

Der Verlauf motorischer Erholung nach Schlaganfall
– eine tierexperimentelle Studie am Rattenmodell

Inaugural–Dissertationsschrift
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Schubring-Giese, Maximilian Ernst Franz Robert

2015

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. U. Ziemann
2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h.c. N. Birbaumer

*„Ziel jeder Wissenschaft ist Erkenntnis des Lebens und seiner
Gesetze. Ergebnis jeder Wissenschaft ist Erkenntnis der Wirklichkeit
und unserer Gesetze.“*

Erich Kästner

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung	7
1.1 Schlaganfall	7
1.1.1 Epidemiologie und Risiko.....	7
1.1.2 Pathophysiologie.....	8
1.1.3 Klinik	9
1.1.4 Therapie.....	10
1.1.5 Prognose.....	11
1.2 Motorisches Lernen	12
1.2.1 Systematik von Langzeitgedächtnis-Systemen	12
1.2.2 Rolle der Proteinbiosynthese für motorisches Lernen	14
1.2.3 Funktionelle Topographie des motorischen Kortex während des Lernens ...	15
1.2.4 Synaptische Plastizität während motorischen Lernens.....	16
1.3 Motorische Rehabilitation	18
1.3.1 Motorische Erholung und motorische Kompensation	18
1.3.2 Funktionelle Topographie des motorischen Kortex während motorischer Rehabilitation	20
1.3.3 Strukturelle Plastizität nach einem Schlaganfall	23
1.3.4 Synaptische Plastizität nach einem Schlaganfall.....	24
1.4 Ziele der Arbeit	25
2 Material und Methoden	26
2.1 Versuchstiere und Versuchstierhaltung	26
2.2 Lernparadigma und Versuchsprotokolle	27
2.2.1 Lernparadigma.....	27
2.2.2 Vortraining.....	29

2.2.3 Greiftraining	30
2.2.4 Rehabilitationstraining.....	32
2.2.5 Versuchsprotokolle.....	33
2.3 Operative Eingriffe.....	34
2.3.1 Anästhesie	34
2.3.2 Photothrombose.....	34
2.3.3 Vermessung des motorischen Kortex	36
2.3.4 Tötungsmethode: Perfusion	38
2.4 Aufarbeitung der Hirnschnitte	38
2.4.1 Anfertigung der Hirnschnitte.....	38
2.4.2 Histologische Färbung nach Nissl.....	39
2.4.3 Volumenanalyse.....	39
2.5 Statistische Methoden.....	40
3. Ergebnisse	42
3.1. Einflüsse vorausgehender Fertigkeit auf motorisches Lernen und motorische Rehabilitation.....	43
3.2 Dynamik der Latenzzeiten.....	47
3.3 Morphologie der ischämischen Läsionen	48
3.4 Körpergewicht nach Operation	50
3.5 Sensibles Defizit nach Operation	51
4. Diskussion.....	52
4.1 Diskussion der Methode	52
4.1.1 Wahl des Läsionsmodells	52
4.1.2 Wahl des Lernparadgimas	56
4.2 Diskussion der Ergebnisse.....	59
4.2.1 Einfluss einer Läsion des motorischen Kortex auf das Wiedererlernen des Greifparadgimas	59

4.2.2 Unterschiede der sensiblen Defizite zwischen den Versuchsgruppen.....	62
4.2.3 Lage und Volumen der Läsionen	63
4.2.4 Unterschiede in den Latenzzeiten.....	64
5. Zusammenfassung	65
6. Anhang	68
6.1 Erläuterungen zur Tierhaltung.....	68
6.2 Abbildungsverzeichnis.....	68
6.3 Tabellenverzeichnis	68
6.4 Literaturverzeichnis.....	69
7. Erklärungen zum Eigenanteil	80
8. Veröffentlichungen	81
Danksagung	82
Lebenslauf	83

1 Einführung

1.1 Schlaganfall

Ein Schlaganfall ist einer der häufigsten Gründe für dauerhafte Behinderung (Mathers et al., 2008), die ein selbstständiges Leben oder eine Erwerbstätigkeit (Treger et al., 2007) oftmals verhindern.

Der Terminus Schlaganfall ist ein Überbegriff für Erkrankungen, die akut auftreten und eine Störung der Blutversorgung des Gehirns zur Folge haben. Ätiologisch lassen sich hierbei zerebrale Ischämien (Minderdurchblutung) von Hämorrhagien (Blutungen) unterscheiden. Da beide Entitäten ähnliche klinische Symptome aufweisen können, jedoch von der Pathophysiologie, Therapie und Prognose sehr unterschiedlich sind, wird im weiteren Verlauf nur auf die zerebrale Ischämie eingegangen, die in Deutschland mit einer Inzidenz von 137 pro 100 000 Einwohner den größten Anteil an Schlaganfällen ausmacht (Kolominsky-Rabas and Heuschmann, 2002).

1.1.1 Epidemiologie und Risiko

Die Inzidenz für einen erstmaligen Schlaganfall liegt zwischen 3,5 - 5,5% (Feigin et al., 2003). Die Wahrscheinlichkeit, dass nach einem ersten Ereignis ein zweites auftritt liegt bei ca. 12% pro Jahr (Petty et al., 1998). In Deutschland sind dabei mehr als die Hälfte der Patienten mit Schlaganfall älter als 75 Jahre (Kolominsky-Rabas and Heuschmann, 2002).

Im Jahr 2008 betrug der Anteil der über 65-Jährigen in Deutschland 20% und Hochrechnungen zufolge wird dieser Anteil bis ins Jahr 2060 auf 34% ansteigen (Bevölkerung Deutschlands bis 2060, Statistisches Bundesamt). Entsprechend zeigen die Berechnungen auf der Basis von Schlaganfall Registern, dass die Kosten für Patienten, welche zwischen 2006 und 2025 erstmalig an einem

Schlaganfall erkranken werden, ca. 109 Milliarden Euro betragen und somit weiter zunehmen werden (Kolominsky-Rabas, 2006).

1.1.2 Pathophysiologie

Zerebrale Ischämien entstehen durch Verschlüsse oder Engstellen (Stenosen) der hirnversorgenden Gefäße. Dadurch kommt es zu einer Minderversorgung mit Sauerstoff und einem Abfall des Perfusionsdrucks distal der entsprechenden Engstelle im Gefäß (Brandt et al., 2007). Ursache der Engstellen sind entweder thrombotische Auflagerungen an den Gefäßen oder fortgeleitete Thromben bzw. Emboli. Dabei ist die häufigste Ursache einer zerebralen Ischämie eine kardiale Emboliequelle (25,6%), gefolgt von makroangiopathischen Pathologien (20,9%) und den lakunären Ischämien (20,5%) (Grau et al., 2001). Infarkte anderer Ursachen (3,5%) beinhalten Dissektionen, Vaskulitiden, hämatologische Erkrankungen und weitere nicht-spezifizierte Entitäten.

Das Ausmaß der Schädigung der Nervenzellen hängt in hohem Maße von der Dauer und der Intensität der Reduktion der zerebralen Durchblutung ab. Nervenzellen haben einen hohen Energiebedarf und decken diesen fast ausschließlich durch die oxidative Phosphorylierung der Atmungskette, einen Prozess, der obligatorisch Sauerstoff und Glukose benötigt. Bleiben beide Substrate infolge einer Minderdurchblutung aus, kommt es zunächst zu einem Energieverlust. Etwa drei Minuten nach einer vollständigen Ischämie sind die Vorräte von Adenosintriphosphat (ATP) in der Nervenzelle aufgebraucht. Durch den Mangel an ATP kommt es zu einer Ansammlung von Glutamat im extrazellulären Raum, welches an die postsynaptischen Rezeptoren bindet und zu einem massiven Einstrom von Calciumionen in den intrazellulären Raum führt. Anschließend erfolgt eine übermäßige Aktivierung calciumabhängiger Enzyme, welche die Zellmembran destabilisieren, so dass diese nicht mehr in der Lage ist, den Ionengradienten an ihrer Membran aufrechtzuerhalten. Um den osmotischen Druck auszugleichen, strömt Wasser in die Zellen und erzeugt

ein zytotoxisches Ödem, welches letztlich mit der Apoptose oder Nekrose, abhängig von der Ischämiedauer, des betroffenen Hirngewebes endet (Rosenberg, 1999; Lo et al., 2005).

1.1.3 Klinik

Die klinische Symptomatik, mit der sich ein ischämischer Schlaganfall präsentiert, ist äußerst vielfältig aufgrund der unterschiedlichen Hirnareale mit jeweils spezifischen Funktionen, die durch eine Minderdurchblutung betroffen sein können. Mit ca. 80% ist das häufigste klinische Erscheinungsbild eines Schlaganfalls die halbseitige Lähmung einer oder mehrerer Extremitäten (Barker and Mullooly, 1997), gefolgt von Lähmungen der Gesichtsmuskulatur, die in etwa bei 60% der Fälle auftreten. Den motorischen Lähmungserscheinungen folgen sensible Defizite der Extremitäten (42,3%) und des Gesichts (22,9%) als mögliche akute Symptomatik. Sprachstörungen (26,1%), Hemianopsie (15,4%) und Diplopie (5,2%) können zudem ebenso auftreten wie Kopfschmerzen (22,4%), Schwindel (2,5%) und Gangstörungen (11,4%). Die oben aufgeführten Häufigkeiten stammen aus einer Studie von Rathore et al., basierend auf einer Stichprobe von 402 Patienten mit akut aufgetretenen ischämischen Schlaganfällen (Rathore et al., 2002).

Neben den akuten physischen Symptomen können aber auch psychologische und neuropsychologische Defizite nach einer zerebralen Ischämie auftreten. So leidet etwa ein Drittel aller überlebenden Patienten nach einem Schlaganfall an Depressionen (Hackett et al., 2005). Etwa ebenso viele Patienten leiden zudem an neuropsychologischen Defiziten mit Störungen der exekutiven Funktionen, der Aufmerksamkeit und des Gedächtnisses (del Ser et al., 2005; Planton et al., 2012). Brandt et al. schätzen, „dass jeweils ein Viertel der Schlaganfallpatienten vollständig gesundet, ein Viertel eine leichte Behinderung zurückbehält, ein Viertel schwer behindert sowie pflegeabhängig ist und das letzte Viertel an den unmittelbaren oder mittelfristigen Folgen des Schlaganfalls verstirbt“ (Brandt et al., 2007).

Insofern leiden viele Patienten, welche die initiale Phase nach einem Schlaganfall überlebt haben, an den Langzeitfolgen, die häufig die Fortsetzung des gewohnten Alltages und der Arbeitstätigkeit verhindern. Um den Patienten bei der Rückkehr in sein gewohntes Umfeld zu unterstützen, bedarf es umfangreicher Therapiemaßnahmen.

1.1.4 Therapie

Behandlungsstrategien bei Schlaganfallpatienten lassen sich in zwei Gruppen aufteilen: einerseits die Therapien während der Akutphase, die innerhalb des ersten Monats nach Erkrankungsbeginn von großer Bedeutung sind, und andererseits die Therapien in der chronischen Krankheitsphase.

In der Akutphase der Erkrankung wird eine Lyse-Therapie angestrebt. Hierbei wird versucht, mittels rekombinant hergestelltem gewebespezifischem Plasminogenaktivator (rt-PA) das Blutgerinnsel (Thrombus) aufzulösen und das betroffene Gefäß wieder durchgängig zu machen. Dabei spielt die Zeit der systemischen Medikamentenapplikation eine wichtige Rolle. Bis zu viereinhalb Stunden nach Symptombeginn lassen sich noch signifikante Behandlungserfolge nachweisen (Hacke et al., 2004), wobei der heilende Nutzen umso größer ist, je kürzer das Zeitfenster zwischen Symptombeginn und Therapieeinleitung ist. Analog zu der systemischen Thrombolyse kann bei Verschlüssen von großen Gefäßen auch eine lokale Thrombolyse oder Thrombektomie über einen endovaskulären Zugang durchgeführt werden (Furlan et al., 1999).

Zusätzlich leistet die intensive ärztliche und pflegerische Überwachung auf einer „Schlaganfall-Einheit“ (stroke unit) heutzutage ebenfalls einen wichtigen Beitrag zur Akuttherapie bei Schlaganfallpatienten, nachdem gezeigt werden konnte, dass hierdurch eine deutlich bessere Prognose für die Patienten erzielt werden kann (Indredavik et al., 1991).

In Abhängigkeit der zugrundeliegenden Ursache eines Schlaganfalls und des individuellen Risikoprofils des Patienten ist eine Sekundärprophylaxe nach dem Erstereignis indiziert. Hierdurch soll die Wahrscheinlichkeit eines erneuten Schlaganfalls reduziert werden.

Die heute verfügbaren Therapien für die Rehabilitation nach einem Schlaganfall umfassen Trainingstherapien aus dem Gebiet der Physiotherapie, der Ergotherapie und der Logopädie. Das klinische Bild, das der Patient aufgrund seiner Defizite aufweist, bestimmt die Zuteilung zu den oben genannten Gebieten. Welche speziellen physio- oder ergotherapeutische Maßnahmen dem Patienten jedoch am besten helfen, ist bislang unklar und obliegt meist dem individuellen Therapieverlauf. Es konnte gezeigt werden, dass es zwischen den unterschiedlichen Methoden der Physiotherapie keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf ihre Wirksamkeit gibt, residuelle Defizite nach einem Schlaganfall zu verbessern (Pollock et al., 2008; Kollen et al., 2009).

Um dauerhafte Behinderungen und steigende Kosten für den Patienten und die Krankenkassen zu vermeiden, müssen besser geeignete Therapien der Neurorehabilitation entwickelt und eingesetzt werden. Damit dieses Ziel erreicht werden kann, bedarf es eines genaueren Verständnisses der zugrunde liegenden Mechanismen des motorischen Lernens und der motorischen Rehabilitation.

1.1.5 Prognose

Die Prognose nach einem Schlaganfall ist in hohem Maße von der Ätiologie und dem Ausmaß der Läsion abhängig (Kolominsky-Rabas and Heuschmann, 2002). Ischämien weisen insgesamt eine deutlich geringere Letalitätsrate auf als Hämorrhagien. Nach den Daten des Erlanger Schlaganfall-Registers versterben 11,5% der Patienten mit ischämischen Schlaganfall innerhalb des ersten Monats nach Auftreten der Erkrankung. Nach drei Monaten bzw. einem Jahr wächst die Zahl auf 20,1% respektive 29,9% an (Kolominsky-Rabas and Heuschmann, 2002).

Die Prognose nach einem Schlaganfall bezieht sich jedoch nicht nur auf die Überlebensrate, sondern auch auf die Fähigkeit der Patienten, nach der Erkrankung wieder zu arbeiten und das frühere Leben weiterzuleben. Hier zeigt sich, dass die Zahl derer, die nach durchgeführter Rehabilitation wieder zu 100 Prozent in ihrem davor ausgeführten Beruf arbeiten konnten, in Deutschland bei 11,3% liegt, wobei ein hohes Einkommen und ein hohes Maß an Bildung positive Prädiktoren für einen beruflichen Wiedereintritt sind (Sven Trygged, 2011).

1.2 Motorisches Lernen

Die Entwicklung und das Erlernen motorischer Fähigkeiten sind essenzielle Prozess jedes Lebewesens, um auf Umwelteinflüsse zu reagieren, sich neuen Situationen anzupassen und für seine Grundbedürfnisse zu sorgen. Bewegungsabläufe wie das Gehen erlernen wir als Kind und führen es dann den Rest unseres Lebens automatisiert und ohne nachzudenken aus. Doch es gibt auch Bewegungsabläufe, wie zum Beispiel das Spielen eines Musikinstruments oder die Ausübung einer Sportart, welche nur dann gemeistert werden können, wenn sie über Monate und Jahre hinweg regelmäßig einstudiert und geübt werden. All diesen unterschiedlichen Arten des motorischen Lernens ist gemein, dass das Gelernte langfristig abgespeichert wird und jederzeit abrufbar bleibt, womit es den Langzeitgedächtnis-Systemen zugeordnet werden kann.

1.2.1 Systematik von Langzeitgedächtnis-Systemen

Die Erforschung motorischen Lernens hängt eng mit dem Bestreben zusammen, Gedächtnisfunktionen im Allgemeinen besser zu verstehen.

Entscheidende Schritte in der Erforschung des motorischen Lernens waren die Arbeiten von Brenda Milner über den Patienten H.M., der 1953 nach einer bitemporalen medialen Temporallappenresektion eine schwere anterograde

Amnesie entwickelte (Milner et al., 1998). In den Untersuchungen zeigten sich massive neuropsychologische Defizite bezüglich Faktenwissen und Erinnerung an Erlebnisse, die nach der Operation aufgetreten sind. Andererseits zeigte sich jedoch, dass H.M. durchaus noch fähig war, neue motorische Fertigkeiten zu erlernen, auch wenn er sich an die durchgeführten Trainingssitzungen selbst nicht erinnern konnte. Unter anderem war es die Erkenntnis dieser Fallbeschreibung, welche zu folgendem Gedächtnismodell führte: Ein deklaratives, explizites Gedächtnis, welches für das bewusste Faktenwissen und das episodische Gedächtnis zuständig ist, wird von einem nicht-deklarativen, impliziten Gedächtnis unterschieden. Letzteres ermöglicht unter anderem das unbewusste Erlernen von motorischen Fertigkeiten (Cohen and Squire, 1980). Motorisches Lernen wird dabei als prozedurales Lernen verstanden und ist Teil des nicht-deklarativen Gedächtnisses (siehe Abbildung 1).

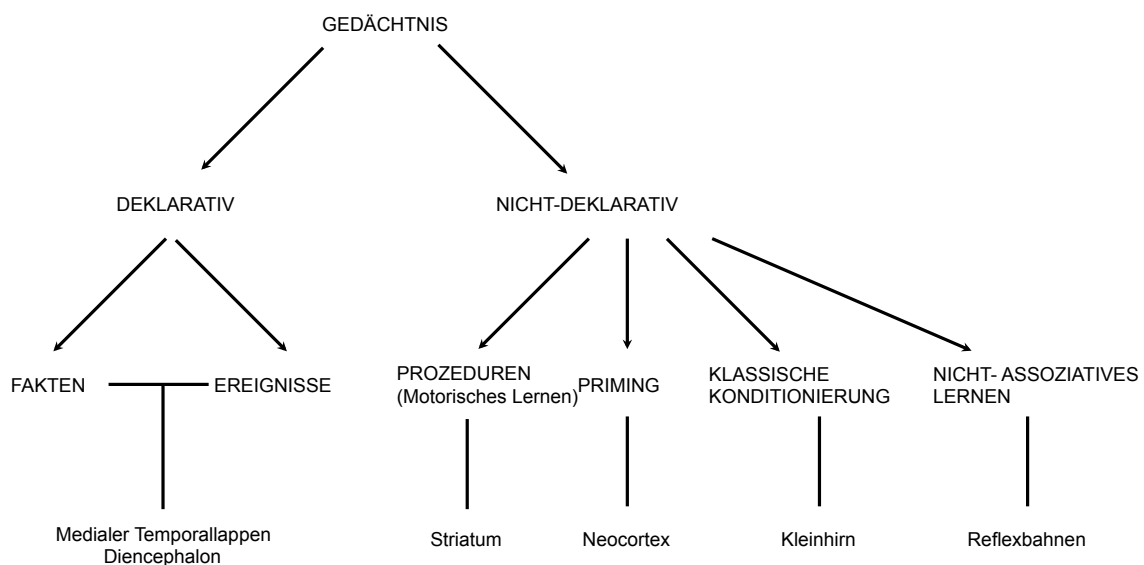


Abbildung 1: Systematik der Langzeitgedächtnis-Systeme von Säugetieren (nach Squire, 2004). Unter den jeweiligen Systemen wird die spezifische anatomische Region abgebildet.

1.2.2 Rolle der Proteinbiosynthese für motorisches Lernen

Die Einteilung in unterschiedliche Gedächtnissysteme basiert nicht alleine auf den unterschiedlichen Qualitäten der Lerninhalte. Es konnten in den letzten 40 Jahren auch immer detailliertere Ergebnisse über die anatomischen Korrelate der einzelnen Gedächtnisarten (Luft, 2004; Diedrichsen, 2005; Debas et al., 2010; Donchin et al., 2011) beschrieben werden. Trotz der unterschiedlichen anatomischen Strukturen und individuellen Netzwerkverschaltungen haben alle Arten von Langzeitgedächtnis dasselbe Grundprinzip. Sie bestehen aus den folgenden vier Komponenten: Erlernen (Kodierung) einer neuen Fähigkeit respektive neuen Wissens, Speicherung (Konsolidierung) der Lerninhalte, Abrufen der Lerninhalte (Reproduktion) mit Rekonsolidierung und zuletzt das Vergessen des Gelernten (Sweatt, 2009).

In etwa zeitgleich zu den Arbeiten von Milner und Squirre arbeitete Eric Kandel seit den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts an der Erforschung der Mechanismen dieser vier Komponenten des Langzeitgedächtnisses. Hierfür entwickelte er ein neues Tiermodell. Mittels Versuchen an der *Aplysia californica*, dem kalifornischen Seehasen, einer Meeresschnecke, die sich dank ihrer großen Neuronen sehr gut für neurophysiologische Experimente eignet, war es ihm möglich, elektrophysiologische Ableitungen einzelner Nerven während bestimmter Lernprozesse durchzuführen und präzise Daten über Neurotransmitter in den beteiligten Nervenzellen zu sammeln. Mit seinem Lernmodell für Habituation (Gewöhnung), Sensibilisierung und klassische Konditionierung war es im Experiment möglich, zwischen Kurzzeitgedächtnis und Langzeitgedächtnis zu unterscheiden, wobei sich zeigte, dass letzteres nur durch eine funktionierende Proteinbiosynthese möglich ist (Kandel, 2009).

Von diesen Erkenntnissen ausgehend, konnten andere Forschungsgruppen zeigen, dass auch bei Säugetieren die langfristige Speicherung von Lerninhalten anderer Gedächtnisarten auf eine intakte Proteinbiosynthese angewiesen ist (Nader et al., 2000; Schafe and LeDoux, 2000).

Im Tierversuch mit Ratten konnten Luft et al. nachweisen, dass eine funktionierende Proteinbiosynthese im motorischen Kortex für einen intakten Lernprozess unabdingbar ist (Luft et al. 2004). In dieser Arbeit konnte auch gezeigt werden, dass die Proteinsynthese zwar für die Speicherung der Lerninhalte in der initialen Lernphase notwendig ist, nicht aber für die Reproduktion des Gelernten nach Ende des Lernprozesses, d.h. auf dem Plateau der Lernkurve. Die Hemmung der Proteinbiosynthese wirkte sich also nur auf die initiale Lernphase (Konsolidierung) negativ aus, nicht aber auf die Plateauphase (Reproduktion), nachdem die Tiere den Greiftest bereits gelernt hatten.

1.2.3 Funktionelle Topographie des motorischen Kortex während des Lernens

Für Wirbeltiere ist neben der oben beschriebenen intakten zellulären Funktion auch die intakte motorische Großhirnrinde ein notwendiges Merkmal für motorisches Lernen. Diese weist eine somatotope Organisation auf, das heißt Kopf, Rumpf und Extremitäten werden in konkreten Regionen abgebildet (Penfield and Rasmussen, 1968). Auf tieferer Ebene sind die kortikalen Neurone in Gruppen organisiert, die Muskeln ansteuern, um damit spezifische Bewegungen der Gelenke auszuführen. Elektrophysiologisch lässt sich dies durch intrakortikale oder epidurale Mikrostimulation zeigen (Molina-Luna et al., 2007). Die graphische Darstellung der Repräsentationen auf dem Kortex wird auch als motorische Karte bezeichnet und repräsentiert die Verteilung absteigender Neuronenpopulationen zu den jeweiligen Körperteilen (Hosp and Luft, 2011). Beim Erlernen neuer motorischer Aufgaben vergrößert sich die topographische Repräsentation im motorischen Kortex für die jeweils betroffenen Muskelgruppen auf Kosten benachbarter Regionen der gleichen Extremität (Pascual-Leone et al., 1995; Nudo et al., 1996a; Kleim et al., 1998). Dieser Mechanismus konnte sowohl im Tierversuch als auch am Menschen gezeigt werden und ist zugleich spezifisch für den jeweiligen Lerninhalt. Eine

alleinige Aktivität ohne ersichtliches Lernen erzeugt keine Verschiebung kortikaler Repräsentationen (Kleim et al., 1998; Molina-Luna et al., 2007). Unterbindet man die Veränderungen der Somatotopie durch Lädieren der cholinergen kortikalen Afferenzen, so kann man motorisches Lernen hemmen (Conner et al., 2003).

Vergrößerungen der kortikalen Repräsentation bei Ratten wurden auch mit einer Verzögerung von circa einer Woche nach Lernbeginn gezeigt, einem Zeitpunkt, an dem die Lernkurve der Tiere jedoch bereits ihr Plateau erreicht hatte (Kleim, 2004).

Auf der anderen Seite führt eine Trainingspause von acht Tagen zwar zu einer Rückbildung der motorischen Repräsentationen der Hirnrinde auf ein initiales Niveau, aber die motorische Leistung der Tiere in dem Greiftest bleibt konstant (Molina-Luna et al., 2008). Dass die Veränderungen der somatotopischen Karte die Gedächtnisinhalte, das Engramm, widerspiegeln, ist damit unwahrscheinlich. Möglicherweise spiegelt eine Vergrößerung der motorischen Karte einen Prozess wider, der während des motorischen Lernens stattfindet; sozusagen ein verzögertes Echo struktureller Veränderungen, die während des Lernens auftreten (Bryant et al., 2011; Hosp and Luft, 2011).

Plastische Veränderungen während motorischen Lernens beschränken sich jedoch nicht allein auf die motorische Karte der Großhirnrinde, sondern betreffen auch die Eigenschaften von Synapsen, den Verbindungen zwischen einzelnen Neuronen.

1.2.4 Synaptische Plastizität während motorischen Lernens

1973 konnten Tim Bliss und Terje Lomo mit der „Langzeit-Potenzierung“ (engl. Long Term Potentiation, LTP) einen zellulären Mechanismus nachweisen, der eine Form synaptischer Plastizität im Hippokampus darstellt. Durch repetitive Stimulation zwischen zwei Nervenzellen kommt es zu einer lang andauernden Verstärkung der synaptischen Übertragung (Bliss and Lomo, 1973). Seitdem

konnte gezeigt werden, dass „LTP“ nicht nur im Hippokampus, sondern unter anderem auch in der Amygdala (Rogan et al., 1997) und dem motorischen Kortex (Rioult-Pedotti et al., 2000) auslösbar ist und dort eng mit motorischem Lernen zusammenhängen.

Rioult-Pedotti und ihre Mitarbeiter konnten zeigen, dass es bei motorischem Lernen ebenfalls zu einer Verstärkung horizontaler kortikaler Verbindungen der Schichten II/III im primär-motorischen Kortex kommt (Rioult-Pedotti et al., 2000).

Die synaptische Plastizität des Kortex lässt sich aber nicht ausschließlich anhand elektrophysiologischer Veränderungen nachweisen. Es treten auch strukturelle Veränderungen im Verlauf des Lernens auf. Pyramidenzellen der Schichten II/III und V des Motorkortex weisen nach Lernprozessen eine vergrößerte dendritische Oberfläche auf (Greenough et al., 1985; Withers and Greenough, 1989). In der Schicht V kommt es darüber hinaus zu einer Zunahme der Synapsendichte (Kleim, 2004). Motorisches Lernen führt somit zur Synaptogenese, dem Entstehen neuer Verbindungen zwischen Nervenzellen in der motorischen Großhirnrinde.

Xu und Mitarbeiter konnten indes zeigen, dass bei Mäusen die Anzahl an dendritischen Dornfortsätzen, postsynaptische Anteile exzitatorischer Synapsen, in der Zellschicht V der primär motorischen Hirnrinde innerhalb einer Stunde nach Trainingsbeginn eines Greifparadigmas signifikant zunimmt. Von diesen dendritischen Dornfortsätzen bleiben jedoch nicht alle bestehen, sondern sie reduzieren sich im Verlauf wieder.

Zusammengefasst wird durch motorisches Lernen eine prompte, selektive Reorganisation auf Ebene der Synapsen im Motorkortex ausgelöst.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass die oben beschriebenen Merkmale motorischen Lernens sich nur auf die motorische Großhirnrinde beziehen. Tatsächlich sind jedoch viele Hirnregionen in das Erlernen, Speichern und Abrufen von Bewegungsprogrammen involviert. Zudem gibt es auch unter dem Überbegriff des motorischen Lernens Unterformen wie das Erlernen

motorischer Sequenzen, welches die Basalganglien benötigt, und die motorische Adaptation, die auf eine intakte Funktionalität des Kleinhirns angewiesen ist (Domenger and Schwarting, 2006; Prsa and Thier, 2011; Shmuelof and Krakauer, 2011).

Viele Experimente bezüglich Veränderungen des Gehirns während motorischen Lernens konzentrieren jedoch sich auf den motorischen Kortex.

1.3 Motorische Rehabilitation

Das folgende Kapitel behandelt die neurophysiologischen Mechanismen, die eine Erholung von Funktionen nach einer Hirnverletzung ermöglichen. Dabei werden sowohl Daten aus tierexperimentellen Testreihen als auch aus Studien mit Menschen vorgestellt.

Grundlegend ist zu erwähnen, dass die Situation der motorischen Rehabilitation zumindest im Menschen deutlich komplexer ist als die des motorischen Lernens. Zum einen besteht auf Ebene der Körperstruktur eine Läsion der Pyramidenbahnen, wodurch es zu Muskelspastizität oder -lähmung und Koordinationsstörungen mit konsekutiver Beeinträchtigung des Bewegungsumfangs der Extremitäten kommt (Wissel et al., 2013). Zum anderen leiden etwa 30% der Patienten nach einem Schlaganfall an einer Depression (Hackett et al., 2005) und neuropsychologischen Defiziten (Planton et al., 2012). Beide Faktoren beeinflussen nachhaltig die motorische Rehabilitation, wobei der Umfang des Einflusses unklar ist.

1.3.1 Motorische Erholung und motorische Kompensation

Ein anderes Problem, das bei motorischer Rehabilitation im Vergleich zum Lernen beim Gesunden besteht, ist die Unterscheidung zwischen motorischer Erholung und motorischer Kompensation. Beide Begriffe sind von entscheidender Bedeutung für die Verbesserung von körperlichen Defiziten nach einem Schlaganfall. Sie werden häufig von unterschiedlichen

Fachrichtungen heterogen benutzt, wodurch es zu Missverständnissen kommen kann. Zum besseren Verständnis folgt eine kurze Erklärung, die auf der Arbeit von Levin et al. basiert (2008).

Auf funktionell-struktureller Ebene bedeutet Erholung, dass initial zerstörtes Gewebe seine verlorene Funktionsfähigkeit wiedererlangt. Das ist zum Beispiel in der Penumbra, dem Periinfarkt-Areal, möglich. Auf derselben Ebene bedeutet Kompensation hingegen, dass Nervengewebe, welches ursprünglich eine andere Funktion hatte, die Aufgaben der zerstörten Zellen übernimmt.

In Bezug auf die Ebene der Körperfunktionen, zum Beispiel das Greifen eines Stifts, versteht man unter motorischer Erholung, dass eine bestimmte Bewegung nach erfolgreicher Therapie exakt so ausgeführt wird, wie dies vor dem Schlaganfall der Fall war. Kompensation wiederum bedeutet, dass zwar die gleiche Extremität benutzt wird, die Kinematik und Dynamik der Bewegung jedoch nicht mehr dieselbe ist wie zuvor.

Bezogen auf die Aktivitätsebene wiederum bedeutet Erholung, dass man mit der gleichen Hand schreibt wie vor dem Schlaganfall, obwohl diese nun versehrt ist. In diesem Fall würde Kompensation bedeuten, dass der Patient beginnt, mit der unversehrten, jedoch auch ungewohnten Hand zu schreiben, um seine Behinderung zu kompensieren.

Tabelle 1: Terminologie: Motorische Erholung und motorische Kompensation (modifiziert nach Levin et al., 2008)

Ebene	Motorische Erholung	Motorische Kompensation
Körperstrukturen	Ursprüngliche Funktion in zerstörtem Gewebe wiederherstellen	Intaktes Gewebe übernimmt die Funktion des zerstörten Gewebe
Körperfunktionen	Ursprünglicher Bewegungsablauf wird wieder hergestellt	Ursprünglicher Bewegungsablauf wird auf neue Art ausgeführt
Aktivität	Aufgabe wird mit der gleichen Extremität ausgeführt wie zuvor	Aufgabe wird mit der gesunden Extremität ausgeführt

Wie bereits erwähnt ist unklar, in welchem Ausmaß beide Prozesse an der motorischen Rehabilitation beteiligt sind. Es konnte jedenfalls bei Ratten gezeigt werden, dass auf Ebene der Körperfunktionen beide Prozesse auftreten, und dass eine bessere Rehabilitation häufig einhergeht mit einem höheren Maß an motorischer Erholung (Moon et al., 2009; Braun et al., 2012).

1.3.2 Funktionelle Topographie des motorischen Kortex während motorischer Rehabilitation

Dass die Dynamik von kortikal repräsentierten Bewegungen nicht nur während des motorischen Lernens, sondern auch nach Läsionen der motorischen Hirnrinde von Bedeutung ist, konnten Nudo und Mitarbeiter nachweisen. Sie zeigten, dass es nach einer ischämischen Läsion der Großhirnrinde von Totenkopfflehen ebenfalls zu einer Veränderung der motorischen Karte kommt.

In den Studien von Nudo und seinen Mitarbeitern wurde die kortikale Repräsentation der Finger- und Handbewegungen durch einen ischämischen

Infarkt teilweise zerstört. Ohne eine spezifische Therapie kommt es nach der Läsion zu keiner erneuten Repräsentation der Bewegungen, die zuvor im Infarktareal lagen. Des Weiteren findet sogar eine Verkleinerung der Repräsentationen von Handbewegungen im benachbarten, eigentlich noch intakten Gewebe statt (Nudo and Milliken, 1996). In einer zweiten Versuchsreihe konnte dann gezeigt werden, dass rehabilitatives Training im Anschluss an eine kortikale Läsion zu einer topographischen Ausweitung der Fingerrepräsentation führt. Bewegungen, die vormals im Infarktgewebe auftraten, breiten sich dabei in benachbarte kortikale Gebiete aus, die zuvor anderen Bewegungen zugeordnet waren (Nudo et al., 1996b). Analog hierzu konnte auch bei Menschen nach einem Schlaganfall gezeigt werden, dass es durch rehabilitative Trainingstherapie zu einer Vergrößerung der zuvor geschädigten Handrepräsentationen kommt (Traversa et al., 1997). Zudem zeigte sich im EXCITE-Trial, dass ein vergleichbares Rehabilitationstraining, wie es bei den Totenkopffäffchen angewandt wurde, auch bei Menschen zu einer signifikanten Verbesserung der motorischen Defizite führt (Wolf et al., 2006).

Die Möglichkeit der kortikalen Plastizität nach ischämischen Läsionen scheint jedoch auf ein relativ enges Zeitfenster nach Auftreten einer Läsion begrenzt zu sein, welches sowohl in Ratten (Biernaskie, 2004) als auch in Totenkopffäffchen (Barbay et al., 2006) nachgewiesen werden konnte. Die Länge des kritischen Zeitfensters beträgt dabei etwa drei bis vier Wochen, wobei in beiden Studien gezeigt werden konnte, dass ein Therapiebeginn vier Wochen nach Infarktinduktion zu keiner Regeneration oder Ausweitung der zerstörten Bewegungsrepräsentation führt, sondern ein Schrumpfen derselben zur Folge hat.

Im Menschen fanden sich ähnliche Phänomene. Die kortikale Repräsentation des *Musculus abductor digiti minimi* war nach einem Schlaganfall zunächst verkleinert und konnte durch rehabilitatives Training wieder vergrößert werden (Traversa et al., 1997). Die Vergrößerung korrelierte dabei mit dem Ausmaß der Erholung. Im Gegensatz zu den Tierversuchen lag bei diesem Experiment der

Zeitraum zwischen Auftreten des Schlaganfalls und dem Therapiebeginn bei durchschnittlich zwei Monaten.

Weitere Studien haben die kortikale Aktivität während der Rehabilitation nach Schlaganfall mittels funktioneller Magnetresonanztomographie untersucht, einem Verfahren, bei dem aktivierte Hirnareale basierend auf der Blutoxygenierung dargestellt werden. Hierbei zeigte sich zum einen, dass es zwei unterschiedliche Aktivitätsmuster gibt, die davon abhängig sind, ob die Läsion den primärmotorischen Kortex betrifft oder subkortikal gelegene Anteile der Pyramidenbahn beschädigt sind (Feydy et al., 2002). Eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der motorischen Erholung und dem jeweiligen Aktivitätsmuster war in dieser Studie aber nicht möglich. Im Gegensatz dazu konnte in einem ähnlichen Experiment bei einer deutlich größeren Anzahl von Probanden festgestellt werden, dass das Ausmaß der bewegungsabhängigen Gehirnaktivität negativ linear mit der Erholung korreliert (Ward et al., 2006). Zusätzlich konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass die Hirnaktivität in bewegungsassoziierten Hirnarealen wie dem supplementärmotorischen Kortex, dem prämotorischen Kortex, dem Gyrus cinguli, dem Inselkortex, dem Kleinhirn und im Putamen und Thalamus sowohl ipsi- als auch kontralateral gesteigert wird.

Zusammengefasst findet auf Ebene der motorischen Karten der Großhirnrinde eine Reorganisation der Bewegungsrepräsentationen statt. Dabei kommt es zu einer Ausweitung der zerstörten Bewegungsabbildungen auf benachbarte, intakte Gebiete. Dieser Prozess ist jedoch im Tierversuch auf etwa vier Wochen nach Symptombeginn beschränkt. Doch trotz der durch Training induzierten Veränderungen in der kortikalen Somatotopie kommt es auch spontan - ohne spezielles Training - zu einer Verbesserung der Handfunktion nach experimenteller Ischämie im Tiermodell (Nudo and Milliken, 1996).

Die von Ward et al. dargestellte Ausweitung der bewegungsabhängigen Hirnaktivität beim Menschen während der Erholung nach einem Schlaganfall ist interessant, weil sie negativ mit der Erholungsrate korreliert. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die oben genannten Hirnareale die Funktion des

primärmotorischen Kortex übernehmen, falls dieser zu sehr geschädigt ist. Dieser Kompensationsmechanismus durch die nicht-primärmotorischen Areale funktioniert jedoch nur unzureichend, was sich in der schlechteren Erholung widerspiegelt; dies liegt möglicherweise daran, dass deutlich mehr Projektionen zu den Motoneuronen im Vorderhorn aus dem primärmotorische Kortex entspringen im Vergleich zu den nicht-primärmotorischen Arealen (Maier et al., 2002).

1.3.3 Strukturelle Plastizität nach einem Schlaganfall

Neben den oben beschriebenen Veränderungen der motorischen Somatotopie der Großhirnrinde kommt es auch zu strukturellen Veränderungen im Bereich des ischämischen Areals und der benachbarten Gebiete, dem Perinfarkt-Areal (PIA). Diese Prozesse finden einerseits im Rahmen einer beginnenden Narbenbildung, andererseits im Zuge eines plastischen Umbaus statt.

In Mäusen konnte nach einer ischämischen Läsion, jedoch ohne ein rehabilitatives Training, ein Umbau auf Ebene der Dendriten mittels 2-Photonen-Mikroskopie beobachtet werden. Dabei kommt es innerhalb der ersten zwei Wochen nach einem Schlaganfall zu einem extensiven Wachstum der apikalen Dendritenausläufer und gleichzeitig zu einem Rückzug selbiger, so dass ein balancierter Umbau des Dendritensystems anzunehmen ist (Brown et al., 2009). Die gleiche Forschungsgruppe konnte in einer vorherigen Untersuchung zeigen, dass feinste Nervenzellausläufer der Dendriten (engl. dendritic spines) innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Läsion an Zahl verlieren, jedoch gleichzeitig an Länge gewinnen, so dass die Dendritenoberfläche insgesamt in etwa konstant bleibt.

Doch die strukturellen Umbauprozesse beschränken sich nicht allein auf die Dendriten der Nervenzellen, sondern finden auch in den Axonen und der Narbenbildung statt. Vor allem die Arbeiten von Thomas Carmichael und seiner Arbeitsgruppe konnten in den letzten Jahren detaillierte Erkenntnisse über die

Bedeutung von Narbenbildung und plastischer Reorganisation liefern. Das direkt dem Infarktkern anliegende Gewebe ist vor allem durch Apoptose, oxidative Schäden und gliotischen Umbau gekennzeichnet (Katsman et al., 2003). Um diese Region werden wachstumsfördernde Gene (engl. growth-promoting genes) vermehrt und wachstumshemmende Gene vermindert induziert (Carmichael et al., 2005). Folglich kann das Periinfarktgewebe in zwei Teile unterteilt werden, von denen der eine näher an der Infarktzone liegt und vor allem gliotisch umgebaut wird und der andere etwas weiter vom Infarktkern entfernt liegt und maßgeblich am plastischen Umbau und der Reorganisation des Kortex beteiligt ist. In Ratten konnte nach ischämischen Läsionen der Großhirnrinde ein Verlust an axonalen Verbindungen mit dem ipsilateralen Thalamus beobachtet werden und eine Zunahme an horizontalen Verbindungen durch axonale Aussprossung (engl. axonal sprouting), welche aktivitätsabhängig ist (Carmichael et al., 2001; Carmichael et al., 2002).

Zusammengefasst findet sowohl in den Dendriten als auch den Axonen im Periinfarkt-Areal nach einem Schlaganfall ein Umbau statt. Inwieweit dieser Umbau eine Rolle im Erholungsprozess spielt, ist bislang nicht geklärt. Die Hypothese ist jedoch wie oben beschrieben, dass die dem Infarktkern nahen Gebiete zur Narbenbildung beitragen, wohingegen die etwas entfernteren Gebiete in einen Zustand versetzt werden, in dem Reorganisation vereinfacht stattfinden kann.

1.3.4 Synaptische Plastizität nach einem Schlaganfall

Ob die oben beschriebenen Phänomene funktionell relevant sind, bleibt derzeit noch unklar.

Es konnte jedoch gezeigt werden, dass im Periinfarktgewebe vermehrt „LTP“ auftritt (Hagemann et al., 1998), welches eventuell durch eine Hochregulierung der N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) und eine Reduktion der GABA(A)-Rezeptorexpression zu erklären ist (Schiene et al., 1996;

Neumann-Haefelin et al., 1999). Dieses führt zu einer Hyperexzitabilität des Kortex, wodurch die Entstehung von „LTP“ erleichtert wird.

Die Bedeutung von „LTP“ im Kortex bei motorischem Lernen wurde oben bereits beschrieben (Riout-Pedotti et al., 2000). Im Zusammenhang mit motorischer Rehabilitation besteht die Vermutung, dass auch diese zu einem gewissen Teil von der Existenz von „LTP“ im Kortex abhängig ist. Eventuell kann man somit auch die plastischen Veränderungen in der Somatotopie des Kortex erklären. Der Beweis hierfür fehlt allerdings noch.

1.4 Ziele der Arbeit

Motorisches Lernen induziert Veränderungen auf struktureller und funktioneller Ebene der Neuronen in der primärmotorischen Hirnrinde. Derzeit wird angenommen, dass diese plastischen Prozesse nicht nur in der Ausführung, sondern auch in der Speicherung von Bewegungsmustern eine wichtige Rolle spielen. Für motorische Rehabilitation ist die Anzahl an Studien vergleichsweise geringer. Es besteht jedoch die Annahme, dass die gleichen oder zumindest ähnliche Prozesse wie bei motorischem Lernen notwendig sind, um das Wiederlernen von alten Bewegungen zu gewährleisten (Carr and Shepherd, 1987; Hallett, 2001; Kleim, 2011).

Bei genauerer Betrachtung des Verhaltens fallen jedoch bereits zwei Unterschiede zwischen den beiden Entitäten auf. Zum einen bedarf motorische Rehabilitation viel häufigerer Repetitionen der Bewegung im Vergleich zum initialen Lernvorgang. Zum anderen wird dabei nur selten eine „restitutio ad integrum“, eine vollständige motorische Erholung, erreicht (Levin et al., 2008). Ursache hierfür kann die Schädigung des motorischen Kortex und der Pyramidenbahnen mit einhergehendem Mangel an funktionell intaktem Hirngewebe sein. Andererseits ist es auch denkbar, dass bei motorischer Rehabilitation und motorischem Lernen unterschiedliche Prozesse zugrunde liegen.

Grundgedanke der hier vorliegenden Dissertation ist es, die Frage zu überprüfen, ob die verlangsamte Lernkurve bei motorischer Rehabilitation allein durch die fehlende Masse intakten Hirngewebes zu erklären ist, oder ob es auch von Bedeutung ist, welcher Gedächtnisinhalt in dem zerstörten Areal zuvor gespeichert wurde.

Hierfür wurde ein Verhaltensexperiment mittels eines Greifparadigmas am Rattenmodell mit Schlaganfall durchgeführt. Dabei wurde der quantitative Faktor, die Menge an intaktem Hirngewebe, für das Lern- als auch das Rehabilitationsmodell gleichgesetzt. Sowohl naiven Tieren als auch Tieren, die zuvor ein Lernparadigma trainiert hatten, wurde eine zerebrale Läsion gesetzt, um beide Gruppen anschließend im selben Paradigma zu trainieren. Somit bestand nur ein qualitativer Unterschied zwischen den beiden Testgruppen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Für die Versuche wurden 20 Rattenböcke des Stammes Long–Evans verwendet. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn im Alter zwischen elf und zwölf Wochen und wogen zwischen 280 und 350 g. Die Tiere stammten aus eigener Zucht (Hertie–Institut für klinische Hirnforschung, Tübingen), wobei die Zuchtpaare von Charles River, Sulzfeld, Deutschland bezogen wurden. Alle Tierversuche entsprachen den gesetzlichen Vorschriften und waren durch das Regierungspräsidium Tübingen genehmigt.

Die Tiere wurden während des Versuches in gemeinsamer Stallung mit drei Ratten pro Käfig (Makrolonkäfig Typ IV, 1800 cm² Bodenfläche) gehalten. Die Fütterung wurde einen Tag vor Beginn des Vortrainings (Pretraining) abgesetzt und nach dem ersten Trainingstag restriktiv fortgesetzt mit 40 bis 60mg Futter pro Tag. Hiermit wurde eine ausreichende Motivation bei konstantem Körpergewicht der Tiere erreicht und das hierdurch zugefügte Leid niedrig

gehalten. Wasser stand außerhalb der Trainingssitzungen zu jedem Zeitpunkt des Versuchs zur freien Verfügung. Die Tiere wurden in einem umgekehrten Tag–Nacht–Zyklus gehalten, so dass die Verhaltensexperimente in den ersten fünf Stunden der Dunkelphase durchgeführt werden konnten. Die Raumtemperatur in der Tierhaltung lag zwischen 20 und 22 °C. Die Luftfeuchtigkeit war bei 55 bis 60%.

2.2 Lernparadigma und Versuchsprotokolle

2.2.1 Lernparadigma

Als Lernparadigma diente ein etablierter Versuchsaufbau, der von Ian Wishaw Ende der 1980er Jahre entwickelt (Wishaw and Pellis, 1990) und von Buitrago und Luft verfeinert wurde (Buitrago et al., 2004). Hierbei muss die Ratte mit einer Vorderpfote nach einem Futterkügelchen (Pellet) greifen und dieses anschließend fressen. Zweck hiervon ist es, innerhalb mehrerer Trainingssitzungen die Leistung der Versuchstiere, gemessen an der Anzahl erfolgreich gegriffener Kügelchen, zu steigern und somit motorisches Lernen zu induzieren.

a



b

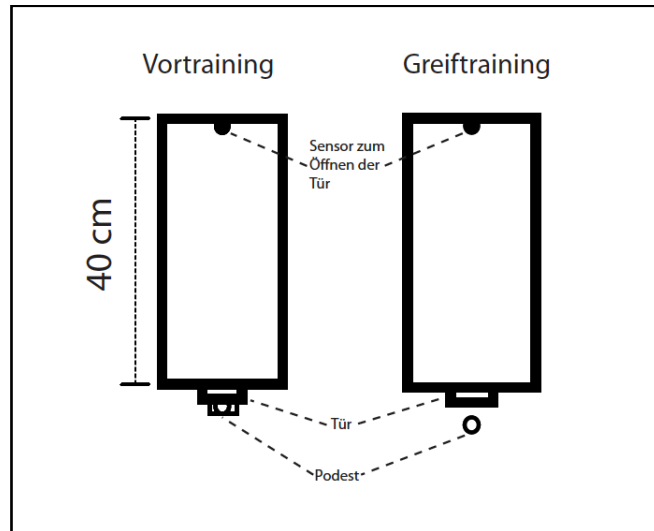


Abbildung 2: Lernparadigma gemäß Buitrago et al., 2004. a) Foto des Trainingskäfigs. b) Schematische Ansicht der Käfige von oben. Die Sensoren befinden sich an der Rückwand des Käfigs und können mittels Berührung von der Ratte aktiviert werden, wodurch sich die Tür an der Vorderseite öffnet. Die Nahrungskügelchen werden während des Vortrainings direkt vor dem Fenster präsentiert und können ohne Benutzung der Vorderpfote allein mit der Zunge erreicht werden. Beim Greiftraining ist der Abstand zwischen Käfig und Podest so weit, dass das Tier die Vorderpfote benutzen muss. Nach Entfernung des Futterkügelchens wird über einen Sensor im Podest das Schließen der Tür automatisch eingeleitet.

Hierfür wurde ein eigens entwickelter Plexiglaskäfig (Dimension: 412mm x 450mm x 300mm) verwendet. Der Käfig ist mittels einer weißen, undurchsichtigen Zwischenwand in zwei gleich große Kammern unterteilt, wobei die eine für das Vortraining und die andere für das motorische Lernen benötigt wird (siehe Abbildung 2). An der Rückwand beider Kammern ist ein Näherungssensor installiert. Durch Aktivierung dieses Sensors wird an der Vorderwand eine Tür durch einen kleinen Elektromotor hochgezogen, so dass ein 10 x 50mm großes, mittig gelegenes Fenster frei wird. In Abhängigkeit von der Trainingskammer befindet sich entweder direkt vor dem Fenster (Vortrainingskammer) oder in 18mm Entfernung (Greiftrainingskammer) ein Futterkügelchen (Dustless Precision Pellets®, 45mg, Bioserve Inc. Frenchtown, NJ, USA) auf einem Podest. Jeder Greifversuch der Ratte und das Entfernen des Kügelchens vom Podest werden ebenfalls mit Näherungssensoren, die am

Podest angebracht sind, aufgezeichnet. Letzteres führt nach kurzer Latenz von einer Sekunde zum Schließen des Fensters und zum Ende eines Greifversuchs. Das Versuchstier muss nun wieder an die Rückseite gehen und erneut den Sensor aktivieren, um einen neuen Greifversuch zu beginnen.

Die Steuerung der Kammern mit eingehenden Signalen der Näherungssensoren, ausgehenden Signalen an den Elektromotor der Tür und der Aufzeichnung der einzelnen Zeitpunkte der Sensoraktivierungen und der Ergebnisse der Greifversuche wurde auf einem PC über das Programm Lab View® realisiert (Version 8.0.1; National Instruments, Austin, TX, USA). Am Ende einer Trainingssitzung wurden diese Daten in einer Datei abgespeichert.

Zielkriterium einer Trainingssitzung waren 100 ausgeführte Versuche oder maximal 60 Minuten Trainingsdauer.

2.2.2 Vortraining

Das Vortraining entspricht dem Lernparadigma der operanten Konditionierung. Diese wurde erstmals von Edward Lee Thorndike 1898 in seiner Dissertationsschrift beschrieben und später in den Arbeiten von Burrhus Skinner genau skizziert. Dabei werden zunächst spontane Verhaltensmuster mit angenehmen Folgen assoziiert und dadurch die Frequenz ihres Auftretens positiv beeinflusst. Im Falle des hier benutzten Vortrainings erlernten die Tiere das Konzept der Trainingskammer und die räumlichen Gegebenheiten über die Lage der Sensoren und des Nahrungskügelchens. In der Vortrainingskammer war das Podest unmittelbar vor dem Fenster angebracht (siehe Abb.2 B), so dass die Tiere nicht die Vorderpfote brauchten, um an das Futterkügelchen zu kommen, sondern es direkt mit der Zunge aufnehmen konnten.

Zu Beginn der Experimente wurden die Versuchstiere zuerst in die Vortrainingskammer gesetzt, um dreierlei Ziele zu erreichen. Einerseits war es unumgänglich, dass die Tiere den Mechanismus kennenlernten, um mittels Öffnen der Türe einen Versuch zu starten. Zweitens wurden die Tiere an die

neuen Futterkügelchen gewöhnt. Zuletzt wurde durch das repetitive Vortraining die Motivation der Tiere auf ein vergleichbares Niveau gebracht.

Vor dem Trainingsbeginn wurden die Tiere für einen Tag auf Nahrungskarenz gesetzt. Am ersten Tag der Trainingsphase wurden die Tiere für 60 Minuten in den Käfig gesetzt, mit einer frei zugänglichen Schale, in der das normale Tierfutter gemeinsam mit den Nahrungskügelchen für den Greifversuch angeboten wurden. Hierdurch wurden die Tiere an die neue Umgebung und das neue Futter gewöhnt. Ab dem zweiten Tag wurde die Dauer einer Trainingssitzung auf 30 Minuten reduziert. Nahrungskügelchen wurden nur noch auf dem Podest vor dem Fenster angeboten. Bei zuerst geöffneter Türe konnten sich die Tiere daran gewöhnen, durch das Fenster die Futterkügelchen zu fressen, danach wurde die Türe geschlossen.

Ab diesem Zeitpunkt wurde die Türe nur noch manuell geöffnet, wenn die Tiere in die Nähe des Sensors an der Rückseite gingen, oder aber automatisch, wenn die Tiere den Sensor selbst mit der Schnauze berührten. Ersteres wird in der behavioristischen Lernpsychologie als „shaping“ bezeichnet und besagt, dass nicht erst die vollständige Abfolge des erwünschten Verhaltens belohnt wird, sondern bereits Vorstufen. Initial erleichterte das Shaping den Tieren die Assoziation mit dem gewünschten Verhaltensmuster und beschleunigte den Lernprozess.

Die Zielkriterien für das Beenden des Vortrainings waren zwei konsekutive Trainingssitzungen, in denen ein Tier 100 mal selbstständig die Käfigtür innerhalb von 30 Minuten öffnete.

2.2.3 Greiftraining

Nach Erreichen der Zielkriterien des Vortrainings begannen die Tiere mit dem Greiftraining. Hierbei wurde nun die Entfernung des Futterkügelchens zum Fenster auf 18 mm erweitert, so dass die Tiere nur noch mit Hilfe ihrer

Vorderpfote das Futterkugelchen erreichen konnten, womit das motorische Lernen induziert wurde (siehe Abbildung 3).



Abbildung 3: *Erfolgreicher Greifversuch einer Ratte.*

Zu Beginn der ersten Trainingssitzung war das Podest noch mittig vor dem Fenster angeordnet. Nach den ersten 20 Greifversuchen wurde die Händigkeit der Ratte bestimmt und dementsprechend das Podest um 5mm nach links oder rechts verschoben, um dem Tier einen leichteren Zugang zum Futterkugelchen zu ermöglichen und eine Benutzung der ipsiläsionalen Pfote nach Schlaganfall zu verhindern. Ein Trainingsdurchgang bestand aus 100 Greifversuchen. Insgesamt wurden acht aufeinanderfolgende Trainingssitzungen durchgeführt. Jeder einzelne Greifversuch wurde während einer Sitzung einer von insgesamt drei Kategorien zugeordnet:

- 1.) Erfolgreiches Greifen wie in Abbildung 3 dargestellt, wenn das Tier das Futterkugelchen greifen und anschließend fressen konnte.
- 2.) Fehlerhafter Greifversuch, wenn das Tier das Futterkugelchen nicht greifen konnte, sondern vom Podest stieß.
- 3.) Ein Greifversuch mit anschließendem Verlieren des Nahrungskugelchens, bei dem das Tier das Kugelchen zwar korrekt greifen konnte, es aber beim

Versuch, es zum Maul zu führen, wieder fallen ließ. Letzteres wurde nur bei Tieren nach erfolgter Photothrombose beobachtet. In Anlehnung an die Veröffentlichung von Biernaskie et al. (Biernaskie et al., 2005), in dem dieses Phänomen bereits beschrieben wurde, wurden diese Greifversuche als „neglected reaches“ (nichtbeachtetes Greifen) bezeichnet.

Als Messwert des Lernerfolges diente der Quotient aus der Anzahl erfolgreicher Greifversuche gegenüber der Anzahl aller Versuche. Zugleich wurden aus den Daten der Aktivierungen der Sensoren zwei Zeitintervalle berechnet: zum einen die Latenzzeit zwischen Öffnen der Türe und Entfernen des Futterkügelchens vom Podest ($T_{\text{Tür-Podest}}$), welches vor allem ein quantitatives Maß für die motorische Fähigkeit und Geschwindigkeit der Tieres darstellt; zum anderen wurde die Zeit zwischen Entfernen des Futterkügelchens und Aktivierung der Tür ($T_{\text{Tür-Podest}}$) berechnet, welche vor allem über die Motivation und den Grad der operanten Konditionierung Auskunft gibt.

Zu Dokumentationszwecken wurden die Trainingssitzungen aller Tiere auf Video aufgenommen (Kamera A 602 fc-2, Basler, Schweiz).

2.2.4 Rehabilitationstraining

Das Rehabilitationstraining gleicht dem normalem Greiftraining mit nur wenigen Abweichungen. So ist es bei besonders ausgeprägten Defiziten nach Läsion nötig gewesen, ähnlich dem „shaping“ des Vortrainings auch nur Teile der gewünschten Bewegung manuell zu belohnen, da die Tiere ansonsten die Motivation verloren hätten. Es wurde dabei darauf geachtet, dass der Trainer maximal jeden fünften Versuch auf diese Weise belohnte. Des Weiteren wurden die zu belohnenden Bewegungsabläufe an die Fähigkeiten der Ratte angepasst. Ziel war es stets, dass die Versuchstiere einen selbstständigen Greifversuch durchführen konnten. Trotz manueller Belohnung wurde der Greifversuch aber dennoch als Fehlversuch bewertet.

Zusätzlich dazu wurde bei manchen Tieren nach dem Schlaganfall beobachtet, dass sie die Greifbewegung korrekt ausführen konnten, jedoch das Futterkügelchen in der Pfote nicht gespürt haben und es beim Öffnen der Pfote wieder fallen ließen, ohne es weiter zu beachten. Diese Versuche wurden als Abfall aufgrund eines sensiblen Defizits bewertet und in einer separaten Tabelle ausgewertet.

2.2.5 Versuchsprotokolle

Insgesamt wurden 20 Tiere in drei Versuchsgruppen aufgeteilt, welche alle gleichermaßen das Vortraining bis zum Erreichen der oben beschriebenen Zielkriterien durchlaufen haben.

Die erste Gruppe trainierte erst den Greiftest, bekam dann einen Schlaganfall und wurde im Anschluss wieder rehabilitiert (Training-Schlaganfall-Training-Gruppe, TST-Gruppe). Sie vollzog zuerst eine Phase mit acht konsekutiven Tagen des Greiftrainings. Am neunten Tag erhielten die Tiere ein kortikale Läsion der motorischen Hirnrinde. Anschließend hatten die Ratten eine 72-stündige Ruhepause, um sich von der Operation zu erholen. Danach wurde mit dem Rehabilitationstraining begonnen, welches sieben Tage dauerte, so dass das gesamte Protokoll für die TST-Gruppe 18 Tage umfasste. Hierbei wurde die Zeit, die das Vortraining in Anspruch nahm, nicht berücksichtigt.

Die zweite Gruppe bekam direkt nach dem Vortraining einen Schlaganfall induziert, um anschließend mit dem Rehabilitationstraining fortzufahren (Schlaganfall-Training-Gruppe, ST-Gruppe). Die Dauer der Erholungsphase nach dem Schlaganfall sowie die Länge des Rehabilitationstrainings glichen dabei der der TST-Gruppe.

Die dritte Gruppe diente als Kontrollgruppe und wurde über den gesamten Zeitraum trainiert, ohne jedoch nach Tag 8 des Greiftrainings einen Schlaganfall zu bekommen. Dennoch wurden auch diese Tiere für 72 Stunden zwischen der achten und neunten Trainingssitzung nicht trainiert.

2.3 Operative Eingriffe

2.3.1 Anästhesie

Die Narkose für die operativen Eingriffe wurde mittels intraperitonealer Injektion, einer Kombination von Ketamin (Ketanest® 10%, Pfizer, Berlin, Deutschland) 70-100 mg/kg KG und Xylazin (Rompun® 2%, Bayer, Leverkusen, Deutschland), appliziert. Die Dosis lag bei 5-10 mg/kg Körpergewicht. Die drei Kriterien der Narkose, Hypnose, Analgesie und Relaxation, müssen wie beim Menschen auch für Versuchstiere erfüllt werden. Ketamin ist für die Hypnose und die Analgesie zuständig und Xylazin dient als Muskelrelaxanz. Vorteil dieser Medikamentenkombination ist eine stabile kortikale Exzitabilität, welche bei Inhalationsnarkotika nicht gegeben wäre.

Zur postoperativen Analgesie wurde Buprenorphin (Temgesic® 0,03%, Essex, München, Deutschland) 0,1 mg/kg Körpergewicht subkutan appliziert.

Während der Operation wurde eine Augensalbe (Bepanthen®, Bayer, Leverkusen, Deutschland) als Hornhautschutz aufgetragen. Für die Perfusion mit anschließender Dissektion der Hirne wurden Ketamin und Xylazin in doppelter Dosierung benutzt.

2.3.2 Photothrombose

Die kortikalen Läsionen wurden mit Hilfe des Photothromboseverfahrens erzeugt. Dieses wurde erstmals in den 1980er Jahren von Brant Watson entwickelt (Watson et al., 1985) und in den folgenden Jahren stets weiterentwickelt, so dass die von uns gewählte Methode sich eng an der von Oermann et al. (Oermann et al., 2004) anlehnt. Die Photothrombose ist dabei eine wenig invasive und einfache Methode, um gezielt sehr genaue und wenig variable ischämische Läsionen zu setzen.

Für die Induktion des Schlaganfalls wurden die Versuchstiere mit der oben beschriebenen Mischung aus Ketamin und Xylazin narkotisiert. Anschließend wurde der Schädel rasiert und mit Povidon-Iod (Betadine®, Mundipharma, Basel, Schweiz) desinfiziert. Danach wurde der Ratte ein 25-G-Katheter (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) in die linke Schwanzvene implantiert und der Kopf des Tieres in einem stereotaktischen Rahmen (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) mittels 45°-Ohrfixateur zur Verhinderung von Verletzungen der Trommelfelle fixiert. Die Kopfhaut wurde mit Povidon-Iod Betadine (Betadine®, Mundipharma, Basel, Schweiz) gereinigt. Es wurde eine etwa 3cm lange longitudinale Inzision der Kopfhaut gesetzt. Das Periost wurde mit einem Skalpell abgeschabt und dabei auftretende kleine Blutungen wurden mit einem Gn60-Bipolarkoagulator (Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) gestillt. Es wurde mit Hilfe eines speziellen Mikrobohrers (FST, Heidelberg, Deutschland) ein 10 x 5mm großes Knochenfenster über der kontralateral zur bevorzugten Vorderpfote gelegenen Großhirnhemisphäre gebohrt. Die Koordinaten hierfür waren 6mm anterior, 4mm posterior und 1mm lateral zu Bregma. Eine Dünnschicht-Mikroelektroden-Matrix mit 72 Elektroden (Mikroelektrodenarray FlexMEA 72, NMI, Reutlingen, Deutschland, und Multi Channel Systems MCS GmbH, Reutlingen, Deutschland) wurde auf der Dura mater platziert. Durch elektrische Stimuli ließen sich dann Bewegungen der Vorderpfote auslösen. Über den Elektroden, bei denen mit den niedrigsten Spannungen bereits motorische Antworten ausgelöst werden konnten – mit dem niedrigsten Schwellenwert –, wurden die Läsionen gesetzt.

Hierfür wurde eine feste Kunststoffschablone, die nochmals mit Aluminiumfolie umwickelt war, mit einem Loch von 3mm über dem identifiziertem Gebiet platziert und mittels zweier Pinzetten fixiert. Danach wurde ein Lichtleiter (Schwanenhals-Lichtleiter, Schott AG, Mainz, Deutschland), der an einer Kaltlichtlampe (KL 1500 LCD, Schott AG, Mainz, Deutschland) installiert war, direkt über der Schablone platziert. Anschließend wurde das offenliegende Hirnareal für 20 Minuten mit 3200K Farbtemperatur illuminiert. Während der ersten zwei Minuten dieser Phase wurde über den peripheren Venenkatheter der Farbstoff Bengalrosa (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) mit Hilfe

einer Infusionspumpe (Genie, Kent Scientific Corp., Torrington, CT, USA) infundiert. Die Konzentration war $13\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht, gelöst in einem Verhältnis von $10\text{mg}/\text{ml}$ in 0,9%iger Kochsalzlösung. Bengalrosa ist ein Natriumsalz und zugleich ein photosensitiver Farbstoff. Unter Bestrahlung kommt es im Hirngewebe zur Entstehung von Singulett-Sauerstoff (Ozon), Endothelschäden, Thrombozytenaktivierung und mikrovaskulärer Okklusion (Dietrich et al., 1986a; 1986b) und somit zu einer umschriebenen ischämischen Läsion.

Nach Ablauf der 20 Minuten wurde der Schwanzvenenkatheter entfernt. Das Fenster in der Schädeldecke wurde mit dem zuvor entfernten Knochenstück und Knochenzement (FLOWline®, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) wieder abgedeckt, fixiert und die Kopfhaut wurde mit einer einfachen Naht (P-H Seide®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland) wieder verschlossen.

Für die komplette Dauer der Operation wurden die Tiere auf einer Heizdecke (TSE Systems GmbH, Bad Homburg, Deutschland) gelagert. Diese war an eine rektal liegende Thermosonde gekoppelt und ermöglichte die Stabilisierung der Körpertemperatur der Ratten auf 37 ± 1 °C.

2.3.3 Vermessung des motorischen Kortex

Um die Lage der Läsion möglichst genau anhand funktioneller Kriterien zu bestimmen, wurde bei diesen Experimenten darauf verzichtet, die Schlaganfälle, wie sonst üblich, mit Hilfe von Koordinaten aus Atlanten zu induzieren. Im Gegensatz dazu wurde bei den hier beschriebenen Versuchen individuell für jedes Tier vor der Induktion der Ischämie eine funktionelle Karte der motorischen Großhirnrinde durchgeführt. Hierfür wurde die von Molina-Luna et al. (Molina-Luna et al., 2007) und Hosp et al. (Hosp et al., 2008) beschriebene Methode der epiduralen Mikrostimulation verwendet. Vorteil dieser Methode ist die geringe Invasivität im Gegensatz zu intrakortikalen

Microstimulation (ICMS) (Kleim et al., 2003), da das Array epidural plaziert werden konnte.

Das Mikroelektrodenarray besteht aus einer 6 mm x 7 mm (42 mm²) großen und 14 µm dicken Polyimidefolie, auf der 72 Titanium-Nitrit-Elektroden mit einem Durchmesser von jeweils 100 µm angebracht sind. Die Elektroden sind dabei als Gitter angeordnet. Der medio-laterale Abstand zweier Elektroden zueinander beträgt 640 µm und der antero-posteriore Abstand beträgt 750µm, so dass die Auflösung des Arrays ca. 1 Kontakt/ 0,69 mm² Kortexoberfläche beträgt.

Das Array wurde mit zwei Konnektoren an einen Amplifier (MPA-32-preamplifier, PGA-32-channel amplifier, MCS GmbH, Reutlingen, Deutschland) angeschlossen, welcher wiederum über eine LabView-Schnittstelle (NI-DAQcard PCI-6071, National Instruments GmbH, München, Deutschland) mit einem Computer verbunden war. Somit konnte die Programmierung und Bedienung des Mikroelektrodenarrays über die Software LabVIEW (Version 8.0.1, National Instruments GmbH, München Deutschland) erfolgen.

Für die Stimulation wurden nur 64 der 72 Elektroden benutzt, da sechs Kontakte als Erdung dienten und zwei Kontakte als Referenzelektrode benötigt wurden.

Die Kontakte wurden über das Computerprogramm in zufälliger Reihenfolge ausgewählt und mit konstanten biphasischen Stromimpulsen stimuliert. Es wurden 100 Stimuli in 300Hz appliziert und der Konstantstrom lag bei $4,8 \pm 1\text{mA}$. Während der Kartierung lag der Rumpf des Tieres auf einem etwas erhöhten Holzblock, so dass die Bewegungen der freiliegenden Extremitäten vom Untersucher beobachtet werden konnten. Für die Kartierung wurden die Bewegungen von Schulter, Ellbogen und Handgelenk der Vorderpfote ausgewertet. Evozierte Bewegungen wurden nur gewertet, wenn diese verifiziert werden konnten. Hierfür wurde nach Erreichen der Reizschwelle der Reizstrom stufenweise erhöht. Anschließend wurde der Strom auf Werte unter der Reizschwelle gesenkt und dann nochmals erhöht bis die Bewegungen

erneut hervorgerufen werden konnten. Absolute Obergrenze des Reizstroms waren während der gesamten Kartierung 4,8 mA. Nachdem dieser Vorgang für alle 61 Elektroden wiederholt wurde, setzte der Operateur den Schlaganfall über dem Zentrum des Vorderbeinareals der Ratte. Dieses wurde als jene Region definiert, in der die meisten Elektroden durch Stimulation eine Antwort von Schulter, Ellbogen oder Handgelenk der kontralateralen Vorderpfote nach sich zogen.

2.3.4 Tötungsmethode: Perfusion

Nach Beendigung des Trainings wurden die Tiere getötet, um anschließend ihre Gehirne zu entnehmen und histologisch aufzubereiten. Hierfür wurde den Tieren die potenziell letale doppelte Dosis der normalen, oben genannten, Dosis an Ketamin und Xylazin intraperitoneal verabreicht. Anschließend wurden die Tiere bei noch intaktem Herzkreislaufsystem perfundiert. Hierfür wurden zuerst mindestens 50ml eines 1%igen Phosphatpuffers (PBS, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) direkt in den Aortenbogen infundiert, um eine Blutleere des Hirns zu erreichen. Anschließend wurden über selbigen Weg mindestens 50ml einer 4%igen Formalinlösung (Paraformalinaldehyd, PFA, Sigma-Aldrich) infundiert, um das Gewebe zu fixieren. Abschließend wurden die Tiere mit einer speziellen Guillotine (World Precision Instruments, Berlin, Deutschland) dekapitiert und die Hirne wurden aus der Schädelbasis disseziert.

2.4 Aufarbeitung der Hirnschnitte

2.4.1 Anfertigung der Hirnschnitte

Zur Konservierung wurden die Gehirne für 24 Stunden in der 4%igen PFA-Lösung belassen. Anschließend wurden sie für weitere drei Tage in eine PFA-Lösung mit 20%igem Saccharoseanteil gelegt. Dies diente zum Schutz des

Gewebes vor der anschließenden Schockgefrierung bei -35°C in einer Methylbutanolösung (2-Methylbutan, Merck, Darmstadt, Deutschland). Die tiefgefrorenen Gehirne wurden dann mittels eines Eindeckmittels (Jung Tissue freezing medium, Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) auf einer Objektplatte fixiert, um anschließend an einem Cryostat (CM 3050, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) $50\mu\text{m}$ dünne Schnitte anzufertigen. Bis zum weiteren Gebrauch wurden diese bei 4°C in einer 1%igen PBS-Lösung aufbewahrt.

2.4.2 Histologische Färbung nach Nissl

Zur Darstellung des infarzierten Gewebes wurde die Nissl-Färbung - benannt nach Franz Nissl, einem deutschen Neurologen und Psychiater - verwendet. Diese Färbetechnik eignet sich besonders, um die Neuronen darzustellen. Für die Färbung wurden die Hirnschnitte auf Objektträger fixiert. Diese wurden dann in 70%igen Ethanol (Ethanol absolut zur Analyse, Merck) getaucht und für drei Minuten in 10%ige Essigsäure (Essigsäure, Sigma-Aldrich), danach kurz in destilliertes Wasser und anschließend für sieben Minuten in die Cresylviolett-Lösung (Cresylviolett, Merck) gegeben. Zum Ausdifferenzieren wurden die Präparate erneut in 10%ige Essigsäurelösung getaucht, danach nochmals für eine Minute in 100%ige Ethanolösung und am Ende für fünf Minuten in eine Xylollösung (Xylol, BDH Prolabo, Bruchsal, Deutschland) gelegt. Um die gefärbten Schnitte anschließend zu fixieren, wurden die Objektträger mit Fixiermittel (DPX Mountain [®], Sigma-Aldrich) betropft und mit Deckgläschen abgedeckt.

2.4.3 Volumenanalyse

Für die Durchführung der Volumenanalyse wurden die gefärbten und fixierten Präparate unter dem Mikroskop (Axiovert 200 M, Zeiss, Deutschland) mit einer

Kamera (Axio Cam MR, Zeiss, Deutschland) aufgenommen und anschließend mit einem speziellen Analyseprogramm (Axio Vision LE 4.4®, Zeiss, Deutschland) ausgewertet. Die Größe der Läsionen wurde mittels der Schätzfunktion nach Cavalieri, einem italienischen Mathematiker aus dem 17. Jahrhundert, berechnet. Die Methode basiert auf folgender Gleichung:

$$V = T \cdot \sum_{i=1}^m A_i$$

Hierbei steht V für das Volumen, T für den Abstand zum nächsten ausgemessenen Schnitt und A_i für die Fläche des Schnittes.

Es wurde von jedem 10. Schnitt die Ausbreitung der Läsion und die gesamte ipsi- und kontraläsionale Gehirnofläche ausgemessen. Anschließend wurde die Fläche des Schlaganfalls mit der Schnittdicke von 50µm und dem Abstand zum nächsten gemessenen Schnitt multipliziert. Die so berechneten Volumina der einzelnen Schnitte wurden summiert und ergaben das geschätzte Gesamtvolumen der jeweiligen Läsion und dem übrigen, intakten Hirngewebe.

Das geschädigte Gewebe wurde durch Fehlen von Neuronen und gegebenenfalls Anwesenheit von glialem Narbengewebe identifiziert.

Neben dem Volumen wurde auch die Oberflächenausdehnung der Läsionen bestimmt, indem wiederum von jedem 10. Schnitt die Breite des ischämischen Insults gemessen wurde und dessen Abstand zur Fissura longitudinalis cerebri. Diese Daten wurden dann mittels des PC-Programms Adobe Illustrator (Version CS2, Adobe Systems, San Jose, CA, USA) in farbigen Schichten auf ein Rasternetz übertragen (siehe Abbildung 7).

2.5 Statistische Methoden

Die Rohdaten wurden, wie bereits beschrieben, von einem Computer im txt-Format abgespeichert und anschließend mittels einer eigens dafür via MatLab (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA) geschriebenen Programmerroutine

umgewandelt. Die weitere Datenanalyse und -visualisierung wurde mit dem Statistikprogramm STATISTICA (StatSoft GmbH, Hamburg, Deutschland) durchgeführt.

Die Lernkurvenverläufe über die Zeit wurden dabei über den Quotienten aus der Anzahl erfolgreicher Greifversuche und der Anzahl aller Greifversuche einer Trainingssitzung erstellt. Mittels Varianzanalyse mit Messwiederholungen (repeated measures ANOVA) mit dem interindividuellen Faktor Gruppe (TST- oder ST-Gruppe) und dem intraindividuellen Faktor Trainingszeitpunkt und der Interaktion Gruppe × Trainingszeitpunkt wurden die Lernkurven der Versuchstiere miteinander verglichen. Dabei wurde die Ausgangsgeschicklichkeit als unabhängige Variable eingeführt, um eventuelle falsch positive Unterschiede aufgrund initialer Leistungsunterschiede zu vermeiden. Die Post-Hoc-Vergleiche wurden mit Fisher's Least-Significant-Difference-Test (LSD-Test) ausgeführt.

Zusätzlich wurde eine nicht-lineare Regressionsanalyse der Lernkurven durchgeführt. Hierfür wurden die Trainingsdaten zunächst mittels einer Kurvenanpassung, basierend auf einem exponentiellen Modell, bestmöglich beschrieben.

$$\text{Leistung} = \frac{p}{1 + e^{k(a - \text{Trainings-sitzung})}}$$

Der Wert p bezeichnet das Leistungsplateau, der Parameter k beschreibt die maximale Steigung der Lernkurve und a , den Wendepunkt der Lernkurve (Zeitpunkt des schnellsten Lernens).

Alle Daten wurden in einem Arbeitsablauf unter Benutzung einer Dummy-Variablen d , die die Zuweisung zur jeweiligen Versuchsgruppe darstellt, berechnet (z.B. $p = d_{\text{TST, Greiftraining}} p_1 + d_{\text{TST, Rehabilitationstraining}} p_2 + d_{\text{ST}} p_3$). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die Parameter p , k und a wurden mittels einer t-Statistik bestimmt:

$$(t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{SEM_{p_1} + SEM_{p_2}}} \quad |t| \geq 1.96)$$

Eine zweite Varianzanalyse mit Messwiederholung untersuchte den Einfluss der Trainingsbedingungen auf den Kurvenverlauf der Latenzzeiten $T_{\text{Tür-Podest}}$ und $T_{\text{Podest-Tür}}$ der Tiergruppen über die fünfzehn respektive acht Trainingstage. Zur Auswertung wurde für jeden Trainingstag eine mittlere Latenzzeit $T_{\text{Tür-Podest}}$ und $T_{\text{Podest-Tür}}$ aus einer Trainingssitzung gebildet. Zur graphischen Darstellung wurden die Mittelwerte mit dem Standardfehler aufgetragen.

In einer weiteren Analyse wurden die Dimensionen der kortikalen Läsionen zwischen der TST-Gruppe und der ST-Gruppe verglichen. Dabei wurden die reinen Volumina und die Volumina im Verhältnis zur Substanz der gesamten kontraläsionalen Hemisphäre miteinander mittels eines t-Tests verglichen. Des Weiteren wurde nach Unterschieden in der Lokalisation der ischämischen Areale gesucht, da diese ja nicht nach konstanten, sondern nach individuellen Koordinaten gesetzt wurden, die sich aus dem „Mapping“ ergaben. Hierfür wurden die maximalen Durchmesser in anterior-posteriorer und in medio-lateraler Ausrichtung sowie die Tiefe der Läsionen mittels t-Test verglichen.

Eine letzte Analyse verglich ebenfalls mit einem t-Test die Reduktion des Körpergewichts nach dem Schlaganfall der Tiere der TST-Gruppe mit denen der ST-Gruppe.

Für alle Auswertungen wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha < 0,05$ angenommen.

3. Ergebnisse

Um die Abhängigkeit motorischer Rehabilitation nach Schlaganfall von vorausgehenden Lerninhalten zu untersuchen, wurde die Leistung einer Gruppe von Versuchstieren (TST: $n = 8$), welche vor der ischämischen Läsion ein Greifparadigma lernte, mit Versuchstieren (ST: $n = 6$) verglichen, die nach der Läsion erstmalig das Greifparadigma lernten. Zu Kontrollzwecken wurde noch eine dritte Gruppe von Versuchstieren eingeführt (Kontrolle: $n = 6$), welche das komplette Training absolvierte, jedoch keinen Schlaganfall erhalten hatte.

3.1. Einflüsse vorausgehender Fertigkeit auf motorisches

Lernen und motorische Rehabilitation

Alle Tiere, unabhängig von der jeweiligen Gruppe, waren in der Lage, den Greifversuch innerhalb von 14 Trainingstagen nach der photothrombotischen Läsion zu erlernen. Bezüglich der Rate erfolgreicher Greifversuche ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Faktoren Gruppe \times Zeit ($F_{21,152} = 1,78$; $p = 0,044$). Post-Hoc-Tests zeigten zudem, dass erneutes Erlernen des Greifversuches nach ischämischer Läsion (TST-Gruppe) langsamer war als der initiale Lernvorgang vor der Photothrombose in derselben Gruppe ($p = 0,039$) und der Tiere der Kontrollgruppe ($p = 0,033$). Trotz der langsameren Lernkurve während der 14 Trainingstage nach der Läsion erreichten die Versuchstiere der TST-Gruppe ein Leistungsniveau (37,7/ 5,77% erfolgreiche Greifversuche), welches der Leistung vor dem Schlaganfall ähnelte (39,9/ 1,91% erfolgreiche Greifversuche).

Die Tiere der ST-Gruppe, welche das Lernparadigma nach erfolgtem Schlaganfall erstmalig erlernten, hatten eine signifikant schlechtere Leistung am ersten Trainingstag, verglichen mit der Leistung der TST-Gruppe in der ersten Trainingssitzung nach Schlaganfall ($t(11) = 2,96$; $p = 0,013$). Nach Durchführung der 14 Trainingssitzungen war das Leistungsniveau der ST-Gruppe signifikant niedriger im Vergleich zu den TST-Tieren (32,7/ 1,88% erfolgreiche Greifversuche; $t(12) = 2,47$; $p = 0,014$). Dies lässt möglicherweise darauf schließen, dass ein höheres Leistungsniveau nach Schlaganfall erreicht werden kann, wenn die zu lernende Fertigkeit bereits vor der Läsion des motorischen Kortex bekannt ist.

Das nichtlineare Modell konnte zeigen, dass die Lernkurve, gemessen anhand der maximalen Steigung der Kurve (Parameter k), bei den Tieren der TST-Gruppe vor dem Schlaganfall höher war als danach (2,17/ 0,13 vs. 0,34/ 0,09; $t(7) = 2,47$; $p = 0,042$). Außerdem trat der Punkt des maximalen Lernens (Parameter k) während der Rehabilitation der TST-Gruppe signifikant später auf als während des Lernens vor dem Insult (4.05, 0.21 Tage vs. 1.38, 1.18 Tage;

$t(12) = 2.23$; $p = 0.028$). Die gleiche Analyse der Trainingsdaten der ST-Gruppe ergab, dass diese Tiere signifikant früher die maximale Steigung der Lernkurve erreichten als die TST-Tiere (2,59/ 0,4 Tage; $t(12) = 3,24$; $p = 0,007$). Alle weiteren Vergleiche der Lernkurven zwischen den unterschiedlichen Gruppen und Trainingsbedingungen waren nicht signifikant.

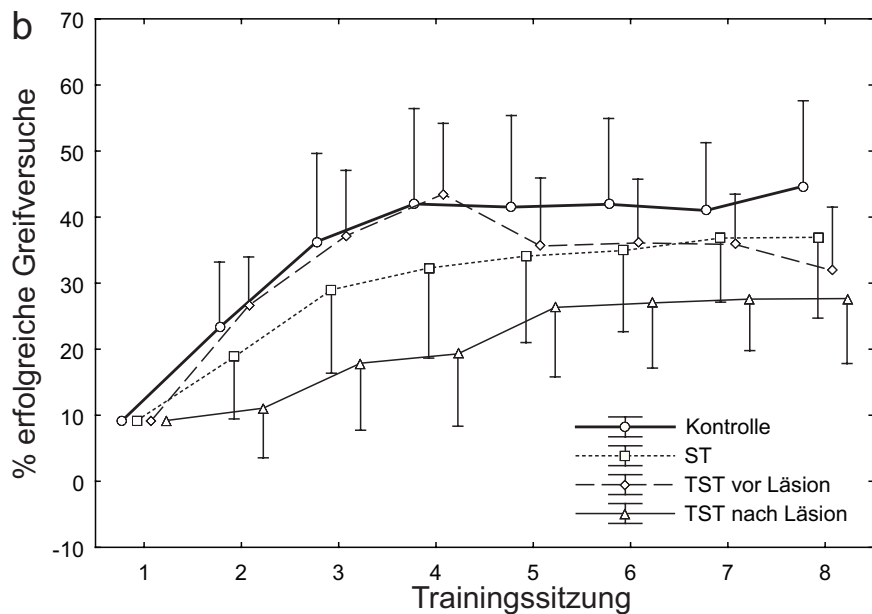
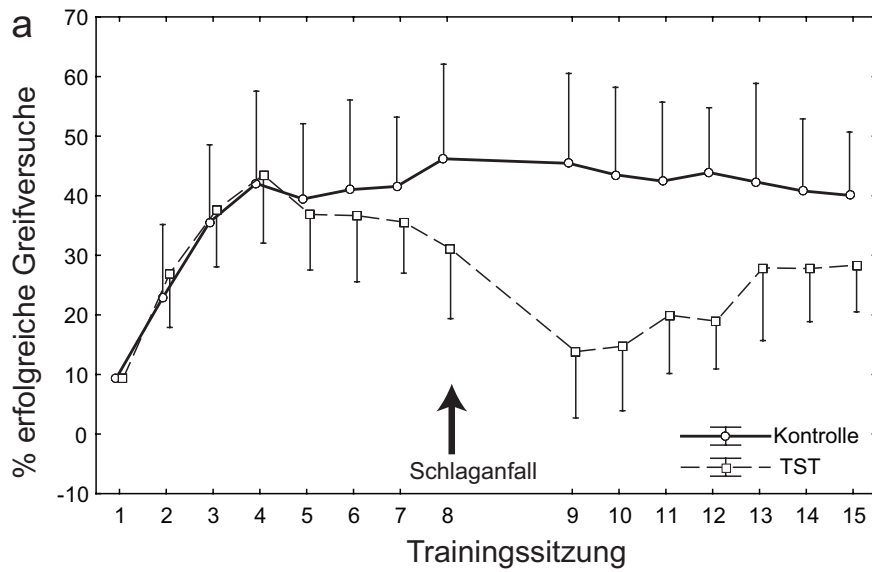


Abbildung 4: Lernkurven der drei Versuchstiergruppen. a) Die Tiere der TST-Gruppe wiesen ein 85%iges motorisches Defizit in der ersten Trainingssitzung nach der Photothrombose auf im Vergleich zum Leistungsniveau vor der Intervention. b) Die Lernkurven aller drei Gruppen sind aufgetragen, die der TST-Gruppe unterteilt in das Lernen vor der Läsion und die Erholung danach. Die Erholungskurve der TST-Tiere nach Schlaganfall ist signifikant langsamer als die initiale Lernkurve der gleichen Tiere und als die Lernkurve der ST-Gruppe.

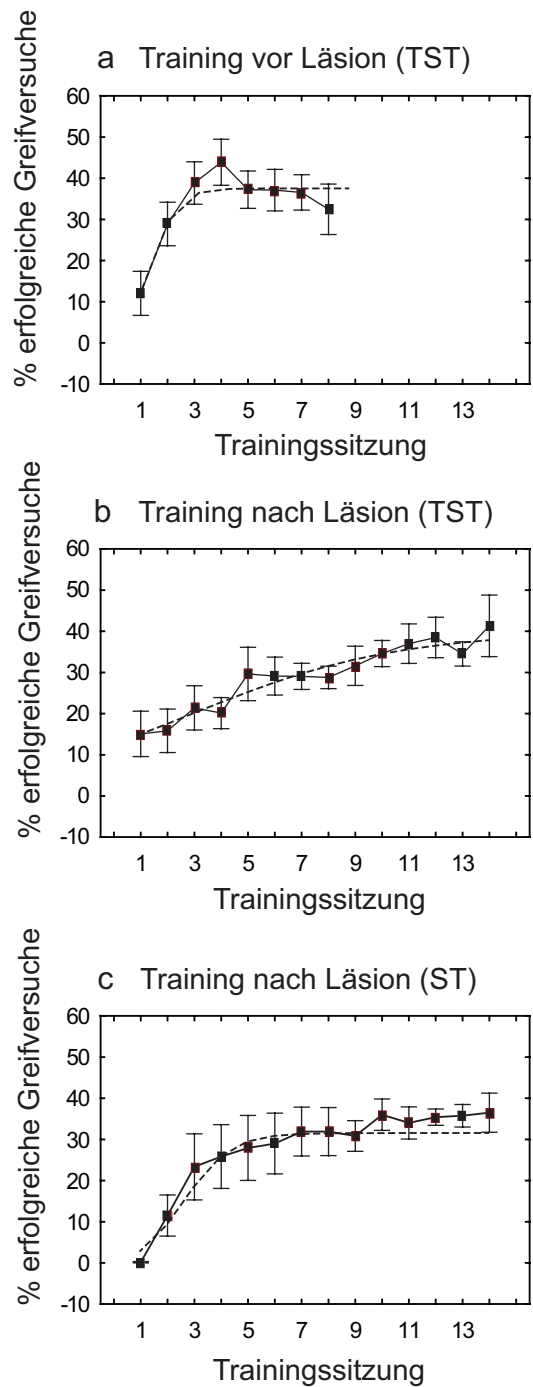


Abbildung 5: Nichtlineare Kurvenanpassung der Lernkurven. Die Prozentzahl erfolgreicher Greifversuche (Fehlerbalken geben den Standardfehler an) ist über die Trainingssitzungen aufgetragen. Die gestrichelten Linien bilden die Ergebnisse der nichtlinearen Regressionsanalyse ab. a) Die Lernkurve im gesunden Tier zeigt eine initial schnelle Komponente mit anschließendem Kurvenplateau. b) Nach dem Schlaganfall zeigt die Erholungskurve der TST-Tiere einen eindeutig langsameren Verlauf, aber mit ähnlichem Kurvenplateau in den letzten Trainingssitzungen. c) Die Lernkurve der ST-Tiere weist direkt nach dem Schlaganfall eine initiale schnelle

Komponente mit konsekutivem Kurvenplateau auf, welches jedoch signifikant niedriger ist als in der Gruppe der TST-Tiere.

3.2 Dynamik der Latenzzeiten

Die Latenzzeiten der Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten werden graphisch in Abbildung 6 dargestellt. Im Vergleich der einzelnen Trainingstage je Gruppe zeigt sich am zweiten und dritten Tag nach der Operation, dass die Tiere der TST-Gruppe einen Trend zu signifikant verlangsamten Zeitspannen zwischen Öffnen der Tür und Entfernen des Futterkügelchens vom Podest (Latenzzeit_{Tür-Podest}) haben ($P=0,07$). In der zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit wiederholten Messungen zeigte sich ein signifikanter Unterschied für die Interaktion Gruppe \times Zeit ($F_{14,112} = 2,67$; $P= 0.0021$). Bezüglich der Spanne zwischen Entfernen des Futterkügelchens und erneuter Öffnung der Tür (Latenzzeit_{Podest-Tür}) zeigt sich kein Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen ($P=0,46$). Die Interaktion Gruppe \times Zeit war ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich ($F_{14,112} = 0,72$; $P=0,75$).

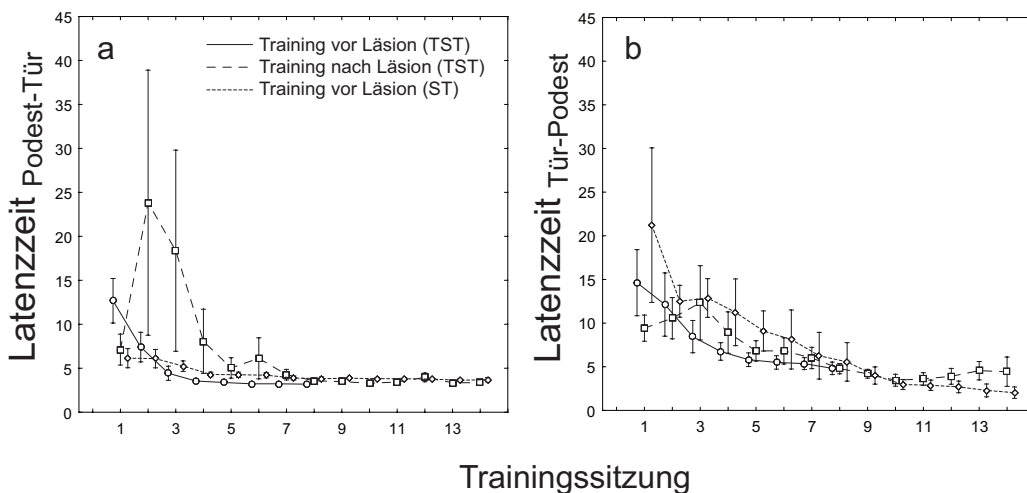


Abbildung 6: Darstellung der Latenzzeiten. Dargestellt sind die Mittelwerte beider Gruppen für jede Trainingssitzung mit dem entsprechenden Standardfehler für (a) die Zeit zwischen Türöffnung und Entfernen des Futterkügelchens und (b) die Zeit zwischen Entfernen des Futterkügelchens und Öffnung der Tür. Eine signifikante Interaktion Gruppe \times Zeit besteht für die Latenzzeit zwischen Türöffnung und Futterkügelchenentfernung.

3.3 Morphologie der ischämischen Läsionen

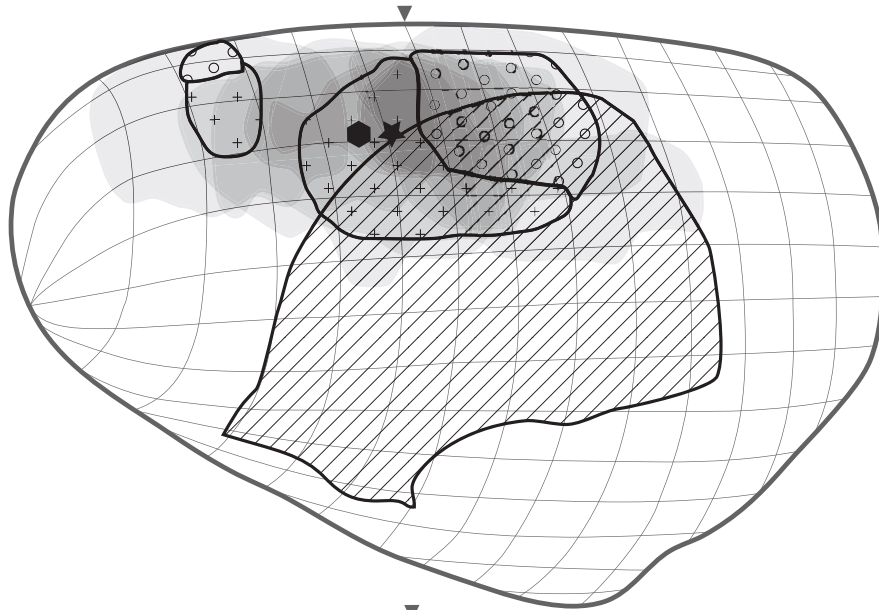
In Tabelle 2 wird die morphologische Charakterisierung der Infarkte für beide Gruppen dargestellt. Hinsichtlich der Läsionsvolumina unterscheiden sich die beiden Gruppen nicht voneinander. Mittelwerte und Spannweite der TST-Gruppe sind geringfügig höher, zeigen aber im t-Test keinen signifikanten Unterschied auf. Das relative Läsionsvolumen im Vergleich zur gesamten Hemisphäre ist in beiden Gruppen nahezu identisch (8,1% bzw. 8,2%).

Die oberflächliche Ausdehnung, gemessen am maximalen Durchmesser der Infarktnarbe in anterior-posteriorer und medial-lateraler Ausrichtung, weist auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen auf.

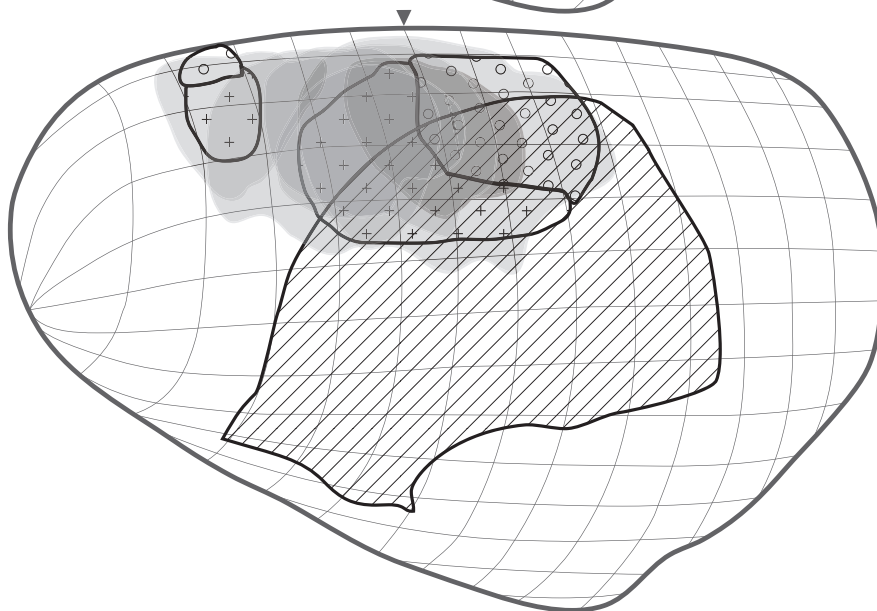
Auch die Tiefe des Infarktes, gemessen am maximalen Abstand in der Lotgeraden vom Kortex ausgehend, zeigt keinen signifikanten Unterschied.

Abbildung 7 stellt die Topographie der kortikalen Läsionen graphisch dar. Die Lokalisation der Läsionen, gemessen anhand des Läsionszentrums in Relation zu Bregma, war zwischen beiden Interventionsgruppen nicht signifikant unterschiedlich (Distanz in der Sagitalebene: $t(13) = 0,55$; $p = 0,59$; Distanz in der Koronarebene: $t(13) = 0,94$; $p = 0,37$).

a



b




 Vorderpfote (Motorkortex) Hinterpfote (Motorkortex) Somatosensorischer Kortex

Abbildung 7: Topographie der photothrombotischen Läsionen. Die Abbildung zeigt die überlagerten photothrombotischen Läsionen einer Hemisphäre, wobei (a) die TST-Gruppe zeigt und (b) die ST-Gruppe. In der oberen Skizze werden zudem die gemittelten Schwerpunkte aller Läsionen angegeben. Der Schwerpunkt der TST-Gruppe entspricht dem Stern, die ST-Gruppe wird durch das Sechseck dargestellt. Bregma wird durch das Dreieck signalisiert. Die Schattierung spiegelt die Häufigkeit wider mit der die Läsionen über den gleichen Kortexarealen liegen. Je dunkler die Färbung, desto häufiger liegen die Läsionen in diesem Bereich. Die Morphologie wurde auf einer topographischen Karte nach Neafsey (Neafsey et al., 1986) abgebildet. Diese zeigt die Lage des motorischen und somatosensorischen Kortex an.

Tabelle 2: Geometrische Abmaße der Läsionen.

Die Werte stellen die jeweiligen Mittelwerte der Gruppen mit dem entsprechenden Standardfehler dar.

	TST-Gruppe	ST-Gruppe	p (t-Test)
Läsionsvolumen (mm ³)	17,3 ± 3,02	15,5 ± 2,42	0,45
Läsionsvolumen relativ zum Hemisphärenvolumen (%)	8,1 ± 1,5	8,2 ± 0,9	0,98
anterior–posteriorer Durchmesser (µm)	3,703 ± 227	3,667 ± 289	0,92
medial–lateraler Durchmesser (µm)	4,500 ± 715	3,500 ± 342	0,26
Infarkttiefe (µm)	2,160 ± 131	1,955 ± 87	0,23

3.4 Körpergewicht nach Operation

Nach der Operation nahm das Körpergewicht der Tiere weder in der ST-Gruppe (Auswirkung der Zeit: p=1,00) noch in der TST-Gruppe (p=0,98; vor der Operation: 303, 12; nach der Operation 296, 14; p= 0,69) signifikant ab.

3.5 Sensibles Defizit nach Operation

In beiden Interventionsgruppen kam es in den Trainingssitzungen nach dem Schlaganfall zu einem Auftreten der „neglected reaches“, einem Fallenlassen des Futterkügelchens, welches bereits in der Vorderpfote gehalten wurde. Die Ratten schienen das Kügelchen in ihrer Pfote nicht zu spüren respektive zu bemerken. Die Anzahl dieser fehlerhaften Greifversuche war initial in der ST-Gruppe in der ANOVA-Analyse mit wiederholten Messungen für die Interaktion Gruppe × Zeit signifikant erhöht und fiel nach der Trainingssitzung auf das Niveau der TST-Tiere ab ($F_{7,63} = 4,24$; $p = 0,0007$, Abbildung 8).

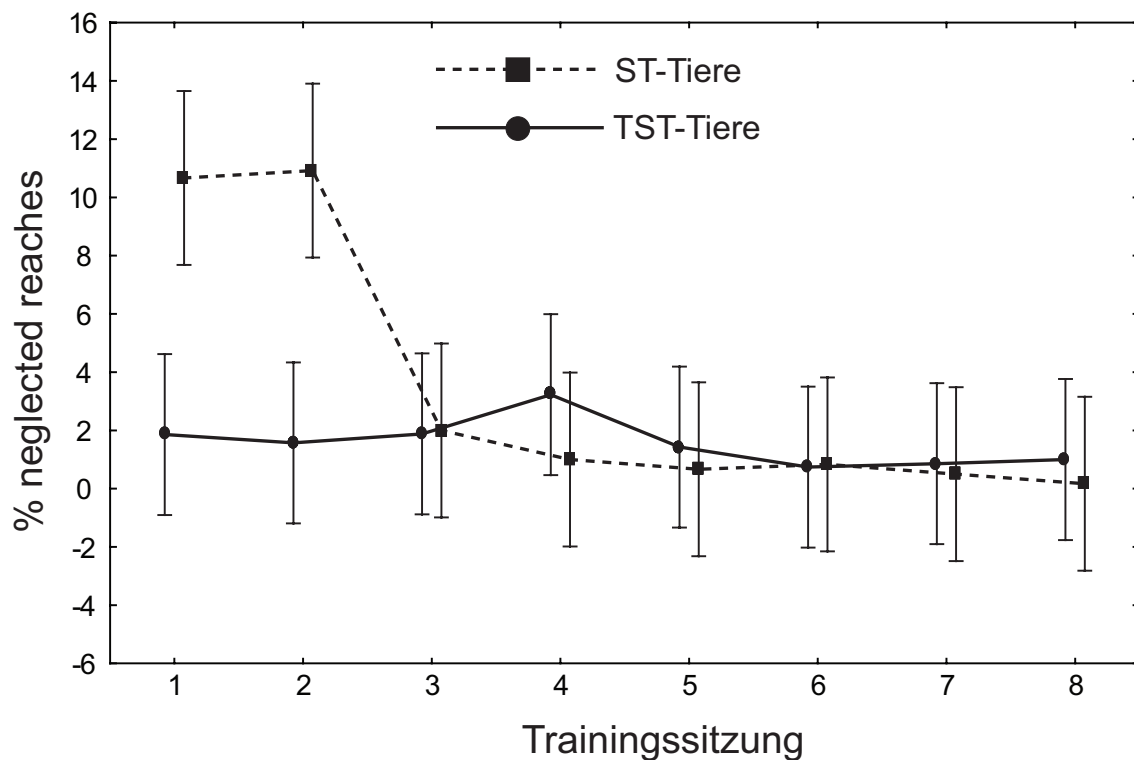


Abbildung 8: „Neglected reaches“ nach dem Schlaganfall. Die Abbildung zeigt den durchschnittlichen Anteil an „neglected reaches“ in den ersten acht Trainingssitzungen nach dem Schlaganfall für die TST- und ST-Gruppe. Die Fehlerbalken geben den Standardfehler an.

4. Diskussion

Die Versuche zeigten, dass Tiere, die das Greiftraining bereits vor dem Schlaganfall gelernt hatten, sich bei der Rehabilitation zunächst schwerer taten, langsamer lernten und länger brauchten, um ihr maximales Leistungsniveau zu erreichen, im Vergleich zu Tieren, denen diese Aufgabe neu war. In Bezug auf die Unterbegriffe des Neu- und Wiederlernens zeigen sich demnach klare Unterschiede im Verhaltensexperiment. Insofern bedarf es einer detaillierteren Untersuchung dieser Prozesse und ihres jeweiligen Einflusses auf die Rehabilitation nach einem Schlaganfall.

4.1 Diskussion der Methode

4.1.1 Wahl des Läsionsmodells

Grundsätzlich sind Modelle, die zerebrale Ischämien auslösen, in zwei Kategorien einzuteilen: einerseits Modelle, die Auswirkungen von genetischen und Umweltfaktoren widerspiegeln (Bacigaluppi et al., 2010a), und andererseits Modelle, die es ermöglichen, die Pathophysiologie während und nach einem Schlaganfall sowie mögliche Therapieansätze zu untersuchen (Bacigaluppi et al., 2010b). In der zweite Kategorie kann nochmals die Unterscheidung von globalen zerebralen Ischämien und fokalen zerebralen Ischämien vollzogen werden. Im weiteren Text wird nur auf die letztgenannten Modelle näher eingegangen.

Die Okklusion der Arteria cerebri media (MCAo) ist wohl die häufigste Methode, um Schlaganfälle im Tier zu untersuchen. Hierbei wird meist ein Silikonfaden in die freipräparierte Arteria cerebri media eingelegt, um so den Blutfluss zu stoppen. Um eine transiente Ischämie zu verursachen, wird der Faden nach 60, 90 oder 120 Minuten wieder entfernt und es kommt zur Reperfusion des

geschädigten Hirngewebes und einem umschriebenen Untergang von Nervengewebe im ipsilateralen Striatum.

Der motorische Kortex wird im Allgemeinen nur dann mitbeschädigt, wenn der Faden länger als 120 Minuten in der Arterie verbleibt. Dabei kommt es jedoch zu großen Läsionen multipler Hirnareale, Hirnödem und folglich einer höheren Rate an unerwünschten Todesfällen der Versuchstiere (Garcia et al., 1995). Ein weiterer Nachteil ist, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 12% nicht nur eine Ischämie, sondern auch eine Subarachnoidalblutung ausgelöst wird (Schmid-Elsaesser et al., 1998). Bei der Operation kommt es häufig zu einer Verletzung der Arteria carotis externa und folglich einer Ischämie der hierüber versorgten Kaumuskulatur. Tiere zeigen im Verlauf bei gleich großer zerebraler Ischämie eine verschlechterte Rehabilitation und eine Gewichtsabnahme auf (Dittmar et al., 2003). Dies beeinflusst maßgeblich die Aussagekraft eines Greifparadigmas, wie es in dem oben beschriebenen Experiment verwendet wurde. Häufig wird durch die MCAo der Hypothalamus früh geschädigt (Garcia et al., 1995), wodurch es zu einer etwa 24 Stunden anhaltenden Hyperthermie der Ratte kommt (Li et al., 1999), welche den Zelluntergang beschleunigt und somit ein Grund für die hohe Variabilität der Läsionsvolumina dieses Modells sein kann (Carmichael, 2005).

Vorteile der MCAo sind die Pathophysiologie der kortikalen Schädigung mit verzögertem Zelltod, einer ischämischen Penumbra sowie Oxidations- und Inflammationsschäden, welche beim Schlaganfall im Menschen ebenfalls auftreten und oftmals Ziele neuer neuroprotektiver Therapien sind (Cheng et al., 2004). Die Infarktgröße in diesem Modell weist eine hohe Varianz auf, liegt aber ungefähr zwischen 20% und 45% Zelluntergang der ipsilateralen Hemisphäre (Carmichael, 2005). Dies sind Größenordnungen, die beim menschlichen Schlaganfall bereits als maligner Infarkt bezeichnet werden und nur ungefähr 10% aller Schlaganfälle ausmachen (Hacke et al., 1996).

Variationen der MCAo sind die distale Okklusion der Arteria cerebri media (dMCAo) (Tamura et al., 1981) und das 3-Gefäß-Okklusions-Modell (3-vessel-occlusion) (Chen et al., 1986), welche kleinere Läsionen verursachen und keine

Schädigung des Hypothalamus und somit auch keine Hyperthermie nach sich ziehen, jedoch einen deutlich höheren chirurgischen Aufwand für den Experimentator darstellen.

Eine weitere Variation ist die Verursachung eines embolischen Verschlusses der Arteria cerebri media, indem man Mikrokugeln mit Durchmessern zwischen 50 und 400 μm oder kleine Blutgerinnsel in die Arterie appliziert (Takeo et al., 1992; Zhang et al., 1997; Gerriets et al., 2003). Diese Methoden ahmen zwar den menschlichen Schlaganfall sehr gut nach, haben aber eine große Variabilität in Bezug auf Volumen und Lokalisation der Läsion und somit auch das funktionelle Defizit des Versuchstieres.

Eine gänzlich andere Möglichkeit fokale Ischämien im Gehirn zu verursachen, ist die Endothelin-1-Applikation in kortikale oder subkortikale Regionen (Biernaskie and Corbett, 2001; Adkins and Jones, 2005). Endothelin-1 ist ein Peptidhormon und gehört zu den potentesten Vasokonstriktoren (Masaki et al., 1992). Vorteil ist die präzise Applikation und damit Schädigung gewünschter Hirnareale. Doch Endothelin-1-Rezeptoren sind nicht nur auf den Endothelzellen vorhanden, sondern auch auf Nervenzellen und Astrozyten (Nakagomi et al., 2000). Somit ist ein Koeffekt auf Neurone und Gliazellen, der möglicherweise mit den ischämischen Effekten interagiert, nicht ausgeschlossen.

Die Photothrombose ähnelt der Endothelin-Injektion in ihrer fokalen Applikation, weist aber auch deutliche Unterschiede auf.

Diese Methode ermöglicht es, dass mit geringem chirurgischem Aufwand sehr gezielt Schlaganfälle gesetzt werden können, die in ihrer Variabilität bezüglich Größe und Lokalisation sehr klein sind. Somit ist es möglich, gezielt bestimmte Regionen auszuschalten, ohne dass man viele Kollateralschäden in Kauf nehmen muss, welche die Aussagekraft des Experimentes negativ beeinflussen könnten. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, kortikale und subkortikale Netzwerke, aber auch Geschehnisse des Periinfarktgewebes besser zu untersuchen (Neumann-Haefelin et al., 1999; Shanina et al., 2006).

Die Nachteile dieses Modells betreffen vor allem die Art des mikrovaskulären Insultes. Die Penumbra (lat.: Halbschatten) ist die Region, die den zentralen Nekrosebereich umgibt und noch potenziell überlebensfähige Nervenzellen enthält. Dieses Gebiet, welches oftmals Ziel von neuen Therapieansätzen ist, ist in diesem Modell nur sehr gering ausgeprägt. Ähnlich verhält es sich mit der Kollateralisierung und der Reperfusion im Vergleich zur dMCAo (Tamura et al., 1981). Im Gegensatz zu den anderen Läsionsmodellen finden sich Zeichen von Oxidationsschäden vor allem im Infarktkern anstatt im Periinfarktgewebe (Kim et al., 2000).

Zudem führt die Zerstörung der Endothelschicht, einhergehend mit einer sehr schnellen Infarzierung, zu einem ausgeprägten lokalen Ödem, welches gleichermaßen aus einer vasogenen Komponente und einer zytotoxischen Komponente besteht (Lee et al., 1996). Es existieren also gleichzeitig durchlässige Gefäße sowie eine Schwellung in den Zellen. Diese Pathophysiologie ist im Vergleich zum Infarkt im Menschen sehr ungewöhnlich, da es hierbei nur zu einem zytotoxischen Ödem kommt (Provenzale et al., 2003).

Allen Methoden gleich ist die Tatsache, dass sie stets nur einzelne Aspekte der menschlichen Erkrankung „Schlaganfall“ erfassen können. Aber auch die Diagnose „Schlaganfall“ des Menschen zeigt ein mannigfaltiges Bild mit zum Teil großen Unterschieden in der klinischen Ausprägung in Abhängigkeit der Ätiologie und der Lokalisationen der einzelnen ischämischen Gebiete.

Häufiger Kritikpunkt von Schlaganfallexperimenten im Tier ist die Auswahl der Ergebnismessung. So werden häufig nur histologische Daten erhoben, wie der Prozentsatz an Zelluntergang oder das Läsionsvolumen (Corbett and Nurse, 1998), um damit neue Therapieansätze zu evaluieren.

In dem hier beschriebenen Experiment war die Zielsetzung, ein eindeutig definiertes motorisches Defizit der oberen Extremität in der Ratte gezielt wieder zu rehabilitieren, da nicht histologische Daten die primäre Zielgröße waren, sondern funktionelle Defizite evaluiert wurden. Vor diesem Hintergrund war es

für die Experimente notwendig ein Läsionsmodell zu wählen, welches mit hoher Präzision, geringer Variabilität und hoher Reproduzierbarkeit Läsionen des motorischen Kortex zuführt.

Daher wurde in dieser Versuchsreihe das Photothrombosemodell nach Watson (Watson et al., 1985) gewählt. Dass die Pathophysiologie nicht mit der zerebralen Ischämie beim Menschen vergleichbar ist, wurde unter der Annahme in Kauf genommen, dass die Unterschiede eine Auswirkung auf die Frühphase (1-3 Tage) nach dem Insult, weniger aber auf langfristige Erholungsvorgänge haben.

4.1.2 Wahl des Lernparadigmas

In dem hier beschriebenen Experiment wurde das oben bereits detailliert beschriebene Greifparadigma angewandt. Dabei handelt es sich um eine Weiterentwicklung der Greifparadigmen (Single-Pellet-Reaching-Task) von Whishaw und Pellis (Whishaw and Pellis, 1990) durch unsere Arbeitsgruppe (Buitrago et al., 2004).

Ziel des Paradigmas ist es, motorisches Lernen anhand von einhändigen Greifbewegungen von Ratten darzustellen. Einhändiges Greifen ist dabei für die Tiere eine ungewöhnliche, neue Bewegung, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Tiere es im Verlauf der Trainingssitzungen erlernen.

Primäre Zielgröße ist die Lernkurve, die den Quotienten aus erfolgreichen Greifversuchen und den insgesamt durchgeführten Greifversuchen widerspiegelt. Sekundäre Zielgrößen sind die beiden oben beschriebenen Latenzzeiten zwischen der Aktivierung des Türsensors und dem Entfernen des Pellets vom Podest.

Die Wahl eines Tiermodells basiert auf drei Überlegungen:

1.) Im Modell kann man Faktoren besser beeinflussen, so dass Alter, Infarktlokalisierung und -größe gut kontrollierbar sind und man somit komplexe Fragen womöglich leichter beantworten kann.

2.) Es ist bei Ratten leichter möglich, elektrophysiologische, pharmakologische und histologische Ergebnisse während oder nach dem Versuchsablauf zu gewinnen.

3.) Ein Versuchsaufbau wie der hier vorgestellte wäre in Studien am Menschen ethisch nicht vertretbar. Zugleich muss man aber jedem einzelnen Tier großen Respekt entgegenbringen, da wir nur durch Tierexperimente dazu in der Lage sind, Grundlagenforschung in diesem Detail durchzuführen.

Der Vorteil des Modells ist die gute Etablierung in unserer Arbeitsgruppe (Buitrago et al., 2004; Molina-Luna et al., 2009; Wächter et al., 2009). Es bestand viel Erfahrung im Umgang mit den Tieren während des Experimentes und der Planung der einzelnen Trainingstage. Daher wurden nur männliche Tiere verwendet, da bei diesen die Lernkurve im Vergleich zu den Weibchen weniger steil ist (Buitrago et al., 2004). Zusätzlich waren alle Tiere bei Versuchsbeginn mindestens elf Wochen alt. Dies hatte in einer unveröffentlichten retrospektiven Analyse der Trainingsdaten unserer Arbeitsgruppe stabile Lernkurven zur Folge.

Daneben ist der Single-Pellet-Reaching-Task eine sehr weit verbreitete Methode zur Erforschung motorischen Lernens und Rehabilitation (Rioult-Pedotti et al., 1998; Metz and Whishaw, 2000; Biernaskie, 2004) und ermöglicht es so, Ergebnisse unter den Arbeitsgruppen besser vergleichen zu können.

Eine Frage, die sich bei allen Tierversuchen aufdrängt, ist die Übertragbarkeit der Forschungsergebnisse auf den Menschen. Vergleicht man die Dynamik der Lernkurven motorischen Lernens beider Spezies, ergibt sich folgendes Bild: bei Ratten zeigt sich ein initial steiler Anstieg der Lernkurve mit schnellem Erlernen der neuen Fertigkeiten. Im Verlauf flacht die Kurve ab und bewegt sich nach einigen Trainingstagen auf einem horizontalen Plateau ohne Steigung oder Gefälle. Zusätzlich zeigen sich Phasen des schnellen Lernens innerhalb einer

Trainingssitzung und Phasen langsamen Lernens zwischen den Trainingssitzungen (Buitrago et al., 2004). Wenn Menschen einen motorischen Task lernen, zeigt sich ein sehr ähnliches Bild, wobei anzumerken ist, dass die zeitliche Auflösung der Lernkurve deutlich länger ist, so dass man die Plateauphase erst nach Wochen erreicht. Doch auch hier können schnelle Lernphasen während der Sitzungen sowie langsame zwischen den Sitzungen nachgewiesen werden (Karni et al., 1998). Zusammenfassend ist die Dynamik von Lernkurven von Ratten und Menschen beim Erlernen einer motorischen Fertigkeit sehr ähnlich.

Vor dem Hintergrund der Übertragbarkeit untersuchte Wishaw et al. die Morphologie des einhändigen Greifens beim Menschen und am Rattenmodell (Wishaw et al., 1992; Sacrey et al., 2009) und kommt zu dem Ergebnis, dass beide Bewegungsmuster mindestens eine parallele Entwicklung vollzogen haben und eventuell sogar homolog zueinander sind.

Zur initialen Frage bezüglich der Übertragbarkeit bleibt zu sagen, dass die aktuelle Datenlage sehr klare Resultate aufweist, die eine Übertragbarkeit von Ergebnissen des Single-Pellet-Reaching-Tasks im Rattenmodell auf den Menschen zulassen. Ob sich dies in der Zukunft bestätigt, kann nur eine weitere Erforschung motorischen Lernens in beiden Spezies zeigen.

Ein großer Nachteil des hier verwendeten Single-Pellet-Reaching-Tasks ist jedoch die hohe Variabilität zwischen den einzelnen Tieren in ihrer Lernleistung (Buitrago et al., 2004). Die Ursachen hierfür sind nicht geklärt. Möglicherweise ist die Aufgabe verhältnismäßig schwer, was sich auch in der relativ niedrigen Plateauphase widerspiegelt. Im Vergleich hierzu sind andere, ähnliche Paradigmen scheinbar leichter für die Tiere zu erlernen (Starkey et al., 2011). Ein weiterer Grund ist die Abhängigkeit des Lernverhaltens von genetischen Faktoren, die in einer kürzlich veröffentlichten Studie zu Tage kamen (Bryant et al., 2011). Folglich haben wir stets alle Tiere aus einem Wurf beiden Testgruppen gleichermaßen zugewiesen.

Die Auswertung des Single-Pellet-Reaching-Tasks in dieser Versuchsreihe erfolgte über den primären Endpunkt der Anzahl an Greifversuchen und die qualitative Unterscheidung in erfolgreiche, fallengelassene oder fehlerhafte Versuche. Diese Einteilung, die in der Lernkurve sogar nur zwei Unterscheidungen widerspiegelt – erfolgreiches Greifen oder fehlerhaftes Greifen –, ermöglicht es nicht, kleine Verbesserungen im Greifen zu sehen. Es wird auch keine Aussage über die Geschwindigkeit oder den Kraftaufwand der einzelnen Greifbewegung getroffen. Für eine genaue Evaluation des Verhaltens vor und nach dem Schlaganfall ist das somit sicherlich von Nachteil. Eine alternative Auswertungsmethode wäre die Erhebung biometrischer Daten anhand von Videoaufzeichnungen oder Bewegungs-Erfassungs-Systemen (motion capturing) (Metz and Whishaw, 2000; Johnson et al., 2012). Ersteres war mit dem von uns aquirierten Videomaterial nicht suffizient möglich. Aufnahmen von Greifbewegungen sind derzeit bereits möglich (Whishaw et al., 2010), jedoch sind die Infrarotreflektoren noch zu groß für detaillierte Aufnahmen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Einfluss einer Läsion des motorischen Kortex auf das Wiedererlernen des Greifparadigmas

Die erste Erkenntnis aus dem Experiment ist, dass motorisches Lernen nach einer inkompletten Läsion des motorischen Kortex weiterhin möglich und sogar ähnlich effektiv ist wie das Lernen bei gesunden Tieren. Das Wiederlernen einer Fähigkeit (TST-Gruppe), die bereits vor der Läsion bekannt war, ist jedoch langsamer als das Lernen bei gesunden Tieren und ist sogar langsamer als das Neulernen (ST-Gruppe) nach einer Läsion. Diese Beobachtung ist unerwartet, da man erwarten würde, dass Tiere mit einer kortikalen Läsion Lerndefizite haben – der Kortex ist ja, wie eingangs geschildert, für das motorische Lernen wichtig.

Ratten können nach einem Schlaganfall der motorischen Großhirnrinde immer noch ein Greifparadigma mit der kontraläsionalen Vorderpfote erlernen. Dieses wurde bereits in mehreren wissenschaftlichen Arbeiten, sowohl für Greifbewegungen (Markgraf et al., 1994; Gharbawie et al., 2006) als auch für den Gang und die Kraft des Griffs (Wood et al., 1996), gezeigt. Gharbawie et al. benutzten in ihrer Studie ein tägliches Training mit nur geringer Intensität von 20 Greifversuchen pro Tag. Im Vergleich zu der Intensität des hier angewandten Trainings ist diese fünfmal kleiner. Zudem waren die Läsionen, die mittels MCAo (middle cerebral artery occlusion) erzeugt wurden, um ein Vielfaches größer; es wurden $82,2 \pm 3,4\%$ der dominanten Hemisphäre zerstört. In der Versuchsreihe dieser Dissertationsschrift lag der Anteil des geschädigten Gewebes der dominanten Hemisphäre im Vergleich nur bei $8,1 \pm 1,5\%$. Eventuell lassen sich hierdurch auch die Unterschiede in der Dynamik der Lernkurven erklären. Die Lernkurve der ST-Gruppe weist einen exponentiellen Kurvenverlauf auf, wohingegen die Kurve der Tiere aus dem Experiment von Gharbawie einen langsamen, linearen Anstieg zeigt. Jedoch erreichen beide Lernkurven in ihrem Plateau die Höhe, die bereits vor dem Schlaganfall erreicht wurde.

Ältere Studien benutzen ebenfalls Trainingssitzungen mit niedriger Intensität (Lindner et al., 2003; Biernaskie et al., 2005). Ziel dieser Protokolle war es eher, den Verlauf des motorischen Defizits nach einem Schlaganfall zu messen und nicht eine rehabilitative Therapie durchzuführen. Im Gegensatz hierzu entspricht unsere hohe Trainingsintensität einer rehabilitativen Therapie und führt zu einer schnelleren Erholung nach dem Schlaganfall.

Eine Studie aus dem Jahr 2003 von Kleim et al. (Kleim et al., 2003) benutzte ein Training mit vergleichbarer Intensität, welches 20 Minuten dauerte. Unser Training dauerte im Vergleich dazu $23,4 \pm 1,5$ min. Die Läsionsgrößen waren ebenfalls ähnlich. Die Kontrollgruppe zeigte einen ähnlich steilen Beginn in der Anfangsphase der Erholung, erfuhr dann aber zwischen Tag 5 und 7 eine ausgeprägte Verschlechterung, welche in unserem Experiment nicht nachweisbar war. Möglicherweise liegt dieser Effekt daran, dass im Experiment

von Kleim et al. das Training direkt 24 Stunden nach dem Schlaganfall begonnen wurde und der zweiphasische Verlauf einen verspäteten neuronalen Schaden widerspiegelt. Dieser wäre dann aber nach dem aktuellen Konzept (Schroeter et al., 2003) etwas zu spät aufgetreten. Möglicherweise konnten wir in unserer Studie keine zweigipfelige Erholungskurve beobachten, weil die Tiere erst 72 Stunden nach dem Schlaganfall trainiert wurden und verzögerte schädigende Auswirkungen der Läsion schon abgeschlossen waren.

Erstmaliges Lernen der Greifbewegung nach der kortikalen Läsion (ST-Gruppe) zeigt ein ähnliches Lernprofil wie das erstmalige Lernen ohne bzw. vor einer Läsion (Trainingssitzung 1-8, TST-Gruppe). Im Hinblick darauf erscheint es, als ob die motorische Großhirnrinde nur wenig Anteil an dieser Art des Lernens hätte. Es gibt jedoch eine Reihe von Arbeiten, die zeigen, dass der Motorkortex sehr wohl von großer Bedeutung für das Erlernen motorischer Fähigkeiten ist, unabhängig davon, ob es sich um motorische Adaptation oder das Erlernen von Fertigkeiten handelt (Iriki et al., 1989; Shadmehr and Holcomb, 1997; Rioult-Pedotti et al., 2000; Luft, 2004). Die Analyse der Infarktlokalisationen zeigt, dass durch die Läsionen nicht der komplette caudale Motorkortex zerstört wurde. Die Tiere hatten stets noch Teile des rostralen und den kompletten kontralateralen motorischen Kortex, die eventuell die Funktion des zerstörten Gewebes übernehmen können (Biernaskie and Corbett, 2001; Biernaskie et al., 2005).

Dies wirft die Frage auf, weshalb das Wiedererlernen (TST-Gruppe) langsamer ist als das Neulernen (ST-Gruppe). Der Faktor des fehlenden Volumens kann hierfür nicht verantwortlich gemacht werden, da dieser in beiden Gruppen gleich groß ist. Auch die Lokalisation der Läsion zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen der TST- und der ST-Gruppe. Beide Gruppen unterschieden sich einzig in der Tatsache, dass die Fertigkeit bereits vorher gelernt wurde oder nicht. Dieser Umstand legt nahe, dass ein residuelles Element der zuvor bereits gelernten Aufgabe mit dem Wiederlernen interferiert. Durch die Läsion wurde die Erfolgsrate der Tiere in der ersten Trainingssitzung nach der Operation um 85% gesenkt. Es wurde folglich nicht die komplette

Erinnerung an die Fertigkeit „gelöscht“ oder der Kortex in dem Maße geschädigt, dass die Ausführung der Greifbewegung nicht mehr möglich gewesen wäre.

Ramanathan et al. (Ramanathan et al., 2006) konnte mittels intrakortikalen Microstimulation des motorischen Kortex komplexe Bewegungen der Vorderpfote in der Ratte auslösen. Diese Bewegungen hatten ein klares topographisches Muster, welches sich nach einer Läsion der Hirnrinde verschob und umverteilte. Diese Umverteilung und das Ausmaß ihrer Expansion korreliert dabei positiv mit der Erholung nach der Läsion. Eine inkomplette Zerstörung des motorischen Kortex, wie es in den beschriebenen Versuchen erfolgte, könnte folglich zu einer inkompletten Zerstörung dieser Erinnerungsspur führen und nur noch Fragmente der vollständigen Bewegungsmuster zurücklassen. Möglicherweise werden diese Fragmente bei der Ausführung einer bereits gelernten Greifbewegung erneut angesteuert respektive aktiviert und führen aber dann zu einer fehlerhaften Ausführung der Bewegung. Die Tiere der TST-Gruppe müssten also für einen unveränderten Kontext (das Greifparadigma) zuerst die alte Lösung vergessen, um anschließend eine neue Lösung zu erlernen. Eine ähnliche Theorie beschreibt Krishnan (Krishnan, 2006), der maladaptive, spontane Reorganisation nach Verletzungen des zentralen Nervensystems beobachtet.

4.2.2 Unterschiede der sensiblen Defizite zwischen den Versuchsgruppen

Während der Trainingssitzungen nach dem Schlaganfall wurde bei manchen Tieren eine besondere Art des fehlerhaften Greifens beobachtet. Dabei wurde zwar das Pellet korrekt mit der Pfote gegriffen, aber die Ratten haben dieses nicht bemerkt („neglected reaches“). Folglich wurde das Futterkugelchen beim nächsten Greifversuch oder beim Laufen wieder losgelassen. Die gleiche Beobachtung wurde bereits in Tieren MCA-Okklusion gemacht (Biernaskie et al., 2005). Obwohl die hier durchgeführten Läsionen allein den motorischen Kortex betrafen, besteht eine relativ große Überschneidung zwischen den

somatosensorischen und den motorischen Gebieten der Großhirnrinde in der Ratte (Neafsey et al., 1986), so dass davon auszugehen ist, dass diese Überschneidung für den beobachteten Effekt verantwortlich ist. Interessanterweise haben die Tiere der ST-Gruppe signifikant mehr „neglected reaches“ in den ersten beiden Trainingstagen nach dem Schlaganfall durchgeführt als die Ratten der TST-Gruppe. Möglicherweise ist die Ursache für diesen Effekt das bereits vorangegangene Training der TST-Gruppe, in dem neben dem motorischen Lernen auch das Konzept des Greifparadigmas erlernt wurde. Die TST-Ratten erwarten folglich auch nach der Läsion, dass ein Futterkugelchen in ihrer Pfote liegt und kontrollieren die Pfote trotz eingeschränkter somatosensorischer Information. Die Zahl der „neglected reaches“ sinkt in der ST-Gruppe nach der zweiten Trainingssitzung rapide auf das Niveau der TST-Gruppe. Diese Dynamik der Kurve weist auch darauf hin, dass die Unterschiede in beiden Gruppen wahrscheinlich durch die (Un)Kenntnis des Konzepts erklärbar ist. Eine unterschiedliche Ausprägung des sensiblen Defizits nach dem Schlaganfall halten wir eher für unwahrscheinlich. Eine spezifische Messung des sensiblen Defizits wurde jedoch nicht durchgeführt.

4.2.3 Lage und Volumen der Läsionen

Da die kortikalen Ischämien nicht nach konstanten Koordinaten gesetzt wurden, sondern anhand der Ergebnisse des „mappings“, ist für eine Vergleichbarkeit der beiden Testgruppen eine detaillierte Analyse der Läsionen notwendig.

Die Lage der Schlaganfälle wurde anhand des Abstands zwischen oberflächlichem Infarktzentrum und Bregma berechnet. Dabei zeigten sich weder signifikante Unterschiede der Abstände in der Sagittalebene noch in der Frontalebene zwischen beiden Gruppen.

Das Volumen der Schlaganfälle wurde in fünf Punkten miteinander verglichen: absolutes Volumen, relatives Volumen im Vergleich zur gesamten Hemisphäre,

Durchmesser zwischen anterioren und posterioren sowie medialen und lateralen Infarktgrenzen und zuletzt die Tiefe der Läsion. Bei keinem der fünf Kriterien zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Testgruppen.

4.2.4 Unterschiede in den Latenzzeiten

Die Latenzzeiten sind differenziert zu betrachten. Die Latenzzeit_{Tür-Podest} ist vor allem ein Maß für die Fähigkeit der Ratte, das Futterkügelchen vom Podest zu entfernen. Dementsprechend zeigen die Versuchstiere der TST-Gruppe in den ersten Trainingssitzungen nach der Photothrombose einen Trend zur signifikanten Zunahme der Latenzzeiten. Auffallend hierbei ist aber auch die große Streuweite der Datenpunkte, welche v.a. durch ein Tier zu erklären ist, welches in der initialen Phase der Rehabilitation größere Probleme hatte, das Pellet mit der Vorderpfote zu berühren. Die ST-Tiere haben hingegen keine gesteigerten Latenzzeiten zwischen Türöffnung und Entfernen des Pellets, trotz niedriger Werte an erfolgreichen Greifversuchen im Vergleich zu TST-Gruppe. Dieses Phänomen kann unter anderem mit der erhöhten Anzahl an „neglected reaches“ in dieser Gruppe erklärt werden, welche nicht als erfolgreiche Greifversuche gewertet wurden.

Die Latenzzeit_{Podest-Tür} ist hingegen ein gutes Maß für das operante Lernen und die Motivation des Tieres. Dabei zeigten sich zwischen den Gruppen und den Trainingsbedingungen keine signifikanten Unterschiede.

5. Zusammenfassung

Die Plastizität des menschlichen Gehirnes ermöglicht kontinuierliche Anpassungen an wechselnde Bedingungen. Dabei treten plastische Prozesse nicht nur während der normalen körperlichen und geistigen Entwicklung auf, sondern auch nach Erkrankungen wie Schlaganfall, Hirntrauma oder Multipler Sklerose. Die physiologischen und pathophysiologischen Grundlagen dieser neuronalen Anpassungsfähigkeit sind Gegenstand vieler Forschungsarbeiten, dennoch sind diese Prozesse noch weitgehend unverstanden. Plastische Prozesse wurden für den motorischen Kortex während des motorischen Lernens und motorischer Rehabilitation bereits beschrieben (Nudo et al., 1996b; Rioult-Pedotti et al., 1998; 2000; Luft, 2004), wobei der Fokus vieler Arbeiten häufig auf elektrophysiologische, zelluläre oder molekulare Veränderungen ausgerichtet ist. Ziel dieser tierexperimentellen Arbeit war es, verhaltensbiologische Eigenschaften des Lernens und Wiedererlernens nach Schlaganfall zu beschreiben und somit zum besseren Verständnis und möglicher Zuordnung von bereits bestehenden und zukünftigen Forschungsarbeiten beizutragen.

Es wurde anhand eines etablierten Lernparadigmas für motorisches Lernen eine Studie am Rattenmodell durchgeführt, in welcher die unterschiedlichen Greifleistungen zweier Versuchstiergruppen miteinander verglichen wurden. Dabei haben die Tiere beider Gruppen jeweils photothrombotische Läsionen im motorischen Kortex im Bereich der Vorderpfoten erhalten, wobei eine Gruppe das Lernparadigma bereits vor der ischämischen Läsion gelernt hat und die andere Gruppe erst nach der Intervention mit dem Paradigma vertraut gemacht wurde.

Es zeigte sich, dass die Ratten der TST-Gruppe (training-stroke-training) fähig sind, nach der ischämischen Läsion wieder das Greifparadigma zu erlernen. Das Wiederlernen erfolgt dabei langsamer als das Lernen vor dem Schlaganfall, erreicht aber dennoch nach 14 Trainingstagen ein ähnlich hohes Plateau wie vor dem Schlaganfall. Zudem ist zu beobachten, dass die

Lernkurve der TST-Tiere vor der Photothrombose signifikant steiler ist als danach.

Im Vergleich zu der TST-Gruppe zeigen die Tiere der ST-Gruppe (stroke-training), dass sie auch ohne vorhergehendes Lernen des Greifparadigmas und trotz der kortikalen Läsion fähig sind, den Greifversuch zu erlernen. Hierbei kann man sehen, dass die maximale Steigung der Lernkurve signifikant früher stattfindet als bei der Lernkurve nach Schlaganfall in der TST-Gruppe.

In der histologischen Auswertung der Hirnschnitte zeigen sich keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich der Läsionsvolumina oder der Ausdehnung der Infarktareale über dem Kortex.

Zusammengefasst lassen sich die folgenden Erkenntnisse aus den Daten dieses Versuches gewinnen:

Tiere mit einem teilweise zerstörten motorischen Kortex sind immer noch zu motorischem Lernen fähig. Dies wurde bereits in früheren Veröffentlichungen von anderen Arbeitsgruppen gezeigt (Gharbawie et al., 2006), wobei die unterschiedliche Steigung der Lernkurven wahrscheinlich von der Intensität der einzelnen Trainingssitzungen, dem Ausmaß der Läsionen und dem verwendeten Lernparadigma abhängig ist.

Die Tatsache, dass die Lernkurven der ST-Tiere derer von gesunden Tieren ohne Läsion gleichen, mag zunächst überraschen, da es viele Studien gibt, die einen klaren Zusammenhang zwischen dem motorischen Kortex und motorischem Lernen aufzeigen (Iriki et al., 1989; Rioult-Pedotti et al., 2000; Luft, 2004). Bei näherer Betrachtung fällt jedoch auf, dass die rostralen und kontralateralen Anteile der motorischen Hirnrinde intakt geblieben sind und die Funktionen übernehmen könnten.

Es bleibt die Frage, warum nach einer Läsion des motorischen Kortex das Wiederlernen einer bereits gelernten Bewegung langsamer ist als das Neulernen der gleichen Bewegung.

Es konnte gezeigt werden, dass mittels präziser Stimulationen des Motorkortex komplette Bewegungssequenzen ausgelöst werden (Ramanathan et al., 2006), folglich komplette Bewegungsabläufe im Kortex gespeichert werden. Durch eine partielle Läsion der Hirnrinde könnte es zu einer Unterbrechung dieser kortikalen Netzwerke kommen und infolge zu fragmentierten Bewegungssequenzen. Diese Fragmente könnten, ähnlich wie die Fragmentierung einer Festplatte, zu einer Behinderung des Wiederlernens führen.

Tiere mit der gleichen kortikalen Läsion, aber ohne vorhergehendes Wissen der Aufgabe müssen komplett neue Bewegungssequenzen im noch intakten Kortex formen, ohne dass es zu Interferenzen mit noch fragmentierten Gedächtnisinhalten kommen kann. Diese Erklärung für die Ergebnisse bleibt zunächst hypothetisch und muss in weiteren Versuchen untersucht werden.

6. Anhang

6.1 Erläuterungen zur Tierhaltung

Während meiner Versuche habe ich alle Anstrengungen unternommen, unnötiges Leid der Tiere zu vermeiden. Ich habe mich intensiv darum bemüht, dass die Tiere die bestmögliche Versorgung erhalten. Um die notwendigen tierschutz- und versuchstierkundlichen Fachkenntnisse zu erlangen, habe ich am versuchstierkundlichen Privatissimum des tierärztlichen Dienstes der Universität Tübingen teilgenommen. Alle Handlungen an den Versuchstieren wurden vom tierärztlichen Dienst der Universität Tübingen überwacht.

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Langzeitgedächtnis-Systeme von Säugetieren	S. 13
Abb. 2 Lernparadigma	S. 28
Abb. 3 Erfolgreicher Greifversuch einer Ratte	S. 31
Abb. 4 Lernkurven der drei Versuchstiergruppen	S. 45
Abb. 5 Nichtlineare Kurvenanpassung der Lernkurven	S. 46
Abb. 6 Darstellung der Latenzzeiten	S. 47
Abb. 7 Topographie der photothrombotischen Läsionen	S. 49
Abb. 8 „Neglected reaches“ nach dem Schlaganfall	S. 51

6.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Terminologie: Motorische Erholung und Kompensation	S. 20
Tabelle 2	Geometrische Abmaße der Läsionen	S. 50

6.4 Literaturverzeichnis

Adkins DL, Jones TA (2005) d-Amphetamine enhances skilled reaching after ischemic cortical lesions in rats. *Neurosci Lett* 380:214–218.

Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DM (2010a) Animal models of ischemic stroke. Part one: modeling risk factors. *Open Neurol J* 4:26–33.

Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DM (2010b) Animal models of ischemic stroke. Part two: modeling cerebral ischemia. *Open Neurol J* 4:34–38.

Barbay S, Plautz EJ, Friel KM, Frost SB, Dancause N, Stowe AM, Nudo RJ (2006) Behavioral and neurophysiological effects of delayed training following a small ischemic infarct in primary motor cortex of squirrel monkeys. *Exp Brain Res* 169:106–116.

Barker WH, Mullooly JP (1997) Stroke in a defined elderly population, 1967-1985. A less lethal and disabling but no less common disease. *Stroke* 28:284–290.

Biernaskie J (2004) Efficacy of Rehabilitative Experience Declines with Time after Focal Ischemic Brain Injury. *Journal of Neuroscience* 24:1245–1254.

Biernaskie J, Corbett D (2001) Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J Neurosci* 21:5272–5280.

Biernaskie J, Szymanska A, Windle V, Corbett D (2005) Bi-hemispheric contribution to functional motor recovery of the affected forelimb following focal ischemic brain injury in rats. *European Journal of Neuroscience* 21:989–999.

Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology* 232:331–356.

Brandt T, Dichgans J, Diener H-C (2007): Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen, S.379, Diener(Hg.). Stuttgart: Kohlhammer.

Braun RG, Andrews EM, Kartje GL (2012) Kinematic Analysis of Motor Recovery With Human Adult Bone Marrow-Derived Somatic Cell Therapy in a Rat Model of Stroke. *Neurorehabilitation and Neural Repair*.

Brown CE, Boyd JD, Murphy TH (2009) Longitudinal in vivo imaging reveals balanced and branch-specific remodeling of mature cortical pyramidal dendritic arbors after stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 30:783–791.

Bryant AJO, Allred RP, Maldonado MA, Cormack LK, Jones TA (2011) Breeder and batch-dependent variability in the acquisition and performance of a motor skill in adult Long-Evans rats. *Behav Brain Res* 224:112–120.

Buitrago MM, Ringer T, Schulz JB, Dichgans J, Luft AR (2004) Characterization of motor skill and instrumental learning time scales in a skilled reaching task in rat. *Behav Brain Res* 155:249–256.

Carmichael, S. T., & Chesselet, M.-F. (2002). Synchronous neuronal activity is a signal for axonal sprouting after cortical lesions in the adult. *Journal of Neuroscience*, 22(14), 6062–6070.

Carmichael ST (2005) Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose. *NeuroRx* 2:396–409.

Carmichael ST, Archibeque I, Luke L, Nolan T, Momiy J, Li S (2005) Growth-associated gene expression after stroke: evidence for a growth-promoting region in peri-infarct cortex. *Experimental Neurology* 193:291–311.

Carr JH, Shepherd RB (1987) A motor relearning programme for stroke. Aspen Pub.

Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, Maricq H, Balentine JD (1986) A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke* 17:738–743.

Cheng YD, Al-Khoury L, Zivin JA (2004) Neuroprotection for ischemic stroke: two decades of success and failure. *NeuroRx* 1:36–45.

Cohen NJ, Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210:207–210.

Conner JM, Culberson A, Packowski C, Chiba AA, Tuszynski MH (2003) Lesions of the Basal forebrain cholinergic system impair task acquisition and abolish cortical plasticity associated with motor skill learning. *Neuron* 38:819–829.

Corbett D, Nurse S (1998) The problem of assessing effective neuroprotection in experimental cerebral ischemia. *Prog Neurobiol* 54:531–548.

Debas K, Carrier J, Orban P, Barakat M, Lungu O, Vandewalle G, Hadj Tahar A, Bellec P, Karni A, Ungerleider LG, Benali H, Doyon J (2010) Brain plasticity related to the consolidation of motor sequence learning and motor adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:17839–17844.

del Ser T, Barba R, Morin MM, Domingo J, Cemillan C, Pondal M, Vivancos J (2005) Evolution of cognitive impairment after stroke and risk factors for delayed progression. *Stroke* 36:2670–2675.

Diedrichsen J (2005) Neural Correlates of Reach Errors. *Journal of Neuroscience* 25:9919–9931.

Dietrich WD, Ginsberg MD, Busto R, Watson BD (1986a) Photochemically induced cortical infarction in the rat. 1. Time course of hemodynamic consequences. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 6:184–194.

Dietrich WD, Ginsberg MD, Busto R, Watson BD (1986b) Photochemically induced cortical infarction in the rat. 2. Acute and subacute alterations in local glucose utilization. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 6:195–202.

Dittmar M, Spruss T, Schuierer G, Horn M (2003) External carotid artery territory ischemia impairs outcome in the endovascular filament model of middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 34:2252–2257.

Domenger D, Schwarting RKW (2006) The serial reaction time task in the rat: effects of D1 and D2 dopamine-receptor antagonists. *Behav Brain Res* 175:212–222.

Donchin O, Rabe K, Diedrichsen J, Lally N, Schoch B, Gizewski ER, Timmann D (2011) Cerebellar regions involved in adaptation to force field and visuomotor perturbation. *J Neurophysiol* 107:134–147.

Feigin VL, Lawes CMM, Bennett DA, Anderson CS (2003) Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol* 2:43–53.

Feydy, A, R Carlier, A Roby-Brami, B Bussel, F Cazalis, and others. 2002. Longitudinal study of motor recovery after stroke: recruitment and focusing of brain activation. *Stroke*, 33, 1610–1617

Furlan A, Higashida R, Wechsler L, Gent M, Rowley H, Kase C, Pessin M, Ahuja A, Callahan F, Clark WM, Silver F, Rivera F (1999) Intra-arterial prourokinase for acute ischemic stroke. The PROACT II study: a randomized controlled trial. *Prolyse in Acute Cerebral Thromboembolism*. *JAMA* 282:2003–2011.

Garcia JH, Liu KF, Ho KL (1995) Neuronal necrosis after middle cerebral artery occlusion in Wistar rats progresses at different time intervals in the caudoputamen and the cortex. *Stroke* 26:636–642; discussion643.

Gerriets T, Li F, Silva MD, Meng X, Brevard M, Sotak CH, Fisher M (2003) The macrosphere model: evaluation of a new stroke model for permanent middle cerebral artery occlusion in rats. *J Neurosci Methods* 122:201–211.

Gharbawie OA, Auer RN, Whishaw IQ (2006) Subcortical middle cerebral artery ischemia abolishes the digit flexion and closing used for grasping in rat skilled reaching. *Neuroscience* 137:1107–1118.

Grau AJ, Weimar C, Bugge F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, Glahn J, Brandt T, Hacke W, Diener HC (2001) Risk factors, outcome, and treatment in

subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank. *Stroke* 32:2559–2566.

Greenough WT, Larson JR, Withers GS (1985) Effects of unilateral and bilateral training in a reaching task on dendritic branching of neurons in the rat motor-sensory forelimb cortex. *Behav Neural Biol* 44:301–314.

Hacke W et al. (2004) Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet* 363:768–774.

Hacke W, Schwab S, Horn M, Spranger M, De Georgia M, Kummer von R (1996) “Malignant” middle cerebral artery territory infarction: clinical course and prognostic signs. *Archives of Neurology* 53:309–315.

Hackett ML, Yapa C, Parag V, Anderson CS (2005) Frequency of depression after stroke: a systematic review of observational studies. *Stroke* 36:1330–1340.

Hagemann G, Redecker C, Neumann-Haefelin T, Freund H-J, Witte OW (1998) Increased long-term potentiation in the surround of experimentally induced focal cortical infarction. *Ann Neurol* 44:255–258.

Hallett M (2001) Plasticity of the human motor cortex and recovery from stroke. *Brain Res Brain Res Rev* 36:169–174.

Hosp JA, Luft AR (2011) Cortical Plasticity during Motor Learning and Recovery after Ischemic Stroke. *Neural Plasticity* 2011:1–9.

Hosp JA, Molina-Luna K, Hertler B, Atiemo CO, Stett A, Luft AR (2008) Thin-film epidural microelectrode arrays for somatosensory and motor cortex mapping in rat. *J Neurosci Methods* 172:255–262.

Indredavik B, Bakke F, Solberg R, Rokseth R, Haaheim LL, Holme I (1991) Benefit of a stroke unit: a randomized controlled trial. *Stroke* 22:1026–1031.

Iriki A, Pavlides C, Keller A, Asanuma H (1989) Long-term potentiation in the motor cortex. *Science* 245:1385–1387.

Johnson WL, Jindrich DL, Roy RR, Edgerton VR (2012) Quantitative metrics of spinal cord injury recovery in the rat using motion capture, electromyography and ground reaction force measurement. *J Neurosci Methods* 206:65–72.

Kandel ER (2009) The Biology of Memory: A Forty-Year Perspective. *Journal of Neuroscience* 29:12748–12756.

Karni A, Meyer G, Rey-Hipolito C, Jezard P, Adams MM, Turner R, Ungerleider LG (1998) The acquisition of skilled motor performance: Fast and slow

experience-driven changes in primary motor cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:861.

Katsman D, Zheng J, Spinelli K, Carmichael ST (2003) Tissue Microenvironments Within Functional Cortical Subdivisions Adjacent to Focal Stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*:997–1009.

Kim GW, Sugawara T, Chan PH (2000) Involvement of Oxidative Stress and Caspase-3 in Cortical Infarction After Photothrombotic Ischemia in Mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*:1690–1701.

Kleim JA (2004) Cortical Synaptogenesis and Motor Map Reorganization Occur during Late, But Not Early, Phase of Motor Skill Learning. *Journal of Neuroscience* 24:628–633.

Kleim JA (2011) Neural plasticity and neurorehabilitation: teaching the new brain old tricks. *Journal of Communication Disorders* 44:521–528.

Kleim JA, Barbay S, Nudo RJ (1998) Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning. *J Neurophysiol* 80:3321–3325.

Kleim JA, Bruneau R, VandenBerg P, MacDonald E, Mulrooney R, Pocock D (2003) Motor cortex stimulation enhances motor recovery and reduces peri-infarct dysfunction following ischemic insult. *Neurol Res* 25:789–793.

Kollen BJ, Lennon S, Lyons B, Wheatley-Smith L, Scheper M, Buurke JH, Halfens J, Geurts ACH, Kwakkel G (2009) The Effectiveness of the Bobath Concept in Stroke Rehabilitation: What is the Evidence? *Stroke* 40:e89–e97.

Kolominsky-Rabas PL (2006) Lifetime Cost of Ischemic Stroke in Germany: Results and National Projections From a Population-Based Stroke Registry: The Erlangen Stroke Project. *Stroke* 37:1179–1183.

Kolominsky-Rabas PL, Heuschmann PU (2002) Inzidenz, Ätiologie und Langzeitprognose des Schlaganfalls. *Fortschr Neurol Psychiatr* 70:657–662.

Krishnan RV (2006) RELEARNING TOWARD MOTOR RECOVERY IN STROKE, SPINAL CORD INJURY, AND CEREBRAL PALSY: A COGNITIVE NEURAL SYSTEMS PERSPECTIVE. *Int J Neurosci* 116:127–140.

Lee VM, Burdett NG, Carpenter A, Hall LD, Pambakian PS, Patel S, Wood NI, James MF (1996) Evolution of photochemically induced focal cerebral ischemia in the rat. Magnetic resonance imaging and histology. *Stroke* 27:2110–2118; discussion2118–discussion2119.

Levin MF, Kleim JA, Wolf SL (2008) What Do Motor "Recovery" and "Compensation" Mean in Patients Following Stroke? *Neurorehabilitation and Neural Repair* 23:313–319.

Li F, Omae T, Fisher M (1999) Spontaneous hyperthermia and its mechanism in the intraluminal suture middle cerebral artery occlusion model of rats. *Stroke* 30:2464–2470; discussion2470–discussion2471.

Lindner MD, Gribkoff VK, Donlan NA, Jones TA (2003) Long-lasting functional disabilities in middle-aged rats with small cerebral infarcts. *J Neurosci* 23:10913–10922.

Lo, E. H., Moskowitz, M. A., & Jacobs, T. P. (2005). Exciting, radical, suicidal: how brain cells die after stroke. *Stroke*, 36(2), 189–192.

Luft AR (2004) Motor Skill Learning Depends on Protein Synthesis in Motor Cortex after Training. *Journal of Neuroscience* 24:6515–6520.

Markgraf CG, Green EJ, Watson B, McCabe PM, Schneiderman N, Dietrich WD, Ginsberg MD (1994) Recovery of sensorimotor function after distal middle cerebral artery photothrombotic occlusion in rats. *Stroke* 25:153–159.

Maier, M A, J Armand, P A Kirkwood, H-W Yang, J N Davis, and others (2002) Differences in the corticospinal projection from primary motor cortex and supplementary motor area to macaque upper limb motoneurons: an anatomical and electrophysiological study. *Cerebral cortex* (New York, NY : 1991), 12, 281–296

Masaki T, Yanagisawa M, Goto K (1992) Physiology and pharmacology of endothelins. *Med Res Rev* 12:391–421.

Mathers CD, Fat DM, Boerma JT, World Health Organization (2008) *The Global Burden of Disease*.

Metz GA, Whishaw IQ (2000) Skilled reaching an action pattern: stability in rat (*Rattus norvegicus*) grasping movements as a function of changing food pellet size. *Behav Brain Res* 116:111–122.

Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998) Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20:445–468.

Molina-Luna K, Buitrago MM, Hertler B, Schubring M, Haiss F, Nisch W, Schulz JB, Luft AR (2007) Cortical stimulation mapping using epidurally implanted thin-film microelectrode arrays. *J Neurosci Methods* 161:118–125.

Molina-Luna K, Hertler B, Buitrago MM, Luft AR (2008) Motor learning transiently changes cortical somatotopy. *NeuroImage* 40:1748–1754.

Molina-Luna K, Pekanovic A, Röhrich S, Hertler B, Schubring-Giese M, Rioult-Pedotti M-S, Luft AR (2009) Dopamine in motor cortex is necessary for skill learning and synaptic plasticity. *PLoS ONE* 4:e7082.

Moon S-K, Alaverdashvili M, Cross AR, Whishaw IQ (2009) Both compensation and recovery of skilled reaching following small photothrombotic stroke to motor cortex in the rat. *Experimental Neurology* 218:145–153.

Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722–726.

Nakagomi S, Kiryu-Seo S, Kiyama H (2000) Endothelin-converting enzymes and endothelin receptor B messenger RNAs are expressed in different neural cell species and these messenger RNAs are coordinately induced in neurons and astrocytes respectively following nerve injury. *Neuroscience* 101:441–449.

Neafsey EJ, Bold EL, Haas G, Hurley-Gius KM, Quirk G, Sievert CF, Terreberry RR (1986) The organization of the rat motor cortex: a microstimulation mapping study. *Brain Res* 396:77–96.

Neumann-Haefelin T, Bosse F, Redecker C, Müller HW, Witte OW (1999) Upregulation of GABAA-receptor alpha1- and alpha2-subunit mRNAs following ischemic cortical lesions in rats. *Brain Res* 816:234–237.

Nudo RJ (2006) Mechanisms for recovery of motor function following cortical damage. *Curr Opin Neurobiol* 16:638–644.

Nudo RJ, Milliken GW (1996) Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. *J Neurophysiol* 75:2144–2149.

Nudo RJ, Milliken GW, Jenkins WM, Merzenich MM (1996a) Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys. *J Neurosci* 16:785–807.

Nudo RJ, Wise BM, SiFuentes F, Milliken GW (1996b) Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science* 272:1791–1794.

Oermann E, Bidmon H-J, Witte OW, Zilles K (2004) Effects of 1 α ,25 dihydroxyvitamin D3 on the expression of HO-1 and GFAP in glial cells of the photothrombotically lesioned cerebral cortex. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 28:225–238.

Pascual-Leone A, Nguyet D, Cohen LG, Brasil-Neto JP, Cammarota A, Hallett M (1995) Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills. *J Neurophysiol* 74:1037–1045.

Penfield W, Rasmussen T (1968) *The cerebral cortex of man.*

Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO (1998) Survival and recurrence after first cerebral infarction: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1975 through 1989. *Neurology* 50:208–216.

Planton M, Peiffer S, Albucher JF, Barbeau EJ, Tardy J, Pastor J, Januel AC, Bezy C, Lemesle B, Puel M, Demonet JF, Chollet F, Pariente J (2012) Neuropsychological outcome after a first symptomatic ischaemic stroke with 'good recovery'. *Eur J Neurol* 19:212–219.

Pollock A, Baer GD, Langhorne P, Pomeroy VM (2008) Physiotherapy Treatment Approaches for Stroke. *Stroke* 39:519–520.

Provenzale JM, Jahan R, Naidich TP, Fox AJ (2003) Assessment of the patient with hyperacute stroke: imaging and therapy. *Radiology* 229:347–359.

Prsa M, Thier P (2011) The role of the cerebellum in saccadic adaptation as a window into neural mechanisms of motor learning. *European Journal of Neuroscience* 33:2114–2128.

Ramanathan D, Conner JM, Tuszynski MH (2006) A form of motor cortical plasticity that correlates with recovery of function after brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:11370–11375.

Rathore SS, Hinn AR, Cooper LS, Tyroler HA, Rosamond WD (2002) Characterization of incident stroke signs and symptoms: findings from the atherosclerosis risk in communities study. *Stroke* 33:2718–2721.

Rioult-Pedotti MS, Friedman D, Donoghue JP (2000) Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 290:533–536.

Rioult-Pedotti MS, Friedman D, Hess G, Donoghue JP (1998) Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nat Neurosci* 1:230–234.

Rogan MT, Stäubli UV, LeDoux JE (1997) Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390:604–607.

Rosenberg GA (1999) Ischemic brain edema. *Prog Cardiovasc Dis* 42:209–216.

Sacrey L-AR, Alaverdashvili M, Whishaw IQ (2009) Similar hand shaping in reaching-for-food (skilled reaching) in rats and humans provides evidence of homology in release, collection, and manipulation movements. *Behav Brain Res* 204:153–161.

Schafe GE, LeDoux JE (2000) Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *J Neurosci* 20:RC96.

Schiene K, Bruehl C, Zilles K, Qü M, Hagemann G, Kraemer M, Witte OW (1996) Neuronal hyperexcitability and reduction of GABAA-receptor expression

in the surround of cerebral photothrombosis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 16:906–914.

Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen HJ (1998) A critical reevaluation of the intraluminal thread model of focal cerebral ischemia: evidence of inadvertent premature reperfusion and subarachnoid hemorrhage in rats by laser-Doppler flowmetry. *Stroke* 29:2162–2170.

Schroeter M, Küry P, Jander S (2003) Inflammatory gene expression in focal cortical brain ischemia: differences between rats and mice. *Brain Res Mol Brain Res* 117:1–7.

Shadmehr R, Holcomb HH (1997) Neural correlates of motor memory consolidation. *Science* 277:821–825.

SHANINA E, Schallert T, WITTE O, Redecker C (2006) Behavioral recovery from unilateral photothrombotic infarcts of the forelimb sensorimotor cortex in rats: Role of the contralateral cortex. *Neuroscience* 139:1495–1506.

Shmuelof L, Krakauer JW (2011) Are We Ready for a Natural History of Motor Learning? *Neuron* 72:469–476.

Squire LR (2004) Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82:171–177.

Starkey ML, Bleul C, Maier IC, Schwab ME (2011) Rehabilitative training following unilateral pyramidotomy in adult rats improves forelimb function in a non-task-specific way. *Experimental Neurology* 232:81–89.

Statistisches Bundesamt (Hg.): Bevölkerung Deutschlands bis 2060. URL: https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Bevoelkerung/VorausberechnungBevoelkerung/BevoelkerungDeutschland2060Presse5124204099004.pdf;jsessionid=B140DE6397231E22AF4C3A3EC47F5BF8.cae1?__blob=publicationFile [letzter Zugriff: 26.05.2014].

Sven Trygged KAIK (2011) Income and education as predictors of return to working life among younger stroke patients. *BMC Public Health* 11:742–161.

Sweatt JD (2009) *Mechanisms of Memory*, Second Edition. Academic Press.

Takeo S, Taguchi T, Tanonaka K, Miyake K, Horiguchi T, Takagi N, Fujimori K (1992) Sustained damage to energy metabolism of brain regions after microsphere embolism in rats. *Stroke* 23:62–68.

Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM (1981) Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological

consequences following middle cerebral artery occlusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 1:53–60.

Thomas Carmichael S, Wei L, Rovainen CM, Woolsey TA (2001) New Patterns of Intracortical Projections after Focal Cortical Stroke. *Neurobiol Dis* 8:910–922.

Traversa R, Cicinelli P, Bassi A, Rossini PM, Bernardi G (1997) Mapping of motor cortical reorganization after stroke. A brain stimulation study with focal magnetic pulses. *Stroke* 28:110–117.

Treger I, Shames J, Giaquinto S, Ring H (2007) Return to work in stroke patients. *Disabil Rehabil* 29:1397–1403.

Ward, Nick S, and Richard S J Frackowiak (2006) The functional anatomy of cerebral reorganisation after focal brain injury. *Journal of Physiology-Paris*, 99, 425–436

Watson BD, Dietrich WD, Busto R, Wachtel MS, Ginsberg MD (1985) Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann Neurol* 17:497–504.

Wächter T, Röhrich S, Frank A, Molina-Luna K, Pekanovic A, Hertler B, Schubring-Giese M, Luft AR (2009) Motor skill learning depends on protein synthesis in the dorsal striatum after training. *Exp Brain Res* 200:319–323.

Whishaw IQ, Alaverdashvili M, Kolb B (2008) The problem of relating plasticity and skilled reaching after motor cortex stroke in the rat. *Behav Brain Res* 192:124–136.

Whishaw IQ, Pellis SM (1990) The structure of skilled forelimb reaching in the rat: a proximally driven movement with a single distal rotatory component. *Behav Brain Res* 41:49–59.

Whishaw IQ, Pellis SM, Gorny BP (1992) Skilled reaching in rats and humans: evidence for parallel development or homology. *Behav Brain Res* 47:59–70.

Whishaw IQ, Travis SG, Koppe SW, Sacrey L-A, Gholamrezaei G, Gorny B (2010) Hand shaping in the rat: conserved release and collection vs. flexible manipulation in overground walking, ladder rung walking, cylinder exploration, and skilled reaching. *Behav Brain Res* 206:21–31.

Wissel J, Manack A, Brainin M (2013) Toward an epidemiology of poststroke spasticity. *Neurology* 80:S13–S19.

Withers GS, Greenough WT (1989) Reach training selectively alters dendritic branching in subpopulations of layer II-III pyramids in rat motor-somatosensory forelimb cortex. *Neuropsychologia* 27:61–69.

Wolf SL, Winstein CJ, Miller JP, Taub E, Uswatte G, Morris D, Giuliani C, Light KE, Nichols-Larsen D, for the EXCITE Investigators (2006) Effect of Constraint-Induced Movement Therapy on Upper Extremity Function 3 to 9 Months After Stroke: The EXCITE Randomized Clinical Trial. *JAMA* 296:2095–2104.

Wood NI, Sopesen BV, Roberts JC, Pambakian P, Rothaul AL, Hunter AJ, Hamilton TC (1996) Motor dysfunction in a photothrombotic focal ischaemia model. *Behav Brain Res* 78:113–120.

Zhang Z, Zhang RL, Jiang Q, Raman SB, Cantwell L, Chopp M (1997) A new rat model of thrombotic focal cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 17:123–135.

7. Erklärungen zum Eigenanteil

Im Folgenden werden die Koautoren der Publikation aufgelistet mit Beschreibungen des geleisteten Beitrags, der die Veröffentlichung ermöglicht hat.

Katuska Molina-Luna: Als PhD-Studentin und langjährige Mitarbeiterin der Arbeitsgruppe Luft, half Frau Molina-Luna bei Fragen bezüglich des Rattentrainings und Operationstechniken.

Manuel Buitrago: Manuel Buitrago brachte mir zu Beginn meiner Doktorarbeit die Durchführung der Photothrombostechik und des Rattentrainings bei. In den ersten drei Monaten betreute er mich stets hilfsbereit und war an der initialen Fragestellung und der Versuchsplanung beteiligt.

Benjamin Hertler: Als medizinischer Doktorand unterstütze mich Benjamin Hertler bei der Durchführung der Trainingseinheiten. Vor allem aber seine kritischen Anmerkungen und sein nimmermüder Einsatz bei technischen Problemen war eine große Hilfe bei der Erstellung der Dissertationsschrift.

Daniel Hanley: Professor Hanley war mit seinem Rat bei der Auswertung der Daten und der wissenschaftlichen Beurteilung der Ergebnisse eine grosse Hilfe.

Andreas R. Luft: Professor Luft hat mich während der Erhebung und Analyse der Daten stets eng betreut. Er hatte mit seinem Wissen über motorische Rehabilitation und motorisches Lernen grossen Anteil an der Konzeption des Versuches und an der Auswertung, Interpretation und Veröffentlichung der Daten.

Max Schubring-Giese: Mein eigener Beitrag zu der Promotionsarbeit ist die Durchführung aller Operationen, sowie über 95% der Trainingseinheiten der Ratten. Anschliessend führte ich die histologische Aufarbeitung und Auswertung der Hirne durch. Für die statistische Analyse und die Publikation der Daten wurde ich von Professor Dr. med. Andreas Luft betreut.

8. Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Maximilian Schubring-Giese, Katuska Molina-Luna, Benjamin Hertler, Manuel M. Buitrago, Daniel F. Hanley, Andreas R. Luft - Speed of motor re-learning after experimental stroke depends on prior skill - *Exp Brain Res* (2007) 181:359–365

Danksagung

Allen, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben, möchte ich hiermit ganz herzlich meinen Dank aussprechen.

Insbesondere danke ich Herrn Prof. Dr. med. Andreas Luft für die Überlassung des Themas und die stets freundliche und enge Betreuung dieses Projektes. Für seine ausgezeichnete Unterstützung und Förderung bin ich ebenso dankbar, wie für das sehr gute und langjährige Verhältnis, das zwischen uns herrscht.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Ulf Ziemann für die komplikationslose Übernahme meiner Betreuung.

Ich möchte allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Luft für die fröhlichen Zeiten, die wir gemeinsam verbringen konnten und in Zukunft noch verbringen werden, danken. Sie haben mich immer in meiner Arbeit unterstützt und motiviert.

Natürlich danke ich auch meinen Eltern, meiner Familie und Susanne Schubring-Giese, die mit ihrer Beharrlichkeit dazu beigetragen haben, dass diese Promotion beendet werden konnte.

Lebenslauf

Allgemeine Angaben:

Name: Maximilian Schubring-Giese
Geburtsdatum /-ort: 10.03.1983/ München
Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung:

1989-1992 Oskar-Schwenk-Schule, Waldenbuch
1992-1995 Carl-Orff-Grundschule, Berlin
1995-1997 Arndt-Gymnasium-Dahlem, Berlin
1997-2002 Albert-Einstein-Gymnasium, München
Leistungskurse: Mathematik und Deutsch
Abschluss: Abitur (Gesamtnote: 1,9)

Studium:

2002-2004 Studium der Humanmedizin, Ludwig Maximilians
Universität, München
02/2007-07/2007 Studium der Humanmedizin, Auslandssemester
an der Università degli studi di Cagliari, ITALIEN
2004-2009 Studium der Humanmedizin, Eberhard Karls
Universität, Tübingen
06.11.2009 Ärztliche Prüfung

Praktische Erfahrung:

Famulaturen

3/2005 Klinikum München-Harlaching, Neurologie
3/2006 Johns Hopkins University, Baltimore, USA,
Neurologie
7/2006 Kreisklinik Wolfratshausen, Innere Medizin
9/2007 Universitätsklinikum Tübingen, Chirurgie

Praktisches Jahr

09/2008-12/2008	Ospedale regionale di Lugano, Chirurgie, Schweiz
12/2008-04/2009	Bürgerhospital, Stuttgart, Innere Medizin
04/2009-07/2009	Bürgerhospital, Stuttgart, Neurologie

Forschungstätigkeit

04/2005-07/2008	Doktorand der AG Luft, Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Tübingen
-----------------	--

Facharztausbildung Neurologie

02/2010-06/2013	Klinik für Neurologie, Universitätsspital Zürich
Seit 08/2013	Zentrum für Paraplegie, Uniklinik Balgrist, Zürich