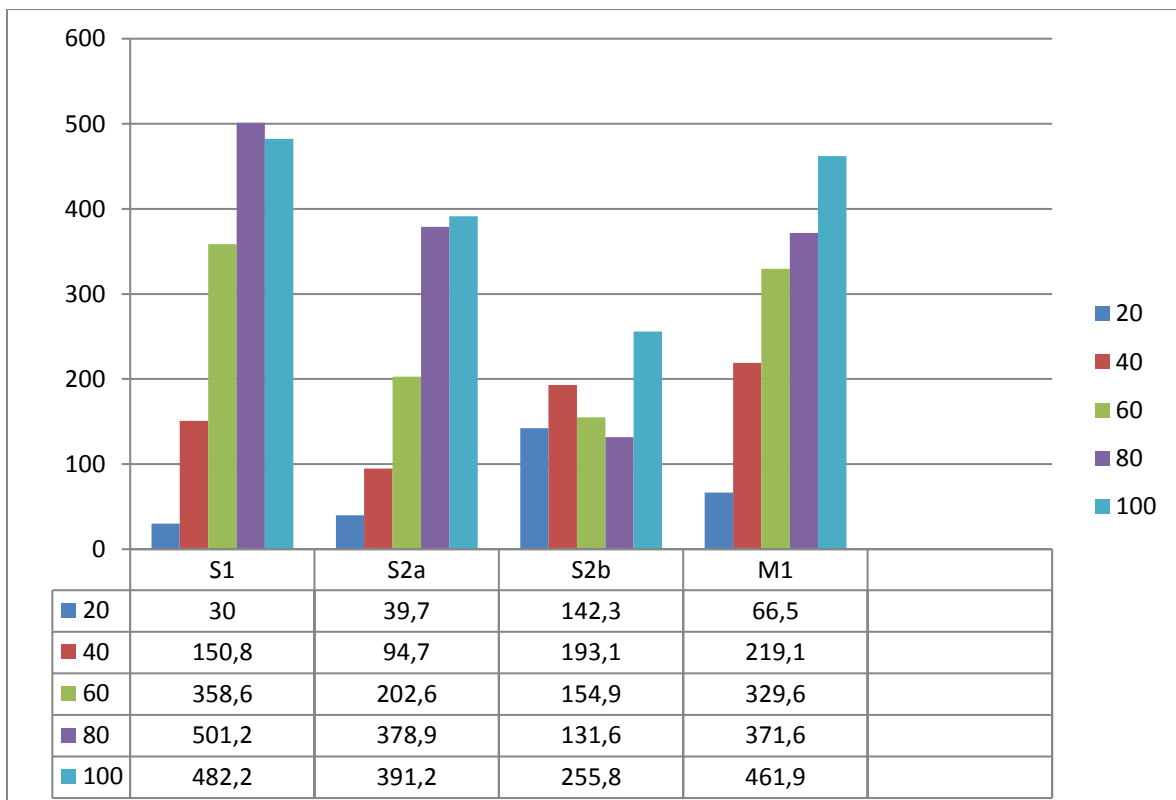
d: OMg, 50%

Abb. 3.5.7

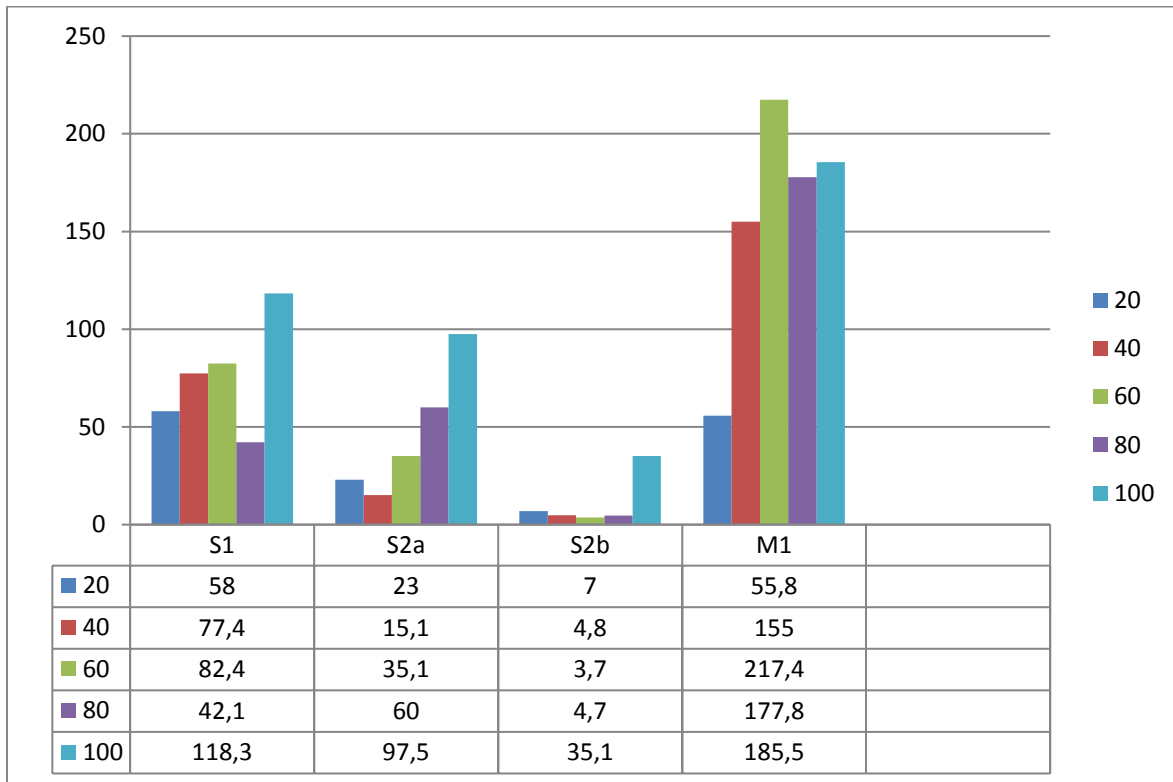
a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



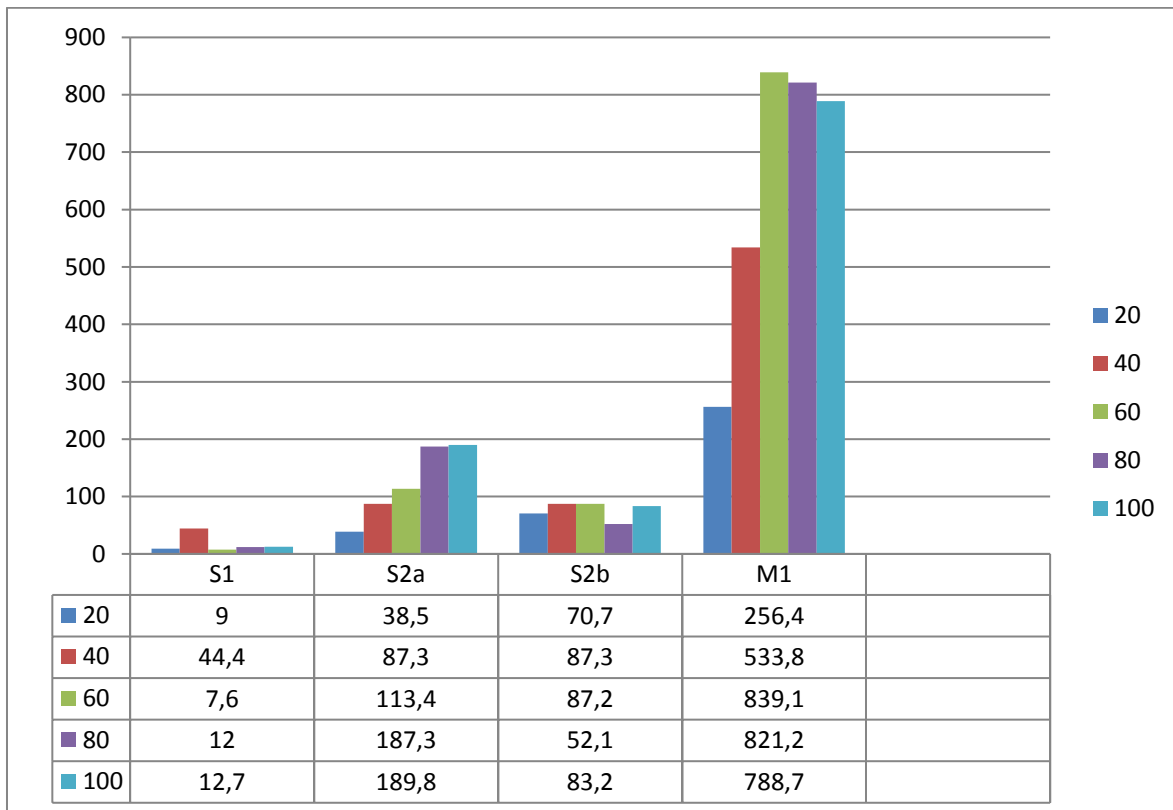
b) Yamamoto II, 100%, infragranulär



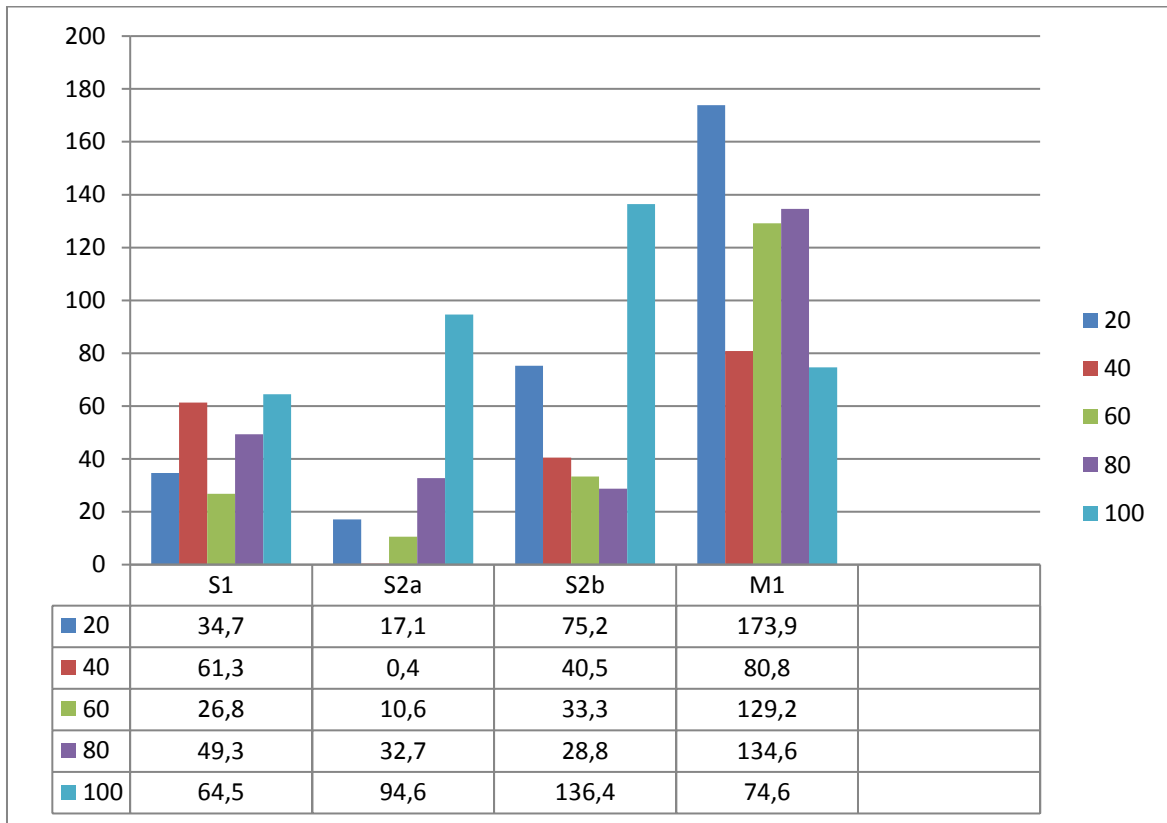
c) Yamamoto II, 50%, supragranulär



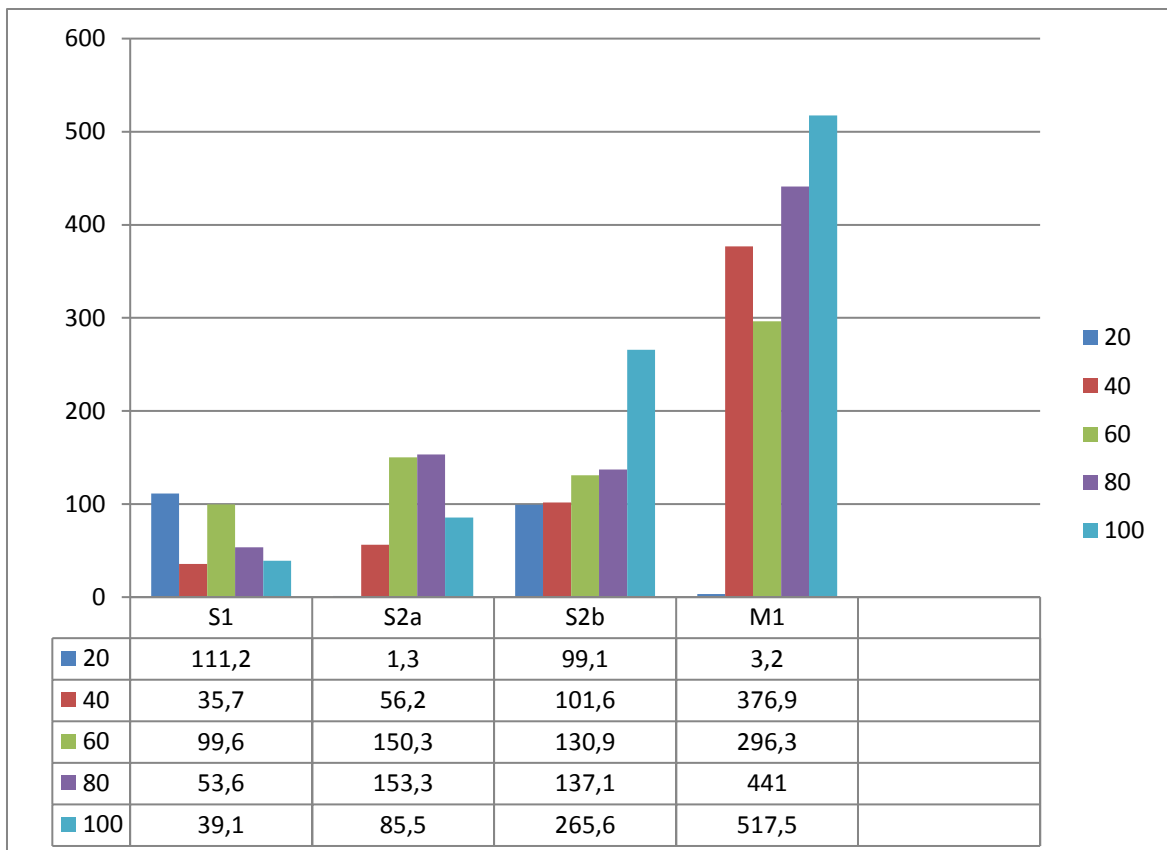
d) Yamamoto II, 50%, infragranulär



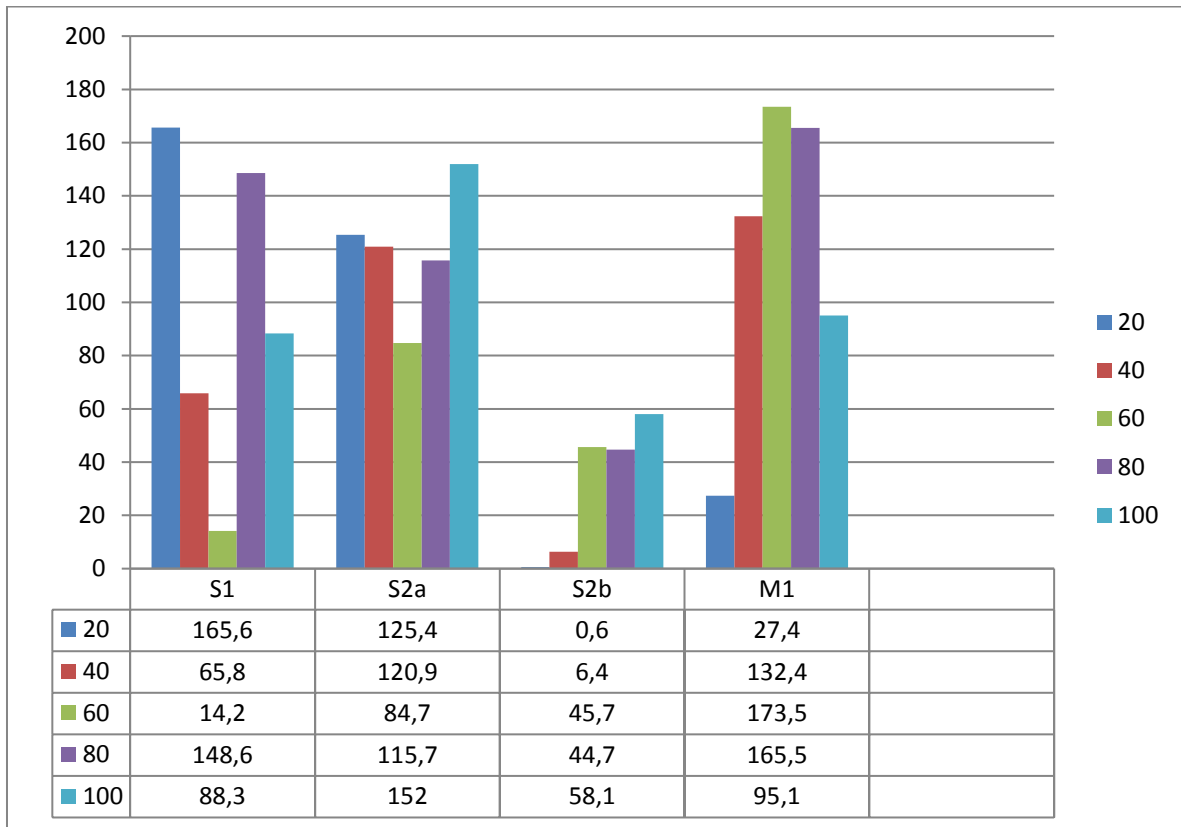
e) OMg, 100%, supragranulär



f) OMg, 100%, infragranulär



g) OMg, 50%, supragranulär



h) OMg, 50%, infragranulär

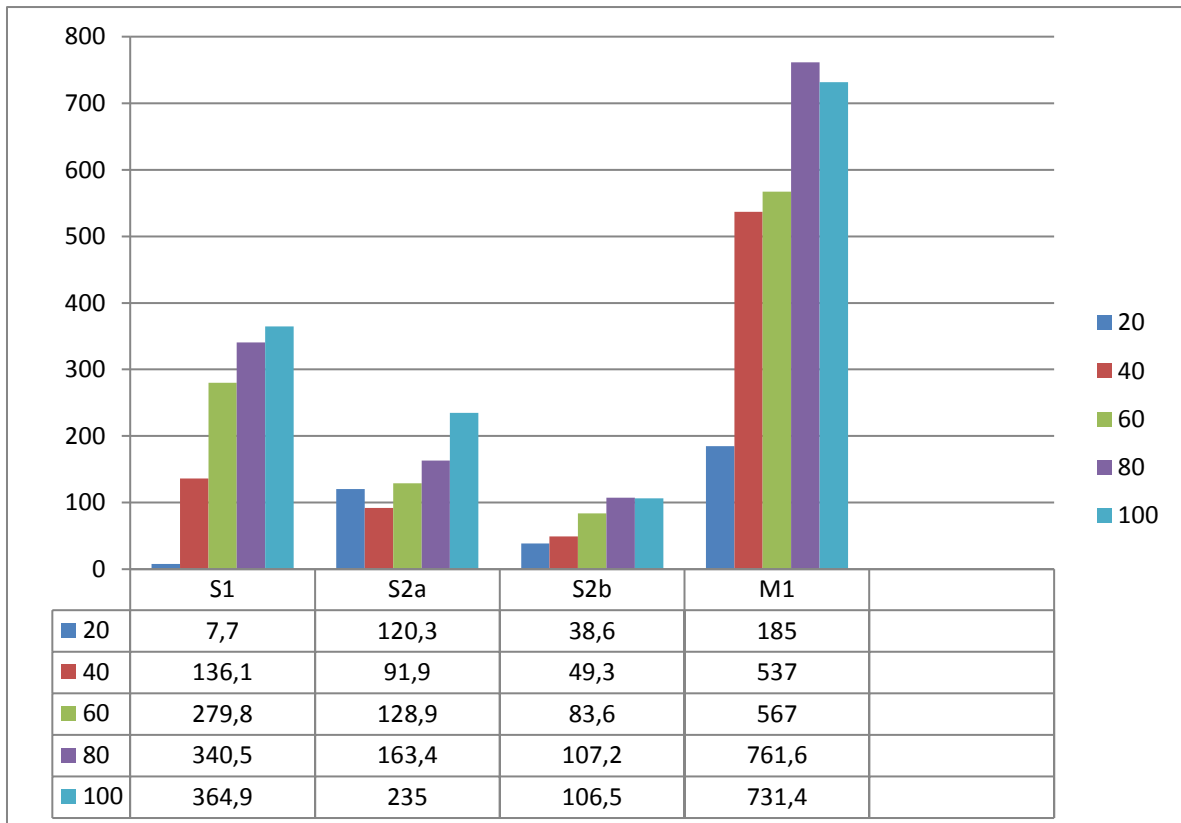
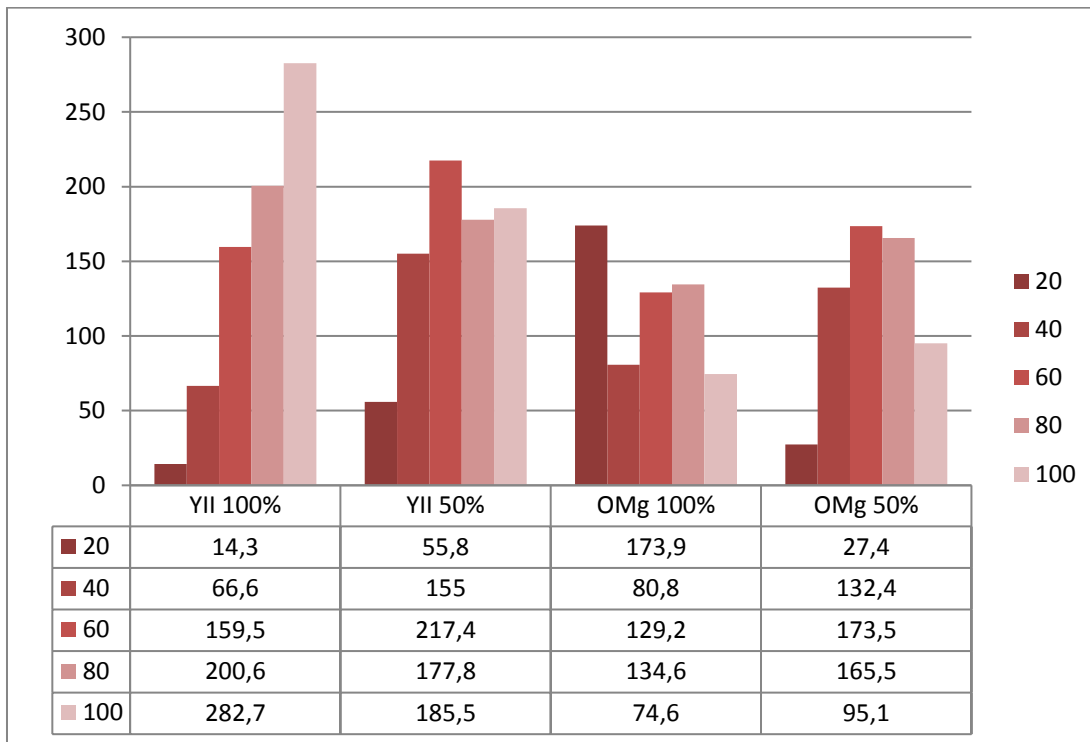
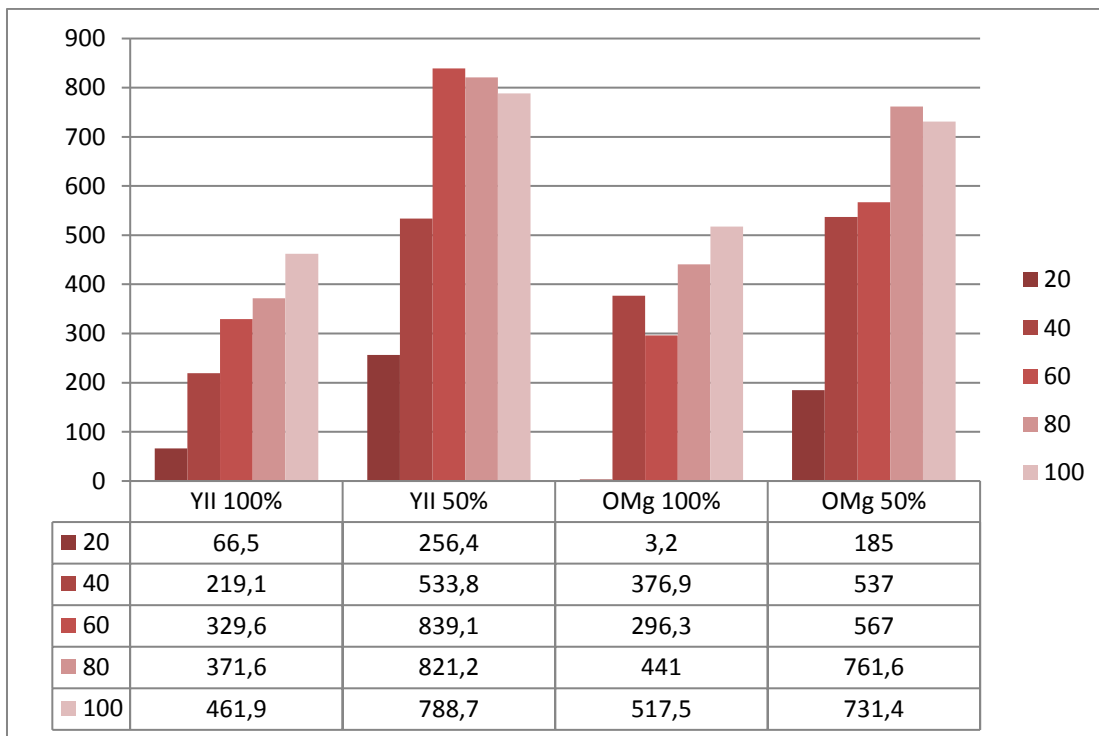


Abb. 3.5.8 Motorik

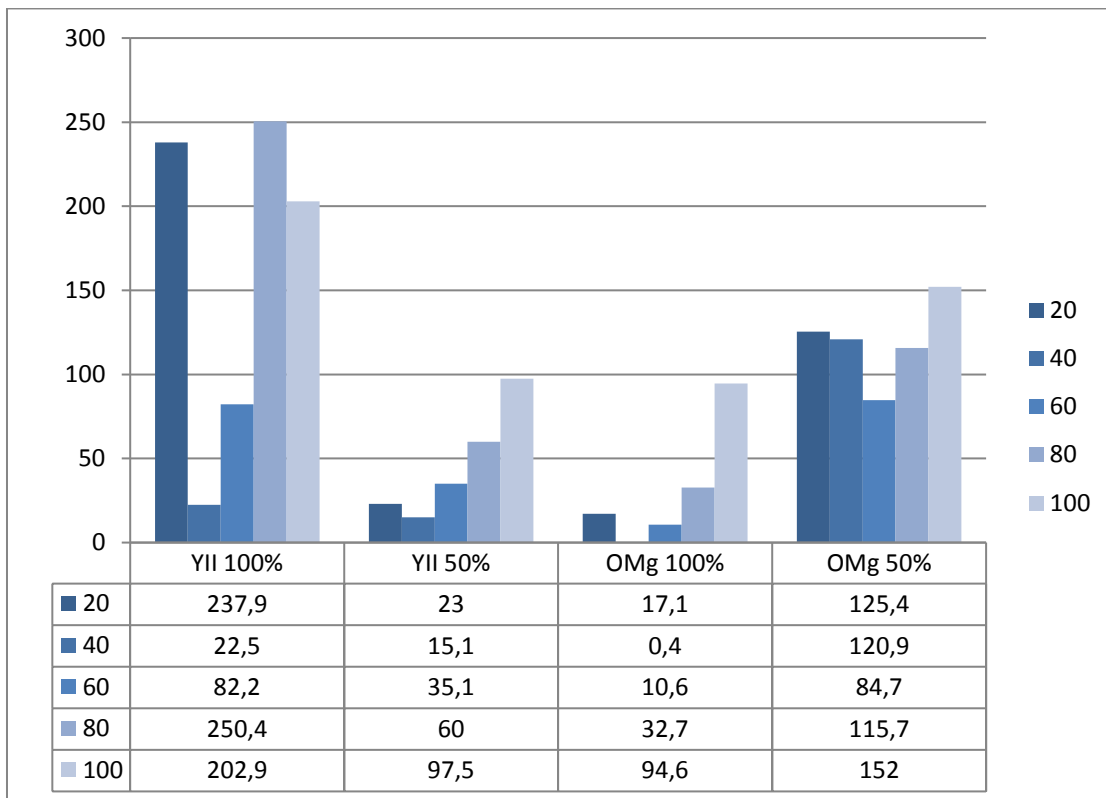


a) supragranulär

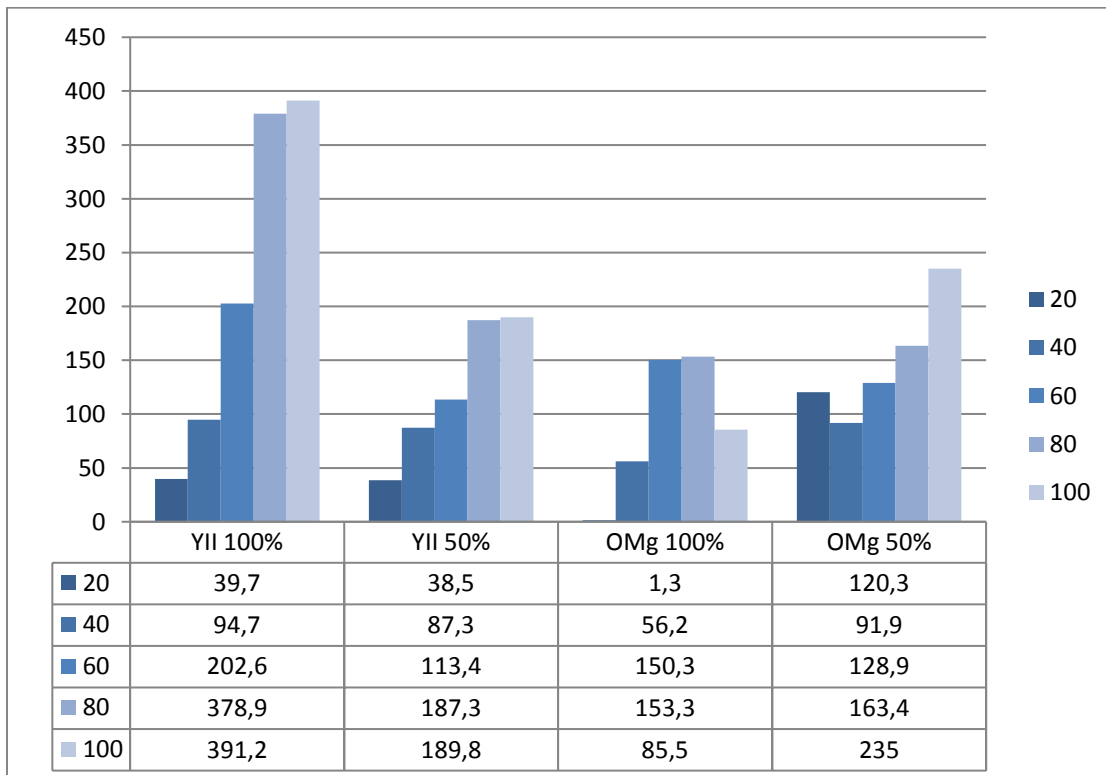


b) infragranulär

Abb. 3.5.9 sekundär-Somatosensorik:



a) supragranulär



b) infragranulär

3.6 Versuch 6

Abb. 3.6.1 a) Anordnung des Hirnschnitts in der Versuchskammer, FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale (FP), RE: Reizelektrode, b-f) Positionen des Dioden-Arrays (rote Punkte im Hirnschnitt) und Zuordnung zu den Rindenarealen. S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4

Abb. 3.6.2a-5a Ausschnitt aus den, zu den jeweiligen Dioden-Array-Positionen zugehörigen, Fluoreszenzaktivitäts-graphen, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Ansicht der Rindenareale sortiert von medial nach lateral. Zeiteichnung und Achsenskalierung siehe 3.6.2b-5b und 3.6.7a-h.

Abb. 3.6.2b-5b Originale der Fluoreszenzkurven (S1 s: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, supragranulär; S1/S2 s: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, supragranulär; S2a s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, supragranulär; S2b s: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 3, supragranulär; M1 s: primär-motorischer Kortex, Position 4, supragranulär; S1 i: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0, infragranulär; S1/S2 i: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1, infragranulär; S2a i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2, infragranulär; S2b i: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 3, infragranulär; M1 i: primär-motorischer Kortex, Position 4, infragranulär). Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizung. Dauer des gesamten Kurvenausschnittes 1300 ms.

Abb. 3.6.6a-d. Graphische Darstellung der Feldpotentiale, sortiert nach Versuchslösung (Yamamoto II, OMg) und Reizstärke (100%, 50%).

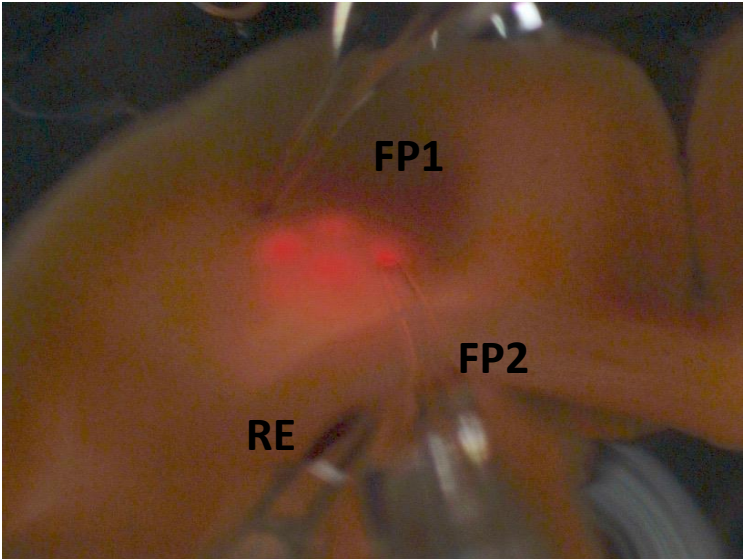
Abb. 3.6.7a-h Balkendiagramm-Übersicht der Graphen innerhalb der ersten 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%), Hirnrindenarealen (S1: primär-somatosensorischer Kortex, Position 0; S1/S2: Übergang primär-somatosensorischer zu sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 1; S2a: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 2; S2b: sekundär-somatosensorischer Kortex, Position 3; M1: primär-motorischer Kortex, Position 4) und supragranulärer (s) und infragranulärer (i) Schicht derselbigen. Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.6.8 a) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der supragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg), b) Graphische Übersicht der motorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg). Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit

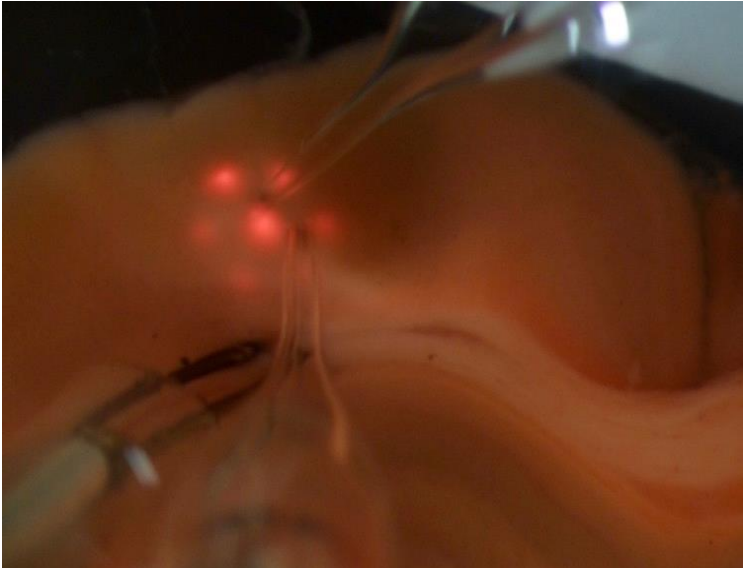
entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

Abb. 3.6.9 Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg),
b) Graphische Übersicht der sekundär-somatosensorischen Aktivitätszustände der infragranulären Schicht innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung, sortiert nach Reizstärke (100%, 50%) und Versuchslösung (Yamamoto II, OMg).
Aussage über die Reizantwort (Amplitudenschwankungen) innerhalb 20, 40, 60, 80, 100 ms nach Reizauslösung ausschließlich bezogen auf die jeweilige Versuchslösung mit entsprechender Reizstärke. Änderung der Fluoreszenzaktivität in Promille zur Ausgangsaktivität.

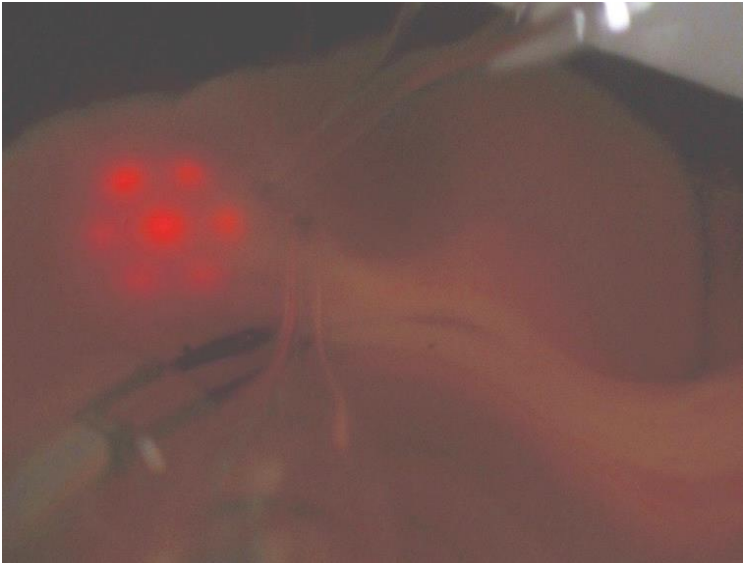
Abb. 3.6.1



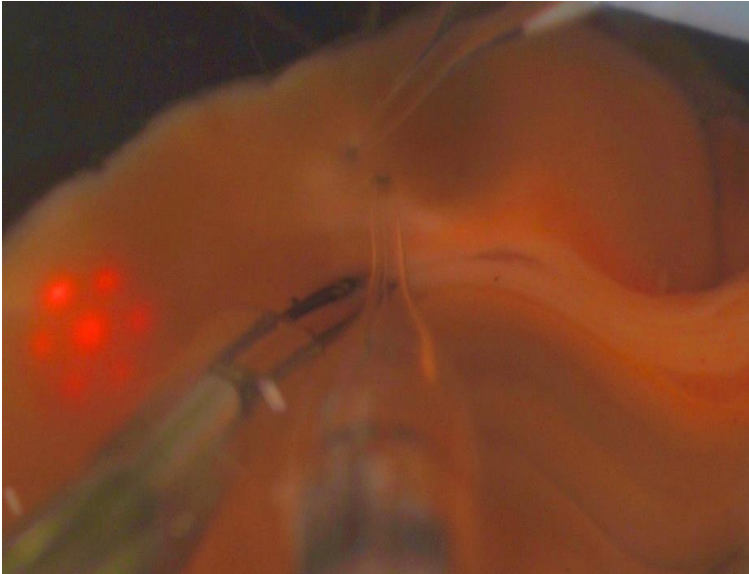
a: Versuchsaufbau



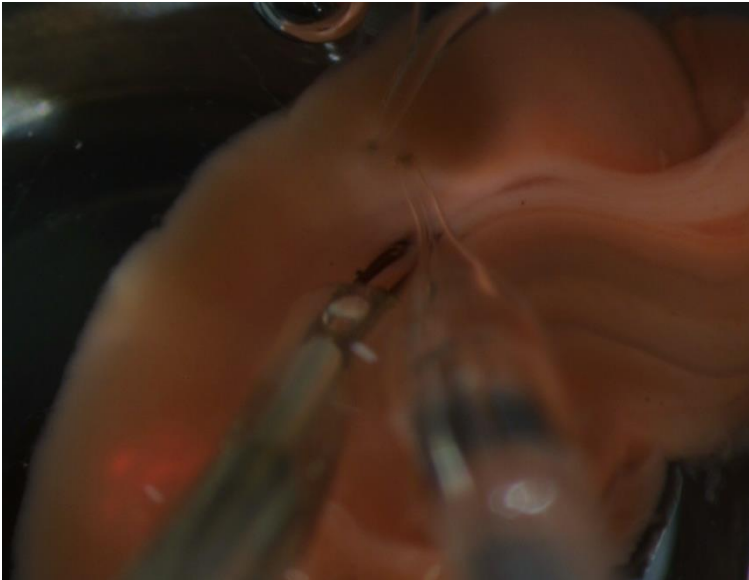
b: Position 0: S1



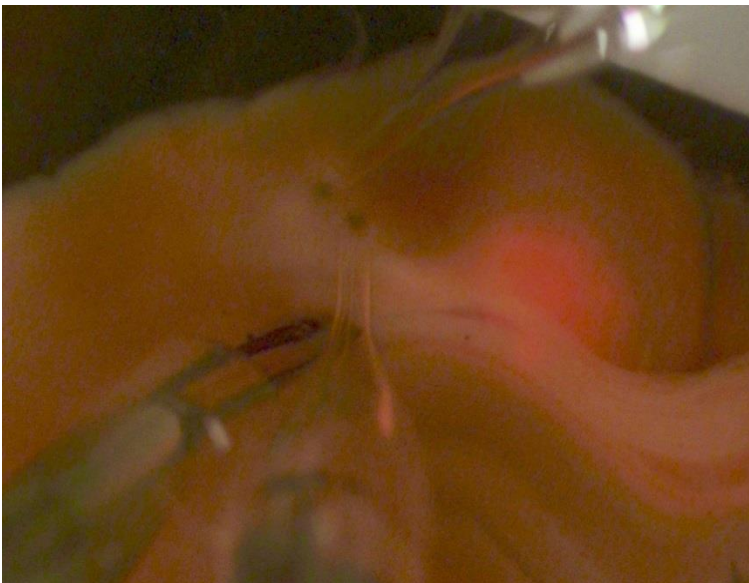
c: Position 1: S1/S2



d: Position 2: S2a



e: Position 3: S2b



f: Position 4: M1

Abb. 3.6.2a YII 100%

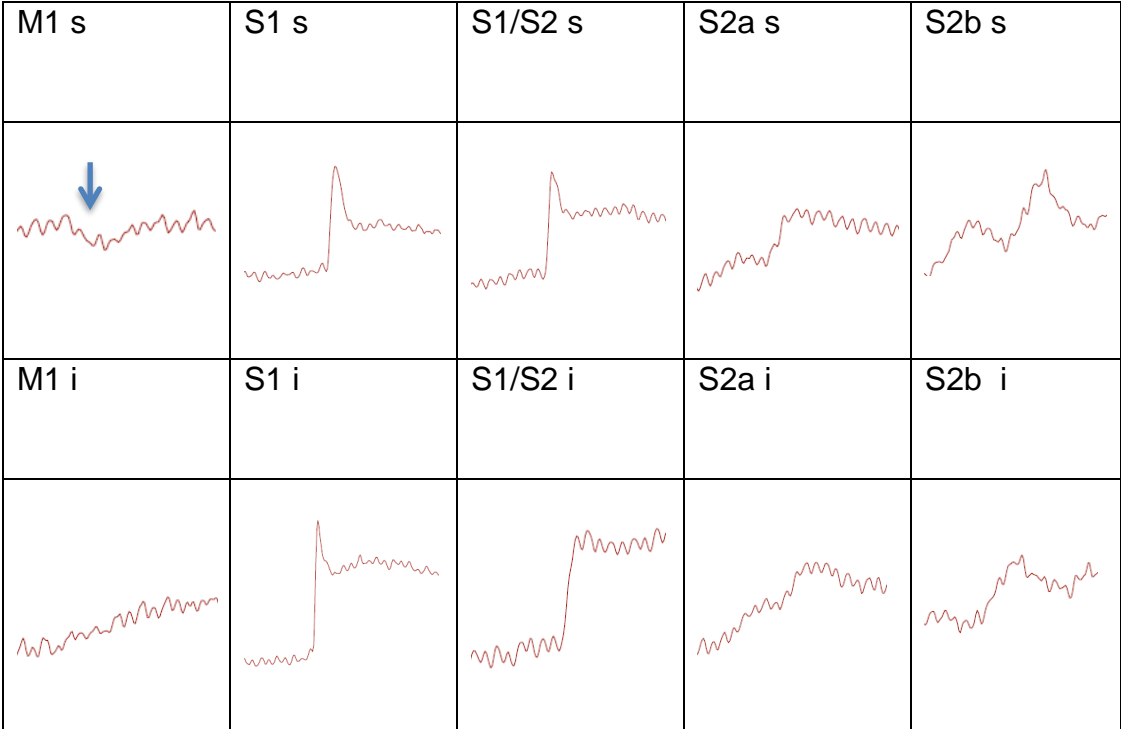
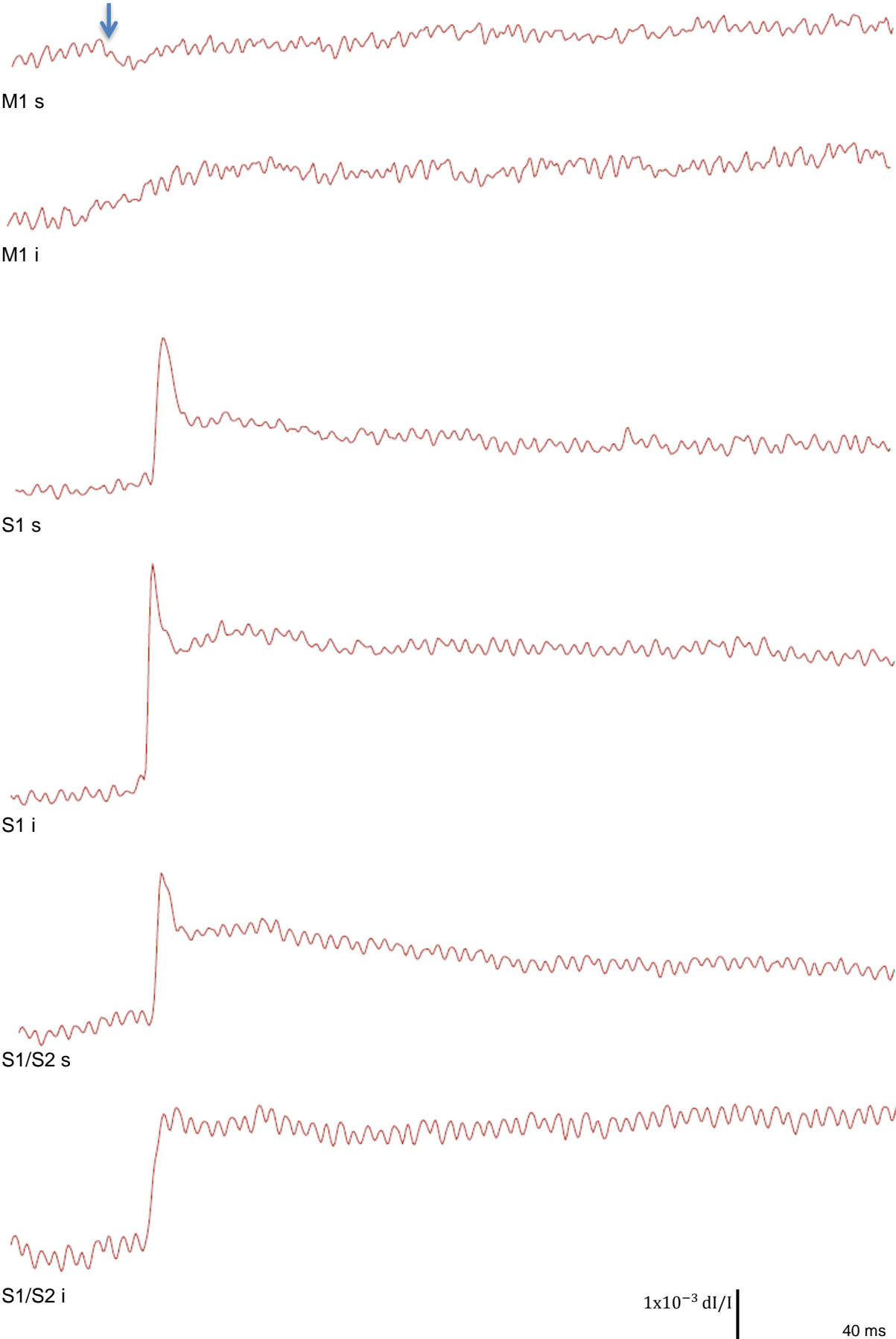
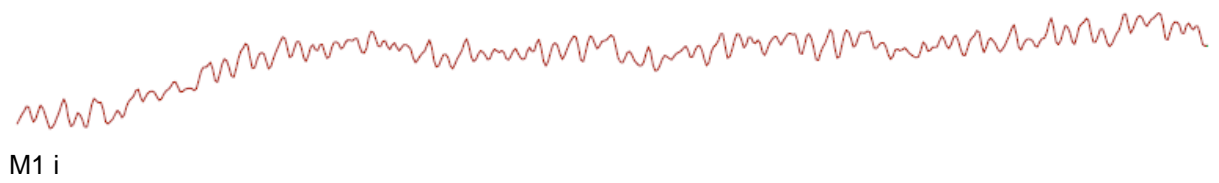
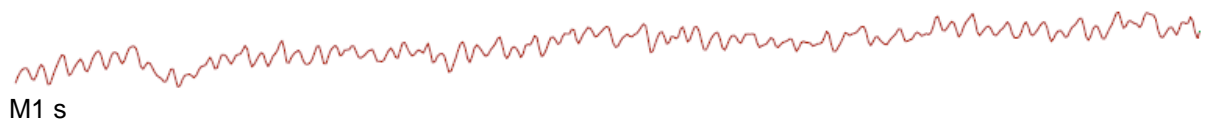
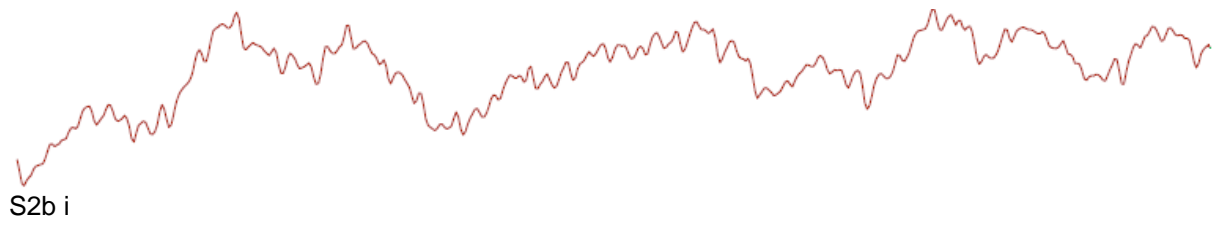
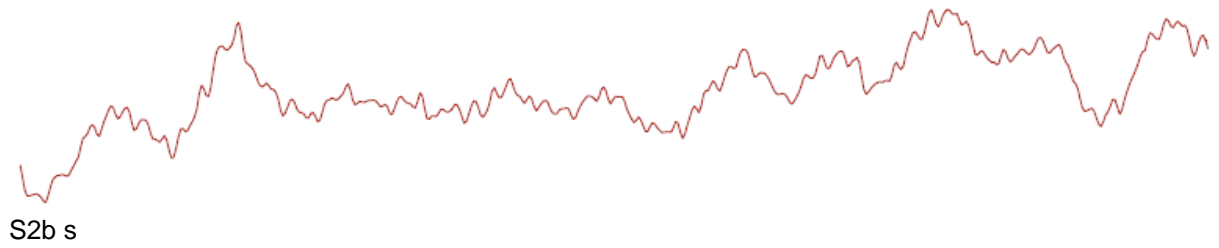
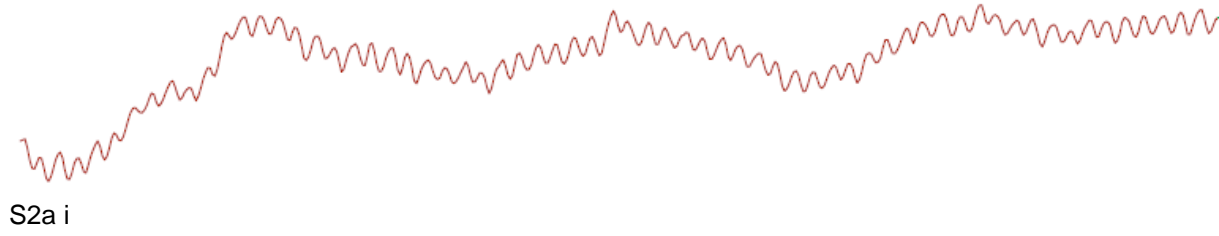
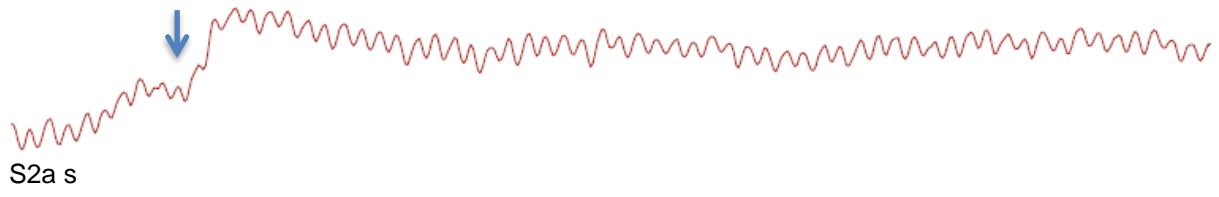


Abb. 3.6.2b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.2a





$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms

Abb. 3.6.3a YII 50%

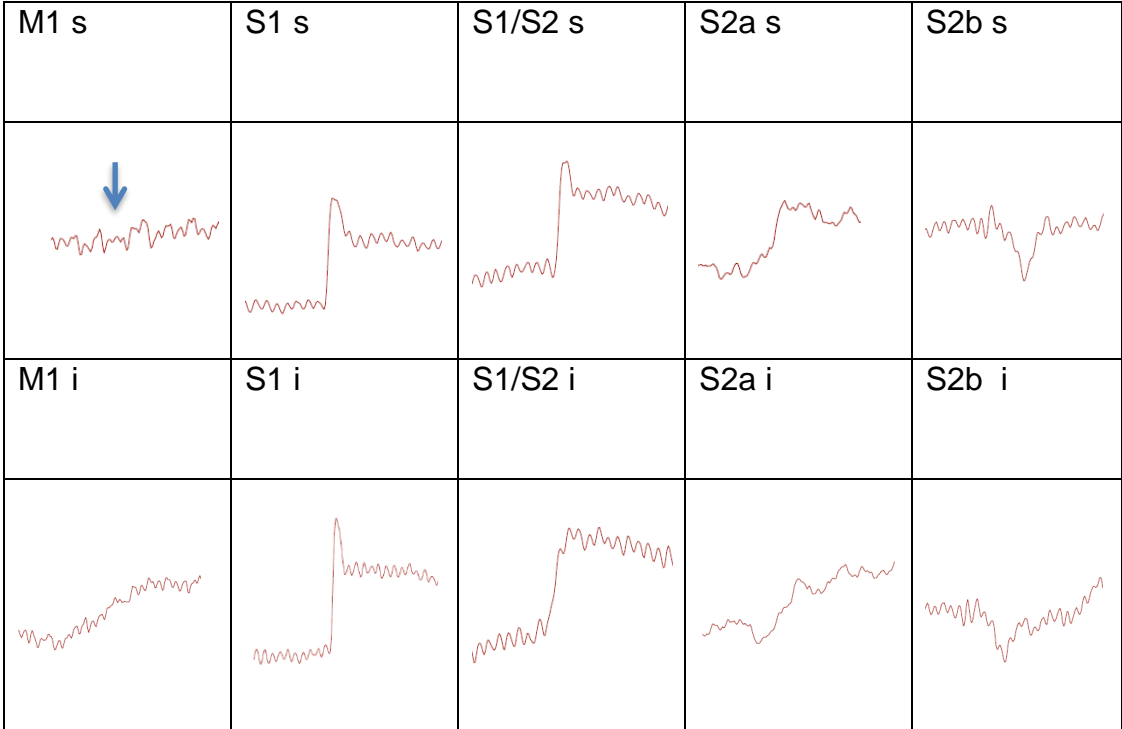
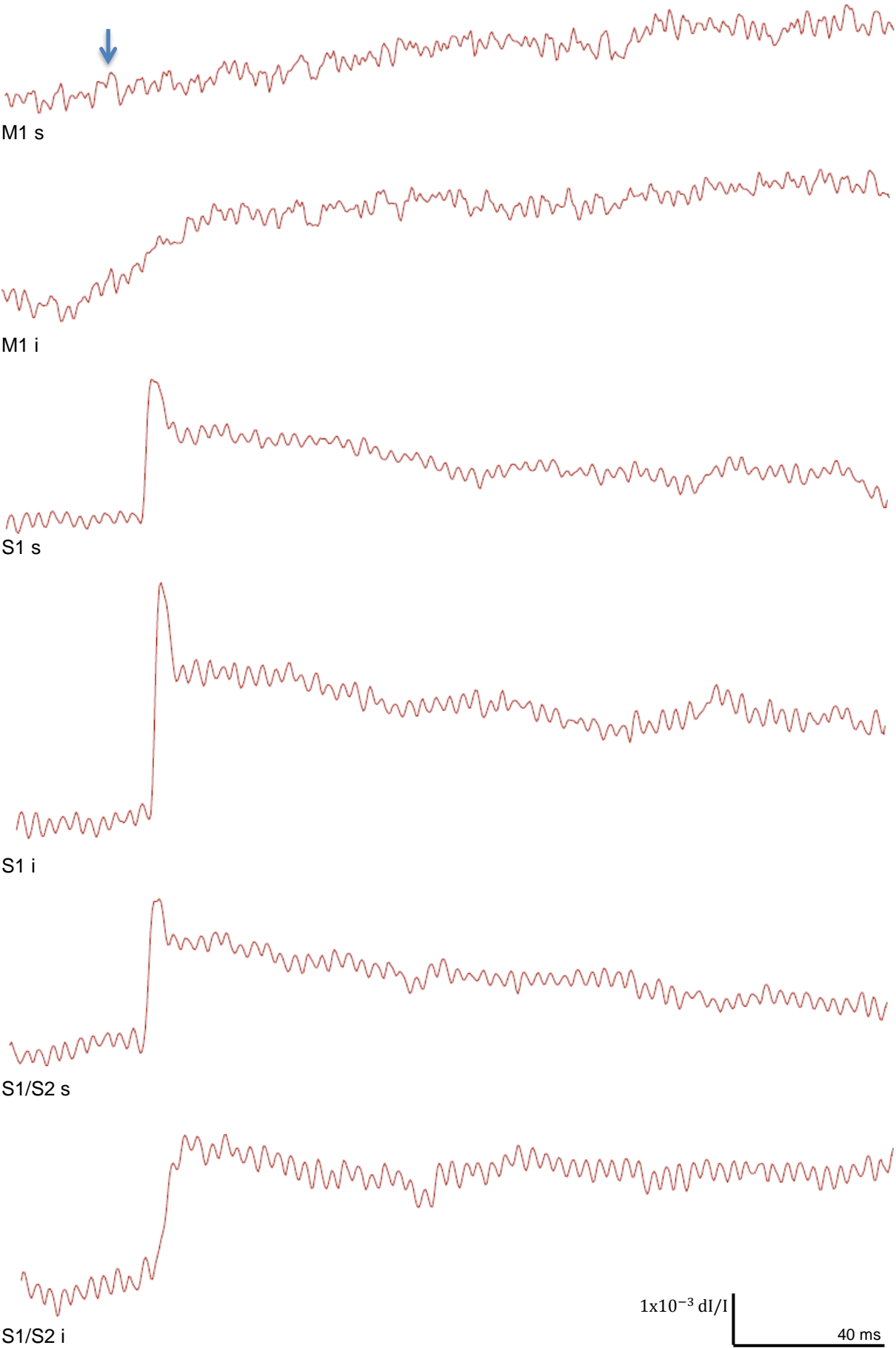
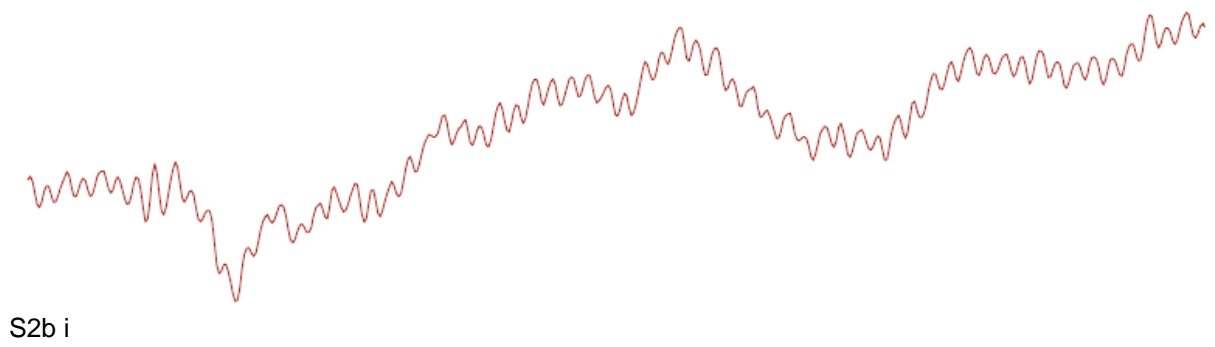
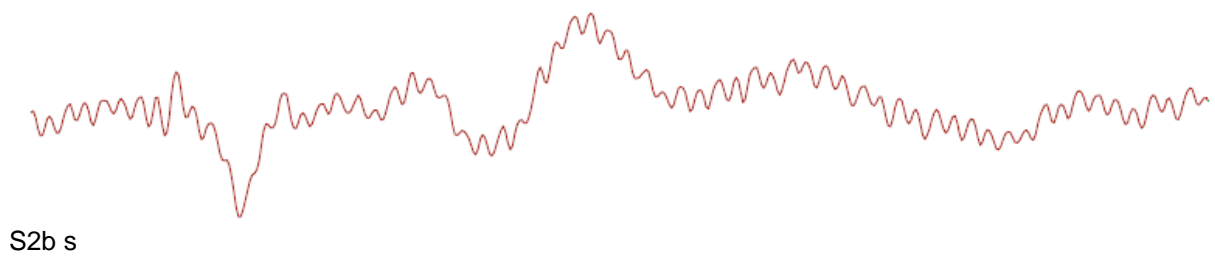
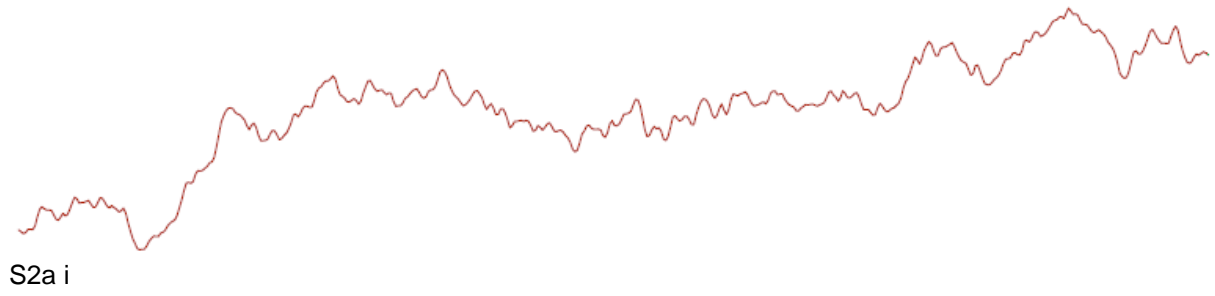
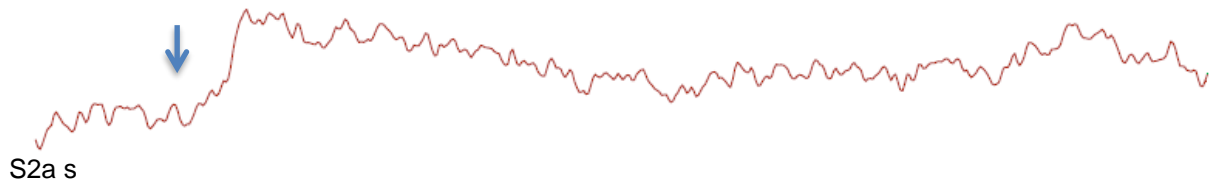


Abb. 3.6.3b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.3a





$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms

Abb. 3.6.4a OMg, 100%

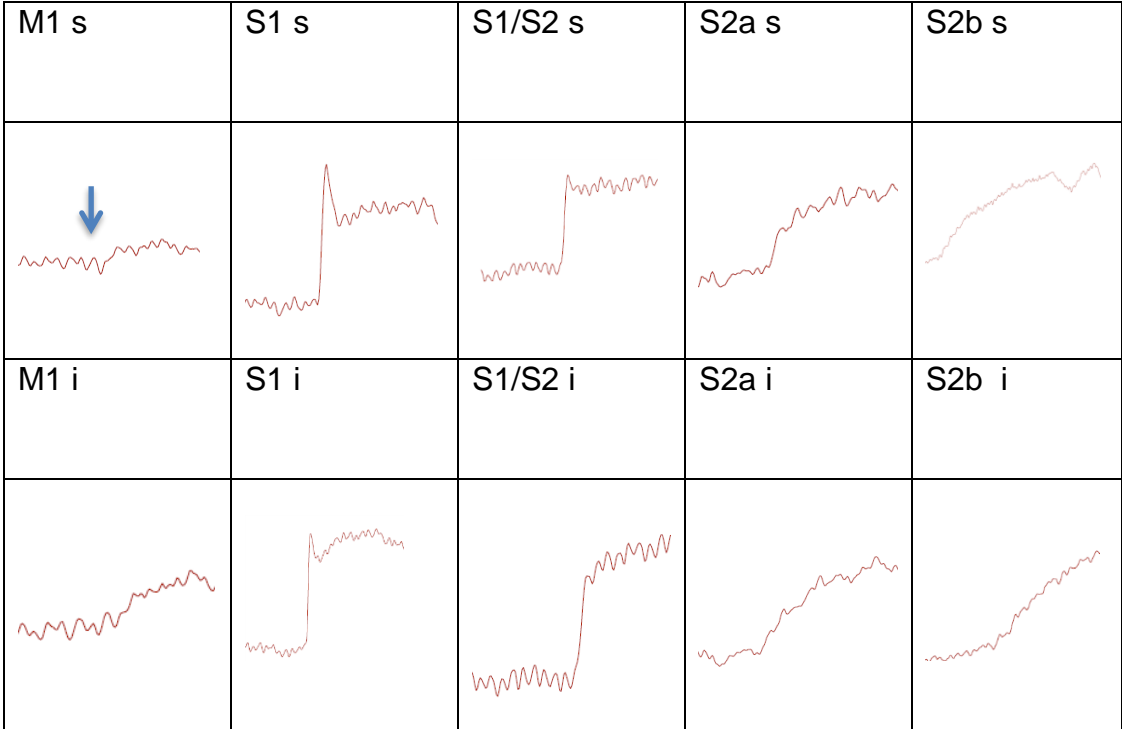
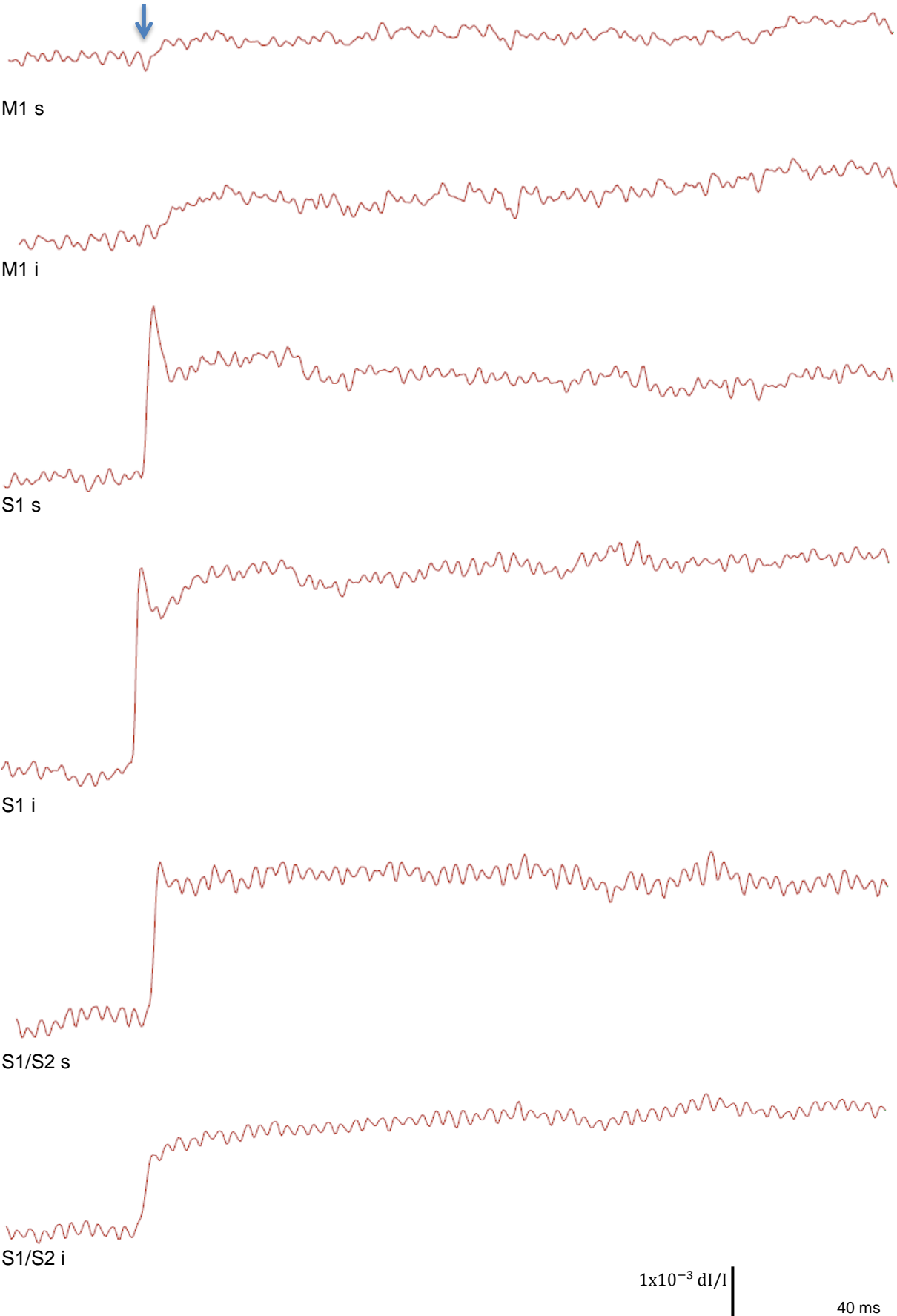
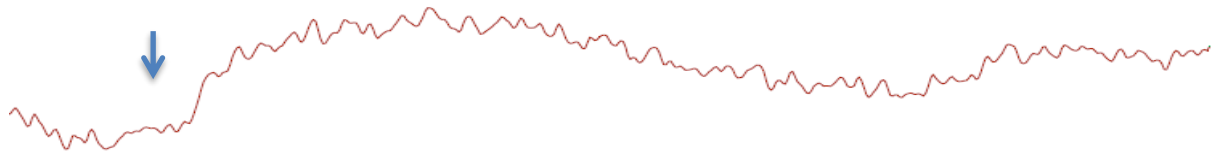
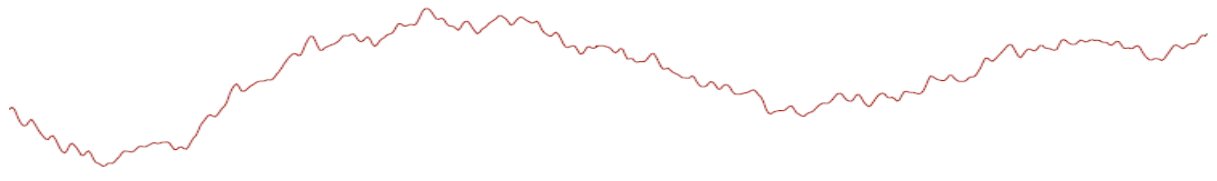


Abb. 3.6.4b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.4a

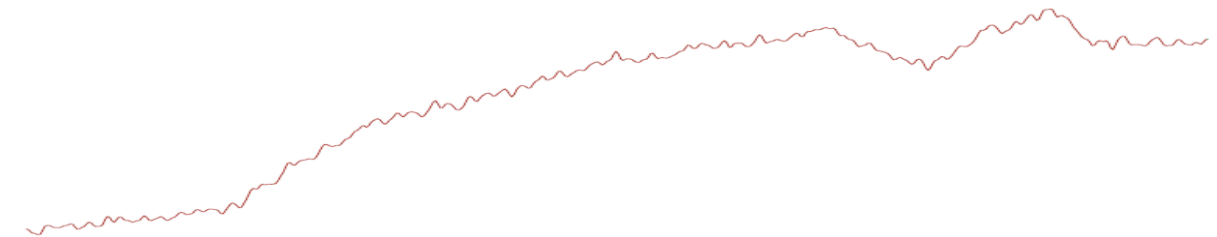




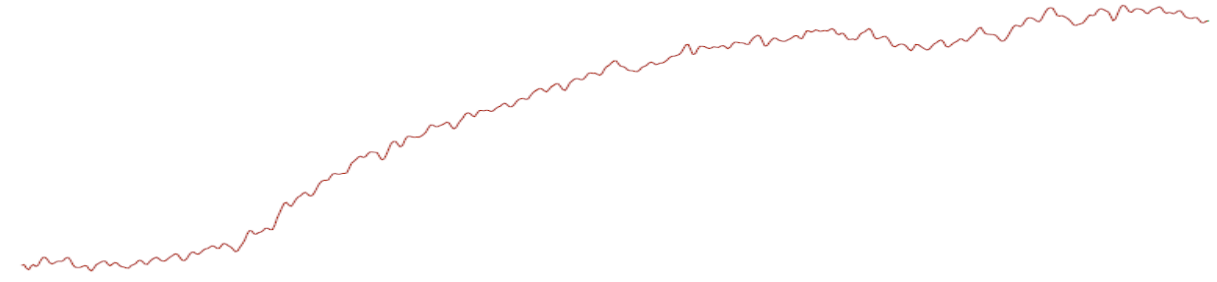
S2a s



S2a i



S2b s



S2b i



Abb. 3.6.5a OMg, 50%

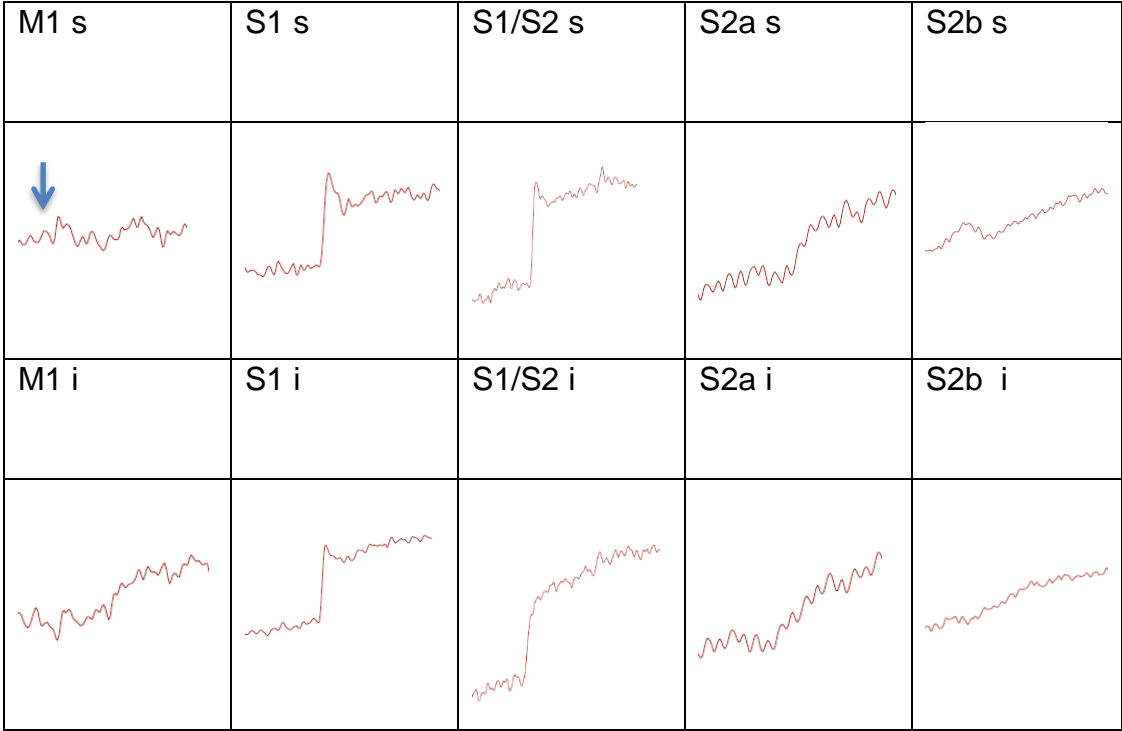
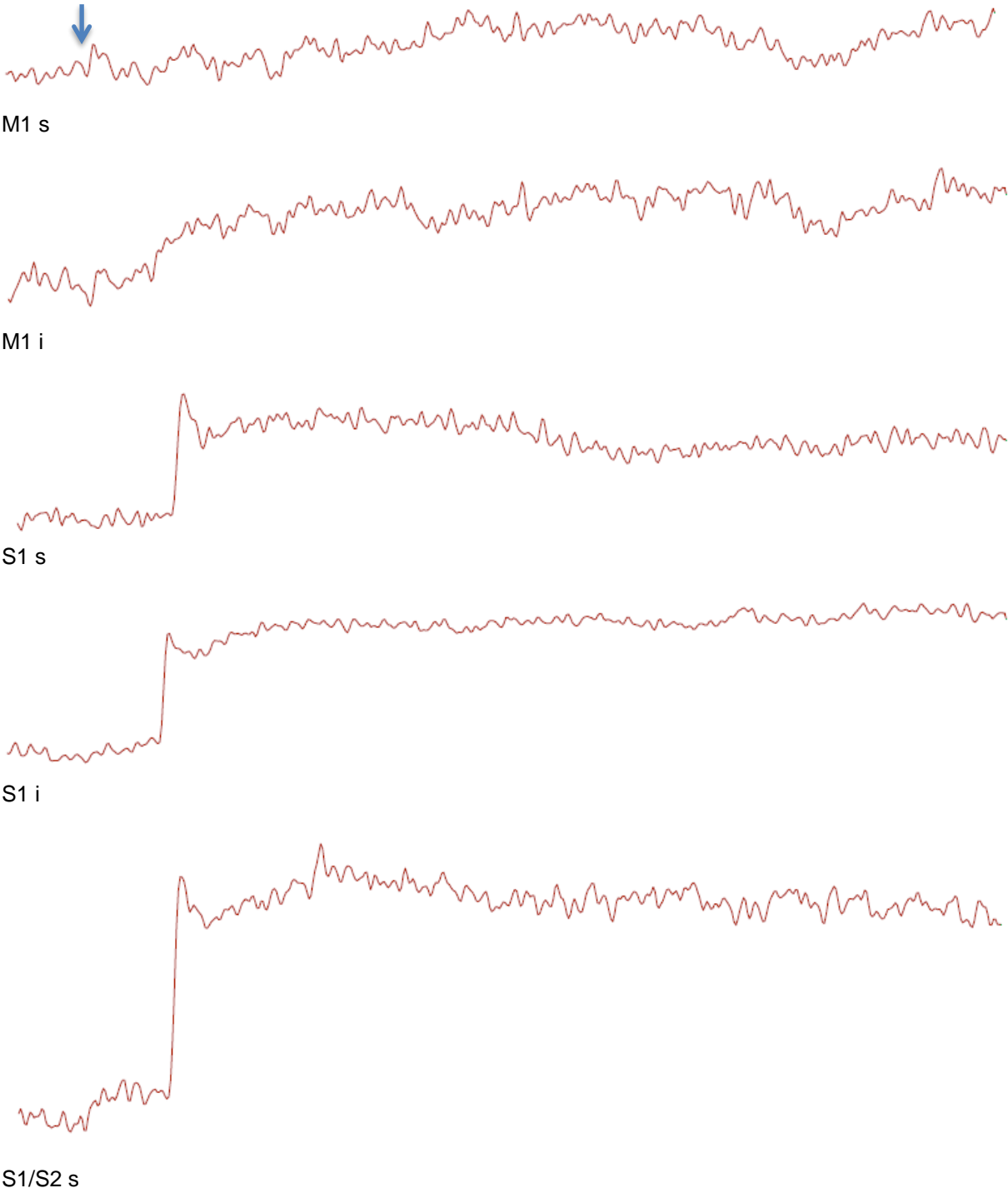
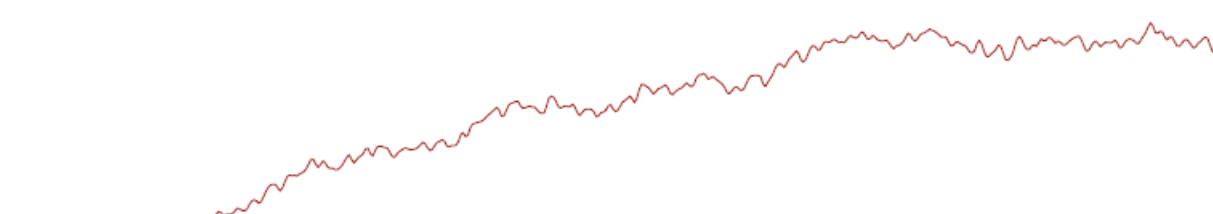
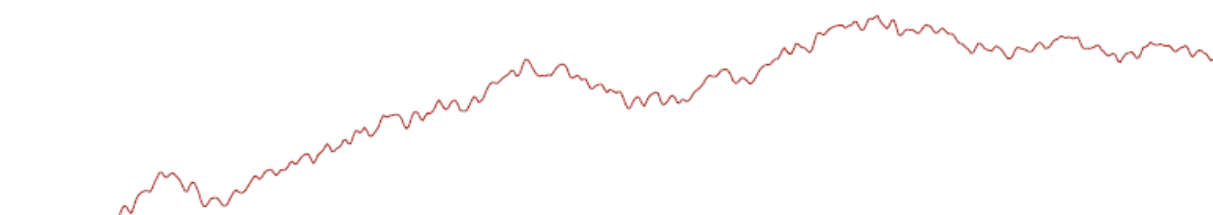
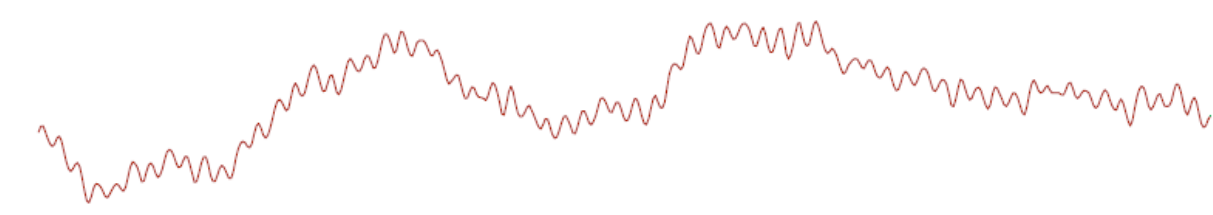
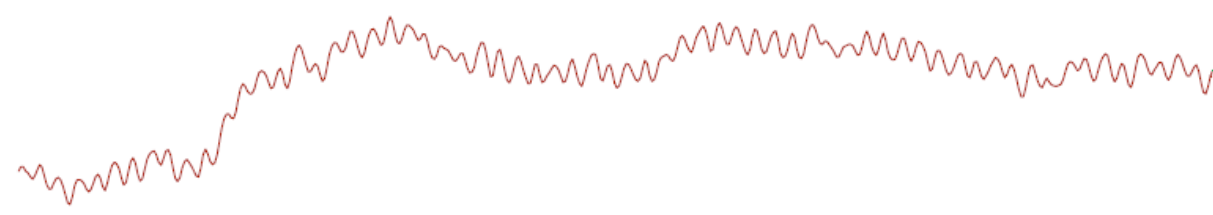
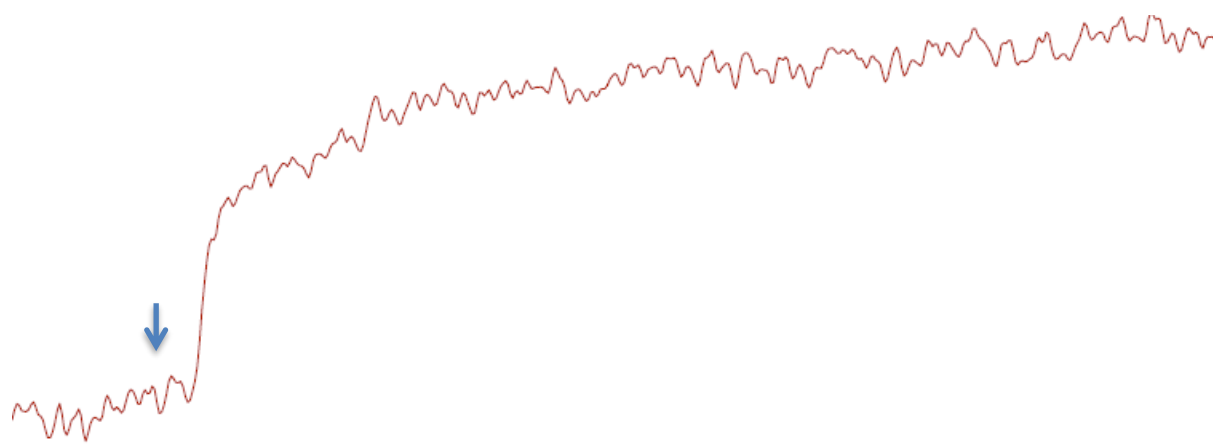


Abb. 3.6.5b Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.5a

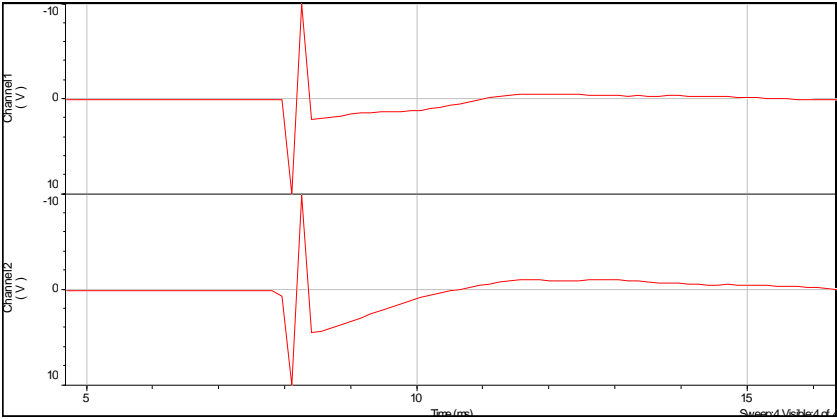


$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ | 40 ms

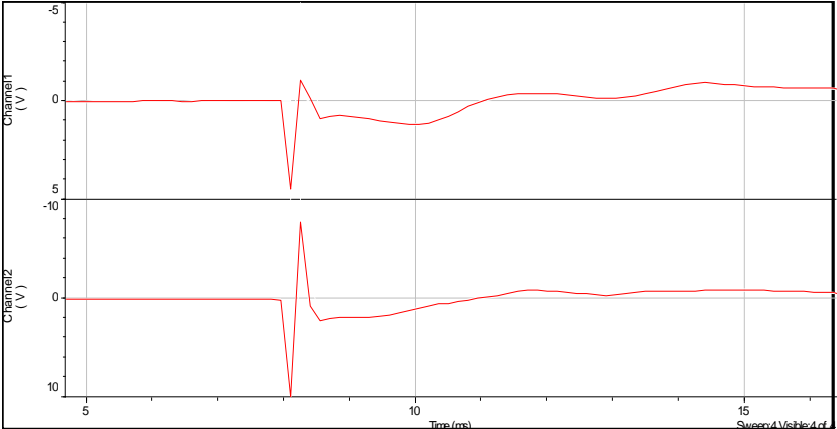


$1 \times 10^{-3} \text{ dI/I}$ |
40 ms

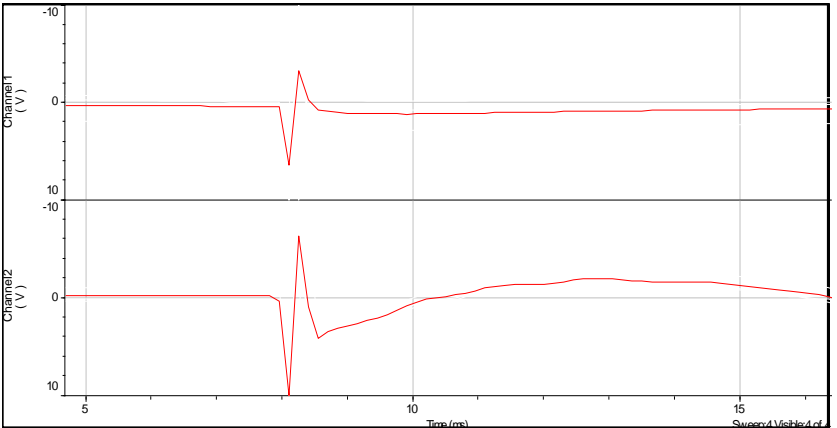
Abb. 3.6.6 Feldpotentiale



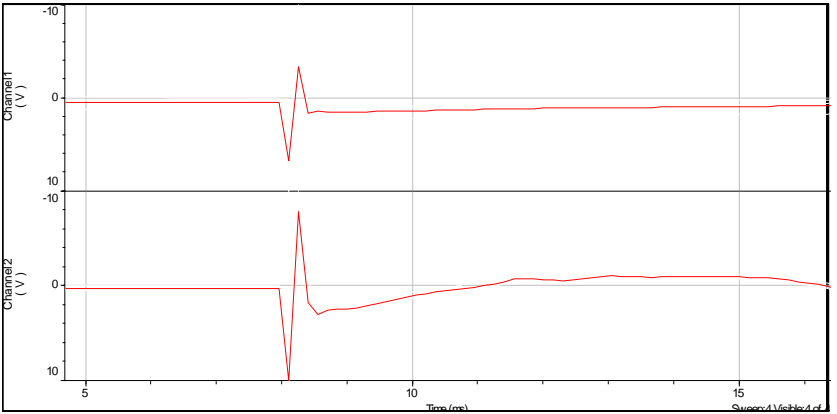
a: YII, 100%



b: YII, 50%



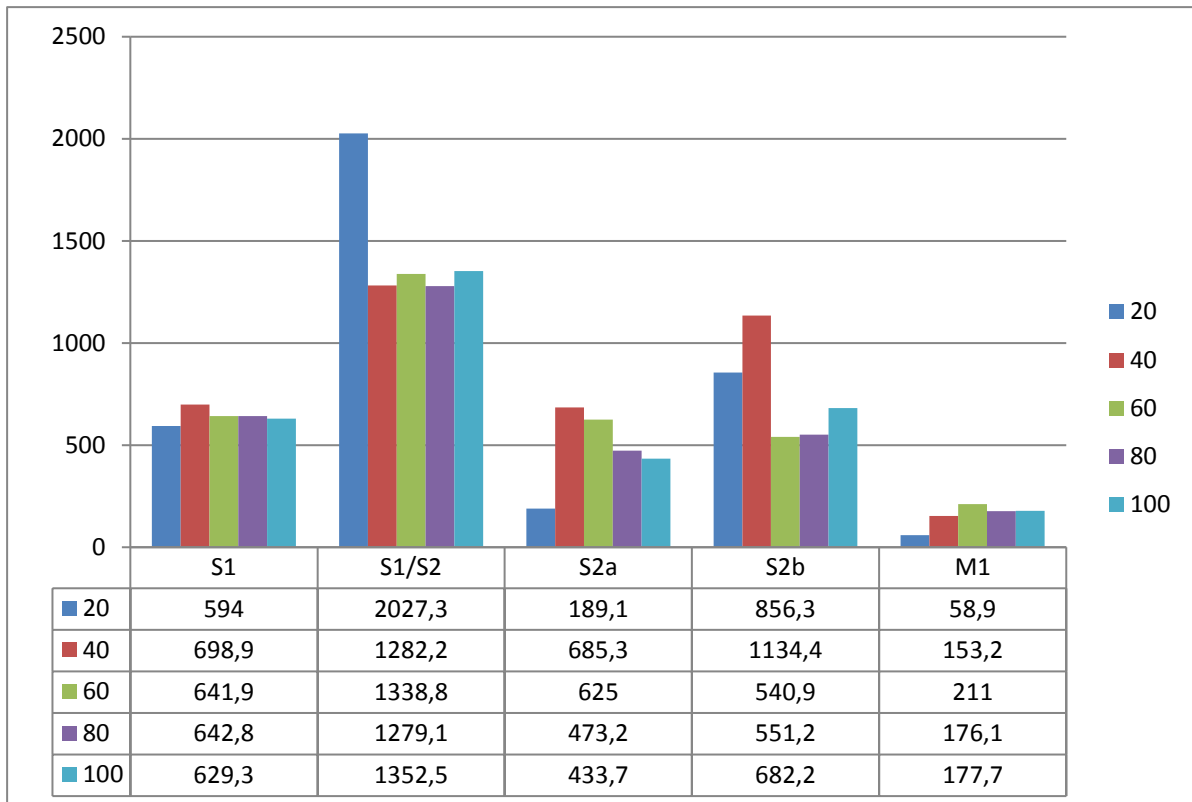
c: OMg, 100%



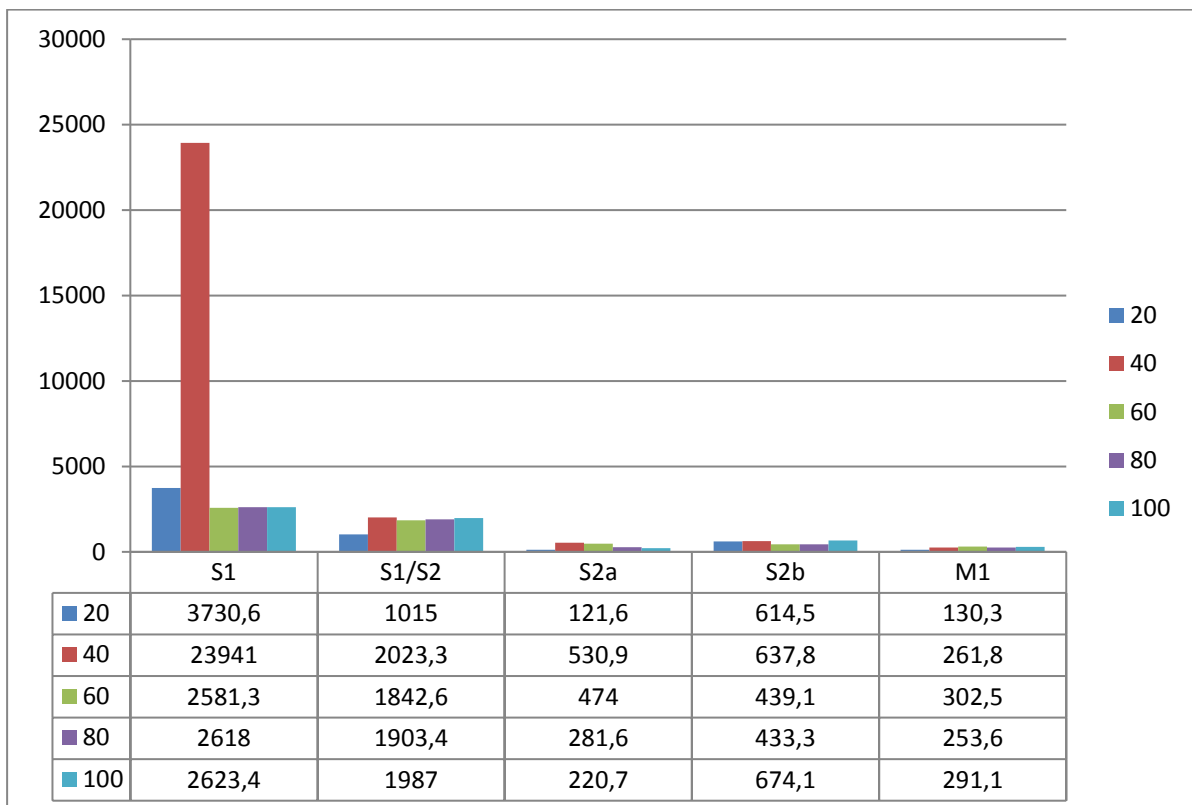
d: OMg, 50%

Abb. 3.6.7

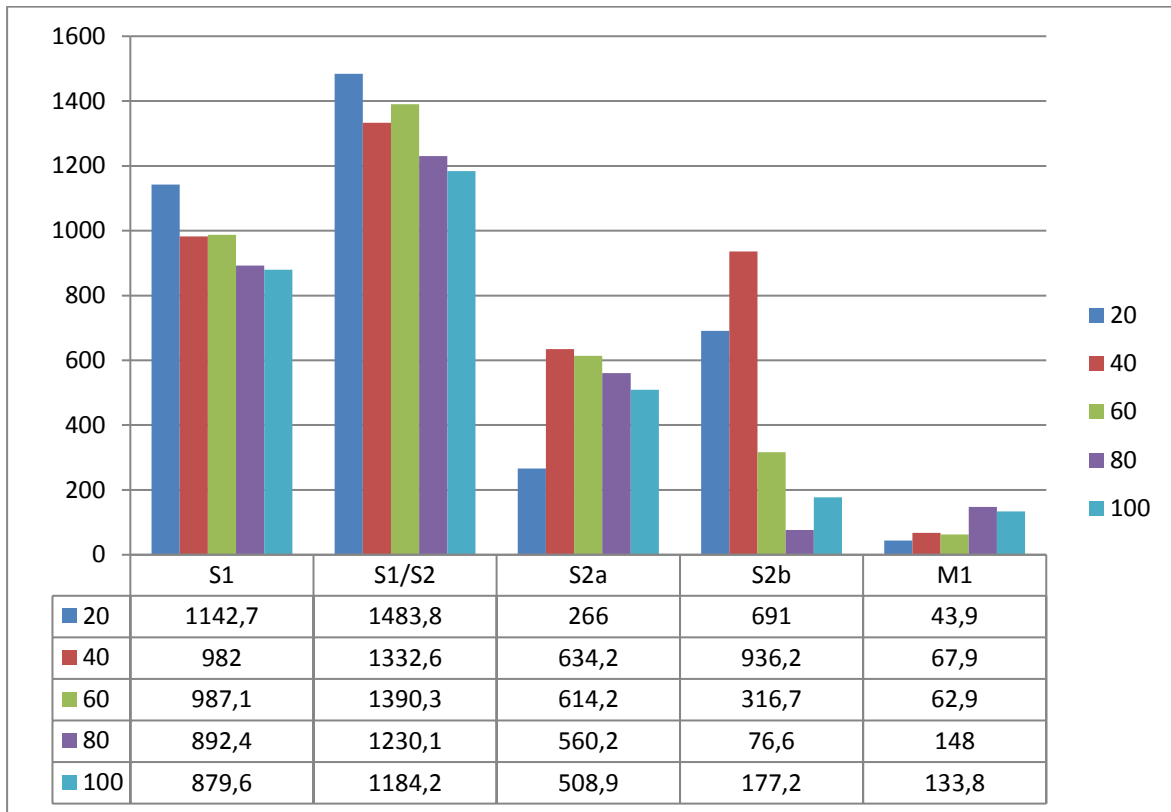
a) Yamamoto II, 100%, supragranulär



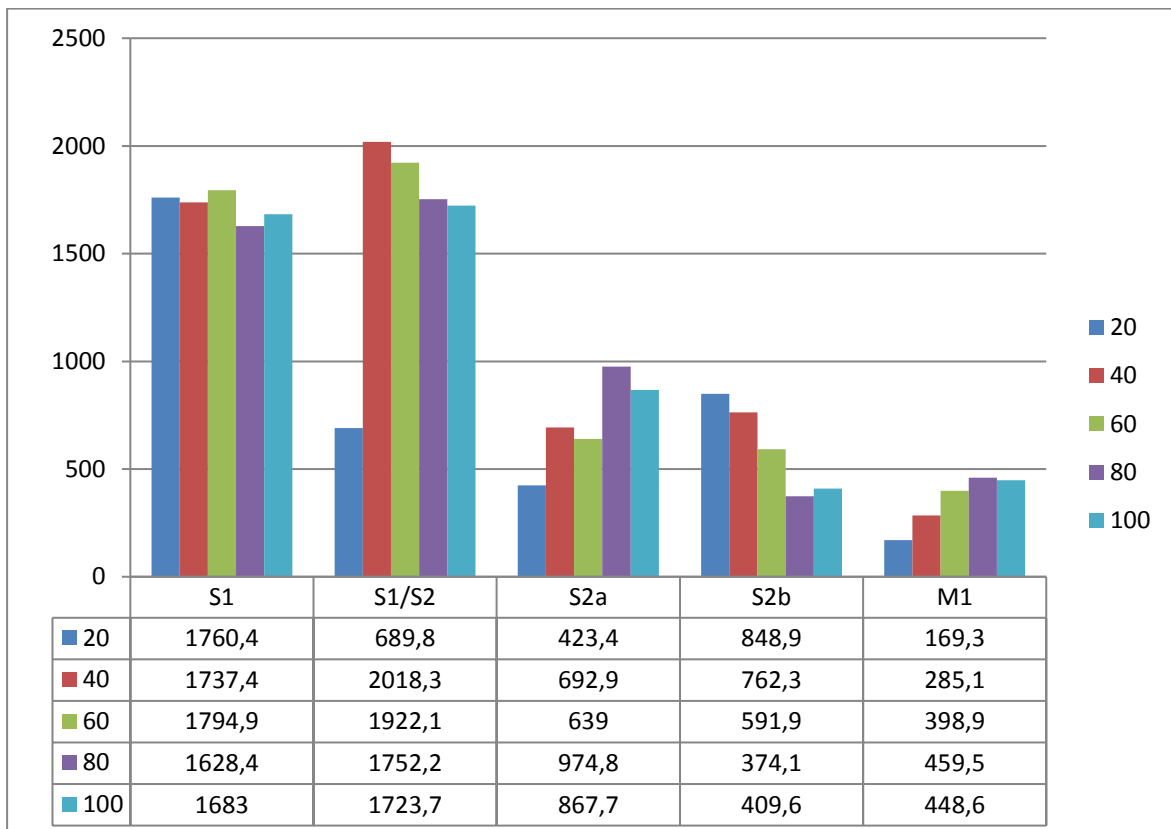
b) Yamamoto II, 100%, infragranulär



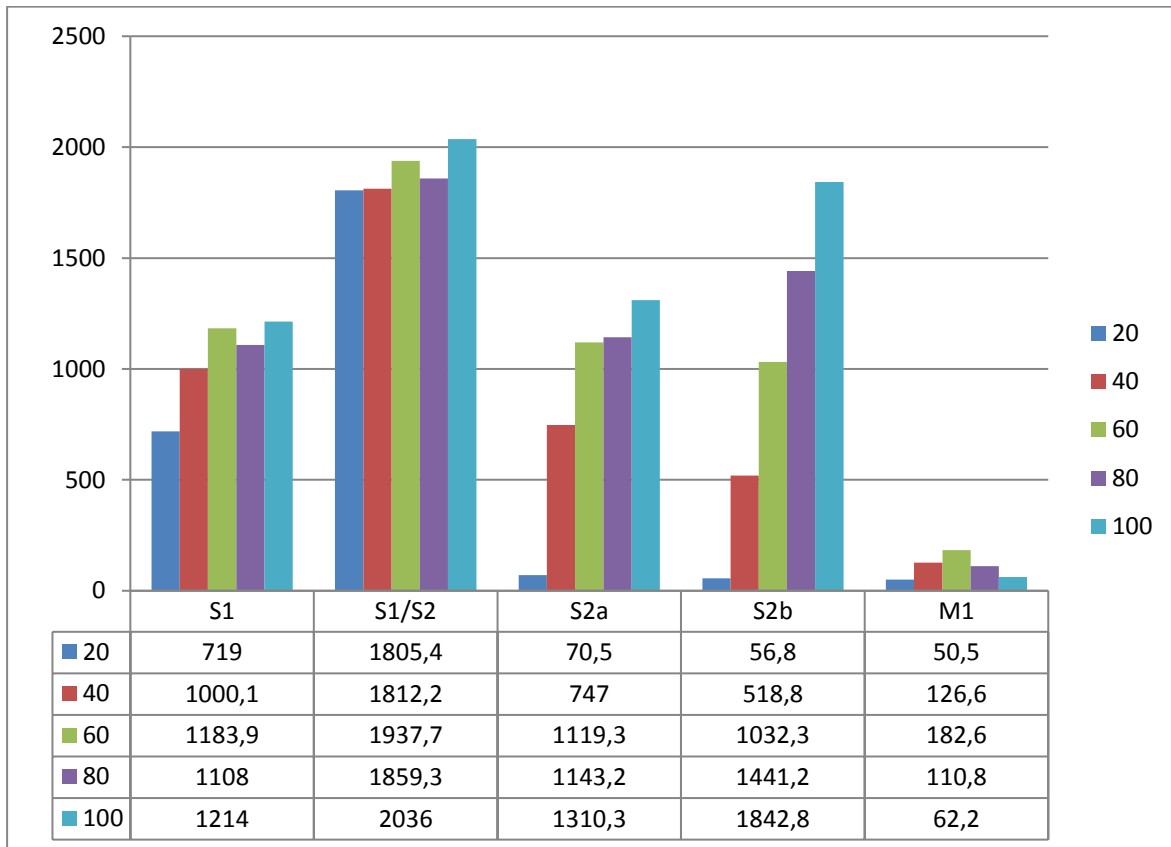
c) Yamamoto II, 50%, supragranulär:



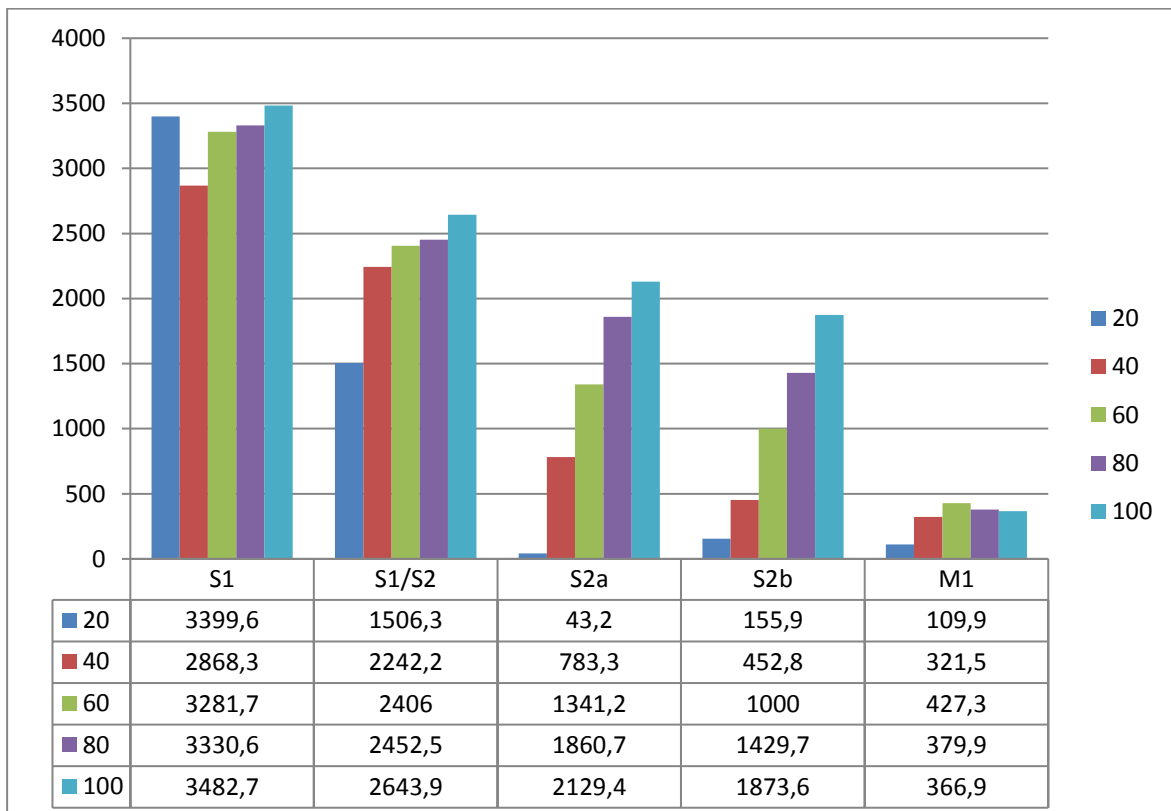
d) Yamamoto II, 50%, infragranulär



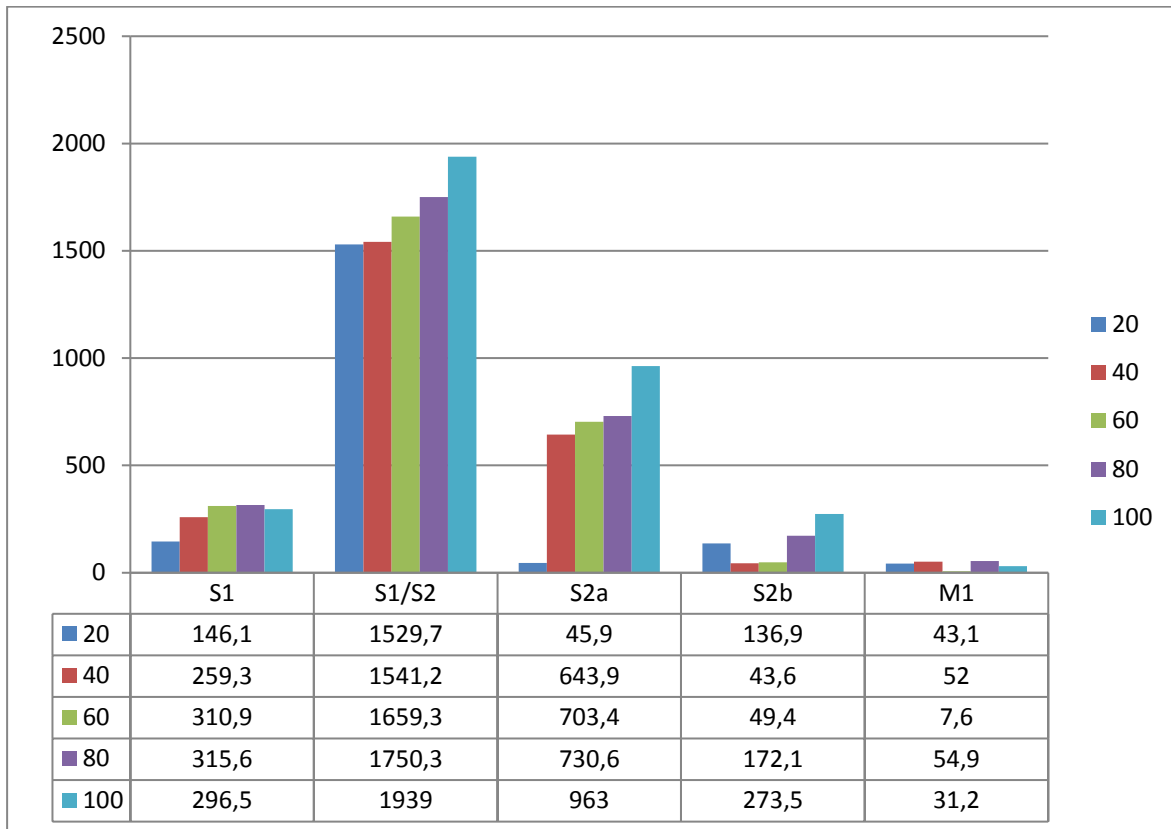
e) OMg, 100%, supragranulär



f) OMg, 100%, infragranulär



g) OMg, 50%, supragranulär



h) OMg, 50%, infragranulär

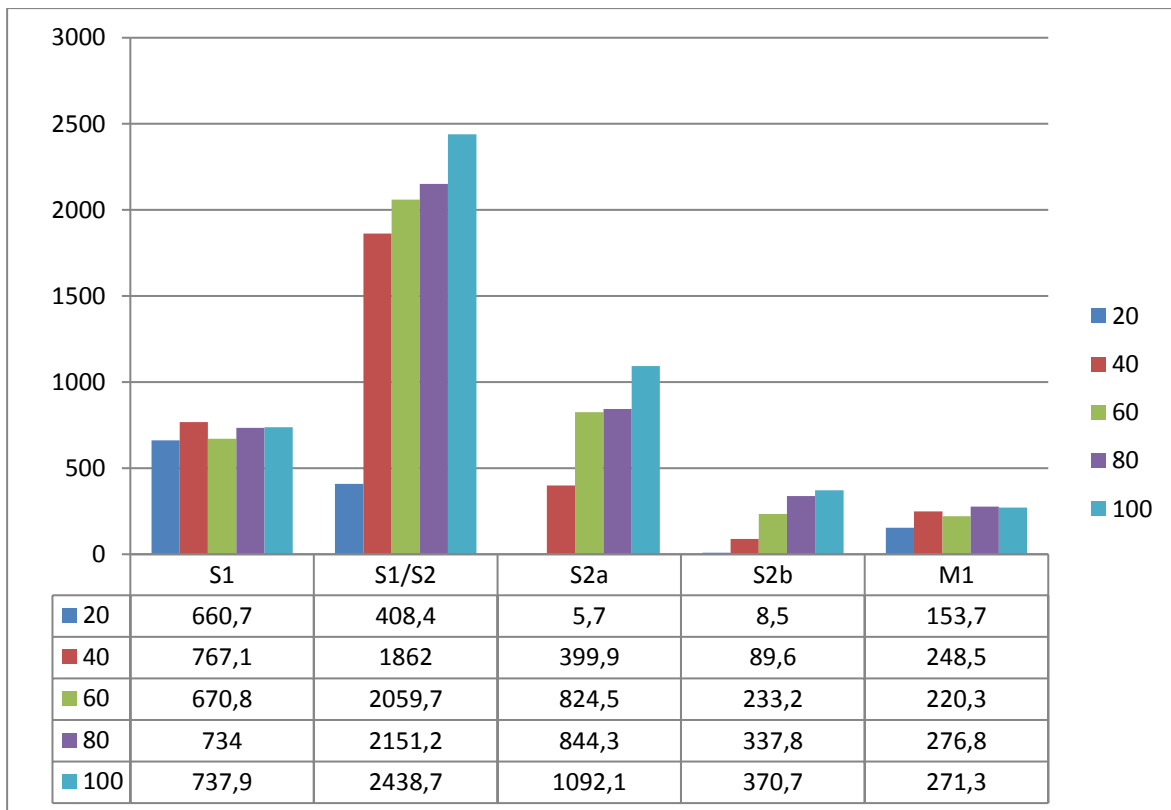
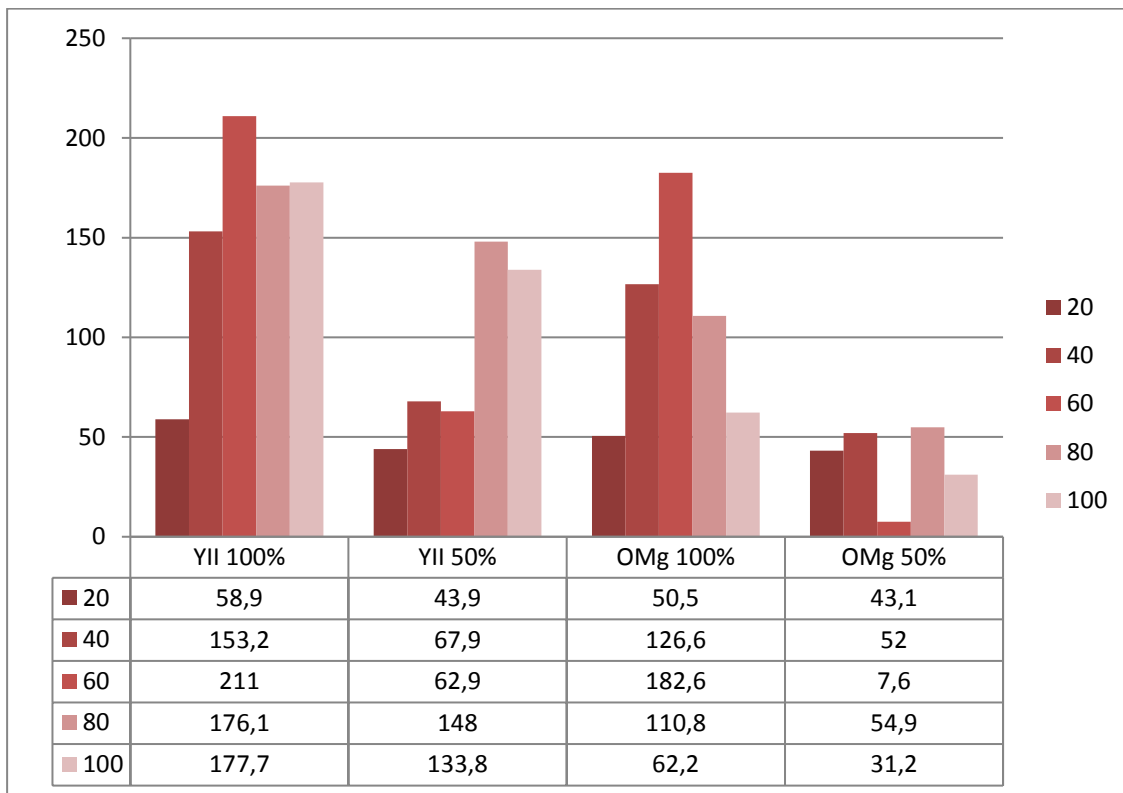
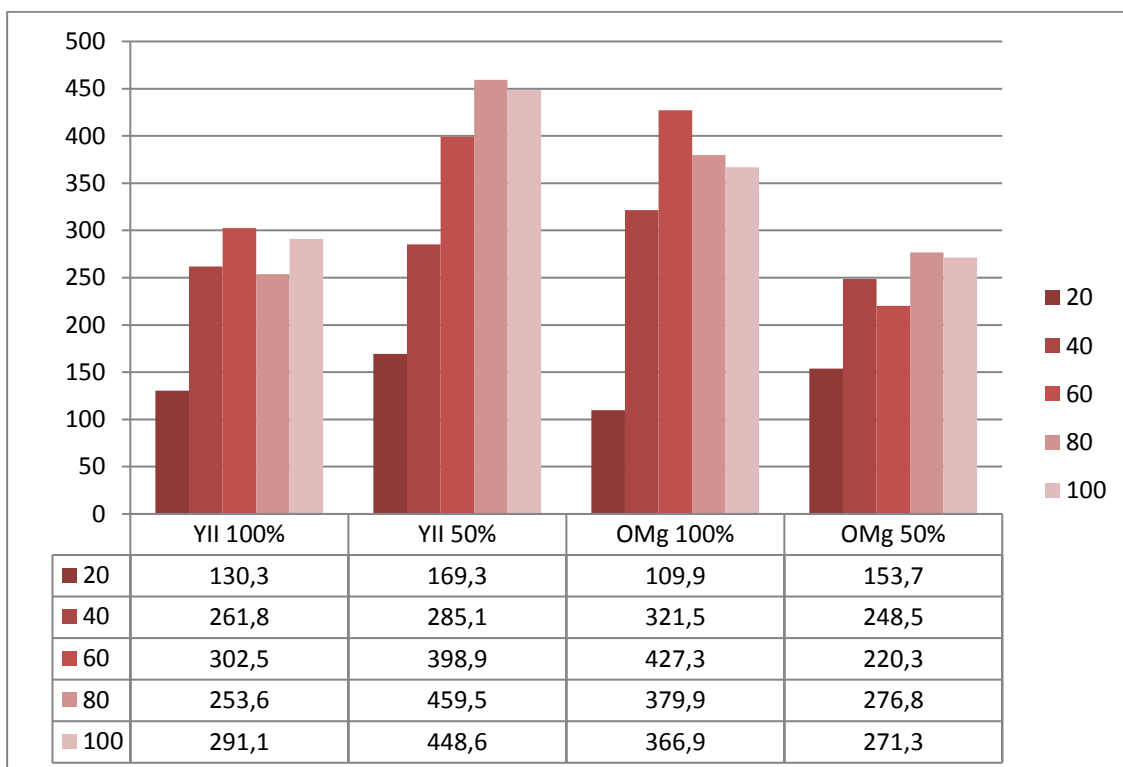


Abb. 3.6.8 Motorik

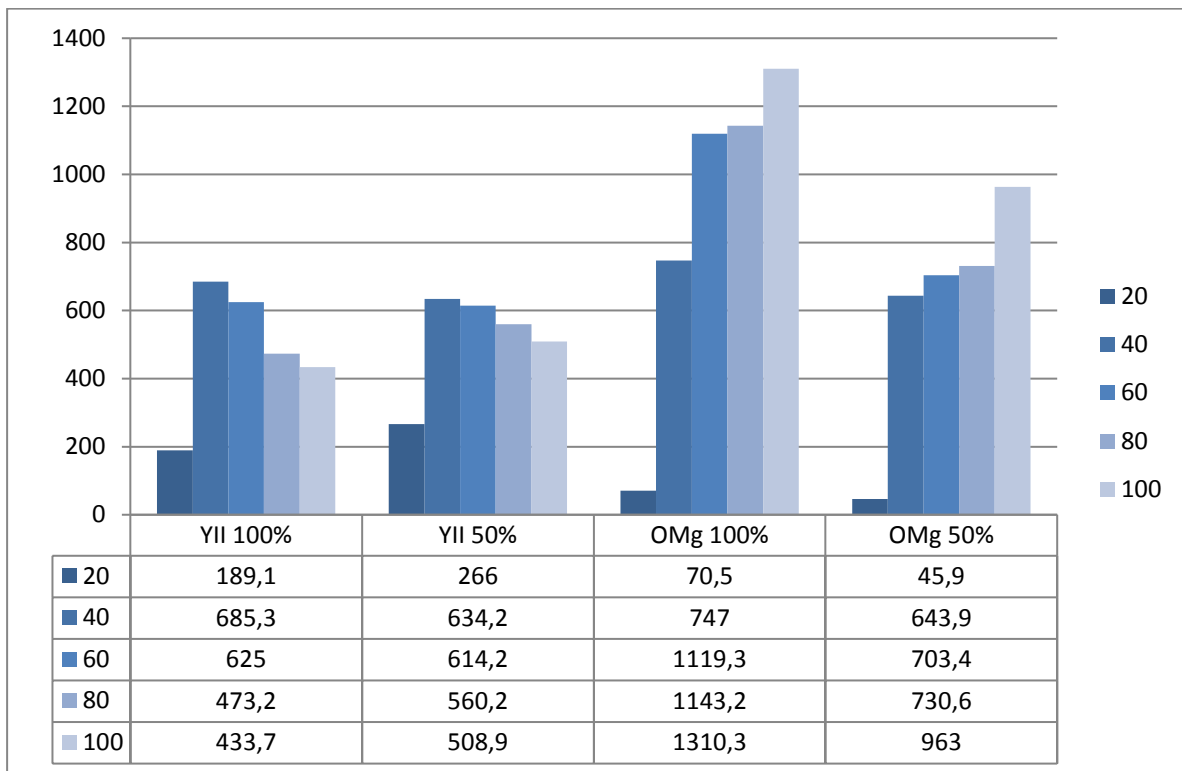


a) supragranulär

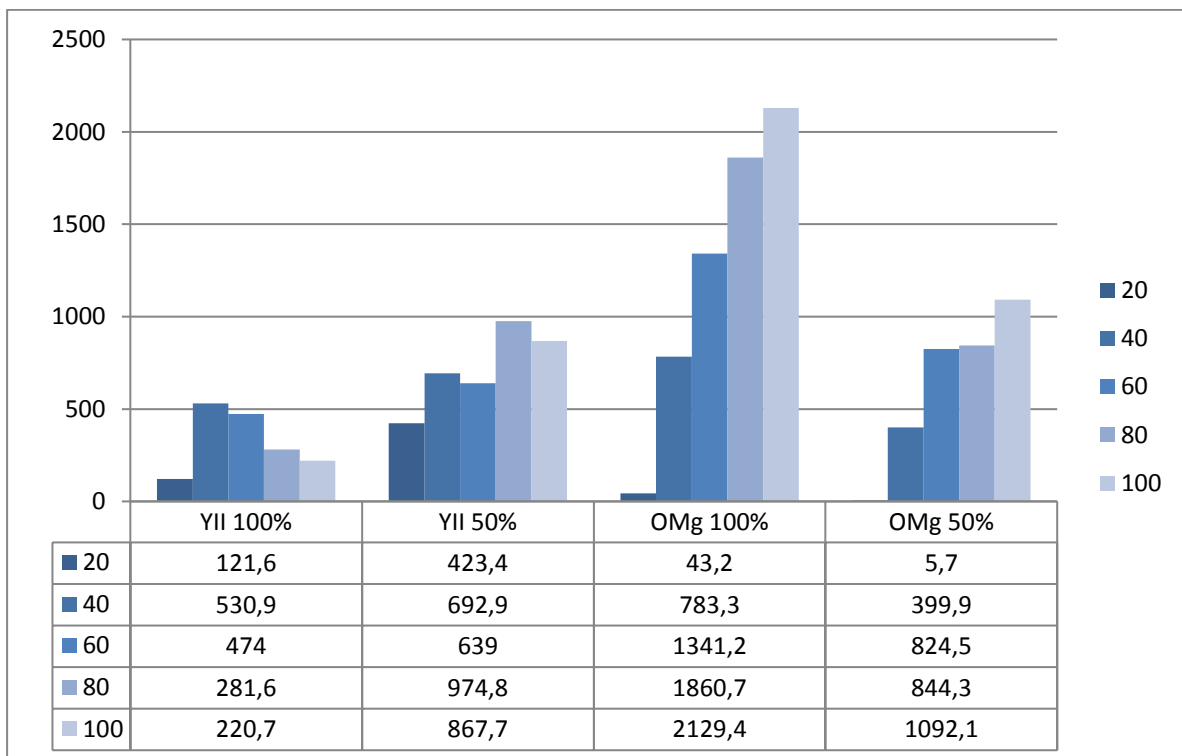


b) infragranulär

Abb. 3.6.9 sekundär-Somatosensorik:



a) supragranulär



b) infragranulär

3.7 Zusammenfassende Beschreibung der Messergebnisse

Betrachtet man die Ergebnisse im Hinblick auf die Fragestellung, ist in allen 6 Versuchen, unabhängig von Versuchslösung und Reizstärke, laterale Erregungsausbreitung in den primär-motorischen und/oder sekundär-somatosensorischen Rindenarealen nachweisbar, bei Reizung der primär-somatosensorischen Afferenzen. Eine wichtige Grundlage dafür ist, dass an jedem Versuchstag, bei wechselnder Versuchslösung und unterschiedlicher Reizstärke, stets eine starke Erregungskomponente in der infragranulären und supragranulären Schicht des primär-somatosensorischen Areals (S1, Position 0) unmittelbar nach Reizung registriert werden konnte. Dies spricht, die Literatur und räumliche Nähe zur Stimulationselektrode berücksichtigend, für physiologische Versuchsbedingungen, die Qualität und Verwendbarkeit des Hirnschnitts und eine technisch einwandfreie Signalübertragung (z.B. Abb. 3.6.2a: S1 s, i; Abb. 3.2.2b, S1 s, i). Denn nur wenn in diesem S1- Areal, unmittelbar über der Reizelektrode, die neuronale Erregung provozierbar ist, „funktioniert“ der Versuch und es kann über eine laterale Erregungsausbreitung „nachgedacht“ werden und die weiteren Positionen angefahren werden. Gleichermäßen zeigt die Konstanz der graphischen Feldpotentialregistrierungen, trotz Änderung der Versuchslösung und Reizstärke, physiologische Versuchsbedingungen und ist Beweis dafür, dass überhaupt Erregung nach Reizung im Hirnschnitt ausgelöst wird und das Gewebe lebt (Abb. 3.5.6).

Der Fragestellung entsprechend werden im Folgenden, exemplarisch anhand zweier Versuche, die Ergebnisse der lateralen Erregungsausbreitung in die Motorik (Versuch 2) und sekundär-Somatosensorik (Versuch 3) erläutert. In Versuch 2 sind im primär-motorischen Rindenareal (M1), bei 100%iger und 50%iger Reizstärke und Versuchslösung Yamamoto II, deutliche Amplitudenschwankungen in den supra- und infragranulären Schichten nach Reizeingang in den Graphen zu erkennen, vor allem in den infragranulären Schichten, die in topographisch engerem Kontakt zur Reizelektrode stehen (Abb. 3.2.7a, b; Abb. 3.2.2b: M1 i, s; Abb. 3.2.3a: M1 s, i; Abb. 3.2.3b: M1 i, s).

Dasselbe, was für die Yamamoto II Lösung beschrieben wurde, ist nach Wechseln der Versuchslösung zu OMg (100%, 50% Reizstärke) zu beobachten. Das bedeutet, dass auch bei gesteigerter neuronaler Erregbarkeit durch die OMg-freie Lösung deutliche Amplitudenschwankungen in den ersten 100 ms nach Reizung in der supra- und infragranulären Schicht des motorischen Areals ausmachbar (Abb. 3.2.4a, b: M1 s, i; Abb. 3.2.5a,b: M1 s, i) sind, bei Reizung der primär-sensorischen Afferenzen.

Vor allem in der, den oben genannten Abbildungen entsprechenden, Balkendiagramm-Übersicht (YII-Lösung, 100%, 50%) ist die Erregung über die Amplitudenschwankungen (Balkenhöhe) sehr gut nachzuvollziehen (Abb. 3.2.7a-h, M1). Interessant sind vor allem die infragranulären Rindenschichten (Abb. 3.2.7b, d, M1), die einen starken Anstieg der Depolarisation, zwischen 20 und 40 ms nach Reizauslösung, zeigen. Gleiches gilt für die Magnesium-freie Versuchslösung (Abb. 3.2.7e-h, M1) bei Reizstärke 100% und 50%. Hier ist die infragranuläre Schicht ebenso von stärkeren Amplitudenschwankungen betroffen: Abb. 3.2.7h zeigt den starken Sprung von 20ms auf 40ms nach Reizung, auch nachvollziehbar in den absoluten Zahlen der inkludierten Datentabelle.

Die beste Übersicht der primär-motorischen Erregung zeigt Abb. 3.2.8. Allen dieser Balkendiagramme ist, trotz unterschiedlicher Versuchslösungen und unterschiedlichen Reizstärken, gemeinsam, dass deutliche Amplitudenschwankungen ausmachbar sind, vor allem innerhalb der ersten 20-60 ms nach Reizauslösung. Besonders gut zu erkennen ist dies im Versuch mit der Magnesium-freien Lösung, sowohl in der infragranulären als auch in der supragranulären Schicht (Abb. 3.2.8a, b: OMg 100% und OMg 50%).

Versuchstag 3 erklärt, exemplarisch, die neuronale Antwort des sekundär-somatosensorischen Areals (S2). Bei YII-Versuchslösung und 100%iger und 50%iger Reizstärke sind, ebenso wie in der Motorik, deutliche Amplitudenschwankungen nach Zeitpunkt der Reizung in den infragranulären und supragranulären Schichten der Graphen zu erkennen. (Abb. 3.3.2a, b, S2 s, i; Abb. 3.3.3a,b, S2 s, i). Gleiches gilt für die Magnesium-freie Lösung (Reizstärke 100% und 50%), sichtbar in Abb. 3.3.4a, b (OMg 100%, S2 s, i) und Abb. 3.3.5a, b (OMg 50%, S2 s, i). Ähnlich wie bei der

Erregungsausbreitung in motorische Areale sind in den Balkendiagrammen deutliche Amplitudenschwankungen zu verzeichnen, sowohl bei der YII-Versuchslösung mit 100% Reizung als auch 50% Reizung. Merkwürdig auch hier innerhalb der ersten 20-40 ms nach Reizauslösung (Abb. 3.3.7, a-d, S2). Den stärksten Amplituden-Anstieg registriert die YII-Lösung mit 50%iger Reizstärke (Abb. 3.3.6d, S2). Anders als bei der Ausbreitung in motorische Areale, ist diejenige in sekundär-somatosensorische Areale zwischen supra- und infragranulärer Schicht nicht so stark unterschiedlich ausgeprägt, weder bei YII-, noch bei OMg-Lösung. Das neuronale Gewebe dieses Hirnrindenareals reagiert auch in OMg-Lösung deutlich auf die Reizung, sowohl bei 100% als auch 50% Reizstärke und sowohl in den supra- und infragranulären Schichten (Abb. 3.3.7e-h). Nennenswert ist ebenfalls noch der charakteristische Verlauf der Graphen bei Magnesium-freier Lösung: Die Depolarisationszeit der Neuronen ist deutlich verlängert und somit flacht der Graph deutlich langsamer wieder ab (Abb. 3.1- 3.6, jeweils in den Abbildungsteilen 4b und 5b). Abbildung 3.3.9 zeigt in der Übersicht die Erregungsverteilung der supragranulären (a) und infragranulären (b) Schicht der sekundär-somatosensorischen Rindenareale. Ins Auge stechen die starken Amplitudenanstiege innerhalb von 20 auf 40 ms nach Reizung bei Versuchslösung OMg 100% und OMg 50%. Die supragranuläre Schicht hebt sich hierbei nicht merklich von der infragranulären Schicht ab. Festzuhalten ist, dass unter allen Versuchsbedingungen, unabhängig von Lösung und Reizstärke, Erregung im sekundär-somatosensorischen Rindenareal gegeben ist.

Allen Ergebnissen aus den Versuchstagen ist gemeinsam, dass die größten neuronalen Depolarisationen tendenziell innerhalb der ersten 40 ms nach Reizgebung zu vermerken sind und die infragranulären Schichten, vor allem im primär-somatosensorischen Areal, etwas stärker auf den Reizimpuls antworten. Diese Feststellung trifft für Experimente in Yamamoto II Lösung zu. Im Gegensatz dazu ist in den Versuchen mit Magnesium-freier Lösung, also bei gesteigerter Erregbarkeit der Neuronen durch nicht-besetzte NDMA-Rezeptoren, eine erhöhte und lang dauernde Erregung feststellbar. In der Visualisierung der Graphen (z.B. Abb. 3.3.4 und Abb. 3.3.5) ist das, für die Magnesium-freie Versuchslösung, so typische, verlängerte Depolarisationspotential der Fluoreszenzkurven deutlich zu erkennen. (3.1.1.-3.1.3b, 3.1.6a-3.1.9., 3.2.1, 3.2.2a, 3.2.6a-d, 3.2.9, 3.3.1, 3.3.6a-d, 3.4.1-3.4.3b, 3.4.6s-3.4.9, 3.5.1-3.5.3b, 3.5.6a-3.5.9, 3.6.1, 3.6.3a-3b, 3.6.7a-9).

4. Diskussion

Im folgenden Text werden die Ergebnisse im wissenschaftlichen Kontext diskutiert.

4.1 Zielsetzung

Zielsetzung der Untersuchung war, die Erregungsausbreitung bei Reizung spezifischer sensorischer Afferenzen (primär-somatosensorischer Kortex) in der Hirnrinde direkt und lokal zu untersuchen und in diesem Zuge herauszufinden, ob eine laterale Erregungsausbreitung in der Hirnrinde besteht. Nach Reizung wurde die direkte, unmittelbare Antwort der Neuronen in genauer Lokalisation beobachtet. Da die Reizung der sensorischen Afferenzen unmittelbar am Eingang zur sensorischen Hirnrinde erfolgte, blieben andere, unspezifische Afferenzen weitestgehend unberücksichtigt.

4.2 Evaluation der Ergebnisse

Zur Evaluation der Ergebnisse ist es sinnvoll, sich über die Bedeutung der möglichen Versuchsergebnisse Gedanken zu machen. Ist eine laterale Erregungsausbreitung vom primär-sensorischen in den motorischen Kortex direkt und unmittelbar feststellbar, so bedeutet dies, dass die Sensorik und Motorik ein sehr fein aufeinander abgestimmtes System darstellen. Dies ermöglicht, als Beispiel, sehr komplexe Bewegungsabläufe innerhalb hoch-anspruchsvoller Sportarten wie dem Eiskunstlauf, für die dieses schnelle Zusammenspiel unabdingbar ist. Hier ist ein sensorischer Input, wie das Gleiten der Kufen auf dem Eis oder das Sehen der Begrenzung der Eisbahn mit den Augen, direkt gefolgt von einer motorischen Antwort: zum Beispiel dem Abheben oder landen bei einer Pirouette oder das Drehen der Kufen für eine Kurve wenn die Eisbahn zu Ende ist. Eine blitzschnell aufeinander abgestimmte Koordination beider Systeme macht eine komplexe Eiskunstlauf-Kür überhaupt erst möglich. Ein weiteres Beispiel stammt aus der Tierwelt und behandelt das klassische Jäger-Beute-Schema. Ein Jäger, zum Beispiel ein Löwe, muss seine Beute riechen oder fühlen und sich seine Nahrung dann durch blitzschnelles Zupacken oder Zubeißen sichern. Es ist für ihn also überlebensnotwendig, schnell reagieren zu können, bevor seine Beute in die Wildnis flieht. Er muss schneller sein als seine Beute und seine Motorik (Rennen auf Vorderpfoten) in ständiger Kommunikation zum sensorischen Eingang (Verfolgen der

Beute mit den Augen) stehen. Hier ist es also von riesigem Vorteil, wenn der sensorische Informationsfluss nicht erst über „Thalamus-Umwege“ geht, sondern parallel schon in Assoziationsareale und in den motorischen Kortex Informationen übermittelt. Ein feines Zusammenspiel aus Reiz-Reaktion (visueller Input „Sehen“ – motorische Komponente „Jagen“) ist unabdingbar für sein tägliches Überleben.

Im Umkehrschluss ist es nicht schwierig zu verstehen, was das Fehlen einer lateralen Erregungsausbreitung vom primär-sensorischen in den motorischen oder sekundär-somatosensorischen Kortex bedeuten würde. Die sensorische Information erreicht erst „über Umwege“ die angrenzenden Areale, zum Beispiel den motorischen Kortex, und eine muskuläre Antwort (spinale und zentrale Reflexe ausgenommen) setzt vergleichsweise langsamer ein. Im vorherigen Beispiel aus der Umwelt hat dies die Konsequenz, dass Tiere ihre Beute nicht so schnell packen können und auch exakt gesteuerte Bewegungsabläufe, zum Beispiel bei hochanspruchsvollen Sportdisziplinen (Kunstturnen, Eiskunstlaufen, Ski-Slalom), zwar nicht unmöglich aber nicht in einer so hohen zeitlichen Präzision möglich wären.

Um die vorliegende Arbeit in einen Kontext bringen zu können, werden im Weiteren die anatomischen Unterschiede zwischen Mensch und Ratte in Bezug zu den sensorischen Afferenzen und parallelen Fasersystemen und, im Hinblick auf die Funktion dieser, die aktuelle Forschungslage für diesen Bereich diskutiert.

4.3 Ergebnisse in der Literatur

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Literatur, auf den Menschen und die Ratte bezogen, betrachtet.

4.3a Anatomie Mensch und Ratte

Die afferenten und parallelen Fasersysteme des somatosensorischen Systems des **Menschen** lassen sich anhand ihrer Verläufe untergliedern. Es ist naheliegend, zunächst den Verlauf der Afferenz ausgehend vom sensorischen Rezeptor bis in den primär-somatosensorischen Kortex zu beschreiben, bevor auf parallele Fasersysteme und horizontale Querverbindungen innerhalb des Gehirns eingegangen werden kann. Ein Rezeptor versteht sich funktionell (primärer und sekundärer Rezeptortyp) als periphere Nervenendigung eines Axons, dessen Zellkörper im Spinalganglion lokalisiert ist und dessen Fortsatz in das Hinterhorn des

Rückenmarks zieht. Im weiteren Verlauf kreuzen die sensorischen Afferenzen auf die Gegenseite und verlaufen dann über den Thalamus in den primär-somatosensorischen Kortex.

Innerhalb dieses Verlaufes gehen auf medullärer und mesenzephaler Ebene kollaterale Fasern ab, die über Zwischenstationen zum Teil auf mediale und unspezifische Thalamuskern projizieren. Diese ziehen nicht nur zum primär-somatosensorischen Kortex sondern auch, zum Beispiel, zum insulären Kortex und zum vorderen Gyrus cinguli. Auf diese Weise erfährt der afferente Input eine erhebliche Modulation. Betrachtet man nun den intrakortikalen Informationsfluss innerhalb des primär-somatosensorischen Kortex, so gibt es hier vertikale, interlaminäre Afferenzen als auch horizontale, intralaminäre Querverbindungen. Der vertikale Informationsfluss gliedert sich innerhalb des Kortex wie folgt: Ausgehend von den spezifischen, vertikalen Thalamuskernen projizieren die sensorischen Afferenzen in Schicht IV, dann weiter in Schicht II/III, Schicht V, Schicht VI um dann wieder über Schicht IV zurück in den Thalamus zu projizieren. Man spricht von einer funktionellen, kortikalen Säule aus 6 Schichten. Interlaminär bedeutet also Informations-Weiterleitung sensorischer Afferenzen zwischen diesen einzelnen Schichten. Zwischen den gleichen Schichten benachbarter Säulen gibt es ebenfalls funktionelle Verbindungen die, da sie innerhalb derselben Schicht bleiben, als intralaminär bezeichnet werden. Über solche horizontale Querverbindungen sind benachbarte Säulen funktionell miteinander verbunden.

Geht man noch einen Schritt weiter, stellt sich die Frage, inwiefern es Verbindungen aus den einzelnen Schichten des primär-sensorischen Kortex in andere Hinregionen, und auch wieder zurück, gibt. Unterteilt wird die Informationsweitergabe in Informations-Eingänge und Informations-Weitergabe. Dem afferenten Informationsverlauf folgend, stehen zunächst die Neurone der Schicht-IV im Fokus: Diese geben Rückmeldung an die spezifischen Thalamuskern. Schicht II und III projizieren ipsilateral über aufsteigende Assoziationsfasern in „höhere“, das heißt sekundäre und tertiäre Kortexareale und über Kommissurenbahnen in den kontralateralen Kortex. Die Pyramidenzellen aus Schicht V und VI projizieren in subkortikale Regionen, wie dem Hirnstamm, das Rückenmark und das Striatum. Die Informationen werden parallel und seriell verarbeitet und gewinnen zunehmend an Spezifität.

Betrachtet man den rein kortiko-kortikalen Informationsfluss, so gliedert sich dieser wie folgt: Ausgehend vom primär-somatosensorischen Kortex verläuft der Informationsfluss in den primär-motorischen Kortex und den parietalen Kortex. Von dort gibt es Verbindungen zum prämotorischen Kortex und zum posterior parietalen Kortex (somatosensorisches Assoziationsareal). Von dort gelangt die Information weiter in den temporalen Assoziationskortex, den parahippokampalen Kortex und den zingulären Kortex.

Die einzelnen Schichten des primär-somatosensorischen Kortex erhalten auch rückkoppelnd sensorische Eingänge aus den oben genannten Kortex Arealen (Schicht II/III, Schicht IV, Schicht V, Schicht VI) und den unspezifischen Thalamuskernen (Schicht I, Schicht V, Schicht VI; Averbeck und Grafe 2013, S.73-85; Luhmann 2013, S.275-288).

Betrachtet man das afferente und parallele Fasersystem der **Ratte**, so ist der prinzipielle Aufbau der einzelnen intrakortikalen Schichten analog zu dem des Menschen, weshalb sich die Ratte als Forschungstier in diesem Zusammenhang gut eignet. Die laminare Struktur aus Schicht II, III, IV, V und VI des primär-somatosensorischen Kortex ist identisch zur der Schichtung des menschlichen Kortex (Zilles and Wree 1985, Fig. 12, S. 410). Lediglich die granuläre Schicht IV weist eine strukturelle Besonderheit auf, die als „clouded“ structure (Zilles and Wree 1985, S.385) im Gesamten als Barrel-Field bezeichnet wird. Die Zelldichte ist hier, relativ zu den supra- und infragranulären Schichten, erhöht. Das Barrel-Field besteht aus vielen einzelnen Barrels. Diese sogenannten Barrels sind topographisch korrekte Repräsentationen der mit den einzelnen Vibrissen verknüpften Mechanorezeptoren. Dabei korrespondiert jedes Barrel mit einem einzigen Schnurrhaar und erhält Information von einem einzigen Axon. Es gibt also exakt genauso viele Barrels wie einzelne Schnurrhaare. Etwa ein Drittel der Neurone eines Barrels sind synaptisch gekoppelt. Da es mehr Verbindungen innerhalb eines Barrels gibt als unter den einzelnen Barrels wird jedes Barrel als eigenes, neuronales Netzwerk verstanden (Paxinos, 2004, S. 805-910). Abgesehen von den charakteristischen Barrels in Lamina IV unterscheidet sich die Zytoarchitektur des Barrel-Kortex nicht von der anderer sensorischer Gebiete des zerebralen Kortex. Das heißt, dass als neuronale Zellklassen hauptsächlich Pyramidenzellen und nicht-pyramidale Zellen vorkommen. Als spezieller Zelltyp der Lamina IV sind die bedornten Sternzellen zu nennen. Diese

sind vorrangig lokal in Schicht IV verknüpft und verarbeiten sensorische Information frühzeitig und ortsständig. Die Pyramidenzellen aus Schicht IV hingegen können modulatorische Informationen aus nicht-granulären Laminae ihrer Kolumne sowie auch aus der Nachbarkolumne integrieren und verstehen sich demnach eher als globale Verarbeitungseinheit.

Für die übrigen Schichten II-VI des sensorischen Kortex wird wieder zwischen Pyramidenzellen und nicht-pyramidalen Zellen als Zellklassifikation unterschieden. Die Pyramidenzellen gliedern sich in zwei Hauptgruppen, die „RS-Zellen“ und die „IB-Zellen“. Die „RS-Zellen“ (regelmäßig feuern, regularly spiking) integrieren und filtern sensorische Information innerhalb ihrer eigenen, funktionellen Säule durch eine starke exzitatorische und inhibitorische Modulation. Ihre Aktionspotenziale sind durch eine langsame Repolarisationsrate gekennzeichnet. Über aufsteigende Axonkollaterale besteht Interaktion mit den supragranulären Laminae. Als zweiter pyramidaler Zelltyp sind die „IB-Zellen“, die intrinsischen, Salven feuern (intrinsically burst firing cells) zu nennen. Sie bilden gruppierte Aktionspotenziale hoher Frequenz. Ihre Zellkörper liegen in Lamina IV und V. Axonkollaterale laufen gewöhnlich in die infragranulären Schichten und projizieren von dort horizontal zu weit entfernten Zielarealen. Als nicht-pyramidale Zellen sind lokal projizierende Interneurone bekannt, die sich in zwei Subklassen gliedern. Zum einen in exzitatorische Neurone mit dendritischen Fortsätzen, die die Information direkt vom Thalamus bekommen. Zum anderen in inhibitorische Neurone ohne dendritische Fortsätze, die durch Aktionspotenziale ohne depolarisierende Nachpotenziale und eine erhöhte Aktionspotenzialfrequenz, sowie eine hohe Spontanaktivität, gekennzeichnet sind.

Wie beim Menschen, existieren im somatosensorischen System der Ratte auch Querverbindungen und parallele Fasersysteme zwischen den verschiedenen Hirnregionen. Diese sind vor allem für den Barrel-Kortex erforscht. Er ist reziprok mit einer Reihe ipsi- und kontralateral gelegenen Kortexregionen verbunden. Es bestehen Verbindungen zum sekundär-somatosensorischen Kortex, zum motorischen Kortex und zu den Thalamuskernen ausgehend von den Pyramidenneuronen der Lamina II/III und V. Intrinsisch ist der Barrel-Kortex so verschaltet, dass die überwiegende Anzahl intrakortikaler Axone vertikal, intralaminär innerhalb einer Barrel-Kolumne Information austauscht. Interlaminäre

Verschaltungen verbinden infra- und supragranuläre Laminae, als auch die jeweilige Schicht IV zweier funktioneller Barrel-Kolumnen, reziprok miteinander. Neben den vertikalen, kolumnären Verschaltungen laufen also auch horizontale Axonkollaterale zwischen benachbarten Barrel-Kolumnen und zu subkortikalen Bereichen (Thalamuskern und Trigemini-Komplex; Schierloh 2003, S. 12-15, 19-20; Schubert 2007).

Bezieht man sich nicht nur auf die Afferenzen und Verschaltungen im Barrel-Kortex, sondern auf den gesamten primär-somatosensorischen Kortex der Ratte, sind klare Parallelen zum primär-somatosensorischen Kortex des Menschen zu erkennen. Zum einen erhält der primär-somatosensorische Rattenkortex Afferenzen von den ventro-posteriomedialen, ventro-posteriolateralen, ventrolateralen und ventromedialen Thalamuskernen. Zum anderen kommt afferente Information auch aus Regionen außerhalb des Thalamus: Den raphe nuclei, den locus coeruleus und dem nucleus Meynert. Efferente Verbindungen aus dem primär-somatosensorischen Kortex ziehen zum Thalamus zurück, zu der Hinterstrangbahn des Rückenmarks, den Trigemini-Kernen in der Medulla und anderen Kortexregionen. Weitere Efferenzen ziehen zum Striatum, nucleus ruber und zum Pons. An kortikokortikalen Verbindungen ist bekannt, dass der primär-somatosensorische Kortex reziprok in Interaktion mit dem primär-motorischen Kortex derselben Hemisphärenhälfte und über das corpus callosum mit dem primär-somatosensorischen Kortex der anderen Hemisphärenhälfte in Interaktion steht. Genauer interagieren die Pyramidenzellen aus Schicht III und V des primär-somatosensorischen Kortex der rechten Hemisphärenhälfte mit den entsprechenden Schichten des primär-somatosensorischen Kortex der linken Hemisphärenhälfte (Paxinos 2004, S. 805-810; MacLean 1985, S. 417-436).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das somatosensorische, afferente System der Ratte, abgesehen vom Barrel-Feld, starke Parallelen zum afferenten somatosensorischen System des Menschen aufweist, weshalb sich für diesen Bereich die tierexperimentelle Forschung mit Ratten gut eignet. Das Grundprinzip der Erregungsausbreitung im somatosensorischen System der Ratte lässt sich annähernd auf den Menschen übertragen. Untersucht wurde, da nur die Afferenzen am Eingang der Hirnrinde gereizt wurden, nur die Erregungsausbreitung in die jeweils lateral angrenzenden Areale, die beim Mensch sowie bei der Ratte annähernd identisch sind. Wie oben beschrieben, gibt es bei beiden Organismen

Informationsweiterleitung in die, dem primär-somatosensorischen Kortex direkt anliegenden, primär-motorischen, sekundär-somatosensorischen (Ratte) und parietalen Rindenareale.

4.3b Funktion und Forschungslage

Im Hinblick auf den wissenschaftlichen Kontext sind in der Literatur und, dem aktuellen Forschungsstand folgend, bereits einige Versuche im somatosensorischen Ratten-Kortex erfolgt, darunter unter anderem folgende:

An der Berliner Humboldt Universität wurden Versuche zum Thema „Rattenkitzeln“ durchgeführt und geschaut, wie Ratten auf Berührung reagieren bei gleichzeitiger Messung der Hirnströme. Die Ergebnisse zeigen, was Kitzeln im Rattenhirn auslöst und dass die Tiere je nach Stimmung mehr oder weniger kitzelig sind. Besonders stark reagierten Neuronenverbände des somatosensorischen Kortex. Die Forscher reizten diese Nervenzellen erneut nur elektrisch, ohne Berührung, und kamen zu dem Schluss, dass das Kitzelgefühl nur im Gehirn erzeugt wird (Ishiyama und Brecht 2016). Des Weiteren wurde im Rahmen einer Dissertation erarbeitet, wie neuropathischer Schmerz durch eine Läsion oder Erkrankung des somatosensorischen Nervensystems ausgelöst wird. Dafür erfolgte eine Induktion von neuropathischen Schmerzen über eine Schädigung des Nervus ischiadicus. Durch vorherige und nachherige Probeentnahme wurde dann geschaut, ob eine veränderte Expression von miRNAs im Rückenmark der Ratte, nach Nervschädigung, zur Entstehung und Erhaltung von neuropathischen Schmerzen beiträgt. Die Ergebnisse zeigen, dass keine signifikanten Veränderungen und nur eine teilweise veränderte Expression von Zielproteinen des schmerzleitenden Systems im Bereich des Rückenmarks auftraten. (Brendel 2016).

Neben anderen Dissertationsschriften sind auch zahlreiche Versuchsergebnisse, den somatosensorischen Ratten-Kortex betreffend, in medizinischen Datenbanken, wie Pubmed, zu finden. Genauer gab es Forschungsgruppen zur optogenetischen Konditionierung von Paradigmen und Verhaltensmustern im somatosensorischen Rattenkortex (Abe und Yawo 2017) sowie Wissenschaftler, die die zelltypspezifische strukturelle Organisation der sechs Schichten im Ratten-Kortex untersuchten (Narayanan et al. 2017). Dann gab es wiederum eine Gruppe, die sich mit der neuronalen Antwort Laser-induzierter Schmerzen in Schmerz-assoziierten Arealen

der Ratte (Li et al. 2017) befasste. Des Weiteren wurde der Effekt epiduraler Kompression thalamocorticaler Afferenzen im primären-somatosensorischen Rattenkortex (Yeh et al. 2017) sowie die Vermittlung multisensorischer Information im primär-sensorischen-Kortex (Bieler et al. 2017) untersucht. Unter den Veröffentlichungen zum Themenbereich somatosensorischer Ratten-Kortex gibt es auch Literatur speziell zum Barrel-Kortex des somatosensorischen Systems: Juzekaeva et al. (2017) beschäftigten sich mit der Initiation und Verteilung der Depolarisation in Schicht IV, E. Kheradpezhohu (2017) mit den dynamischen Antworten des Barrel-Kortex der Ratte auf wiederholte sensorische Stimulation. Welche Funktion dem Barrel-Kortex im Detail zukommt untersuchten Stüttgen MC (2018) und Miceli S. et al. (2017) fanden heraus, dass innerhalb der Schicht IV des Barrel-Kortex eine reduzierte Inhibition mit schneller, sensorischer Integration assoziiert ist. Zur lateralen Erregungsausbreitung der speziellen sensorischen Afferenzen sind in den medizinischen Datenbanken und in der Literatur bisher keine wissenschaftlichen Daten registriert, was das Versuchsergebnis dieser Arbeit so interessant machte. Nur durch die, im Versuch verwendete, Farbstoffmethode ist die lokale, laterale Erregungsausbreitung feststellbar. Im Hinblick auf die Fragestellung wurden bisher keine, VSD-unterstützten, experimentellen Versuche, durchgeführt.

4.4 Schlussfolgerung

Schlussfolgernd ist zu sagen, dass viele Alltagsphänomene der Natur oder der menschlichen, alltäglichen Aktionen, auf der feinen Koordinierung zwischen sensorischem und motorischem System beruhen. Ob es stechender Zahnschmerz ist, gegen den man als Linderungsversuch die Hand sofort an die „schmerzende, dicke Backe“ legt oder die fein abgestimmte Eislaufkür. Tiere in ihrer Rolle als Jäger, Ausrutschen auf Glatteis und Gegensteuern mit der Muskulatur, alle diese Reiz-Reaktions-Abläufe werden durch dieses feine Zusammenspiel erleichtert. Interessant wäre, als weiterer Forschungsansatz, ob eine laterale Erregungsausbreitung auch nachweisbar ist, wenn die Reizelektrode, statt am Eingang zum primär-sensorischen Hirnrindenareal, zum Beispiel direkt unter dem primär-motorischen Kortex positioniert wird. In diesem Falle würde sich eine mögliche Erregung also von der Motorik in die Sensorik ausbreiten, genauer vom primär-motorischen Hirnrinden-Areal in das direkt benachbarte primär-somatosensorische Hirnrinden-Areal.

5. Zusammenfassung

Die Fragestellung dieser Arbeit ist, ob eine laterale Erregungsausbreitung bei Aktivierung des primär-sensorischen Hirnrinden-Areals in angrenzende primär-motorische und sekundär-somatosensorische Hirnrinden-Areale direkt stattfindet.

Die Untersuchungen wurden mit konventionellen, evozierten Potentialen und unter Einsatz von spannungsempfindlichen Farbstoffen durchgeführt. Die Aktivierung der afferenten Systeme erfolgte durch elektrische Einzelimpulse.

Es ergab sich, dass in allen Versuchen eine laterale Erregung unabhängig von der Aktivierungsstärke und dem neuronalen Erregungsniveau nachgewiesen werden konnte. Die durch afferente Reizung ausgelöste Erregung ist innerhalb der infragranulären Schichten ausgeprägter als in den supragranulären. Vor allem ortsnah zur Stimulationselektrode ist dies besonders im primär-somatosensorischen Areal deutlich. Die Tendenz geht dahin, dass mit dem Abstand zur Stimulationselektrode die neuronale Erregung abnimmt. Vor allem im flächenmäßig ausgedehnten sekundär-somatosensorischen Kortex ist die Erregung umso stärker, je weiter medial zum primär-somatosensorischen Kortex eine Aktivität abläuft. Um eine rekurrente Verbindung zum Thalamus und damit eine indirekte laterale Erregungsausbreitung über den thalamischen „Umweg“ auszuschließen, wurde die Verbindung zwischen Thalamus und Kortex vor Versuchsbeginn durchtrennt. Folglich erfolgt die Weiterleitung der evozierten Erregungen direkt in lateral angrenzende Areale. Ferner ergab sich, dass sich die lateralen Erregungsausbreitungen in die primär-motorischen und sekundär-somatosensorischen Hirnrinden-Areale nicht merklich unterscheiden.

Insgesamt sind offensichtlich die Sensorik und Motorik bereits auf der Ebene der Großhirnrinde eng miteinander gekoppelt.

6. Literatur

Abe K, Yawo H. Optogenetic conditioning of paradigm and pattern discrimination in the rat somatosensory system. *PloS one*. 2017 Dec 21; 12: e0189439. doi: 10.1371/journal.pone.0189439. PubMed PMID: 29267341

Averbeck B, Grafe P. Nozizeption und Schmerz. In: Speckmann E.-J., Hescheler J, Köhling R, Hrsg. *Physiologie*. 6. Auflage. München: Urban und Fischer; 2013: 73-85

Bieler M, Sieben K, Cichon N, Schildt S, Röder B, Hanganu-Opatz IL. Rate and temporal coding convey multisensory information in primary sensory cortices. *E Neuro*. 2017 Mar 20; 4. pii: ENEURO.0037-17.2017. doi: 10.1523/ENEURO.0037-17.2017. PubMed PMID: 28374008

Brendel M. Differentielle Expression spinaler microRNAs in einem chronisch neuropathischen Schmerzmodell der Ratte, [Dissertation]. Düsseldorf: Medizinische Fakultät Heinrich-Heine-Universität, 2016.

Broicher T, Speckmann E.-J. Living human brain slices: Network analysis using voltage-sensitive dyes. In: Ballanyi K, Hrsg. *Isolated Central Nervous System Circuits*. New York NY: Human Press; 2012: 285-300

Cohen L. B., Salzberg M. Optical measurement of membrane potential, *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 1978; 83: 35-83

Ebner T.J., Chen G. Use of voltage-sensitive dyes and optical recordings in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1985; 46: 463-506

Grinvald A, Hildesheim R. VSDI: A new era in functional imaging of cortical dynamics. *Nat Rev Neurosci*. 2004; 5: 874-885

Hufendieck, F. Neuronale Synchronisierung bei spontan auftretenden epileptischen Feldpotentialen im Hippocampus und Neokortex der Ratte, [Dissertation], Münster: Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität, 2015

Ishiyama S, Brecht M. Neural correlates of ticklishness in the rat somatosensory cortex. *Science*. 2016 Nov 11; 757-760. doi: 10.1126/science.aah5114.

Juzekaeva E, Nasretidinov A, Gainutdinov A, Sintsov M, Mukhtarov M, Khazipov R. Preferential initiation and spread of anoxic depolarization in layer 4 of rat barrel cortex. *Front Cell Neurosci*. 2017 Dec 15; 11: 390. doi: 10.3389/fncel.2017.00390. PubMed PMID: 29326550

Kandel E. The age of insight. The quest to understand the unconscious in art, mind and brain, Vienna 1900 to the present. New York NY: Random House Publishing Group; 2012: 422

Kheradpezhoh E, Adibi M, Arabzadeh E. Response dynamics of rat barrel cortex neurons to repeated sensory stimulation. *Sci Rep*. 2017 Sep 13; 7(1): 11445. doi: 10.1038/s41598-017-11477-6. PubMed PMID: 28904406

Köhling R, Bingmann D, Speckmann E.-J. Hirnfunktionen im Spiegel des EEG. In: Speckmann E.-J., Hescheler J, Köhling R, Hrsg. *Physiologie*. 6.Auflage. München: Urban und Fischer; 2013: 250-253

Köhling R, Reinel J, Vahrenhold J, Hinrichs K, Speckmann E.-J. Spatio-temporal patterns of neuronal activity: analysis of optical imaging data using geometric shape matching. *J Neurosci Meth*. 2002; 114: 17-23

Köhling R, Höhling J, Straub H, Kuhlmann D, Kuhnt U, Tuxhorn I, Ebner A, Wolf P, Pannek W, Gorji A, Speckmann E.-J. Optical monitoring of neuronal activity during spontaneous sharp waves in chronically epileptic human neocortical tissue. *J Neurophysiol*. 2000; 84: 2161-2165

Li X, Zhao Z, Ma J, Cui S, Yi M, Guo H, Wan Y. Extracting Neural Oscillation Signatures of Laser-Induced Nociception in Pain-Related Regions in Rats. *Front Neural Curcuits*. 2017 Oct 9; 11: 71. doi: 10.3389/fncir.2017.00071. PubMed PMID: 29062273

Luhmann H.J. Integrative Funktionen des Kortex. In: Speckmann E.-J., Hescheler J, Köhling R, Hrsg. Physiologie. 6. Auflage, München: Urban und Fischer; 2013: 275-289

MacLean P. D. Fiber systems of the forebrain. In: Paxinos G., Hrsg. The rat nervous system, Volume 1 Forebrain and midbrain. Australia N.S.W.: Academic Press Australia; 1985: 417-436

Miceli S, Nadif Kasri N, Joosten J, Huang C, Kepser L, Proville R et al. Reduced inhibition within layer IV of sert knockout rat barrel cortex is associated with faster sensory integration. Cereb cortex. 2017 Feb 1; 27(2): 933-949. doi: 10.1093/cercor/bhx016. PubMed PMID: 28158484

Narayanan R T, Udvary D, Oberlaender M. Cell type-specific structural organization of the six layers in rat barrel cortex. Front Neuroanat. 2017 Oct 13; 11: 91. doi: 10.3389/fnana.2017.00091. PubMed PMID: 29081739

Paxinos G. The rat nervous system. 3rd edition. San Diego California USA: Elsevier Academic Press; 2004: 797-910

Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th edition. San Diego CA: Academic Press; 1998

Petsche H, Müller-Paschinger I. B. , Pockberger H, Prohaska O, Rappelsberger P, Vollmer R. Depth profiles of electrocortical activities and cortical architectonics. In: Brazier, Mary A.B., Petsche H, Hrsg. Architectonics of the Cerebral Cortex. 3rd edition. New York NY: Raven Press; 1978: 257-280

Schierloh, A. Neuronale Netzwerke und deren Plastizität im Barrel-Kortex der Ratte, [Dissertation], München: Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abteilung Klinische Neuropharmakologie, Fachgebiet für spezielle Zoologie der Technischen Universität, 2003

Schubert, D. Zelltypspezifische funktionelle Konnektivität im primären somatosensorischen Kortex der Ratte, [Dissertation], Düsseldorf: Heinrich-Heine-Universität, 2007

Speckmann E.-J. Das Gehirn meiner Kunst, Kreativität und das selbstbewusste Gehirn. 2.Auflage. Münster: Daedalus; 2012: 58-182

Speckmann E.-J. Das Kunst-Ding, Braucht Kunst einen dinglichen Ausdruck, Ein Vorwort aus Hirnforschung und künstlerischer Praxis. Münster: Daedalus; 2017: 24-178

Speckmann E.-J., Elger C, Altrup U. Neurophysiologic basis of the electroencephalogram. In: Wyllie E, Hrsg. Wyllie's treatment of epilepsy, principles and practice. 6th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2015: 60-70

Speckmann E.-J., Elger E, Gorji A. Neurophysiologic basis of EEG and DC potentials. In: Schomer D, Lopes da Silva F.-H., Hrsg. Niedermeyer's electroencephalography, basic principles, clinical applications and related fields. 6th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins; 2011: 17-31

Straub H, Kuhnt U, Höhling J, Köhling R, Gorji A, Kuhlmann D, Tuxhorn I, Ebner E, Wolf P, Pannek H. W., Lahl R, Speckmann E.-J. Stimulus induced patterns of bioelectric activity in human neocortical tissue recorded by a voltage sensitive dye. *Neurosci.* 2003; 121: 587-604

Stüttgen MC, Schwarz C. Barrel cortex: What is it good for? *Neuroscience.* 2018 Jan 1; 368: 3-16. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.05.009. PubMed PMID: 28526578

Tracey, D. Somatosensory system. In: Paxinos G, Hrsg. The rat nervous system. 3rd edition. San Diego California USA: Elsevier Academic Press; 2004: 797-815

Yamamoto C. Intracellular study of seizure-like afterdischarges elicited in thin hippocampal sections in vitro, *Exp Neurol*; 1972. 35: 154-164, Internet: doi: 10.1016/0014-4886(72)90066-0

Yeh TY, Tseng GF, Tseng CY, Huang YH, Liu PH. Effects of epidural compression on stellate neurons and thalamocortical afferent fibers in the rat primary somatosensory cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2017; 77(1): 1-17. PubMed PMID: 28379212

Zeman W, Innes J. *Craigie's Neuroanatomy of the rat*. New York NY: Academic Press; 1963: 22

Zilles K, Wree A. Cortex: Areal and laminar structure. In: Paxinos G, Hrsg. *The rat nervous system*. Volume 1 Forebrain and Midbrain. London UK: Academic Press; 1985: 385-410

7. Danksagung:

Aus vollem Herzen danke ich meinem Doktorvater, Professor Dr. Erwin-Josef Speckmann, für eine, zu jedem Zeitpunkt, hervorragende Betreuung und sein stets „offenes Ohr“ für medizinische, naturwissenschaftliche, literarische und experimentell-technische Fragen. Ich hätte mir keinen besseren Doktorvater wünschen können! Unsere zahlreichen Treffen und persönlichen Gespräche werden mir immer in denkwürdiger Erinnerung bleiben.

Des Weiteren gilt mein Dank Susithira Sasikanthan, Ingrid Winkelhues und Birgit Herrenpoth für die tierexperimentelle und technische Unterstützung und allen anderen Mitarbeitern des Instituts für die freundliche Aufnahme.

8. Lebenslauf

9. Anhang

I

Landesamt für Natur,
Umwelt und Verbraucherschutz
Nordrhein-Westfalen



LANUV NRW, Postfach 10 10 52, 45610 Recklinghausen

Herrn
Univ.-Prof. Dr. Erwin-Josef Speckmann
Institut für Physiologie I - Neurophysiologie
Universitätsklinikum Münster
Robert-Koch-Straße 27a
48149 Münster

Auskunft erteilt:
Herr Salert
Direktwahl 02361/305-3709
Fax 02361/305-3062
Fachbereich84@lanuv.nrw.de

Aktenzeichen
84-02.05.20.13.027
bei Antwort bitte angeben
Ihre Nachricht vom:
Ihr Aktenzeichen:

Tierschutz;

Anzeige nach § 4 Abs. 3 Tierschutzgesetz (TierSchG)
Ihr Antrag vom 01.02.2017; eingegangen am 06.02.2017


„Experimentelle Epilepsieforschung an Hirngewebschnitten von Ratten und Mäusen“

Sehr geehrter Herr Prof. Dr. Speckmann,

antragsgemäß verlängere ich die Laufzeit des o. g. Versuchsvorhabens
letztmalig um ein Jahr bis zum 28.02.2018.

Dieses Schreiben ist Bestandteil meines Bescheids vom 25.02.2013.

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag


(Salert)

Datum: 14.02.2017

Hauptsitz:
Leibnizstraße 10
45659 Recklinghausen
Telefon 02361 305-0
Fax 02361 305-3215
poststelle@lanuv.nrw.de
www.lanuv.nrw.de

Dienstgebäude:
Hauptsitz Recklinghausen

Öffentliche Verkehrsmittel:
Ab Recklinghausen Hbf mit
Buslinie 236 oder 237 bis
Haltestelle "LANUV" und 5 Min.
Fußweg oder mit Buslinie SB 20
bis Haltestelle "Hohenhorster
Weg" und 15 Min. Fußweg in
Richtung Trabrennbahn bis
Leibnizstraße

Bankverbindung:
Landeskasse Düsseldorf
Konto-Nr.: 41 000 12
West LB AG
(BLZ 300 500 00)
BIC-Code: WELADED
IBAN-Code: DE 41 3005
0000 0004 1000 12

II

Abb. 2.1	Narkosegefäß im Digestorium	S. 10
Abb. 2.2	Narkosegefäß vergrößert	S. 10
Abb. 2.3	Gehirn Ratte von dorsal. C1, C2: Zervikalsegment 1 und 2	S. 11
Abb. 2.4	a) Gehirn nach Entfernen des Riechhirns und Kleinhirns; b) linke und rechte Hemisphäre	S. 12
Abb. 2.5	Übersicht über die funktionellen Hirnrindenareale bei der Ratte.	S. 13
Abb. 2.5a	Zusammenfassung aller motorischen und sensorischen Rindenfelder; dorsale Ansicht.	S. 14
Abb. 2.5b	Sekundärer motorischer Kortex (secondary motor cortex) M2	S. 16
Abb. 2.5c	Primärer motorischer Kortex (primary motor cortex) M1	S. 17
Abb. 2.5d	Primärer somatosensorischer Kortex, Kiefer (primary somatosensory cortex, jaw region) S1J	S. 18
Abb. 2.5e	Primärer somatosensorischer Kortex, Kinn und seitlicher Kopf (primary somatosensory cortex, jaw region, oral surface) S1JO	S. 19
Abb. 2.5f	Primärer somatosensorischer Kortex, Vorderpfoten (primary somato-sensory cortex, forelimb region) S1FL	S. 20
Abb. 2.5g	Primärer somatosensorischer Kortex, agranuläre Zone (primary somatosensory cortex, dysgranular region) S1DZ	S. 21
Abb. 2.5h	Primärer somatosensorischer Kortex, Oberlippe (primary somatosensory cortex, upper lip region) S1ULP	S. 22
Abb. 2.5i	Primärer somatosensorischer Kortex, Hinterpfoten (primary somatosensory cortex, hindlimb region) S1HL	S. 23
Abb. 2.5j	Primärer somatosensorischer Kortex, Vibrissen (primary somatosensory cortex, barrel field) S1BF	S. 24
Abb. 2.5k	Primärer somatosensorischer Kortex, Rumpf (primary somatosensory cortex, trunk region) S1Tr	S. 25
Abb. 2.5l	Sekundärer somatosensorischer Kortex (secondary somatosensory cortex) S2	S. 26
Abb. 2.6	Hirnrindenbereich, aus dem die Schnitte gewonnen werden. Die rote Linie a liegt bei Bregma 0.20 mm, die rote Linie b bei	S. 27

	Bregma -0.92 mm. Symbole wie in Legende zu Abb. 2.5a beschrieben.	
Abb. 2.7	Horizontalschnitte aus Paxinos und Watson 1998, S. 22, entsprechend der Schnittebene a (2.7a) und b (2.7b) in Abb. 2.6	S. 28
Abb. 2.8	a) Slice-Gerät mit Schneidemesser und Positionsblock, umspült von Inkubationslösung; b) Slice-Vorgang: Schneidemesser fertigt Hirnschnitte in gleichmäßigen Schichtdicken (0.5 µm) an	S. 29
Abb. 2.9	Begasungskammer	S. 30
Abb. 2.10	Geöffneter, lichtdichter Wandschrank: Sicht auf Färbekammer und Carbogen-Begasungskammer, Schläuche für konstante Carbogen-Begasung	S. 31
Abb. 2.11	Schematischer Aufbau der Versuchskammer; mit ihr ist es möglich, bioelektrische Aktivität in lebenden Hirnschnitten mit Hilfe elektrophysiologischer, konventioneller Methoden (Feldpotentialen) und anhand von spannungssensitiven Farbstoffen zu registrieren (Quelle: optischer Platz, Institut Physiologie I, Münster, 2017). FL: Mikroskop: Fluoreszenz-Mikroskop; ST: Gabelförmige Stimulationselektrode; FP1 und FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale RE: Referenzelektrode; pH-Elektrode zur kontinuierlichen Messung des pH-Wertes; ACSF: Artificial-Cerebro-Spinal-Fluid; künstliche, cerebrale Extrazellularflüssigkeit	S. 33
Abb. 2.12	Optischer Platz; Detailgetreue Ablichtung von Versuchsbecken, Elektroden, Kamera, Perfusionssystem, Fluoreszenz-Mikroskop, Positions-Mikroskop	S. 35
Abb. 2.13	Ausschnitt optischer Platz: Detailgetreue Ablichtung der vier Elektrodenmanipulatoren um die Versuchskammer, unterhalb der Versuchskammer ist das Objektiv des Fluoreszenz (FL) -Mikroskops zu erkennen	S. 35

Abb. 2. 14	Zeitliche Zusammenfassung der Arbeitsschritte von der Narkose bis zum Versuch in Minuten (min). N= Narkose, D= Dekapitation, I1= Inkubation 1, P= Präparation, I2= Inkubation 2, PI= Präinkubation, YI= Yamamoto I-Lösung, YII= Yamamoto II -Lösung (siehe Tab. 2.1.)	S. 36
Abb. 2. 15	Prinzip der Membranpotentialregistrierung mittels VSD: 1) Einlagerung der Farbstoff-Moleküle in die neuronale Doppelmembran. 2) Eine Spannungsänderung im neuronalen Gewebe führt zur Lageänderung der Farbstoffmoleküle innerhalb der Membran. 3) Durch die Lageänderung kommt es zu einer Veränderung der Fluoreszenzeigenschaften des Farbstoffs bei Veränderung des Polarisationszustandes der Nervenzellen: Eine Depolarisation (Erregungszunahme) führt zu einer Abnahme der Fluoreszenz, eine Hyperpolarisation (Erregungsabnahme) zu einer Zunahme der Fluoreszenz. MP= Membranpotential, depolarization= Depolarisation, hyperpolarization= Hyperpolarisation	S. 39
Abb. 2.16	Strukturformel des Fluoreszenz-Farbstoffs RH795: Organische Kohlenstoffverbindung mit zwei aromatischen Benzolringen	S. 39
Abb. 2.17	Schematische Darstellung der optischen Fluoreszenzregistrierung	S. 40
Abb. 2.18	Weg des Lichtstrahls ausgehend von der Xenon-Bogen-Lampe bis in das Diodenarray und Konzentrierung der Licht-Wellenlängen durch den Weg durch einzelne, selektive Sperrfilter	S. 42
Abb. 2.19	Schematische Darstellung der Elektrodenplatzierung im Hirnschnitt (Coronalschnitt bei Bregma - 0.92 mm, aus Paxinos und Watson 1998, Figure 22), FP1, FP2: Elektroden zur Ableitung der Feldpotentiale in der supragranulären (FP1) und infragranulären (FP2) Schicht des S1-Cortex. ST=	S. 43

	Stimulationselektrode, platziert am Eingang zur sensorischen Hirnrinde (Areal S1: S1BF).	
Abb. 2.20	Schematische Darstellung des Fotodioden-Hexagons, bestehend aus 464 Einzeldioden. Die Kennzeichnung der Position dieses Dioden-Arrays im Versuchsaufbau erfolgt durch rote Lichtpunkte, die die Seiten des Hexagons markieren	S. 44
Abb. 2.21	Ausschnitt Coronalchnitt Neokortex Ratte (Bregma - 0.92 mm). Die nummerierten, blauen Hexagone stehen schematisch für das Fotodiodenarray. Sie markieren, in aufsteigender Ziffern-Reihenfolge, die wechselnde Position des Arrays innerhalb einer Versuchsreihe. Die roten Striche markieren den Übergang vom primär-sensorischen Kortex (S1) zum primär-motorischen Kortex (M1) und den Übergang von S1 zum sekundär-sensorischen Kortex (S2) (modifiziert aus Paxinos and Watson, 1998, Figure 22).	S. 45
Abb. 2.22	Schematische Darstellung der Versuchsgliederung. Für die Nummerierung der Dioden- Arrays siehe Abb. 2.21.	S. 47
Abb. 2.23	Evozierte Feldpotentiale schematisch dargestellt, Y-Achse: Spannung in mV, X-Achse: Zeit in ms. Deutlich erkennbar ist der „Population Spike“ (blauer Pfeil, Y-Achse), als Antwort der Neuronen auf die Reizauslösung, sowie die Dauer der Entladung (X-Achse) zurück zum Ursprungszustand (Y=0; gelbe Linie).	S. 49
Abb. 2.24	Schematische Darstellung der zeitlichen Fluoreszenzveränderung der optischen Signale. Blauer Pfeil: Zeitpunkt der Reizauslösung, grüne Linie: Gerade durch den Amplituden-Wert zum Zeitpunkt der Reizauslösung. Die roten Pfeile zeigen exemplarisch die Messung der Amplituden 20 ms und 40 ms nach Reizauslösung. Messung der Werte 60, 80 und 100 ms nach Reizauslösung analog. X-Achse in ms, Y-Achse in 10^{-3} dI/I.	S. 50

Abb. 3.1.1a-c	Position 0-2; S1, S2, M1	S. 52
Abb. 3.1.2	Yamamoto II, 100%	S. 53
Abb. 3.1.3	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.1.2	S. 54
Abb. 3.1.4	Feldpotentiale	S. 55
Abb. 3.1.5	a) Yamamoto II, 100%, supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 56
Abb. 3.1.6	Motorik	S. 57
Abb. 3.1.7	sekundär-Somatosensorik	S. 57
Abb. 3.2.1a-f	a: Versuchsaufbau b: Position 0: S1 c: Position 1: S2a d: Position 2: S2b e: Position 3: S1 K f: Position 4: M1	S. 60 S. 61
Abb. 3.2.2a	YII 100%	S. 62
Abb. 3.2.2b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.2a	S. 63

Abb. 3.2.3a	YII 50%	S. 64
Abb. 3.2.3b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.3a	S. 65
Abb. 3.2.4a	OMg, 100%	S. 66
Abb. 3.2.4b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.4a	S. 67
Abb. 3.2.5a	OMg 50%	S. 68
Abb. 3.2.5b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.2.5a	S. 69
Abb. 3.2.6	Feldpotentiale	S. 70
Abb. 3.2.7a-b	a) Yamamoto II, 100%,supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 71
Abb. 3.2.7c-d	c) Yamamoto II, 50%, supragranulär d) Yamamoto II, 50% infragranulär	S. 72
Abb. 3.2.7e-f	e) OMg, 100%, supragranulär f) OMg, 100%, infragranulär	S. 73

Abb. 3.2.7g-h	g) OMg, 50%, supragranulär h) OMg, 50%, infragranulär	S. 74
Abb. 3.2.8a-b	Motorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 75
Abb. 3.2.9a-b	Sekundär-Somatosensorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 76
Abb. 3.3.1a-c	a) Versuchsaufbau b) Position 0: S1 c) Position 1: S1/S2	S. 79
Abb. 3.3.1d-f	d) Position 2: S2 e) Position 3: S1 K f) Position 4: M1	S. 80
Abb. 3.3.2a	YII, 100%	S. 81
Abb. 3.3.2b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.2a	S. 82
Abb. 3.3.3a	YII, 50%	S. 83
Abb. 3.3.3b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.3a	S. 84
Abb. 3.3.4a	OMg, 100%	S. 85

Abb. 3.3.4b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.4a	S. 86, 87
Abb. 3.3.5a	OMg 50%	S. 88
Abb. 3.3.5b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.3.5a	S. 89, 90
Abb. 3.3.6a-d	Feldpotentiale a) YII, 100% b) YII, 50% c) OMg, 100% d) OMg, 50%	S. 91
Abb. 3.3.7a-b	a) Yamamoto II, 100%,supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 92
Abb. 3.3.7c-d	c) Yamamoto II, 50%, supragranulär d) Yamamoto II, 50%, infragranulär:	S. 93
Abb. 3.3.7e-f	e) OMg, 100%, supragranulär f) OMg, 100%, infragranulär	S. 94
Abb. 3.3.7g-h	g) OMg, 50%, supragranulär h) OMg, 50%, infragranulär	S. 95
Abb. 3.3.8a-b	Motorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 96
Abb. 3.3.9a-b	sekundär- Somatosensorik	S. 97

Abb. 3.4.1a-c	a) Versuchsaufbau b) Position 0: S1 c) Position 1: S1/S2	S. 100
Abb. 3.4.1d-f	d) Position 2: S2 e) Position 3: M1a f) Position 4: M1b	S. 101
Abb. 3.4.2a	YII 100%	S. 102
Abb. 3.4.2b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.2a	S. 103
Abb. 3.4.3a	YII 50%	S. 104
Abb. 3.4.3b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.3a	S. 105
Abb. 3.4.4a	OMg 100%	S. 106
Abb. 3.4.4b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.4a	S. 107, 108
Abb. 3.4.5a	OMg 50%	S. 109
Abb. 3.4.5b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.4.5a	S. 110, 111

Abb. 3.4.6a-d	Feldpotentiale a) YII, 100% b) YII, 50% c) OMg, 100% d) OMg, 50%	S. 112
Abb. 3.4.7a-b	a) Yamamoto II, 100%, supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 113
Abb. 3.4.7c-d	c) Yamamoto II, 50%, supragranulär d) Yamamoto II, 50%, infragranulär	S. 114
Abb. 3.4.7e-f	e) OMg, 100%, supragranulär f) OMg, 100%, infragranulär	S. 115
Abb. 3.4.7g-h	g) OMg, 50%, supragranulär h) OMg, 50%, infragranulär	S. 116
Abb. 3.4.8	Motorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 117
Abb. 3.4.9	sekundär- Somatosensorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 118
Abb. 3.5.1a-c	a) Versuchsaufbau b) Position 0: S1 c) Position 1: S2a	S. 121
Abb. 3.5.1d-e	d) Position 2: S2b e) Position 3: M1	S. 122
Abb. 3.5.2a	YII, 100%	S. 123

Abb. 3.5.2b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.2a	S. 124
Abb. 3.5.3a	YII, 50%	S. 125
Abb. 3.5.3b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.3a	S. 126
Abb. 3.5.4a	OMg, 100%	S. 127
Abb. 3.5.4b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.4a	S. 128
Abb. 3.5.5a	OMg, 50%	S. 129
Abb. 3.5.5b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.5.5a	S. 130
Abb. 3.5.6a-d	Feldpotentiale a) YII, 100% b) YII, 50% c) OMg, 100% d) OMg, 50%	S. 131
Abb. 3.5.7a-b	a) Yamamoto II, 100%, supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 132
Abb. 3.5.7c-d	c) Yamamoto II, 50%, supragranulär d) Yamamoto II, 50%, infragranulär	S. 133

Abb. 3.5.7e-f	e) OMg, 100%, supragranulär f) OMg, 100%, infragranulär	S. 134
Abb. 3.5.7g-h	g) OMg, 50%, supragranulär h) OMg, 50%, infragranulär	S. 135
Abb. 3.5.8	Motorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 136
Abb. 3.5.9	sekundär-Somatosensorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 137
Abb. 3.6.1a-c	a) Versuchsaufbau b) Position 0: S1 c) Position 1: S1/S2	S. 140
Abb. 3.6.d-f	d) Position 2: S2a e) Position 3: S2b f) Position 4: M1	S. 141
Abb. 3.6.2a	YII, 100%	S. 142
Abb. 3.6.2b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.2a	S. 143, 144
Abb. 3.6.3a	YII, 50%	S. 145
Abb. 3.6.3b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.3a	S. 146, 147
Abb. 3.6.4a	OMg, 100%	S. 148

Abb. 3.6.4b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.4a	S. 149, 150
Abb. 3.6.5a	OMg, 50%	S. 151
Abb. 3.6.5b	Originale der Fluoreszenzkurven aus 3.6.5a	S. 152, 153
Abb. 3.6.6a-d	Feldpotentiale a) YII, 100% b) YII, 50% c) OMg, 100% d) OMg, 50%	S. 154
Abb. 3.6.7a-b	a) Yamamoto II, 100%, supragranulär b) Yamamoto II, 100%, infragranulär	S. 155
Abb. 3.6.7c-d	c) Yamamoto II, 50%, supragranulär d) Yamamoto II, 50%, infragranulär	S. 156
Abb. 3.6.7e-f	e) OMg, 100%, supragranulär f) OMg, 100%, infragranulär	S. 157
Abb. 3.6.7g-h	g) OMg, 50%, supragranulär h) OMg, 50%, infragranulär	S. 158
Abb. 3.6.8a-b	Motorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 159
Abb. 3.6.9	Sekundär-Somatosensorik a) supragranulär b) infragranulär	S. 160

III

Tab. 2.1	Übersicht über die im Versuch verwendeten Lösungen in zeitlicher Abfolge und molarer Zusammensetzung	S. 30
----------	--	-------