

Zusammenfassung:

“Neural dynamics and their relationship to learning behavior in response to stimulation with a cortical neuroprosthesis”

Dipl. Biol. Matthias Deliano

Die Wiederherstellung verloren gegangener sensorischer Funktionen mit Hilfe einer corticalen Neuroprothese ist eine viel versprechende Alternative zur Bereitstellung von Schnittstellen mit weiter peripher lokalisierten Stationen der afferenten sensorischen Bahnen, wie sie z.B. Cochlea- oder Retinaimplantate darstellen. Durch die vollständige Umgehung afferenter sensorischer Bahnen würde ein größerer Patientenkreis von einer sensorischen Cortexprothese profitieren, so z.B. auch alle Patienten bei denen frühere Verarbeitungsstationen auf dem Weg zum Cortex geschädigt sind (Normann et al., 1999).

Die Entwicklung einer corticalen Neuroprothese ist eine große Herausforderung, nicht nur wegen der weitreichenden sozialen und ethischen Implikationen einer solchen Technologie. Der entscheidende Schritt in der Entwicklung einer corticalen Neuroprothese ist die Erzeugung einer Wahrnehmung von bedeutungsvollen Objekten und Szenen, von denen sich blinde oder taube Personen in ihren Alltagshandlungen leiten lassen können. Diesbezüglich sind frühere Versuche, eine corticale Neuroprothese allein auf der Grundlage einer geeigneten Kodierung von Umweltreizen in elektrische Stimulationsmuster zu entwickeln, weitgehend gescheitert (Brindley & Lewin, 1968; Schmidt et al., 1996). In der hier vorliegenden Arbeit wird daher versucht, diesen reinen „Kodierungsansatz“ zu überwinden und sich direkt mit der Frage auseinanderzusetzen, wie an den Cortex übertragene elektrische Stimuli wahrgenommen und durch Lernen bedeutungsvoll interpretiert werden können. Dazu ist es notwendig, ein besseres Verständnis für die Interaktion zwischen neuroprothetischer Stimulation und der endogenen corticalen Dynamik zu gewinnen, durch die eine erlernte bedeutungsvolle Interpretation elektrischer Stimuli hervorgebracht wird.

In einem ersten Schritt wurde in der vorliegenden Arbeit ein Tiermodell entwickelt, mit dem sich die Interaktion zwischen neuroprothetischer Stimulation und endogener corticaler Dynamik in frei beweglichen und lernenden Mongolischen Wüstenrennmäusen (*Meriones unguiculatus*) untersuchen lässt. Über eine einfache, unidirektionale neuroprothetische Schnittstelle wurde dabei an einzelnen Stellen im auditorischen Cortex eine intracorticale Mikrostimulation (ICMS) appliziert (Scheich & Breindl, 2002). Die Schnittstelle zum Cortex bestand aus zwei Stimulationselektroden (~700 µm Elektrodenabstand), die chronisch in die Tiefe des auditorischen Cortex, nahe der corticalen Eingangsschicht IV, implantiert wurden. Die ICMS wurde durch die Stimulationselektroden an einem von zwei Stimulationsorten entlang des tonotopen Gradienten des auditorischen Cortex appliziert und beschränkte sich somit auf einzelne Stellen im Cortex. Dadurch sollten erst einmal einfache Prinzipien der Interaktion zwischen ICMS und endogener corticaler Dynamik untersucht werden, die vermutlich aber auch für die bedeutungsvolle Interpretation von elektrischen Stimulationsmustern durch gleichzeitige ICMS an mehreren Stellen im Cortex eine grundlegende Rolle spielen.

Um die räumliche und zeitliche Spezifität der ICMS zu bestimmen, wurde in einer Testmessung vor Trainingsbeginn ein räumlich hoch aufgelöstes Elektrocorticogram (ECoG) des auditorischen Cortex über ein chronisch implantiertes 6x3 epidurales Oberflächen-Array abgeleitet (~600 µm Elektrodenabstand). Elektrisch evozierte Potentiale in Antwort auf einzelne Strompulse wurden analysiert. Generell spiegeln diese Potentiale die transsynaptische Aktivierung wieder, die aus der direkten Erregung der am Stimulationsort vorbeiziehenden axonalen Fasern resultiert (Nowak & Bullier, 1998a, b).

Die durch einzelne Strompulse elektrisch evozierten Potentiale besaßen eine typische Wellenform, die einer gedämpften, frequenz-modulierten Oszillation ähnelte. Dabei fielen die Peak-Amplituden innerhalb 150 ms nach der Reizung stark ab und erreichten den Rauschpegel. Die Frequenz der Oszillation nahm in dieser Zeit von etwa 80 Hz auf etwa 20 Hz ab. Ein mit einer Latenz von etwa 12 ms auftretender negativer Peak des durch Einzelpulse elektrisch evozierten Potentials zeigte in seiner Topographie einen Aktivitätsfokus mit maximalen Peak-Amplituden am Ort der elektrischen Stimulation. Die räumliche Ausdehnung der fokalen, elektrisch evozierten Aktivität überstieg den theoretisch geschätzten Bereich der effektiven

Stromausbreitung, d.h. den Bereich in dem neuronale Elemente direkt durch ICMS erregt werden (Tehovnik, 1996). Insgesamt zeigten die Ergebnisse, dass die räumlich und zeitlich begrenzte Anregung durch ICMS zu einer räumlich und zeitlich ausgedehnten transsynaptischen Aktivierung führte. Daher scheint die räumliche und zeitliche Spezifität der ICMS vor allem von den intrinsischen corticalen Verbindungen, also vom Radius und der Geometrie der direkt angeregten exzitatorischen und inhibitorischen Fasern, und vom sich daraus ergebenden postsynaptischen Wechselspiel aus Exzitation und Inhibition abzuhängen (Butovas & Schwarz, 2003). Durch die damit verbundene räumliche Ausbreitung der transsynaptischen Anregung werden große Zellpopulationen aktiviert, die sich zum Teil zwischen den Stimulationsorten überlappen.

Nach der Testmessung wurden sechs Mongolische Wüstenrennmäuse in einer Shuttle-Box mit Hilfe eines GO/(NO-GO)-Paradigmas trainiert. Sie mussten lernen, elektrische Pulszüge voneinander zu unterscheiden, mit denen zwei Regionen, welche tiefe and höhere Frequenzen in der tonotopen Karte des auditorischen Cortex repräsentierten, angeregt wurden (Scheich et al., 1993). An einem der zwei Stimulationsorte wurde ein elektrischer Pulszug als positiv konditionierter Stimulus (CS+) appliziert und am jeweilig anderen ein Pulszug, der als negativ konditionierter Stimulus (CS-) diente. Trotz der beträchtlichen Überlappung der an den Stimulationsorten transsynaptisch aktivierten Neuronenpopulationen (Butovas & Schwarz, 2003), waren alle Tiere in der Lage, die Diskriminierungsaufgabe zu bewältigen. Die Tiere lernten, die beiden Stimulationsorte innerhalb von vier oder fünf Trainingstagen zu unterscheiden. Wie die Analyse ihres Verhaltens zeigte, waren die Tiere offensichtlich in der Lage, einfache neuroprothetische Stimulation in bedeutungsvoller Weise zu interpretieren (Scheich & Breindl, 2002).

Um die Interaktion zwischen neuroprothetischer Stimulation und der endogenen corticalen Dynamik zu untersuchen, wurde ein räumlich hoch aufgelöstes ECoG vom auditorischen Cortex in Antwort auf elektrischen Pulszüge abgeleitet, die als CS+ und CS- während dem Training präsentiert wurden. Wie schon bei den durch einzelne elektrische Pulse evozierten Potentialen der Testmessung vor dem Training, evozierten die CS+ und CS- Pulszüge eine gedämpfte, frequenz-modulierte Oszillation. Zum Ende des Pulszuges hin fielen die Peak-Amplituden rapide ab. Manchmal jedoch überdauerte das elektrisch evozierte Potential den elektrischen

Stimulus. Mit einem Frequenzabfall von etwa 20 Hz auf etwa 5 Hz war die Oszillation generell langsamer verglichen mit der Einzelpulsstimulation. Im elektrisch evozierten Potential trat nach einer Latenz von etwa 30 ms ein negativer Peak auf, dessen maximalen Amplituden am Ort der Stimulation lokalisiert waren.

Corticale Aktivitätsmuster in Verbindung mit dem CS+ und dem CS- ließen sich im β - und γ -Band (15 Hz bis 80 Hz) des ECoG mit Hilfe eines multivariaten Klassifikationsverfahrens identifizieren (Barrie et al., 1996). Die Klassifikation wurde in 180 ms Zeitfenstern durchgeführt, die in 20 ms Schritten über dem Signal verschoben wurden. Für jedes 180 ms Zeitfenster wurde eine räumliche Verteilung der Signalleistung im β - and γ -Band anhand von Root Mean Squared (RMS) Amplituden bestimmt, die für jeden Ableitkanal berechnet wurden. Über Euklidische Abstände wurde festgestellt, ob sich eine resultierende räumliche Aktivitätsverteilung näher an einem CS+- oder näher an einem CS- Centroid befand. Für jeden Zeitschritt wurde die Klassifikationsleistung als Prozentsatz der korrekt klassifizierten Trials bestimmt und die Signifikanz der Klassifikationsleistung mit Hilfe einer Binomialstatistik evaluiert. Epochen signifikanter Musterklassifikation fanden sich früh, während der Präsentation der elektrischen Stimuli, und spät, in der Zeit zwischen dem Ende des elektrischen Stimulus und der Verhaltensantwort.

Frühe corticale Aktivitätsmuster konnten durch Epochen hochsignifikanter Musterklassifikation in den ersten 100 ms nach Stimulusbeginn identifiziert werden. Sie fanden sich in festem Zeitbezug zum Stimulus und traten an allen Trainingstagen auf, unabhängig vom Lernzustand und der Lerngeschichte des Tieres. Frühe Epochen hochsignifikanter Musterklassifikation koexistierten mit der frühen negativen Welle im elektrisch evozierten Potential. Aufgrund des fokalen Maximums am Stimulationsort stellte die räumliche Variation der negativen Peak-Amplitude ein Muster dar, das gut zwischen CS+ und CS- unterscheidbar war. Offensichtlich spiegelten die frühen corticalen Aktivitätsmuster die fokale Topographie des durch ICMS transsynaptische evozierten, künstlichen sensorischen Inputs wieder.

Späte corticale Aktivitätsmuster im β - and γ -Band des ECoG wurden anhand von Epochen signifikanter Musterklassifikation in der Zeit zwischen Stimulusende und Verhaltensantwort identifiziert. Späte corticale Aktivitätsmuster fanden sich in keinem festen Zeitbezug, weder zum elektrischen Stimulus noch zur Verhaltensantwort. Sie traten im Laufe des Trainings auf, fanden sich aber nicht an Trainingstagen, an

denen das Tier noch keine signifikante Lernleistung zeigte. Dass die Klassifikationsleistung in den späten Epochen signifikant mit der Lernleistung korreliert war, ließ darauf schließen, dass die späten corticalen Aktivitätsmuster lerninduziert waren. In den elektrisch evozierten Potentialen wurde keine Aktivität gefunden, durch die sich die signifikante Musterklassifikation in den späten Epochen hätte erklären lassen können. Die Muster bestanden aus räumlichen Amplituden-Modulationen einer aperiodischen Trägerwelle im β - and γ -Band des ECoG und wurden offensichtlich von der endogenen corticalen Aktivität hervorgebracht.

Die späten corticalen Aktivitätsmuster, die mit dem Diskriminierungslernen elektrischer Stimuli auftraten, ähnelten in vielerlei Hinsicht späten corticalen Aktivitätsmustern die beim Diskriminierungslernen akustischer Stimuli gefunden und in Beziehung zur bedeutungsvollen Interpretation dieser Stimuli gebracht wurden (Ohl et al., 2003a, b). Entsprechend könnten auch die durch elektrisches Diskriminierungslernen hervorgebrachten späten corticalen Aktivitätsmuster mit der subjektiven, perzeptuellen Einordnung der elektrischen Stimuli in verhaltensrelevante, bedeutungsvolle Stimulusklassen zu tun haben, wie dies im Falle akustischer Reizung mit Hilfe eines Ansatzes gezeigt werden konnte, der sich die subjektive Bildung von Kategorien zu Nutze machte (Ohl et al., 2001).

In Bezug auf ihre räumliche Organisation wurden jedoch auch deutliche Unterschiede zwischen den durch elektrisches und akustisches Lernen induzierten corticalen Aktivitätsmustern gefunden. Die räumliche Organisation corticaler Aktivitätsmuster wurde mit Hilfe einer auf einem Bootstrapping Verfahren beruhenden Diskriminanzanalyse erfasst (Ohl et al., 2003a). Die Ergebnisse zeigten, dass die späten corticalen Aktivitätsmuster die beim Diskriminierungslernen elektrischer Stimuli auftraten fokal waren, im Gegensatz zu den räumlich verteilten Mustern, die beim akustischen Lernen beobachtet wurden (Ohl et al., 2003a). Gleichzeitig ließ sich die fokale räumliche Organisation der elektrisch induzierten späten corticalen Aktivitätsmuster nicht direkt mit der fokalen transsynaptischen Aktivierung am Stimulationsort in Verbindung bringen. Dies könnte bedeuten, dass die endogene corticale Dynamik von elektrischen Stimuli in einer anderen Weise rekrutiert wird als mit akustischer Stimulation.

Die hoch synchrone Aktivierung großer, gemischter Neuronenpopulationen im Cortex durch ICMS könnte einen großen Einfluss auf den corticalen Funktionsmodus ausüben. Darüber hinaus kann ICMS durch diese hoch synchrone Anregung plastische Veränderungen im Cortex auslösen (Maldonado & Gerstein, 1996; Sakai & Suga, 2002; Valentine & Eggermont, 2003), wodurch die lerninduzierte Musterbildung möglicherweise verzerrt werden kann. Der generelle Anstieg der Amplitude des elektrisch evozierten Potentials über die Trainingstage könnte ein Hinweis auf solche ICMS induzierten plastischen Veränderungen sein. Des Weiteren traten im Verlauf der Trainingstage Epochen signifikanter Musterklassifikation zu späteren Zeitpunkten während der Präsentation der elektrischen Stimuli auf. Da der Zuwachs an Klassifikationsleistung in dieser Zeit nicht signifikant mit der Lernleistung des Tieres korreliert war, wurden die der Klassifikation unterliegenden Muster möglicherweise durch die ICMS selbst induziert. Schließlich ist zu beachten, dass, durch die Umgehung afferenter sensorischer Bahnen, unidirektional applizierte ICMS zeitlich nicht mit möglichen endogenen corticalen Zustandsänderungen abgestimmt ist (Freeman & Barrie, 2000; Ohl et al., 2001). Dies könnte ebenso zu einer veränderten Funktionalität des Cortex unter elektrischer Stimulation führen.

Durch die Entwicklung einer interaktiven, bidirektionalen corticalen Neuroprothese wäre es möglich eine passende zeitliche Abstimmung zwischen ICMS und endogener corticaler Dynamik zu erreichen und somit die Möglichkeiten einer bedeutungsvollen Interpretation neuroprothetischer Stimulation zu verbessern. Ein grundlegendes Verständnis der Interaktion zwischen neuroprothetischer Stimulation und endogener corticaler Dynamik ist auf jeden Fall eine wichtige Voraussetzung, um den entscheidenden Schritt in der Entwicklung einer corticalen Neuroprothese zu tun: der Erzeugung einer bedeutungsvoll strukturierten Wahrnehmung mit Hilfe räumlicher und zeitlicher Muster elektrischer Cortexstimulation.

Literaturangaben

Barrie J. M., Freeman W. J., & Lenhart M. D. (1996) Spatiotemporal analysis of prepyriform, visual, auditory, and somesthetic surface EEGs in trained rabbits. *J Neurophysiol.* 76: 520-539.

Brindley G. S. & Lewin W. S. (1968) The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. *J.Physiol* 196: 479-493.

Butovas S. & Schwarz C. (2003) Spatiotemporal effects of microstimulation in rat neocortex: a parametric study using multielectrode recordings. *J Neurophysiol.* 90: 3024-3039.

Freeman W. J. & Barrie J. M. (2000) Analysis of spatial patterns of phase in neocortical gamma EEGs in rabbit. *J Neurophysiol.* 84: 1266-1278.

Maldonado P. E. & Gerstein G. L. (1996) Reorganization in the auditory cortex of the rat induced by intracortical microstimulation: a multiple single-unit study. *Exp.Brain Res.* 112: 420-430.

Normann R. A., Maynard E. M., Rousche P. J., & Warren D. J. (1999) A neural interface for a cortical vision prosthesis. *Vision Res.* 39: 2577-2587.

Nowak L. G. & Bullier J. (1998a) Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. I. Evidence from chronaxie measurements. *Exp.Brain Res.* 118: 477-488.

Nowak L. G. & Bullier J. (1998b) Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. II. Evidence from selective inactivation of cell bodies and axon initial segments. *Exp.Brain Res.* 118: 489-500.

Ohl F. W., Scheich H., & Freeman W. J. (2001) Change in pattern of ongoing cortical activity with auditory category learning. *Nature* 412: 733-736.

Ohl F. W., Deliano M., Scheich H., & Freeman W. J. (2003a) Early and late patterns of stimulus-related activity in auditory cortex of trained animals. *Biol.Cybern.* 88: 374-379.

Ohl F. W., Deliano M., Scheich H., & Freeman W. J. (2003b) Analysis of evoked and emergent patterns of stimulus-related auditory cortical activity. *Rev.Neurosci.* 14: 35-42.

Sakai M. & Suga N. (2002) Centripetal and centrifugal reorganizations of frequency map of auditory cortex in gerbils. *Proc.Natl.Acad Sci.U.S.A* 99: 7108-7112.

Scheich H., Heil P., & Langner G. (1993) Functional organization of auditory cortex in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). II. Tonalotopic 2-deoxyglucose. *Eur.J Neurosci.* 5: 898-914.

Scheich H. & Breindl A. (2002) An animal model of auditory cortex prostheses. *Audiol.Neurootol.* 7: 191-194.

Schmidt E. M., Bak M. J., Hambrecht F. T., Kufta C. V., O'Rourke D. K., & Vallabhanath P. (1996) Feasibility of a visual prosthesis for the blind based on intracortical microstimulation of the visual cortex. *Brain* 119 (Pt 2): 507-522.

Tehovnik E. J. (1996) Electrical stimulation of neural tissue to evoke behavioral responses. *J Neurosci.Methods* 65: 1-17.

Valentine P. A. & Eggermont J. J. (2003) Intracortical microstimulation induced changes in spectral and temporal response properties in cat auditory cortex. *Hear.Res.* 183: 109-125