

3 Ergebnisse

3.1 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel ohne pharmakologische Beeinflussung

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 5 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 6 Tiere eingeschlossen.

Striatale Basiskonzentrationen waren für Dopamin $0,08 \pm 0,01 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$ Dialysat, für DOPAC $32,11 \pm 3,4 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$ und für HVA $20,56 \pm 3,45 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$.

In allen nicht stimulierten, aber Elektroden- und Mikrodialysesonde-implantierten Kontrolltieren blieben die gemessenen Parameter während der gesamten Untersuchungszeit ohne signifikante Änderungen.

DOPAC (im Zeitfenster $t=40-180$ Minuten nach STN-HFS; maximal $130,6\% \pm 6,0\%$) und HVA (im Zeitfenster $t=120-180$ Minuten nach STN-HFS; maximal $127,7\% \pm 6,0\%$) waren im Vergleich zu den Basiswerten aber auch im Vergleich zu nicht stimulierten Kontrolltieren (im Zeitfenster $t=20-180$ Minuten nach STN-HFS) signifikant erhöht. Die striatal-extrazellulären DA-Konzentrationen blieben von der STN-HFS unbeeinflusst (ohne Abbildung).

3.2 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Hemmung der Monoaminoxidase

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 7 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 8 Tiere eingeschlossen.

Wie unter 2.3 erläutert, erhielten die Tiere dieser Versuchsgruppe $75 \text{ mg}/\text{kg}$ KG Pargylin intraperitoneal etwa eine Stunde vor der Operation.

Absolute Konzentrationen der Basiswerte waren für DA $0,25 \pm 0,03 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$ Dialysat, für DOPAC $0,67 \pm 0,10 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$ und für HVA $0,68 \pm 0,14 \text{ pmol}/20 \mu\text{l}$. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren führte die Pargylinbehandlung zu einer Verminderung der Metabolite und zu einem Anstieg des Dopamins in den Basiswerten. Die Messwerte für Dopamin waren über die gesamte Versuchszeit in nicht stimulierten Kontrolltieren stabil (Abbildung 10); ein kontinuierlicher Anstieg wurde für DOPAC (maximal $150\% \pm 8,9\%$, Abbildung 11) und HVA (maximal $138,3\% \pm 12,7\%$, Abbildung 12) ermittelt.

STN-HFS führte zu erhöhten Messwerten für DA im Vergleich zu den Basiswerten und zu nicht stimulierten Kontrolltieren (maximal $131,9\% \pm 9,6\%$, Abbildung 10). Die Konzentrationen für DOPAC und HVA erhöhten sich ebenfalls unter STN-HFS (DOPAC maximal $172,9\% \pm 15,6\%$, Abbildung 11; HVA maximal $154,1\% \pm 23,0\%$, Abbildung 12), jedoch nur im Vergleich zu den Basiswerten.

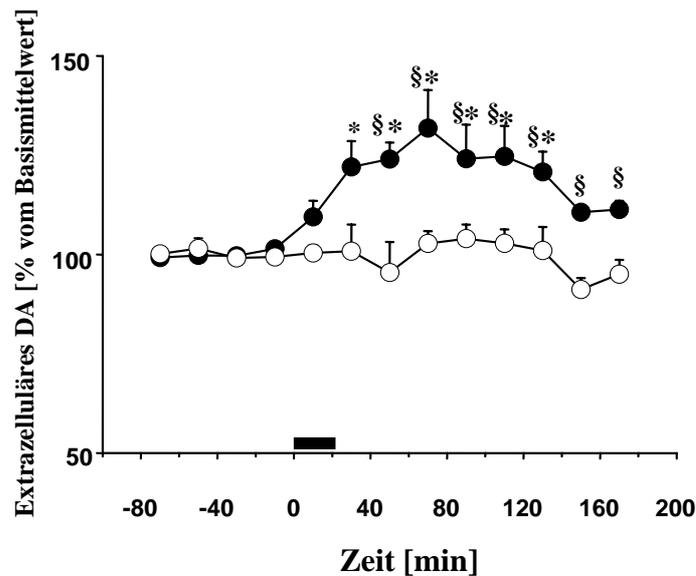


Abbildung 10: Extrazellulär-striatales Dopamin der mit Pargylin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=7, nicht stimulierte Kontrollen n=8. Abbildung 10-12: ■■ kennzeichnet die Dauer der STN-HFS. Die Länge des Ablaufschlauches der Sonde verzögerte die zeitliche Auflösung um 10 Minuten. * kennzeichnet signifikante Veränderungen im Verhältnis zu den Basiswerten ($p \leq 0,05$, post-hoc t-Test nach Student, Newman und Keuls). § kennzeichnet signifikante Veränderungen zwischen der stimulierten Gruppe und den nicht stimulierten Kontrollen ($p \leq 0,05$, Varianzanalyse für unpaare Daten).

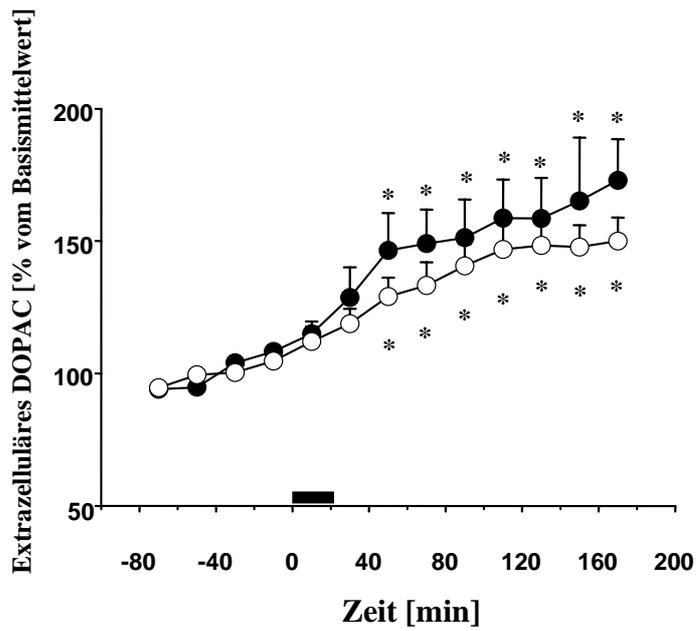


Abbildung 11: Extrazellulär-striatales DOPAC der mit Pargylin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=7; nicht stimulierte Kontrollen n=8.

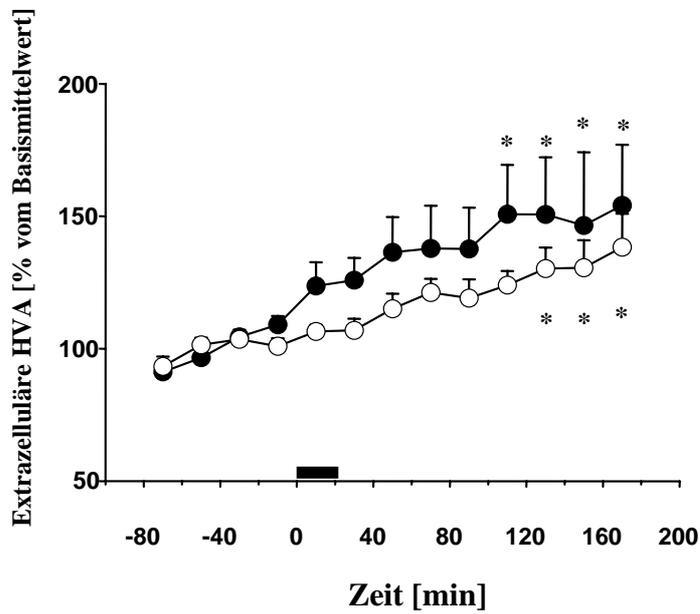


Abbildung 12: Extrazellulär-striatale HVA der mit Pargylin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=7; nicht stimulierte Kontrollen n=8.

3.3 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Dopaminwiederaufnahmehemmung

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 5 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 6 Tiere eingeschlossen. Der Dialyseflüssigkeit wurde wie unter 2.3 beschrieben 1mM Nomifensin zugegeben.

Absolute Konzentrationen der Basiswerte waren DA $4,11 \pm 0,42$ pmol/20 μ l Dialysat, DOPAC $28,26 \pm 2,26$ pmol/20 μ l, HVA $7,03 \pm 0,72$ pmol/20 μ l. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren führte die Dopaminwiederaufnahmehemmung zu einem Anstieg des basalen extrazellulären DA. Kein Unterschied ergab sich für DOPAC, jedoch wurden verminderte Konzentrationen von HVA gemessen.

Im Verlauf der Messungen nahmen die striatalen Konzentrationen im Vergleich zum Mittelwert der Basiswerte für DA, DOPAC und HVA in nicht stimulierten Kontrolltieren kontinuierlich ab (DA minimal $65,7\% \pm 3,4\%$, Abbildung 13; DOPAC minimal $77,6\% \pm 3,6\%$, Abbildung 14; HVA minimal $73,8\% \pm 4,3\%$, Abbildung 15).

STN-HFS erhöhte das striatal-extrazelluläre DA in den ersten 60 Minuten nach HFS im Vergleich zu nicht stimulierten Kontrolltieren (Abbildung 13); nachfolgend verringerte sich jedoch die Konzentration (DA minimal $72,8\% \pm 4,0\%$). STN-HFS führte zu einem Anstieg der Metaboliten DOPAC und HVA in der striatalen Dialyseflüssigkeit im Vergleich zu den Basiswerten und zu nicht stimulierten Kontrolltieren (DOPAC maximal $132,0 \pm 7,2\%$, Abbildung 14; HVA maximal $115,5\% \pm 6,4\%$, Abbildung 15).

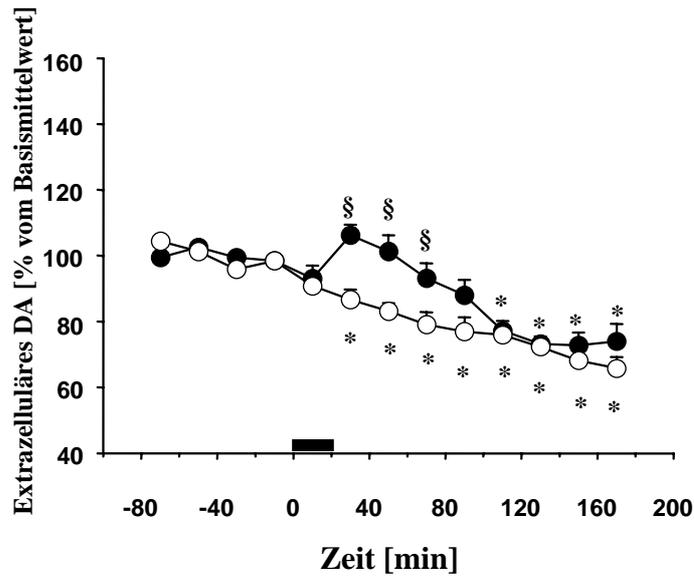


Abbildung 13: Extrazellulär-striatales Dopamin der mit Nomifensin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=5; nicht stimulierte Kontrollen n=6. Abbildung 13-15: ■■ kennzeichnet die Dauer der STN-HFS. Die Länge des Ablaufschlauches der Sonde verzögerte die zeitliche Auflösung um 10 Minuten. * kennzeichnet signifikante Veränderungen im Verhältnis zu den Basiswerten ($p \leq 0,05$; post-hoc t-Test nach Student, Newman und Keuls). § kennzeichnet signifikante Veränderungen zwischen der stimulierten Gruppe und den nicht stimulierten Kontrollen ($p \leq 0,05$; Varianzanalyse für unpaare Daten).

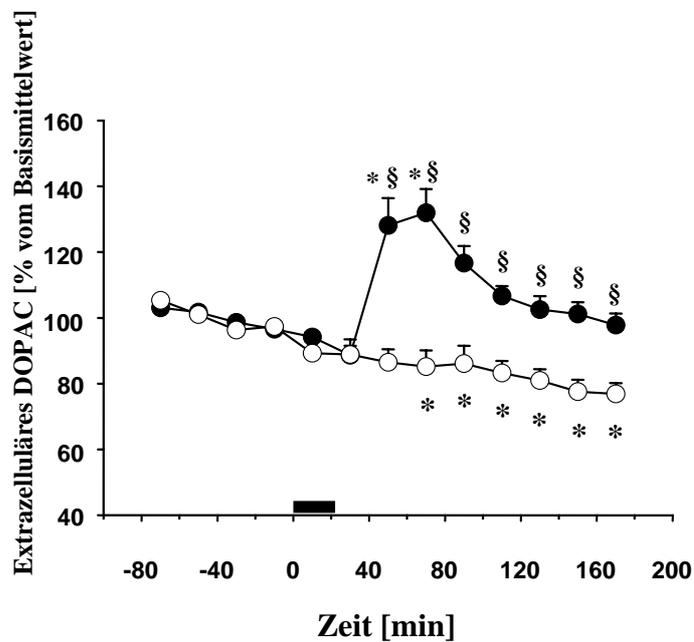


Abbildung 14: Extrazellulär-striatales DOPAC der mit Nomifensin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=5; nicht stimulierte Kontrollen n=6.

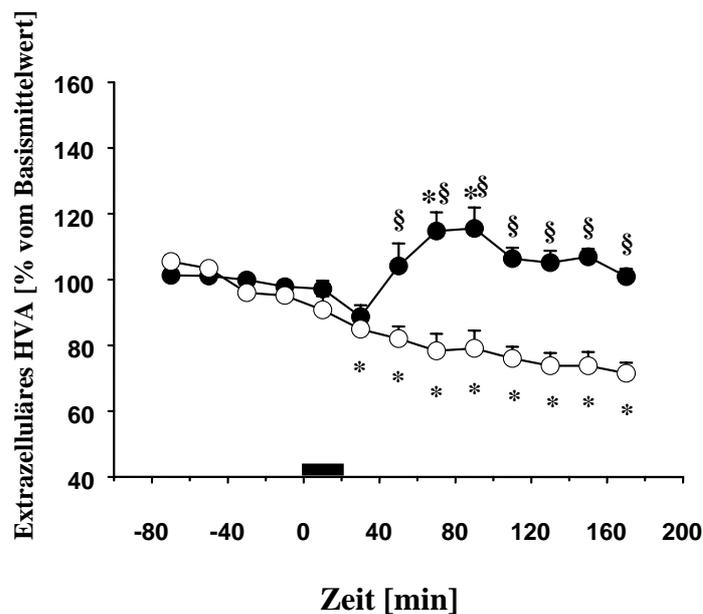


Abbildung 15: Extrazellulär-striatale HVA der mit Nomifensin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=5, nicht stimulierte Kontrollen n=6.

3.4 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Entleerung der vesikulären Katecholaminspeicher durch Reserpin

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 10 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 6 Tiere eingeschlossen.

Die Tiere erhielten etwa 18 Stunden vor Versuchsbeginn Reserpin intraperitoneal in der Konzentration von 5mg/kg KG (siehe Abschnitt 2.3).

In allen Gruppen (STN-HFS und nicht stimulierte Kontrollen) blieb DA während des gesamten Messzeitraumes unterhalb des Detektionslimits von 0,01pmol/20µl Dialysat.

Basiswerte für extrazellulär-striatales DOPAC waren $19,47 \pm 2,38$ pmol/20µl, für HVA $7,08 \pm 1,97$ pmol/20µl. Diese waren damit geringer im Vergleich zu nicht behandelten Kontrolltieren. DOPAC und HVA verhielten sich stabil über den gesamten Messzeitraum im Vergleich zu den Basiswerten (Abbildung 16 und 17).

STN-HFS erhöhte extrazelluläres DOPAC und HVA im Vergleich zu den Basiswerten und zu nicht stimulierten Kontrolltieren (DOPAC maximal $117,3\% \pm 4,5\%$, Abbildung 16; HVA maximal $117,6\% \pm 6,5\%$, Abbildung 17).

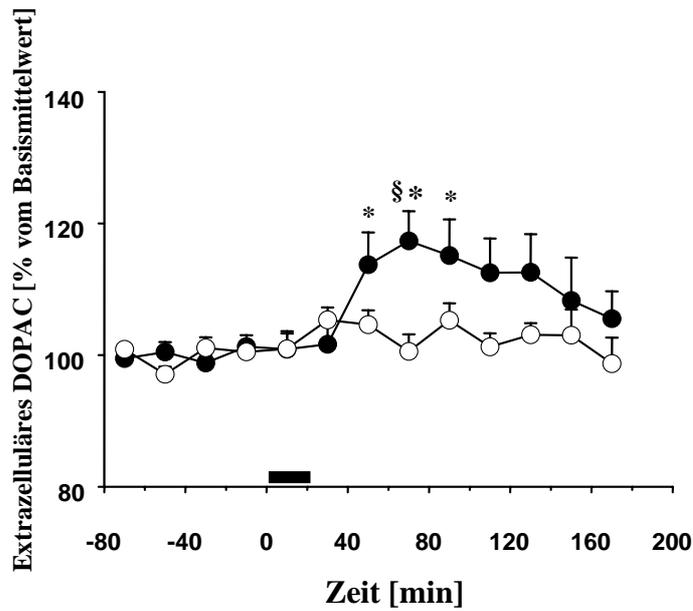


Abbildung 16: Extrazellulär-striatales DOPAC der mit Reserpin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=10; nicht stimulierte Kontrollen n=6. Abbildung 16 und 17: ■■ kennzeichnet die Dauer der STN-HFS. Die Länge des Ablaufschlauches der Sonde verzögerte die zeitliche Auflösung um 10 Minuten. * kennzeichnet signifikante Veränderungen im Verhältnis zu den Basiswerten ($p \leq 0,05$, post-hoc t-Test nach Student, Newman und Keuls). § kennzeichnet signifikante Veränderungen zwischen der stimulierten Gruppe und den nicht stimulierten Kontrolltieren ($p \leq 0,05$, Varianzanalyse für unpaare Daten).

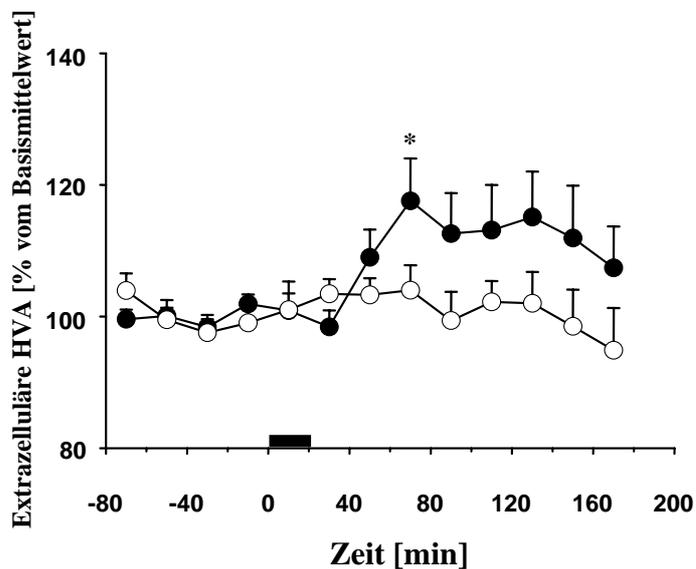


Abbildung 17: Extrazellulär-striatale HVA der mit Reserpin vorbehandelten Gruppe. STN-HFS n=10; nicht stimulierte Kontrollen n=6.

3.5 Einfluss der STN-HFS auf die nigrale und striatale Aktivität der TH

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 10 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 7 Tiere eingeschlossen.

STN-HFS erhöhte die striatale Enzymaktivität der TH ($1,42 \pm 0,11$ pmol/Minute/mg Protein) im Vergleich zur kontralateralen nicht stimulierten Seite desselben Tieres ($1,10 \pm 0,11$ pmol/Minute/mg Protein) und zum ipsilateralen Striatum nicht stimulierter Kontrolltiere ($1,02 \pm 0,16$ pmol/Minute/mg Protein) (Abbildung 18).

Für die TH-Enzymaktivitäten in der SNc ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 18).

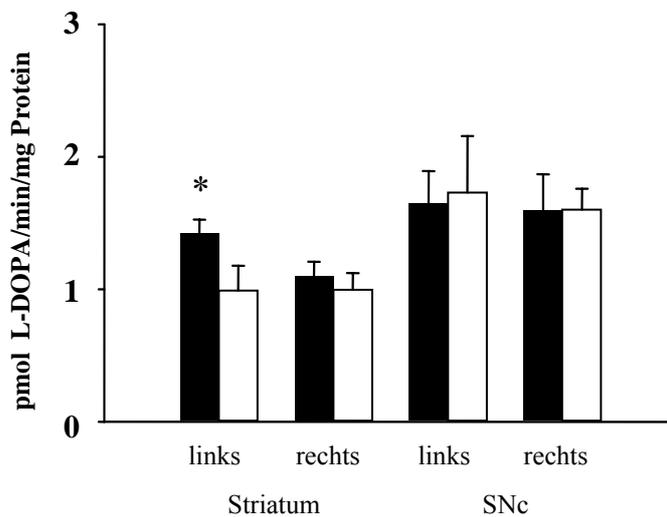


Abbildung 18: Striatale und nigrale Tyrosinhydroxylaseaktivität nach zweistündiger STN-HFS; schwarze Balken STN-HFS n=10; weiße Balken nicht stimulierte Kontrollen n=7. Dargestellt sind die Mittelwerte + Standardfehler. * $p \leq 0,05$ STN-HFS versus kontralaterales Striatum stimulierter Tiere und ipsilaterales Striatum nicht stimulierter Kontrollen (Varianzanalyse für unpaare Daten).

3.6 Einfluss der STN-HFS auf die nigrale und striatale TH-mRNA-Expression

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 10 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 9 Tiere eingeschlossen.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der TH-mRNA-Expression unter STN-HFS in Striatum oder SNc im Vergleich zur nicht stimulierten Seite desselben Tieres und zum ipsilateralen Striatum nicht stimulierter Kontrolltiere (Abbildung 19).

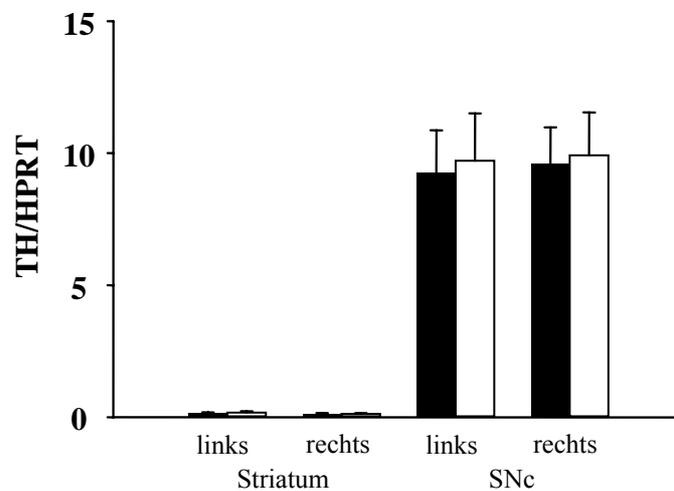


Abbildung 19: Striatale und nigrale TH-mRNA im Verhältnis zum Referenz-Gen HPRT nach 2h STN-HFS. Schwarze Balken STN-HFS n=10, weiße Balken nicht stimulierte Kontrollen n=9. Dargestellt sind die Mittelwerte + Standardfehler.

3.7 Einfluss der STN-HFS auf die striatale TH-Quantität und TH-Phosphorylierung

In die Gruppe mit STN-HFS wurden 5 Tiere, in die Scheinstimulationsgruppe 8 Tiere eingeschlossen.

Der striatale TH-Proteingehalt war in Tieren mit STN-HFS unverändert zu nicht stimulierten Kontrolltieren ($102,6 \pm 7,2\%$ bzw. $100,0 \pm 5,9\%$, $p > 0,5$; Abbildung 20). Durch Zusammenfassen aller pTH-Anteile ergab sich eine signifikant erhöhte TH-Phosphorylierungsrate in der STN-HFS-Gruppe im Vergleich zu nicht stimulierten Kontrollen ($142,4 \pm 12,4\%$ zu $100,0 \pm 11,5\%$, $F_{(1,38)}=5,6$; $p \leq 0,05$; Abbildung 20). Post-hoc t-Tests ergaben für die STN-HFS-Gruppe im Vergleich zu Kontrolltieren im ipsilateralen Striatum signifikant erhöhte Anteile von pTH19 ($162,4\% \pm 31,8\%$ (STN-HFS) zu $100,0\% \pm 22,2\%$ (Kontrollen), $p \leq 0,05$; Abbildung 20). Keine signifikanten Unterschiede wurden für den pTH31-Anteil ($117,3\% \pm 14,1\%$ zu $100,0\% \pm 13,1\%$; $p > 0,5$; Abbildung 20) und den pTH40-Anteil ($147,5\% \pm 11,6\%$ zu $100,0\% \pm 11,6\%$; $p = 0,13$; Abbildung 20) gemessen.

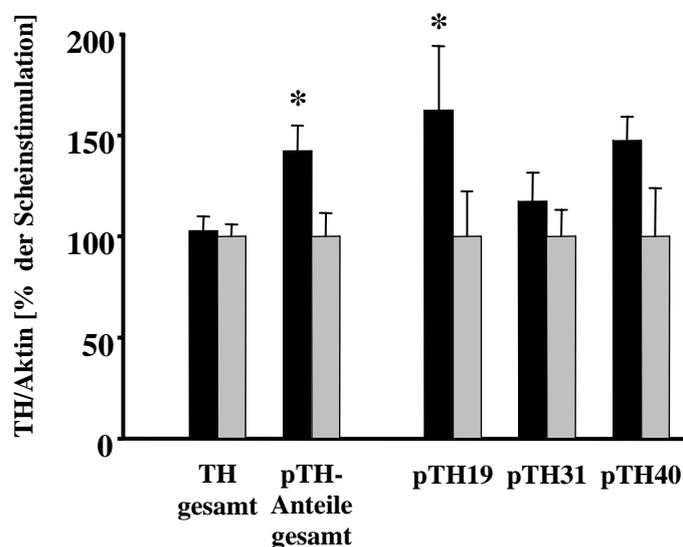


Abbildung 20: Striataler TH-Proteingehalt, TH Gesamt-Phosphorylierungsrate, pTH19, 31 und 40 nach akuter STN-HFS. Angegeben sind jeweils die Relationen als prozentuale Abweichung von den Werten der Scheinstimulation. Schwarze Balken STN-HFS n=5, graue Balken Scheinstimulation n=8. Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte + Standardfehler * $p \leq 0,05$.