

**Zerebrale Periinfarktdepolarisationen:
Zeitliche und topographische Dynamik in simultaner
Magnetoencephalographie und Elektrokortikographie
nach Mediaokklusion bei der Ratte**

DISSERTATION

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

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Thomas Michael Ringer
geboren am 25. Oktober 1975
in Marbach am Neckar

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dr. U. Zwiener
2. Prof. Dr. O. W. Witte
3. Prof. Dr. J. Röther

Tag der öffentlichen Verteidigung: 3.2.2004

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV

ZUSAMMENFASSUNG **V**

1. EINLEITUNG **1**

1.1. Zerebrale Ischämie	2
1.1.1. Veränderungen der Ionenhomöostase	3
1.1.2. Metabolische Veränderungen	5
1.1.3. Hämodynamische Veränderungen	5
1.1.4. Modell der Penumbra	6
1.1.5. Weitere Faktoren in der Pathogenese der zerebralen Ischämie	7
1.2. Spreading Depression	8
1.2.1. Elektrophysiologische Charakteristika	8
1.2.2. Veränderungen der Ionenhomöostase, metabolischer und hämodynamischer Parameter	9
1.2.3. Entstehung und Propagation	10
1.2.4. Pathophysiologische Bedeutung	11
1.3. Periinfarktdepolarisationen	12
1.3.1. Entstehung und Propagation	13
1.3.2. Pathophysiologische Bedeutung	13
1.4. Magnetoencephalographie	14
1.4.1. Physiologische und physikalisch-technische Grundlagen des MEG	14
1.4.2. Vergleich von Magnetoencephalographie und Elektroencephalo- bzw. -kortikographie	16
1.4.3. Anwendungen der Magnetoencephalographie	17
1.5. Zielstellung	18

2. METHODEN UND MATERIALIEN **20**

2.1. Anästhesie und Monitoring	20
2.2. Präparation und Okklusion der Arteria cerebri media	20

2.3.	Erfassung der Messdaten	23
2.3.1.	Elektrokortikographie (ECoG)	23
2.3.2.	Magnetoencephalographie (MEG)	24
2.3.3.	Datenaufzeichnung	25
2.4.	Auswertung der Messdaten	26
2.4.1.	Auswertung des ECoG-Signals	26
2.4.1.1.	Detektion des Depolarisationsbeginns	26
2.4.1.2.	Kriterien für die Definition Spreading Depression-ähnlicher Periinfarktdepolarisationen (SD-PID)	26
2.4.1.3.	Zeitintervall für die MEG-Detektion	27
2.4.2.	MEG-Datenauswertung	28
2.4.2.1.	Datenvorverarbeitung	28
2.4.2.2.	Hauptkomponentenanalyse	29
2.4.2.3.	Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP)	30
2.4.2.4.	Bestimmung der magnetischen Hintergrundaktivität	31
2.4.2.5.	Definition der mit Spreading Depression-korrelierten Magnetfeldveränderungen	31
2.5.	Statistik	32
3.	ERGEBNISSE:	33
3.1.	Physiologische Parameter	33
3.2.	Messzeiten	33
3.3.	Elektrokortikographie	34
3.3.1.	Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen	37
3.3.2.	Ausbreitung der Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen	40
3.3.3.	Ausbildung der Spreading Depression-ähnlichen Periinfarkt- depolarisationen unter dem Elektrodenarray	42
3.4.	Magnetoencephalographie	44
3.4.1.	Verlaufsmuster I - ein Gipfel	46
3.4.2.	Verlaufsmuster II - ein asymmetrischer zweigipfeliger Signalverlauf	50
3.4.3.	Verlaufsmuster III - ein symmetrischer zweigipfeliger Signalverlauf	53
3.4.4.	Verlaufsmuster IV - ein dreigipfeliger Signalverlauf	56
3.4.5.	Nicht klassifizierbare Signalveränderungen	59

3.5.	Magnetoencephalographie und Elektrokortigraphie	63
3.5.1	Zeitliche Zuordnung der MEG- und ECoG-Veränderungen	63
3.5.2	Vergleich der MEG-Verlaufsmuster mit der topographischen Ausbreitung im Elektrodenarray	64
4.	DISKUSSION	66
5.	LITERATURVERZEICHNIS	91

DANKSAGUNG
LEBENS LAUF
TIERVERSUCHSGENEHMIGUNG
EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
al.	alteri
ATP	Adenosintriphosphat
CBF	cerebral blood flow (zerebraler Blutfluss)
CT	Computertomographie
DC	direct current (Gleichstrom)
ECoG	Elektrokortikographie bzw. -gramm
EEG	Elektroencephalographie bzw. -gramm
fT	Femtotesla (10^{-18} Tesla)
HK	Hauptkomponente
Max.	Maximum
MCAO	middle cerebral artery occlusion (Okklusion der A. cerebri media)
MGFP	mean global field power (mittlere globale Magnetfeldstärke)
MEG	Magnetoencephalographie bzw. -encephalogramm
Min.	Minimum
mM	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie
NADH	reduziertes Nicotinsäureamidadenindinucleotid
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickoxid
PET	Positronenemissionstomographie
PID	Periinfarktdepolarisation
SD	Spreading Depression
SD-PID	Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisation
SQUID	superconducting quantum interferenz device
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
μ T	Microtesla
μ V	Microvolt
Δ B	magnetischen Flussänderung
Δ I	elektrische Stromänderung

Zusammenfassung

Zerebrale Periinfarktdepolarisationen sind ein wesentliches Phänomen elektrischer Veränderungen unter lokaler Ischämie oder allgemeiner zerebraler Hypoxie und werden als pathogenetische Komponente der zerebralen Schädigung vermutet. Die Mechanismen und insbesondere die zeitlich-räumliche Dynamik dieser reversiblen Entladungen, die im Infarkttrandgebiet entstehen, sind noch wenig untersucht. Das resultiert aus der Schwierigkeit, zerebrale Erregungen räumlich komplett zu erfassen, was jedoch mit simultaner elektrischer und magnetischer Registrierung der Depolarisationen überwunden werden kann. Deshalb wird in dieser Arbeit mittels simultaner 16-Kanal-Elektrokortiko- und Magnetoencephalographie die zeitlich-topische Dynamik dieser reversiblen Depolarisationen nach Okklusion der A. cerebri media untersucht. Dies lässt sich besonders übersichtlich am lissenzephalen Gehirn der Ratte erreichen. Ziel dieser Untersuchungen war eine umfassende Charakterisierung 1. von Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen mit einem quadratischen Multielektrodenarray, das Aussagen zum topographischen Ausbreitungsprozess erlaubt, und 2. der daraus resultierenden Magnetfeldveränderungen in ihrem zeitlichen Verlauf. Damit sollten Aussagen über den gesamten räumlichen Ausbreitungsprozess getroffen werden.

Dazu wurden neun Ratten anästhesiert, beatmet und unter Kontrolle der physiologischen Parameter jeweils bis zu 3 h lang untersucht. Dabei konnten folgende Ergebnisse gewonnen werden:

- 1.) Die Anzahl der im Rahmen der fokalen Ischämie beobachteten, spontan entstandenen Depolarisationen variierte von 1 bis 9 innerhalb von 3 h pro Tier. Der Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Depolarisationen variierte zwischen 5 und 30 Minuten intra- und interindividuell.
- 2.) Von 36 im ECoG erfassten Depolarisationen erfüllten 31 die Kriterien einer Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisation (SD-PID, siehe 2.4.1.2.). 5 Ereignisse erfüllten diese Kriterien nicht und wurden als sich nicht ausbreitende Depolarisationen aufgefasst.
- 3.) Die SD-PID nehmen von verschiedenen Orten der ischämischen Hemisphäre ihren Ausgang. Am häufigsten wurde der Beginn zuerst im rostro-medialen Quadranten

- des Elektrodenarrays detektiert. Insgesamt zeigte sich der früheste Beginn signifikant häufiger im rostralen Bereich, wohingegen kein Unterschied zwischen der medialen und lateralen Hälfte des Elektrodenarrays ausgemacht werden konnte.
- 4.) Die Ausbreitungsrichtung von rostro-medial nach caudo-lateral wurde am häufigsten beobachtet. Insgesamt breitete sich die Depolarisation signifikant häufiger von rostral nach caudal aus als in die entgegengesetzte Richtung, wohingegen eine Propagation von medial nach lateral nur geringfügig häufiger war als von lateral nach medial.
 - 5.) Das Maximum der Depolarisationsamplitude wurde am häufigsten unter Elektroden des rostro-lateralen Quadranten erfasst. Insgesamt zeigte sich dieses Maximum rostral signifikant häufiger als caudal und lateral geringfügig häufiger als medial.
 - 6.) Hinsichtlich des Amplitudenmaximums der Depolarisation unter den Elektroden zeigte sich im Mittel über alle Ereignisse eine Zunahme von der medialen zur lateralen Hälfte des Elektrodenarrays.
 - 7.) Bei den 31 im ECoG erfassten Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen konnten bei 26 Ereignissen signifikante Veränderungen der mittleren globalen Magnetfeldstärke erfasst werden. Bei den restlichen 5 Ereignissen im ECoG wurden auch Magnetfeldveränderungen gemessen, die jedoch nicht das Signifikanzniveau erreichten. Aussagen über alleinige magnetische Veränderungen können nicht gemacht werden.
 - 8.) 23 magnetische Veränderungen zeigten übereinstimmende zeitliche Muster, so dass die Ereignisse reproduzierbaren Verlaufsmustern zugeordnet werden konnten. Dabei wurden 13 eingipfelige Magnetfeldveränderungen, 8 zweigipfelige und 2 dreigipfelige erfasst. 3 Magnetfeldveränderungen konnten keinem Muster eindeutig zugeordnet werden.
 - 9.) Die Magnetfeldveränderungen zeigten keine feste zeitliche Beziehung zu den Veränderungen im ECoG. 3 Ereignisse wurden vollständig im Detektionszeitintervall (Depolarisationsbeginn im ECoG an Elektrode 7 ± 120 s, Dauer: 240 s) detektiert. 7 MEG-Veränderungen begannen zuvor und endeten nach diesem Intervall. 6 Ereignisse begannen im MEG vor dem ECoG-Zeitintervall und endeten in dieser Zeitspanne, wohingegen 6 in dieser Zeitspanne begannen und danach endeten. 2 MEG-Signale wurden vollständig vor dem Zeitintervall detektiert.

Jedoch wurde in keinem Fall ein MEG-Signal ausschließlich nach dieser Zeitspanne beobachtet.

- 10.) Den MEG-Verlaufsmustern lagen verschiedene Ausbreitungsrichtungen im Elektrodenarray zugrunde. Eine Ausbreitung von caudo-lateral nach rostro-medial wurde nur bei eingipfeligen MEG-Signalen oder nicht klassifizierbaren Veränderungen beobachtet. Alle anderen Ausbreitungsrichtungen konnten bei mehreren MEG-Verlaufsmustern beobachtet werden.
- 11.) In der zeitlichen Abfolge der Ereignisse bei einzelnen Versuchstieren zeigten sich keine klar erkennbaren systematischen Veränderungen des Entstehungsortes, der Ausbreitungsrichtung oder der beobachteten MEG-Verlaufsmuster.

Diese Ergebnisse beschreiben erstmals mehrdimensional verschiedene Charakteristika von Periinfarktdepolarisationen und zeigen, dass eine ausgesprochene zeitliche und räumliche Dynamik des Auftretens und der Ausbreitung von Periinfarktdepolarisationen besteht. Unterschiede in den regionalen Stoffwechselbedingungen und Erregungsmustern aufgrund der Ischämie sind genauso wie zytoarchitektonische und vaskulär-hämodynamische Differenzen als Ursache dieser räumlichen und zeitlichen Dynamik denkbar. Diese Dynamik führt wahrscheinlich zu den äußerst komplexen Magnetfeldveränderungen.

Die beobachteten Ereignisse lassen sich in Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen und sich nicht ausbreitende Depolarisationen unterteilen. Ob dabei tatsächlich verschiedene Arten von Depolarisationen vorliegen und diesen unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen, sollte in weiteren Studien erforscht werden. Genauso wäre nämlich die Entstehung Spreading Depression-ähnlicher Depolarisationen in großen Arealen denkbar, so dass eine Ausbreitung der Entladung nur von den Rändern aus stattfindet und in dieser Arbeit vom Elektrodenarray eventuell nicht erfasst werden konnte.

Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen nehmen ihren Ausgang von verschiedenen Orten der ischämischen Hemisphäre, wobei eine Bevorzugung der rostro-medialen Areale als Entstehungsort und der von rostro-medial nach caudo-lateral gerichteten Ausbreitung wahrscheinlich ist. Dabei müssen auch die Umgebungsbedingungen an den unterschiedlichen Entstehungsorten der Depolarisationen als maßgebliche Faktoren in Betracht gezogen werden. Zudem muss in Frage gestellt

werden, ob Periinfarktdepolarisationen tatsächlich als Alles-oder-Nichts-Reaktionen aufgefasst werden können oder doch unterschiedlich starke Auslöser zu unterschiedlichen Ausprägungen der Depolarisationen führen.

Die Magnetfeldveränderungen sind nur in einem Teil der Fälle durch eine einmalige Zunahme und Abnahme der Magnetfeldstärke charakterisiert und zeigen unterschiedliche zeitliche Verlaufsmuster, die teilweise mehrere Signalpeaks aufweisen können. Die Magnetfeldveränderungen stehen in keiner festen zeitlichen Beziehung zu den Depolarisationen im ECoG, genauso wie keine eindeutige Beziehung zwischen den verschiedenen MEG-Verlaufsmustern und den unterschiedlichen Ausbreitungsmustern im ECoG gezeigt werden konnte. Somit scheinen beide Signale unterschiedliche Anteile der zugrundeliegenden Ereignisse widerzuspiegeln, so dass nur mit der simultanen Anwendung von ECoG und MEG eine umfassende Charakterisierung der Periinfarktdepolarisationen möglich ist.

Insgesamt zeigen also diese Ergebnisse durch ihre Variabilität, dass Periinfarktdepolarisationen nach fokaler Ischämie deutlich komplexere Vorgänge sind, als bisher vermutet wurde, und dass sie eine ausgesprochene zeitliche und topographische Dynamik besitzen. Das könnte für die unterschiedlichen Muster zerebraler Schädigung beim Hirninfarkt wesentlich sein.

1. Einleitung

Zerebrovaskuläre Erkrankungen spielen eine entscheidende Rolle für die Morbidität und Mortalität in hochentwickelten Industrieländern. Nicht nur durch die demographische Entwicklung der Bevölkerungsstruktur mit einer Zunahme des durchschnittlichen Lebensalters und durch die Lebensgewohnheiten einer Industriegesellschaft mit ihren Risikofaktoren erfährt der "Schlaganfall" verstärktes Interesse in der Medizin. Auch die oft stark beeinträchtigenden Folgeschäden und die zeit- und kostenintensiven Rehabilitationsmaßnahmen tragen dazu bei. Obwohl sich die Inzidenz durch präventive Maßnahmen in den letzten 3 Dekaden in den westlichen Industrienationen senken ließ, stehen zerebrovaskuläre Erkrankungen nach kardiovaskulären und malignen Erkrankungen nach wie vor an dritter Stelle der Todesursachenstatistik in Deutschland (Statistisches Bundesamt, 2002).

Durch intensive Forschung in den Neurowissenschaften wurde in den letzten Jahrzehnten das Verständnis der Pathogenese von Hirninfarkten und sich daraus ergebender Therapiemöglichkeiten sowohl im Tierversuch als auch beim Menschen verbessert. Mit dem Einsatz neuer Methoden, vor allem bildgebender Untersuchungsverfahren wie Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und Positronen-Emissions-Tomographie (PET), konnten die Kenntnisse über die zeitliche Entwicklung ischämischer Infarkte und bestehender Stoffwechselveränderungen deutlich erweitert werden. Jedoch sind immer noch viele Fragen offen, wie z.B. die Rolle von Periinfarktdepolarisationen in der Pathogenese des Hirninfarktes. Zur Klärung dieser Frage muss aber zunächst das Muster dieser Periinfarktdepolarisationen hinreichend detailliert erfasst werden. Das ist für die zeitlich-räumlichen Muster noch wenig geschehen. Deshalb soll diese Arbeit die zeitlich-räumliche Dynamik von Periinfarktdepolarisationen mittels simultaner Elektrokortiko- und Magnetoencephalographie (ECoG und MEG) nach Okklusion der A. cerebri media bei der Ratte näher untersuchen. Dabei sollen Aussagen zum Entstehungsort und zur Ausbreitung dieser reversiblen Depolarisationen im Infarkttrandbereich ermöglicht werden, da sie für das Ausmaß zellulärer Schädigungen beim ischämischen Hirninfarkt eine wichtige Rolle spielen sollen (Details im Abschnitt 1.3). Dadurch könnte zukünftig mit weiteren Untersuchungen wahrscheinlich gemacht werden, ob diese Depolarisationen regelmäßig und in

bestimmten räum-lichen Mustern zur Verstärkung der Schädigungsprozesse beim Hirninfarkt beitragen.

1.1. Zerebrale Ischämie

Tierexperimentelle Studien zeigen, dass das intakte Gehirn je ein Drittel der Energie für den basalen Strukturstoffwechsel, die Aufrechterhaltung der synaptischen Aktivität und für die Ionenhomöostase verbraucht (Hossmann, 1987). Der wichtigste Energielieferant ist dabei Adenosintriphosphat (ATP), das im Gehirn fast ausschließlich aus Glucose im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung entsteht. Glucose wird aktiv durch Glucose-transportproteine aus den Kapillaren durch die Blut-Hirn-Schranke in das Parenchym transportiert.

Bei einer Mangel durchblutung des Gehirns (Ischämie) zeigen sich schon nach wenigen Minuten Funktionsstörungen des Nervengewebes, bevor sich dann ein irreparabler Zellschaden (Infarkt) ausbildet. Dabei kann eine ischämische Schädigung unterteilt werden in eine umschriebene (fokale) Ischämie, bei der sich im abhängigen Versorgungsbereich bei entsprechender Stärke eine Pannekrose aller Gewebeanteile ausbildet, und eine globale moderate Ischämie, bei der sich in vulnerablen Arealen ein selektiver Neuronen-verlust bei intakter Gewebestruktur und Glia zeigt. Der experimentelle Verschluss einer Hirnarterie, wie zum Beispiel der A. cerebri media, führt zu einer fokalen Ischämie. Dabei wird die topographische Ausdehnung hauptsächlich von der Stärke und Dauer des Perfusionsdefizits bestimmt (Heiss and Rosner, 1983; Morawetz et al., 1978; Kohno et al., 1995). Neben weiteren Faktoren, wie der Gewebetemperatur und dem Säuren-Basen-Verhältnis, spielt die Ausprägung der Kollateralversorgung eine entscheidende Rolle in der Ausbildung der Zellschädigung (Hossmann, 1994). Diese Kollateralisierung unterliegt jedoch sowohl bei Tieren als auch beim Menschen großen individuellen Schwankungen.

Die Unterbrechung der Blutzufuhr des Gehirns führt zu vielfältigen zellulären, ionalen und metabolischen Veränderungen, die Kompensationsmechanismen darstellen können oder letztlich zum Zelluntergang des Hirngewebes führen.

1.1.1. Veränderungen der Ionenhomöostase

Durch den Mangel an Sauerstoff und Glucose bei einer totalen Ischämie kommt schließlich der Energiestoffwechsel des Nervengewebes im Infarktkern zum Erliegen. Der aktive Ionentransport durch die Na^+ - K^+ -Membranpumpe versagt. Na^+ strömt in die Zelle ein und die extrazelluläre K^+ -Konzentration steigt an. Studien mit ionensensitiven Mikroelektroden zeigten, dass nach Herzstillstand im Gehirn einem initialen langsamen K^+ -Anstieg im Extrazellularraum ausgehend von 3 mM ab 8-10 mM ein steiler Anstieg auf 60 mM innerhalb weniger Sekunden folgt und schließlich eine weitere langsame Zunahme der K^+ -Konzentration bis auf 80-90 mM in der Ratte beobachtet wird (Branston et al., 1977; Hossmann et al., 1977; Hansen, 1978) (siehe Abb.1.1). Dieser massive K^+ -Anstieg wird einer erhöhten neuronalen Membranpermeabilität für Kationen und der Beeinträchtigung oder Überladung der K^+ -Clearance durch Gliazellen zugeschrieben.

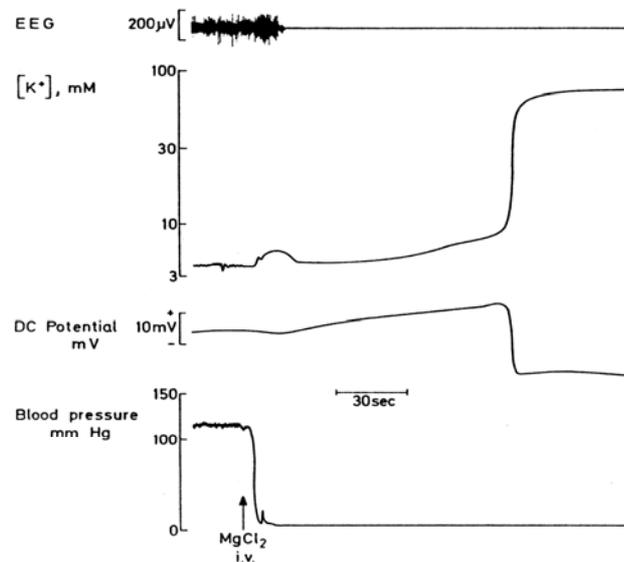


Abb.1.1: Terminale Depolarisation im Gehirn nach akutem Herzstillstand durch Injektion von Magnesiumchlorid (intravenös) bei der Ratte; von oben nach unten: Änderung von EEG-Aktivität, extrazellulärer K^+ -Konzentration, DC Potential und mittlerem Blutdruck (Hansen, 1978)

Die Ca^{2+} -Ionenhomöostase wird ebenfalls stark gestört. Zum einen kommt es durch spannungsgesteuerte Ionenkanäle zum massiven Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle. Durch präsynaptische Depolarisation kommt es aber auch zur Freisetzung von verschiedenen

Transmittern, wie zum Beispiel Glutamat, das über N-Methyl-D-Aspartat(NMDA)-Rezeptoren-gesteuerte Ionenkanäle zum Ca^{2+} -Einstrom führt. Neben der Freisetzung von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern kann auch ein unspezifischer Kationen-Kanal wahrscheinlich nach Überschreiten einer bestimmten intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration aktiviert werden und zum Ca^{2+} -Anstieg beitragen (Siesjö and Bengtsson, 1989). Diese hohen Ca^{2+} -Konzentrationen in der Zelle führen zur Aktivierung von verschiedenen Enzymen, wie Proteasen und Lipasen, die den Plasmamembranaufbau sowie Neurofilamente und -tubuli zerstören, so dass nach einer gewissen Zeitdauer schließlich der nekrotische Zelltod eintritt (Hossmann, 1987; Siesjö and Katsura, 1992). Genauso wird jedoch eine Ca^{2+} -Überladung von Mitochondrien mit nachfolgender Einschränkung der ATP-Produktion diskutiert, die den Zelltod bedingen soll (Kristian and Siesjö, 1998).

Dem Einstrom von Na^+ , Cl^- und Ca^{2+} in die Zelle folgt osmotisch Wasser. Bereits wenige Minuten nach Beginn der Ischämie kann sich so das zytotoxische Ödem entwickeln. Es führt zu einer ausgeprägten Zellschwellung und einem Schrumpfen des extrazellulären Raumes um bis zu 50% (Hansen and Olsen, 1980). Die Abnahme des Extrazellularraumes und die eingeschränkte Diffusionsfähigkeit trägt wie die ATP-Mangel-bedingte Insuffizienz der Na^+ - K^+ -Pumpe mit zur hohen extrazellulären K^+ -Konzentration bei.

Diese Flüssigkeits- und Elektrolytverlagerungen führen gleichzeitig mit dem raschen K^+ -Anstieg zu einer anhaltenden negativen Verschiebung des Gleichspannungspotentials (direct current (DC) potential) im Gewebe (Hansen, 1978). Diese Potentialverschiebung, die auf einer massiven Depolarisation von Neuronen und Gliazellen im Infarktkern beruht, wird auch terminale oder anoxische Depolarisation genannt (Leão, 1947) (siehe Abb.1.1) und kann elektrophysiologisch gemessen werden. Zuvor kann die Vordepolarisation aber Wellen elektrischer Entladungen auslösen, die 1. auch interiktale bis iktale Aktivität auslösen können und 2. zur Verstärkung der genannten ionalen Störung führen und 3. wahrscheinlich zum Neuronenuntergang beitragen. Diese Depolarisationswellen stehen im Mittelpunkt dieser Arbeit und werden im Abschnitt 1.3. ausführlich beschrieben. Zudem bedingen die zugrundeliegenden Ionenverschiebungen auch magnetische Felder, die mittels Magnetoencephalographie (MEG) untersucht werden können.

1.1.2. Metabolische Veränderungen

Unter physiologischen Bedingungen extrahiert das Gehirn 30-40% des Sauerstoffs und 10-15% der Glucose aus dem Blut, jeweils bezogen auf die Blutkonzentrationen (Siesjö, 1978). Zu Beginn einer zerebralen Ischämie wird der Sauerstoffmangel teilweise durch erhöhte Sauerstoffextraktion aus dem Blut kompensiert und die Glucoseverwertung im Gewebe gesteigert. Nach weiterer regionaler zerebraler Blutflussreduktion wird auch der Glucosegehalt des Blutes limitierend und die Glucoseverwertung sinkt. Das ist immer mit der Abnahme von ATP und der unmittelbaren Gefahr eines irreversiblen Zellschadens verbunden (Paschen et al., 1983; Hossmann, 1987). Dies trifft natürlich auch für unser Tiermodell zu.

Unmittelbar nach Beginn der fokalen Ischämie kommt es zum Anstieg von Laktat im ischämischen Areal durch anaerobe Glykolyse und einem intrazellulären Abfall des pH-Wertes bis auf Werte von 6,5 bis 6,0 (Hossmann, 1987). Diese intrazelluläre Azidose trägt zur ischämischen Zellschädigung bei. Dabei können Ca^{2+} -Ionen aus intrazellulären Bindungen durch die vermehrten konkurrierenden H^+ -Ionen verdrängt werden und zu einem toxischen Ca^{2+} -Anstieg im Zytosol führen (Siesjö and Bengtsson, 1989). Die Zellschädigung kann zu weiteren Ionenverschiebungen beitragen, die auch zu ECoG-Veränderungen führen, wie sie in der vorliegenden Arbeit untersucht werden.

1.1.3. Hämodynamische Veränderungen

Das Gehirn gehört zu den am besten durchbluteten Organen eines Organismus. Dabei zeigt der Kortex beim Menschen im wachen Zustand Blutflusswerte von ungefähr 60-80 ml/100g/min. Der zerebrale Blutfluss (CBF) ist dabei eng an den Sauerstoffbedarf des Hirnparenchyms gekoppelt, der wiederum von der Neuronendichte und ihrem Aktivitätszustand abhängt. Der CBF bleibt bei einem mittleren arteriellen Blutdruck von 80 bis 150 mmHg durch die zerebrale Autoregulation konstant, bei Blutdruckveränderungen außerhalb dieses Bereiches folgt der CBF passiv dem systemischen Druck (Harper, 1966). Die physiologischerweise konstante Hirndurchblutung ist von entscheidender Bedeutung für das Gehirn, da es im Gegensatz zu anderen Organen keine eigenen Energiespeicher enthält und einer kontinuierlichen Versorgung bedarf.

Nach einem Gefäßverschluss nimmt der Blutfluss graduell von annähernd normalen Werten in der Peripherie des betroffenen Gebietes bis zum Infarktkern ab (Symon et al., 1974), weil die Randbezirke durch das piale Arteriennetz versorgt werden. Die energieverbrauchenden Zellfunktionen im Gehirn zeigen dabei eine strenge Abhängigkeit vom Ausmaß der Blutflussreduktion, so dass tierexperimentell selbst für verschiedene Spezies ähnliche Schwellenwerte für bestimmte Funktionen ermittelt wurden (Hossmann, 1994). So führt ein Abfall des Blutflusses auf ungefähr 40 % des Ausgangswertes von ca. 100 ml/100g/min bei Ratten zur Störung der Autoregulation und Entkoppelung von Glucosemetabolismus und CBF (Hossmann, 1987). Ebenso zeigt sich eine Behinderung der Proteinsynthese schon ab einem relativ gering eingeschränkten Blutfluss von ca. 55ml/100g/min (Mies et al., 1991), gefolgt von der Stimulation der anaeroben Glykolyse (ab ca. <35ml/100g/min). Funktionelle Störungen, wie das Sistieren von EEG-Aktivität, evozierten Potentialen und Einzelzellaktivität, treten bei einer Blutflussreduktion auf Werte zwischen 15-25 ml/100g/min auf (Astrup et al., 1977; Astrup et al., 1981). Erst bei einer weiteren Abnahme des Blutflusses auf unter 15-10 ml/100g/min kommt es schließlich zum Versagen der Membranpumpen und einer anoxischen Depolarisation (Astrup et al., 1977; Branston et al., 1977). Nach Okklusion der A. cerebri media bei Ratten mit dem Fadenmodell, das in der vorliegenden Arbeit angewendet wird, fand sich die stärkste Blutflussreduktion bis auf Werte von unter 10 ml/100g/min (ca. 10 % des Ausgangswertes) im lateralen Teil des Striatums und angrenzendem fronto-parietalen Kortex, wo sich der Infarkt histologisch demarkiert (Memezawa et al., 1992).

1.1.4 Modell der Penumbra

Der Zustand des ischämischen Hirngewebes, das Blutflusswerte zwischen dem Schwellenwert für das Sistieren hirnelektrischer Aktivität zum einen und dem für das Versagen der Membranpumpen zum anderen aufweist, ist größtenteils durch eine „elektrische Stille“ gekennzeichnet. Da es annähernd normale ATP-Konzentrationen zeigt, ist es prinzipiell reversibel geschädigt. Dieses Gebiet umgibt den Infarktkern ringförmig, analog wie der halbschattene Ring um den Schatten des Mondes bei einer totalen Sonnenfinsternis, so dass es ischämische „Penumbra“ genannt wurde (Astrup et al., 1977; Branston et al., 1977; Astrup et al., 1981). Hossmann und Back schlugen jedoch aufgrund neuerer Erkenntnisse über die initiale Störung der Proteinsynthese vor,

die Penumbra als Region mit gestörter Blutzufuhr und erhaltenem Energiemetabolismus neu zu definieren (Hossmann, 1994; Back, 1998).

Die Penumbra als potentiell reversibel geschädigtes Gebiet steht im Zentrum des therapeutischen Interesses, da gezeigt wurde, dass der Infarktkern auf Kosten dieser Randzone wächst, die ihrerseits in die Peripherie wandert und nach 7-8 Stunden schließlich fast vollständig verschwunden ist (Mies et al., 1991; Back et al., 1994b; Kohno et al., 1995). Die Penumbra muss also als dynamisches Konzept verstanden werden, das durchaus zur Verschiebung des Entstehungsortes von Perinfarktdepolarisationen in der zeitlichen Abfolge beitragen könnte.

1.1.5 Weitere Faktoren in der Pathogenese der zerebralen Ischämie

Neben den erwähnten Veränderungen spielen eine Vielzahl von Faktoren bei der zerebralen Ischämie eine Rolle, auf die hier nicht näher eingegangen wird. Dabei sind neben der rasch einsetzenden Zellnekrose im Infarktkern weitere Mechanismen wie der verzögerte neuronale Zelltod (Abe et al., 1995) oder der programmierte Zelltod (Apoptose) (Bredesen, 1995; Du et al., 1996) wichtig, genauso wie Schädigungen durch hochreaktive Sauerstoffradikale (Chan, 1994) und Entzündungsreaktionen (Chopp and Zhang, 1996). Diese unterschiedlichen Einflüsse dürfen bei ischämischen Prozessen nicht außer Acht gelassen werden.

1.2. Spreading Depression

Bereits 1944 entdeckte Leão bei elektrokortikographischen Untersuchungen zur experimentellen Epilepsie an Kaninchen eine ausgeprägte Reduktion der Spontanaktivität des zerebralen Kortex. Diese Reduktion breitete sich wellenförmig über die

Hirnoberfläche einer Hemisphäre aus, so dass Leão dieses Phänomen als Spreading Depression (SD) beschrieb (Leão, 1944).

1.2.1. Elektrophysiologische Charakteristika

Die neuronale Aktivitätsreduktion zeigt sich in einer abnehmenden Amplitude des ECoG bzw. EEG und der Verminderung oder Unterdrückung von evozierten Potentialen. Gleichzeitig kommt es zu einer starken negativen Verschiebung des Gleichspannungspotentials des Kortex, einer Depolarisation, die sich jedoch im Gegensatz zu einer anoxischen Depolarisation im Laufe von mehreren Minuten spontan langsam wieder zurückbildet (Leão, 1947; Bures et al., 1974; Back et al., 1994a) (Abb.1.2). Die extrazelluläre DC-Potentialveränderung kann dabei bis zu 10 mV betragen. Kein anderer physiologischer Prozess produziert stärkere Potentialveränderungen im gesunden Hirngewebe.

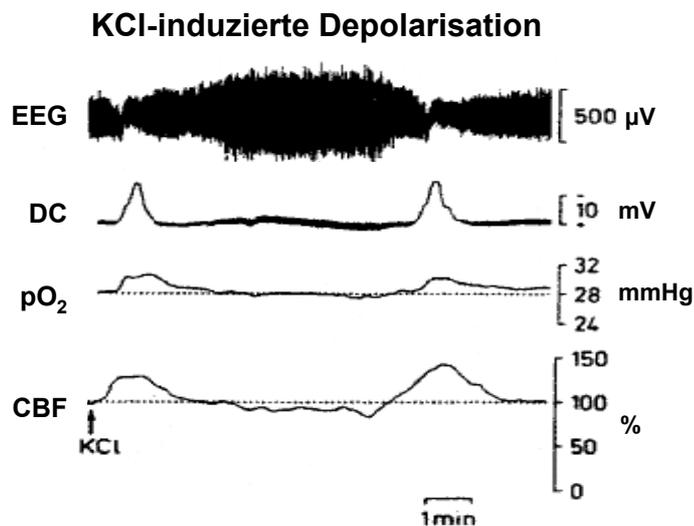


Abb.1.2: KCl-induzierte Spreading Depression in der Ratte: Veränderung der EEG-Aktivität und des DC-Potentials, des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe (pO₂) und des Laserdoppler-Blutflusses (CBF) parietal (Back et al., 1994a)

1.2.2. Veränderungen der Ionenhomöostase, metabolischer und hämodynamischer Parameter

Messungen mit ionensensitiven Elektroden führten zur Erkenntnis, dass ein schneller K^+ -Anstieg im extrazellulären Raum während der Spreading Depression auftritt (Nicholson and Kraig, 1975; Kraig and Nicholson, 1978). Na^+ , Cl^- und Ca^{2+} -Ionen strömen dabei in die Zellen ein und die extrazellulären Konzentrationen sinken mit der Depolarisation ab (Abb.1.3). Osmotisch folgt Wasser in die Zellen, und der extrazelluläre Raum schrumpft deutlich um bis zu 50% (Hansen and Olsen, 1980). Diese Veränderungen entsprechen denjenigen einer anoxischen Depolarisation im Rahmen der zerebralen Ischämie, außer dass durch die erhaltene Energiezufuhr eine Repolarisation möglich ist und die Veränderungen wieder rückbildungsfähig sind. Sie können aufgrund der beschriebenen Ionenströme auch zu magnetischen Signalen führen. Im gesunden Hirngewebe von Nagetieren erfolgt diese Zelldepolarisation und -repolarisation innerhalb von 1-2 Minuten (Hansen and Lauritzen, 1984).

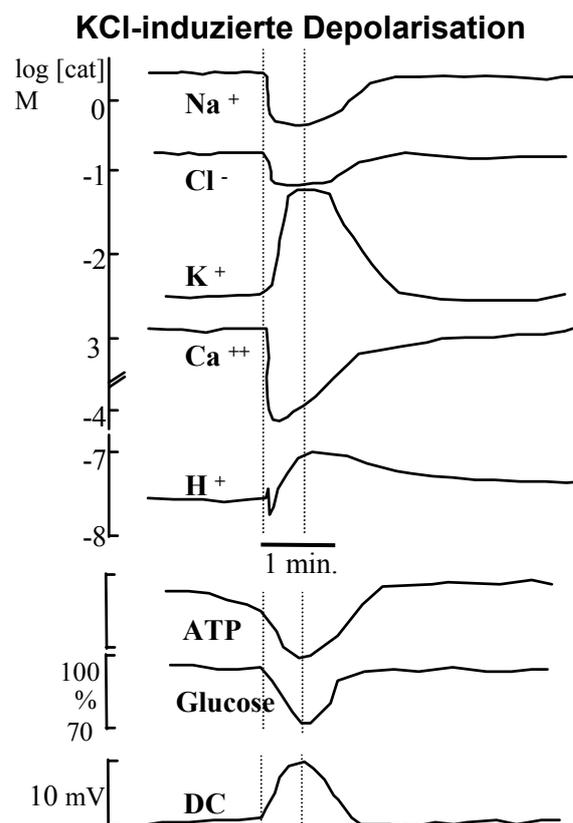


Abb.1.3: KCl-induzierte Spreading Depression im zerebralen Kortex der Ratte: Änderungen der extrazellulären Elektrolytkonzentrationen und des ATP- und Glucosegehaltes im Hirnparenchym (modifiziert nach (Kraig and Nicholson, 1978; Mies and Paschen, 1984))

Durch die Wiederherstellung der Ionenhomöostase durch ATP-abhängige Ionenpumpen wird vermehrt Energie verbraucht. Es kommt im Hirnparenchym zu einem vorübergehenden Abfall der ATP- und Glucose-Konzentration und einer Reduktion des pH-

Wertes infolge der anaeroben Glykolyse (Mies and Paschen, 1984; Csiba et al., 1985; Gault et al., 1994) (Abb.1.3).

Infolge einer Spreading Depression kommt es zu Veränderungen des zerebralen Blutflusses. Dabei zeigt sich erst während der Repolarisation des DC-Potentials ein 1-2 minutiger Blutflussanstieg auf circa das Doppelte des Ausgangswertes. Daran schließt sich eine 20-30 %ige Blutflussreduktion an, die ungefähr 1 bis 2 Stunden andauert (Mies and Paschen, 1984; Lauritzen and Diemer, 1986; Lauritzen, 1987; Piper et al., 1991; Lacombe et al., 1992). Während dieser Phase ist die Autoregulation zwar im gesamten Gehirn erhalten, jedoch ist die Gefäßreaktivität auf chemische Mediatoren, z.B. den pCO₂, deutlich vermindert und die zerebrale Durchblutung vom Metabolismus entkoppelt (Lauritzen, 1984; Lauritzen and Diemer, 1986; Lacombe et al., 1992). Obwohl diese hämodynamischen Veränderungen in vielen Studien gezeigt wurden, haben nur wenige Studien schon initial vor der Depolarisation eine Gefäßkonstriktion mit Hypoperfusion gezeigt (van Harreveld and Stamm, 1952; Fabricius et al., 1995). Die zugrundeliegenden Mechanismen sind noch nicht ausreichend geklärt, wie dies z.B. unterschiedliche Ergebnisse bezüglich der Beteiligung von NO an diesen Blutflussveränderungen belegen (Zhang et al., 1994; Fabricius et al., 1995). Nichtsdestoweniger wird jedoch die kurzzeitige Blutflusssteigerung im Laufe der Spreading Depression als adäquate reaktive Veränderung auf den gesteigerten Sauerstoffverbrauch aufgrund der physiologischen Prozesse angesehen (Mayevsky and Weiss, 1991)(Abb.1.2).

1.2.3. Entstehung und Propagation

Vielfältige Stimuli des zerebralen Kortex können zu einer Spreading Depression führen. Dazu zählen eine elektrische tetanische Reizung, leichter mechanischer Druck und Applikation isotoner KCl-, CaCl-, Glutamat- oder NMDA-Lösung (Leão, 1944; Leão and Morison, 1945; Van Harreveld and Fifková, 1973; Lauritzen et al., 1988). Der Entstehungsmechanismus wird dabei kontrovers diskutiert, so dass verschiedene Hypothesen bis heute bestehen. Ausschlaggebend für die Auslösung einer Depolarisation soll keine spezifische Einwirkung, sondern vielmehr ein unspezifischer K⁺-Ionenanstieg im Extrazellularraum sein. Bei ansteigender extrazellulärer K⁺-Konzentration kommt es zur Zeldepolarisation, die zu einem weiteren K⁺-Anstieg führt. Dies bedingt die Depolarisation von benachbarten Zellen und führt auf diesem Wege zu einer sich selbst

fortpflanzenden Welle über den zerebralen Kortex (Grafstein, 1956). Van Harrevel und Fifková stellten eine zweite Hypothese auf, die Glutamat als auslösendes Agens einer Spreading Depression anführt (Van Harrevel and Fifková, 1973). Die Freisetzung und Diffusion von Glutamat in benachbarte Areale führt dabei zur Aktivierung NMDA-gesteuerter Ionenkanäle und einer nachfolgenden Depolarisation. Die Blockierung des NMDA-Rezeptors mit spezifischen Antagonisten führte zu keiner Ausbreitung von Depolarisationen und bewies die Beteiligung des NMDA-Rezeptors an dem Phänomen Spreading Depression (Lauritzen and Hansen, 1992). Neuere Studien zeigten, dass die Depolarisationen durch das Zusammenspiel mehrerer neuronaler Ionenkanäle generiert werden, aber auch gliale Ionenkanäle für die K^+ -Clearance mitberücksichtigt werden müssen (Somjen, 2001).

Die Wellenfront einer Spreading Depression breitet sich langsam mit einer Geschwindigkeit von 2-5 mm/min über die Gehirnoberfläche aus (Leão, 1944). Bei der Ausbreitung sind keine subkortikalen Strukturen beteiligt, sondern es handelt sich um einen nichtsynaptischen kortikokortikalen Prozess (Leão and Morison, 1945). Der Propagation kann, muss jedoch nicht, derselbe Mechanismus wie der Initiation einer Spreading Depression zugrunde liegen. Dabei kommt entweder ein extrazellulärer Diffusionsprozess oder aber eine Ausbreitung über zelluläre Verbindungen, sogenannte Gap-Junctions, zwischen Neuronen oder Gliazellen in Frage (Somjen, 2001).

1.2.4. Pathophysiologische Bedeutung

Aufgrund vieler experimenteller Untersuchungen von Spreading Depression, die Übereinstimmungen mit Veränderungen bei der Ausbildung einer Aura zeigten, wurde Spreading Depression als möglicher wichtiger Mechanismus der Migräne beim Menschen postuliert (Lauritzen, 1994).

Zusammenfassend ist auf jedem Fall hervorzuheben, dass während der Spreading Depression erhöhte energetische Anforderungen an die kortikalen Strukturen gestellt werden. Der unbeeinträchtigte Kortex kann diese Anforderungen aber ohne völlige Entleerung der Energiespeicher und permanente Schäden kompensieren (Nedergaard and Hansen, 1988).

1.3. Periinfarktdepolarisationen

Schon vor über 20 Jahren wurden transiente Erhöhungen der K^+ -Aktivität in der Penumbra nach Okklusion der A. cerebri media (MCAO) beobachtet (Branston et al., 1977; Strong et al., 1983). Diese Depolarisationen wurden später mit Spreading Depression verglichen (Nedergaard and Astrup, 1986) und aufgrund der ähnlichen elektrophysiologischen Charakteristika auch Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen oder Periinfarktdepolarisationen (PID) genannt (Hossmann, 1996) (Abb.1.4). Veränderungen von Ionenhomöostase und Metabolismus während Periinfarkt-depolarisationen entsprechen den bei Spreading Depression beschriebenen, außer dass sie nicht mit einem adäquaten Blutflussanstieg aufgrund der eingeschränkten Kollateral-versorgung gekoppelt sind (Back et al., 1994a). Deshalb können diese Ereignisse genauso mittels ECoG und MEG untersucht werden.

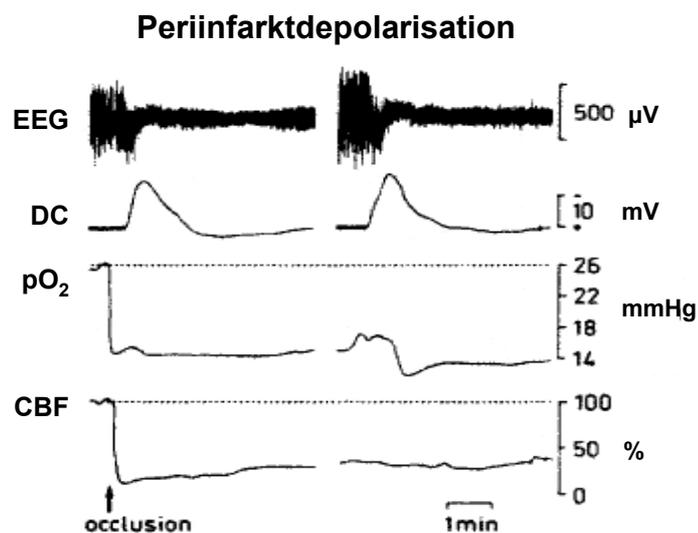


Abb.1.4: Periinfarktdepolarisation nach MCAO in der Ratte: Veränderung von EEG-Aktivität, DC-Potential, Gewebe-pO₂ und Laserdoppler-Blutfluss (CBF) parietal; im Vergleich mit Abb.1.2 keine Zunahme des CBF während der Depolarisation (Back et al., 1994a)

1.3.1. Entstehung und Propagation

Durch die Einführung neuer bildgebender Verfahren, wie der diffusionsgewichteten Magnetresonanztomographie, wuchs das Interesse und die Möglichkeiten der genaueren Untersuchung von Periinfarktdepolarisationen. So konnte gezeigt werden, dass diese Depolarisationen spontan in der Peripherie des Infarktgebietes entstehen und sich über die ipsilaterale Hemisphäre ausbreiten (Hasegawa et al., 1995; Röther et al., 1996a). Die ersten Veränderungen konnten schon wenige Minuten nach Okklusion der A. cerebri media bei der Ratte nachgewiesen werden. Sie wurden in Arealen initiiert, die eine moderate Blutflussreduktion zeigten und breiteten sich auf normal durchblutete Areale aus (Röther et al., 1996a). Röther et al. zeigten eine inverse Korrelation der Depolarisationsdauer mit dem Blutfluss: in schlechter durchbluteten Arealen dauerte also die Depolarisation länger an. Die Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen traten wiederholt bis zu mehrere Stunden nach der Ischämie in unterschiedlichen Abständen und unterschiedlicher Anzahl auf (Iijima et al., 1992). Die Dauer der Depolarisationen nahm dabei im Laufe der aufeinanderfolgenden Ereignisse ständig zu (Back et al., 1994a; Graf et al., 1995).

1.3.2. Pathophysiologische Bedeutung

Im Gegensatz zur Spreading Depression im intakten Gehirn ist das Gewebe in der Penumbra jedoch mit dem erhöhten Energiebedarf teilweise überfordert, so dass es in der Umgebung des Infarktes zu hypoxischen Episoden des Gewebes kommt (Back et al., 1994a). Repetitive Periinfarktdepolarisationen führten zu einer Zunahme des ischämischen Zellschadens und Vergrößerung des Infarktes. Dies wurde durch eine deutliche Abnahme des Infarktvolumens nach Applikation eines spezifischen NMDA-Antagonisten, der zur Ausbildung von weniger Periinfarktdepolarisationen und geringeren extrazellulären Ca^{2+} -Abfällen führte, gezeigt (Gill et al., 1992; Iijima et al., 1992). Später wurde eine Korrelation zwischen den Depolarisationen und der Infarktgröße aufgezeigt, die eine schrittweise Zunahme des Infarktes mit jeder Depolarisation ergab (Mies et al., 1993; Busch et al., 1996). Außerdem zeigten Graf et al., dass nach längeren Ischämiezeiten die Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen schließlich in eine anoxische terminale Depolarisation übergehen konnten (Graf et al., 1995).

Periinfarktdepolarisationen sind also von ausschlaggebender pathogenetischer Bedeutung für die Entwicklung des ischämischen Zellschadens. Ihre Unterdrückung kann die noch lebensfähigen Kortextareale der Penumbra vor den folgenschweren Belastungen der Ionenverschiebungen schützen. Aus diesem Grund sind weitere Untersuchungen zur genaueren Charakterisierung der Depolarisationen, wie in der hier vorliegenden Arbeit, von hohem Interesse.

1.4. Magnetoencephalographie

Die Magnetoencephalographie (MEG) wurde als neue Methode zur Aufzeichnung der Gehirnfunktionen im Jahre 1968 eingeführt. Damals zeichnete Dr. Cohen zum ersten Mal α -Wellen mit seinen D-förmigen Spulen in einem magnetisch abgeschirmten Raum auf. Seither haben sich die technischen Grundlagen deutlich verbessert und die einzelnen Spulen wurden von komplexen Ableitsystemen mit vielen Kanälen abgelöst. In den letzten Jahrzehnten wurde die Natur der Magnetfelder des Gehirns zunehmend geklärt und schrittweise die Einsatzmöglichkeiten des MEG auch als Ergänzung zu EEG bzw. ECoG erweitert.

1.4.1. Physiologische und physikalisch-technische Grundlagen des MEG

Elektrische Aktivität im Gehirn wird durch die Bewegung von Ionen entlang der Zellmembranen verursacht, und diese elektrischen Ströme führen zu einem magnetischen Feld, das außerhalb des Schädels gemessen werden kann. Die mit neuronaler Aktivität verbundenen Veränderungen der magnetischen Flussdichte sind jedoch äußerst gering. Für die Encephalographie betragen sie nur ca. 10^3 fT und erfordern extrem sensitive Detektionssysteme. Bis heute sind dafür nur SQUID-Magnetometer einsetzbar, die aus Detektionsspule, Inputspule, SQUID-Sensor und entsprechender Elektronik bestehen (Abb.1.5). Veränderungen des externen magnetischen Feldes werden dabei über die Detektionsspule in einen elektrischen Strom transformiert, der von der Inputspule in einen magnetischen Fluss umgewandelt und vom SQUID-Sensor erfasst wird. SQUID steht dabei für „Superconducting QUantum Interferenz Device“ und ermöglicht die Messung extrem kleiner Schwankungen des magnetischen Flusses mit Hilfe des Josephson Effekt. Dabei wird eine Schleife aus supraleitendem Material durch ein

isolierendes Stück mit erhöhtem Widerstand unterbrochen („weak link“), das trotzdem von besonders kleinen Strömen ohne Spannungsverlust durchflossen wird. In Kombination mit der Quantelung des Flusses können dann kleinste Veränderungen des Magnetfeldes gemessen werden (Fagaly, 1990). Sowohl SQUID-Sensor als auch die Detektionsspule sind supraleitende Messgeräte und müssen mit flüssigen Helium gekühlt werden, um die Supraleitfähigkeit aufrecht zu erhalten.

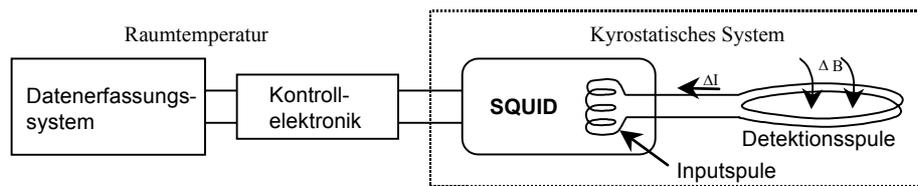


Abb.1.5: Schematischer Aufbau eines SQUID-Magnetometers; ΔI = Stromänderung, ΔB = Änderung des Magnetfeldes (Fagaly, 1990)

Der Aufbau der Detektionsspule wird von der gewünschten Sensitivität, der Größe und Lokalisation der Quelle des magnetischen Feldes bestimmt. Zum einen sollte ein gutes Signalrauschverhältnis erreicht werden, zum anderen eine bestmögliche räumliche Auflösung. Diese unterschiedlichen Ansprüche beeinflussen sich aber gegenseitig. Wird durch Vergrößerung des Durchmessers der Detektionsspule die Sensitivität erhöht, wird das räumliche Auflösungsvermögen zwangsläufig beeinträchtigt, so dass in der Praxis immer bestimmte Einschränkungen akzeptiert werden müssen.

Da Magnetometer extrem sensitiv gegenüber äußeren Veränderungen sind, können für Messungen von Magnetfeldern aus der unmittelbaren Umgebung der Detektionsspule sogenannte Gradiometer verwendet werden. Bei Gradiometern werden gegenläufige Spulen in einem bestimmten Abstand (Basislänge) in Reihe geschaltet, so dass gleichförmige magnetische Felder von relativ weit entfernten Quellen entgegengesetzte elektrische Ströme bedingen, die sich gegenseitig aufheben ohne zu messbaren Veränderungen zu führen. Bei Objekten, die sich näher als $1/3$ der Basislänge unter der Antenne befinden, verhält sich der Gradiometer dagegen wie ein Magnetometer und es können Messungen mit SQUID-Sensitivitäten durchgeführt werden (Fagaly, 1990).

Trotz des Einsatzes solcher Gradiometer als Detektionsspulen müssen die Messungen in einem magnetisch abgeschirmten Raum, der vor allem hochfrequente Störungen

unterdrückt, stattfinden, weil die Störungen durch das magnetische Feld an der Erdoberfläche erheblich und räumlich nicht immer gleichförmig sind. Dieses magnetische Feld ist mit ca. 50 μT fast 10 Größenordnungen größer als die Sensitivität eines SQUID-Magnetometers von ca. 20-30 fT und wird von vielen Faktoren beeinflusst. Neben den natürlichen Magnetfeldern spielen die zivilisationsbedingten eine wichtige Rolle, wie zum Beispiel solche, die von magnetischen Materialien, Fahrzeugen, Elektromotoren, Radios, Fernseher und Stromleitungen ausgehen. Die Verwendung eines Gradiometers in einer magnetisch abgeschirmten Kammer mit einer aktiven Kompensation niederfrequenter Störungen, wie es in dieser Arbeit angewendet wird, verbessert die Messbedingungen zusätzlich für die hier zu analysierenden Signale.

1.4.2. Vergleich von Magnetoencephalographie und Elektroencephalo/-kortikographie

Sowohl MEG und EEG bzw. ECoG ermöglichen die Aufzeichnung physiologischer Signale im Millisekundenbereich. EEG bzw. ECoG erfassen Potentiale (z.B. DC) und deren zeitliche Veränderungen, während das MEG die Magnetfelder von elektrischen Strömen misst. Hauptsächlich anhaltende Membranpotentialveränderungen der Dendritenäste kortikaler Neurone scheinen der Ursprung der jeweiligen Signale zu sein, die durch synaptische Transmission, wie zum Beispiel exzitatorische oder inhibitorische post-synaptische Potentiale, entstehen und passiv kompensatorische intrazelluläre und extrazelluläre Ströme bedingen (Petsche et al., 1984; Rose and Ducla-Soares, 1990).

Bei der Elektroencephalographie werden die Elektroden auf der Kopfoberfläche befestigt. Das elektrische Feld durchdringt den Schädel und erreicht den Skalp, jedoch führt die schlechte Leitfähigkeit und unterschiedliche Dicke von Schädel und Skalp zur unterschiedlichen Abnahme der Amplitude des gemessenen Potentials. Bei der Elektrokortikographie liegen die Elektroden unmittelbar der Dura mater auf, so dass keine Verzerrungen durch den Schädel entstehen und kleinere Potentialveränderungen erfasst werden können (Rose and Ducla-Soares, 1990). Jedoch gilt in beiden Fällen, dass nur Aussagen über Bereiche in unmittelbarer Elektrodennähe getroffen werden können.

Bei der Magnetoencephalographie befinden sich die Antennen dicht über der Kopfoberfläche und messen nichtinvasiv die extrakraniellen magnetischen Felder. Diese sind hauptsächlich auf intrakranielle Ströme zurückzuführen. Da Schädel und Skalp eine deutlich geringere Leitfähigkeit als das Gehirn aufweisen, ist der Anteil am extrakra-

niellen Magnetfeld von Strömen aus diesen Schichten mit ungefähr 5 % gering. Der Hauptanteil des gemessenen Feldes beruht auf elektrischen Strömen direkt im Gehirn, hauptsächlich intrazellulären, und wird von Leitfähigkeitsunterschieden zwischen Quelle und Antenne nicht wesentlich beeinflusst (Rose and Ducla-Soares, 1990).

Während das ECoG sensitiv gegenüber elektrischen Dipolen tangentialer und auch radialer Ausrichtung unter der Elektrode ist, erfasst das MEG nur tangential orientierte Stromdipole oder die tangentialen Anteile von anders orientierten Dipolen (Cohen and Cuffin, 1983). Radial ausgerichtete Dipole verursachen, wenn man von einer Kugel ausgeht, nämlich kein Magnetfeld außerhalb der Kugel. Dies muss als wichtiger Aspekt bei der Interpretation des MEG berücksichtigt werden.

Die Verwendung mehrerer Magnetfeldsonden beim MEG ermöglicht Aussagen über das gesamte Gehirnparenchym einschließlich tieferer Schichten, so dass es keine Beschränkung auf einen bestimmten Elektrodenort wie beim ECoG gibt. MEG und EEG/ECoG liefern sowohl komplementäre als auch konfirmatorische Informationen, so dass die simultane Anwendung beider Techniken zusätzliche Aussagen ermöglicht.

1.4.3. Anwendungen der Magnetoencephalographie

Zahlreiche Einsatzmöglichkeiten des MEG sind möglich, wobei Magnetfeldveränderungen während Spreading Depression zuerst von Okada et al. im isolierten Cerebellum der Schildkröte beschrieben wurden (Okada et al., 1988). Dabei zeigten sich Veränderungen mit überraschend großen Amplituden bis zu 8 pT, die durch einen starken transkortikalen Strom bedingt sein mussten. Ähnliche, langsame MEG-Signale konnten mit geringerer Intensität in vivo bei Ratten, Kaninchen und Schweinen während Spreading Depression gemessen werden (Gardner-Medwin et al., 1991; Takanashi et al., 1992; Bowyer et al., 1999a; Bowyer et al., 1999b). Alle diese Ergebnisse zeigten, dass Spreading Depression durchaus nichtinvasiv mittels MEG detektiert werden kann.

Magnetfeldveränderungen im Rahmen einer zerebralen Minderdurchblutung bzw. eines Sauerstoffmangels wurden nur in wenigen Studien untersucht. MEG-Signale wurden sowohl während reversibler als auch irreversibler Anoxie tierexperimentell nachgewiesen (Takanashi et al., 1991; Barkley et al., 1995). In einer Studie wurden Ratten

nach fokaler zerebraler Ischämie mit einem 7-Kanal-Neuromagnetometer untersucht (Chen et al., 1992). Diese Arbeit hat die prinzipielle Möglichkeit der Detektion von Periinfarkt-depolarisationen mittels MEG aufgezeigt, jedoch wurde die zeitliche Beziehung zwischen ECoG- und MEG-Veränderungen nicht näher analysiert und keine Aussagen zur Topographie getroffen.

1.5. Zielstellung

Periinfarktdepolarisationen spielen nach Abschnitt 1.3.2. eine Rolle bei der Ausbildung des ischämischen Hirninfarktes. Die Entstehung, Ausbreitung und ihr Anteil an den pathophysiologischen Prozessen während der zerebralen Ischämie müssen intensiv erforscht werden.

Spreading Depression und Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen sind mittels Elektrokortikographie vielfach untersucht worden und sicher nachweisbar. Zwar sind erste Eigenschaften topologisch-zeitlicher Muster von Periinfarktdepolarisationen ermittelt worden (siehe Abschnitt 1.3.1) wie z.B. die Zunahme der Dauer im zeitlichen Verlauf, jedoch sind noch viele Fragen über die zeitliche Entwicklung von aufeinanderfolgenden Depolarisationen und ihre topographische Ausbreitung offen. Genauso ist die räumlich-zeitliche Dynamik der Periinfarktdepolarisationen praktisch noch unklar. Auch sind trotz der interessanten Ergebnisse von Chen et al. die Charakteristika von Magnetfeldveränderungen während Periinfarktdepolarisationen nach fokaler Ischämie noch nicht ausreichend beschrieben, so dass Aussagen zum zeitlichen Verlauf und zur zeitlichen Beziehung der magnetischen zu den elektrischen Veränderungen bisher ausstehen. Dafür ist die Kombination von ECoG und MEG in der vorliegenden Arbeit als aussichtsreiche Methode anzusehen, weil die komplementären und konfirmatorischen Informationen zu einer umfassenden Charakterisierung von Periinfarktdepolarisationen beitragen können.

In dieser Arbeit soll daher die zeitliche und topische Dynamik von Periinfarktdepolarisationen nach fokaler zerebraler Ischämie bei der Ratte mittels simultaner 16-Kanal-Magnetoencephalo- und Elektrokortikographie beschrieben werden. Dabei sollen Veränderungen der Frequenz von Periinfarktdepolarisationen und ihrer Entstehungsorte und Ausbreitungsrichtungen in der zeitlichen Abfolge während

der Ischämie untersucht werden. Das quadratische Elektrodenarray soll in der vorliegenden Arbeit detaillierte Informationen über den Ausgangspunkt und die Ausbreitung von Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen in diesem Areal ergeben. Ob sich Veränderungen des Entstehungsortes und der Ausbreitungsrichtungen im Verlauf der Ischämie nachweisen lassen, ist eine interessante Frage, da sich die Infarktgrenze in dieser Zeit weiter in die Peripherie verschiebt. Schließlich soll die Ausbildung der Depolarisation unter dem Elektrodenarray anhand der Amplitude dargestellt werden und der Einfluss der Ischämie auf Spreading Depression als uniforme Alles-oder-Nichts-Reaktionen diskutiert werden.

Diese Arbeit nutzt die Ergebnisse des ECoG und soll Magnetfeldveränderungen von Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen erfassen. Dabei soll der zeitliche Verlauf der Magnetfeldveränderungen beschrieben werden und die zeitliche Beziehung von magnetischen Signalen zu den elektrischen untersucht werden. Da das MEG Veränderungen des gesamten Kortex erfassen kann, soll so der gesamte zeitliche Ausbreitungsprozess einer Periinfarktdepolarisation beschrieben werden.

Dabei sind verschiedene, dem Datenmaterial angepasste, signaltheoretische Analyseverfahren nötig. Die Informationen aus den einzelnen Kanälen werden durch eine Hauptkomponentenanalyse rechnerisch in wesentliche einzelne Komponenten anhand der Varianz aufgeteilt. Hierüber werden unspezifische Signalanteile ausgeschaltet. Durch die Berechnung der mittleren globalen Magnetfeldstärke (mean global field power, MGFP) werden Informationskomponenten der einzelnen Kanäle zu einem empfindlichen, quantitativen Parameter verdichtet, der die zeitliche Dynamik der Magnetfeldveränderung quantitativ beschreibt.

Durch die Kombination der Informationen aus beiden Untersuchungsverfahren sollen somit die Periinfarktdepolarisationen in dieser Arbeit also möglichst umfassend in ihrer zeitlichen und topographischen Dynamik charakterisiert werden.

2. Methoden und Materialien

Es wurden neun männliche Ratten (Stamm: Hannover-Wistar) mit einem Körpergewicht von 305 ± 8 g (295 – 320g) simultan mit 16-Kanal-Elektrokortikographie und 16-Kanal-Magnetoencephalographie nach Okklusion der Arteria cerebri media (MCAO) untersucht.

2.1. Anästhesie und Monitoring

Initial wurde das Versuchstier mit Halothan (1,5 Vol%) und einem Lachgas/Sauerstoff-Gemisch (2:1) per inhalationem anästhesiert. Vor Hautschnitten wurde lokal mit Xylocitin 2% anästhesiert. Die Narkose wurde dann intravenös mit α -Chloralose (initial 10mg/kg, Erhaltungsdosis 10mg/kg/h) und Urethan (initial 30mg/kg, Erhaltungsdosis 30mg/kg/h) fortgesetzt und die Halothaninhalation beendet. Eine ausreichende Anästhetiefiefe wurde über den Kornealreflex des Versuchstieres regelmäßig kontrolliert.

Das Tier wurde auf einer Wärmeplatte auf dem Rücken gelagert. Die Körpertemperatur wurde kontinuierlich mit einem Thermistor rektal gemessen und bei $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ konstant gehalten. Ein arterieller und ein venöser femoraler Katheter wurden gelegt. Über den arteriellen Zugang wurden ein kontinuierliches Blutdruckmonitoring und regelmäßige Blutentnahmen für Blutgasanalysen (Abl5 Radiometer Copenhagen, Copenhagen, Dänemark) durchgeführt. Das Versuchstier wurde nach Muskelrelaxation mit Pancuronium intravenös (initial 0,1mg/kg, Erhaltungsdosis 0,1mg/kg/h) mit einem Tierrespirator (Animal Respirator Advanced 4601-1, Technical & Scientific Equipment GmbH, Bad Homburg) druckkontrolliert beatmet. Der Flüssigkeitsverlust durch Beatmung und Operation wurde mit physiologischer NaCl-Lösung (1ml/h) intravenös substituiert.

2.2. Präparation und Okklusion der Arteria cerebri media

Für die Tracheotomie wurde nach einem zervikalen Schnitt in der Mittellinie die Trachea frei präpariert und zwischen der 3. bis 5. Knorpelspange eröffnet. Ein Tubus (Durchmesser: 2 mm) wurde 3 cm weit in die Trachea bis vor die Bifurcatio tracheae

eingeführt und fixiert. Die korrekte Tubuslage wurde post mortem an drei Versuchstieren kontrolliert.

Nach Entfernen des Skalps über der Schädelkonvexität wurde in Bauchlage auf der rechten Seite der kraniale Anteil des M. temporalis entfernt und der Knochen freigelegt. An der rechten Schädelseitenwand wurde 8 mm lateral des Vertex über dem Media-stromgebiet der Knochen bis auf einen schmalen Anteil der Compacta interna abgetragen, um ein Knochenfenster über dem Stromgebiet der A. cerebri media für die Laserdopplerflowmetrie vorzubereiten. In einem rechteckigen Areal (6x9 mm) wurde von 3 mm anterior bis 6 mm posterior des Bregma eine Kraniotomie durchgeführt. Dieses Areal erstreckte sich vom Sinus sagittalis 2 mm auf die linke Hemisphäre und 4 mm nach lateral auf die rechte Hemisphäre (Abb.2.1). Dabei wurde unter ständigem Spülen mit physiologischer NaCl-Lösung der Knochen schrittweise bis auf eine hauchdünne Knochenlamelle verdünnt. Diese Lamelle wurde zuletzt vorsichtig von der Dura mater abgehoben und entfernt, ohne dass die Dura mater oder der Sinus sagittalis verletzt wurde.

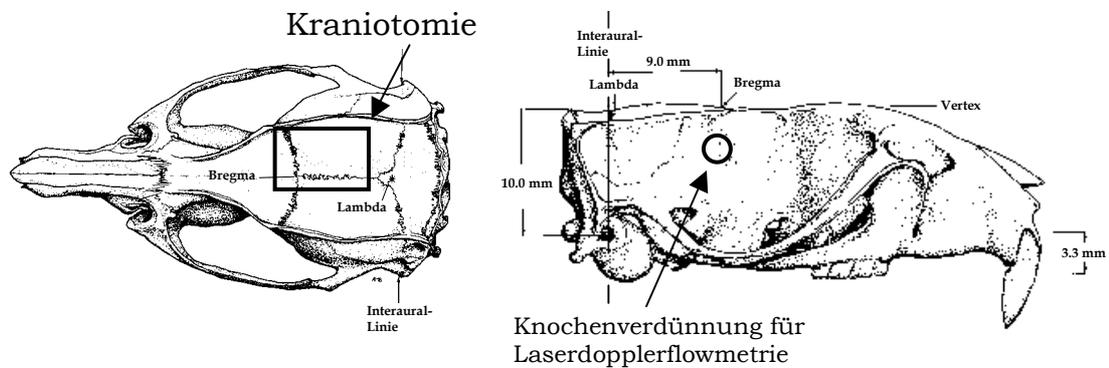


Abb.2.1: Schädel skelett einer Ratte: *links*: die Aufsicht zeigt die Lage des Kraniotomiefensters für die Elektrodenapplikation; *rechts*: die Seitenansicht zeigt eine runde Markierung, in welcher der Knochen für die Laserdopplerflowmetrie verdünnt wurde

Zur Auslösung einer fokalen Ischämie bei der Ratte wurde das Fadenmodell nach Longa verwendet (Longa et al., 1989). Ein Nylonfaden (3-0 Monofilament, Ethicon GmbH, Norderstedt) wurde durch kurzzeitiges Erhitzen am Ende abgerundet und mit Kunststoff bis auf 0,26 mm verdickt. Zusätzlich wurde der Faden 18 mm nach dem

präparierten Ende markiert, um die korrekte Vorschiebtiefe des Fadens von der Bifurcatio carotis aus zu kontrollieren.

Rechts seitlich des M.thyreosternoideus wurde in Rückenlage weiter in die Tiefe in das Trigonum caroticum präpariert. Dabei wurde ein Schenkel des M. omohyoideus durchtrennt, um die A. carotis communis und die Carotisbifurkation zu erreichen. Nachfolgend wurde mit stumpfer Präparation sowohl die A.carotis communis, die Bifurkation und die A. carotis interna, als auch die A. carotis externa und deren Äste in unmittelbarer Nachbarschaft zur Carotisgabel dargestellt. Die dort verlaufenden Nerven, vor allem der Nervus vagus in der Gefäßnervenstraße, wurden geschont. Die A. carotis communis wurde ca. 10 mm proximal der Carotisbifurkation abgebunden. Die A. carotis externa und alle weiteren Gefäßäste im Bifurkationsbereich außer der A. carotis interna wurden jeweils direkt nach ihrem Abgang ebenfalls abgebunden. Zuletzt wurde die A. carotis interna weiter in ihrem Verlauf nach distal verfolgt und der Abgang der A. pterygopalatina aufgesucht. Nach diesem Gefäßabgang zieht die A. carotis interna nach medial zur Schädelbasis.

Danach wurde temporär die A. carotis interna mit einem mikrochirurgischen Gefäßclip verschlossen. Ungefähr 2 mm vor der Carotisbifurkation wurde die A. carotis communis inzidiert und der Faden in das Gefäßlumen eingeführt. Die A. carotis communis wurde mit dem Faden im Lumen umbunden und der Gefäßclip an der A. carotis interna revidiert. Der Faden wurde unter visueller Kontrolle am Abgang der A. pterygopalatina vorbei weiter im Lumen der A. carotis interna vorgeschoben. Unter gleichzeitiger Blutflussmessung über dem Mediastromgebiet mittels Laserdopplerflowmetrie (Laser Doppler Monitor MI3F3D, Lawrenz GmbH, Bad Soden) wurde der Faden nach kranial in den Schädel vorgeschoben, bis eine Blutflussreduktion um 50-70% gemessen werden konnte. Die Konstanz des eingeschränkten Blutflusses wurde über einen Zeitraum von 5 min kontrolliert. In dieser Position wurde der Faden in der A. carotis interna fixiert (Abb.2.2).

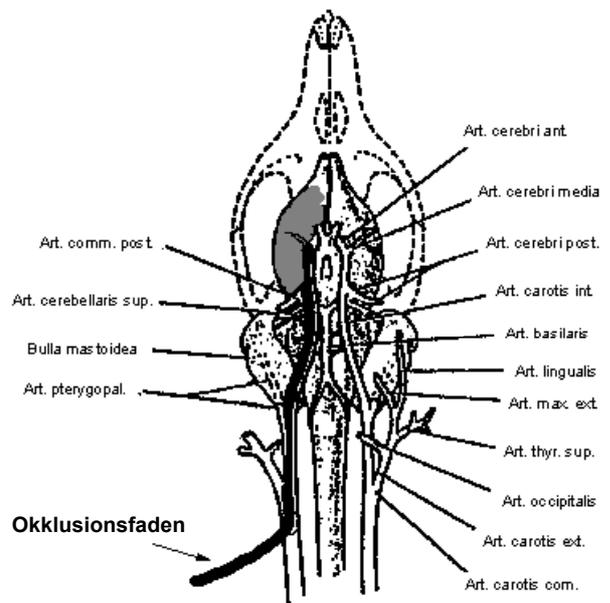


Abb.2.2: Verlauf des okkludierenden Fadens in der Arteria carotis interna am Abgang der A. pterygopalatina vorbei in die A.cerebri anterior, Okklusion des Abgangs der rechten A. cerebri media

Der Kopf des Versuchstieres wurde ca. 5 min nach der Okklusion der A. cerebri media mit Ohrschrauben in einem Kunststoffhalter in der Bauchlage fixiert, um Bewegungsartefakte zu vermeiden. Das Versuchstier in dem Halter wurde mit Hilfe eines Positionssystems unter dem MEG-Messsystem in einer abgeschirmten Messkammer gelagert. Sowohl die Beatmung als auch das Monitoring von Atmung, Blutdruck und Temperatur wurde, wie beschrieben, in dieser Kammer fortgesetzt.

2.3. Erfassung der Messdaten

2.3.1. Elektrokortikographie (ECoG)

Das ECoG wurde mit einem 4x4-Elektroden-Array über der rechten Hemisphäre aufgezeichnet (Abstand zwischen den Elektroden 1 mm; Durchmesser der Ag/AgCl-Elektroden 0,25mm). Das Elektrodenarray bedeckte die Gehirnoberfläche von -1,5 bis +1,75 mm vom Bregma und lateral von 0 bis 3,25 mm (Abb.2.3). Die Referenz-

elektrode wurde über dem Nasenbein positioniert. Die Elektroden wurden 2 Stunden vor Messbeginn in physiologischer NaCl-Lösung unter Lichtausschluss konditioniert, wie es Bures (Bures et al., 1967) beschrieben hat.

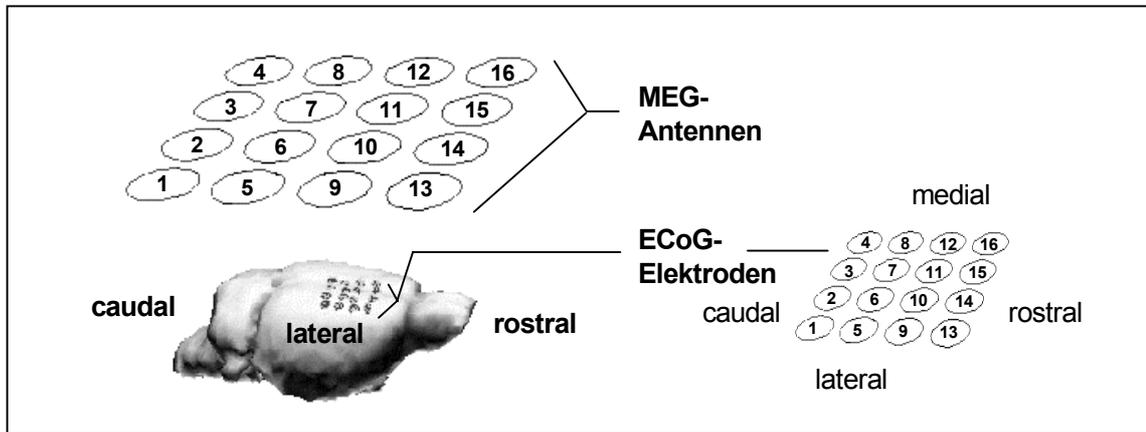


Abb.2.3: Position der MEG-Antennen und ECoG-Elektroden zum Gehirn der Ratte

2.3.2. Magnetoencephalographie (MEG)

Das MEG wurde mit einem 16-Kanal(4x4)-SQUID-Magnetometersystem, das für Untersuchungen an kleinen Tieren entwickelt wurde, aufgezeichnet (Nowak et al., 1999). Jede Antenne bestand aus einem asymmetrischen Gradiometer erster Ordnung als Detektionsspule (Sensitivität $20\text{-}25 \text{ fT}/\sqrt{\text{Hz}}$; Spulendurchmesser 6,7 mm; Basislänge 30 mm). Der Abstand von dieser Messspule bis zur Gehirnoberfläche betrug im Mittel 6 mm. Zwischen benachbarten Antennen betrug der Abstand 8 mm. Das MEG wurde innerhalb einer abgeschirmten Messkammer aufgezeichnet. Diese Messkammer bestand aus zwei MUMETAL Schichten, einem ferromagnetischen Material mit einer hohen Permeabilität, so dass der äußere magnetische Fluss bevorzugt über diese Wände geleitet wird und nur deutlich abgeschwächt in das Innere der Kammer eindringen konnte. Eine zusätzliche Gitterkonstruktion aus Aluminium verbesserte die Abschirmung von höherfrequenten Störungen im Frequenzbereich von $>1 \text{ Hz}$. Mit einem Magnetometer wurden niederfrequente Störfelder im Abstand von 50 cm zum Versuchstier innerhalb der Messkammer gemessen. Auf der Grundlage dieses magnetischen Signals wurde ein Strom außerhalb der Kammer generiert, der ein magnetisches Feld erzeugte, das den gemessenen niederfrequenten von außen

kommenden Störfeldern entgegengerichtet war und diese somit kompensierte. Die Dämpfung des Rauschens im Frequenzbereich von <1 Hz durch diese aktive Abschirmung betrug mehr als 25 dB.

2.3.3. Datenaufzeichnung

Messungen wurden bei 9 Versuchstieren durchgeführt. Nach Okklusion der A. cerebri media bis zum Messbeginn vergingen maximal 30 min (eine Ausnahme bei technischen Problemen: 51 min) auf, in der das Versuchstier in der Messkammer positioniert wurde. Die Messzeit betrug jeweils mindestens 1,5 h bis auf eine Ausnahme (36 Minuten nach Messbeginn verstorben). Die Messung wurde bis zu zweimal für Blutentnahmen und Injektionen kurzzeitig unterbrochen. Nach Beendigung der Messung wurde der Versuch mit der Tötung des Tieres durch intravenöse KCl-Applikation während tiefer Narkose beendet. Dieses Versuchsprotokoll wird in Abb.2.4 graphisch veranschaulicht. Die Daten wurden gefiltert (Tiefpass < 15 Hz, Hochpass DC) und durch einen Analog-Digital-Wandler mit 40 Hz digitalisiert.

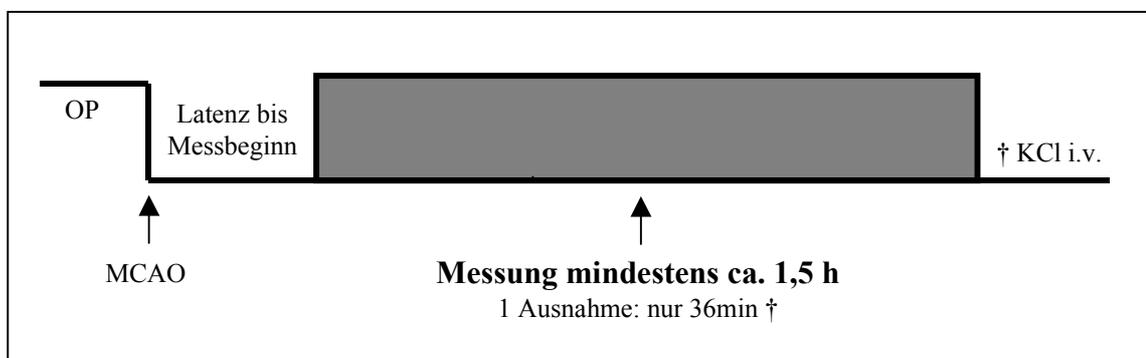


Abb.2.4. Versuchsprotokoll veranschaulicht den zeitlichen Ablauf der Messung mittels simultaner 16-Kanal-MEG und 16-Kanal-ECoG (MCAO: Okklusion der A. cerebri media, OP: Operation)

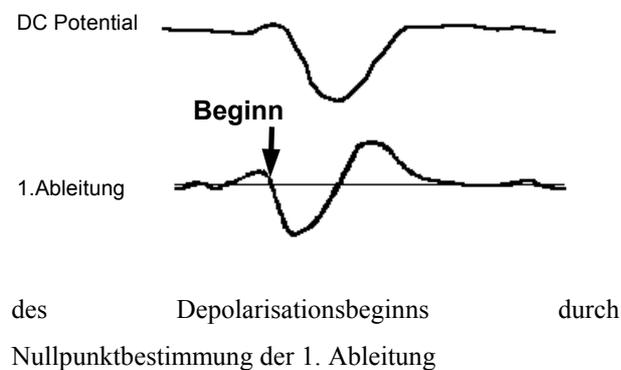
2.4. Auswertung der Messdaten

2.4.1. Auswertung des ECoG-Signals

2.4.1.1. Detektion des Depolarisationsbeginns

Die ECoG-Signale wurden mit einem Tiefpass von 0,01 Hz gefiltert und die 1. Ableitung nach der Zeit für das Signal an jeder Elektrode berechnet. Der entsprechende Nullpunkt dieser Ableitung stellt den Beginn der Negativierung des elektrischen Potentials dar und wurde als Startpunkt einer Depolarisation definiert (Abb.2.5).

Abb.2.5: Schematische Darstellung der Bestimmung



2.4.1.2. Kriterien für die Definition Spreading Depression-ähnlicher Periinfarktdepolarisationen (SD-PID)

Eine gemessene Depolarisation wurde als Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisation definiert, wenn folgende 3 Kriterien zutrafen:

1. Depolarisation um mindestens 1 mV
2. Verminderung der Amplitude der elektrischen Hintergrundaktivität (0,1 – 20 Hz) um mindestens 25%
3. Propagation der Depolarisation

Die Propagation dieser Depolarisation über den Kortex wurde als entscheidendes Kriterium für den Charakter einer Spreading Depression ausgewählt. Bei einem Elektrodenabstand von 1 mm und einer in der Literatur häufig beschriebenen mittleren Ausbreitungsgeschwindigkeit von 3 mm/min (Leão, 1944) muss der Beginn der

Depolarisation an zwei verschiedenen Elektroden sich um mindestens 20 s unterscheiden, wenn eine Propagation vorliegt. Deshalb wurde die zeitliche Differenz zwischen dem Beginn der zuerst und der zuletzt beobachteten Depolarisation im Elektrodenarray für jedes Ereignis bestimmt. Bei dieser maximalen Differenz des Beginns in zwei verschiedenen Kanälen von mindestens 20 s müsste jede mögliche Ausbreitungsrichtung von jedem möglichen Ursprungsort innerhalb des Elektrodenarrays erfasst werden. Neben diesen Kriterien musste schließlich ein Verminderung der Amplitude der elektrischen Spontanaktivität während des Ereignisses nachweisbar sein. Im Frequenzbereich von 0,1 bis 20 Hz wurde die Standardabweichung des Mittelwertes über 50 s berechnet. Der dazu ausgewählte Bereich zeigte Spontanaktivität und stand nicht in Beziehung mit einer Depolarisation. Dieser Parameter wurde für jeden Kanal auch während der maximalen Depolarisation bestimmt und die prozentuale Amplitudenreduktion der Spontanaktivität berechnet.

2.4.1.3. Zeitintervall für die MEG-Detektion

Da aus der Literatur keine Angaben zum Zeitverlauf von Magnetfeldveränderungen während SD-PID existieren, wurde ein Zeitintervall auf der Grundlage des ECoG-Signals und erster eigener Erfahrungen mit depolarisationsbedingten Veränderungen definiert, innerhalb dessen die Auswertung des MEG-Signals erfolgte. Die Elektrode Nr. 7 (E7) wurde als eine der vier Elektroden (Nr.: 7, 8, 11, 12) in der Mitte des Elektrodenarrays ausgewählt. Der Beginn der elektrischen Veränderung an dieser Elektrode wurde als Mittelpunkt des Zeitintervalls festgesetzt. Da die Antennen des MEG nicht nur Signale aus dem Bereich des Elektrodenarrays, sondern der gesamten Gehirnoberfläche der Ratte erfassen können, müsste man eine Depolarisation, die sich über die Gehirnoberfläche entsprechend einer Spreading Depression ausbreitet, auch außerhalb des Elektrodenbereichs messen können. In unserem Versuchsaufbau war die rostrale bzw. caudale Ausdehnung des Gehirns, von der Elektrode 7 aus gemessen, jeweils maximal 6 mm. Bei einer der am häufigsten beobachteten Ausbreitungsgeschwindigkeiten von 3 mm/min müssten magnetische Veränderungen bei einer Ausbreitung in gleicher Richtung in einem Zeitintervall von 120 s vor bzw. 120 s nach dem Beginn der Depolarisation an der Elektrode 7 über der gesamten Gehirnoberfläche gemessen werden können (Abb.2.6).

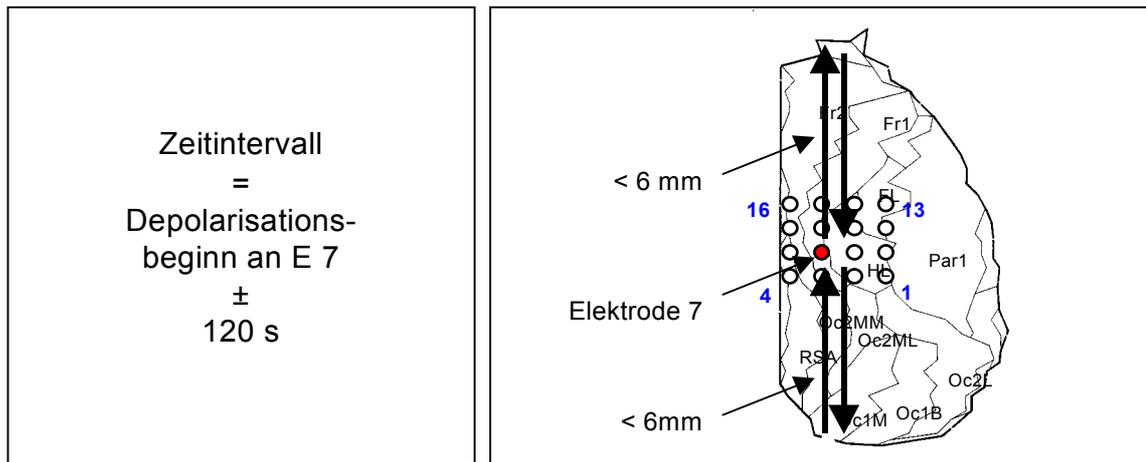


Abb.2.6: Lokalisation der Elektroden; Bestimmung des Zeitintervalls bei einer Ausbreitungsgeschwindigkeit von 3 mm/min und max. Hirnoberflächenausdehnung (Pfeile) von 6 mm: Beginn der elektrischen Depolarisation in $E7 \pm 120$ s

2.4.2. MEG-Datenauswertung

2.4.2.1. Datenvorverarbeitung

Als Artefakte wurden gleichzeitig in allen Kanälen des MEG auftretende Amplitudenveränderungen des Signals von > 5 pT definiert. Sie wurden durch den Mittelwert des Signals vor und nach dem Artefakt ersetzt. Nach dieser Artefaktkorrektur erfolgte die weitere Auswertung mit dem MEG-Auswertungsprogramm CURRY V3 (Philips Electronics N.V., Hamburg).

Einzelne Kanäle (maximal 3 Kanäle) waren jedoch trotz der durchgeführten Artefaktkorrektur im gesamten Zeitverlauf durch hochfrequente wiederkehrende Signalveränderungen, die in keinem zeitlichen Zusammenhang mit den zu untersuchenden Depolarisationen standen, gestört und wurden für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt.

Die Messdaten wurden mehrere Minuten vor und nach dem berechneten Zeitintervall untersucht, so dass messtechnisch bedingte Grundlinienverschiebungen als auch MEG-Veränderungen, die unterschiedlichen Trends in den einzelnen Kanäle entsprachen, erfassbar waren. Dementsprechend wurde ein konstanter Grundlinienausgleich und/oder eine lineare Trendelimination durchgeführt, so dass der Signalverlauf im Zeitintervall für die Detektion von den mit der Spreading Depression-ähnlichen Depolarisation

zusammenhängenden MEG-Veränderungen möglichst unbeeinflusst von lang andauernden Trends war (Abb.2.7). Für die Berechnung des zugrundeliegenden Trends wurde ein Bereich außerhalb des entsprechenden Zeitintervalls ausgewählt, der mindestens 150 s betrug und den Trend repräsentierte. In den meisten Fällen wurde dieser Trend jedoch anhand eines deutlich längeren Zeitbereichs von 300 ± 203 s ermittelt.

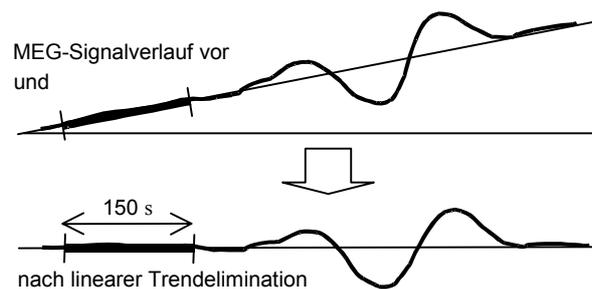


Abb.2.7: Schematische Darstellung der linearen Trendelimination anhand eines Zeitbereiches von mind. 150 s

Führte dieses Vorgehen zu keiner ausreichenden Trendelimination oder wurde kein dem Trend entsprechender 150 s andauernder Bereich gefunden, wurde der Trend anhand von zwei Zeitbereichen von mindestens 50 s Dauer berechnet. Diese zwei Zeitbereiche durften nicht den Bereich des zu untersuchenden Zeitintervalls überschneiden. Der errechnete lineare Trend wurde dann im Zeitintervall eliminiert. In diesen Fällen wurden für jeden der zwei Bereiche durchschnittlich 204 ± 104 s ausgewählt.

2.4.2.2. Hauptkomponentenanalyse

In den Voruntersuchungen mit der hier verwendeten Apparatur wurden langsame kontinuierliche Signalveränderungen festgestellt, die auch von Chen et al. erwähnt wurden (Chen et al., 1992). Da in der Literatur die Möglichkeit der Artefaktkorrektur mittels der Hauptkomponentenanalyse beschrieben ist (Kastner et al., 2002), wurden diese langsamen Veränderungen entsprechend eliminiert. Deshalb wurde bei allen Messdaten mit im ECoG erfassten Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Dabei wurde die Information aus den

Signalen der Messergebnisse in den 16 Kanälen des MEG rechnerisch anhand ihrer Varianz in festgesetzte, orthogonale räumliche Muster der Felder zusammen mit ihren Werten und dem Zeitverlauf für jedes einzelne Muster aufgeteilt. Durch diese Analyse wurde das Signal in Hauptkomponenten (HK) zerlegt. Die Hauptkomponenten beschreiben in absteigender Reihenfolge Anteile der Varianz im Signal, wobei die Komponente 1 den größten und die nachfolgenden Komponenten abnehmende Anteile darstellen.

Für dieses Verfahren wurde ein möglichst großer Bereich ausgewählt. In der 1. Hauptkomponente zeigte sich ein nichtlinearer Trend, der langsam stetig zunahm und sich einem Maximum annäherte. Diese 1. Hauptkomponente beschrieb jeweils ein Vielfaches der Gesamtvarianz des Signals gegenüber den restlichen Komponenten und zeigte in den Zeitbereichen des Ereignisses nur geringe Veränderungen, die visuell einzeln überprüft wurden. In mehreren Fällen war klar zu erkennen, dass während des magnetischen Ereignisses die Intensität der 1. HK abnahm. Die 1. Hauptkomponente enthielt somit Informationen des Signals, die wenig mit dem elektrisch und magnetisch fassbaren Ereignis zu tun hatten. Diese sollten in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht werden, so dass die 1. HK nicht weiter in die Auswertung miteinbezogen wurde.

2.4.2.3. Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP)

Im Zentrum der vorliegenden Untersuchungen stand die zeitliche Charakterisierung der SD-PID anhand des ECoG- und MEG-Signals, so dass eine pauschale Beurteilung der Magnetfeldveränderungen ausreichend war. Dafür wurde die mittlere globale Magnetfeldstärke aus den Hauptkomponenten berechnet und dargestellt. Die mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) in Analogie zur mean global field power des elektrischen Feldes (Lehmann et al., 1987) ist durch die nachfolgende Formel gegeben:

$$MGFP(t_n) = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m x_i(t_n)^2}$$

Dabei war m die Anzahl der MEG-Kanäle ($m=16$) und $x_i(t_n)$ die gemessenen MEG Signale des i -ten Kanals zum Zeitpunkt t_n mit $i = 1, 2, \dots, 16$ und $n = 0, 1, 2, \dots$. Die mittlere globale Magnetfeldstärke wurde fortlaufend für jeden Zeitpunkt berechnet. Große Werte spiegelten daher hohe Amplituden des MEG Signals unabhängig vom Auftreten innerhalb des Magnetfeldes wieder.

2.4.2.4. Bestimmung der magnetischen Hintergrundaktivität

Die Berechnung der mittleren globalen Magnetfeldstärke erfolgte für Signalbereiche, die normale Hintergrundaktivität widerspiegelten. Der Mittelwert dieser mittleren Signalstärke wurden aus einem mindestens 100 s andauernden Bereich vor dem interessierenden Zeitintervall für ein Ereignis berechnet. Durchschnittlich dauerten diese Bereiche 224 ± 112 s an. Der dem Hintergrundrauschen entsprechende Mittelwert wurde mit der 1,96fachen Standardabweichung multipliziert. Damit wurde ein Schwellenwert definiert, bei dessen Überschreiten die Magnetfeldveränderung als statistisch signifikant definiert wurde, da diese Werte außerhalb der 95% Perzentile der vorbestehenden Aktivität lagen.

2.4.2.5. Definition der Spreading Depression-korrelierten Magnetfeldveränderungen

Der Beginn einer Veränderung der globalen Magnetfeldstärke wurde mit dem Überschreiten dieses Schwellenwertes (siehe 2.4.2.4) für mindestens 20 aufeinanderfolgende Sekunden definiert. Dabei wurden einzelne Werte unterhalb der Schwelle akzeptiert, um auch ein langsames Ansteigen des magnetischen Signals über den Schwellenwert trotz des Rauschens möglichst frühzeitig zu erfassen. Das Ende wurde bei Unterschreiten des Schwellenwertes für mindestens 6 s definiert. Auch hier wurde ein einzelner Wert als Ausnahme toleriert. Dieser kürzere Zeitraum für das Unterschreiten wurde ausgewählt, um auch kurz aufeinanderfolgende Ereignisse zu erfassen. Ein Maximum zwischen dem beschriebenen Beginn und Ende wurde als Gipfel definiert. Mehrere Gipfel im zeitlichen Verlauf oberhalb des Schwellenwertes wurden bei zwischenzeitlicher Abnahme der mittleren globalen Magnetfeldstärke um mindestens 30 % unterschieden.

2.5. Statistik

Alle Daten wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt. Werte der Magnet-feldstärke außerhalb der 95% Perzentile wurden als statistisch signifikanter Anstieg über die Hintergrundaktivität bewertet. Das Elektrodenarray wurde in vier Quadranten aufgeteilt. Ein statistisch signifikanter Häufigkeitsunterschied der beobachteten Parameter zwischen den jeweiligen Hälften wurde mit dem zweiseitigen Vorzeichentest gezeigt ($p \leq 0.05$).

3. Ergebnisse:

3.1. Physiologische Parameter

Während der gesamten Versuchsdauer wurden der pH-Wert, pO₂, pCO₂ und die Bikarbonatkonzentration im Blut konstant gehalten. Die Temperatur betrug dabei im Mittel $37.06 \pm 0,37^\circ \text{C}$ (Tab. 3.1.1). Der kontinuierlich aufgezeichnete Blutdruck zeigte durchschnittliche Werte von $137 \pm 23 \text{ mmHg}$ während der gesamten Versuchsdauer.

Tab.3.1.1: Blutgasanalysen und Temperatur

	Mittelwert	SD
Temp. [°C]	37,06	0,37
FIO ₂ [%]	40,6	4,7
pH	7,36	0,05
pCO ₂ [mmHg]	38,0	6,4
pO ₂ [mmHg]	151,6	33,1
HCO ₃ ⁻ [mmol/L]	20,3	2,3
SBC [mmol/L]	20,8	1,8
ABE [mmol/L]	-4,3	2,1
SBE [mmol/L]	-4,3	2,2
sO ₂ [%]	98,3	1,0

3.2. Messzeiten

Zwischen Mediaokklusion und Messbeginn in der Kammer vergingen durchschnittlich $23 \pm 11 \text{ min}$. Deshalb können keine Angaben über unmittelbar nach der Okklusion auftretenden Veränderungen gemacht werden. Die mittlere Messzeit betrug pro Tier $2 \text{ h } 6 \text{ min} \pm 30 \text{ min}$ (n=8), bei einem Versuchstier musste die Messung nach 36 min (n=1) abgebrochen werden, weil das Tier starb. Bei sieben Tieren wurde die Messung kurzzeitig für Blutgasanalysen bzw. Applikationen von Chloralose/Urethan bzw. Pancuroniumbromid unterbrochen. Dabei waren bis zu zwei Messunterbrechungen pro Tier mit einer durchschnittlichen Dauer von $18 \pm 5 \text{ min}$ (n=7) notwendig. Die gesamte Messzeit und die Zeitpunkte dieser Unterbrechungen nach der Mediaokklusion werden in Tab.3.2.1 für jedes Versuchstier aufgelistet.

Tab.3.2.1: Gesamtmesszeit bei den einzelnen Versuchstieren und Dauer der Messunterbrechungen; Beginn der Messung und Messunterbrechungen, sowie Ende der Unterbrechungen nach MCAO (alle Zeiten in Stunden : Minuten)

ersuchstier	Messung Beginn	Unterbrechung			Messung Gesamtzeit	davon nicht gemessen
		Nr.	Beginn	Ende		
1	0:22	1	0:49	0:54	2:22	0:16
		2	1:37	1:48		
2	0:19	1	1:01	1:19	1:24	0:18
3	0:51	0			0:36	
4	0:18	1	0:36	0:45	2:10	0:22
		2	1:43	1:56		
5	0:26	1	1:34	1:47	1:38	0:13
6	0:26	1	1:09	1:18	2:24	0:19
		2	2:08	2:18		
7	0:19	1	0:28	0:32	1:46	0:13
		2	0:44	0:53		
8	0:11	0			2:56	
9	0:20	1	0:35	0:49	2:11	0:27
		2	2:02	2:15		

3.3. Elektrokortikographie

Es wurden im ECoG insgesamt 36 Periinfarktdepolarisationen aufgezeichnet. Bei jeweils zwei Versuchstieren konnten 1 bzw. 2 Depolarisationen und bei jeweils einem Tier 3, 5, 6, 7 bzw. 9 Periinfarktdepolarisationen erfasst werden. Diese traten im Mittel mit $2,0 \pm 1,1$ Depolarisationen pro Stunde auf. Für die verschiedenen Tiere wurden zwischen 0,6 bis 3,3 Ereignisse/Stunde beobachtet. Diese Depolarisationen traten spontan nach dem Verschluss der A. cerebri media in unterschiedlichen Zeitabständen auf. Die nachfolgende Tabelle zeigt die zeitliche Beziehung des Auftretens der Periinfarktdepolarisationen zum Zeitpunkt der Mediaokklusion bei den einzelnen Versuchstieren (Tab.3.3.1).

Bei unseren Versuchen wurde die erste Periinfarktdepolarisation im Mittel nach 35 ± 15 min aufgezeichnet, jedoch konnte die Messung nicht unmittelbar nach der Okklusion begonnen werden. Ziel dieser Arbeit war jedoch nicht initiale Veränderungen zu erfassen, sondern die Abfolge und topographische Ausbreitung der Periinfarktdepolarisationen mit ihren magnetischen Veränderungen zu untersuchen.

Tab.3.3.1: Beginn der Periinfarktdepolarisationen nach MCAO an der Elektrode 7 (Ausnahme bei Ereignis 7 von Tier 1: Elektrode 13; Zeitangaben in Stunden : Minuten : Sekunden)

Versuchstier	Ereignis	Beginn nach MCAO in E7
1	1	0:30:36
	2	0:44:22
	3	0:59:47
	4	1:10:10
	5	1:19:42
	6	1:31:13
	7	2:28:46
2	1	0:53:04
	2	0:59:04
	3	1:29:43
3	1	0:58:20
	2	1:14:14
4	1	0:27:23
	2	0:46:06
	3	1:11:26
	4	1:20:19
	5	1:37:55
5	1	0:47:04
6	1	0:34:20
	2	0:41:06
	3	0:54:50
	4	1:01:39
	5	1:29:20
	6	1:35:19
7	1	0:33:42
8	1	0:10:57
	2	0:16:12
	3	0:26:51
	4	0:35:01
	5	0:43:50
	6	0:54:16
	7	1:13:07
	8	1:43:19
	9	1:54:46
9	1	0:23:55
	2	0:59:31

Bei den aufgezeichneten Depolarisationen, zwischen denen eine kurzzeitige Messunterbrechung wie oben bereits beschrieben notwendig war, kann nicht sichergestellt werden, dass es sich um unmittelbar aufeinander folgende Ereignisse handelt. Prinzipiell kann ein weiteres Ereignis während dieser Messpause nicht ausgeschlossen werden. Deshalb wurden nur aufeinander folgende Depolarisationen ohne dazwischen liegende Messunterbrechung bei der weiteren Berechnung

berücksichtigt. Die zeitliche Beziehung der Depolarisationen der einzelnen Versuchstiere lässt sich der Tab.3.3.2 entnehmen.

Tab.3.3.2: Zeitliche Abstände der einzelnen Depolarisationen zur vorherigen Depolarisation; Fettdruck: Abstände bei aufeinanderfolgenden Ereignissen; Normaldruck: Abstand, indem eine Messunterbrechung notwendig war; Mittelwert wurde nur aus den Abständen aufeinanderfolgender Ereignisse berechnet; bei Versuchstier 5 und 7 gab es nur ein Ereignis (alle Zeiten in Minuten : Sekunden)

Versuchstier	Abstand des Ereignisses zum vorherigen Ereignis						Mittelwert	SD
1	13:46	15:25	10:23	09:32	11:31	57:33	11:18	01:50
2	06:00	36:39					06:00	
3	15:54						15:54	
4	18:43	25:20	08:53	17:36			17:16	08:14
6	06:46	13:44	06:49	48:14	05:59		08:20	03:38
8	05:15	10:39	08:10	08:49	10:26	18:51	12:59	07:59
9	35:36							

Es zeigt sich, dass die Depolarisationen nicht in gleichmäßigen Abständen auftreten. Im Durchschnitt betrug der Abstand $12:12 \pm 06:26$ Minuten : Sekunden. Bei den Tieren 1 und 6 zeigen die Abstände mit kontinuierlicher Messung eine gewisse Regelmäßigkeit mit einer mittleren Dauer von 11:18 bzw. 8:20 und relativ geringen Standardabweichungen von 1:50 bzw. 3:38 Minuten : Sekunden. Bei den Ratten 4 und 8 hingegen sind die Standardabweichungen mit ungefähr 8 Minuten deutlich größer. Trotzdem zeigen 5 Ereignisse beim Tier 8 ähnliche zeitliche Abstände zwischen 8 und 11,5 Minuten zum vorherigen Ereignis. Ein Ereignis trat bereits nach etwas mehr als 5 Minuten ein, wobei jedoch die verbliebenen 2 Ereignisse mit deutlich vergrößerter Latenz zum vorherigen aufgetreten sind. Bei den restlichen Versuchstieren lassen sich aufgrund von nur einem oder zwei Ereignissen keine weiteren Aussagen über deren zeitliche Zusammenhänge machen.

Zusammenfassend kann weder eine Konstanz noch Zu- oder Abnahme der zeitlichen Abstände in der Abfolge mehrerer Ereignisse bei einem Tier nachgewiesen werden. Jedoch zeigt sich, dass eine zweite Periinfarktdepolarisation frühestens nach ca. 5 min nach dem Beginn der vorherigen auftrat.

3.3.1. Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen

Von den 36 elektrischen Ereignissen wurden 31 Depolarisationen als Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen aufgrund der definierten Kriterien charakterisiert (siehe 2.4.1.2.). Die restlichen 5 Depolarisationen erfüllten diese Kriterien nicht und wurden im Weiteren als statische, sich nicht ausbreitende Depolarisationen gewertet (Tab.3.3.3b). Die gemessenen Parameter für die entsprechenden Ereignisse werden in Tab.3.3.3a und b gezeigt.

Tab.3.3.3a: Einzeldarstellung der erfüllten Kriterien für Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen (siehe auch Kapitel 2.4.1.2.)

Versuchstier	Ereignis	Maximale Depolarisation (mV)	Abnahme der elektr. Aktivität (%)	Max. Differenz des Beginns (s)
1	1	8,32	60	188
	2	6,34	41	39
	3	7,86	70	138
	4	2,23	27	38
	5	5,22	49	84
2	1	7,9	74	30
	2	4,17	79	56
3	1	7,57	63	85
	2	2,84	92	126
4	1	6,4	64	83
	2	7,3	60	77
	3	9,15	73	169
	4	2,78	83	159
	5	5,18	83	163
5	1	3,96	51	45
6	1	4,3	31	77
	2	6,95	37	186
	3	5,96	40	158
	4	6,16	32	112
	5	6,57	45	48
	6	4,53	36	66
7	1	4,83	30	43
8	1	2,91	26	22
	3	1,9	25	42
	4	2,15	43	90
	5	3,19	36	26
	6	4,00	84	37
	8	2,83	27	24
	9	2,81	35	22
9	1	6,16	29	148
	2	7,64	78	48

Tab.3.3.3b: Statische, sich nicht ausbreitende Depolarisationen

Versuchstier	Ereignis	Maximale Depolarisation (mV)	Abnahme der elektr. Aktivität (%)	Max. Differenz des Beginns (s)
1	6	4,11	73	9
	7	7,7	28	18
2	3	6,36	87	16
8	2	1,72	33	16
	7	2,35	29	19

Die Amplitude der Depolarisationen betrug bei den SD-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen im ECoG durchschnittlich $5,14 \pm 2,12$ mV. Dabei wurde die stärkste Depolarisation mit 9,15 mV beim dritten Ereignis der Ratte 4 beobachtet. In der Abfolge der Depolarisationen zeigten die Amplituden zufällig variierende Werte, so dass weder eine zeitlich gerichtete Zu- oder Abnahme, noch eine Konstanz festgestellt werden konnte. Jedoch zeigten die Tiere 6, 8 bzw. 9 eine geringere Streuung mit $5,75 \pm 1,09$, $2,72 \pm 0,51$ bzw. $6,9 \pm 1,05$ mV in der Amplitude als die anderen Versuchstiere mit Standardabweichungen zwischen 2,4 und 3,3 mV. Auffallenderweise zeigte das Versuchstier 8 mit den meisten Depolarisationen die geringsten Amplituden, während sich die Mittelwerte der anderen Tiere nicht deutlich unterschieden.

Die elektrische Hintergrundaktivität nahm um durchschnittlich 52 ± 21 % ab. Es zeigten sich sowohl intra- als auch interindividuell variable Werte der Amplitudendepression von 25% bis zu 92%, die sich nicht proportional zur maximalen Depolarisationsamplitude verhielten.

Die maximale Differenz des Beginns der Depolarisation in zwei verschiedenen Elektroden als Parameter für die Propagation und als Maß der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Depolarisationswelle betrug im Mittel 85 ± 54 s. Es wurde auch hier eine große intra- und interindividuelle Variabilität beobachtet. Die durchschnittlichen Werte für die einzelnen Tiere zeigten bei den Tieren 2, 5, 7 und 8 kleinere Werte von 38 ± 24 s bis 43 ± 18 s, während die maximale Differenz des Beginns bei den restlichen Tieren zwischen 110 ± 51 s betrug.

Die statischen, sich nicht ausbreitenden Depolarisationen zeigten eine Amplitude von $4,45 \pm 2,56$ mV, eine Abnahme der elektrischen Aktivität von 50 ± 28 % und eine maximale Differenz des Depolarisationsbeginns in zwei Elektroden von nur 16 ± 4 s.

Das Zeitintervall für die Detektion magnetischer Veränderungen, die mit Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen korrelierten, wurde durch das elektrische Signal an der Elektrode 7 definiert (siehe 2.4.1.3.). Der Beginn der frühesten ECoG-Veränderungen und die Latenz bis zum Beginn der Depolarisation an der Elektrode 7, die auch die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Depolarisationswelle veranschaulicht, sind in Tab.3.3.4 aufgezeigt. Im Mittel betrug diese Zeitdauer 47 ± 43 Sekunden und war durch eine große intra- und interindividuelle Streuung geprägt.

Tab.3.3.4: Früheste ECoG-Veränderungen nach MCAO und Latenz bis zu Veränderungen an Elektrode 7 (Bezugselektrode für MEG-Zielfenster)

Versuchstier	Ereignis	früheste Veränderung		Latenz bis Depolarisation in E7 (m:ss)
		in Elektrode	nach MCAO (hh:mm:ss)	
1	1	9	00:29:27	1:10
	2	14	00:43:45	0:37
	3	2	00:57:56	1:51
	4	7	01:10:10	0:00
	5	9	01:19:04	0:38
2	1	13	00:52:40	0:24
	2	11	00:58:50	0:14
3	1	15,16	00:57:29	0:51
	2	10	01:14:09	0:05
4	1	10	00:27:16	0:07
	2	11-12,14-16	00:45:02	1:04
	3	13	01:08:45	2:41
	4	12	01:20:15	0:04
	5	10-16	01:35:21	2:34
5	1	15	00:46:55	0:09
6	1	8	00:33:11	1:09
	2	6	00:40:57	0:09
	3	4	00:52:49	2:01
	4	12	01:00:39	1:00
	5	6	01:28:32	0:48
	6	16	01:34:42	0:37
7	1	15	00:33:06	0:36
8	1	1,11,12	00:10:52	0:05
	3	13	00:26:20	0:31
	4	13	00:33:37	1:24
	5	13	00:43:24	0:26
	6	6	00:53:42	0:34
	8	16	01:43:05	0:14
	9	13	01:54:24	0:22
9	1	12	00:22:21	1:34
	2	5	00:59:04	0:27
Mittelwert \pm Standardabweichung:				0:47 \pm 0:43

3.3.2. Ausbreitung der Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen

Der früheste Beginn der Depolarisation wurde bei vier Ereignissen (Tier/Ereignis: 3/1, 4/2, 4/5 und 8/1; siehe Tab.3.3.4) an mehreren Elektroden gleichzeitig registriert, bei den restlichen Ereignissen konnte er einer Elektrode eindeutig zugeordnet werden. Die Elektroden, die den frühzeitigsten Depolarisationsbeginn erfassten, waren am häufigsten (20 von 44 Fällen) in der am weitesten rostral gelegenen Elektrodenreihe. Im Gegensatz dazu zeigte nur dreimal eine Elektrode der caudalen Reihe ein Ereignis zuerst an. Nach Aufteilung des Elektrodenarrays in Quadranten bzw. Hälften zeigt sich, dass der Beginn der Depolarisation am häufigsten (in 20 von 44 Fällen) im rostral-medialen Quadranten und signifikant häufiger in der rostralen Hälfte als in der caudalen Hälfte (35 versus 9 Fälle; $p \leq 0.05$) erfasst wurde. Dagegen wurde kein Unterschied zwischen der medialen und lateralen Hälfte (23 versus 21 Fälle) festgestellt. Die Häufigkeitsverteilung über das Elektrodenarray, wo jeweils die Depolarisation zuerst erfasst wurde, wird in Abb.3.3.1a graphisch dargestellt. Die entsprechende Vierfelder-tafel aus den Häufigkeiten zeigt Abb.3.3.1b.

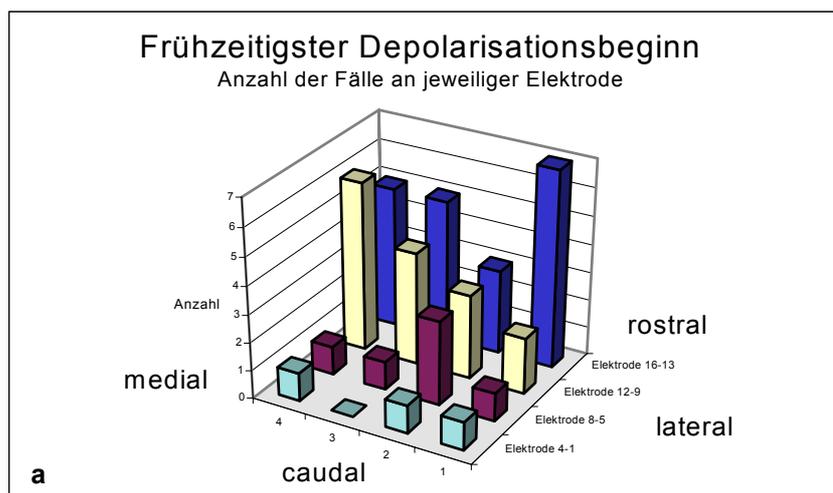


Abb.3.3.1a: Anzahl der Depolarisationsereignisse, in denen an der jeweiligen Elektrode der frühzeitigste Depolarisationsbeginn gemessen wurde; Elektrodenreihen von caudal nach rostral dargestellt (1-4: caudale Reihe; 5-8: hintere mittlere Reihe; 9-12: vordere mittlere Reihe; 13-16: rostrale Reihe; n=44 für 31 Ereignisse bei 9 Tieren)

Häufigkeit des Depolarisationsbeginns an Elektroden der Quadranten			
	medial	lateral	Summe
rostral	20 (45,5%)	15 (34,1%)	35 (79,6%)
caudal	3 (6,8%)	6 (13,6%)	9 (20,4%)
b Summe	23 (52,3%)	21 (47,7%)	44 (100%)

Abb.3.3.1b: Vierfeldertafel von der Häufigkeit des frühzeitigsten Depolarisationsbeginns an den jeweiligen Elektroden in den Quadranten des Elektrodenarrays (* = $p \leq 0,05$) bei 9 Tieren

Die zeitliche Reihenfolge des Depolarisationsbeginns an den 16 Elektroden wurde bestimmt, um den Beginn der Depolarisation und die Ausbreitungsrichtung der Wellenfront über das Elektrodenarray zu erkennen. Alle Ereignisse wurden anhand der Ausbreitung vier Kategorien zugeteilt, entweder mit Propagation von rostral nach caudal bzw. umgekehrt und von medial nach lateral bzw. umgekehrt. Die Häufigkeitsverteilung dieser vier Ausbreitungsrichtungen wurde ermittelt und wird in Tab.3.3.5 als Vierfeldertafel gezeigt. Am häufigsten (14 von 31 Ereignisse) breitete sich die Depolarisation von rostral nach caudal und medial nach lateral aus. Es zeigte sich signifikant häufiger eine Propagation von rostral nach caudal als in entgegengesetzte Richtung (22 versus 9 Ereignisse), wohingegen die Unterschiede zwischen einer Ausbreitung von medial nach lateral und lateral nach medial (18 versus 13 Ereignisse) nicht signifikant waren. Mit der geringsten Häufigkeit konnte eine Ausbreitung von caudal nach rostral und medial nach lateral in 4 von 31 Fällen beobachtet werden.

Tab.3.3.5: Anzahl der SD-ähnlichen Depolarisationen, die jeweilige Ausbreitungsrichtung unter dem Elektrodenarray zeigten (* = $p \leq 0,05$) bei 9 Tieren

Häufigkeit der Ausbreitungsrichtung der Periinfarktdepolarisationen unter dem Elektrodenarray			
	von medial nach lateral	von lateral nach medial	Summe
von rostral nach caudal	14 (45,2%)	8 (25,8%)	22 (71%)
von caudal nach rostral	4 (12,9%)	5 (16,1%)	9 (29%)
Summe	18 (58,1%)	13 (41,9%)	31 (100%)

Da die Wellenfronten der Depolarisationen oft inhomogen waren und sich ihre räumliche Beziehung zu den einzelnen Elektrodenreihen während der Ausbreitung änderte, wurde von der Berechnung der Ausbreitungsgeschwindigkeit Abstand genommen. Nur bei wenigen ausgewählten Ereignissen, bei denen eine gleichförmige Ausbreitung zwischen zwei Elektroden offensichtlich war, wurde die Geschwindigkeit anhand des gemessenen Zeitintervalls zwischen den jeweiligen Elektroden und dem entsprechenden Abstand ermittelt. Diese betrug für sieben Ereignisse im Mittel $3,18 \pm 1,15$ mm/min (Min.: 1,19 mm/min, Max.: 4,81 mm/min).

3.3.3. Ausbildung der Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen unter dem Elektrodenarray

Für jede Spreading Depression-ähnliche Depolarisation wurde die Elektrode ermittelt, die die stärkste Depolarisation erfasste. Am häufigsten (16 von 31 Ereignissen) wurde dieses Maximum von Elektroden der rostralen Reihe aufgezeichnet, die caudale Elektrodenreihe erfasste dagegen nur in 4 Fällen das Maximum. In den Quadranten des Arrays wurde es am häufigsten (bei 14 Ereignissen) im rostro-lateralen aufgezeichnet. Die größte Amplitude wurde signifikant häufiger in der rostralen Hälfte des Elektrodenarrays erfasst als in der caudalen Hälfte (23 versus 8 Ereignisse). Zwischen der medialen und lateralen Hälfte gab es nur geringe Unterschiede, so dass das Maximum 19 mal lateral, aber auch 12 mal medial beobachtet wurde.

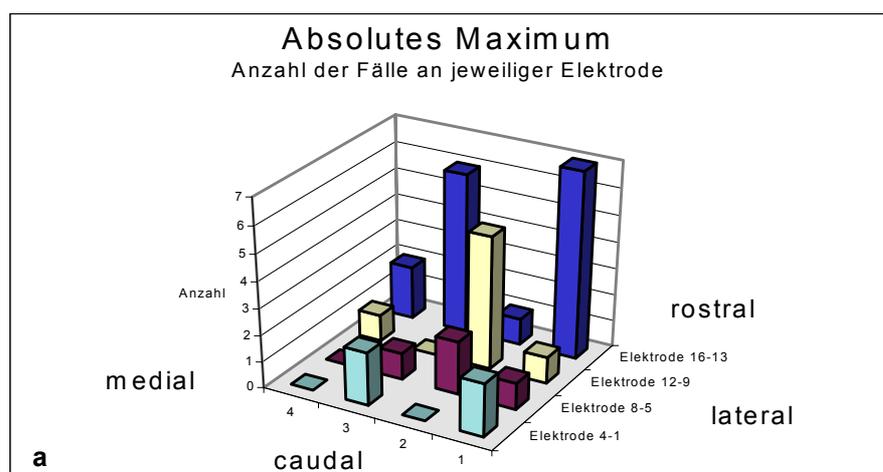


Abb.3.3.2a: Anzahl der Ereignisse, in denen an der jeweiligen Elektrode das Maximum der Depolarisationsamplitude eines Ereignisses gemessen wurde; Elektrodenreihen von caudal nach rostral dargestellt (1-4: caudale Reihe; 5-8: hintere mittlere Reihe; 9-12: vordere mittlere Reihe; 13-16: rostrale Reihe, n=31)

Häufigkeit des Maximums der Depolarisationsamplitude an Elektroden der Quadranten			
	medial	lateral	Summe
rostral	9 (29%)	14 (45,2%)	23 (74,2%)
caudal	3 (9,7%)	5 (16,1%)	8 (25,8%)
Summe	12 (38,7%)	19 (61,3%)	31 (100%)

b

Abb.3.3.2b: Vierfeldertafel der Häufigkeit des Maximums der Depolarisationsamplitude im jeweiligen Quadranten des Elektrodenarrays (* = $p \leq 0,05$; n=31 bei 9 Tieren)

Für jede Elektrode wurde aus allen Ereignissen die mittlere Amplitude der Depolarisation berechnet und mit der Standardabweichung in Abb.3.3.3 dargestellt. Der größte Wert mit $3,27 \pm 2,66$ mV zeigte sich an der Elektrode 13 im rostro-lateralen Bereich des Elektrodenarrays. Die Depolarisation war lateral mit Werten zwischen 2,9 bis 3,3 mV stärker ausgeprägt als medial mit 1,7 bis 2,4 mV, jedoch waren diese Unterschiede aufgrund der großen Streuung nicht signifikant. Von caudal nach rostral konnte dagegen nur eine leichte Tendenz zu ansteigenden Werten ausgemacht werden.

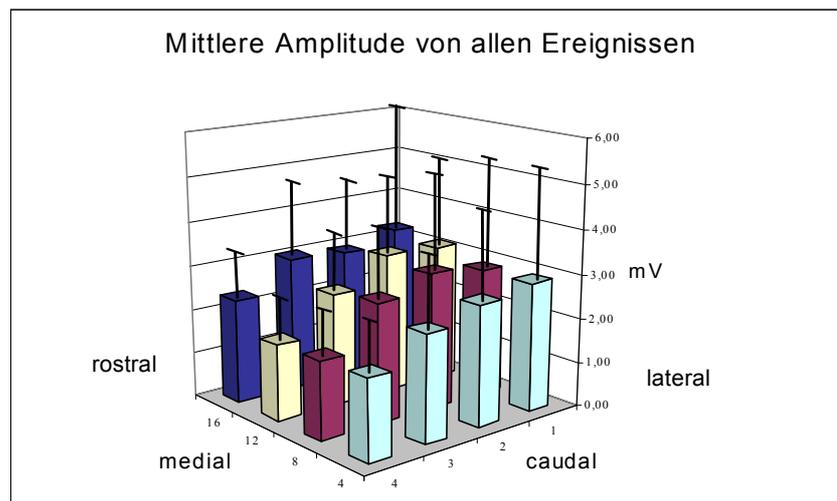


Abb.3.3.3: Mittlere Amplitude aller Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen an den einzelnen Elektroden des Arrays (in mV; Mittelwert \pm Standardabweichung; n=31; Elektroden 1-4: caudale Reihe, Elektroden 13-16: rostrale Reihe; Ausrichtung im Vergleich zu vorherigen Abb. gedreht! n=31)

3.4. Magnetoencephalographie

Im Zeitbereich der 31 im ECoG erfassten Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen wurde die mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) bestimmt. Dabei zeigten sich bei 26 Ereignissen signifikante Signalveränderungen. Bei den restlichen 5 Ereignissen konnten keine signifikanten Veränderungen aufgrund des geringen Signal-Rausch-Verhältnisses nachgewiesen werden. Jedoch war bei diesen eine Veränderung der MGFP visuell im jeweiligen Zeitbereich erkennbar, ohne dass der Schwellenwert überschritten wurde. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass es auch hier zu ereignisbedingten Veränderungen im Magnetfeld gekommen ist.

Die Veränderung der mittleren Magnetfeldstärke zeigte bei verschiedenen Ereignissen vergleichbare Muster im zeitlichen Verlauf, so dass bei 23 Ereignissen vier solche unterschiedlichen Verlaufsmuster der MGFP unterschieden werden konnten, die sowohl intra- als auch interindividuell charakteristische Merkmale übereinstimmend aufwiesen. 3 Ereignisse konnten nicht eindeutig zu einem der vier Muster zugeordnet werden, so dass sie zu einer fünften Klasse zusammengefasst wurden.

Für eine charakteristische Periinfarktdepolarisation wurden alle Kanäle des Magnetoencephalogramms zusammen mit den simultanen ECoG-Veränderungen in 4 Kanälen dargestellt. Abb.3.4.1 zeigt ein typisches Beispiel vom Tier 2. Dabei stellt sich die Polarität der Magnetfeldveränderung mit positiven Signalveränderungen im rostro-medialen Bereich und negativen im caudo-lateralen gut dar. Die Propagation der elektrischen Depolarisation ist anhand des zeitlich unterschiedlichen Auftretens des negativen Depolarisationsmaximums an den 4 Elektroden erkennbar, deren Abstand zum Zentrum des Stromgebietes der *A. cerebri media* zunimmt. Auch zeigen die elektrischen Kanäle ein unterschiedlich starkes Ausmaß der Repolarisation, die an der lateralen Elektrode in eine anoxische Depolarisation übergeht. Für die in dieser Arbeit vorgesehene Analyse des zeitlichen Musters ist eine Betrachtung der globalen Magnetfeldstärke ausreichend, so dass im Folgenden nur noch auf die MGFP eingegangen wird.

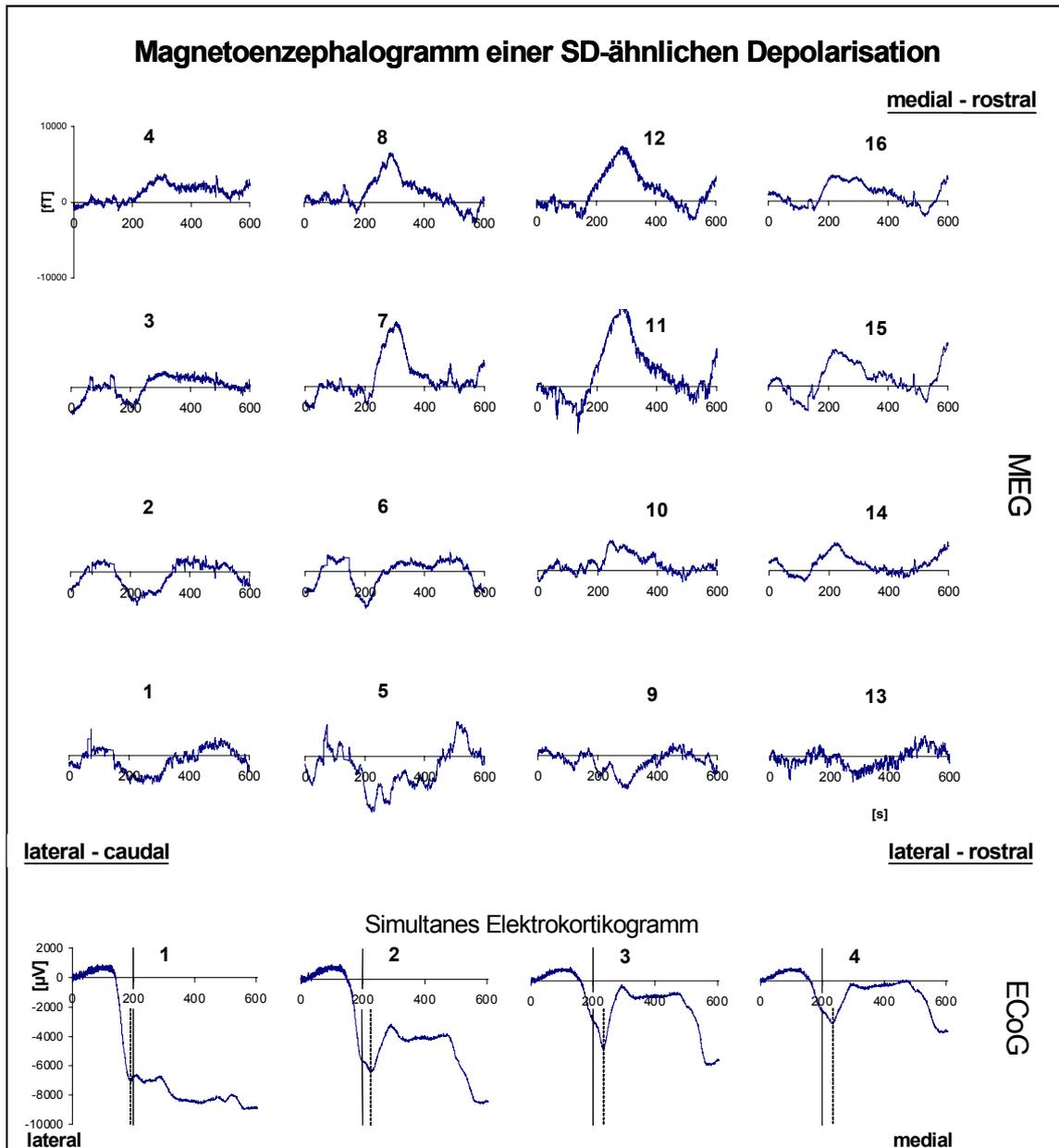


Abb.3.4.1: Topographische Darstellung des 16-Kanal-Magnetoencephalogramms mit einer charakteristischen Spreading Depression-ähnlichen Depolarisation (1. Ereignis der Ratte 2) für einen Zeitbereich von 600 s mit dem Auszug von 4 Kanälen mit unterschiedlichem Abstand zum Zentrum des Mediastromgebietes vom simultanen 16-Kanal-Elektrokortikogramm (Position von Antennen und Elektroden siehe Abb.2.3). Beachte die entgegengesetzte Polarität der Signalveränderung mit positivem Ausschlag in Kanal 4, 7-8, 10-12 und 14-16 und mit negativem Ausschlag in Kanal 1-3, 5-6, 9 und 13

3.4.1. Verlaufsmuster I - ein Gipfel

13 Ereignisse zeigten einen ausgedehnten Signalpeak der Magnetfeldstärke, der den für die Signifikanz entscheidenden Schwellenwert deutlich überschritt. Dieser Signalverlauf wies dabei immer eine gleichschenklige Form auf, d.h. der zeitliche Verlauf von Signalanstieg und -abfall waren ähnlich (siehe Abb. 3.4.2).

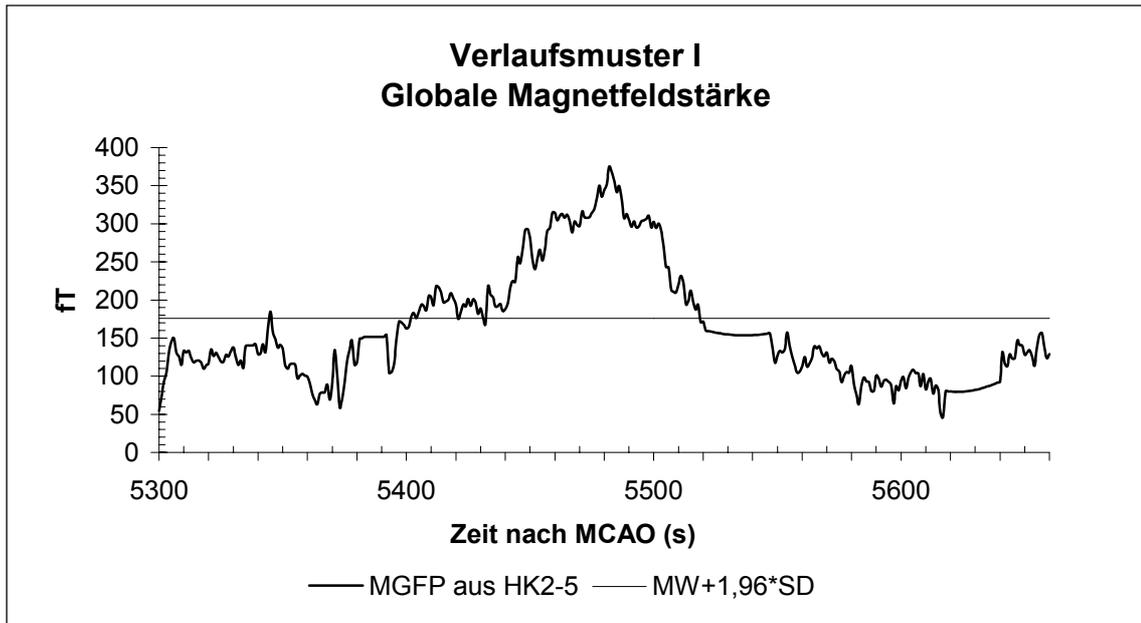


Abb.3.4.2: Darstellung des Verlaufsmusters I am Beispiel des 5. Ereignisses der Ratte 6: Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) aus HK 2-5 nach SVD von 5300-5875 s; die dünne Linie zeigt den Schwellenwert, dessen Überschreiten als signifikante Signalveränderung definiert wurde, Berechnung des Schwellenwertes anhand des Mittelwerts und der Standardabweichung von 5300 bis 5400 s

Das Maximum der Signalveränderung zeigte bei den einzelnen Ereignissen variierende Feldstärken und spiegelt somit unterschiedliche Intensitäten wieder. Da ein nichtlinearer Trend in der Hauptkomponentenanalyse der 1. Hauptkomponente zugeordnet wurde und diese offensichtlich keine maßgeblichen Informationen vom interessierenden Ereignis enthielt, konnten diese Störungen durch Elimination der 1. Hauptkomponente beseitigt werden. Jedoch konnten dadurch in dieser Auswertung keine quantitativen Aussagen zur absoluten Magnetfeldstärke und keine direkten Vergleiche zwischen den einzelnen Messungen gemacht werden. Deshalb wurde für eine Quantifizierung der Quotient aus der maximalen MGFP zur MGFP der Hintergrundaktivität für die Ereignisse berechnet. Diese Hintergrundaktivität wurde als Mittelwert der MGFP aus Signalbereichen, die weder im zeitlichen Zusammenhang mit den Ereignissen standen, noch artefaktbedingte

Magnetfeldveränderungen zeigten, definiert. Sie wird, wie in Kapitel 2.4.2.4. beschrieben, ermittelt und ist im überwiegenden Teil von neuronaler Spontanaktivität bestimmt. Dabei zeigten sich bei 11 Ereignissen Signalverstärkungen auf das 1,7 bis 4,6fache der Hintergrundaktivität. Bei Versuchstier 2 wurde bei zwei Ereignissen ein deutlich stärkerer Anstieg der Magnetfeldstärke mit einem Quotienten von 12,6 und 20,3 ermittelt, jedoch zeigte der Mittelwert der Hintergrundaktivität in diesen zwei Fällen auch den kleinsten Wert. Die Hintergrundaktivität variierte ebenfalls und konnte aufgrund der oben beschriebenen Verfahrensweise zwischen den Messungen auch nicht direkt verglichen werden. Die Tabelle 3.4.1 zeigt für das Verlaufsmuster I diesen Quotienten, das Maximum und den Mittelwert der zugrundegelegten Hintergrundaktivität für die einzelnen Ereignisse.

Tab.3.4.1: Verlaufsmuster I: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität

Tier	Ereignis	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient M _{ax} /M _W
2	1	37,3	471,4	12,6
2	2	37,3	756,3	20,3
3	1	108,3	382,3	3,5
4	2	139,5	545,5	3,9
4	3	139,5	328,9	2,4
6	5	123,1	375,0	3,0
6	6	123,1	561,9	4,6
8	1	93,6	182,5	1,9
8	3	120,0	207,2	1,7
8	6	65,2	186,5	2,9
8	8	222,9	504,3	2,3
9	1	241,8	468,0	1,9
9	2	77,1	281,7	3,7

Das Zeitintervall, in dem das Signal die Schwelle überschritt, variierte und spiegelt die unterschiedliche Dauer dieser Magnetfeldveränderungen von 197 ± 158 s (Minimum: 36 s, Maximum: 8 min 6 s) wieder. Der Beginn und das Ende der magnetischen Signalveränderung wurden bei diesen Ereignissen entsprechend der beschriebenen Kriterien (siehe 2.7.2.5.) bestimmt. Bei dem Versuchstier 2 war dies beim 2. Ereignis nicht möglich, da sich dieses Ereignis im unmittelbaren Anschluss an das vorausgehende Ereignis entwickelte. Deshalb musste auch das Ende des 1.Ereignisses bei diesem Tier visuell bestimmt werden. Die einzelnen Zeitpunkte werden in der Tab.3.4.2 aufgelistet.

Tab.3.4.2: Verlaufsmuster I: Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der Magnetfeldstärke (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer (in Sekunden; X = nicht bestimmbar)

Tier	Ereignis	Beginn	Ende	Dauer
2	1	2954	3289	335
2	2	3289	X	X
3	1	3272	3566	294
4	2	2885	3333	448
4	3	3713	4199	486
6	5	5402	5518	116
6	6	5688	5818	130
8	1	710	777	67
8	3	1448	1489	41
8	6	3027	3063	36
8	8	6144	6368	224
9	1	1518	1598	80
9	2	3598	3705	107
Mittelwert ± Standardabweichung:				197 ± 158

Die zeitliche Beziehung dieser magnetischen Signale zu den elektrokortikographischen Ergebnissen wurde anhand eines elektrisch definierten Zielfensters (siehe 2.4.1.3.) beschrieben und in Tab.3.4.3 in vier Untergruppen aufgelistet. Bei 6 Depolarisationen wurde der Beginn der Zunahme der Magnetfeldstärke zeitlich vor dem elektrisch definierten Zielfenster gemessen. In 2 dieser Fälle wurden Beginn und Ende der magnetischen Veränderungen vollständig vor dem Zielfenster aufgezeichnet, und in 4 Fällen endete die Signalveränderung in diesem Zeitbereich. 2 Ereignisse wurden im jeweiligen Zielbereich detektiert, wohingegen 5 weitere Ereignisse in diesem Bereich begannen, jedoch über diese Zeitspanne hinaus andauerten. Hier zeigt sich, dass keine einheitliche Beziehung der zeitlichen Relationen der magnetischen Signale zu den elektrokortikographischen Ergebnissen nachweisbar war (Abb.3.4.3), was die Komplexität von Perinfarktdepolarisationen im simultanen ECoG und MEG aufzeigt.

Tab.3.4.3: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen des Verlaufsmusters I zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden, X= nicht bestimmbar)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Gesamter Peak vor dem Zeitintervall:							
8	3	1491	1731	1448	1489	-43	-242
8	6	3136	3376	3027	3063	-109	-313
Beginn vor dem Zielfenster, Ende im Zeitintervall:							
2	1	3064	3304	2954	3289	-110	-15
2	2	3424	3664	3289	X	-135	X
3	1	3380	3620	3272	3566	-108	-54
4	3	4166	4406	3713	4199	-453	-207
Gesamter Peak im Zeitintervall:							
6	6	5599	5839	5688	5818	89	-21
8	1	651	777	710	777	59	0
Beginn im Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall:							
4	2	2701	2886	2885	3333	184	447
6	5	5240	5480	5402	5518	162	38
8	8	6079	6319	6144	6368	65	49
9	1	1315	1555	1518	1598	203	43
9	2	3451	3691	3598	3705	147	14

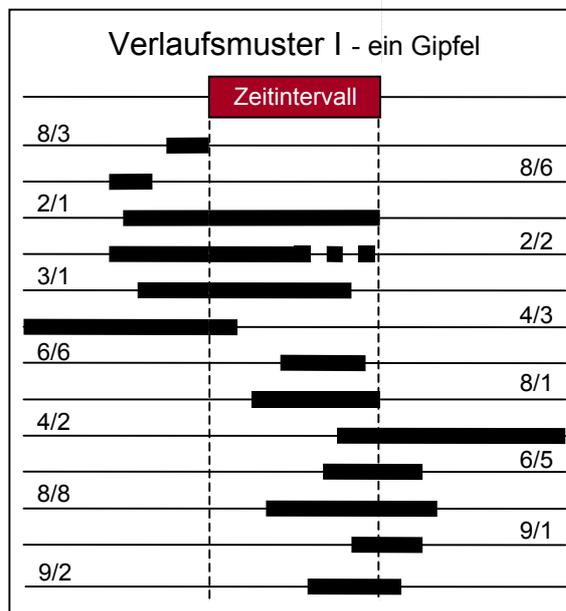


Abb.3.4.3: Zeitliche Zuordnung der magnetischen Ereignisse zum Zeitintervall, das sich über 120 s vor und nach dem Beginn der elektrischen Depolarisation an der Elektrode 7 erstreckt; Zahlenangaben am Rand: Versuchstiernummer/Ereignis

3.4.2 Verlaufsmuster II – ein asymmetrischer zweigipfelter Signalverlauf

4 Ereignisse zeigten einen relativ kleinen Peak unmittelbar vor einem großen, deutlichen Signalpeak, was als Verlaufsmuster II bezeichnet wurde. Dabei war jeweils bereits der kleinere Vorpeak signifikant gegenüber der Hintergrundaktivität. Er wurde mit kurzer Latenz von der vorherrschenden Signalveränderung gefolgt. Wegen dieser zwei deutlich unterschiedlichen, aufeinanderfolgenden Magnetfeldveränderungen wurden dementsprechende Ereignisse als asymmetrisches, zweigipfeliges Verlaufsmuster charakterisiert. Ein Beispiel wird in Abb.3.4.4 dargestellt.

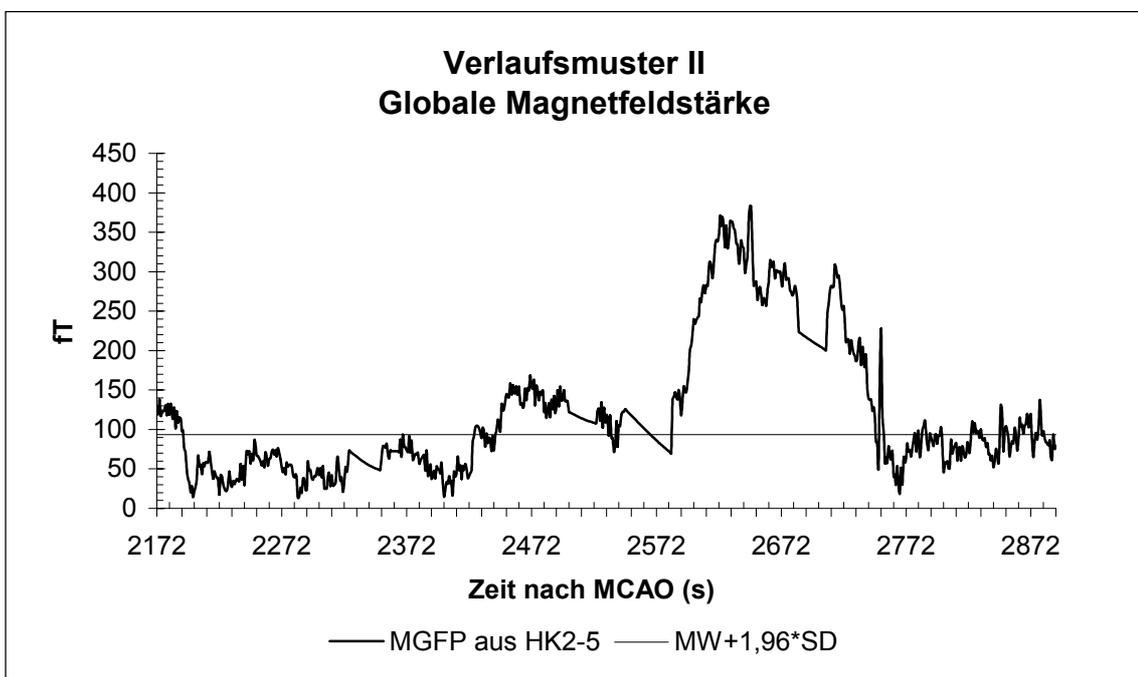


Abb.3.4.4: Darstellung des Verlaufsmusters II am Beispiel des 2. Ereignisses der Ratte 1: Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) aus HK 2-5 nach SVD von 2172-3031 s; die dünne Linie zeigt den Schwellenwert für einen signifikanten Signalanstieg ($p=0,05$), Berechnung des Schwellenwertes anhand des Mittelwertes und der Standardabweichung von 2192-2442 s

Zur weiteren Beschreibung der Signalveränderungen wurde wie bei dem Verlaufsmuster I der Quotient vom Maximum der MGFP zum Mittelwert der Hintergrundaktivität ermittelt. Dabei wurde in dieser Gruppe der Quotient für beide Gipfel ermittelt und in Tab.3.4.4 aufgelistet.

Tab.3.4.4: Verlaufsmuster II: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum der MGFP (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität für die beiden Gipfel

Tier	Ereignis	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW
1. Gipfel				
1	1	67,4	229,6	3,4
1	2	54,6	168,5	3,1
5	1	28,5	129,4	4,5
6	1	96,0	244,2	2,5
2. Gipfel				
1	1	67,4	443,6	6,6
1	2	54,6	371,6	6,8
5	1	28,5	219,2	7,7
6	1	96,0	598,7	6,2

Der erste Gipfel zeigte eine Zunahme der Magnetfeldstärke auf das 2,5 bis 3,4fache, während für den zweiten Gipfel dieser Quotient Werte sogar zwischen 6,2 bis 7,7 annahm. Das Verhältnis des Quotienten des kleineren ersten Gipfel zum nachfolgenden größeren betrug dabei $0,49 \pm 0,08$. Die Intensität des ersten Gipfels war also nahezu halb so groß als die des zweiten Gipfels.

Nach den Kriterien aus Kapitel 2.4.2.5. wurde der Beginn und das Ende der magnetischen Ereignisse bestimmt und die Dauer berechnet (siehe Tab.3.4.5). Die Dauer des ersten Gipfels betrug im Mittel $70,8 \pm 32,1$ s und des zweiten Gipfels $213,3 \pm 36,6$ s und zeigte eine deutlich geringere Variabilität als bei dem Verlaufsmuster I. Die Latenz vom Ende des ersten bis zum Beginn des zweiten Gipfel betrug $32,3 \pm 17,3$ s. Das Verhältnis der Dauer der beiden Gipfel zueinander bzw. der einzelnen Gipfel zu der Latenz war nicht einheitlich und zeigt die Variabilität der beobachteten Ereignisse auf.

Tab.3.4.5: Verlaufsmuster II: Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der Magnetfeldstärke (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der Gipfel des Ereignisses und Latenz (Zeitdauer zwischen Ende des 1. und Beginn des 2.Gipfels; jeweils in Sekunden)

Tier	Ereignis	1.Gipfel			Latenz	2.Gipfel		
		Beginn	Ende	Dauer		Beginn	Ende	Dauer
1	1	1710	1750	40	16	1766	1999	233
1	2	2444	2535	91	50	2585	2747	162
5	1	2639	2744	105	44	2788	3033	245
6	1	1840	1887	47	19	1906	2119	213
Mittelwert \pm Standardabweichung: $70,8 \pm 32,1$ $32,3 \pm 17,3$ $213,3 \pm 36,6$								

Die zeitliche Beziehung der magnetischen Veränderungen zu den elektrisch gemessenen Perinfarktdepolarisationen wurde wie bei Verlaufsmuster I bestimmt und in Tab.3.4.6 aufgelistet. Alle vier Ereignisse begannen im MEG vor dem definierten Zeitintervall, wobei zwei im entsprechenden Bereich endeten und die zwei anderen länger als die definierte Zeitspanne andauerten. Die zeitlichen Relationen der magnetischen Veränderungen zum elektrischen Depolarisationsbeginn an der Elektrode 7 wurde in Abb.3.4.5 graphisch verdeutlicht, wobei die einzelnen Gipfel der Magnetfeldveränderungen in ihrer zeitlichen Beziehung zum Zeitintervall erkennbar sind.

Tab.3.4.6: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen des Verlaufsmusters II zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 \pm 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende im Zeitintervall:							
1	2	2542	2782	2444	2747	-98	-35
6	1	1940	2180	1840	2119	-100	-61
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall:							
1	1	1716	1956	1710	1999	-6	43
5	1	2704	2944	2639	3033	-65	89

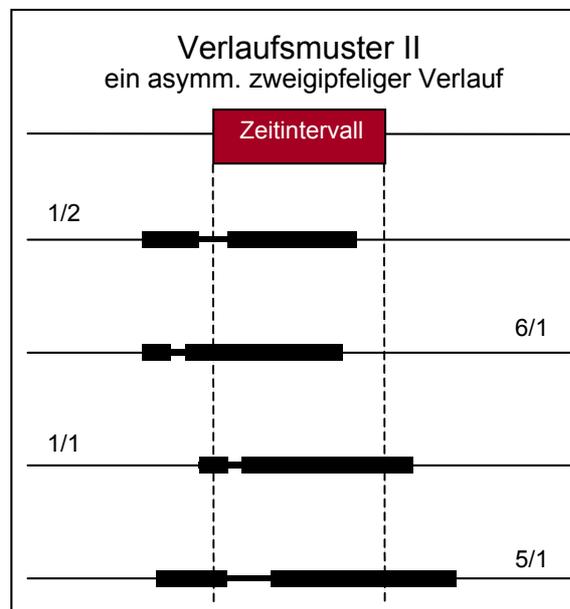


Abb.3.4.5: Zeitliche Zuordnung der magnetischen Ereignisse zum Zeitintervall, das sich über 120 s vor und nach dem Beginn der elektrischen Depolarisation an der Elektrode 7 erstreckt; Zahlenangaben am Rand: Versuchstiernummer/Ereignis

3.4.3. Verlaufsmuster III - ein symmetrischer zweigipfelter Signalverlauf

In 4 Fällen zeigte die globale Magnetfeldstärke (MGFP) folgende signifikante Signalveränderungen, die zum Verlaufsmuster III zusammengefasst wurden: Diese Ereignisse zeigten alle zwei Gipfel, die sowohl in der Stärke der Signalveränderung als auch in der Dauer ähnlich waren (Differenz <50%) und als symmetrischer, zweigipfelter Signalverlauf bezeichnet wurden. In Abb.3.4.6 wird ein solches magnetisches Ereignis als Beispiel dargestellt.

Die Maxima der beiden Gipfel wurden unter visueller Kontrolle bestimmt und für eine Quantifizierung wie bei Muster I und II der Quotient aus der maximalen MGFP und dem Mittelwert der Hintergrundaktivität berechnet. Dieser Quotient lag für den ersten Gipfel zwischen 2,6 und 4,0 und für den zweiten Gipfel zwischen 2,1 und 3,5. Das Verhältnis dieser Quotienten der beiden Gipfel eines Ereignisses waren dabei entsprechend der Einteilung relativ einheitlich mit $1,2 \pm 0,3$ und spiegelten die Ähnlichkeit der beiden Gipfel im Kurvenverlauf wieder. Die einzelnen Werte werden in Tab.3.4.7 aufgelistet.

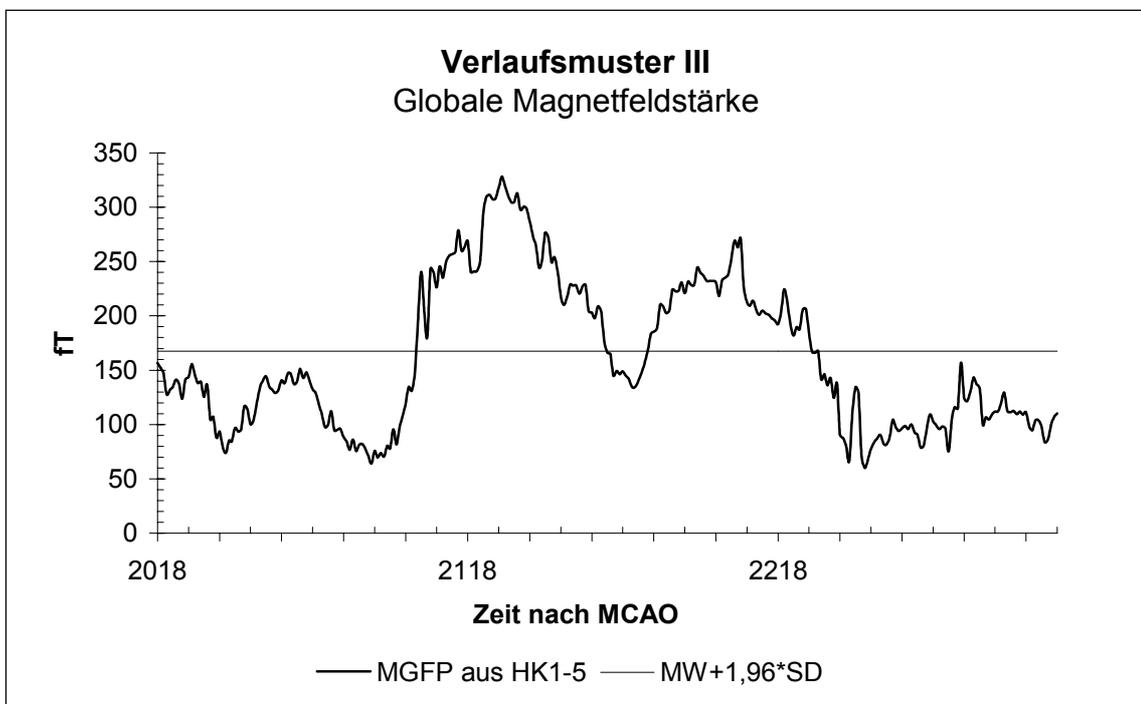


Abb.3.4.6: Darstellung des Verlaufsmusters III am Beispiel des 1. Ereignisses der Ratte 7: Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) aus HK 1-5 nach SVD von 1938-2655 s; die dünne Linie zeigt den Schwellenwert, dessen Überschreiten als signifikante Signalveränderung definiert wurde; Berechnung des Schwellenwertes anhand des Mittelwerts und der Standardabweichung von 2018-2088 s.

Tab.3.4.7: Verlaufsmuster III: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität

Tier	Ereignis	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW
1. Gipfel				
60	3	59,71	156,23	2,62
60	4	59,71	240,14	4,02
62	1	116,39	328,27	2,82
65	5	123,34	378,23	3,07
2. Gipfel				
60	3	59,71	210,53	3,53
60	4	59,71	190,81	3,20
62	1	116,39	244,6	2,10
65	5	123,34	272,29	2,21

Beginn und Ende der Signalveränderungen wurden nach den beschriebenen Kriterien (siehe 2.4.2.5.) bestimmt und sowohl mit der Dauer als auch der Latenz zwischen dem Ende des ersten und Beginn des zweiten Gipfels in Tab.3.4.8 dargestellt. Die erste signifikante Zunahme der Magnetfeldstärke dauerte im Mittel $106,3 \pm 61,1$ s und die zweite $111,3 \pm 56,6$ s. Die Dauer der Gipfel variierte deutlich zwischen den 4 Ereignissen. Innerhalb eines Ereignisses zeigten sich jedoch in 3 Fällen eine ähnliche Zeitdauer des ersten und zweiten Gipfels, so dass das Verhältnis der Dauer der beiden signifikanten Magnetfeldveränderungen $1,1 \pm 0,2$ betrug. In einem Fall zeigte dieses Verhältnis einen deutlich geringen Wert von 0,6. Die Zeitdauer zwischen den beiden Gipfeln, hier Latenz genannt, betrug bei diesen Ereignissen $16,8 \pm 4,2$ s. Sie war kürzer und die Streuung geringer als bei dem Verlaufsmuster II.

Tab.3.4.8: Verlaufsmuster III: Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der Magnetfeldstärke (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der Gipfel und Latenz (Zeitdauer zwischen Ende des 1. und Beginn des 2.Gipfels; jeweils in Sekunden)

Tier	Ereignis	1.Gipfel			Latenz	2.Gipfel		
		Beginn	Ende	Dauer		Beginn	Ende	Dauer
6	3	3153	3250	97	14	3264	3432	168
6	4	3552	3747	195	15	3762	3912	150
7	1	2102	2162	60	15	2177	2228	51
8	5	2544	2617	73	23	2640	2716	76
Mittelwert \pm Standardabweichung: $106,3 \pm 61,1$ $16,8 \pm 4,2$ $111,3 \pm 56,6$								

Die zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen zu den Messergebnissen des ECoG wurde bestimmt und in Tabelle 3.4.9 in drei Gruppen unterteilt dargestellt. Dabei zeigte sich, dass bei zwei Ereignissen die Magnetfeldveränderungen bereits kurz vor dem definierten Zeitintervall begannen (17 bzw. 27 s) und sich über diese Zeit erstreckten. Die zwei anderen Signalveränderungen begannen dagegen im Zeitintervall und endeten in einem Fall im entsprechenden Zeitbereich und im anderen Fall ebenfalls nach dieser Zeitspanne. Die Ereignisse dauerten dabei 22, 50 bzw. 93 s länger als das Zielfenster mit 240 s Dauer an (zeitliche Relationen: siehe Abb.3.4.7).

Tab.3.4.9: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen des Verlaufsmusters III zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall:							
6	3	3170	3410	3153	3432	-17	22
6	4	3579	3819	3552	3912	-27	93
Beginn im Zeitintervall, Ende im Zeitintervall:							
8	5	2510	2750	2544	2716	34	-34
Beginn im Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall:							
7	1	1938	2178	2102	2228	164	50

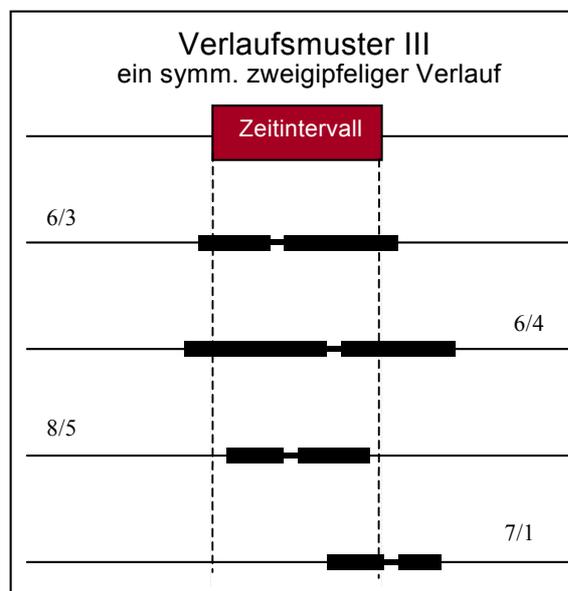


Abb.3.4.7: Zeitliche Zuordnung der magnetischen Ereignisse zum Zeitintervall (Beginn der elektrischen Depolarisation an der Elektrode 7 ± 120 s); Zahlenangaben am Rand: Versuchstiernummer/Ereignis

3.4.4. Verlaufsmuster IV - ein dreigipfeliger Signalverlauf

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Ereignissen wurden in zwei Fällen im MEG Veränderungen detektiert, die aus drei aufeinanderfolgenden Signalgipfeln bestanden. Dabei bildeten sich in einem Fall die magnetischen Veränderungen nach jedem Gipfel wieder bis auf Werte der Hintergrundaktivität zurück. Der zweite Gipfel dieses Ereignisses zeigte eine Zweiteilung in einen deutlichen Peak und einen nachfolgenden kurzzeitigen Signalanstieg. Dieser kurze, geringere Gipfel war dem vorhergehenden Peak überlagert und konnte nicht sicher von einem Artefakt abgegrenzt werden. Deshalb wurde dieser kurzzeitige Signalanstieg nicht weiter berücksichtigt und dieses Ereignis trotzdem als dreigipfeliges Ereignis eingestuft. Im anderen Fall zeigten sich drei deutliche Gipfel, wobei die Signalintensität jedoch erst nach dem dritten Gipfel wieder unter den Schwellenwert absank. Dieses Ereignis wird in Abb.3.4.8 als Beispiel für einen dreigipfeligen Signalverlauf dargestellt.

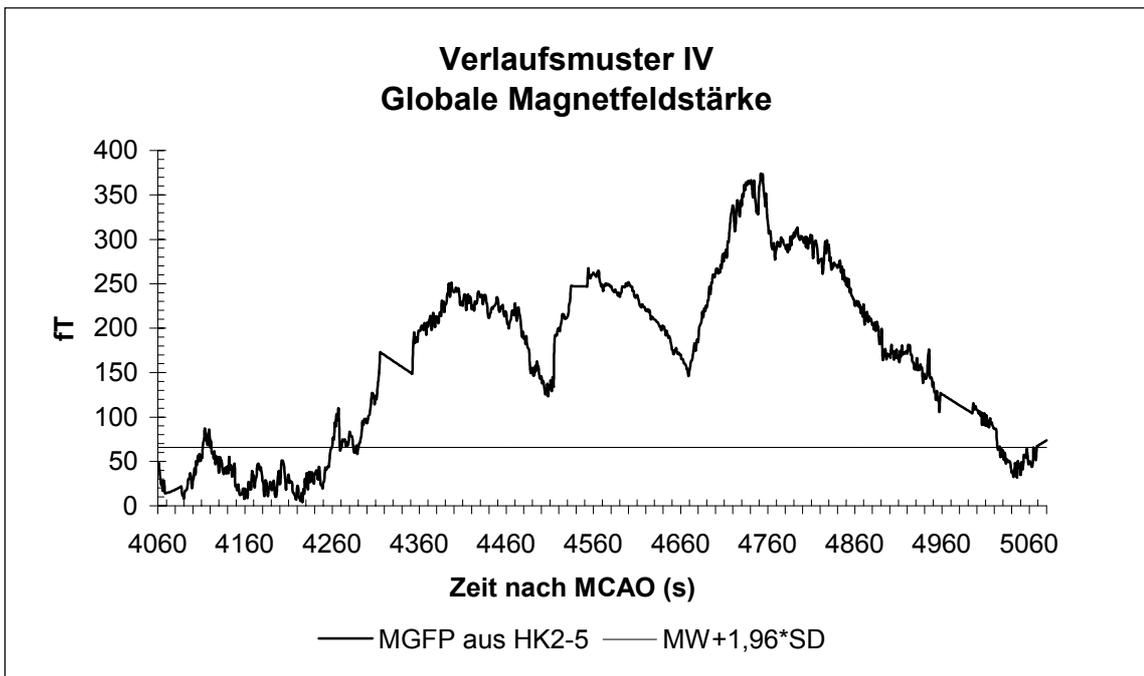


Abb.3.4.8: Darstellung des Verlaufsmusters IV am Beispiel des 2. Ereignisses der Ratte 3: Mittlere globale Magnetfeldstärke (MGFP) aus HK 2-5 nach SVD von 4040-5211 s; die dünne Linie zeigt den Schwellenwert, dessen Überschreiten als signifikante Signalveränderung definiert wurde; Berechnung des Schwellenwertes anhand des Mittelwertes und der Standardabweichung von 4060-4260 s.

Entsprechend der anderen zeitlichen Muster wurde auch in diesen zwei Fällen die Intensität der Signalveränderung durch das Verhältnis der maximalen MGFP zur Hintergrundaktivität für jeden einzelnen Gipfel bestimmt. Dieser Quotient zeigte ähnliche Werte zwischen 3,6 und 4,1 für die drei Gipfel des einen Ereignisses, wohingegen die Quotienten für das Ereignis von Abb.3.4.7 von den ersten zwei Gipfeln zum letzten von 7,8 bzw. 8,3 auf 11,6 deutlich anstiegen (Tab.3.4.10).

Tab.3.4.10: Verlaufsmuster IV: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität für die einzelnen Gipfel

Tier	Ereignis	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW
1. Gipfel				
1	4	70,4	252,3	3,6
3	2	32,2	251,2	7,8
2. Gipfel				
1	4	70,4	288,7	4,1
3	2	32,2	267,2	8,3
3. Gipfel				
1	4	70,4	260,1	3,7
3	2	32,2	374,2	11,6

Da sich bei einem Ereignis die Gipfel unmittelbar nacheinander ausbildeten und sich kein Rückgang der Signalintensität auf Werte der Hintergrundaktivität beobachten ließ, wurden Beginn und Ende des mittleren Gipfels visuell bestimmt. Für die anderen Signalveränderungen wurden die festgelegten Kriterien verwendet und die entsprechenden Zeitwerte ermittelt sowie die Dauer berechnet (Tab.3.4.11). Die Dauer der einzelnen Gipfel von 61 bis zu 354 s variierte dabei sowohl innerhalb eines Ereignisses als auch zwischen den zwei Ereignissen deutlich, ohne dass Regelmäßigkeiten erkennbar waren. Die Gesamtdauer dieser zwei Ereignisse war dabei mit 360 s oder 732 s sehr lange, jedoch zeigten auch Ereignisse des Verlaufsmusters I eine Dauer bis zu 486 s. Die Latenz von 35 bzw. 21 s als Zeitspanne zwischen den Gipfeln war mit den ermittelten Latenzen der Formvarianten II oder III von 14 bis 50 s vergleichbar.

Tab.3.4.11: Verlaufsmuster IV: Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der Magnetfeldstärke (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der Gipfel und Latenz (Zeitdauer zwischen Ende des vorherigen und Beginn des nächsten Gipfels; jeweils in Sekunden)

Tier/ Ereignis	1.Gipfel			Latenz	2.Gipfel			Latenz	3.Gipfel		
	Beginn	Ende	Dauer		Beginn	Ende	Dauer		Beginn	Ende	Dauer
1 / 4	692	790	98	35	825	970	145	21	991	1052	61
3 / 2	1231	1448	217	0	1448	1609	161	0	1609	1963	354

Die magnetischen Signalveränderungen wurden mit dem zeitlichen Verlauf der elektrokortikographischen Messergebnisse verglichen und die Abweichungen vom entsprechenden Zeitintervall zur Detektion magnetischer Veränderungen in Tab.3.4.12 und Abb.3.4.9 dargestellt. Beide Ereignisse zeigten magnetische Signalveränderungen bereits vor dem Zielbereich, wobei diese in einem Fall in der definierten Zeitspanne endeten und im anderen Fall länger andauerten. Bei dem Versuchstier 1 wurde der erste Gipfel vollständig vor dem Zielfenster aufgezeichnet, während der zweite Gipfel zwar ebenfalls kurz zuvor begann, jedoch sich hauptsächlich, wie auch der dritte Gipfel, im Zielbereich befand. Bei dem anderen Ereignis bei Versuchstier 3 hingegen war der Hauptteil des ersten und zweiten Gipfels im Zielfenster, wohingegen der dritte Gipfel nach diesem Bereich auftrat und durch die relativ langsame Signalarückbildung erst 449 s nach dem Zeitfenster Ausgangswerte erreichte.

Tab.3.4.12: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen des Verlaufsmusters IV zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende im Zeitintervall:							
1	4	851	1091	692	1052	-159	-39
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall:							
3	2	1274	1514	1231	1963	-43	449

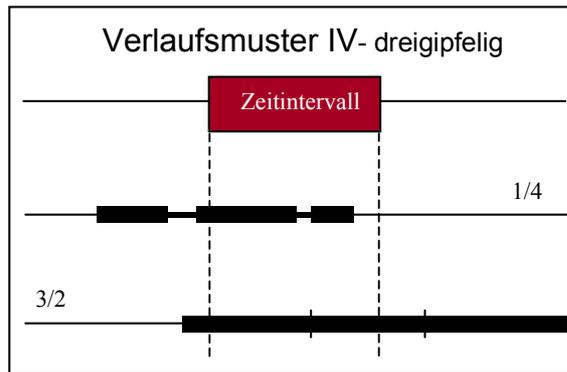


Abb.3.4.9: Zeitliche Zuordnung der magnetischen Ereignisse zum Zeitintervall (Beginn der elektrischen Depolarisation an der Elektrode 7 ± 120 s); Zahlenangaben am Rand: Versuchstiernummer/Ereignis

3.4.5. Nicht klassifizierbare Signalveränderungen

Bei 3 Periinfarktdepolarisationen im ECoG wurden magnetische Signalveränderungen im MEG aufgezeichnet, die jedoch keiner der erwähnten Verlaufsmuster eindeutig zugeordnet werden konnten. Sowohl Artefakte als auch Schwankungen der Hintergrundaktivität oder Messunterbrechungen führten dabei zu Schwierigkeiten bei der Bestimmung der charakteristischen Parameter. Zudem war in zwei Fällen die Zuordnung von optisch deutlichen Veränderungen zu einem elektrischen Ereignis deshalb nicht sicher möglich, weil sich große Zeitdifferenzen zum elektrisch definierten Zeitintervall ergaben. Im Folgenden werden die drei Ereignisse kurz einzeln beschrieben. Dies geschieht auch deshalb, weil damit die vorher beschriebenen Muster deutlich gegen solche messtechnisch nicht optimalen Signale abgegrenzt werden können.

Ein Ereignis zeigte einen deutlichen, lang anhaltenden Signalpeak, dem zahlreiche kürzere Signalveränderungen aufgelagert waren, die nicht von Artefakten abgrenzbar waren und eine Bestimmung des Maximums der Signalintensität unmöglich machten. Besonders auffallend waren in diesem Bereich sehr kurze, nur wenige Sekunden andauernde Veränderungen des Magnetfeldes hoher Signalintensität. Diese Veränderungen traten im Mittel mit einem Abstand von 45 ± 24 s auf, dauerten 9 ± 4 s an und zeigten Maxima, die auf das 1,3 bis 2,2fache der Amplitude von gleichzeitig auftretenden niederfrequenten Magnetfeldveränderungen (Mittelwert aus 5 s) anstiegen. Der

lang andauernde Signalanstieg begann 236 s vor dem Zeitintervall zur Detektion magnetischer Veränderungen und erstreckte sich mit einer Dauer von 368 s bis zur Mitte dieses Zeitbereiches. Anschließend konnte ein kleinerer Peak wahrgenommen werden, der jedoch keine Signifikanz zeigte. Unmittelbar nach dieser geringen Signalveränderung zeigte sich ein weiterer signifikanter Peak, der 111 s nach dem zugehörigen Zeitintervall begann, sich über 167 s erstreckte und dessen Maximum auf das 3,5fache der Hintergrundaktivität anstieg. Dementsprechend ähnelte der Kurvenverlauf einem dreigipfeligen Ereignis. Die wichtigsten Parameter werden in Tab.3.4.13 und Tab.3.4.14 gezeigt. Sie werden aber hier nur erwähnt und in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt, da sie methodenkritisch mit einer gewissen Reserve zu behandeln sind.

Tab.3.4.13: Nicht klassifizierbares Ereignis: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum der MGFP (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität für die zwei signifikanten Gipfel (X= nicht bestimmbar); Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der MGFP (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der Signalveränderungen (in Sekunden)

Tier/ Ereignis	Gipfel	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW	Beginn (s)	Ende (s)	Dauer (s)
4 / 1	1	155,06	X	X	1287	1655	368
	2	155,06	548,08	3,5	1874	2041	167

Tab.3.4.14: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall							
4	1	1523	1750	1287	2041	-236	291

Bei einem weiteren Ereignis befand sich das entsprechende Zeitintervall unmittelbar am Anfang des ausgewählten Bereichs für die Hauptkomponentenanalyse. Dieser Bereich war aufgrund von Artefakten nicht für die Analyse erweiterbar, so dass keine Aussagen über den Bereich vor diesem Zielfenster gemacht werden konnten. Im Zielfenster war ein von einem deutlich erhöhten Niveau ausgehendes Signal mit abnehmender Intensität erfassbar, das am Ende des Zielfensters Werte erreichte, die der nachfolgenden Hinter-

grundaktivität entsprachen. Mit deutlicher Latenz wurde ein ausgeprägter Signalpeak gemessen, wobei eine Einteilung sowohl als zweigipfeliges Ereignis als auch als eingipfeliges nicht zweifelsfrei möglich war. Dieser Signalanstieg begann 180 s nach dem Ende des definierten Zeitintervalls und dauerte 90 s an. Dabei zeigte sich eine starke Intensität, wie der Quotient aus Maximum der MGFP zur Hintergrundaktivität von 5,0 widerspiegelte. Diese Parameter werden in Tab.3.4.15 aufgelistet. Die zeitliche Zuordnung des ausgeprägten Peaks zum Zeitintervall ist in Tab.3.4.16 wiedergegeben, doch müssen mögliche Veränderungen in diesem Zielfenster, auf die hier nicht näher eingegangen wird, auch berücksichtigt werden.

Tab.3.4.15: : Nicht klassifizierbares Ereignis: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum der MGFP (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität; Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der MGFP (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der magnetischen Signalveränderungen (in Sekunden)

Tier/ Ereignis	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW	Beginn (s)	Ende (s)	Dauer (s)
6 / 2	78,17	387,62	5,0	2766	2856	90

Tab3.4.16: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn und Ende nach dem Zeitintervall							
6	2	2347	2586	2766	2856	419	270

Das dritte schwer klassifizierbare Ereignis zeigte vier Gipfel, die von der Intensität, der Dauer und der Latenz zwischen den einzelnen Gipfeln sehr unterschiedlich waren. Zudem begannen die Signalveränderungen schon frühzeitig vor dem Zeitintervall, so dass keine zweifelsfreie Zuordnung zu dem elektrischen Ereignis vorgenommen werden konnte und eine Eingruppierung zu einem der Verlaufsmuster unmöglich war. Dabei zeigte der erste Peak, der deutlich vor der definierten Zeitspanne auftrat, die größte Intensität mit einem Quotienten von 6,4. Die nachfolgenden Gipfel zeigten dagegen Quotienten aus Maximum der MGFP zu Mittelwert der Hintergrundaktivität von 1,9 bis

3,0. Darauf folgte zu Beginn des Zeitintervalls ein zweiter Peak, der von einem kurzen Signalausschlag gefolgt wurde, aber durch den zeitlichen Verlauf trotzdem als eine kleine doppelgipfelige Signalveränderung aufgefasst wurde. Der dritte Peak, der sich von der Mitte des Zielfensters bis kurz nach dessen Ende erstreckte, zeigte wieder einen deutlichen Signalanstieg über eine längere Zeitspanne. 90 s nach dem Zielfenster konnte ein letzter, sehr kurzer Anstieg der globalen Magnetfeldstärke gemessen werden, dessen Zuordnung zu den vorherigen Signalveränderungen schwierig war. Von diesem zeitlich versetzten Peak abgesehen, zeigten die restlichen Veränderungen visuell Ähnlichkeiten mit einem dreigipfeligen zeitlichen Muster, wie es bei anderen Ereignissen auftrat. Die entsprechenden Parameter werden in der Tab.3.4.17 aufgelistet sowie die zeitliche Zuordnung der magnetischen Veränderungen zum Zeitintervall anhand der elektrischen Depolarisation in Tab.3.4.18 gezeigt.

Tab.3.4.17: Nicht klassifizierbares Ereignis: Mittelwert der Hintergrundaktivität (in fT); Maximum der MGFP (in fT) und Verhältnis des Maximums zum Mittelwert der Hintergrundaktivität für die jeweiligen Gipfel; Beginn und Ende der signifikanten Veränderung der MGFP (in Sekunden nach MCAO) mit Dauer der Signalveränderungen (in Sekunden)

Tier/ Ereignis	Gipfel	Mittelwert (fT)	Maximum (fT)	Quotient Max/MW	Beginn (s)	Ende (s)	Dauer (s)
8 / 4	1	52,22	334,23	6,4	1773	1907	134
	2	52,22	114,66	2,2	1943	2007	64
		52,22	98,24	1,9	2021	2043	22
	3	52,22	155,86	3,0	2073	2242	169
	4	52,22	100,05	1,9	2312	2328	16

Tab3.4.18: Zeitliche Beziehung der magnetischen Signalveränderungen zum definierten Zeitintervall (Depolarisationsbeginn an Elektrode 7 ± 120 s); die zeitliche Differenz gibt den Abstand des Beginns bzw. Endes der Magnetfeldveränderungen zum Beginn bzw. Ende des Zeitintervalls an (Beginn und Ende jeweils nach MCAO; alle Zeitangaben in Sekunden)

Tier	Ereignis	Zeitintervall		Magnetisches Ereignis		Zeitliche Differenz zwischen	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende	Beginn	Ende
Beginn vor dem Zeitintervall, Ende nach dem Zeitintervall							
8	4	1981	2221	1773	2328	-208	107

3.5 Vergleich der magnetoencephalo- und elektrokortikographischen Signale von Periinfarktdepolarisationen

Durch die simultane Anwendung beider Messverfahren wird ein unmittelbarer Vergleich der Messergebnisse möglich. Durch das Magnet- und elektrische Feld ist hier eine umfassendere Kennzeichnung deshalb möglich, weil das elektrische Feld prinzipiell alle Raumkomponenten, jedoch die senkrechte Komponente weit zuverlässiger erfasst als das Magnetfeld. Dieses wiederum erfasst vorrangig Komponenten, die tangential zur Oberfläche orientiert sind. Diese Arbeit konzentriert sich in diesem Kapitel auf folgende zwei Aspekte: 1.) Da das MEG aus dem gesamten Bereich einer Hemisphäre Depolarisationen erfasst und das ECoG die Zeitpunkte der Periinfarktdepolarisationen an den Elektroden bestimmbar macht, kann durch den Vergleich des zeitlichen Verlaufs beider Signale der Gesamtprozess einer Depolarisation einschließlich seiner Ausbreitung beschrieben werden. 2.) Durch Vergleich der Ausbreitungsmuster der Depolarisationen im ECoG mit den unterschiedlichen Zeitverläufen der Magnetfeldveränderungen kann analysiert werden, ob verschiedene MEG-Zeitverläufe durch unterschiedlich gerichtete kortikale Ionenströme während bestimmter Ausbreitungsmuster der Depolarisationen im ECoG bedingt sein könnten.

3.5.1 Zeitliche Zuordnung der MEG- und ECoG-Veränderungen

Obwohl die zeitliche Zuordnung der MEG-Signalveränderungen zum elektrisch definierten Zeitintervall bei der Charakterisierung der Verlaufsmuster jeweils einzeln erfolgt ist, wird dies hier nochmals zusammenfassend aufgezeigt. Von 26 Magnetfeldveränderungen zeigten sich bei 3 Ereignissen die MEG-Veränderungen ausschließlich im definierten Zeitintervall (Beginn im ECoG an Elektrode 7 ± 120 s) und bei 7 weiteren Ereignissen wurde ein MEG-Signal, beginnend vor diesem Zeitintervall und erst danach endend, gemessen. 7 MEG-Veränderungen begannen vor und endeten während des entsprechenden Zeitbereiches, wohingegen 6 MEG-Signale während dieses Intervalls begannen und länger andauerten. 2 Ereignisse zeigten Veränderungen der MGFP ausschließlich vor dem Zeitintervall. Signalveränderungen, die ausschließlich nach dem Zeitintervall auftraten, wurden nicht beobachtet (Abb.3.5.1).

Insgesamt wurde bei 16 von 26 Ereignissen der Hauptanteil der zeitlichen Dauer der Signalveränderung (> 50 % der Zeitdauer der Signalveränderung) im berechneten Zeitintervall erfasst. Bei den restlichen Ereignissen wurde dieser Hauptanteil bei 4 weiteren Ereignissen vor dem Zielfenster und bei 5 nach dem Zielfenster beobachtet (bei einem Ereignis nicht bestimmbar). Eine feste zeitliche Beziehung der Magnetfeldveränderungen zu den Periinfarktdepolarisationen im ECoG konnte nicht gezeigt werden.

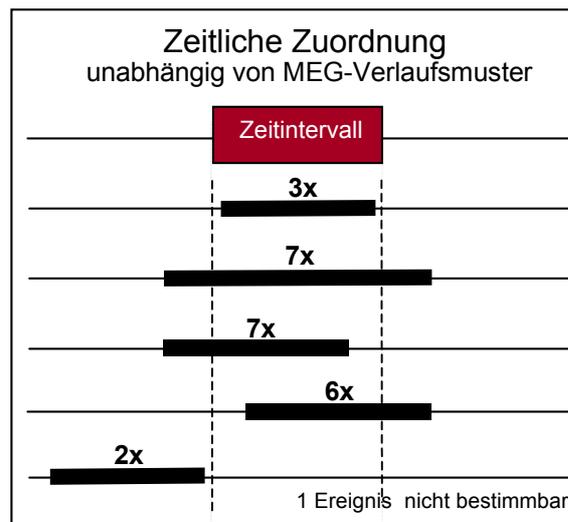


Abb.3.5.1: Zeitliche Zuordnung der MEG-Signalveränderungen zum definierten Zeitintervall (Anzahl der Ereignisse über den Balken)

3.5.2 Vergleich der MEG-Verlaufsmuster mit der topographischen Ausbreitung im ECoG

Bei eingipfeligen MEG-Veränderungen traten alle Ausbreitungsrichtungen im Elektrodenarray auf. Bei 9 Ereignissen zeigte sich eine elektrische Ausbreitung von rostral nach caudal und bei 4 Ereignissen von caudal nach rostral. In 8 von diesen 13 Ereignissen wurden eine medio-laterale Ausbreitung aufgezeichnet und bei 5 Depolarisationen eine von lateral nach medial (Abb.3.5.2a).

Bei zweigipfeligen Ereignissen im MEG propagierte die Depolarisation in 7 Fällen von rostral nach caudal und nur in 1 Fall in die entgegengesetzte Richtung im ECoG. Zwischen der medio-lateralen bei 5 und der latero-medialen bei 3 Ereignissen bestanden nur geringe Unterschiede (Abb.3.5.2b).

Die zwei dreigipfeligen Ereignisse breiteten sich einmal von rostro-lateral nach caudo-medial fort und im anderen Fall in die entgegengesetzte Richtung von caudo-medial nach rostro-lateral (Abb.3.5.2c). Die nicht klassifizierbaren MEG-Veränderungen zeigten eine Ausbreitung von rostro-medial nach caudo-lateral oder umgekehrt. Von den 5 Ereignissen, bei denen keine signifikanten MEG-Veränderungen gemessen werden konnten, breiteten sich 4 von rostral nach caudal und eines von caudal nach rostral im ECoG aus und 3 von medial nach lateral sowie 2 von lateral nach medial. Jedoch zeigten diese Ergebnisse für ein einzelnes Verlaufsmuster in keinem Fall signifikante Unterschiede.

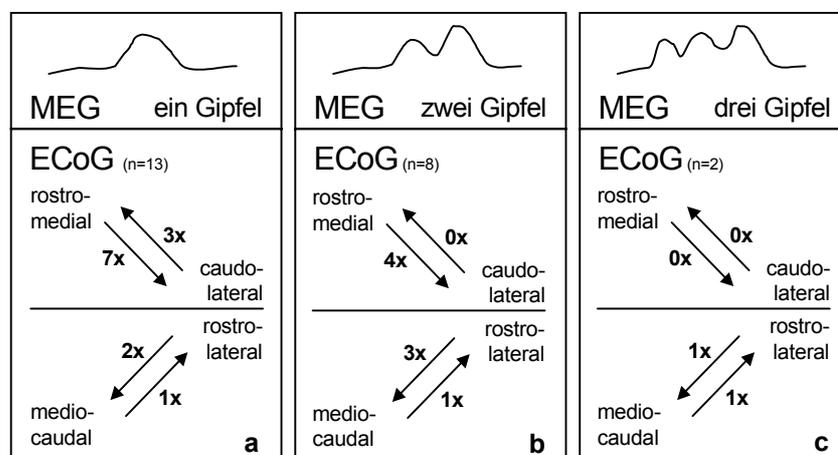


Abb.3.5.2: Schematische Darstellung der Ausbreitungsrichtung der Depolarisationen im ECoG für die verschiedenen zeitlichen MEG-Verlaufsmuster; **a**: MEG-Verlaufsmuster I, **b**: MEG-Verlaufsmuster II und III; **c**: MEG-Verlaufsmuster IV

Insgesamt zeigt sich, dass den MEG-Verlaufsmustern verschiedene Ausbreitungsrichtungen der Depolarisationen im ECoG zugeordnet werden konnten. Eine Ausbreitung von caudo-lateral nach rostro-medial wurde nur bei eingipfeligen MEG-Signalen oder nicht klassifizierbaren Veränderungen beobachtet. Alle anderen Ausbreitungsrichtungen konnten bei mehreren MEG-Verlaufsmustern beobachtet werden. Dieses Verteilungsbild kann jedoch noch wesentlich durch den Fehler der kleinen Zahl mit bedingt sein. Trotzdem zeigt dies, dass keine eindeutige Beziehung zwischen Ausbreitungsmuster im ECoG und zeitlichen Verlaufsmuster im MEG besteht.

4. Diskussion

In dieser Arbeit wurden Periinfarktdepolarisationen nach fokaler Ischämie mittels Elektrokortikographie und Magnetoencephalographie simultan bei der Ratte erfasst und ihre zeitliche Dynamik sowie topographische Ausbreitung beschrieben. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass

- 1.) eine große zeitliche Dynamik des Auftretens und größtenteils der Ausbreitung von Periinfarktdepolarisationen besteht,
- 2.) sowohl Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen (SD-PID) als auch sich nicht ausbreitende Periinfarktdepolarisationen auftreten,
- 3.) Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen von verschiedenen Orten der ischämischen Hemisphäre ihren Ausgang nehmen,
- 4.) eine Bevorzugung des rostro-medialen Areals der betroffenen Hemisphäre als Entstehungsort dieser Periinfarktdepolarisationen wahrscheinlich ist,
- 5.) das Ausmaß der Depolarisationen lateral nahe des wahrscheinlichen Infarktkernes am stärksten ausgeprägt ist,
- 6.) die Magnetfeldveränderungen nur bei einem Teil der Ereignisse durch eine einmalige Zunahme und Abnahme der Magnetfeldstärke charakterisiert sind und unterschiedliche zeitliche Verlaufsmuster teilweise mit mehreren Signalpeaks messbar sind,
- 7.) die Magnetfeldveränderungen in keiner festen zeitlichen Beziehung zum Auftreten der Periinfarktdepolarisationen im ECoG stehen und
- 8.) keine eindeutige Beziehung zwischen den Ausbreitungsmustern im ECoG und den zeitlichen Verlaufsmustern der Magnetfeldveränderungen besteht.

Somit scheinen beide Signale zumindest häufig unterschiedliche Anteile der zugrundeliegenden Ereignisse widerzuspiegeln. Damit ist nur mit der simultanen Anwendung von ECoG und MEG eine umfassende Charakterisierung von Periinfarktdepolarisationen möglich. Dabei zeigt diese Arbeit, dass die Entstehung und Ausbreitung dieser Potentialverschiebungen mit ihren Magnetfeldveränderungen komplexer sind, als bisher vermutet wurde.

Methodenkritische Diskussion

Bei der Erforschung der zerebralen Ischämie sind tierexperimentelle Modelle mit Ratten sehr geeignet und mittlerweile weit verbreitet. Dazu tragen die starke Ähnlichkeit der zerebrovaskulären Anatomie und Physiologie mit höheren Säugern (einschließlich des Menschen) und die Kontroll- und Analysemöglichkeiten von Experimenten im Tiermodell entscheidend bei (Ginsberg and Busto, 1989). Die Okklusion der A. cerebri media gewann dabei in den letzten Jahrzehnten aufgrund der klinischen Relevanz beim Menschen an Bedeutung. Mit Einführung des Fadenmodells durch Longa et al. wurde die Okklusion durch das intraluminalen Verschieben eines Fadens in der A. carotis interna deutlich vereinfacht und eine früher notwendige Kraniotomie vermieden (Longa et al., 1989). Obwohl sowohl Alter und Gewicht der Versuchstiere als auch der Durchmesser und die Verschiebtiefe des Fadens für dieses hier verwendete Modell konstant gehalten wurden, kann eine unterschiedliche Ausprägung der Ischämie nicht sicher ausgeschlossen werden, da die individuelle Kollateralversorgung der Versuchstiere die Infarktgröße auch beeinflusst.

Periinfarktdepolarisationen wurden schon vor Jahren beobachtet, aber ihre genauen auslösenden Mechanismen sind bis heute unbekannt (Hossmann, 1996; Somjen, 2001). Um diese zu erfassen, ist die detaillierte Beschreibung der Entstehungszeitpunkte und räumlichen Ausbreitung dieser Veränderungen notwendig. Auch ist die Suche nach charakteristischen Mustern sinnvoll, um der klinischen Situation näher zu kommen. Die Untersuchungen wurden deshalb an dem komplexen in-vivo-Tiermodell durchgeführt, um diese Ereignisse möglichst umfassend zu beschreiben.

Für die Charakterisierung der ischämiebedingten Periinfarktdepolarisationen im ECoG und MEG in dieser Arbeit scheint das Ausmaß der Ischämie eine untergeordnete Rolle zu spielen, da die einzelnen Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen ähnlich den Spreading Depressions einem Alles-oder-Nichts-Gesetz folgen sollen (Somjen, 2001). Dabei kommt es durch eine Vielzahl von Stimuli, einschließlich der zerebralen Ischämie, zur Depolarisation und Entwicklung einer sich ausbreitenden und selbst erhaltenden Potentialverschiebung unabhängig vom ursprünglichen Trigger. Jedoch ist die Zahl der ablaufenden Depolarisationen wahrscheinlich wesentlich für ihre Schädigungseffekte (Mies et al., 1993; Busch et al., 1996), weshalb sie hier ebenfalls erfasst wird.

In Vorversuchen konnten wir bestätigen, dass nach Verschieben des Fadens bis zu einer messbaren Blutflussreduktion von 50-70% über dem Medialstromgebiet sich ein reproduzierbarer Infarkt im lateralen Striatum und dorsolateralen Kortex in der 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid(TTC)-Färbung demarkierte, die eine einfache und schnelle histopathologische Identifikation infarzierter Areale erlaubt (Bederson et al., 1986). Eine histologische Infarktlokalisierung bei den einzelnen Versuchstieren erfolgte nicht, weil im Rahmen des Forschungsprojektes MRT-Untersuchungen des Rattengehirns zur Quellenlokalisierung angeschlossen wurden, die nicht Gegenstand dieser Arbeit waren. Aufgrund der technischen Voraussetzungen konnten diese MRT-Untersuchungen nur nach mehreren Stunden post mortem durchgeführt werden und waren danach wegen beginnender Autolyseprozesse trotz Kühlung der Versuchstiere für die morphologische Infarktbestimmung ungeeignet. Auch eine Perfusionsfixation des Gehirns hätte durch den extrazellulären Flüssigkeitsersatz und damit einhergehende, selbst minimale Schrumpfungprozesse bedeutende Verschiebungen verursacht, die besonders bei der sehr hohen topographischen Auflösung des ECoG keine eindeutige räumliche Zuordnung in dem relativ kleinen Gehirn erlaubt hätten. In weiteren Untersuchungen ist aber vorgesehen, die exakte Infarktausdehnung mit den elektrophysiologischen Ergebnissen zu korrelieren.

Regelmäßige Blutgasanalysen und Applikationen der Erhaltungsdosen für die Anästhesie führten zu kurzzeitigen Messunterbrechungen. Diese Anästhesieform ermöglichte jedoch insgesamt lange Beobachtungszeiten. Die Umlagerung des Versuchstieres in die Messkammer und auch die durchgeführte Laser-Doppler-Flow-Kontrolle der Blutflussreduktion bedingten eine Latenz zwischen MCAO und Messbeginn, die in diesem Versuchsablauf nicht weiter vermindert werden konnte. Aus diesen beiden Gründen war keine kontinuierliche Aufzeichnung möglich, so dass einzelne, insbesondere initiale Depolarisationen wahrscheinlich nicht erfasst wurden, die von mehreren Autoren in den ersten 10 Minuten beobachtet wurden (Chen et al., 1992; Iijima et al., 1992; Back et al., 1994a; Back et al., 1996; Röther et al., 1996a). Sicherlich wäre zum Beispiel eine ferngesteuerte Okklusion der MCA in der Messkammer, wie es Röther et al. modifiziert durchgeführt hatte, eine Bereicherung der Arbeit gewesen, um auch die unmittelbar nach dem Gefäßverschluss auftretenden Depolarisationen zu erfassen (Röther et al., 1996a). Diese Autoren konnten dadurch bei 6 von 7 Tieren nämlich bereits nach durchschnittlich $2,7 \pm 1,5$ min eine reversible

Diffusionsstörung mittels MRT detektieren, die mit einer Periinfarktdepolarisation vergleichbar war. Dementsprechend wäre auch die Möglichkeit, die Kontrolle der physiologischen Parameter und die Applikation von Medikamenten vollständig von außerhalb der Kammer durchzuführen, in zukünftigen Studien sinnvoll. Dazu müssen jedoch erst die technischen Voraussetzungen geschaffen werden, da die hier notwendige magnetische Abschirmung eine andere Vorgehensweise erfordert.

Die physiologischen Parameter wurden bis auf eine arterielle Hyperoxygenierung bei einzelnen Tieren während der gesamten Versuchsdauer im Normbereich gehalten. Diese musste in Kauf genommen werden, weil die schwierigen Beatmungsverhältnisse (lange Wegstrecken für zu- und abführende Gasschläuche) ein kompensatorisch hohes O₂-Angebot zur Vermeidung von Hypoxien erforderte. Nur so war unter den Bedingungen für die MEG-Ableitung eine gute Sauerstoffsättigung gewährleistet. Die Hyperoxygenierung führte jedoch zu keiner offensichtlichen Beeinflussung der Anzahl der entstandenen Periinfarktdepolarisationen oder des Auftretens von bestimmten MEG-Verlaufsmustern. Hyperoxygenierung führte in einer anderen Studie zu keiner Beeinflussung der bekannten Blutflusssteigerung nach sensorischer Stimulation oder Spreading Depression (Wolf et al., 1997b), so dass ein maßgeblicher Einfluss in die Hämodynamik während Periinfarktdepolarisationen auch nicht zu erwarten ist, zumal eine Zunahme der oxygenierten Hämoglobinkonzentration dabei beschrieben ist (Wolf et al., 1997a).

Mit dem 16 Kanal-ECoG konnten Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen zweifelsfrei erfasst und ihre Ausbreitung über das Elektrodenarray bewiesen werden. Dabei wurde eine sehr gute topographische Auflösung in einem relativ großen Areal von 3,25 x 3,25 mm auf der Gehirnoberfläche der Ratte erreicht. So konnten die Ereignisse in umfassenderer Art und Weise als in der bisherigen Literatur beschrieben werden, weil zuvor nur einzelne Elektroden oder lineare Elektrodenanordnungen verwendet wurden (Referenzen in (Somjen, 2001)). Die Ausbreitungsgeschwindigkeit wurde in unserer Arbeit jedoch nicht generell für jedes Ereignis berechnet, weil sich die Depolarisationswelle oft nicht parallel zu den Elektrodenreihen ausbreitete. Meistens änderte sich die räumliche Beziehung der Depolarisationswelle zu den Elektrodenreihen während der Ausbreitung, so dass die Wellenfront vielmehr als komplizierte Form angesehen werden muss, die eventuell auch unterschiedliche Geschwindigkeiten in der

Wellenfront zeigen kann (Eiselt et al., 2002). Dem muss in weiterführenden Untersuchungen durch komplexe Berechnungen der Geometrie Rechnung getragen werden. Somit wurde die Ausbreitungsgeschwindigkeit hier nur für ausgewählte Beispiele berechnet, bei denen von einer gleichgerichteten Ausbreitung mit einer Wellenfront senkrecht zur Verbindungslinie zwischen zwei Elektroden ausgegangen werden konnte, und dieses Vorgehen als ausreichend betrachtet.

Das Jenaer 16-Kanal-Mikro-SQUID-Messsystem wurde speziell für die Messung kleinvolumiger Magnetfeldquellen entwickelt und ist für Tierexperimente an Ratten geeignet (Nowak et al., 1999). Mit 16 Sonden in einem Areal von nur 3,2 x 3,2 cm erfasst es die gesamte Oberfläche des Rattengehirns und erreicht eine hohe räumliche Auflösung für die Erfassung des Magnetfeldes. Dabei zeigt sich bei einem Abstand von nur 3 mm zwischen Detektionsspule und Sondenaußenseite ein sehr gutes Signalrauschverhältnis. Die Sensitivität von 20-25 fT/ $\sqrt{\text{Hz}}$ ist sehr hoch und zum Teil deutlich besser als bei anderen Mikro-Messsystemen (Nowak et al., 1999). Trotz guter passiver Abschirmung (2 Schichten MUMETAL mit Aluminiumgitterkonstruktion, siehe 2.3.2.) traten kurzzeitige Artefakte aufgrund starker Störungen im Klinikgelände selbst bei Messungen in den Nachtstunden auf und mussten in der Datenvorverarbeitung eliminiert werden. Zudem zeigten sich wie in der früheren Studie (Eiselt et al., 2002) langsame kontinuierliche Signalveränderungen, die aufgrund der zusätzlichen äußeren aktiven Abschirmung ihren Ursprung in unmittelbarer Nähe der Antennen haben mussten und in der Hauptkomponentenanalyse der ersten Komponente zugeordnet wurden. Diese Veränderungen könnten durch die andauernde Ischämie bedingt sein oder von Verletzungsströmen von der durchgeführten Kraniotomie herrühren. Ähnliche langsame Veränderungen des MEG-Grundsignals, die in den ersten 30 min prominent waren und dann langsam nachließen, beobachtete auch Chen et al. am gleichen Tiermodell (Chen et al., 1992). Ein Zusammenhang mit den hier interessierenden Ereignissen konnte nicht festgestellt werden, so dass durch Elimination der 1. Hauptkomponente diese Veränderungen in der vorliegenden Arbeit ausgeschlossen und nicht weiter berücksichtigt wurden. Jedoch wurde dadurch nur noch ein Anteil des ursprünglichen Messsignals in der weiteren Auswertung analysiert. Dieses Vorgehen und notwendige Neukalibrierungen des Systems nach Öffnen der Abschirmkammer bei Messunterbrechungen verhinderten die Messung absoluter Magnetfeldveränderungen, so dass in dieser Arbeit nur Aussagen über die relativen Veränderungen der

Magnetfeldstärke möglich sind. Diese sind allerdings ausreichend für die Erfassung transienter Ereignisse, wie z.B. Periinfarktdepolarisationen.

Nachweis von Periinfarktdepolarisationen mittels ECoG und MEG

Im Rahmen der fokalen Ischämie bei der Ratte konnten 36 Depolarisationen erfasst werden, von denen 31 die Kriterien für Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen erfüllten. Davon konnten bei 26 Ereignissen signifikante Magnetfeldveränderungen mit unterschiedlichen Zeitverläufen gemessen werden. Bei den restlichen 5 Ereignissen waren Magnetfeldveränderungen sichtbar, die jedoch nicht unsere Signifikanzkriterien erfüllten. So kann angenommen werden, dass alle elektrischen Ereignisse zu magnetischen Veränderungen führten. Chen et al. zeigten eine 1-zu-1 Korrespondenz von ECoG und MEG nach fokaler Ischämie bei der Ratte (Chen et al., 1992), ebenso wie es Takanashi et al. bei KCl-induzierten Spreading-Depressions und anoxischen Depolarisationen zeigten (Takanashi et al., 1991; Takanashi et al., 1992). Jedoch sind entsprechende Signifikanzkriterien in diesen Studien nicht beschrieben, und das Auftreten von Depolarisationen ist nur qualitativ-visuell erfasst worden. Ob mittels des hochsensitiven MEG auch Ereignisse erfasst wurden, die außerhalb des Elektrodenarrays auftraten und vom ECoG nicht detektiert wurden, muss offen bleiben, da in dieser Arbeit nur zeitlich zu elektrischen Veränderungen korrespondierende MEG-Daten analysiert wurden.

Allgemeine Eigenschaften von Periinfarktdepolarisationen im ECoG

Da mittels ECoG die größere Zahl von Depolarisationen erfasst wurde, werden diese anhand der Messergebnisse im ECoG im Folgenden detailliert abgehandelt, zumal hier das größere Schrifttum interpretiert werden kann. Zunächst werden allgemeine Charakteristika diskutiert und auf deren Abhängigkeit von den Narkosebedingungen eingegangen. Die Anzahl der beobachteten Depolarisationen im ECoG variierte zwischen den einzelnen Tieren. Dabei zeigte sich eine Häufigkeit zwischen 0,6 und 3,3 Ereignissen/Stunde. Diese große Variabilität kann zum einen von funktionellen Unterschieden der kortikalen Nervenzellen unterschiedlicher Initiationsorte herrühren. Zum anderen muss ein unterschiedliches Ausmaß der fokalen Ischämie und ihrer Kompensationsmechanismen als Ursache benannt werden. Chen et al. konnten in ihrer Studie an Ratten 32 Ereignisse bei 5 Tieren im Zeitraum von 1-2 h beobachten (Chen et al., 1992). Angaben zur Häufigkeit bei den einzelnen Tieren liegen jedoch nicht vor.

Wir konnten bis zu 9 aufeinander folgende Depolarisationen bei einem Tier erfassen. Back et al. beschrieben zwischen 3 und 11 Depolarisationen innerhalb von bis zu 7 h, die gehäuft in den ersten zwei Stunden und zwischen vier und sechs Stunden nach Okklusion auftraten (Back et al., 1994a). Graf et al. zeigten bei Katzen bis zu 14 aufeinanderfolgende Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen, die in einem Zeitraum von bis zu 5 h nach Mediaokklusion entstanden (Graf et al., 1995). Der Einfluss der Anästhesie ist dabei aber zu berücksichtigen. In vielen Studien wurde unter Halothan- oder Chloralose-Anästhesie nach MCAO zwischen 1 bis 4 Depolarisationen in der ersten Stunde beschrieben (Gill et al., 1992; Iijima et al., 1992; Back et al., 1994a; Graf et al., 1995). Auch wenn hier ähnliche Angaben zur Frequenz von Periinfarktdepolarisationen auftreten, soll jedoch Halothan Spreading Depression und Periinfarktdepolarisationen in Frequenz und Dauer im Gegensatz zu Chloralose verringern (Saito et al., 1997). Während Barbituratnarkose wurden dagegen deutlich mehr Depolarisationen beobachtet (Nedergaard and Astrup, 1986). Der durch Barbiturate reduzierte Zellmetabolismus verbessert dabei das Verhältnis von Energiezufuhr und -bedarf und kann so die häufigeren Depolarisationen erklären. Chloralose/Urethan scheint keinen Einfluss auf Spreading Depression oder Periinfarktdepolarisationen zu besitzen, so dass es für diese Arbeit als besonders günstig gelten muss (Piper and Lambert, 1996, Saito et al., 1997). Diese Arbeit entspricht den früheren Studien, zeigt aber doch die erhebliche Varianz der Frequenz von Periinfarktdepolarisationen neu auf.

Viele Studien zeigten eine initiale Depolarisation nach Okklusion der A. cerebri media innerhalb der ersten zehn Minuten (Chen et al., 1992; Iijima et al., 1992; Back et al., 1994a; Back et al., 1996; Röther et al., 1996a). In dieser Studie begann die Messung jedoch 23 ± 11 min nach MCAO, weil der Versuchsablauf keine zeitigere Messung zuließ. Deshalb müssen wir hier annehmen, dass die initiale Periinfarktdepolarisation in dieser Arbeit nicht erfasst wurde. Vielmehr kann es sich bei der ersten von uns gemessenen Depolarisation nach 35 ± 15 min in der Abfolge um die zweite oder sogar bereits dritte handeln.

Der Abstand zwischen den aufeinanderfolgenden Depolarisationen variierte zwischen 5 und 30 min. Im Mittel betrug er 12 ± 6 Minuten und war nahezu identisch mit dem von Chen et al. ermittelten Zeitintervall (Chen et al., 1992). Frühere Studien zu Periinfarkt-

depolarisationen haben die Zeitspanne zwischen den Depolarisationen nicht weiter erwähnt oder nur auf unregelmäßige Zeitabstände hingewiesen (Iijima et al., 1992; Back et al., 1994a; Graf et al., 1995). Somit beschreibt diese Arbeit die zeitliche Abfolge aufeinanderfolgender Ereignisse erstmals im Einzelnen und zeigt, dass sich im Verlauf der Ischämie dabei keine systematischen Veränderungen der Depolarisationsneigung bis auf das plötzliche Sistieren der Depolarisationen nachweisen lassen. Das geringste Zeitintervall zwischen zwei Ereignissen, das in dieser Arbeit beobachtet wurde, betrug 5 Minuten und legt eine dementsprechende Refraktärzeit der beteiligten zellulären Strukturen nahe. Die große Varianz des Zeitabstandes ist durch unterschiedliche Entstehungsorte und Ausbreitungsdistanzen bis zum Elektrodenarray mit bedingt, kann aber nicht allein dadurch vollständig erklärt werden. Die Depolarisationen können also von gleichen wie auch von anderen Orten wieder ihren Ausgang nehmen. Ebenso zeigen diese variablen Zeitintervalle, dass sich die Depolarisationen nicht infolge der Ischämie allein durch eine extrazelluläre K^+ -Erhöhung regelmäßig nach einer Refraktärzeit ausbilden, sondern offensichtlich weitere Faktoren in ihrem Entstehungsmechanismus involviert sein müssen. Dies könnten zusätzliche Leitfähigkeitsunterschiede für andere Ionen, wie Na^+ , Ca^{2+} und Cl^- , oder die Freisetzung von Glutamat sein (Somjen, 2001).

Obwohl viele Studien die Dauer der elektrischen Depolarisation beschreiben, wurde sie in dieser Arbeit anhand des ECoG nicht bestimmt, weil Kriterien für ein Ende der Potentialverschiebung nur schwierig zu definieren waren. Die Gründe dafür waren die langsame Rückbildung der Potentialverschiebung, eine kurzzeitig überschießende Repolarisation und das Erreichen eines neuen Potentialniveaus, das sich vom ursprünglichen Ausgangswert unterscheiden konnte. Während Back et al. eine erhebliche Varianz der Depolarisationsdauer in einem Bereich von 1 bis zu 10 Minuten betonten (Back et al., 1994a), unterschieden Gill et al. „kleine“ und „große“ Depolarisationen mit einer Dauer von bis zu 5 Minuten bzw. sogar bis zu 45 Minuten (Gill et al., 1992). In der zeitlichen Abfolge der Ereignisse konnte schließlich eine Zunahme der Depolarisationsdauer gezeigt werden (Iijima et al., 1992; Mies et al., 1993). Röther et al. zeigten eine negative Korrelation der Depolarisationsdauer mit dem Blutfluss am Ort der Entladung: in schlechter durchbluteten Arealen dauerte die Depolarisation länger an (Röther et al., 1996b). Dies kann leicht auf die verlängerte Repolarisationszeit bei eingeschränkter Energiezufuhr zurückgeführt werden. Diese Studien zeigen also eine

Variabilität der Dauer und weisen so wie die im Folgenden diskutierten Ergebnisse auf die Komplexität von Periinfarktdepolarisationen hin.

Definitionskriterien von Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen – Amplitude, Aktivitätsreduktion, Zeitdifferenzen

Die Spreading Depression-ähnlichen Ereignisse zeigten eine mittlere Depolarisationsamplitude von $5,14 \pm 2,12$ mV mit einem Maximum von 9,15 mV im ECoG. Der Vergleich dieser Amplituden zwischen verschiedenen Studien ist schwierig, da das Potential durch Leitfähigkeitsunterschiede stark beeinflusst wird und sich die Art und Lage der Mess- bzw. Referenzelektroden auf der Kortexoberfläche oder intrakortikal in den verschiedenen Schichten unterscheiden können. So beschrieb Chen et al. Depolarisationen von nur 1 bis 2 mV, verwendete jedoch eine Elektrode auf der kontralateralen Hemisphäre als Referenz (Chen et al., 1992). Bei Verwendung von Mikroelektroden aus Glaspipetten wurde intrakortikal gemessen und deutlich größere Amplituden von maximal bis zu 20 bis 30 mV beobachtet (Nedergaard and Astrup, 1986; Gill et al., 1992). Im Wesentlichen entsprechen die hier gemessenen Potentialverschiebungen in ihrem Ausmaß denjenigen bei Spreading Depression auf der Oberfläche des unbeeinträchtigten Kortex (Leão, 1944; Leão, 1947). Die detaillierte Auflistung in dieser Arbeit zeigt neu, dass einzelne Versuchstiere im zeitlichen Verlauf deutlich unterschiedliche Amplituden der Depolarisationen ohne systematischen Trend ausbilden konnten. Im Gegensatz dazu konnten aber auch Tiere mit Depolarisationen fast gleicher Intensität beobachtet werden. Das Tier mit den meisten Depolarisationen zeigte auffallend die geringsten Amplituden, jedoch konnte keine Korrelation zwischen Anzahl und Amplitude nachgewiesen werden. Andere Studien untersuchten die Ausbildung der Depolarisation in der zeitlichen Abfolge nicht näher bzw. gaben keine detaillierten Informationen wieder. Mögliche Ursachen für diese unterschiedliche Ausprägung der Depolarisationen bei verschiedenen Tieren sind noch unbekannt. Einheitliche Ursprungsorte mit gleichen Ausbreitungsrichtungen könnten für die ähnliche Amplitude der Depolarisationen bei einzelnen Tieren verantwortlich sein, waren jedoch in diesen Fällen nicht ausreichend verifizierbar, so dass weitere Untersuchungen zur Klärung der Ursachen dieser interindividuellen Unterschiede notwendig sind.

Die für Spreading Depression typische Reduktion der elektrischen Aktivität wurde in dieser Arbeit quantitativ erfasst und im zeitlichen Verlauf aufgelistet. Variierende Werte von 25 bis 92 % verdeutlichen auch hier, dass die Ereignisse sowohl intra- als auch interindividuell keineswegs uniform ablaufen.

Eine Korrelation zwischen Depolarisationsamplitude und Aktivitätsreduktion konnte nicht nachgewiesen werden, was zeigt, dass das Ausmaß der Depolarisation und die Depression der Hintergrundaktivität funktionell nicht so stark gekoppelt sein können. Da für diese beiden Parameter auch intraindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Ereignissen beobachtet wurden, können Ischämiegrad und individuelle Unterschiede zwischen den Versuchstieren nicht als alleinige Ursache der Variabilität angesehen werden. Vielmehr müssen die Umgebungsbedingungen an den unterschiedlichen Entstehungsorten der Depolarisationen als maßgebliche Faktoren in Betracht gezogen werden. Dabei können nur Spekulationen aufgestellt werden, dass zum Beispiel Ereignisse, die in stärker beeinträchtigten Regionen entstehen bzw. sich ausbreiten, eine größere Amplitude oder Aktivitätsreduktion aufweisen als solche von besser durchbluteten Arealen. Zudem muss in Frage gestellt werden, ob Periinfarktdepolarisationen tatsächlich einem Alles-oder-Nichts-Gesetz unterliegen oder doch unterschiedlich starke Auslöser auch zu verschieden stark ausgeprägten Depolarisationen führen können. Den möglichen Ursachen muss in weiteren Studien nachgegangen werden. Dabei müssen vor allem Unterschiede durch die auch bei der Ratte sehr differenzierte kortikale Zytoarchitektur genannt werden, worauf schon Fífková verwies (Fífková, 1963). In der Tat umfassen nämlich die hier betroffenen ischämischen Gebiete mit der Möglichkeit zur Repolarisation sehr unterschiedliche zytoarchitektonische Areale (Fífková, 1963).

Bei einem Tier zeigte sich in der lateralen Elektrodenreihe eine terminale anoxische Depolarisation, während an den restlichen Elektroden eine Repolarisation stattfand. Back et al. konnten selbst bei sehr langen Beobachtungszeiten, bis zu 7 Stunden, keinen Übergang von Periinfarktdepolarisationen in eine anoxische Depolarisation bei Ratten detektieren (Back et al., 1994a). Nach Mediaokklusion wurde jedoch bei Katzen ein solcher Übergang in eine terminale Depolarisation aufgezeichnet (Graf et al., 1995), der die pathophysiologische Bedeutung von Periinfarktdepolarisationen für die Ausdehnung der ischämischen Schädigung unterstreicht.

Um die Propagation der elektrischen Depolarisation unter dem Elektrodenarray nachzuweisen, wurde der Beginn der Potentialverschiebung an jeder einzelnen Elektrode ermittelt. Die Zeitspanne zwischen dem Depolarisationsbeginn an der ersten und letzten Elektrode des Arrays betrug im Mittel 85 ± 54 s. Diese große Streuung verdeutlicht, dass die Zeitdauer erheblich differierte bis alle Elektroden des Arrays die Depolarisationen erfassten. Dabei konnte kein Trend in der Abfolge der Ereignisse bei den einzelnen Tieren festgestellt werden, vielmehr variierte diese Zeit selbst bei Ereignissen desselben Versuchstieres deutlich. Dies lässt den Rückschluss zu, dass die einzelnen Depolarisation sich mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten ausbreiten müssen. Die Ursachen und Einflüsse, die den unterschiedlichen Ausbreitungsgeschwindigkeiten zugrunde liegen könnten, bleiben unklar. Die differente Zellorganisation und -dichte des Kortex ist wiederum eine wahrscheinliche Ursache, kann dies aber vermutlich allein nicht ausreichend erklären.

Sich nicht ausbreitenden Periinfarktdepolarisationen

In dieser Arbeit wurden fünf Depolarisationen erfasst, die anhand der definierten Kriterien keine Propagation zeigten und somit nicht als Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen charakterisiert werden konnten. Dabei zeigten diese Ereignisse ebenfalls eine Repolarisation, so dass es sich nicht um terminale anoxische Depolarisationen handelte. Nedergaard et al. beschrieben nach MCAO in Ratten Depolarisationen, bei denen keine zeitliche Verzögerung zwischen zwei Elektroden im Abstand von 1,5 mm auftrat (Nedergaard and Astrup, 1986). Auch in einer weiteren Studie konnten sie simultane Depolarisationen an zwei Elektroden in einem Abstand von 1 bis zu 7 mm beobachten (Nedergaard and Hansen, 1993). Sicherlich muss jedoch beachtet werden, dass in diesen Studien die Propagation nicht maßgeblich untersucht werden sollte. Zudem kann mit nur zwei Elektroden eine Propagation nicht ausgeschlossen werden, da die entsprechende Wellenfront einer sich ausbreitenden Depolarisation beide Elektroden gleichzeitig erfassen könnte, wenn sie sich senkrecht zur Verbindungslinie zwischen den Elektroden ausbreitet. Unsere Versuche mit einem quadratischen Elektrodenarray müssten alle Ausbreitungsrichtungen erfassen und belegen, dass relativ große Areale (ca. 10 mm^2) nahezu gleichzeitig depolarisieren können. Dies lässt zwei unterschiedliche Schlussfolgerungen zu. Zum einen sprechen diese Ergebnisse dafür, dass zwei verschiedene Arten von Periinfarktdepolarisationen möglich sind. Einmal

sich ausbreitende, Spreading Depression-ähnliche und im Gegensatz dazu sich nicht ausbreitende, größere Bereiche der Hemisphäre gleichzeitig erfassende Depolarisationen, denen möglicherweise unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen. Zum anderen ist eine Initiation von Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen in einem großen Kortexareal denkbar, dass sich in diesen Fällen über das gesamte Elektrodenarray erstreckt hat und deshalb die von den Rändern ausgehende Propagation der Depolarisationswelle nicht mit dem Array erfasst werden konnte.

Ausbreitungseigenschaften von Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen

Die Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen wurden jeweils von unterschiedlichen Elektroden im Array zuerst erfasst und zeigten unterschiedliche Latenzen im Mittel von 47 ± 43 s bis die ausgewählte Elektrode 7, zeitlicher Referenzpunkt für das interessierende Zeitintervall für die Magnetoencephalographie, die Potentialverschiebung anzeigte. Auch Nedergaard et Hansen berichteten über eine stark variable Zeitdifferenz von 20 s bis zu 7 min, bis eine Depolarisation an zwei Elektroden im Abstand von bis zu 7 mm erfasst wurde (Nedergaard and Hansen, 1993). Chen et al. beobachteten eine Zeitdifferenz der Depolarisation von 73 ± 47 s (Min.: 70 s, Max.: 418 s) an den zwei Elektroden im Abstand von 6 mm (Chen et al., 1992). Diese große intra- und interindividuelle Varianz dieses Zeitintervalls in der vorliegenden Arbeit lässt sich nicht ausreichend durch die unterschiedlichen Ursprungsorte und Ausrichtungen der sich ausbreitenden Wellenfront der Depolarisation erklären. Vielmehr müssen auch hier, wie auch schon die unterschiedlichen Zeitspannen bis alle Elektroden die Depolarisation anzeigten, variierende Geschwindigkeiten der einzelnen Ereignisse auch innerhalb eines Versuchstieres mit in Betracht gezogen werden. Auffallend waren hier drei Ereignisse, die für diese Zeitdifferenz Werte von über 2 Minuten zeigten. Dies belegt, dass die häufig in der Literatur beschriebene Geschwindigkeit von 3 mm/min von Spreading Depression in diesen Fällen deutlich unterschritten wurde, da die maximale Strecke weniger als 3 mm betrug.

Diese Arbeit gibt detailliert für die einzelnen Ereignisse die Lokalisation der frühzeitigsten elektrischen Veränderungen im Elektrodenarray an verschiedenen Elektroden wieder. Dabei konnten keine einheitlichen Muster bei den einzelnen Versuchstieren

erkannt werden. Dies weist auf unterschiedliche Ursprungsorte der spontanen Periinfarktdepolarisationen auch in der Abfolge der Ereignisse bei einem Versuchstier hin.

Insgesamt wurde der früheste Depolarisationsbeginn am häufigsten im rostro-medialen Quadranten des Elektrodenarrays erfasst. Dabei konnte der Beginn signifikant häufiger in der rostralen Hälfte als in der caudalen Hälfte gemessen werden. Obwohl die Periinfarktdepolarisationen an variablen Stellen entstehen können und von unterschiedlichen Elektroden im Array zuerst erfasst werden, zeigt sich hier also erstmals eine regionale Häufung der Ereignisse in den rostralen Kortexarealen nach Okklusion der A. cerebri media. Über die Ursachen dieser Häufung können hier nur Spekulationen gemacht werden. Dabei müssen histologische Unterschiede von Kortexregionen in Betracht gezogen werden, die eine unterschiedliche Empfindlichkeit für Periinfarktdepolarisationen bedingen könnten. Bei KCl-induziertem Spreading Depression wurden solche regionalen Unterschiede beschrieben (Leão, 1944; Amemori et al., 1987; Galik et al., 1991). So erwähnte bereits Leao in seinen ersten Studien, dass Spreading Depression in der Area retrosplenialis beim Kaninchen nicht auslösbar ist und sich leichter in frontalen als in okzipitalen Kortexabschnitten auslösen lässt (Leão, 1944). Zudem wurden Re-entry-Spreading Depressions beobachtet, die vom Kortex über das Amygdala in den Nucleus caudatus übergeleitet wurden und zum Teil wieder über einen rostrale Verbindung, möglicherweise das rostrale Claustrum, zum frontalen Kortex zurückgeleitet wurden (Vinogradova et al., 1991). Ob solche Re-entry-Wellen nach fokaler Ischämie tatsächlich auftreten oder ob Periinfarktdepolarisationen im Nucleus caudatus entstehen und dann in rostrale Kortexregionen übergeleitet werden können, ist bisher unbekannt. Die vorgelegten Ergebnisse ließen sich jedoch durch eine solche Möglichkeit gut erklären. Schließlich können auch regionale Unterschiede in der K^+ -Clearance zur Beeinflussung der Ausbreitung von Spreading Depression führen (Koroleva and Bures, 1980) und so auch bei Periinfarktdepolarisationen eine Rolle spielen.

Anhand der zeitlichen Reihenfolge des Depolarisationsbeginns an den verschiedenen Elektroden wurde die Ausbreitungsrichtung des Ereignisses bestimmt. Am häufigsten zeigte sich eine Ausbreitung von rostral nach caudal und von medial nach lateral. In dieser Arbeit wurde signifikant häufiger die Ausbreitungsrichtung von rostral nach caudal als die umgekehrte Richtung beobachtet. Dagegen zeigten sich nur geringe

Unterschiede zwischen der Ausbreitung nach medial oder lateral. Eine exakt parallel zu den Elektrodenreihen orientierte Ausbreitung der Depolarisation konnte nicht beobachtet werden, so dass eine Charakterisierung der Ausbreitungsrichtung in die vier Grundrichtungen immer möglich war. Dabei sagt die Grundrichtung nichts aus, in welchem Winkel im jeweiligen Bereich (z.B. innerhalb von 0° bis 90°) sich tatsächlich die Depolarisationsfront über das Elektrodenarray ausbreitete. Natürlich spielen alle oben erwähnten Faktoren auch bei der Beeinflussung der Ausbreitungsrichtung eine Rolle. Zudem muss auch eine gewisse Abhängigkeit der Ausbreitungsrichtung vom Depolarisationsbeginn berücksichtigt werden, die eine korrespondierende Häufung mitverursacht.

Die bisherigen elektrophysiologischen Studien haben die topographische Lokalisation und Ausbreitung nicht so detailliert mit einem 16-Elektrodenarray untersucht, sondern mussten sich auf Untersuchungen mit wenigen bzw. linear angeordneten Elektroden beschränken. Mit speziellen magnetresonanztomographischen Verfahren können jedoch, wie bereits angedeutet, Spreading Depression bzw. Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen anhand begleitender Wasserverschiebungen oder Veränderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes visualisiert werden (Gardner-Medwin et al., 1994; Latour et al., 1994; Hasegawa et al., 1995; Röther et al., 1996a). So haben Hasegawa et al. mittels diffusionsgewichteter MR-Bildgebung nach MCAO bei der Ratte in drei Fällen eine sich wellenartig ausbreitende Region eingeschränkter Wasserdiffusionsfähigkeit beschrieben, die sich parietal außerhalb der initialen Läsion entwickelte und vom Ischämiezentrum nach caudal fortpflanzte (Hasegawa et al., 1995). Die exakte Lokalisation dieser Veränderungen sowie die Ausbreitungsgeschwindigkeit bzw. deren Varianz wurden jedoch nicht näher untersucht. Röther et al. zeigten, dass sich die Depolarisation im Kortex hauptsächlich bidirektional vom Ischämiezentrum aus in die Peripherie fortbewegte (Röther et al., 1996a). Dabei fiel eine Abhängigkeit zur Perfusionsstörung auf: Die Ereignisse entstanden im Kortexarealen mit moderat eingeschränkter Durchblutung und breiteten sich in normal durchblutete Regionen aus. Eine Propagation in Richtung auf stärker betroffene Ischämieeregionen konnte nicht beobachtet werden. In-vivo Fluoreszenzbilder mit spannungssensitiven Farbstoffen können ebenfalls indirekt Depolarisationen nach fokaler Ischämie darstellen. Strong et al. zeigten im zerebralen Kortex von Katzen, dass mit den Depolarisationen einhergehende Fluoreszenzsteigerungen (verursacht durch den Anstieg von NADH) haupt-

sächlich am Rand des Infarktkernes entstanden und sich über die Periinfarktzone hinaus in die normal durchbluteten Areale ausbreiteten (Strong et al., 1996). Dabei fiel vorrangig eine Ausbreitung nach posteriomedial auf. Dies entspricht der hier am häufigsten beobachteten Ausbreitungsrichtung bei Ratten. Besonders interessant an unseren Ergebnissen ist aber, dass Periinfarktdepolarisationen sich in alle Richtungen ausbreiten können und durchaus auch Ereignisse auftraten, die sich in Richtung des Infarktkernes ausgebreitet haben.

Die geschätzte Ausbreitungsgeschwindigkeit der Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen betrug in dieser Arbeit im Mittel $3,18 \pm 1,15$ mm/min. Dieser Durchschnittswert entspricht im Wesentlichen den bisherigen Angaben in der Literatur von ungefähr 3 mm/min (Hasegawa et al., 1995; Röther et al., 1996a) und ist vergleichbar mit Spreading Depression im Kortex unter „physiologischen“ Bedingungen (Leão and Morison, 1945; Hossmann, 1996). Jedoch zeigen die Minimal- bzw. Maximalwerte der geschätzten Geschwindigkeiten von ca. 1 mm/min bzw. ca. 5 mm/min eine große Variabilität. Zusammen mit den bereits erwähnten variablen Zeitdifferenzen zwischen dem Depolarisationsbeginn an den verschiedenen Elektroden, zeigt diese Arbeit also neu auf, dass sich die Ausbreitungsgeschwindigkeit zwischen aufeinanderfolgenden Ereignissen deutlich unterscheiden kann. Dabei können durchaus langsamere Geschwindigkeiten von ca. 1 mm/min als bei Spreading Depression im normalen Hirngewebe von 2- 5 mm/min (Leão, 1944) in Einzelfällen beobachtet werden. Dies könnte durch die eingeschränkte Stoffwechselsituation erklärt werden. So haben zum Beispiel Gorelova et al. bei langen Serien repetitiver Spreading Depressions sogar im normalen Kortex eine Abnahme der Ausbreitungsgeschwindigkeit mit zunehmenden Stoffwechseleränderungen im Verlauf festgestellt (Gorelova et al., 1987).

Ausbildung von Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen unter dem Elektrodenarray

Die Ausbildung der Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen unter dem Elektrodenarray zeigte, dass die maximale negative Potentialverschiebung am häufigsten im rostro-lateralen Quadranten aufgezeichnet wurde. Dabei wurde dieses Maximum signifikant häufiger in der rostralen Hälfte als in der caudalen gemessen und etwas häufiger, jedoch nicht signifikant, in der lateralen Hälfte als in der medialen. So weist diese Arbeit auf regionale Unterschiede in der Ausbildung der Depolarisation hin.

Insgesamt zeigte die mittlere Amplitude aller Ereignisse an den einzelnen Elektroden eine Zunahme der Potentialverschiebung nach lateral. Dazu könnten die lokalen Durchblutungsverhältnisse sowie die Lokalisation der ischämischen Bezirke beitragen. Zum einen sind verstärkte extrazelluläre K^+ -Konzentrationen durch die Ischämie zu berücksichtigen. Zum anderen spielt eine Verminderung der K^+ -Clearance durch die eingeschränkte Energieversorgung dabei eine Rolle, was sich auch in einer verzögerten Repolarisation in schlechter durchbluteten Regionen zeigt (Röther et al., 1996a). So zeigen diese Ergebnisse, dass Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen auch während der Propagation keineswegs uniform ablaufen, sondern sich die Amplitude in den medialen Arealen vermindert. Deshalb müssen Periinfarktdepolarisationen als uniforme Alles-oder-Nichts-Reaktionen in Frage gestellt werden und die Beeinflussung durch die regionale Stoffwechselsituation der Zellen berücksichtigt werden.

Magnetfeldveränderungen bei Spreading Depression-ähnlichen Periinfarktdepolarisationen und ihre Verlaufsmuster

Die Propagation von Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen über das lissencephale Gehirn der Ratte verursacht elektrische Ströme, die langsame extrakranielle Magnetfeldveränderungen bedingen, die mittels hochsensitiven MEG-Messsystemen erfasst werden können. So konnten Okada et al. zeigen, dass die Magnetfeldveränderungen während Spreading Depression im Kleinhirn von Schildkröten maßgeblich durch senkrecht zur Oberfläche verlaufende intrazelluläre Ströme, z.B. in senkrecht zur Kleinhirnoberfläche orientierten Purkinjezellen und Bergmann Gliazellen, verursacht werden (Okada et al., 1988), da diese Zellen in deren Versuchsaufbau tangential zur MEG-Messsonde ausgerichtet wurden. Dabei spielten extrazelluläre Ströme, die tangential zur Oberfläche verliefen, eine untergeordnete Rolle. Jedoch ist die Zytoarchitektur des Kortex von Nagetieren deutlich komplexer und es existieren Gliazellverbände und Nervenzellen mit ihren weitreichenden Ausläufern, die so organisiert sind, dass sowohl orthogonal als auch tangential zur Oberfläche fließende Ströme möglich sind (Gardner-Medwin et al., 1991). Zudem muss berücksichtigt werden, dass die Hauptkomponente, der senkrecht ausgerichtete elektrische Strom, bei Annahme einer Kugel als Volumenleiter ein Magnetfeld erzeugt, das außerhalb der Kugel nicht erfasst werden kann (Williamson and Kaufman, 1987) und mit dem

verwendeten MEG-System nur Magnetfelder tangentialer Stromanteile erfasst werden können (Cohen and Cuffin, 1983). Haueisen et al. zeigten jedoch, dass in der Tat ungefähr 30% der Stärke eines Magnetfeldes von einem senkrecht zur Gehirnoberfläche orientierten Strom erfasst werden können, da das Kaninchen- oder Rattengehirn in der Realität keiner Kugel entspricht und immer tangentiale Stromanteile bestehen (Haueisen et al., 1995). Neben diesen tangentialen Stromanteilen trägt nach Propagation der Depolarisationswelle in den Sulcus sagittalis der zur Oberfläche orthogonale Strom maßgeblich zum Magnetfeld bei, weil er dann parallel zur Detektionsspule ausgerichtet ist (Bowyer et al., 1999a). Schließlich kommt es mit zunehmender Ausbreitung der Depolarisation zur Vergrößerung des betroffenen Gebietes, so dass stärkere Ströme an der Propagationsfront parallel zur Oberfläche entstehen können und sich durch die vergrößerte Distanz tangentialer Dipole die erzeugten Magnetfelder bei der Messung an einer Sonde nicht mehr gegenseitig auslöschen.

Die Stärke des gemessenen Magnetfeldes lässt sich nur schwierig zwischen verschiedenen Studien vergleichen. Sehr starke Magnetfeldveränderungen bis zu 10 pT wurden im Abstand von 17 mm bei Kleinhirnpräparaten in einem Flüssigkeitsbad erfasst (Okada et al., 1988). Gardner-Medwin et al. konnten magnetische Veränderungen bis zu 1,4 pT nach KCl-induzierten Spreading Depression in-vivo messen, wobei die Magnetsonden etwas 20-25 mm vom Gehirn entfernt waren (Gardner-Medwin et al., 1991). Die gemessene Magnetfeldstärke ist jedoch abhängig vom Abstand der Detektionsspule zum Untersuchungsobjekt. Mit zunehmendem Abstand vermindert sich die Magnetfeldstärke (Gardner-Medwin et al., 1991). Die Berechnung der zugrundeliegenden Dipolstärken aber zeigte, dass sie auch nach Berücksichtigung der unterschiedlichen Messbedingungen in der in-vivo-Studie deutlich geringer waren als in-vitro. Gardner-Medwin et al. postulierten dabei als mögliche Ursachen dieser Differenzen eine verstärkte Synchronisierung der Nervenzelldepolarisationen aufgrund der elektrischen Reizung und die gute Leitfähigkeit im Flüssigkeitsbad bei in-vitro-Untersuchungen. In dem dargestellten Beispiel aller MEG-Kanäle in dieser Arbeit wurden magnetische Veränderungen bis zu ca. 10 pT gemessen. Chen et al. berichteten über Magnetfeldveränderungen bis zu 4 pT im gleichen Tiermodell (Chen et al., 1992). Ihr Messabstand war jedoch deutlich größer als in der vorliegenden Studie, so dass die von uns gemessenen Änderungen der Magnetfeldstärke im Wesentlichen der vorigen Studie entsprechen.

Die gemessenen Magnetfeldveränderungen waren nicht uniform, sondern äußerst komplex. So waren in den einzelnen MEG-Kanälen während eines Ereignisses variable Signalveränderungen erkennbar. Dabei konnten sowohl unterschiedliche Amplituden als auch mono- oder multiphasische Zeitverläufe des MEG-Signals beobachtet werden. Chen et al. beschrieben ebenfalls ähnliche variable Magnetfeldveränderungen bei einer gleich aufgebauten Studie mit einem 7-Kanal-MEG-Messsystem. Sie beobachteten unterschiedliche Signalveränderungen sowohl innerhalb der einzelnen Kanäle bei einem Ereignis als auch zwischen den aufeinanderfolgenden Ereignissen (Chen et al., 1992). Eine detaillierte Darstellung der verschiedenen MEG-Veränderungen blieb jedoch aus.

In dieser Arbeit wurden die Ereignisse anhand von unterschiedlichen Zeitverläufen der berechneten mittleren globalen Magnetfeldstärke (MGFP) in vier Gruppen untergliedert. Am häufigsten (13 von 23) zeigten sich Magnetfeldveränderungen mit einem eingipfeligen Signalverlauf. Bei 8 Ereignissen wurde ein zweigipfeliger Zeitverlauf beobachtet, wovon jeweils vier zwei nahezu ähnliche Gipfel bzw. einen kleinen Vorpeak mit einer nachfolgenden großen Signalveränderung zeigten. Bei 2 Ereignissen trat eine dreigipfelige Magnetfeldveränderung auf. Die einzelnen Beispiele dieser Verlaufsmuster waren jeweils in der Intensität der Magnetfeldveränderung, der Dauer und der Beziehungen zwischen den einzelnen Gipfeln unterschiedlich, so dass keine weiteren systematischen Charakteristika erkennbar waren.

Eine große Variabilität des magnetischen Signals wurde aber nicht nur bei fokaler Ischämie beschrieben, sondern selbst bei induzierten Spreading Depressions im normalen Kortex. So beschrieben Okada et al. in ihrem Modell, dass die Verlaufsform des magnetischen Signals sowohl bei verschiedenen Präparationen des Kleinhirns als auch bei mehreren Spreading Depressions beim gleichen Präparat variierte (Okada et al., 1988). Auch Takanashi et al. berichteten über variable MEG-Veränderungen bei aufeinanderfolgenden KCl-induzierten Spreading Depressions (Takanashi et al., 1992). Dies ist besonders beachtenswert, da doch bei induzierten Spreading Depressions ein einheitlicher Versuchsablauf angenommen wird, weil Entstehungsort und Ausbreitungsmöglichkeiten vorgegeben sind.

Über die Ursachen der beobachteten Verlaufsformen in dieser Arbeit kann nur spekuliert werden. Sicherlich müssen dabei mehrere Faktoren berücksichtigt werden. Zum einen spielen unterschiedliche Initiationsorte und Ausbreitungsrichtungen der

Periinfarktdepolarisationen eine entscheidende Rolle. Auch Chen et al. brachten diesen Aspekt in die Diskussion ein, jedoch konnten sie in ihrer Arbeit keine Aussagen zur Ausbreitungsrichtung machen (Chen et al., 1992). Diese Arbeit belegt nun, dass tatsächlich bei Periinfarktdepolarisationen unterschiedliche Richtungen und Entstehungsorte vorliegen. Diese können zum Beispiel durch zeitliche Differenzen, bis sich die Depolarisationswelle auf Kortexareale im Sulcus sagittalis ausbreitet, zu verschiedenen zeitlichen Verlaufsformen des MEG-Signals führen. Auch regionale Unterschiede der Suszeptibilität für Periinfarktdepolarisationen (Leão, 1944; Amemori et al., 1987; Galik et al., 1991) und der K^+ -Clearance-Mechanismen (Koroleva and Bures, 1980), die bereits bei der Diskussion der Propagation der ECoG-Veränderungen erwähnt wurden, sind hier von Bedeutung, weil sie zu Störungen der symmetrischen Ausbreitung führen und so Veränderungen im MEG-Signal bedingen (Gardner-Medwin et al., 1991). Weitere Einflussfaktoren sind Leitfähigkeitsunterschiede nahe der elektrischen Quelle des Magnetfeldes. Haueisen et al. aus unserer Arbeitsgruppe zeigten am Kaninchenkortex, dass die Magnetfeldstärke ansteigt, wenn an das elektrophysiologisch aktiven Gewebe ein Medium mit höherer Leitfähigkeit angrenzt (Haueisen et al., 1997; Haueisen et al., 2000). Dabei wird weniger die Topographie eines Magnetfeldes verändert, als vielmehr die Stärke des Feldes beeinflusst. Dies kann jedoch bei sich ausbreitenden Ereignissen durchaus zu unterschiedlichen zeitlichen Verlaufsmustern führen. Solche Leitfähigkeitsunterschiede werden schon durch die Kraniotomie, das Elektrodenarray und das Feuchthalten der freigelegten Dura mater, aber auch durch Ausbildung eines ischämiebedingten Hirnödems und die Entwicklung der ischämischen Schädigung selbst verursacht. Schließlich wurden durch die Berücksichtigung der Anisotropie des Hirngewebes mit seinen Leitungsbahnen Veränderungen der Magnetfeldstärke erfasst, die hier auch erwähnt werden müssen (Haueisen et al., 2002). In welchem Ausmaß diese verschiedenen Faktoren jeweils zu den beobachteten Verlaufsmustern beitragen, kann diese Arbeit aber nicht beantworten.

Erkenntnisse aus der simultanen Registrierung von ECoG und MEG

Den einzelnen MEG-Verlaufsmustern lagen Periinfarktdepolarisationen zugrunde, die verschiedene Ausbreitungsrichtungen im ECoG zeigten. Alle Ausbreitungsrichtungen der gemessenen ECoG-Veränderungen konnten bei mehreren MEG-Verlaufsmustern beobachtet werden. Eine von caudo-lateral nach rostro-medial gerichtete Ausbreitung

wurde nur bei eingipfeligen MEG-Veränderungen beobachtet. Diese Richtung wurde jedoch insgesamt selten beobachtet und fiel deshalb vielleicht nur bei diesem MEG-Muster auf, da das am häufigsten erfasst wurde. Insgesamt muss hier erwähnt werden, dass einem MEG-Verlaufsmuster also keine bestimmte Ausbreitungsrichtung der Periinfarktdepolarisationen im ECoG zugeordnet werden konnte. Man darf jedoch nicht vergessen, dass die elektrischen Veränderungen grob kategorisch einer von vier möglichen Richtungen zugeordnet wurden. Die Bestimmung der komplexen Ausbreitungsfrent sowie des exakten Ausbreitungswinkels unter dem Elektrodenarray war auch bei der hier gewählten hohen räumlichen Abtastung des elektrischen Potentials nicht möglich. Diese Differenzen innerhalb der zu einer Ausbreitungsrichtung zusammengefassten ECoG-Veränderungen können deshalb auch unterschiedliche MEG-Veränderungen hervorrufen. Trotzdem können die MEG-Verlaufsformen nicht allein auf unterschiedliche zugrundeliegende ECoG-Veränderungen zurückgeführt werden, sondern es muss ein komplexes Einwirken vielfältiger Faktoren vorliegen, wie z.B. bereits beschriebener Leitfähigkeitsunterschiede und regionaler Unterschiede der zellulären Strukturen und ischämischen Stoffwechselbedingungen.

Die Magnetfeldveränderungen wurden mit Hilfe eines Zeitintervalls, festgelegt anhand der elektrischen Veränderungen, detektiert und in einen zeitlichen Zusammenhang mit diesen Veränderungen im ECoG gebracht. Dabei wurden sowohl MEG-Veränderungen erfasst, die ausschließlich in diesem Zeitbereich auftraten als auch zuvor begannen bzw. länger andauerten. In zwei Fällen wurde die komplette MEG-Signalveränderung vor dem elektrisch definierten Zeitintervall gemessen. Dieses Zeitintervall zur Detektion der zugehörigen MEG-Veränderungen wurde definiert, um auch Magnetfeldveränderungen von weit entfernt vom Elektrodenarray beginnenden bzw. sich ausbreitenden Periinfarktdepolarisationen zu erfassen. Da die MEG-Messsonden das gesamte Gehirn der Ratte erfassen, müssten auch Veränderungen von solchen Depolarisationen messbar sein. Dazu wurde in dieser Arbeit eine rostral-caudale Ausdehnung des Rattengehirns von ca. 12 mm (Zilles, 1985) und eine mittlere Ausbreitungsgeschwindigkeit von 3 mm/min (Leão, 1944) angenommen. Theoretisch resultierte daraus eine mögliche Propagationsdauer von maximal 4 Minuten, wenn eine Depolarisation am rostralen Pol des Kortex beginnt und sich bis zum caudalen Pol ausbreitet. Bei der beschriebenen Position des Elektrodenarrays in diesen Versuchen sollte folglich die Ausbreitung einer Depolarisation 2 min vor bzw. nach der

Depolarisation an einer Elektrode in der Mitte des Arrays beendet sein. Die Ergebnisse dieser Arbeit widerlegten jedoch diese eingangs gemachten Überlegungen zur Zeitdauer der Ausbreitung von Periinfarktdepolarisationen zum Teil deutlich, da signifikante Magnetfeldveränderungen auch außerhalb dieses Zeitbereiches noch beobachtet wurden.

Das lässt sich zum einen dadurch erklären, dass die geschätzte Ausbreitungsgeschwindigkeit in dieser Arbeit teilweise deutlich geringer war als der angenommene Wert von 3mm/min. Bei einer geschätzten Geschwindigkeit von nur ca. 1 mm/min würde sich das Zeitintervall für entsprechende MEG-Veränderungen auf bis zu 12 min verlängern. Dies bedeutet, dass MEG-Veränderungen bis zu 4 min vor und nach dem verwendeten Zeitintervall noch dem sich ausbreitenden Ereignis zugeordnet werden könnten. Dies trifft für die Mehrzahl der hier beobachteten MEG-Veränderungen zu. Außerdem kann nicht uneingeschränkt von einer konstanten Geschwindigkeit einer Spreading Depression-ähnlichen Depolarisation ausgegangen werden, da doch unterschiedliche topologische Veränderungen durch die eingeschränkte Stoffwechselsituation denkbar sind. Systematische Untersuchungen möglicher Veränderungen der Ausbreitungsgeschwindigkeit von Periinfarktdepolarisationen zwischen verschiedenen Elektroden und deren Relation zu ischämischen Kortexregionen stehen jedoch aus. Zum anderen müssen Periinfarktdepolarisationen in Betracht gezogen werden, die sich keineswegs uniform in einer Richtung über den Kortex ausbreiten, sondern möglicherweise Veränderungen der Ausbreitungsrichtung z.B. am Infarkttrand erfahren. Dies kann zu vergrößerten Ausbreitungsstrecken führen und so letztlich verlängerte Zeitdifferenzen von den gemessenen ECoG-Veränderungen zu den globalen MEG-Veränderungen bedingen. Auch sind Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen in den zum Teil von der Ischämie betroffenen Stammganglien denkbar, die Magnetfeldveränderungen verursachen können, aber natürlich nicht simultan von kortikalen Elektroden erfasst werden (Vinogradova et al., 1991). Eine entsprechende Propagation in die Kortexschichten könnten dann die verzögerten ECoG-Veränderungen erklären. Diese Möglichkeiten müssen jedoch in zukünftigen Studien insbesondere im Rahmen der fokalen Ischämie untersucht werden.

Schließlich konnten teilweise, obwohl im ECoG als Depolarisation erfasst, keine simultanen MEG-Veränderungen beobachtet werden. Dann fielen, wie beschrieben, nur

zeitlich versetzte Magnetfeldveränderungen auf. Bestimmte Konstellationen von Ausmaß und Ausrichtung der Depolarisationswellen können nämlich dabei unter Umständen zu einer Auslöschung der Magnetfeldveränderungen führen. Zudem könnte die Stärke der tangentialen Stromanteile der Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen zu gering für signifikante MEG-Veränderungen sein, so dass erst nach Vergrößerung des Depolarisationsareals oder Störung der symmetrischen Ausbreitung es zu detektierbaren MEG-Signalen kommt.

Periinfarktdepolarisationen beim Menschen

Obwohl Spreading Depression und Periinfarktdepolarisationen Gegenstand vieler experimenteller Untersuchungen an Nagetieren wie in dieser Arbeit sind, gibt es bis heute keine eindeutigen elektrischen oder magnetischen Nachweise dieses interessanten Phänomens beim Menschen (Röther, 2000). Vielmehr scheint die Auslösung von Spreading Depression schwieriger zu sein, je höher entwickelt die verschiedenen Spezies sind, was sich durch die zunehmende Anzahl myelinisierter Fasern im Neokortex erklären könnte (Sramka et al., 1977). Diese Fasern könnten nämlich den nichtsynaptischen kortikokortikalen Ausbreitungsprozess von Spreading Depression behindern. Das trifft wahrscheinlich genauso auf Periinfarktdepolarisationen zu. Zudem muss die Neuroglia in ihrer Funktion als effektives Pufferungssystem berücksichtigt werden, die eine rasche Elimination des erhöhten extrazellulären Kaliums ermöglicht und so eine Ausbreitung von Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen im gesunden Kortex des Menschen verhindern könnte. Aus diesem Grund könnte angenommen werden, dass sich Periinfarktdepolarisationen beim Menschen nur lokal begrenzt in der Penumbra ausbreiten und dort zum metabolischen Stress und zur Zunahme des Infarktolumens führen. Dabei kann sicherlich die dynamische Entwicklung der Penumbra die Schwierigkeiten des Nachweises von Periinfarktdepolarisationen beim Menschen erklären.

Auf der anderen Seite mag es sein, dass immer noch potente Nachweismethoden für Periinfarktdepolarisationen beim Menschen fehlen. Diese Arbeit hat jedoch gezeigt, dass mittels des MEG sehr sensitiv langsame Magnetfeldveränderungen, die von Periinfarktdepolarisationen herrühren, im Tierversuch nichtinvasiv gemessen werden können. Dabei konnten die Ergebnisse von Chen et al. bestätigt und erstmals charakteristische

Signalverläufe der Magnetfeldveränderungen von uns beschrieben werden (Chen et al., 1992).

Schlußfolgerungen und Ausblick

Abschließend muss also aus den Ergebnissen dieser Studie festgehalten werden, dass Periinfarktdepolarisationen nach fokaler Ischämie in der Ratte eine ausgesprochene zeitliche und topographische Dynamik besitzen. Nicht nur unterschiedliche Entstehungsorte und Ausbreitungsrichtungen, sondern wahrscheinlich vielfältige Faktoren aufgrund der ischämischen Stoffwechselveränderungen führen dabei zu äußerst komplexen elektrischen und magnetischen Veränderungen.

In dieser Arbeit konnten sich nicht ausbreitende Depolarisationen und Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen unterschieden werden. Welche Bedingungen für diese offensichtlich unterschiedliche Ausprägung von Periinfarktdepolarisationen letztlich verantwortlich sind und ob dabei die erwähnten unterschiedlichen Mechanismen eine Rolle spielen, muss in weiteren Studien untersucht werden. Genauso stellt sich die Frage, ob Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen in großen Arealen entstehen können und von den Rändern dieses Areals eine Ausbreitung stattfindet, die eventuell in dieser Arbeit mit dem ECoG bei den sich nicht ausbreitenden Ereignissen nicht erfasst werden konnte.

Spreading Depression-ähnliche Periinfarktdepolarisationen wurden in der vorliegenden Arbeit umfangreich charakterisiert. Dabei zeigte sich, dass es sich keineswegs um einen uniformen Prozess handelt, sondern intra- und interindividuell eine große Variabilität für die untersuchten Parameter nachweisbar war. Dabei sind besonders die unterschiedliche Häufigkeit und Ausprägung der Depolarisation, variierende Entstehungsorte, Ausbreitungsrichtungen und -geschwindigkeiten zu betonen. Zur Charakterisierung der zugrundeliegenden Prozesse und möglicher Einflussfaktoren müssen weitere Studien folgen, die gezielt für die einzelnen Fragestellungen konzipiert sein müssen und die große Variabilität der Periinfarktdepolarisationen dementsprechend einschränken könnten. Zudem sollte besonders im Rahmen der fokalen Ischämie die Möglichkeit von Periinfarktdepolarisationen, die von den Stammganglien ausgehen und über rostrale Verbindungen zum frontalen Kortex übergeleitet werden könnten, in

zukünftigen Studien untersucht werden, da die hier vorgelegten Ergebnisse damit gut erklärt werden könnten.

Spreading Depression-ähnliche Depolarisationen bei der Ratte führten meistens zu signifikanten Magnetfeldveränderungen, die extrakraniell mit dem verwendeten MEG-Messsystem nichtinvasiv aufgezeichnet werden konnten. Im zeitlichen Verlauf konnten wiederkehrende Verlaufsmuster der globalen Magnetfeldstärke nachgewiesen werden, die nur bei einem Teil der Ereignisse durch eine einmalige Zunahme und Abnahme der Magnetfeldstärke charakterisiert waren. Häufig wurden auch mehrere Signalpeaks beobachtet. Das unterstreicht die Komplexität von Periinfarktdepolarisationen nach fokaler Ischämie. In weiteren Untersuchungen müssen mögliche Ursachen dieser beobachteten Muster genauer untersucht werden und mit Hilfe der Quellenlokalisierung der elektromagnetischen Ereignisse weitere Informationen zur räumlichen Ausbildung der Periinfarktdepolarisationen gewonnen werden.

Die simultane Anwendung von Elektrokortiko- und Magnetoencephalographie in dieser Arbeit zeigte, dass die unterschiedlichen Magnetfeldveränderungen tatsächlich meistens von Periinfarktdepolarisationen herrühren, die auch im ECoG aufgezeichnet wurden. Mit dem hier verwendeten Elektrodenarray, das ein relativ großes Areal bedeckte, konnte aber nur ein Teil der Ausbreitung der Spreading Depression-ähnlichen Depolarisationen aufgezeichnet werden. Die lange Dauer der signifikanten Magnetfeldveränderungen, die zum Teil bereits vor bzw. nach dem Erfassen der Depolarisation an den Elektroden gemessen wurden, verdeutlicht jedoch, dass mittels des MEG unter Umständen das Gesamtereignis erfasst werden konnte. Welche Bedingungen dies ermöglichen und wie die Ausbreitung der Periinfarktdepolarisationen dies beeinflusst, muss als Ziel zukünftiger Studien angesehen werden.

Die komplexe Gestalt von Periinfarktdepolarisationen bleibt im Rahmen der Grundlagenforschung der Hirnischämie von maßgeblicher Bedeutung. Besonders ihr möglicher Anteil an der fortdauernden Schädigung der Penumbra und der Ausdehnung des Infarktgebietes machen es so wichtig, die ablaufenden Prozesse und zugrundeliegenden Mechanismen besser zu verstehen, um dann gezielt therapeutische Ansätze und neuroprotektive Strategien zu entwickeln. Vielfältige Methoden einschließlich neuer bildgebender MRT-Verfahren werden dazu neben dem MEG und ECoG Beiträge leisten. Die hier beschriebene Depolarisationsdynamik sollte dabei mit

frühen ischämischen Schädigungsmarkern zukünftig korreliert werden und eröffnet die Möglichkeit der systematischen Erforschung pathogenetischer Prozesse bei der zerebralen Ischämie.

Zukünftig wird auch die Frage nach dem Nachweis von Periinfarktdepolarisationen beim Menschen in den Mittelpunkt treten. MEG-Veränderungen wurden bereits bei Migränepatienten als Nachweis für Spreading Depression angeführt (Barkley et al., 1990a; Barkley et al., 1990b; Wijesinghe et al., 1998), konnten letztlich jedoch nicht überzeugen (Röther, 2000). Trotzdem zeigen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass das MEG eine erfolversprechende Methode für den Nachweis langsamer Magnetfeldveränderungen ist und durchaus aufgrund der hohen Sensitivität und langen Aufzeichnungsmöglichkeiten ähnliche Veränderungen beim Menschen erfassen könnte.

5. Literaturverzeichnis

- Abe, K, Aoki, M, Kawagoe, J, Yoshida, T, Hattori, A, Kogure, K and Itoyama, Y (1995) Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis. Stroke **26**(8): 1478-89.
- Amemori, T, Gorelova, NA and Bures, J (1987) Spreading depression in the olfactory bulb of rats: reliable initiation and boundaries of propagation. Neuroscience **22**(1): 29-36.
- Astrup, J, Siesjo, BK and Symon, L (1981) Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. Stroke **12**(6): 723-5.
- Astrup, J, Symon, L, Branston, NM and Lassen, NA (1977) Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia. Stroke **8**(1): 51-7.
- Back, T, Kohno, K and Hossmann, KA (1994a) Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl-induced spreading depression: effect on blood flow, tissue oxygenation, and electroencephalogram. J Cereb Blood Flow Metab **14**(1): 12-9.
- Back, T, Hoehn-Berlage, M, Kohno, K and Hossmann, KA (1994b) Diffusion nuclear magnetic resonance imaging in experimental stroke. Correlation with cerebral metabolites. Stroke **25**(2): 494-500.
- Back, T, Ginsberg, MD, Dietrich, WD and Watson, BD (1996) Induction of spreading depression in the ischemic hemisphere following experimental middle cerebral artery occlusion: effect on infarct morphology. J Cereb Blood Flow Metab **16**(2): 202-13.
- Back, T (1998) Pathophysiology of the ischemic penumbra--revision of a concept. Cell Mol Neurobiol **18**(6): 621-38.
- Barkley, GL, Okada, YC and Tepley, N (1995) Preliminary Observations of Neuromagnetic Fields Recorded by DC-MEG During Irreversible Anoxia. In: Baumgartner, C, et al. (eds.) Biomagnetism: Fundamental Research and Clinical Applications. Elsevier Science, IOS Press: 823-828.
- Barkley, GL, Tepley, N, Simkins, R, Moran, J and Welch, KM (1990a) Neuromagnetic fields in migraine: preliminary findings. Cephalalgia **10**(4): 171-6.
- Barkley, GL, Tepley, N, Nagel-Leiby, S, Moran, JE, Simkins, RT and Welch, KM (1990b) Magnetoencephalographic studies of migraine. Headache **30**(7): 428-34.
- Bederson, JB, Pitts, LH, Germano, SM, Nishimura, MC, Davis, RL and Bartkowski, HM (1986) Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke **17**(6): 1304-8.
- Bowyer, SM, Okada, YC, Papuashvili, N, Moran, JE, Barkley, GL, Welch, KM and Tepley, N (1999a) Analysis of MEG signals of spreading cortical depression with propagation constrained to a rectangular cortical strip. I. Lissencephalic rabbit model. Brain Res **843**(1-2): 71-8.
- Bowyer, SM, Tepley, N, Papuashvili, N, Kato, S, Barkley, GL, Welch, KM and Okada, YC (1999b) Analysis of MEG signals of spreading cortical depression with propagation constrained to a rectangular cortical strip. II. Gyrencephalic swine model. Brain Res **843**(1-2): 79-86.

- Branston, NM, Strong, AJ and Symon, L (1977) Extracellular potassium activity, evoked potential and tissue blood flow. Relationships during progressive ischaemia in baboon cerebral cortex. J Neurol Sci **32**(3): 305-21.
- Bredesen, DE (1995) Neural apoptosis. Ann Neurol **38**(6): 839-51.
- Bures, J, Petràn, M and Zachar, J (1967) Electrophysiological methods in biological research. Prague, Academia, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Science.
- Bures, J, Buresova, O and Krivanec, J (1974) The mechanism and applications of Leao's spreading depression of electroencephalographic activity. New York, Academic Press.
- Busch, E, Gyngell, ML, Eis, M, Hoehn-Berlage, M and Hossmann, KA (1996) Potassium-induced cortical spreading depressions during focal cerebral ischemia in rats: contribution to lesion growth assessed by diffusion-weighted NMR and biochemical imaging. J Cereb Blood Flow Metab **16**(6): 1090-9.
- Chan, PH (1994) Oxygen radicals in focal cerebral ischemia. Brain Pathol **4**(1): 59-65.
- Chen, Q, Chopp, M, Chen, H and Tepley, N (1992) Magnetoencephalography of focal cerebral ischemia in rats. Stroke **23**(9): 1299-303.
- Chopp, M and Zhang, ZG (1996) Anti-adhesion molecule and nitric oxide protection strategies in ischemic stroke. Curr Opin Neurol **9**(1): 68-72.
- Cohen, D and Cuffin, BN (1983) Demonstration of useful differences between magnetoencephalogram and electroencephalogram. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **56**(1): 38-51.
- Csiba, L, Paschen, W and Mies, G (1985) Regional changes in tissue pH and glucose content during cortical spreading depression in rat brain. Brain Res **336**(1): 167-70.
- Du, C, Hu, R, Csernansky, CA, Hsu, CY and Choi, DW (1996) Very delayed infarction after mild focal cerebral ischemia: a role for apoptosis? J Cereb Blood Flow Metab **16**(2): 195-201.
- Eiselt, M, Ringer, T, Röther, J, Gießler, F, Nowak, H and Zwiener U (2002). Origin and spread of periinfarct depolarization in rats detected by ECoG and MEG. Proceedings of BIOMAG 2002, 13th International Conference on Biomagnetism, Jena, VDE Verlag GmbH, Berlin: 1018-1020.
- Fabricius, M, Akgoren, N and Lauritzen, M (1995) Arginine-nitric oxide pathway and cerebrovascular regulation in cortical spreading depression. Am J Physiol **269**(1 Pt 2): H23-9.
- Fagaly, RL (1990) Neuromagnetic Instrumentation. In: Sato, S (ed.) Advances in Neurology: Magnetoencephalography. New York, Raven Press. **54**: 11-32.
- Fenwick, P (1990) The Use of Magnetoencephalography in Neurology. In: Sato, S (ed.) Advances in Neurology: Magnetoencephalography. New York, Raven Press. **54**: 271-282.
- Fifková, E (1963) Spreading EEG depression in the neo-, paleo- and archicortical structures of the brain of the rat. Physiologia Bohemoslovenica **13**: 1-15.

- Galik, J, Macias-Gonzalez, R, Valouskova, V and Bures, J (1991) Integration of neocortical embryonal grafts with the neocortex of host rats examined by Leao's spreading cortical depression. Exp Neurol **112**(3): 321-7.
- Gardner-Medwin, AR, van Bruggen, N, Williams, SR and Ahier, RG (1994) Magnetic resonance imaging of propagating waves of spreading depression in the anaesthetised rat. J Cereb Blood Flow Metab **14**(1): 7-11.
- Gardner-Medwin, AR, Tepley, N, Barkley, GL, Moran, J, Nagel-Leiby, S, Simkins, RT and Welch, KM (1991) Magnetic fields associated with spreading depression in anaesthetised rabbits. Brain Res **540**(1-2): 153-8.
- Gault, LM, Lin, C-W, LaManna, JC and Lust, DW (1994) Changes in energy metabolites, cGMP, intracellular pH during cortical spreading depression. Brain Research **641**: 176-180.
- Gill, R, Andine, P, Hillered, L, Persson, L and Hagberg, H (1992) The effect of MK-801 on cortical spreading depression in the penumbral zone following focal ischaemia in the rat. J Cereb Blood Flow Metab **12**(3): 371-9.
- Ginsberg, MD and Busto, R (1989) Rodent models of cerebral ischemia. Stroke **20**(12): 1627-42.
- Gorelova, NA, Krivanek, J and Bures, J (1987) Functional and metabolic correlates of long series of cortical spreading depression waves in rats. Brain Res **404**(1-2): 379-81.
- Graf, R, Saito, R, Hübel, K, Fujita, T, Rosner, G and Heiss, WD (1995) Spreading depression-like DC-negativations turn into terminal depolarisation after prolonged focal ischemia in cats. J Cereb Blood Flow Metab **15**(Suppl. 1): S15.
- Grafstein, B (1956) Mechanism of spreading cortical depression. J Neurophysiol **19**: 154-171.
- Hansen, AJ (1978) The extracellular potassium concentration in brain cortex following ischemia in hypo- and hyperglycemic rats. Acta Physiol Scand **102**(3): 324-9.
- Hansen, AJ and Olsen, CE (1980) Brain extracellular space during spreading depression and ischemia. Acta Physiol Scand **108**(4): 355-65.
- Hansen, AJ and Lauritzen, M (1984) The role of spreading depression in acute brain disorders. An Acad Bras Cienc **56**(4): 457-79.
- Harper, AM (1966) Autoregulation of cerebral blood flow: influence of the arterial blood pressure on the blood flow through the cerebral cortex. J Neurol Neurosurg Psychiatry **29**(5): 398-403.
- Hasegawa, Y, Latour, LL, Formato, JE, Sotak, CH and Fisher, M (1995) Spreading waves of a reduced diffusion coefficient of water in normal and ischemic rat brain. J Cereb Blood Flow Metab **15**(2): 179-87.
- Haueisen, J, Ramon, C, Czapski, P and Eiselt, M (1995) On the influence of volume currents and extended sources on neuromagnetic fields: a simulation study. Ann Biomed Eng **23**(6): 728-39.
- Haueisen, J, Ramon, C, Brauer, H and Nowak, H (2000) The influence of local tissue conductivity changes on the magnetoencephalogram and the electroencephalogram. Biomed Tech (Berl) **45**(7-8): 211-4.

- Haueisen, J, Ramon, C, Eiselt, M, Brauer, H and Nowak, H (1997) Influence of tissue resistivities on neuromagnetic fields and electric potentials studied with a finite element model of the head. IEEE Trans Biomed Eng **44**(8): 727-35.
- Haueisen, J, Tuch, DS, Ramon, C, Schimpf, PH, Wedeen, VJ, George, JS and Belliveau, JW (2002) The influence of brain tissue anisotropy on human EEG and MEG. Neuroimage **15**(1): 159-66.
- Heiss, WD and Rosner, G (1983) Functional recovery of cortical neurons as related to degree and duration of ischemia. Ann Neurol **14**(3): 294-301.
- Hossmann, KA (1987) Pathophysiology of cerebral infarction. In: Vinken, PJ, et al. (eds.) Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam, Elsevier. **53**: 107-153.
- Hossmann, KA (1994) Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. Ann Neurol **36**(4): 557-65.
- Hossmann, KA (1996) Periarrest depolarizations. Cerebrovasc Brain Metab Rev **8**(3): 195-208.
- Hossmann, KA, Sakaki, S and Zimmerman, V (1977) Cation activities in reversible ischemia of the cat brain. Stroke **8**(1): 77-81.
- Iijima, T, Mies, G and Hossmann, K-A (1992) Repeated Negative DC Deflections in Rat Cortex Following Middle Cerebral Artery Occlusion Are Abolished by MK-801: Effect on Volume of Ischemic Injury. J Cereb Blood Flow Metab **12**: 727-733.
- Kastner J, Fuchs M and Wagner M (2002). Artifact Removal with Principal and Independent Component Analysis. Proceedings of BIOMAG 2002, 13th International Conference on Biomagnetism, Jena, VDE Verlag GmbH, Berlin: 1018-1020.
- Kohno, K, Hoehn-Berlage, M, Mies, G, Back, T and Hossmann, KA (1995) Relationship between diffusion-weighted MR images, cerebral blood flow, and energy state in experimental brain infarction. Magn Reson Imaging **13**(1): 73-80.
- Koroleva, VI and Bures, J (1980) Blockade of cortical spreading depression in electrically and chemically stimulated areas of cerebral cortex in rats. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **48**(1): 1-15.
- Kraig, RP and Nicholson, C (1978) Extracellular ionic variations during spreading depression. Neuroscience **3**(11): 1045-59.
- Kristian, T and Siesjö, BK (1998) Calcium in ischemic cell death. Stroke **29**(3): 705-18.
- Lacombe, P, Sercombe, R, Correze, JL, Springhetti, V and Seylaz, J (1992) Spreading depression induces prolonged reduction of cortical blood flow reactivity in the rat. Exp Neurol **117**(3): 278-86.
- Latour, LL, Hasegawa, Y, Formato, JE, Fisher, M and Sotak, CH (1994) Spreading waves of decreased diffusion coefficient after cortical stimulation in the rat brain. Magn Reson Med **32**(2): 189-98.
- Lauritzen, M (1984) Long-lasting reduction of cortical blood flow of the brain after spreading depression with preserved autoregulation and impaired CO₂ response. J Cereb Blood Flow Metab **4**(4): 546-54.
- Lauritzen, M (1987) Cerebral blood flow in migraine and cortical spreading depression. Acta Neurol Scand Suppl **113**: 1-40.

- Lauritzen, M (1994) Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. Brain **117**: 199-210.
- Lauritzen, M and Diemer, NH (1986) Uncoupling of cerebral blood flow and metabolism after single episode of cortical spreading depression in the rat brain. Brain Res **370**(2): 405-8.
- Lauritzen, M and Hansen, AJ (1992) The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab **12**(2): 223-9.
- Lauritzen, M, Rice, ME, Okada, Y and Nicholson, C (1988) Quisqualate, kainate and NMDA can initiate spreading depression in the turtle cerebellum. Brain Res **475**(2): 317-27.
- Leão, AAP (1944) Spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol **7**: 359-390.
- Leão, AAP (1947) Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol **10**: 409-414.
- Leão, AAP and Morison, RS (1945) Propagation of spreading cortical depression. J Neurophysiol **8**: 33-45.
- Lehmann D, Ozaki H and Pal I (1987) EEG alpha map series: brain micro-states by space oriented adaptive segmentation. Electroencephalogr Clin Neurophysiol **67**: 271-288.
- Longa, EZ, Weinstein, PR, Carlson, S and Cummins, R (1989) Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke **20**(1): 84-91.
- Mayevsky, A and Weiss, HR (1991) Cerebral blood flow and oxygen consumption in cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab **11**(5): 829-36.
- Memezawa, H, Minamisawa, H, Smith, ML and Siesjo, BK (1992) Ischemic penumbra in a model of reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. Exp Brain Res **89**(1): 67-78.
- Mies, G and Paschen, W (1984) Regional changes of blood flow, glucose, and ATP content determined on brain sections during a single passage of spreading depression in rat brain cortex. Exp Neurol **84**(2): 249-58.
- Mies, G, Iijima, T and Hossmann, KA (1993) Correlation between peri-infarct DC shifts and ischaemic neuronal damage in rat. Neuroreport **4**(6): 709-11.
- Mies, G, Ishimaru, S, Xie, Y, Seo, K and Hossmann, KA (1991) Ischemic thresholds of cerebral protein synthesis and energy state following middle cerebral artery occlusion in rat. J Cereb Blood Flow Metab **11**(5): 753-61.
- Morawetz, RB, DeGirolami, U, Ojemann, RG, Marcoux, FW and Crowell, RM (1978) Cerebral blood flow determined by hydrogen clearance during middle cerebral artery occlusion in unanesthetized monkeys. Stroke **9**(2): 143-9.
- Nedergaard, M and Astrup, J (1986) Infarct rim: effect of hyperglycemia on direct current potential and [¹⁴C]2-deoxyglucose phosphorylation. J Cereb Blood Flow Metab **6**(5): 607-15.
- Nedergaard, M and Hansen, AJ (1988) Spreading depression is not associated with neuronal injury in the normal brain. Brain Res **449**(1-2): 395-8.

- Nedergaard, M and Hansen, AJ (1993) Characterization of cortical depolarizations evoked in focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab **13**(4): 568-74.
- Nicholson, C and Kraig, RP (1975) Chloride and potassium changes measured during spreading depression in catfish cerebellum. Brain Res **96**: 384-389.
- Nowak, H, Giessler, F, Huonker, R, Haueisen, J, Röther, J and Eiselt, M (1999) A 16-channel SQUID-device for biomagnetic investigations of small objects. Med Eng Phys **21**(8): 563-8.
- Okada, YC, Lauritzen, M and Nicholson, C (1988) Magnetic field associated with spreading depression: a model for the detection of migraine. Brain Res **442**(1): 185-90.
- Paschen, W, Djuricic, BM, Bosma, HJ and Hossmann, KA (1983) Biochemical changes during graded brain ischemia in gerbils. Part 2. Regional evaluation of cerebral blood flow and brain metabolites. J Neurol Sci **58**(1): 37-44.
- Petsche, H, Pockberger, H and Rappelsberger, P (1984) On the search for the sources of the electroencephalogram. Neuroscience **11**(1): 1-27.
- Piper, RD, Lambert, GA and Duckworth, JW (1991) Cortical blood flow changes during spreading depression in cats. Am J Physiol **261**(1 Pt 2): H96-102.
- Piper, RD and Lambert, GA (1996). Inhalational anesthetics inhibit spreading depression: relevance to migraine. Cephalalgia **16**(2): 87-92.
- Rose, DF and Ducla-Soares, E (1990) Comparison of Electroencephalography and Magnetoencephalography. In: Sato, S (ed.) Advances in Neurology: Magnetoencephalography. New York, Raven Press. **54**: 33-37.
- Röther, J (2000) "Spreading Depression" und Perinfarktdepolarisationen. Relevante Pathomechanismen bei Migräne und Schlaganfall? Nervenarzt **71**(2): 84-90.
- Röther, J, de Crespigny, AJ, D'Arceuil, H and Mosley, ME (1996a) MR detection of cortical spreading depression immediately after focal ischemia in the rat. J Cereb Blood Flow Metab **16**(2): 214-20.
- Röther, J, de Crespigny, AJ, D'Arceuil, H, Iwai, K and Moseley, ME (1996b) Recovery of apparent diffusion coefficient after ischemia-induced spreading depression relates to cerebral perfusion gradient. Stroke **27**(5): 980-6; discussion 986-7.
- Saito, R, Graf, R, Hubel, K, Fujita, T, Rosner, G and Heiss, WD (1997) Reduction of infarct volume by halothane: effect on cerebral blood flow or perifocal spreading depression-like depolarizations. J Cereb Blood Flow Metab **17**(8): 857-64.
- Siesjö, BK (1978) Brain Energy Metabolism. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Wiley & Sons.
- Siesjö, BK and Bengtsson, F (1989) Calcium fluxes, calcium antagonists and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia and spreading depression: a unifying hypothesis. J Cereb Blood Flow Metab **9**: 127-140.
- Siesjö, BK and Katsura, K (1992) Ischemic brain damage: focus on lipids and lipid mediators. Adv Exp Med Biol **318**: 41-56.
- Somjen, GG (2001) Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. Physiol Rev **81**(3): 1065-96.

- Sramka, M, Brozek, G, Bures, J and Nadvornik, P (1977) Functional ablation by spreading depression: possible use in human stereotactic neurosurgery. Appl Neurophysiol **40**(1): 48-61.
- Statistisches Bundesamt (2002) Todesursachenstatistik Deutschland 2000. Wiesbaden.
- Strong, AJ, Venables, GS and Gibson, G (1983) The cortical ischaemic penumbra associated with occlusion of the middle cerebral artery in the cat: 1. Topography of changes in blood flow, potassium ion activity, and EEG. J Cereb Blood Flow Metab **3**(1): 86-96.
- Strong, AJ, Harland, SP, Meldrum, BS and Whittington, DJ (1996) The use of in vivo fluorescence image sequences to indicate the occurrence and propagation of transient focal depolarizations in cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab **16**(3): 367-77.
- Symon, L, Pasztor, E and Branston, NM (1974) The distribution and density of reduced cerebral blood flow following acute middle cerebral artery occlusion: an experimental study by the technique of hydrogen clearance in baboons. Stroke **5**(3): 355-64.
- Takanashi, Y, Chen, Q, Chopp, M, Levine, SR, Moran, J, Tepley, N and Welch, KM (1992) Observation of magnetic field changes associated with KCl induced spreading depression in anesthetized rats. In: Hoke, M, et al. (eds.) Biomagnetism: Clinical Aspects. Amsterdam, Elsevier: 389-392.
- Takanashi, Y, Chopp, M, Levine, SR, Kim, J, Moran, JE, Tepley, N, Chen, Q, Barkley, GL and Welch, KM (1991) Magnetic fields associated with anoxic depolarization in anesthetized rats. Brain Res **562**(1): 13-6.
- van Harreveld, A and Stamm, JS (1952) Vascular concomitants of cortical spreading depression. J Neurophysiol **15**: 487-496.
- Van Harreveld, A and Fifková, E (1973) Mechanisms involved in spreading depression. J Neurobiol **4**(4): 375-87.
- Vinogradova, LV, Koroleva, VI and Bures, J (1991) Re-entry waves of Leao's spreading depression between neocortex and caudate nucleus. Brain Research **538**: 161-164.
- Wijesinghe, RS, Roth, BJ and Tepley, N (1998) Modeling of spreading cortical depression using a realistic head model. Brain Topogr **11**(1): 3-12.
- Williamson, SJ and Kaufman, L (1987) Analysis of neuromagnetic signals. In: Gevins, AS and Rémond, A (eds.) Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V. **Vol. I**: 405-448.
- Wolf, T, Lindauer, U, Reuter, U, Back, T, Villringer, A, Einhaupl, K and Dirnagl, U (1997a). Noninvasive near infrared spectroscopy monitoring of regional cerebral blood oxygenation changes during peri-infarct depolarizations in focal cerebral ischemia in the rat. J Cereb Blood Flow Metab **17**(9): 950-4.
- Wolf, T, Lindauer, U, Villringer, A and Dirnagl, U (1997b). Excessive oxygen or glucose supply does not alter the blood flow response to somatosensory stimulation or spreading depression in rats. Brain Res **761**(2): 290-9.
- Zhang, ZG, Chopp, M, Maynard, KI and Moskowitz, MA (1994) Cerebral blood flow changes during cortical spreading depression are not altered by inhibition of nitric oxide synthesis. J Cereb Blood Flow Metab **14**(6): 939-43.

Zilles, K (1985) The cortex of the rat - a stereotactic atlas. Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, Springer Verlag.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. U. Zwiener und Herrn Dr. M. Eiselt möchte ich danken für die Bereitstellung des Themas für diese Arbeit und die gute Betreuung und unermüdliche Diskussion auftretender Fragen.

Herrn Prof. Dr. J. Röther gilt mein besonderer Dank für die Möglichkeit mir mikrochirurgische Fähigkeiten unter seiner Anleitung anzueignen und seine fortwährende Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeiten.

Meinen Eltern danke ich von Herzen, dass sie mir mein Studium ermöglicht haben und mich während der Erstellung dieser Arbeit stets unterstützt haben. Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, die immer für Fragen und Anregungen Zeit fanden.

Lebenslauf

Ringer, Thomas Michael

geboren am 25. Oktober 1975

in Marbach/Neckar

1981-1985	Grundschule Murr
1985-1995	Friedrich-Schiller-Gymnasium Marbach/Neckar
1995	Allgemeine Hochschulreife
1995-2002	Studium der Humanmedizin – Friedrich-Schiller-Universität Jena
1999-2000	Forschungsaufenthalt am Stanford Stroke Center, Stanford University, Ca, USA
2001-2002	Praktisches Jahr: Klinik für Herz-, Thorax-, Gefäßchirurgie, FSU Jena Klinik für Innere Medizin, Sophien- und Hufeland Klinikum Weimar Klinik für Neurologie, FSU Jena
22.10.2002	Ärztliche Prüfung
seit 2003	Arzt im Praktikum, Klinik für Neurologie, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Murr, den 15.2.2004

Tierversuchsgenehmigung

Die hier vorgestellte Arbeit wurde im Rahmen des vom Thüringer Landesverwaltungsamt genehmigten Tierversuchs „Diffusions- und perfusionsgewichtete MR-Bildgebung und korrelierende magnetoenzephalographische und histologische Untersuchungen der Infarktpenumbra im Tiermodell“, Reg.-Nr. 02-23/97 durchgeführt.

Nach §9 (1) 4 Tierschutzgesetz wurde mir dazu eine Ausnahmegenehmigung vom Thüringer Landesverwaltungsamt, Reg.-Nr. 02-31/99 erteilt, nachdem ich den „Demonstrations- und Einführungskurs für Herrn Thomas Ringer innerhalb des Tierversuchs Reg.-Nr. 02-23/97“, Reg.-Nr. 02-57/98 durchgeführt habe.

Murr, den 15.2.2004

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Dr. M. Eiselt, Institut für Pathophysiologie, Jena; Herr Dr. F. Gießler, Biomagnetisches Zentrum, Neurologische Klinik, Jena,

ich die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen habe und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Murr, den 15.2.2004