

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
am Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Verhaltensanalytische und pharmakologische Untersuchungen in einem
transgenen Mausmodell für die Early-onset-Torsionsdystonie**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Nikola Lange
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3303

Gefördert durch die Forschungskommission der Freien Universität Berlin und
durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.- Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.- Prof. Dr. A. Richter
Zweiter Gutachter: Univ.- Prof. Dr. Dr. R. Einspanier
Dritter Gutachter: Univ.- Prof. Dr. A. Gruber

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

mice, mice, transgenic (MesH), animal models, dystonia (MesH), Dystonic Disorders/genetics (MesH), ganglia, basal ganglia (MesH), dopamine, animal behaviour

Tag der Promotion: 18.06.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-639-1

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Iucundi actes labores.

(Marcus Tullius Cicero)

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis	1
Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	7
2. Literaturübersicht	9
2.1. Dystonien	9
2.1.1. Definition	9
2.1.2. Einteilung und Genetik der Dystonien	9
2.1.2.1. Die Early-onset-Torsionsdystonie (DYT1-Dystonie)	11
2.1.3. Pathophysiologie primärer Dystonien	13
2.1.3.1. Pathophysiologische Bedeutung der Basalganglien	13
2.1.3.2. Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Dopamin (DA)	16
2.1.3.3. Bedeutung des TorsinA für die Early-onset-Torsionsdystonie	21
2.1.4. Therapie primärer Dystonien	24
2.2. Tiermodelle für primäre Dystonien	25
2.2.1. Phänotypische Tiermodelle	26
2.2.2. Ätiologische Tiermodelle: Die DYT1-Maus	28
2.3. Fragestellung der vorliegenden Arbeit	34
2.3.1. Zielstellung und Arbeitshypothese	34
3. Material und Methoden	38
3.1. Material	38
3.1.1. Versuchstiere	38
3.1.2. Haltung und Fütterung	38
3.1.3. Verwendete Substanzen	39
3.2. Methoden	40
3.2.1. Genotypisierung	40
3.2.2. Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens	41
3.2.2.1. Neurologische Reflexe	42
3.2.2.2. Lokomotorische Aktivität	43
3.2.2.3. Katalepsie	44

3.2.2.4.	Koordination	45
3.2.2.5.	Muskelkraft	46
3.2.2.6.	Ganganalyse	47
3.2.2.7.	„Dystonie“-Score	47
3.2.2.8.	Händigkeit und Geschicklichkeit	48
3.2.2.9.	Angstverhalten	50
3.2.3.	Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems	52
3.3.	Statistische Versuchsauswertung	54
3.3.1.	Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens	54
3.3.2.	Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems	55
4.	Ergebnisse	56
4.1.	Genotypisierung	56
4.2.	Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens bei unbehandelten Mäusen	56
4.2.1.	Vitalität und neurologische Reflexe	57
4.2.2.	Lokomotorische Aktivität	57
4.2.3.	Koordination	61
4.2.4.	Muskelkraft	62
4.2.5.	Ganganalyse	64
4.2.6.	Händigkeit und Geschicklichkeit	68
4.2.7.	Angstverhalten	70
4.3.	Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems	72
4.3.1.	Wirkungen von L-DOPA und GBR 12935 in Abhängigkeit vom Alter	72
4.3.1.1.	Akute Effekte von L-DOPA	72
4.3.1.2.	Wirkungen von GBR 12935	82
4.3.2.	Wirkungen von Amphetamin	87
4.3.3.	Wirkungen von D ₁ - und D ₂ -Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten	88
4.3.3.1.	Wirkungen des D ₁ -Rezeptor-Agonisten A 68930	88
4.3.3.2.	Wirkungen des D ₁ -Rezeptor-Antagonisten SCH 39166	89
4.3.3.3.	Wirkungen des D ₂ -Rezeptor-Agonisten Quinpirol	91
4.3.3.4.	Wirkungen des D ₂ -Rezeptor-Agonisten Racloprid	93
4.3.4.	Chronische Effekte von L-DOPA	94

5.	Diskussion	99
5.1.	Aspekte zur Methodik	100
5.1.1.	Genotypisierung	100
5.1.2.	Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens	100
5.1.3.	Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems	106
5.2.	Ergebnisse	109
5.2.1.	Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens bei unbehandelten Mäusen	109
5.2.2.	Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems	113
5.3.	Schlussbetrachtungen	121
6.	Zusammenfassung	124
7.	Summary	126
8.	Literaturverzeichnis	128
9.	Tabellarischer Anhang	147
	Publikationsliste	
	Danksagung	
	Selbstständigkeitserklärung	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzung	Bezeichnung
A 68930	cis-(±)-1-(Aminomethyl)-3,4-Dihydro-3-Phenyl-1H-2-Benzopyran-5,6-diol Hydrochlorid
Abb.	Abbildung
AIM	abnormale unfreiwillige Bewegungen (engl.: abnormal involuntary movement)
AK	Antikörper
bp	Basenpaare
ca.	zirka
Carbidopa	S-(-)- α -Hydrazino-3,4-Dihydroxy-2-Methylbenzenepropansäure
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
COMT	Katecholamin-O-Methyltransferase
d.h.	das heißt
DA	Dopamin
DAT	Dopamintransporter
ddH₂O	bidestilliertes Wasser
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure
DRD	Dopa-responsive Dystonie
EEG	Elektroenzephalografie
EMG	Elektromyelografie
EPN	entopeduncularer Nucleus
ER	Endoplasmatisches Retikulum
g	Gramm
GABA	γ -Aminobuttersäure
GBR 12935	1-(2-Diphenylmethoxyethyl)-4-(3-Phenylpropyl)Piperazin Dihydrochlorid
GP	Globus pallidus
GPe	Globus pallidus externus
GPi	Globus pallidus internus

h	Stunde
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
hMT	humanes (menschliches) mutiertes Gen
HVA	Homovanillinsäure
hWT	humanes (menschliches) Wildtypgen
i.p.	intraperitoneal
KGW	Körpergewicht
L-DOPA	L-3,4-Dihydroxyphenylalanin
LM	Lebensmonat
MAO-A/B	Monoaminoxidase Typ A/B
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
ms	Millisekunden
N.	Nucleus
NaCl	Natriumchlorid
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDC	paroxysmale non-kinesiogene Choreoathetose
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Quinpirol	(4aR-trans)-4,4a,5,6,7,8,8a,9-Octahydro-5-Propyl-1H-pyrazolo(3,4-g)Quinolin Hydrochlorid
Racloprid	3,5-Dichloro-N-(1-Ethylpyrrolidin-2-ylmethyl)-2-Hydroxy-6-Methoxybenzamid (+)-Tartrat
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl.: rotations per minute)
S.E.	Standardfehler
SCH 39166	(6aS-trans)-11-Chloro-6,6a,7,8,9,13b-Hexahydro-7-Methyl-5H-Benzo(d)naphth(2,1-b)azepin-12-ol Hydrobromid
SN	Substantia nigra
SNe	Substantia nigra pars compacta
SNr	Substantia nigra pars reticulata
STN	Subthalamischer Nucleus
Tab.	Tabelle

TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TD	Torsionsdystonie
TH	Tyrosinhydroxylase
THA	Thalamus
VMAT2	Vesikulärer Monoamin Transporter vom Typ 2
WT	Wildtyp
\bar{x}	arithmetisches Mittel
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

1. EINLEITUNG

Die Dystonie ist definiert als ein neurologisches Syndrom, in dem anhaltende Muskelkokontraktionen drehende, repetitive Bewegungen oder abnorme Haltungen verursachen (Fahn, 1988). Mit einer beschriebenen Prävalenz von 40-1800/100000 gehört sie zu den häufigsten Bewegungsstörungen beim Menschen (Nutt et al., 1988; Augood et al., 2002; Wenning et al., 2005). Die Bedeutung bei Haustieren ist hingegen bislang wenig untersucht. Allerdings wurden neurologisch bedingte Bewegungsstörungen bei Scotch Terriern beschrieben (Clemmons et al., 1980), die Parallelen zur sog. primären paroxysmalen Dystonie aufweisen. Außerdem gibt es Beschreibungen dystoner Störungen im Kopfbereich von Pferden (Chang et al., 2008).

Etwa 2/3 der beim Menschen vorkommenden Dystonien sind idiopathisch. Bei ihnen sind mittels Standardtechniken keine pathomorphologischen Veränderungen im Zentralnervensystem (ZNS) nachweisbar (McGeer und McGeer, 1988). Die Pathophysiologie dieser primären Dystonien ist bis heute weitestgehend ungeklärt. Aufgrund von Befunden bei Patienten mit sekundären (symptomatischen) Dystonien werden allerdings Dysfunktionen innerhalb der Basalganglien vermutet. Genanalysen, die Heterogenität des klinischen Erscheinungsbildes und die variable Ansprechbarkeit auf Pharmaka weisen auf unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen bei verschiedenen Dystonieformen hin. Durch eingeschränkte Untersuchungsmöglichkeiten bei Patienten wird die Erforschung des Krankheitsbildes erschwert. Wegen der mangelnden Kenntnis zur Pathophysiologie der verschiedenen Dystonieformen erfolgt die Therapie in der Regel rein empirisch und ist meist nicht ausreichend wirksam, so dass die Erkrankung häufig in schweren Behinderungen mündet (Fahn, 1995).

Tiermodelle, die aufgrund der Heterogenität der Erkrankung für die unterschiedlichen Dystonieformen genau definiert sein müssen, sind daher zur Aufklärung der Pathophysiologie und damit zur Entwicklung geeigneter Therapieansätze unerlässlich. Allerdings müssen solche Tiermodelle vor ihrer Verwendung als Modell genau charakterisiert werden und für eine bestimmte Dystonieform klar definiert sein (Richter und Löscher, 2000). Neben einer verlässlichen und kontinuierlichen Ausprägung sowie Reproduzierbarkeit eines Phänomens (sog. „reliability“) soll ein geeignetes Tiermodell eine möglichst hohe Vergleichbarkeit mit der Erkrankung des Menschen aufweisen (sog. „validity“). Dies bedeutet, dass das Modell die klinischen („face validity“), therapeutischen („predictive validity“) und pathophysiologischen

(„construct validity“) Merkmale einer bestimmten Dystonieform widerspiegeln sollte (Richter und Löscher, 2000; Jinnah et al., 2005). Besonders wichtig für die präklinische Arzneimittelforschung ist das Vorhandensein einer vergleichbaren klinischen Symptomatik, um die Wirkung von Pharmaka auf die Bewegungsstörung direkt beurteilen zu können.

Zur Etablierung eines geeigneten Mausmodells für eine der schwersten Dystonieformen, der sog. „Early-onset-Torsionsdystonie“, haben Shashidharan et al. (2005) das für diese Dystonieform bekannte humane Defektgen (DYT1) in das Erbgut von Mäusen eingebracht. Beschrieben wurden „Dystonie-ähnliche“ Symptome bei diesen DYT1-Mäusen (Shashidharan et al., 2005). Die Symptomatik war nur bei etwa 30-40% der gementragenden Mäuse vorhanden und es wurde zudem eine altersabhängige Progression beschrieben, vergleichbar zu den Beobachtungen bei Patienten (Shashidharan et al., 2005). Allerdings kann durch die Zahl und Art der durchgeführten Untersuchungen zur Charakterisierung dieser Mauslinie bislang keine hinreichende Aussage über die wirkliche Eignung der DYT1-Mäuse als Modell für die Early-onset-Torsionsdystonie getroffen werden. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) generierten Mäuse zunächst verschiedenen verhaltensanalytischen Untersuchungen unterzogen, um die Kriterien der „reliability“ und der „face validity“ zu überprüfen.

Patienten mit einer Early-onset-Torsionsdystonie weisen vermutlich Dysfunktionen des dopaminergen Neurotransmittersystems auf (Augood et al., 2004, Breakefield et al., 2008, Wichmann, 2008). Auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten DYT1-Mäusen wurden in vorangegangenen neurochemischen Untersuchungen Fehlfunktionen des dopaminergen Systems festgestellt (Shashidharan et al., 2005). Um der funktionellen Relevanz dieser Befunde nachzugehen, sollte im Rahmen dieser Arbeit zusätzlich zu den oben genannten Verhaltensanalysen ermittelt werden, ob die beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Störungen bei diesen Mäusen durch einmalige und wiederholte pharmakologische Manipulation mittels dopaminergischer Substanzen möglicherweise verbessert oder verschlimmert werden. Besonderer Wert wurde hierbei auch auf Untersuchungen zu einer möglichen Progression der beschriebenen dystonen Bewegungsstörungen gelegt, wofür die DYT1-Mäuse in verschiedenen Altersstufen untersucht werden sollten. Neben der Ermittlung der „predictive validity“ dieser Mäuse können durch diese pharmakologischen Untersuchungen auch neue Erkenntnisse über die pathophysiologische Bedeutung der Mutation des DYT1-Gens gewonnen werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Dystonien

2.1.1. Definition

Unter Dystonie versteht man ein neurologisches Syndrom, in welchem anhaltende Muskelkokontraktionen verzerrende/drehende und repetitive Bewegungen oder abnorme Haltungen verursachen (Fahn, 1988).

Der Begriff „Dystonie“ wurde 1911 eingeführt (Goetz et al., 2001). Die systematische Erschließung der Erkrankung mit Aufstellen der oben genannten Definition erfolgte erst zwischen 1980 und 1990. 1984 wurde die erste Einteilung der verschiedenen Formen dystoner Bewegungsstörungen durch das AD HOC COMMITÉE der Dystonia Medical Research Foundation beschlossen.

Die in der Literatur angegebenen Prävalenzen schwanken je nachdem ob sekundäre Dystonieformen mit einbezogen und in welchem Alter die Patienten beurteilt werden zwischen 40/100000 und 1800/100000 (Augood et al., 2002; Nutt et al., 1988; Wenning et al., 2005). Es ist allerdings davon auszugehen, dass viele Fälle von Dystonien aufgrund der sehr unterschiedlichen Symptome nicht diagnostiziert werden und somit die tatsächliche Prävalenz höher liegt (Misbahuddin et al., 2005).

Bei unseren Haussäugetieren ist bisher bei den phänotypischen Tiermodellen mit genetischem Hintergrund (s. 2.2.1.) die Dystonie bekannt und untersucht. Des Weiteren wurden von Clemmons und Mitarbeitern (1980) neurologisch bedingte Bewegungsstörungen bei Scotch Terriern beschrieben, die Parallelen zu der primären paroxysmalen Dyskinesie erkennen lassen und Chang und Mitarbeiter (2008) beschrieben dystone Bewegungen im Gesicht-Maulbereich von Pferden. Allerdings gibt es vermutlich aufgrund der oben erwähnten schwierigen Diagnose und der beschränkten Kenntnisse keine weiteren Beschreibungen bei unseren Haustieren.

2.1.2. Einteilung und Genetik der Dystonien

Die Dystonie kann den Dyskinesien (Rostasy et al., 2003) zugeordnet werden. Heute wird allerdings der Begriff Dyskinesie häufig für medikamentös induzierte Bewegungsstörungen gebraucht.

Kokontraktionen von Streck- und Beugemuskulatur sind das Leitsymptom der Dystonie. Dabei ist das Bewusstsein der Betroffenen ungestört (Perlmutter und Mink, 2004). Das

Krankheitsbild ist sehr heterogen in Hinsicht auf die Geschwindigkeit, die Stärke und die Frequenz der dystonen Bewegungen.

Bei der Einteilung unterscheidet man ätiologisch primäre (idiopathische) von sekundären (symptomatischen) Dystonien. Bei den primären Dystonien sind mit Standardtechniken keine pathomorphologischen Veränderungen nachweisbar. Sekundären Dystonien liegen oft pathologische Veränderungen in den Basalganglien zugrunde. Diese entstehen z.B. durch Traumata, Schlaganfälle, metabolische Störungen oder Medikamente. So kann es bei der Behandlung des Morbus Parkinson mit Levodopa zur Ausprägung von Dyskinesien mit dystonen Störungen kommen (Nemeth, 2002; Vitek, 2002).

Bei den primären Dystonien unterscheidet man weiter eine infantile (0-12 Jahre), eine juvenile (13-20 Jahre) und eine adulte Form (> 20 Jahre). Diese Einteilung ist in Hinblick auf die Prognose sehr wichtig, da es bei den infantilen und juvenilen Formen meist zu einer Generalisierung kommt, wohingegen beim Eintritt im Erwachsenenalter die Dystonie häufig fokal begrenzt bleibt (Nemeth, 2002).

Nach topographischen Gesichtspunkten unterscheidet man fokale (lokal begrenzte Dystonien), z.B. in Form des Blepharospasmus oder des Schreib-/Musikerkrampfes, multifokale bzw. segmentale Dystonien (einzelne Körperpartien betroffen) und generalisierte Formen (Fahn, 1988). Abbildung (Abb.) 1 zeigt einen Patienten mit einer generalisierten Dystonie.

Dystonien sind meist permanent vorhanden, können aber durch Stress oder bestimmte Bewegungsabläufe verstärkt werden. Davon sind die seltener vorkommenden paroxysmalen (episodischen) Dystonien abzugrenzen (Nemeth, 2002).

In den letzten Jahren wurden zunehmend Gendefekte identifiziert, die für verschiedene Dystonieformen verantwortlich sind. In Tabelle (Tab.) 1 sind die bisher bekannten genetisch bedingten Dystonien mit ihren Charakteristika zusammengefasst. Meist liegt ein autosomal dominanter Erbgang mit einer geringen Penetranz vor, was darauf hindeutet, dass nicht allein der Gendefekt zur Ausprägung der Dystonie führt. Als auslösende Faktoren werden z.B. Hypoxie, Stress, Virusinfektionen, Umwelteinflüsse oder ein Genpolymorphismus diskutiert (Breakefield et al., 2008).



Abb. 1: Patient mit generalisierter Dystonie. Am deutlichsten ist die Drehung des Rumpfes, aber auch Arme und Beine zeigen Verdrehungen. Dieses Bild wurde mit Zustimmung des Patienten verwendet.

2.1.2.1. Die Early-onset-Torsionsdystonie (DYT1-Dystonie)

Die häufigste genetische Dystonieform ist die Early-onset-Torsionsdystonie (DYT1-Dystonie). Der DYT1-Genort liegt auf Chromosom 9q32-q34. Das Gen wird in den meisten fetalen und adulten Geweben exprimiert und kodiert für das Protein TorsinA (s. 2.1.3.3.). Es besteht aus 5 Exons, wobei eine Mutation auf Exon 5 als genetische Grundlage für das Auftreten der Early-onset-Torsionsdystonie angesehen wird (Bandmann und Müller, 2002; Ozelius et al., 1997). Diese Mutation besteht aus dem Verlust eines GAG (Guanin Adenosin Guanin) Trinukleotids mit der Konsequenz, dass eine Glutaminsäure nahe dem Karboxylende des TorsinA verloren geht (Ozelius et al., 1997). Die Erkrankung beginnt zwischen dem 5. und dem 28. Lebensjahr, einem Alter, das geprägt ist von motorischem Lernen und einer hohen synaptischen Plastizität in den Basalganglien. Meist ist zunächst eine Extremität betroffen. Bei ca. 65% der Patienten kommt es aber zu einer progressiven Generalisierung. Die Symptomatik entspricht oft dem klinischen Erscheinungsbild von Patienten mit generalisierter Dystonie unbekannter Genese (s. Abb. 1). Der Vererbung liegt ein autosomal-dominanter Erbgang zugrunde und die Erkrankung weist eine Penetranz von nur 30-40% auf (Bandmann und Müller, 2002; Bressman, 2006). Die Prävalenz der DYT1-Mutation ist in Familien der Ashkenazi Juden besonders hoch (1/9000), in der Gesamtbevölkerung liegt die Prävalenz bei 1/160000, wobei auch hier davon auszugehen ist, dass die tatsächliche Prävalenz höher liegt (Bressman et al., 2000).

Abkürzung	Dystonieform	Erbgang	Genort	Genprodukt
DYT1	Early-onset-TD	autosomal-dominant	9q32-q34	TorsinA
DYT2	Autosomal-rezessive TD	autosomal-rezessiv		
DYT3	X-chromosomales Dystonie-Parkinson-Syndrom „Lubag“	X-chromosomal-rezessiv	Xq13.1	Gentranskriptionsfaktor TAF1
DYT4	„Nicht-DYT1“- TD	autosomal-dominant		
DYT5a	Dopa-responsive-Dystonie -Parkinson-Syndrom	autosomal-dominant	14q22.1-2	GTP-Zyklohydrolase I
DYT5b (DYT14)		autosomal-rezessiv	11p15.5	Tyrosinhydroxylase
DYT6	Gemischte TD mit Beginn im frühen Erwachsenenalter	autosomal-dominant	8p21–8p22	
DYT7	Fokale TD mit Beginn im Erwachsenenalter	autosomal-dominant	18p	
DYT8	Paroxysmale dystone Choreoathetose (PDC)	autosomal-dominant	2q33-25	Myofibrillogenese-regulator I
DYT9	PDC mit episodischer Ataxie und Spastizität	autosomal-dominant	1p21	
DYT10	Paroxysmale kinesiogene dystone Choreoathetose	autosomal-dominant	16p-q12	
DYT11	Myoklonusdystonie	autosomal-dominant	7q21	ϵ -Sarkoglykan
DYT12	Dystonie-Parkinson-Syndrom mit plötzlichem Beginn	autosomal-dominant	19q13	α 3-Untereinheit einer Na ⁺ -K ⁺ -ATPase
DYT13	Segmentale TD mit juvenilem Beginn	autosomal-dominant	1p36.13-36.32	
DYT15	Myoklonusdystonie	autosomal-dominant	18p	
DYT16	Generalisierte TD mit frühem Beginn	autosomal-rezessiv	2q	Stressantwortprotein PRKRA

Tab. 1: Genetisch bedingte Dystonien: Zusammenfassung der bisher bekannten genetischen Dystonien mit Dystonieform, Erbgang, Genort und Genprodukt (TD = Torsionsdystonie) (modifiziert nach Schmidt et al., 2008).

2.1.3. Pathophysiologie primärer Dystonien

Das Hauptcharakteristikum von Dystonien sind unwillkürliche Muskelkokontraktionen von agonistischen und antagonistischen Muskeln, die zu schraubenartigen Verdrehungen führen (Fahn, 1988; Hallett, 1993). Mit Hilfe von elektromyographischen Untersuchungen (EMG) konnten diese Muskelkokontraktionen in 3 Typen unterteilt werden: lang anhaltende Spasmen, mit einer Dauer von mehreren Sekunden (s), repetitive, rhythmische Kokontraktionen mit einer Dauer von 200-500 ms und kurze, irreguläre Kokontraktionen von <100 ms (Rothwell, 1995). Bei fokalen und generalisierten Dystonien wurde eine reduzierte reziproke Hemmung von spinalen- und Hirnstammreflexen nachgewiesen (Hallett, 1993, 1998a, 1998b; Vitek, 2002). Durch transkranielle Magnetstimulationen wurde eine erhöhte kortikale motorische Erregbarkeit bei Dystonie-Patienten festgestellt (Rothwell, 1995).

Die Pathophysiologie der primären Dystonie ist bis heute nicht geklärt. Es wird vermutet, dass der nachgewiesene Verlust der Inhibition von spinalen- und Hirnstammreflexen das Resultat veränderter absteigender Projektionen zu den inhibitorischen Neuronen ist, die indirekt durch die Aktivität höher geschalteter Zentren, wie den Basalganglien, moduliert werden (Richter und Löscher, 1998; Vitek, 2002). Obwohl keine neuropathologischen Veränderungen durch Computertomographie, Magnetresonanzstudien oder postmortale histopathologische Untersuchungen nachgewiesen werden konnten, wird die idiopathische Dystonie zu den Basalganglienerkrankungen gezählt (Marsden und Quinn, 1990). Dafür sprechen Befunde bei Patienten mit sekundärer Dystonie, da sie häufig mit Läsionen im Striatum, Globus pallidus (GP) und/oder Thalamus (THA) assoziiert sind (Berardelli et al., 1998; Vitek, 2002). Bei Patienten mit primärer Dystonie wurden verminderte Entladungsraten des Globus pallidus internus (GPi) (Vitek, 2002) sowie eine verminderte Aktivität von Neuronen des subthalamischen Nucleus (STN) gefunden (Zhuang et al., 2004). Außerdem sind nachweisliche Basalganglienerkrankungen, wie z.B. die Parkinson'sche Krankheit und Chorea Huntington, häufig von Dystonien begleitet (Richter und Löscher, 1998). Ein weiterer Hinweis ist, dass ein Dopaminmangel in den Basalganglien bei der Dopa-responsiven Dystonie (DRD) zur Ausprägung der Symptome führt (Hallett, 1998b).

2.1.3.1. Pathophysiologische Bedeutung der Basalganglien

Die Basalganglien umfassen verschiedene miteinander verschaltete subkortikal gelegene Kerne. Diese erhalten okkulomotorische, motorische, assoziative und limbische Informationen, verarbeiten diese und leiten sie über den THA zu frontalen Kortexarealen zurück (De Repentigny et al., 2003; Smith et al., 1998).

Zu den Basalganglien zählen der Nucleus (N.) caudatus, der N. lentiformis (bestehend aus Putamen und GP), das dorsale Striatum, der N. accumbens (ventrales Striatum), der STN und die Substantia nigra (SN) (Smeets et al., 2000). Der GP besteht beim Primaten aus einem inneren (GPi) und einem äußeren Segment (GPe). Dabei entspricht der GPi dem entopeduncularen N. (EPN) und der GPe dem GP des Nagers. Der N. caudatus und das Putamen werden nur beim Primaten durch die Capsula interna getrennt, sie bilden gemeinsam das dorsale Striatum (nachfolgend nur noch als Striatum bezeichnet). Die SN besteht aus einer Pars compacta (SNc) und einer Pars reticulata (SNr). Melaninhaltige (schwarze) Neurone in der SNc haben der Region ihren Namen gegeben (Keyserlingk, 2006; Smith et al., 1998).

Etwa 90% der Neurone der Basalganglien sind Projektionsneurone, die ihre Informationen in andere Hirnregionen weiterleiten, 10% sind Interneurone (Keyserlingk, 2006). Abb. 2 A zeigt eine vereinfachte schematische Darstellung der Verknüpfungen innerhalb der Basalganglien. Die Basalganglieneingangsstruktur ist das Striatum. Dieses bekommt vor allem exzitatorische glutamaterge und aspartaterge Informationen vom zerebralen Kortex, sowie von der SNc dopaminerge Zuströme. Motorische und sensible Informationen werden ins Putamen, assoziative Informationen in den N. caudatus und limbische Informationen in den N. accumbens projiziert. Unter Ruhebedingungen ist die Aktivität dieser Neurone relativ niedrig im Vergleich zu den tonisch aktiven Neuronen des GP und STN. Aktivierung des kortiko-striatalen Weges führt zu einer erhöhten Aktivität der Neurone des Striatums. Vom Striatum aus gibt es einen direkten (striato-nigralen) und einen indirekten (striato-pallidalen) Weg zu den Ausgangsstrukturen (GPi und SNr). Die Neurone beider Wege setzen den inhibitorischen Neurotransmitter γ -Aminobuttersäure (GABA) frei. Durch den direkten Weg werden die Ausgangsstrukturen gehemmt, wodurch der THA weniger inhibiert wird. Dies verstärkt die exzitatorische Wirkung auf den prefrontalen Kortex. Der indirekte Weg hemmt den GPe, wodurch dieser den STN vermindert hemmt. Dieser erregt dadurch vermehrt die Ausgangsstrukturen und dies führt zur stärkeren Hemmung des THA. Durch diese Kette wird die exzitatorische Wirkung des THA auf die Kortexareale vermindert (Keyserlingk, 2006; Smith et al., 1998). Auf die beiden Wege wirken dopaminerge Neurone der SNc regulierend. Dabei wird über D_1 -Rezeptoren der direkte Weg aktiviert und über D_2 -Rezeptoren der indirekte Weg gehemmt (Vitek und Giroux, 2000). Beides führt somit zu einer verminderten Aktivierung der Basalganglienausgangsstruktur. Über die Pyramidenbahn projiziert der primäre motorische Kortex dann zu spinalen Motoneuronen, die die Körpermuskeln innervieren (Schmidt et al., 2008). Unter physiologischen Bedingungen geht man davon aus, dass der direkte Weg kortikal initiierte Bewegungen verstärkt, während der indirekte Weg

antagonistische oder ungewollte Bewegungen inhibiert und sich die beiden Wege im Gleichgewicht befinden. Somit müssten Störungen in diesem Gleichgewicht zu hypokinetischen (Bewegungsverminderung) oder hyperkinetischen (überschießende Bewegungsverstärkung) Bewegungsstörungen führen (Vitek, 2002).

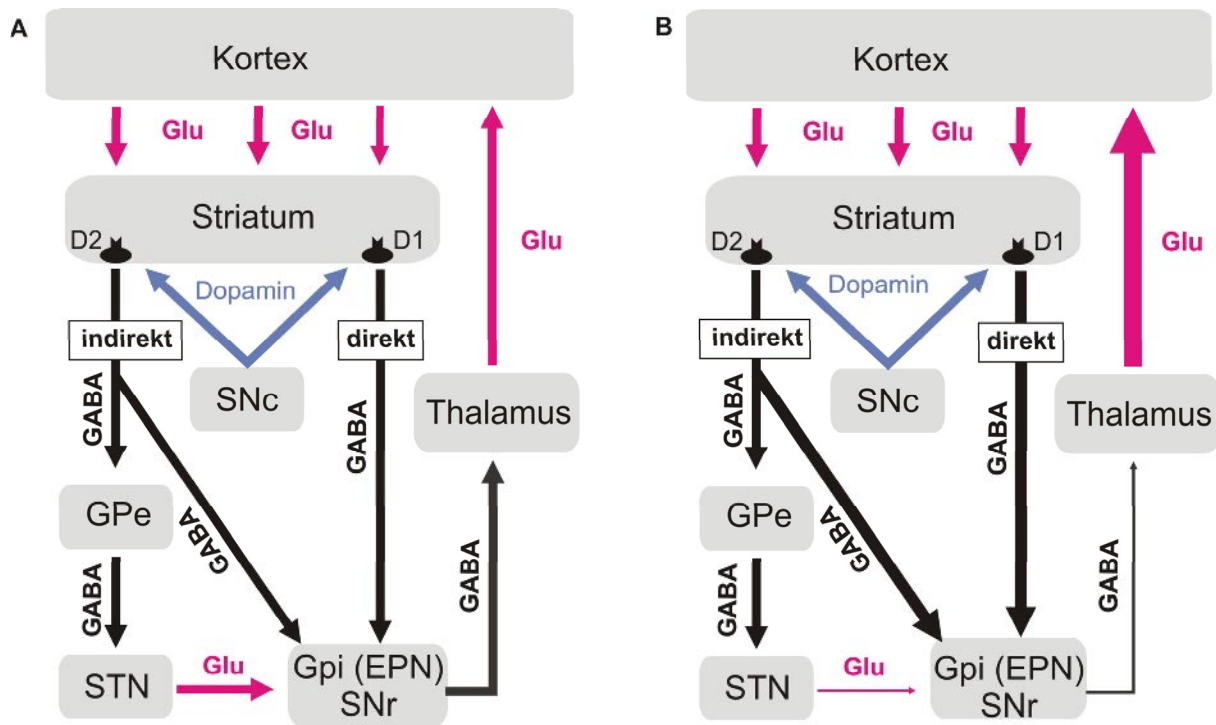


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung wichtiger Verbindungen innerhalb der Basalganglien unter physiologischen Bedingungen (A) und die Hypothese zur Entstehung hyperkinetischer Bewegungsstörungen (B). Dargestellt ist die sog. kortiko-striato-thalamo-kortikale Feedbackschleife. Das Striatum erhält glutamaterge Informationen aus dem Kortex, die über GABAerge Projektionsneurone direkt oder indirekt über GPe (GABAerg) und STN (glutamaterg) zu den Basalganglienausgangsstrukturen (GPi [EPN], SNr) weitergeleitet werden. Von dort leiten ebenfalls GABAerge Neurone die Informationen zum Thalamus, der wiederum glutamaterg zum Kortex projiziert. Dopaminerge Projektionen greifen regulierend auf die beiden Wege ein. Der Hemiballismus (B) kann durch eine Läsion des STN verursacht werden. Die mangelnde Erregung des Basalganglienausgangskomplexes führt zu einer Disinhibition thalamischer Kerne. Als Folge tritt eine verstärkte Aktivität thalamokortikaler Neurone ein. (Glu = Glutamat; GPe: Globus pallidus externus, GPi: Globus pallidus internus, EPN: Nucleus entopeduncularis, SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, STN: subthalamischer Nucleus). Nach Vitek und Giroux, 2000.

Bei Hypokinesien wie z.B. der Parkinson'schen Krankheit kommt es zu Akinesie oder Bradykinesie, Muskelrigidität, gestörter Bewegungsinitiation sowie teils auch zu einem Ruhetremor. Ein Mangel an Dopamin (DA) im Striatum, durch Degeneration dopaminerger Neurone in der SNc, führt über den indirekten und den direkten Weg zu einer erhöhten Aktivität der Basalganglienausgangsstruktur (GPi), was zu einer Überinhibition

thalamokortikaler Neurone führt (Rouse et al., 2000).

Hyperkinetische Erkrankungen wie der Hemiballismus und Chorea Huntington sind durch unkontrollierte und relativ schnelle Bewegungen gekennzeichnet, denen pathophysiologische Veränderungen der Basalganglien zugrunde liegen (Vitek und Giroux, 2000). So kann der Hemiballismus die Folge eines Schlaganfalls sein, wenn durch diesen der STN stark beschädigt wurde. Wie Abb. 2B zeigt, werden diese Symptome auf eine reduzierte Erregung der Basalganglienausgangsstruktur zurückgeführt. Dadurch kommt es zu einer verminderten inhibitorischen Aktivität auf den THA und in der Folge zu einer erhöhten Erregung des Kortex (Vitek, 2002).

Lange wurden die in Kapitel 2.1. detailliert beschriebenen Dystonien aufgrund ihrer Symptomatik den hyperkinetischen Bewegungsstörungen zugeordnet. Vor allem elektrophysiologische Untersuchungen an Dystonie-Patienten konnten jedoch zeigen, dass die oben beschriebene Annahme der pathophysiologischen Veränderungen für hyperkinetische Bewegungsstörungen, für die Dystonie so zu vereinfacht dargestellt ist. Bei Patienten mit primärer Dystonie wurde mittels elektrophysiologischen Untersuchungen eine verminderte Entladungsrate von Neuronen des GPi festgestellt, wodurch der THA enthemmt wird und dieser daher den Kortex vermehrt erregt. Eine chronische Stimulation des GPi führt daher zu einer Besserung der Symptome. Im Widerspruch dazu führt allerdings auch eine Pallidotomie zu einer Verbesserung der Symptome der Dystonie. Daher geht man des Weiteren von einem veränderten Entladungsmuster pallidaler Neurone aus (Vitek, 2002). Eine andere Studie hat außerdem Veränderungen in der Entladungsrate des ventralen lateralen Thalamuskerns nachgewiesen, dies könnte ein Grund dafür sein, dass eine Thalamotomie zu einer Verbesserung von Dystonien führt. Ebenso wurde eine verminderte Aktivität von Neuronen des STN festgestellt (Zhuang et al., 2004), was eine herabgesetzte glutamaterge Erregung des GPi (EPN) nach sich zieht (vgl. Abb. 2 B).

2.1.3.2. Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Dopamin (DA)

Fehlfunktionen des dopaminergen Systems scheinen für die Entstehung von Dystonien eine entscheidende Rolle zu spielen. DA (3,4-Dihydroxyphenylethylamin) gehört zu den Katecholaminen. Die Synthese der Katecholamine erfolgt in mehreren Schritten (s. Abb. 3) und findet im Zytoplasma statt. Der Vorläufer aller Katecholamine ist L-Tyrosin. Dieses wird durch das Enzym Tyrosinhydroxylase (TH) zu 3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA oder Levodopa) hydroxyliert, ein Vorgang, der den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Synthese darstellt. Im nächsten Schritt wird L-DOPA durch das Enzym DOPA-

Decarboxylase zu DA decarboxyliert (s. Abb. 3). In dopaminergen Neuronen ist dies der Endpunkt der Synthese. In noradrenergen Neuronen hingegen kann DA durch das Enzym Dopamin- β -Hydroxylase weiter zu Noradrenalin umgesetzt werden (Verheij und Cools, 2008).

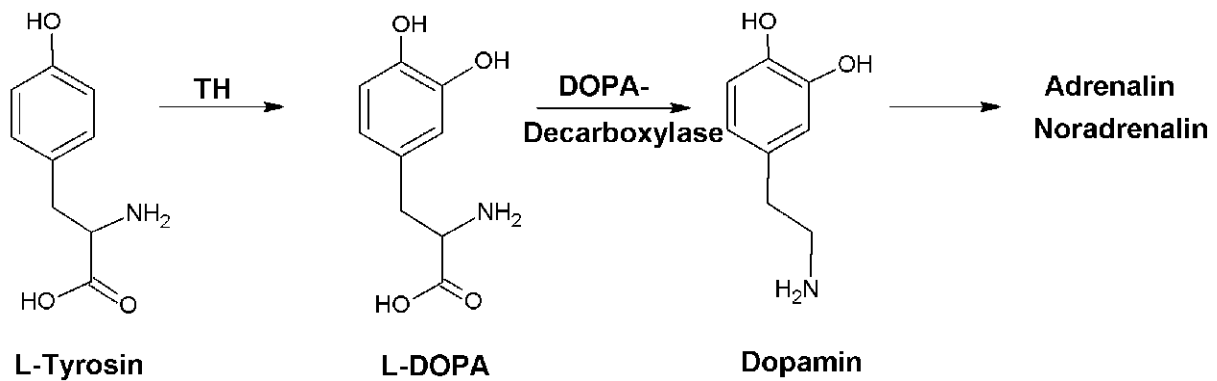


Abb. 3: Schematische Darstellung der **Dopaminsynthese**. L-Tyrosin wird durch die Tyrosinhydroxylase (TH) zu L-DOPA und dieses durch die DOPA-Decarboxylase zu DA umgesetzt.

Die Speicherung von DA erfolgt in Vesikeln (s. Abb. 4). Für die Aufnahme des DA in diese Vesikel sind im ZNS vesikuläre Monoamin-Transporter vom Typ 2 (VMAT2) verantwortlich (Iversen, 2006; Liu et al., 1992). Die Freisetzung von DA in den synaptischen Spalt erfolgt aufgrund von Nervenimpulsen (Iversen, 2006). Postsynaptisch befinden sich Dopaminrezeptoren, an die das DA bindet und auf diese Weise Reaktionskaskaden auslöst. Das DA aus dem synaptischen Spalt wird entweder durch den Dopamintransporter (DAT) wieder in die Nervenendigung aufgenommen oder im synaptischen Spalt abgebaut (Barneoud et al., 1996). Wiederaufgenommenes DA kann entweder durch VMAT2 zurück in Vesikel transportiert und gespeichert (Recycling) oder abgebaut werden. Dieser Abbau erfolgt intraneuronal durch die Enzyme Monoaminoxidase Typ A oder B (MAO-A/-B) oder extraneuronal durch die Katecholamin-O-Methyltransferase (COMT). Dabei entstehen über Zwischenprodukte die Metabolite 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (DOPAC) und Homovanillinsäure (HVA) (s. Abb. 4), welche über den Harn ausgeschieden werden (Hutson und Curzon, 1983; Löschmann und Schulz, 1997).

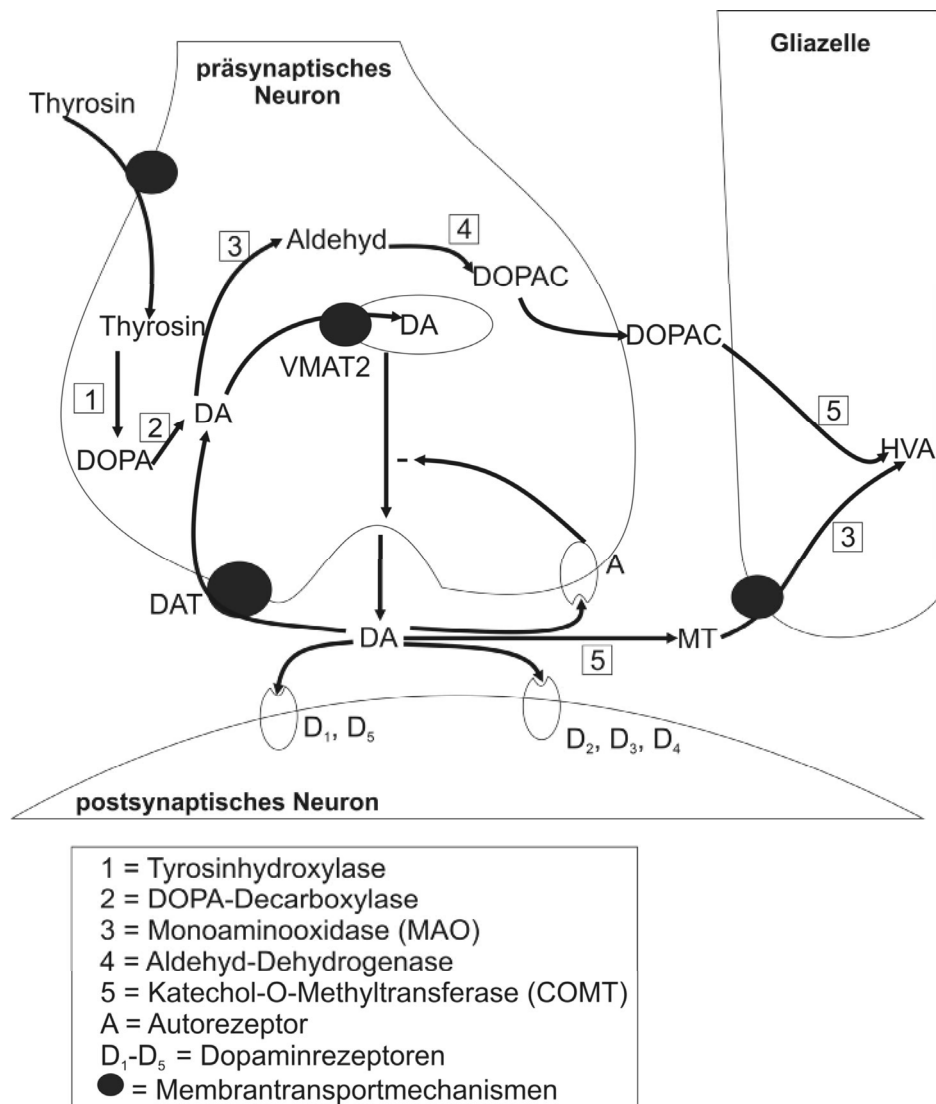


Abb. 4: Schematische Darstellung der synaptischen Übertragung durch Dopamin sowie dessen Abbau. Nach der Synthese von DA wird dieses in Vesikeln gespeichert. Trifft ein Nervenimpuls ein, so wird das DA in den synaptischen Spalt entlassen. Dort kann es postsynaptisch an Dopaminrezeptoren binden, über DAT wieder ins Neuron aufgenommen oder durch COMT abgebaut werden. Wiederaufgenommenes DA kann entweder in Vesikeln gespeichert werden (Recycling) oder wird über MAO abgebaut werden. Über D₂ Autorezeptoren kann außerdem die Ausschüttung gehemmt werden. (DA = Dopamin, DOPAC = 3,4-Dihydroxyphenylethylsäure, DAT = Dopamintransporter, HVA = Homovanillinsäure, MT = Methoxytyramin; VMAT2 = Vesikulärer Monoamin Transporter vom Typ 2). Modifiziert nach Starke 2005.

Die Dopaminrezeptoren gehören zu den transmembranären G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Zunächst wurden 2 Dopaminrezeptortypen (D₁ und D₂) identifiziert (Kebabian und Calne, 1979). Aufgrund neuerer Techniken sind heute 5 Dopaminrezeptorsubtypen bekannt. Da der D₅-Rezeptor strukturelle und pharmakologische Gemeinsamkeiten mit dem D₁-Rezeptor aufweist, werden diese Rezeptoren zur Gruppe der D₁-ähnlichen Rezeptoren

zusammengefasst. Allerdings besitzt der D₅-Rezeptor eine wesentlich höhere Affinität zu DA als der D₁-Rezeptor. Der D₃- und der D₄-Rezeptor weisen strukturelle und pharmakologische Gemeinsamkeiten mit dem D₂-Rezeptor auf und werden daher zu den D₂-ähnlichen Rezeptoren gezählt (Jaber et al., 1996; Seeman und Van Tol, 1994). Die Aktivierung von D₁-ähnlichen Rezeptoren führt zur Aktivierung einer Adenylatcyclase, wodurch es zur Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat kommt. Aktivierung der D₂-ähnlichen Rezeptoren hingegen führt zur Hemmung der Adenylatcyclase-Aktivität (Clark und White, 1987). Beide Rezeptortypen kommen postsynaptisch vor, der D₂-Rezeptor wurde allerdings auch präsynaptisch gefunden, wo er als Autorezeptor die Transmitterfreisetzung hemmt (Hahn et al., 2006). Für die Verteilung der Dopaminrezeptortypen gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben. Insgesamt weisen immunhistochemische Untersuchungen (nachgewiesenes Protein) und in-situ-Hybridisierungs-Studien (Nachweise von mRNA) auf folgende Verteilung hin: D₁-Rezeptoren findet man vor allem in den Basalganglien, im N. accumbens, im Tuberculum olfactorium und in geringer Dichte im Kortex, THA, Hypothalamus, Hippocampus und Kleinhirn. Die Verteilung der D₂- und D₃-Rezeptoren entspricht der des D₁-Rezeptors. D₄-Rezeptoren findet man in der Amygdala, im kaudalen Putamen, im Hypothalamus, in der SN und im Kortex. D₅-Rezeptoren findet man in den Basalganglien, dem THA, dem Tuberculum olfactorium, dem Hippocampus, dem Kortex, dem Kleinhirn und im Hypothalamus (zur Übersicht: Levant, 1996).

Die vier wichtigsten dopaminergen Systeme im ZNS sind das nigrostriatale (Projektion von der SNc ins Striatum), das mesolimbische (Projektion von der ventralen tegmentalen Area zum N. accumbens), das mesokortikale (ventrale tegmentale Area-Efferenzen zum Kortex) und das tuberoinfundibuläre System (Verbindung zwischen N. arcuatus und medialer Eminenz). Für die Motorik von besonderer Bedeutung ist das nigrostriatale System (Jaber et al., 1996; Marsden, 2006). Im nigrostriatalen System führen Dopaminagonisten zu einer Abnahme der Zellaktivität dopaminergener Neurone, einer Abnahme des Dopaminumsatzes und des Dopaminkatabolismus. Dopaminantagonisten bewirken das Gegenteil und beschleunigen die Dopaminsynthese (Cooper et al., 1991). Die im Striatum gelegenen GABAergen Neurone des direkten Weges exprimieren überwiegend D₁-Rezeptoren. Bei Aktivierung dieser Rezeptoren durch DA wird die hemmende Wirkung der Neurone auf den GPi verstärkt. Die Projektionsneurone des indirekten Weges exprimieren überwiegend D₂-Rezeptoren, bei Aktivierung durch DA folgt eine verminderte Hemmung des GPe, welcher dadurch den STN vermehrt hemmt. Als Folge wird der GPi durch den STN weniger erregt (Levey et al., 1993). Beide Wirkungen führen dazu, dass der GPi den THA weniger hemmt und somit die

erregende Aktivität des THA auf den Kortex verstärkt (vgl. Abb. 2). Bei einem Überangebot von DA kommt es daher durch die Hemmung des indirekten Weges und die Verstärkung des direkten Weges zu hyperkinetischen Syndromen (DeLong, 1990). Ein striataler Dopaminverlust hat hingegen eine Überaktivität des indirekten Weges sowie eine verminderte Aktivität des direkten Weges und dadurch eine reduzierte Inhibition der Ausgangsstrukturen der Basalganglien zur Folge. Somit kommt es zu einer vermehrten Hemmung des THA, wodurch ein hypokinetisches Syndrom entsteht (DeLong, 1990).

Je nach Dystonieform konnten bei Patienten unterschiedliche Veränderungen im dopaminergen System festgestellt werden. So wurde eine verminderte Bindung von DA an D₂-Rezeptoren im Putamen von Patienten mit fokaler und DYT1-Dystonie gefunden, während bei Patienten mit einer DRD eine erhöhte D₂-Rezeptorbindung nachgewiesen wurde (Breakefield et al., 2008). In Übereinstimmung mit der guten Wirksamkeit von L-DOPA führt ein Dopaminmangel in den Basalganglien bei der DRD zur Ausprägung der Symptome (Hallett, 1998b). In Gehirnen von DYT1-Patienten wurden sowohl erniedrigte als auch normale Dopaminspiegel sowie erhöhte DOPAC-Spiegel im Striatum beschrieben, was für einen erhöhten Dopaminumsatz spricht. Des Weiteren zeigten rezeptorautoradiographische Untersuchungen eine verminderte Liganden-Bindung an D₁- und D₂-ähnliche Rezeptoren (Augood et al., 2004; Wichmann, 2008). Die Zellen der SNc waren bei DYT1-Patienten größer als bei nicht betroffenen Personen, wobei sich die Anzahl nicht unterschied (Rostasy et al., 2003).

Die Erforschung der Pathophysiologie ist dadurch erschwert, dass es viele Dystonienformen gibt und somit nicht genügend Patienten mit einer bestimmten Dystonieform vor Ort untersucht werden können. Die Heterogenität in Symptomatik und Genetik und die bereits vorhandenen Untersuchungsergebnisse lassen vermuten, dass den zahlreichen Dystonieformen auch unterschiedliche Pathomechanismen zugrunde liegen. Daher sollten Untersuchungen an Humanpatienten in möglichst homogenen und gut charakterisierten Gruppen erfolgen (Spinella und Sheridan, 1994). So ist bisher nur für die DRD bekannt, dass ihr ein Dopaminmangel infolge einer mangelnden Dopaminsynthese zugrunde liegt (Nemeth, 2002). Für andere Dystonieformen, bei denen Dopaminrezeptorantagonisten wirksam sind, liegt eher die Vermutung einer erhöhten dopaminergen Aktivität nahe. Untersuchungen der Zerebrospinalflüssigkeit ergaben in einer Großfamilie mit PDC erhöhte Monoaminspiegel während dystoner Attacken. Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mit einem D₂-Rezeptorliganden zeigten bei denselben Patienten keine Rezeptorveränderungen (Jarman et al., 2000). In PET-Bindungsstudien mit einem VMAT2-Liganden konnten bei PDC-Patienten

ebenfalls keine Abweichungen festgestellt werden (Bohnen et al., 1999). In einem Patienten mit paroxysmaler Übungs- („exercise-“) induzierten Dystonie wurde nach einer dystonen Attacke eine erhöhte Konzentration von Dopaminmetaboliten in der Zerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen (Barnett et al., 2002). Bei PET-Untersuchungen wurde bei Patienten mit DRD eine reduzierte bis normale Aufnahme des Markers [^{18}F]-DOPA festgestellt (Sawle et al., 1991), wohingegen bei anderen Dystonie-Patienten eine erhöhte bzw. normale striatale Aufnahme vorhanden war (Otsuka et al., 1992). Untersuchungen mittels PET bei Patienten mit fokalen Dystonien deuten auf eine gestörte Inhibition verschiedener Bereiche im ZNS hin. Außerdem wird eine erhöhte Plastizität des motorischen Kortex bei der fokalen Handdystonie angenommen. Ebenfalls für die fokale Handdystonie wird eine abnormale sensorische Funktion angenommen, die zwar in der Klinik nicht auffällt, aber mit speziellen Tests nachweisbar ist (Hallett, 1998a, , 2006).

Bisher beschränken sich Überlegungen und Untersuchungen zu biochemischen Fehlfunktionen weitgehend auf das dopaminerge System. Dopaminerge Fehlfunktionen könnten aber lediglich eine Folge verminderter GABAerger Inhibition sein (Gernert et al., 2000; Hamann und Richter, 2004; Richter und Löscher, 1998). Allerdings wurden der inhibitorische Neurotransmitter GABA und die exzitatorischen Aminosäuren (Glutamat, Aspartat), die in den Basalganglien eine große Rolle spielen, bislang bei Dystonie-Patienten kaum untersucht.

Die eingeschränkten Untersuchungen mit nicht invasiven Methoden und die oben erwähnte geringe Patientenzahl erschweren die Erforschung humaner Dystonien. Aufgrund dieser Problematik besteht ein großer Bedarf an geeigneten, gut charakterisierten Tiermodellen für die unterschiedlichen Formen der Dystonie. Durch solche Tiermodelle sind einerseits Untersuchungen an einer geeigneten Anzahl von Tieren möglich, andererseits können invasive Methoden zur Erforschung einzelner Fragestellungen durchgeführt werden (Richter und Löscher, 1998).

2.1.3.3. Bedeutung des TorsinA für die Early-onset-Torsionsdystonie

Das Protein TorsinA wird vom DYT1- (Synonym: TOR1A) Gen codiert. Es ist ein 332 Aminosäuren langes Protein mit einem Molekulargewicht von ungefähr 37 Kilo-Dalton (Ozelius et al., 1997) und gehört in die Gruppe der AAA⁺ Proteine (ATPase Associated with a variety of cellular Activities) (Neuwald et al., 1999). Diese Proteine sind unter anderem an der Faltung und korrekten Lage anderer Proteine beteiligt (Ozelius et al., 1999).

TorsinA kommt in fast allen Geweben des Körpers vor. Im Gehirn wird es in besonders hohen

Konzentrationen in den dopaminergen Neuronen der SN exprimiert. Außerdem wurden noch hohe Konzentrationen im Zerebellum, in unterschiedlichen Thalamuskernen, dem Hippocampus und dem frontalen Kortex gefunden (Augood et al., 1999). Dabei ist TorsinA normalerweise vor allem im Lumen des Endoplasmatischen Retikulums (ER) lokalisiert (Ozelius et al., 1997). Neuere Studien in Zellkulturen konnten allerdings TorsinA auch im Lumen der Kernmembran nachweisen (Giles et al., 2008; Goodchild et al., 2005). In der Literatur gibt es unterschiedliche Auffassungen darüber, ob es sich bei TorsinA um ein transmembranäres Protein handelt (Hewett et al., 2000; Liu et al., 2003) oder es nur an transmembranäre Membranproteine bindet und somit dynamisch mit der Membran des ER interagiert (Callan et al., 2007; Zhao et al., 2008b). In Gehirnen von Kindern konnte TorsinA ab einem Alter von 6 Wochen nachgewiesen werden, wobei die Konzentrationen bis zum Alter von 2 Monaten anstieg. Einzige Ausnahme war die SN, in der es schon im Alter von 4 Wochen nachgewiesen werden konnte (Siegert et al., 2005).

Über die physiologische Funktion des TorsinA ist noch wenig bekannt. Untersuchungen in Zellkulturen haben gezeigt, dass es nach Hinzufügen von TorsinA zu einer Verlagerung des DAT von der Zelloberfläche ins Zellinnere kommt. Hier liegt dieser dann mit TorsinA kolokalisiert vor. Auch für den Anti-Norepinephrin-Transporter und andere polytope G-Protein-gekoppelte Transporter konnte eine Verlagerung ins Zellinnere in Anwesenheit von TorsinA nachgewiesen werden (Torres et al., 2004). Ebenfalls wurde eine Verbindung von TorsinA zu verschiedenen Proteinen, die am Aufbau des Zytoskeletts beteiligt sind, nachgewiesen (z.B. Vimentin). Diese Proteine spielen bei der Mobilität der Zellmembran und beim Wachstum von Zellen eine Rolle (Hewett et al., 2006; Kamm et al., 2004). Außerdem scheint TorsinA am Recycling von Membranen der synaptischen Vesikel beteiligt zu sein (Granata et al., 2008). Eine Überexpression von TorsinA beugt nachgewiesenermaßen der Aggregatbildung von Proteinen vor und schützt Zellen vor Zytotoxizität bei oxidativem Stress, bei Hemmung von Proteasomen und bei Entzug von Nahrungsfaktoren (Bressman, 2006; Kuner et al., 2003). Einhergehend mit diesem Nachweis konnten, vermutlich als Gegenreaktion zur Zytotoxizität, erhöhte TorsinA Spiegel in einem Mausmodell für die Parkinson'sche Krankheit und in einem akuten Ischämie-Modell nachgewiesen werden (Kuner et al., 2004; Zhao et al., 2008b).

Durch die GAG Mutation im DYT1-Gen kommt es beim TorsinA zum Verlust einer Glutaminsäure nahe dem Karboxylende des Proteins (ΔE -TorsinA) (Ozelius et al., 1997). Interessanterweise unterscheidet sich die Verteilung von ΔE -TorsinA *im Gehirn* nicht von derjenigen des normalen TorsinA (Rostasy et al., 2003). *In vitro* bildet ΔE -TorsinA

Einschlusskörperchen im Zytoplasma, die häufig im Bereich des Zellkerns vorliegen. Dadurch kann das Protein möglicherweise nicht mehr seine eigentlichen Funktionen ausführen (Hewett et al., 2000; Misbahuddin et al., 2005). In diesen Einschlusskörperchen wurde außerdem VMAT2 nachgewiesen, wodurch Störungen des Dopaminspiegels bei DYT1-Patienten zu erklären wären (Misbahuddin et al., 2005). In anderen Zelllinien wurden allerdings keine Effekte auf die Lokalisation der Transportproteine DAT und VMAT2 durch ΔE -TorsinA gefunden (Torres et al., 2004). Diese Einschlusskörperchen konnten bei immunhistochemischen Untersuchungen an menschlichen Gehirnen nicht nachgewiesen werden, was allerdings nicht bedeuten muss, dass sie nicht existieren. Zum einen könnte ihr Fehlen auf die *in vivo* wesentlich geringeren Konzentrationen an ΔE -TorsinA zurückzuführen sein, so dass die geringeren Mengen an Einschlusskörperchen nicht nachweisbar waren. Zudem detektieren einige Antikörper (Ak) das mutierte TorsinA schlechter als das normale TorsinA. Zum anderen wäre es möglich, dass sie durch das Melanin in den Neuronen der SN verdeckt sind. Es kann also durchaus sein, dass geringe Konzentrationen von Einschlusskörperchen auch im Gehirn von Dystonie-Patienten vorkommen (Rostasy et al., 2003). Des Weiteren wurde nachgewiesen, dass das normale und das ΔE -TorsinA Proteinkomplexe bilden, was erklärt, warum auch TorsinA in Anwesenheit von ΔE -TorsinA seine Funktion verliert und das ΔE -TorsinA somit einen dominant negativen Effekt besitzt. Dies würde auch eine Erklärung dafür liefern, warum heterozygote Genträger erkranken (Torres et al., 2004). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass ΔE -TorsinA in neuronalen Zellen, nicht jedoch in anderen Gewebszellen zu einer Verlagerung des TorsinA vom ER zur Kernmembran führen kann. In derselben Studie wurde nachgewiesen, dass ΔE -TorsinA eine verkürzte Lebensdauer gegenüber normalen TorsinA aufweist. Der involvierte Abbauweg gibt einen Hinweis auf eine falsche Faltung des ΔE -TorsinA (Giles et al., 2008). Außerdem weist das ΔE -TorsinA nicht mehr den Schutz gegen Zytotoxizität auf (s.o.) (Bressman, 2006; Kuner et al., 2004; Kuner et al., 2003). *In vivo* Studien an Knock-out und Knock-in Mäusen zeigten, dass Tiere, die nur das ΔE -TorsinA besitzen, nicht überlebensfähig sind (Dang et al., 2005; Goodchild et al., 2005).

Bragg et al. (2004) postulierten einen Zusammenhang von DA und ΔE -TorsinA in der SN für die Entstehung der DYT1-Dystonie. Den dopaminergen Neuronen der SNc wird dabei eine Schlüsselrolle in der Entstehung von dystonen Bewegungsstörungen unterstellt. Diese Zellen erfahren oxidativen Stress infolge des Dopaminmetabolismus. Sie exprimieren daher hohe Konzentrationen an TorsinA, um sich vor oxidativem Stress zu schützen. Es wäre also denkbar, dass die Neurone von DYT1-Patienten aufgrund des Funktionsverlusts des ΔE -

TorsinA nicht mehr gegen oxidativen Stress geschützt sind (Bragg et al., 2004).

2.1.4. Therapie primärer Dystonien

Durch die mangelnde Kenntnis der Pathophysiologie der Dystonien ist deren Therapie in der Regel rein symptomatisch und empirisch. Die Therapie verläuft häufig enttäuschend und mündet nicht selten in schweren Behinderungen (Fahn, 1995).

Dopaminerge Substanzen, vor allem der Dopamin-Vorläufer L-DOPA, werden häufig initial bei Dystonie-Patienten eingesetzt. Hierbei dienen Sie auch als Diagnostikum, da Patienten mit DRD sehr gut und meist schon in geringen Dosen auf die Therapie ansprechen. Ist keine Besserung innerhalb von 4 Wochen sichtbar, kann diese Dystonieform ausgeschlossen werden. Anders als Parkinson-Patienten entwickeln Patienten mit DRD auch bei Dauertherapie mit L-DOPA keine Dyskinesien (Nygaard, 1995). Bei 12% der Patienten mit anderen Dystonieformen führt L-DOPA ebenfalls zu einer Verbesserung der Symptome, allerdings kommt es bei 34% der Patienten zu einer Verschlechterung der Symptomatik (Spinella und Sheridan, 1994). Dopaminrezeptoragonisten führen bei 25% aller Dystonie-Patienten zur Verbesserung der Symptome (Fahn, 1995). **Antidopaminerge Substanzen** wurden in der Vergangenheit häufig eingesetzt, allerdings haben diese Substanzen viele Nebenwirkungen, wodurch ihre praktische Anwendung limitiert ist (Jankovic, 2006).

Anticholinerge Substanzen (z.B. Trihexyphenidyl) werden bei segmentalen und generalisierten Dystonien eingesetzt. Bei einschleichender Dosierung werden diese Substanzen meist gut vertragen. Allerdings kommt es auch hier bei höheren Dosen zu Nebenwirkungen, die den therapeutischen Einsatz limitieren (Jankovic, 2006).

Mit **GABA potenzierenden Substanzen** (z.B. Baclofen, Benzodiazepine) kann bei 15-20% der Patienten mit idiopathischer Dystonie eine Verbesserung der Symptomatik erreicht werden (Fahn, 1995). Außerdem kommen bei axialen Dystonien auch intrathekale Applikationen von Baclofen mittels Dauerinfusionspumpe in Betracht (Ford et al., 1996).

Botulinumtoxin, welches die Freisetzung von Acetylcholin an der neuromuskulären Endplatte hemmt, ist Mittel der Wahl bei fokalen Dystonien (Lew, 2002). Die Wirkung hält aber nur ca. 3 Monate an und einige Patienten entwickeln nach wiederholter Applikation zudem eine Therapieresistenz durch die Bildung von Ak gegen das Botulinumtoxin (Adler et al., 2002). Die Ak sind spezifisch für das jeweilige Botulinumtoxin, so dass bei Patienten, die zuvor Botulinumtoxin A erhielten, durchaus mit dem Einsatz von Botulinumtoxin B noch Therapieerfolge zu erzielen sind. Botulinumtoxin B ruft allerdings weitaus häufiger Nebenwirkungen hervor und nach wiederholter Gabe kann es auch hierbei durch Bildung von

Ak zur Therapieresistenz kommen (Ceballos-Baumann et al., 2006; Jankovic, 2006).

Vor dem Einsatz von Botulinumtoxin wurden häufig periphere Denervationen bei fokalen und segmentalen Dystonien als Therapiemaßnahme angewandt (Bertrand und Molina-Negro, 1988). Da die Operation aber schwerwiegende Komplikationen mit sich bringen kann, erfolgt sie nur noch bei Patienten, die gegen Botulinumtoxin resistent sind (Krauss et al., 1997).

Mangelnde Erfolge der Pharmakotherapie führten zur Entwicklung verschiedener chirurgischer Therapieverfahren bis hin zur tiefen Hirnstimulation des GPi (Jankovic, 2006), mit der bei DYT1-Patienten oft deutliche Besserungen der Dystonie erzielt werden konnten (Vidailhet et al., 2005). Die neurochirurgischen Verfahren bergen aber einige Risiken, so dass der Suche nach wirksamen Medikamenten eine große Bedeutung zukommt. Dazu und zur Aufklärung der Pathophysiologie können gut charakterisierte Tiermodelle wesentlich beitragen.

2.2. Tiermodelle für primäre Dystonien

Wie bereits im vorangehenden Kapitel erläutert, sind die heute bekannten und angewandten Therapien häufig nicht zufriedenstellend. Phänotypische Tiermodelle können helfen, Therapien zu verbessern und neue Therapieansätze zu untersuchen. Genetische Tiermodelle können neue Einblicke in die Pathophysiologie verschiedener Dystonieformen geben und somit ebenfalls dazu dienen, neue, gezielte Therapien zu entwickeln (Richter und Löscher, 2000).

Damit ein Tiermodell als Modell für eine bestimmte Dystonieform verwendet werden kann, muss es vorher genau charakterisiert werden und für eine bestimmte Dystonieform klar definiert sein (Richter und Löscher, 2000). Die Charakterisierung sollte sich auf die Parameter Verlässlichkeit (sog. „reliability“) und Gültigkeit (sog. „validity“) stützen. Die Verlässlichkeit bezieht sich auf die Kontinuität, mit der sich ein Phänomen immer wieder produzieren lässt. Die Gültigkeit trifft eine Aussage über die Eigenschaft des Modells, ein bestimmtes Charakteristikum der Krankheit zu reproduzieren. Dabei unterscheidet man weiter die sog. „face validity“ (Vergleichbarkeit der Symptome beim Modell und beim Patienten), die sog. „predictive validity“ (vergleichbares Ansprechen auf Therapiemaßnahmen) und die sog. „construct validity“ (Vergleichbarkeit der zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen) (Jinnah et al., 2005; Richter und Löscher, 2000). In Hinblick auf die „construct validity“ ist die Beurteilung eines Tiermodells für eine idiopathische Dystonie des Menschen meist schwierig, weil die Pathophysiologie dieser Dystonien bislang weitgehend ungeklärt ist.

2.2.1. Phänotypische Tiermodelle

Phänotypische Tiermodelle sind Tiermodelle, die spezifische Symptome einer Erkrankung, in diesem Falle der Dystonie, zeigen. Der ätiologische Zusammenhang mit der Erkrankung bei Menschen ist allerdings häufig nicht geklärt (Jinnah et al., 2005).

Grundsätzlich sind hierbei Modelle, bei denen eine Dystonie experimentell induziert wird, von Modellen mit hereditärer Dystonie zu unterscheiden (Richter und Löscher, 2000). So können beispielsweise durch die Verabreichung von Bay K 8644, einem Agonisten an Kalziumkanälen vom L-Typ, dystone Bewegungsstörungen bei Mäusen ausgelöst werden (Jinnah et al., 2000). Allerdings eignen sich solche experimentell induzierten Störungen weitaus weniger zur Erforschung von Pathophysiologie und neuen Therapiemöglichkeiten idiopathischer Dystonien als die phänotypischen Modelle mit genetischem Hintergrund (Richter und Löscher, 2000). Bei den Letztgenannten werden die dystonen Bewegungsstörungen vererbt, wobei der genetische Hintergrund häufig nicht genau bekannt ist bzw. nicht mit denjenigen von Dystonie-Patienten übereinstimmt.

Die ***dt*-Maus** ist eine Spontanmutante in einer BALB/cBy-Mauslinie. Die Tiere besitzen einen Gendefekt auf Chromosom 1, der autosomal rezessiv vererbt wird (Richter und Löscher, 1998). Durch diesen Defekt entstehen fortschreitende spinocerebellare Läsionen und Degenerationen der peripheren Nerven. Der Gendefekt kodiert für ein zytoskelettales Linker-Protein („Dystonin“) (De Repentigny et al., 2003), das für die Zellarchitektur in Neuronen und Muskeln wichtig ist. Lichtmikroskopisch wurden axonale Schwellungen im Hirnstamm und Rückenmark und Demyelinisierungen peripherer Nerven nachgewiesen (Sotelo und Guenet, 1988). Im Alter von 2 Wochen zeigen die Mäuse zunächst Hyperflexionen der Hinterextremitäten und Hyperpronationen der Pfoten. Im Alter von 3-4 Wochen haben die Tiere so schwerwiegende Ataxien, Hyperextensionen und –flexionen der Beckengliedmaßen, dass sie nicht mehr zur Futter- und Wasseraufnahme in der Lage sind (Duchen et al., 1964). Dadurch ist die Lebenszeit der Tiere stark verkürzt und es ist keine Zucht mit homozygoten Tieren möglich. Aufgrund des Fehlens der genannten neuropathologischen Veränderungen bei Dystonie-Patienten ist die *dt*-Maus nicht als Modell für die Dystonie geeignet (Richter und Löscher, 2000; Sotelo und Guenet, 1988).

Bei der ***wri*-Maus**, die aus einer BALB/c-Inzuchtlinie hervorging, liegt der Gendefekt auf Chromosom 6. Der Erbgang ist autosomal dominant (Takahashi und Kitamura, 1999). Die Mäuse zeigen unwillkürliche drehende und windende Bewegungen des Kopfes und des Rumpfes (daher wriggle = sich winden). Außerdem haben die Tiere Myoklonien und Tremor

(Ikeda et al., 1989). Die Symptome beginnen im Alter von 10-14 Tagen und es kommt dann zu einer progressiven Generalisierung bis zum Alter von 12 Wochen. Die Futter- und Wasseraufnahme ist so stark beeinträchtigt, dass es zur gestörten Vitalität und Fruchtbarkeit kommt. Lichtmikroskopisch waren keine Veränderungen im Gehirn nachweisbar, elektronenmikroskopisch zeigte sich jedoch eine Reduktion von synaptischen Kontakten an den dendritischen Verzweigungen der Purkinje-Zellen im Kleinhirn (Kokubun, 1991). Im Innenohr der Tiere wurden epitheliale Defekte entdeckt (Takahashi et al., 1999). Neurochemische Studien haben Veränderungen des dopaminergen und des GABAergen Systems im Striatum und im Kleinhirn ergeben (Ikeda et al., 1989). Bis jetzt wurden noch keine EEG-Messungen durchgeführt, die ausschließen könnten, dass die myoklonischen Reflexe epileptischen Ursprungs sind (Richter und Löscher, 2000).

Die ***dt*-Ratte**, die initial als Tiermodell für eine generalisierte TD vorgeschlagen wurde, entstand durch eine Spontanmutation innerhalb einer Sprague-Dawley-Zuchtlinie (Lorden et al., 1984). Der Erbgang ist autosomal rezessiv (Naudon et al., 1998). Die Jungtiere weisen im Alter von ca. 10 Tagen erste Symptome, wie Torticollis und Kreisbewegungen, auf. Die Symptome zeigen einen progressiven Verlauf und führen schließlich zu schraubenartigen Bewegungen der Gliedmaßen und des Rumpfes, wodurch die Tiere nicht mehr in der Lage sind, das Gleichgewicht zu halten (Lorden et al., 1984). Diese motorischen Störungen führen dazu, dass die Tiere infolge einer gestörten Futter- und Wasseraufnahme noch vor Erreichen der Geschlechtsreife sterben. Daher kann die Zucht nur mit heterozygoten Tieren erfolgen (Richter und Löscher, 1998). Lichtmikroskopisch wurden keine Veränderungen im ZNS nachgewiesen (Lorden et al., 1984). Neurochemische und elektrophysiologische Untersuchungen wiesen auf Dysfunktionen im Kleinhirn hin. Interessanterweise führte die Entfernung des Kleinhirns zum vollständigen Verschwinden der Dystonie bei den *dt*-Ratten (LeDoux et al., 1993). Auch beim Menschen kann eine Beteiligung zerebellärer Störungen an der Manifestation einer symptomatischen Dystonie nicht ausgeschlossen werden. Die *dt*-Ratte wird heute aber nicht mehr als Modell für die primäre TD berücksichtigt.

Beim ***dt^{sz}*-Hamster** handelt es sich um eine Spontanmutation in einer Inzuchtlinie syrischer Goldhamster. Der Erbgang ist autosomal rezessiv (zur Übersicht: Richter, 2005). Die Hamster zeigen ab dem 16. Lebenstag bis zur 6. Lebenswoche mehrstündige Episoden einer generalisierten Dystonie, die durch Stress induziert werden können. Die Symptome wurden zunächst als Epilepsie fehlgedeutet. Durch genauere Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, dass diese Attacken der PDC des Menschen ähneln. Mittels EEG-Messungen

konnten epileptische Veränderungen ausgeschlossen werden. EMG-Messungen zeigten unwillkürliche Muskelkontraktionen, die für die Dystonie typisch sind (Richter, 2005). Histologische Standardtechniken ließen keine ZNS Veränderungen erkennen (Wahnschaffe et al., 1990). Immunhistochemische und elektrophysiologische Untersuchungen ergaben, dass die Basalganglien an der Pathogenese beteiligt sind. Ein Mangel striataler hemmender Interneurone spielt vermutlich eine zentrale Rolle (Gernert et al., 2000; Richter, 2005). Neurochemische und neuropharmakologische Untersuchungen erbrachten Hinweise auf eine entscheidende Beteiligung des GABAergen und dopaminergen Systems. Die Symptomatik und Ansprechbarkeit auf Pharmaka stimmt mit Patienten überein. Aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse gilt der *dt^z*-Hamster als gut charakterisiertes Modell für die PDC (Jinnah et al., 2005; Richter und Löscher, 2002).

2.2.2. Ätiologische Tiermodelle: Die DYT1-Maus

Die genetischen Modelle gehören zu den ätiologischen Modellen, weil sie einen Gendefekt tragen, der mit dem humanen Gendefekt übereinstimmt.

Nachdem die Mutation im DYT1-Gen als Ursache für die Early-onset-Torsionsdystonie identifiziert wurde (s. 2.1.2.1.), ist das mutierte Gen in das Genom verschiedener Mauslinien eingebracht worden. Hierdurch wird in diesen Mauslinien zusätzlich zum normalen TorsinA auch ΔE -TorsinA (s. 2.1.3.3.) in unterschiedlichem Ausmaß exprimiert. In den letzten Jahren wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen DYT1-Mauslinien generiert, wie nachfolgend beschrieben. Wichtige Befunde sind in Tab. 2 zusammengefasst.

Dang und Mitarbeiter (2005) haben eine Mauslinie generiert, indem sie das Mäusegenom an der Stelle veränderten, die das Analogon zur DYT1-Mutation im Menschengenom darstellt. Dadurch kommt es in diesen Mäusen zu keiner Überexpression des ΔE -TorsinA. Im „beamwalking Test“, bei dem die Mäuse balancierend eine bestimmte Strecke auf schmalen Stäben zurücklegen müssen, zeigten nur 6 Monate alte männliche DYT1-Mäuse eine signifikant geringere Trittsicherheit. Außerdem hatten die DYT1-Männchen im Vergleich mit Wildtyp (WT) Tieren einen abnormen Gang und eine erhöhte Bewegungsaktivität. Alle DYT1-Mäuse zeigten im Vergleich mit WT Tieren eine erhöhte Anzahl von Drehungen im Uhrzeigersinn, aber nicht entgegen dem Uhrzeigersinn (Dang et al., 2005). Chemische Analysen ergaben keine Unterschiede in den DA- und DOPAC-Spiegeln. Allerdings hatten DYT1-Männchen niedrigere HVA-Spiegel als Kontrolltiere. Sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch wurden keine pathomorphologischen Veränderungen mittels Standardtechniken im ZNS gefunden. Beim immunhistochemischen Nachweis von TorsinA

ließen sich bei den DYT1-Männchen aber vermehrt Aggregate des Proteins um den Zellkern in Zellen der pontinen N. nachweisen, in anderen Gehirnregionen sowie in weiblichen DYT1-Mäusen hingegen nicht (Dang et al., 2005). Interessanterweise wurden Geschlechtsunterschiede auch hinsichtlich der Dystoniaausprägung bei DYT1-Patienten beschrieben (Bressman et al., 2000). Zwar zeigen Mäuse dieser Linie keine dystonen Bewegungsstörungen, was die Verwendung zur präklinischen Arzneimitteluntersuchung ausschließt, dennoch können Tiere dieser Linie zur Aufklärung der Zusammenhänge zwischen mutiertem TorsinA und dem Auftreten von Störungen dienen.

Sharma und Mitarbeiter (2005) haben 3 Mauslinien generiert, in die humane Gene eingebracht wurden. In eine Linie wurde komplementäre Desoxyribonukleinsäure (cDNA) vom menschlichen WT (d.h. „gesundes“) TorsinA (hWT) und in 2 andere cDNA vom menschlichen mutierten TorsinA (hMT) eingebracht. Die transgenen Tiere exprimieren das menschliche Gen doppelt so stark wie das Mausgen. Trotz des Einbaus des Defektgens und damit der Expression des mutierten TorsinA in hMT -Mäusen, entwickelte kein Tier in diesen Versuchen dystone Bewegungsstörungen. Die hMT-positiven Tiere zeigten im Alter von 9 Monaten ein verzögertes motorisches Lernen auf dem Rotarod (Sharma et al., 2005). Interessanterweise wurde auch für nicht klinisch manifeste Genträger beschrieben, dass diese Menschen neue motorische Bewegungen langsamer erlernen (Ghilardi et al., 2003). Allerdings konnten die Ergebnisse in der Maus in einer neueren Studie nicht bestätigt werden (Zhao et al., 2008a). Bei hWT-Mäusen zeigte sich im Footprint Test eine größere Schrittlänge im Vergleich zu Kontrolltieren (Sharma et al., 2005) und bei hMT-Tieren ein vergrößerter Abstand zwischen den Hinterpfoten (Zhao et al., 2008a). Zudem wurde im „beamwalking Test“ eine längere Latenzzeit zum Überqueren der Stäbe bei hMT-Mäusen im Vergleich zu Kontrollen nachgewiesen. Veränderungen wurden jedoch hierbei ebenfalls in hWT-Mäusen gefunden (Zhao et al., 2008a). Auch mittels immunhistologischer Untersuchungen zeigten sich keine Unterschiede zwischen den transgenen und den nicht transgenen Tieren. Das TorsinA wurde bei allen Tieren im ER nachgewiesen, es waren keine perinukleären Einschlusskörperchen vorhanden und auch für Ubiquitin ergaben sich keine Unterschiede (Sharma et al., 2005). Bei den hMT-Mäusen konnte eine erhöhte Aktivität striataler cholinergischer Interneurone durch D₂-Rezeptor-Agonisten hervorgerufen werden, was als Hinweis auf Imbalancen zwischen dem cholinergen und dem dopaminergen Neurotransmittersystems interpretiert wurde (Pisani et al., 2006). Allerdings wurde keine Veränderung der D₁- und D₂-Rezeptorbindung bei hMT-Mäusen im Vergleich zu den

Kontrollen festgestellt. Die durch Amphetamin auslösbare Dopaminausschüttung war bei hMT-Mäusen verringert (Balcioglu et al., 2007). Sciamanna und Mitarbeiter (2009) wiesen eine erhöhte GABAerge Aktivität im Striatum nach. Im Gegensatz zu hWT- und Kontrolltieren führt der D₂-Agonist Quinpirol bei den hMT-Tieren nicht zu einer Inhibition der GABAergen Aktivität (Sciamanna et al., 2009). Northern Blot Analysen haben gezeigt, dass die humane TorsinA Expression nicht in allen Mauslinien stabil war. Mittels neurochemischer Analysen wurden im Vergleich von hMT- und WT-Tieren zu transgenen Tieren erhöhte DOPAC-Spiegel im Zerebellum nachgewiesen. Im Kortex waren die Serotonin-Spiegel, im Striatum die Gehalte an DOPAC, HVA und Epinephrin erhöht. Die 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) Spiegel waren in allen untersuchten Hirnregionen bei den transgenen Tieren unverändert. Es gab keine Unterschiede im Dopaminspiegel, allerdings war der Dopaminumsatz (DOPAC/DA und HVA/DA) bei den transgenen Tieren höher (Zhao et al., 2008a). Aufgrund der fehlenden dystonen Bewegungsstörungen ist diese Linie leider als nicht geeignet zur Entwicklung von neuen Therapiemaßnahmen anzusehen. Allerdings können über Untersuchungen in dieser Linie neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie des mutierten TorsinA gewonnen werden.

Grundmann und Mitarbeiter (2007) stellten zwei Mauslinien her, die das hWT exprimieren und zwei, die das hMT exprimieren. Dabei überexprimieren die hWT-Mäuse das TorsinA 2-16fach und die hMT-Mäuse das Protein 1,6-2fach. Verhaltensänderungen wurden bei diesen Tieren erst im Alter von 6 Monaten signifikant. Bei diesen Mauslinien war besonders interessant, dass auch der Einbau von hWT zu Veränderungen bei den Mäusen führte. Die hMT-Mäuse zeigten eine signifikant höhere lokomotorische Aktivität im Vergleich zu hWT- und Kontrollmäusen, hWT-Mäuse wiesen zusätzlich eine signifikant geringere lokomotorische Aktivität als die Kontrollmäuse auf. Die motorische Koordination und das motorische Lernen sind bei hMT-Mäusen im Vergleich zu den hWT-Mäusen und den Kontrollmäusen signifikant reduziert. Zwischen den Letztgenannten gab es diesbezüglich keine Unterschiede. Die hWT-Mäuse zeigten eine signifikant längere Überquerungszeit des mittleren und kleinen runden Stabes beim „beamwalking Test“ im Vergleich zu den hMT-Tieren und beim kleinen Stab auch zu den Kontrollmäusen. Zwischen den Kontrollmäusen und den hMT-Mäusen zeigte sich bei diesem Test kein Unterschied. Die hWT-Tiere wiesen eine verkürzte Schrittlänge der Vorder- und Hinterpfoten im Vergleich zu hMT- und Kontrolltieren auf. Immunhistochemische Untersuchungen des TorsinA zeigten erstaunlicherweise bei hWT- und hMT-Mäusen die gleichen Veränderungen, wobei diese bei

hMT-Tieren häufiger auftraten. So wurden Veränderungen der Kernhülle im Hirnstamm und im Striatum, sowie Einschlusskörperchen in der Nähe des Zellkerns in Hirnstammregionen und im Hypothalamus nachgewiesen. Neurochemische Analysen zeigten im Striatum der hWT-Mäuse reduzierte Konzentrationen von DA, Serotonin und 5-HIAA im Vergleich zu hMT- und Kontrollmäusen. Keine Unterschiede fanden sich bei DOPAC, HVA, im DOPAC/DA- sowie im HVA/DA-Verhältnis. Im Hirnstamm von hWT-Mäuse wurden im Vergleich zu hMT- und Kontrolltieren reduzierte HVA-Konzentrationen nachgewiesen. hMT-Mäuse zeigten verglichen mit den hWT- und Kontrollmäusen erhöhte DOPAC-, Serotonin- und 5-HIAA-Spiegel. Bei den Dopaminspiegeln gab es im Hirnstamm keine Unterschiede. Auch diese Linien von DYT1-Mäusen sind wegen fehlender Dystonie-Symptomatik für die präklinische Arzneimittelforschung nicht einsetzbar, wohl aber zur Erforschung der Pathophysiologie der DYT1-Mutation.

Shashidharan und Mitarbeiter (2005) haben vier hMT-Mauslinien hergestellt, die das humane ΔE -TorsinA ca. um das 10fache überexprimieren. 40% dieser Mäuse zeigten ein abnormes Verhalten, das meist bis zur 3. Lebenswoche offensichtlich wurde. Der Schweregrad der Symptome stieg mit dem Alter. Die betroffenen Mäuse zeigten Drehbewegungen, wobei die Dauer und die Richtung variierten. Störungen im Innenohr wurden als Ursache dieser Drehbewegungen ausgeschlossen. Außerdem wurde beschrieben, dass diese Mäuse „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen der Gliedmaßen zeigten, wenn sie an ihrem Schwanz hochgehoben wurden. Bei Tieren einer Linie traten außerdem noch abnorme tremorartige Bewegungen des Kopfes und eine signifikant höhere horizontale Aktivität auf. Immunhistochemisch wurden bei den transgenen Tieren perinukleäre Aggregate um den Zellkern und/oder Ubiquitin- und TorsinA-positive Einschlüsse gefunden. Am deutlichsten waren die Befunde in den cholinergen Neuronen der Pons und des Mittelhirns. Außerdem wurden sie noch in Brückenneuronen und in Nervenzellen der periaquäduktalen grauen Substanz nachgewiesen. Die striatalen Dopaminspiegel waren im Vergleich zu WT-Tieren bei phänotypisch unauffälligen transgenen Mäusen niedriger und bei phänotypisch auffälligen Transgenen höher. Das Verhältnis von DOPAC zu DA war sowohl bei den phänotypisch auffälligen wie auch bei den phänotypisch unauffälligen DYT1-Mäusen niedriger als beim WT (Shashidharan et al., 2005). Niedrige Dopaminspiegel wurden auch bei DYT1-Patienten gefunden, allerdings war bei diesen das Verhältnis von DOPAC zu DA erhöht (Augood et al., 2002). Die Stimulation von Schnitten des Striatums führte zu einer verminderten Dopaminausschüttung in phänotypisch auffälligen DYT1-Mäusen. Interessanterweise trat

dieser Effekt nicht auf, wenn nikotinerge Acetylcholinrezeptoren geblockt wurden (Bao et al., 2006). Chiken und Mitarbeiter (2008) wiesen bei phänotypisch auffälligen Mäusen Kokontraktionen des Trizeps und des Bizeps sowie eine anhaltende Muskelaktivität am Ende einer Bewegung nach. Des Weiteren zeigten sie eine verminderte Aktivitäten des GPi und GPe, eine lang anhaltende Inhibition des GPe und GPi nach Stimulation des Kortex und eine veränderte somatotopische Organisation des GPe und GPi bei den transgenen Tieren.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die bisher durchgeführten Untersuchungen der verschiedenen DYT1-Mäuse lediglich einen ersten Schritt zur Charakterisierung der Modelle darstellen. Es ist allerdings erstaunlich, dass in den Untersuchungen der unterschiedlichen Mauslinien, so verschiedene Ergebnisse gefunden wurden und sogar hWT-Mäuse Veränderungen aufwiesen. Zahlreiche weitere Studien werden benötigt, um festzustellen, ob sich diese Mäuse tatsächlich als Modell für die Early-onset-Torsionsdystonie eignen.

Zu beachten ist, dass nur die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) generierten transgenen DYT1-Mäuse dystone Bewegungen entwickeln und somit möglicherweise das Kriterium der sogenannten „face validity“ erfüllen. Hierüber könnten diese Mäuse nicht nur zur Aufklärung der Pathophysiologie hilfreich sein, sondern auch einen möglichen Beitrag zur präklinischen Arzneimittelentwicklung leisten.

Tab. 2 (S. 33): Zusammenstellung der bisher vorliegenden Untersuchungen in den verschiedenen DYT1-Mauslinien, die von Sharma et al. (2005), Shashidharan et al. (2005), Grundmann et al. (2007) und Dang et al. (2005) beschrieben wurden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden nicht sämtliche Ergebnisse aufgenommen. Veränderungen beziehen sich immer auf den Vergleich zwischen Wildtyp- und transgenen Tieren. (DA = Dopamin; d = Tag; phän + = phänotypisch positive Tiere; phän - = phänotypisch negative Tiere; Hyper = Hyperlokomotion; Hypo = Hypolokomotion; + = Veränderung; ↔ = keine Veränderung; ↑ = erhöht; ↓ = erniedrigt; n.g. = nicht getestet).

	DYT1 Sharma		DYT1 Shashidharan		DYT1 Grundmann		DYT1 Dang	
	hMT1/2	hWT	phän +	phän -	hMT	hWT	♀	♂
Vitalität	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔
Alter erster Auffälligkeiten (d)	↔↔	↔↔	21	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔
permanent generalisiert	↔↔	↔↔	Attacken	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔	↔↔
Rotarod	+	↔↔	n.g.	n.g.	+	↔↔	↔↔	↔↔
beamwalking Test	+	+	n.g.	n.g.	↔↔	↔↔	↔↔	+
Aktivität	↔↔	↔↔	Hyper	Hyper	Hyper	Hypo	↔↔	Hyper
Footprint	+	+	n.g.	n.g.	↔↔	+	↔↔	+
EEG Veränderungen	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
EMG: Kokontraktionen (lichtmikroskopisch)	n.g.	n.g.	+	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
Einschlußkörperchen	↔↔	↔↔	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	↔↔	↔↔
DA	↔↔ Kleinhirn, Striatum und Kortex	↔↔ Kleinhirn, Striatum und Kortex	↓ Striatum	↑ Striatum	↔↔ Striatum ↔↔ Hirnstamm	↓ Striatum ↔↔ Hirnstamm	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum
DOPAC	↑ Kleinhirn und Striatum ↔↔ Kortex	↑ Kleinhirn ↔↔ Striatum und Kortex	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum ↑ Hirnstamm	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum
HVA	↑ Striatum ↔↔ Kortex und Kleinhirn	↔↔ Kleinhirn, Striatum und Kortex	n.g.	n.g.	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum ↓ Hirnstamm	↔↔ Striatum	↓ Striatum
5-HIAA	↔↔ Kleinhirn, Striatum und Kortex	↔↔ Kleinhirn, Striatum und Kortex	n.g.	n.g.	↔↔ Striatum ↑ Hirnstamm	↔↔ Striatum ↓ Hirnstamm	n.g.	n.g.
Verhältnis: DOPAC/DA	↑ Striatum	↔↔ Striatum	↓ Striatum	↓ Striatum	n.g.	n.g.	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum
Verhältnis: HVA/DA	↑ Striatum	↔↔ Striatum	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	↔↔ Striatum	↔↔ Striatum
D₁/D₂-Rezeptorbindung	↔↔	↔↔	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.

2.3. Fragestellung der vorliegenden Arbeit

2.3.1. Zielstellung und Arbeitshypothese

Die zugrundeliegenden Mechanismen von Dystonien sind bislang weitestgehend ungeklärt. Die bisher durchgeführten Therapiemaßnahmen sind deswegen rein empirisch und aufgrund fehlenden Therapieerfolgs münden Dystonien häufig in schweren Behinderungen. Daher werden Tiermodelle dringend benötigt, um die neuroanatomischen, biochemischen und pathophysiologischen Ursachen von Dystonien zu erforschen. Auf diese Weise können sie einen erheblichen Beitrag zur Entwicklung neuer, rationaler Therapieansätze leisten. Aufgrund des sehr heterogenen Erscheinungsbildes der Dystonie ist es unerlässlich, Tiermodelle zu entwickeln, die für spezielle Dystonieformen klar definiert sind. Nur so kann man spezifische Einblicke in die Pathogenese der unterschiedlichen Dystonieformen erlangen und auf diese Weise spezifische Therapien entwickeln.

Für die Early-onset-Torsionsdystonie wurde ein Zusammenhang mit einem Defekt des DYT1-Gens festgestellt, welches das Protein TorsinA codiert (Ozelius et al., 1989). Dieses Defektgen wurde daraufhin in verschiedene Mauslinien (s. 2.2.2.) eingebracht und diese Mäuse wurden als Tiermodelle für die Early-onset-Torsionsdystonie vorgeschlagen (Dang et al., 2005; Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005; Shashidharan et al., 2005). Nur in den von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) generierten transgenen Mäusen wurden „Dystonie-ähnliche“ Bewegungsstörungen beobachtet. Insgesamt lassen die bisher durchgeführten Untersuchungen zur Charakterisierung dieser Mauslinien keine Aussagen über die wirkliche Eignung als Tiermodell für die Erforschung der Pathophysiologie und neuer Therapieansätze für die Early-onset-Torsionsdystonie zu. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) generierten DYT1-Mäuse wegen der beschriebenen Bewegungsstörungen für eine weitere Charakterisierung als Modell für die Early-onset-Torsionsdystonie zunächst verhaltensanalytischen Untersuchungen unterzogen, um die Kriterien der „reliability“ und der „face validity“ (s. 2.2.) zu überprüfen.

Dazu wurden verschiedene Tests zur Beurteilung der Motorik durchgeführt. Im Open field und im Activity cage lässt sich die Bewegung direkt beobachten und die Aktivität messen. Auf dem Rotarod wird das Koordinationsvermögen beurteilt und der Grip-strength Test sowie der Wire-hang Test sind für die Beurteilung der Muskelkraft herangezogen worden. Mit dem Footprint Test wurde eine Ganganalyse durchgeführt, um Veränderungen im Gangbild zu untersuchen. Zur Beurteilung des Angstverhaltens wurde das Elevated plus maze eingesetzt. Diese Tests wurden in Anlehnung an Literaturangaben durchgeführt (Baird et al., 2001;

Crawley, 1999b; Dunnett et al., 2003). Im Staircase Test lassen sich auch Unterschiede in der Feinmotorik hinsichtlich der Fähigkeit und Geschicklichkeit des Greifens mit den Vorderpfoten beurteilen (Baird et al., 2001). Da bei Patienten mit Early-onset-Torsionsdystonie meistens ein progressiver Verlauf der Erkrankung vorliegt und von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) Hinweise beschrieben wurden, dass sich die beobachteten Störungen bei den DYT1-Mäusen ebenfalls mit zunehmendem Alter der Tiere verschlimmern, wurden die genannten Tests bei 3, 6, 9 und 12 Monate alten Mäusen durchgeführt. Dieses Vorgehen erlaubte eine Quantifizierung der bisher rein deskriptiven Beobachtung einer Progression der Symptome bei den Mäusen.

Das dopaminerge System spielt eine entscheidende Rolle bei Dystonien. So gibt es die DRD, in der ein genetischer Defekt in der Dopaminsynthese vorliegt. Mutationen im Gen, das die TH kodiert, führen zu Dystonien, genauso wie Mutationen im Gen für den D₂-Rezeptor und ein Polymorphismus im D₅-Rezeptor (zur Übersicht: Wichmann 2008). Einen anderen Hinweis liefert die Entwicklung von Dyskinesien mit dystonen Störungen bei Parkinson-Patienten, die mit L-DOPA therapiert werden (zur Übersicht: Wichmann 2008). Untersuchungen an Dystonie-Patienten zeigten unterschiedliche Veränderungen im dopaminergen System. So wurde eine verminderte D₂-Rezeptorbindung im Putamen bei Patienten mit fokaler und DYT1-Dystonie, bei Patienten mit DRD wurde allerdings eine erhöhte Bindung nachgewiesen (Breakefield et al., 2008). In Gehirnen von DYT1-Patienten wurden sowohl erniedrigte als auch normale Dopaminspiegel sowie erhöhte DOPAC-Spiegel im Striatum gefunden, was für einen erhöhten Dopaminumsatz spricht. Des Weiteren wurde eine verminderte Bindung an Rezeptoren vom D₁-Typ gefunden (Augood et al., 2004; Wichmann, 2008).

Diese Befunde bei Dystonie-Patienten weisen darauf hin, dass Fehlfunktionen des dopaminergen Systems eine entscheidende pathophysiologische Rolle bei der Dystonie zukommt. Auch bei den in dieser Arbeit untersuchten DYT1-Mäusen wurden in vorangegangenen Untersuchungen Hinweise auf Fehlfunktionen des dopaminergen Systems gefunden (Shashidharan et al., 2005). Um nun die funktionelle Relevanz dieser Befunde zu beleuchten, sollte im Rahmen dieser Doktorarbeit zusätzlich zu den oben genannten Verhaltensanalysen ermittelt werden, ob vorliegende Störungen bei diesen Mäusen durch pharmakologische Manipulationen des dopaminergen Systems verbessert oder verschlimmert werden können bzw. ob es Unterschiede im Ansprechen auf verschiedene Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten im dopaminergen System im Vergleich zu Kontrollmäusen gibt.

Die Auswahl der Substanzen und Dosierungen erfolgte in Anlehnung an Literaturangaben für die systemische Applikation bei Nagern. Dabei sollten die Dosierungen so gewählt werden, dass Verhaltenseffekte bei Mäusen ausgelöst werden (s. Tab. 3). Als Substanz mit allgemeiner Wirkung auf das dopaminerge System wurde der Dopamin-Vorläufer L-DOPA (L-3,4-Dihydroxyphenylalanin) benutzt. Dieser wurde mit dem Decarboxylasehemmer Carbidopa (S-[-]- α -Hydrazino-3,4-Dihydroxy-2-Methylbenzenepropansäure) kombiniert, um den peripheren Abbau des L-DOPA zu verhindern. Für L-DOPA gibt es in der Literatur widersprüchliche Angaben hinsichtlich des Effekts auf die lokomotorische Aktivität. So wurde sowohl eine Hyperlokomotion nach Verabreichung von 120 mg/kg (Schmidt, 1984) als auch eine Hypolokomotion nach Verabreichung von 50-100 mg/kg (Gronan, 1975; Quinn et al., 2006) beschrieben. Bei Dosen von 250 mg/kg wurden außerdem Straub tail, stereotypes Putzen und erhöhte Aggressivität beschrieben (Gronan, 1975).

GBR 12935 (1-[2-Diphenylmethoxyethyl]-4-[3-Phenylpropyl]Piperazin Dihydrochlorid) hemmt selektiv die Wiederaufnahme von DA aus dem synaptischen Spalt (Reith et al., 1994). Bei Ratten konnte eine erhöhte Aktivität nach akuter Gabe von 10-30 mg/kg GBR 12935 nachgewiesen werden (Acri et al., 1996; Zhu et al., 2004).

Zur Erhöhung des Dopaminumsatzes wurde Amphetamin eingesetzt. Amphetamin entleert die vesikulären Dopaminspeicher, hemmt die Wiederaufnahme und verzögert durch Hemmung der MAO den Abbau. Dadurch wird der extrazelluläre Dopaminspiegel erhöht (Göthert et al., 2005). Bei Ratten wurden nach Amphetamin-Applikation in Dosierungen von 1,5-30 mg/kg eine erhöhte Lokomotion, stereotypes Aufrichten, stereotypes Schnüffeln (Sniffing), stereotypes Lecken (Licking) und webende Kopfbewegungen beobachtet (Randrup und Munkvad, 1966; Salmi et al., 1998; Seiden et al., 1993).

Für die Manipulation des D₁-Rezeptors wurden der D₁-Agonist A 68930 (cis-[±]-1-[Aminomethyl]-3,4-Dihydro-3-Phenyl-1H-2-Benzopyran-5,6-diol Hydrochlorid) und der D₁-Antagonist SCH 39166 ([6aS-trans]-11-Chloro-6,6a,7,8,9,13b-Hexahydro-7-Methyl-5H-Benzo[d]naphth[2,1-b]azepin-12-ol Hydrobromid) eingesetzt. Beide Substanzen haben eine hohe Selektivität für D₁-Rezeptoren (Deveney und Waddington, 1997). A 68930 erzeugte in Versuchen mit Ratten eine Reduzierung der lokomotorischen Aktivität, stereotypes Putzen und stereotypes Leerkauen nach Verabreichung von 0,25-4 mg/kg (Deveney und Waddington, 1997). Im „Paw-retraction Test“ zeigten mit 0,05-1 mg/kg SCH 39166 behandelte Ratten eine verlängerte Reaktionszeit (Prinssen et al., 1993).

Zur Manipulation des D₂-Rezeptors wurden der D₂-Agonist Quinpirol ([4aR-trans]-4,4a,5,6,7,8,8a,9-Octahydro-5-Propyl-1H-pyrazolo[3,4-g]Quinoline Hydrochlorid) und der

D₂-Antagonist Racloprid (3,5-Dichloro-N-[1-Ethylpyrrolidin-2-ylmethyl]-2-Hydroxy-6-Methoxybenzamid (+)-Tartrat) eingesetzt. Die Substanzen zeigen eine hohe Selektivität für den D₂-Rezeptor (Eilam et al., 1989; Jackson et al., 1989). Nach Verabreichung von Quinpirol wurden bei Ratten nach niedrigen Dosen von 0,1-0,5 mg/kg eine Hypolokomotion und nach höheren Dosen von 1-10 mg/kg ca. 60 Minuten (min) nach Injektion eine Hyperlokomotion mit stereotypem Putzen und Sniffing beobachtet (Eilam et al., 1989; Horvitz et al., 2001; Jackson et al., 1989). Nach Applikation von 0,9 mg/kg Racloprid konnte eine verminderte lokomotorische Aktivität und in höheren Dosen Katalepsie beobachtet werden, wobei 16 mg/kg benötigt wurden, um die maximale Ausprägung zu erreichen (Hillegaart und Ahlenius, 1987; Parra et al., 1999).

Aus den oben genannten Gründen sollte untersucht werden, ob Unterschiede in der Ansprechbarkeit auf pharmakologische Manipulationen bei den transgenen Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren auftreten. Dabei wurde auch die Altersabhängigkeit bezüglich der Effekte untersucht. Um die Wirkung der verschiedenen dopaminergen Substanzen auf den Schweregrad der von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen besser quantifizieren zu können, sollte hierfür im Rahmen der Doktorarbeit ein Score-System etabliert werden. Dies sollte in Anlehnung an Score-Systeme anderer Tiermodelle geschehen (Lundblad et al., 2002; Richter, 2005). Ergänzend zu den akuten Versuchen wurde L-DOPA chronisch appliziert, um zu untersuchen, ob die Langzeitgabe von L-DOPA zur verstärkten Manifestation dystoner Störungen führt.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Material

3.1.1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche und weibliche transgene Mäuse sowie Kontrollmäuse des Hintergrundstammes C57Bl/6J im Alter von 70 Tagen bis 13 Monaten verwendet. Bei den transgenen Mäusen handelt es sich um Tiere, die das humane mutierte DYT1-Gen tragen. Alle Tiere wurden im Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin gezüchtet. Für die institutseigene Zucht wurden Zuchtpaare der transgenen Tiere von Dr. Pullani Shashidharan, Mount Sinai Medical School (New York, USA) zur Verfügung gestellt. Jeweils ein Männchen und ein Weibchen wurden verpaart und die gesamte Nachzucht genotypisiert, da wir keine Kenntnis davon hatten, ob es sich bei den zur Verfügung gestellten Mäusen um homo- oder heterozygote Tiere handelte. Zuchtpaare des Inzuchtstammes C57Bl/6J waren schon im Institut vorhanden. Insgesamt wurden in den Versuchen 43 transgene Mäuse und 41 Kontrollmäuse eingesetzt, wobei die Tiere wiederholt verwendet wurden. Es wurde darauf geachtet, dass zwischen 2 verschiedenen Substanzen mindestens eine Woche und zwischen einer Substanzbehandlung und dem nächsten Versuch für unbehandelte Tiere mindestens ein Monat Pause war. Die Zucht und die durchgeführten Tierversuche waren von der zuständigen Behörde genehmigt (Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin, Genehmigungsnummern G 0355/05, G 0005/08, O 0119/07 und ZH5).

3.1.2. Haltung und Fütterung

Die Zucht und die Haltung erfolgten in Räumen der institutseigenen gentechnischen Anlage (S1, 167/00) unter Standardbedingungen (Raumtemperatur 23 ± 1 °C, relative Luftfeuchtigkeit $60 \pm 5\%$, zwölfstündiger Hell-Dunkel-Rhythmus mit einer Lichtphase von 6-18 Uhr). Das Absetzen der Tiere vom Muttertier erfolgte mit dem 21. Lebenstag. Danach wurden die Versuchstiere in Gruppen von 2-3 Tieren in Kunststoffkäfigen mit Metalldeckel (Makrolon®, Normtyp III) auf Standardeinstreu (ssniff® Lignocel 3-4 S, Soest, BRD) gehalten. Die Tiere erhielten Trinkwasser und Standardfutter (ssniff® R/M-H, Soest, BRD) ad libitum.

Substanz	Wirkung auf das dopaminerge System	Dosierung	Lösungsmittel	Literatur
L-DOPA ¹ + Carbidopa ²	Dopamin-Vorläufer + Decarboxylasehemmer	25; 100 mg/kg (L-DOPA) + 10 mg/kg (Carbidopa)	0,9% NaCl	Quinn et al., 2006* Jonkers et al., 2001** Fleming et al., 2006* Pavon et al., 2006*
Amphetamin	Erhöhung des Dopaminumsatzes	5; 10 mg/kg	0,9% NaCl	Adriani und Laviola, 2002* Kuczenski et al., 1997**
GBR 12935 ³	Dopamin-Wiederaufnahmehemmer	15; 45 mg/kg	0,3%; 2% Tween® 80	Darmani, 1998*
A 68930 ⁴	D ₁ -Agonist	1; 2 mg/kg	0,9% NaCl	Deveney und Waddington, 1997**
SCH 39166 ⁵	D ₁ -Antagonist	0,3; 0,6 mg/kg	1% DMSO	Daly und Waddington, 1992**
Quinpirol ⁶	D ₂ -Agonist	1; 5 mg/kg	0,9% NaCl	Horvitz et al., 2001**
Racloprid ⁷	D ₂ -Antagonist	0,5; 3 mg/kg	0,9% NaCl	Parra et al., 1999*

Tab. 3: Verwendete Substanzen mit Wirkung auf das dopaminerge System, angewandte Dosierungen und jeweiliges Lösungsmittel. Die Dosierungen beziehen sich auf kg Körpergewicht (KGW) und wurden in einem Injektionsvolumen von 10 ml/kg intraperitoneal verabreicht. (Untersuchte Tierart: * = Maus, ** = Ratte; chemische Bezeichnung der Substanzen: 1 = L-3,4-Dihydroxyphenylalanin; 2 = S-[-]- α -Hydrazino-3,4-Dihydroxy-2-Methylbenzenepropansäure; 3 = 1-[2-Diphenylmethoxyethyl]-4-[3-Phenylpropyl]Piperazin Dihydrochlorid; 4 = cis-[\pm]-1-[Aminomethyl]-3,4-Dihydro-3-Phenyl-1H-2-Benzopyran-5,6-diol Hydrochlorid; 5 = [6aS-trans]-11-Chloro-6,6a,7,8,9,13b-Hexahydro-7-Methyl-5H-Benzo[d]naphth[2,1-b]azepin-12-ol-Hydrobromid; 6 = [4aR-trans]-4,4a,5,6,7,8,8a,9-Octahydro-5-Propyl-1H-pyrazolo[3,4-g]Quinoline Hydrochlorid; 7 = 3,5-Dichloro-N-[1-Ethylpyrrolidin-2-ylmethyl]-2-Hydroxy-6-Methoxybenzamid (+)-Tartrat)

3.1.3. Verwendete Substanzen

Die verwendeten Substanzen, ihre pharmakologischen Eigenschaften, die gewählten Dosierungen und die entsprechenden Lösungsmittel sind in Tab. 3 aufgeführt. Diese Substanzen wurden über folgende Firmen bezogen: L-DOPA als Hydrochlorid, S(-)-Carbidopa, (-)-Quinpirol Hydrochlorid, S(-)-Racloprid Tartrat und das Lösungsmittel Dimethylsulfoxid (DMSO) von der Firma Sigma-Aldrich (München, BRD); GBR 12935 Dihydrochlorid, A 68930 Hydrochlorid und SCH 39166 Hydrobromid von der Firma Tocris (Bristol, UK); Amphetamin von der Firma Merck (Darmstadt, BRD); das Lösungsmittel

Tween® 80 von der Firma Carl Roth (Karlsruhe, BRD) und die 0,9%ige Natriumchlorid (NaCl)-Lösung von der Firma DeltaSelect (Dreieich, BRD).

Alle Substanzen wurden frisch vor der Applikation angesetzt. Hierzu wurde die benötigte Menge an Festsubstanz auf einer Feinwaage (Sartorius, Goettingen, BRD) abgewogen und anschließend auf einem Magnetrührer (IKA-Combimag RCT, IKA, Staufen, BRD) im Lösungsmittel (Vehikel) gelöst. Das Injektionsvolumen betrug jeweils 10 ml/kg und wurde intraperitoneal (i.p.) appliziert. Die Dosierungen wurden in Anlehnung an Literaturangaben bei Ratten oder Mäusen gewählt, in denen die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanzen charakteristische Verhaltensänderungen hervorriefen (s. 2.3.1.).

Da es sich beim Racloprid um ein Tartrat handelt, wurde vor dem Abwiegen die Menge der Reinsubstanz ausgerechnet. Die Dosierungsangaben der anderen Wirkstoffe beziehen sich auf deren Salzform.

3.2. Methoden

3.2.1. Genotypisierung

Um die Genotypisierung der transgenen Mäuse vorzunehmen, wurde von den Tieren beim Absetzen vom Muttertier eine Schwanzspitzenbiopsie entnommen. Dazu wurde ein etwa 0,5 cm langes Stück der Schwanzspitze mittels einer sterilen Schere abgetrennt und anschließend in ein steriles Eppendorf-Reaktionsgefäß (1,5 ml) verbracht. Aus dieser Biopsie wurde mittels eines DNA (Desoxyribonukleinsäure) Extraktionskits (Invisorb® Spin Tissue Mini Kit, Invitek, Berlin, BRD) die DNA extrahiert (Durchführung s. Anhang). Dieses Extrakt wurde dann für die nachfolgend beschriebene Polymerase-Kettenreaktion (PCR) verwendet.

Die PCR erfolgte in Anlehnung an die von Shashidharan et al. (2005) beschriebene Genotypisierung. Die Proben wurden auf Eis gekühlt, die DNA Konzentration der Extrakte photometrisch (Biowave S 2100, Biochrom, Cambridge, UK) bestimmt und ein 50 µl Ansatz hergestellt. Dieser bestand aus 100 ng DNA, 5 µl Taq-Puffer, 1 µl dNTPs, 0,4 µl Taq-Polymerase (Taq-DNA-Polymerase 'all inclusive', PEQLAB, Erlangen, BRD), 0,5 µl Primer forward (5'-CCTGGAATACAAACACCTA-3') sowie 0,5 µl Primer reverse (5'-CAGTGACTCCGGCTGCCAATC-3') (TIB MOLBIOL, Berlin, BRD) und wurde dann mit autoklaviertem bidestilliertem Wasser (ddH₂O) auf 50 µl aufgefüllt. Die Proben wurden in den Thermocycler (TRIO-Thermoblock TB1, BIOMETRA, Göttingen, BRD) gestellt und durchliefen folgendes Programm: Initiale Denaturierung bei 94 °C für 1 min, gefolgt von 30

Wiederholungen aus Denaturierung (94 °C für 1 min), Annealing (Anlagerung der Primer an die DNA) (55 °C für 1 min) und Elongation (Bildung des neuen DNA Stranges) (72 °C für 1 min). Danach folgte ein letzter Extensionsschritt (72 °C für 10 min) und die Abkühlung auf 4 °C. Die gewonnenen PCR Proben wurden in einem weiteren Schritt mit dem Enzym *Bse*RI (New England Biolab, Frankfurt am Main, BRD) verdaut. Dazu wurde ein 20 µl Ansatz hergestellt, welcher 4 µg DNA, 0,5 µl *Bse*RI, 2 µl NEBuffer 2 (New England Biolabs, Frankfurt am Main, BRD) enthielt und mit autoklaviertem ddH₂O auf 20 µl aufgefüllt wurde. Danach wurden die Proben im Thermocycler bei 37 °C für 2 h verdaut.

Die elektrophoretische Auftrennung der Proben erfolgte in TBE-Puffer (TRIS-Borat-EDTA-Puffer) auf 7%igem Polyacrylamidgel (PA-Gel) (Herstellung s. tabellarischer Anhang). Zur Herstellung des Gels wurde das Gelgießmodul der MINI-Vertikal Doppel-Elektrophorese-Kammer Standard von Carl Roth® (Karlsruhe, BRD) verwendet. Die Glasplatten wurden vor dem Zusammenbau mit 99%igem Ethanol entfettet. Das Gel wurde zwischen die Glasplatten gegossen, der Kamm zum Bilden der Taschen eingesetzt und dann ca. 45 min zum auspolymerisieren stehen gelassen. Von den PCR-Proben wurden je Probe 10 µl mit 2 µl Laufpuffer (Roti®-Load DNA mit Glycerin, Carl Roth®, Karlsruhe, BRD) versetzt. Zu den Verdauproben wurden jeweils 4 µl Laufpuffer zugegeben. PCR- und Verdauprobe eines Tieres wurden jeweils in 2 nebeneinander liegende Taschen und in die mittlere Tasche des Gels die DNA-Leiter (peqGOLD 50 bp DNA-Leiter, PEQLAB, Erlangen, BRD) zum Abgleich der Basenpaar (bp) Größe aufgetragen. Die Kammer wurde an einen Stromgeber (Power Pack P25, BIOMETRA, Göttingen, BRD) angeschlossen, der auf eine konstante Spannung von 100 Volt eingestellt war. Die Auftrennung wurde beendet, wenn die Farbstofffront des Laufpuffers die untere Kante der Glasplatte erreicht hatte (nach ca. 1,5 h). Das Gel wurde aus der Kammer entfernt und für ca. 15 min in eine Ethidiumbromidlösung (50 µg/100 ml TBE) überführt. Danach wurden die Banden mittels eines UV-Schirms (T11 BIOMETRA, Göttingen, BRD) und mit Hilfe einer Kamera (BioDoc® CCD-Camera, BIOMETRA, Göttingen, BRD) auf einem Bildschirm (Panasonic, Hamburg, BRD) sichtbar gemacht und anschließend über einen Thermodrucker (UP-890CE, Sony, Heerlen, NL) ausgedruckt.

3.2.2. Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens

Die Vitalität der Tiere wurde über den Versuchszeitraum durch Kontrolle des Körpergewichtes (KGW) an den Versuchstagen sowie durch die Prüfung von neurologischen Reflexen beurteilt und protokolliert. Die Verhaltensuntersuchungen fanden in vom Tageslicht

abgeschirmten Versuchsräumen unter Standardbedingungen (320-480 Lux, 24 ± 1 °C) in der Zeit von 8:00 bis 13:00 Uhr statt. Die Tiere wurden 1 h vor Versuchsbeginn in die Versuchsräume gebracht, damit sie sich an die Bedingungen gewöhnen konnten. Die Versuchsaapparaturen wurden vor und zwischen den Tieren gereinigt, um Verhaltenseffekte durch die Wahrnehmung des Geruchs von Artgenossen auszuschließen. Unbehandelte Tiere wurden im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten getestet. Dabei wurde das Open field und das Elevated plus maze an 2 separaten Tagen durchgeführt, der Activity cage, das Rotarod, die neurologischen Reflextests, der Wire-hang Test, der Grip-strength Test sowie der Footprint Test fanden jedoch an einem Tag gemeinsam statt. Zwischen dem Rotarod und dem Wire-hang Test, sowie zwischen dem Wire-hang Test und dem Grip-strength Test wurde den Tieren jeweils eine Pause von 5 min eingeräumt. Der Staircase Test fand getrennt von den anderen Tests statt.

3.2.2.1. Neurologische Reflexe

Um die Vitalität der Tiere zu überprüfen, wurden im Rahmen der Verhaltenstests verschiedene neurologische Reflexe überprüft. Ein Reflex galt als normal, wenn eine direkte Reaktion (innerhalb von 1-2 s) auf den Reiz stattfand, als gestört wurde ein Reflex angesehen, wenn auf den Reiz mit einiger Verzögerung (mindestens 2-3 s) reagiert wurde und als fehlend, wenn keine Reaktion innerhalb von 10 s gezeigt wurde. Mit Hilfe eines sauberen Wattestäbchens wurde durch leichtes Antippen des Lidwinkels des Auges der *Lidreflex* ausgelöst. Die *Hautsensibilität* wurde getestet, indem die Ohrmuschel des Tieres berührt wurde. Auf diesen Reiz wird bei ungestörten Reflexen mit Zurückziehen der Ohrmuschel reagiert. Durch leichtes Berühren der Tastaare wurde der *Tastsinn (Orientierungsreflex)* überprüft. Gesunde Tiere halten inne und drehen sich zu der Körperseite, an der sie berührt wurden. Der *Haltungsreflex* wurde getestet, indem man eine Maus in einen leeren Makrolonkäfig setzte und diesen vorsichtig hin und her schwenkte. Diese Bewegung gleichen gesunde Mäuse durch kontrolliertes Gegenstützen der Gliedmaßen aus. Zum Überprüfen des *Stellungsreflexes* wurden die Tiere auf den Rücken gedreht, wobei sich gesunde Mäuse sofort nach dem Loslassen wieder in die Bauchlage drehen.

Bei Beobachtungen der Mäuse in ihrem Heimkäfig zeigten weder Kontrollmäuse noch die transgenen Tiere einseitiges circling, d.h. spontane Drehbewegungen. Nur eine transgene Maus zeigte Drehbewegungen in beide Richtungen. Insofern handelt es sich bei den transgenen Tieren nicht um ein lateralisiertes Tiermodell.

3.2.2.2. Lokomotorische Aktivität

Im *Open field* wird die lokomotorische Aktivität von Mäusen beurteilt. Für diesen Versuch wurde eine Box mit den Maßen 50 x 50 x 30 cm verwendet (s. Abb. 5). Diese Box befand sich in einer für Verhaltenstests vorgesehenen, verschließbaren und schallgedämmten Kammer in der gleichbleibende Versuchsbedingungen herrschten. Oberhalb der Box befand sich eine Kamera (TSE Systems, Bad Homburg, BRD), über die es möglich war, die Tiere außerhalb der Kammer über einen Bildschirm zu beobachten. Am Bildschirm wurde die Box mit Hilfe von 2 senkrechten und 2 waagerechten Linien in 9 gleichgroße Quadrate aufgeteilt. Die Tiere wurden in das Quadrat in der Mitte gesetzt und anschließend 5 min beobachtet. Während dieser Zeit wurden folgende Parameter gezählt: 1. die Anzahl der mit allen vier Pfoten überquerten Linien (horizontale Bewegungsaktivität, Transitions), 2. das Aufrichten, bei dem beide Vorderpfoten den Boden verließen (vertikale Bewegungsaktivität, Rearings) und 3. die Putzaktivität („Grooming“). Für die Ermittlung der horizontalen Aktivität wurde das Open field anhand der Linien auf dem Bildschirm zusätzlich in eine innere Zone A und eine äußere Zone B aufgeteilt (s. Abb. 5). Hierdurch konnte neben der Gesamtzahl aller überquerter Linien auch die Zahl der Übertritte aus der äußeren Zone B in die innere Zone A (bzw. umgekehrt) erfasst werden. Dieses Vorgehen erlaubte neben der Ermittlung der Bewegungsaktivität auch Rückschlüsse auf das Angstverhalten der Mäuse, da in der Regel die äußere Zone B von den Mäusen als sicherer Rückzugsort präferiert wird, während die innere Zone A als „unsicher“ empfunden und der Aufenthalt in diesem Bereich von den Mäusen vermieden wird.



Abb. 5: Open field für die Aktivitätsmessung von Mäusen. Über dem Open field befindet sich eine Kamera, über die man außerhalb der Versuchskammer die Maus auf einem Bildschirm beobachten kann. Anhand von 2 senkrechten und 2 waagerechten Linien auf dem Bildschirm war das Open field in 9 gleichgroße Felder aufgeteilt. A markiert den inneren Bereich, B den äußeren Bereich des Open field.

Beim *Activity cage* handelt es sich um eine Box (41 x 41 x 33 cm) mit durchsichtigen Acrylglasseitenwänden zur automatischen Aktivitätsmessung (Model 7420, UGO BASILE, Comerio, VA, Italien) (s. Abb. 6). Über Infrarotsensoren wurde die horizontale Aktivität (Transitions) gemessen, aufgrund eines technischen Defekts wurde die vertikale Aktivität (Rearings) per Hand gezählt. Die Maus wurde in den zentralen Bereich der Box gesetzt und die Bewegungsaktivität über einen Zeitraum von 5 min erfasst.

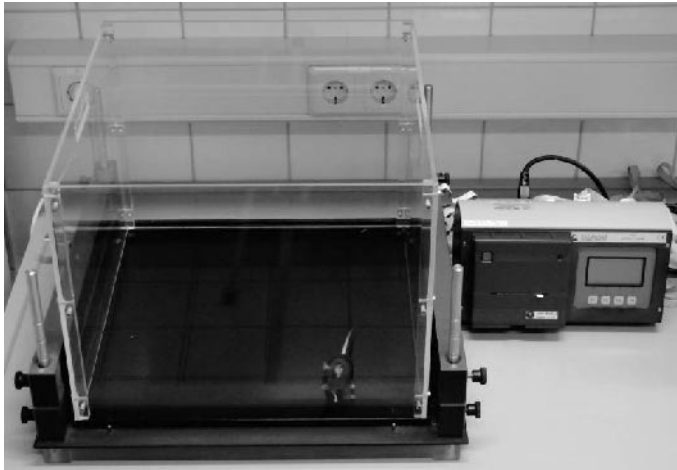


Abb. 6: *Activity cage* zur automatischen Aktivitätsmessung. Die Bewegungsaktivität der Maus wird durch Infrarotsensoren gemessen und auf dem Display angezeigt, sowie am Ende der Versuchszeit ausgedruckt.

Im Rahmen der pharmakologischen Untersuchungen wurde auch ein *Score-System* zur Beurteilung der Hyper- oder Hypolokomotion eingesetzt. Dabei wurden folgende Scores vergeben:

Score -4 = Hypolokomotion, die sich durch äußere Reize nicht unterbrechen lässt;

Score -3 = Hypolokomotion, die sich durch äußere Reize für 2-3 Schritte unterbrechen lässt;

Score -2 = Hypolokomotion, die sich durch äußere Reize für > 2-3 Schritte unterbrechen lässt;

Score -1 = Hypolokomotion, die sich durch äußere Reize für > 10 Schritte unterbrechen lässt;

Score 0 = normale Bewegung;

Score 1 = Hyperlokotion, die < 50% der Zeit anhält;

Score 2 = Hyperlokotion, die > 50% der Zeit anhält;

Score 3 = Hyperlokotion, die durch äußere Reize unterbrechbar ist;

Score 4 = Hyperlokotion, die sich durch äußere Reize nicht unterbrechen lässt.

3.2.2.3. Katalepsie

Da antidopaminerge Substanzen Katalepsie, d.h. ein anhaltendes Verharren in einer bestimmten (passiv vorgegebenen) Körperhaltung bei erhöhter Muskelspannung, verursachen können, wurde im Rahmen der pharmakologischen Untersuchungen zusätzlich mit Hilfe des

Block Tests überprüft, ob die Tiere kataleptisch waren. Die Mäuse wurden dazu mit den Vorderpfoten auf einen 4 cm hohen Block gesetzt und die Zeit gemessen, die die Maus ohne äußeren Einfluss mit beiden Vorderpfoten auf dem Block verharrte. Die maximale Testzeit betrug 30 s. Die Mäuse wurden zweimal hintereinander auf den Block gesetzt und die kürzere Zeit des Verharrens wurde gewertet. Ab einer Verweildauer von 8 s wurde von einer Katalepsie ausgegangen.

3.2.2.4. Koordination

Um das Koordinationsvermögen der Mäuse zu testen, wurde ein akzelerierendes *Rotarod* (Drehstab) (Modell 7650, Robert & Jones, UGO BASILE, Comerio, VA, Italien) verwendet. Das Rotarod besteht aus einem Drehstab aus profiliertem Hartgummi, der durch undurchsichtige Plastikscheiben in 5 Kompartimente unterteilt ist und von einem Elektromotor angetrieben wird (s. Abb. 7). Unter dem Drehstab befinden sich Kontaktplatten, die mit einem digitalen Sekundenzählwerk verbunden sind. Man startet das Sekundenzählwerk, wenn die Maus auf den sich drehenden Stab gesetzt wird. Die Zeit wird automatisch gestoppt, sobald die Maus beim Herunterfallen den Kippschalter für die Kontaktplatte berührt (s. Abb. 7). Im Accelerating-Modus erfolgt über einen Zeitraum von 300 s eine Beschleunigung der Umdrehungsgeschwindigkeit von 4 Rotationen pro min (rpm) auf 40 rpm. Zunächst konnten sich die Maus bei 4 rpm 60 s an die ungewohnte Situation gewöhnen, danach wurde der Accelerating-Modus eingeschaltet und gemessen, wie lange sich die Maus auf dem Stab halten kann („Latency to fall“). Nach Ablauf von 300 s wurde der Versuch beendet.



Abb. 7: Rotarod zum Testen des Koordinationsvermögens. Die Maus wird auf den sich drehenden Stab gesetzt. Wenn sie herunterfällt, löst sie die Kontaktplatte aus. Auf der Digitalanzeige kann man die Aufenthaltsdauer in s ablesen.

3.2.2.5. Muskelkraft

Mit dem „*Wire-hang Test*“ wird die Muskelkraft der Vorder- und Hintergliedmaßen beurteilt. Die Maus wurde auf einen Käfigdeckel (Normtyp III) gesetzt, der am Rand mit Klebeband abgedeckt war, so dass eine Innenfläche von 20 x 15 cm entstand. Durch das Klebeband wurde verhindert, dass die Maus während des Tests an den Deckelrand gelangt. Auf dieses Innenfeld wurde die Maus für 60 s zur Gewöhnung gesetzt. Danach wurde der Deckel erst um 90°, dann um 180° gedreht (s. Abb. 8) und die Zeit gestoppt, die sich die Maus festhalten konnte („Latency to fall“). Die maximale Testzeit für jede Position betrug 60 s.



Abb. 8: Wire-hang Test zum Testen der neuromuskulären Stärke. Die Maus wurde auf einen an den Rändern abgeklebten Käfigdeckel gesetzt und der Deckel erst um 90°, dann um 180° gedreht und dabei die Zeit gestoppt, die sich die Maus am Deckel festhalten konnte.

Beim „*Grip-strength Test*“ beurteilt man nur die Muskelkraft der Vorderpfoten. Hierzu wurde ein „Grip-strength Meter“ (Model 47106, UGO BASILE, Comerio, VA, Italien) verwendet (s. Abb. 9). Die Maus greift beim Zurückziehen reflexartig einen Metallbügel, der über ein Kabel mit dem Kraftmesser verbunden ist. Wenn die nach hinten ziehende Kraft des Untersuchers die Muskelkraft der Maus übersteigt, lässt diese den Metallbügel los. Die Kraft kann man auf der Digitalanzeige ablesen. Für jede Maus fanden 5 Messungen hintereinander statt, diese wurden gemittelt. Das Ergebnis ergab die Griffstärke in Gramm (g).



Abb. 9: Grip-strength Test zum Testen der neuromuskulären Stärke der Vordergliedmaßen. Die Maus greift beim Zurückziehen reflexartig einen Metallbügel. Wenn die nach hinten ziehende Kraft des Untersuchers die Muskelkraft der Maus übersteigt, lässt diese den Metallbügel los. Die Kraft kann man auf der Digitalanzeige ablesen.

3.2.2.6. Ganganalyse

Um den Gang der Mäuse analysieren zu können, wurde der so genannte *Footprint Test* durchgeführt. Die Vorder- und Hinterpfoten der Maus wurden verschiedenfarbig mit ungiftiger, wasserlöslicher Farbe (Plaka®, Pelikan, Hannover, BRD) markiert. Dann musste die Maus durch einen blickdichten Tunnel (85 x 5 x 5 cm) über ein Blatt Papier laufen. Dabei entstanden Fußabdrücke, an denen die Schrittlänge der Vorder- und Hinterpfoten, der Abstand zwischen den Pfoten der linken und rechten Seite, sowie die Abstand der Vorder- von der Hinterpfote jeder Seite gemessen wurde (s. Abb. 10). Für jeden Parameter wurden 3 Messungen durchgeführt, die gemittelt wurden. Dabei blieben die ersten und letzten ca. 7 cm der Laufbahn unberücksichtigt.

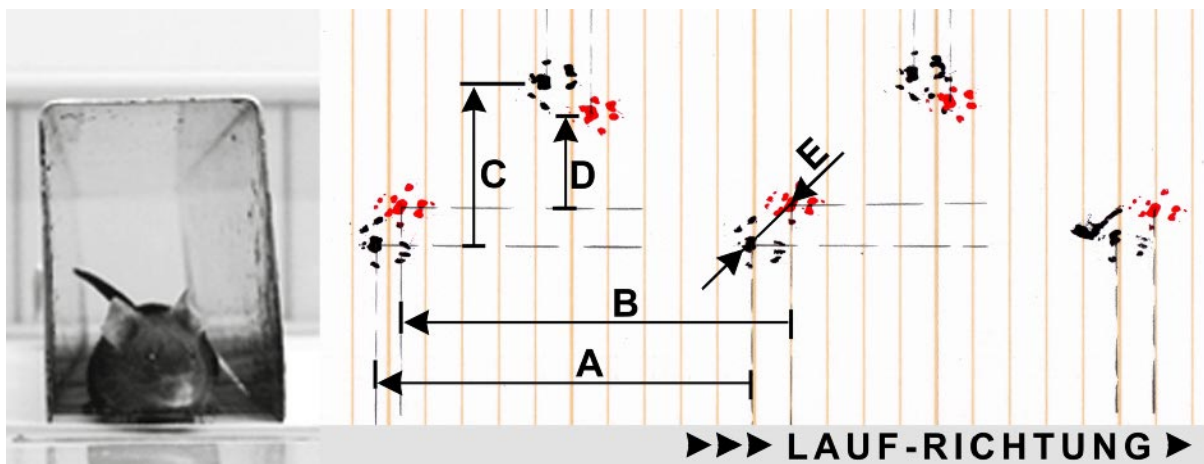


Abb. 10: Footprint Test zur Ganganalyse. Die Maus läuft mit farbig markierten Pfoten (Vorderpfoten rot und Hinterpfoten schwarz) durch einen Tunnel (linkes Bild) über Papier. An den dabei entstandenen Pfotenabdrücken (rechtes Bild) werden die Parameter Schrittlänge der Hinter- (A) bzw. Vorderpfoten (B), der Abstand zwischen den Hinter- (C) bzw. Vorderpfoten (D) der linken zur rechten Körperseite, sowie die Abstand der Vorder- von der Hinterpfote (E) jeder Körperseite gemessen.

3.2.2.7. „Dystonie“-Score

Um die Ausprägung der von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen der Hintergliedmaßen besser beurteilen zu können, wurde im Rahmen dieser Doktorarbeit ein Score-System für diese Bewegungen etabliert (s. Abb. 11). Da bei 3 Monate alten unbehandelten Mäusen diese Bewegungen noch nicht offensichtlich waren, sondern erst nach L-DOPA Applikation deutlich zum Vorschein traten, wurde dieses Score-System nur im Rahmen der pharmakologischen Untersuchungen bei substanz- und vehikelbehandelten Mäusen eingesetzt. Hierbei wurden die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen (gekrümmte Haltung der Hinterextremitäten), die sich im Laufen bzw. im

Hängen zeigten, jeweils mit Score 0-4 beurteilt:

Score 0 = nicht vorhanden;

Score 1 = einseitig nicht permanent;

Score 2 = einseitig permanent;

Score 3 = beidseitig nicht permanent;

Score 4 = beidseitig permanent.

Die Scores aus Hängen und Laufen wurden bei jedem Tier zusammengefasst, so dass bei jedem Tier ein individueller Maximalscore von 8 erreicht werden konnte (Beispiel s. Abb. 11).

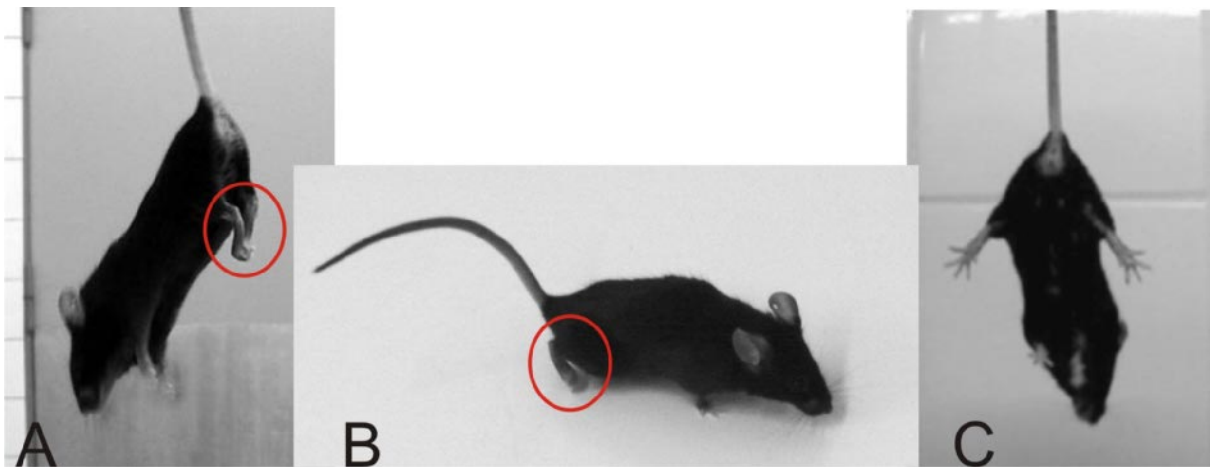


Abb. 11: „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen der Hintergliedmaßen im Hängen (A) und im Laufen (B) sowie die normale gestreckte Haltung der Hintergliedmaßen bei einer hängenden Kontrollmaus (C). Beispiel: A zeigt Score 4 (beidseitig, permanent), B zeigt Score 2 (einseitig, permanent) in derselben Maus, so dass dieses Tier einen individuellen Maximalscore von 6 erreicht.

3.2.2.8. Händigkeit und Geschicklichkeit

Im *Staircase Test* kann die Geschicklichkeit und Händigkeit der Vorderpfoten beurteilt werden. Der Staircase (modifiziert nach dem Modell 80301, Lafayette Instrument Co. Europe, Loughborough, U.K.) besteht aus 2 Abteilen (s. Abb. 12). Das hintere Abteil (9 x 5 x 5 cm) dient als Aufenthaltsbereich und besteht an den Seiten aus undurchsichtigem grauem Plastik, der Boden wird von Metallquerstreben (1/16'') gebildet. Der Deckel ist aus durchsichtigem Plexiglas mit Luftlöchern. Das vordere Abteil (7,5 x 2,7 x 4,3 cm) besteht vollständig aus durchsichtigem Plexiglas. In der Mitte, auf 2,2 cm Höhe, befindet sich ein 1,5 cm breiter Steg, auf den die Mäuse vom hinteren Abteil aus gelangen können. Links und rechts unter dem Steg befindet sich eine „Treppe“ mit acht Stufen. Jede Stufe hat eine Vertiefung (\varnothing 0,7 cm, Tiefe: 0,2 cm), in die ein Futterpellet (Dustless Precision Pellet, TSE Systems, Bad Homburg, BRD)

platziert wird. Hinter den Treppen befindet sich ein kleiner vertikaler Steg, der das Erreichen der unteren Treppenstufen für die Maus vom hinteren Abteil her verhindert. Die Treppen der linken und rechten Seite sind durch ein Metallteil verbunden und man kann sie nach vorne herausziehen, um sie zu befüllen. Der Test fand in einem abgeschlossenen Raum statt, so dass die Mäuse nicht durch den Untersucher gestört wurden. Jeder Versuch bestand aus 3 Trainingstagen, an die sich 5 Testtage anschlossen. Den Mäusen wurde am Abend zuvor das Futter entzogen (Nahrungsentzug 16 h), Wasser erhielten sie weiterhin ad libitum. 2 „Staircases“ wurden vor einen Spiegel gestellt, so dass beide Seiten des Staircase auf der Videoaufzeichnung sichtbar waren (s. Abb. 12). In jeden Staircase wurde jeweils eine Maus in das hintere Abteil gesetzt. Das Verhalten der Maus wurde über einen Zeitraum von 15 min mittels einer Digitalkamera (DCR-PC100E, Sony, Berlin, BRD) aufgezeichnet. Unmittelbar nach dem Test erhielten die Mäuse wieder Standardfutter, sowie Sonnenblumenkerne und Feuchtfutter (eingeweichtes Standardfutter) für 8 h, um einen Gewichtsverlust durch die nächtliche Futterkarenz zu vermeiden. Anhand der Videoaufnahmen wurden dann die Parameter „erfolgreich aufgenommene Pellets“ (die Maus griff und fraß das Pellet), „nicht erfolgreich aufgenommene Pellets“ (die Maus griff das Pellet, ließ es dann aber wieder fallen) und „verstreute Pellets“ (beim Versuch ein Pellet zu greifen, fiel dieses von der Stufe) gezählt.

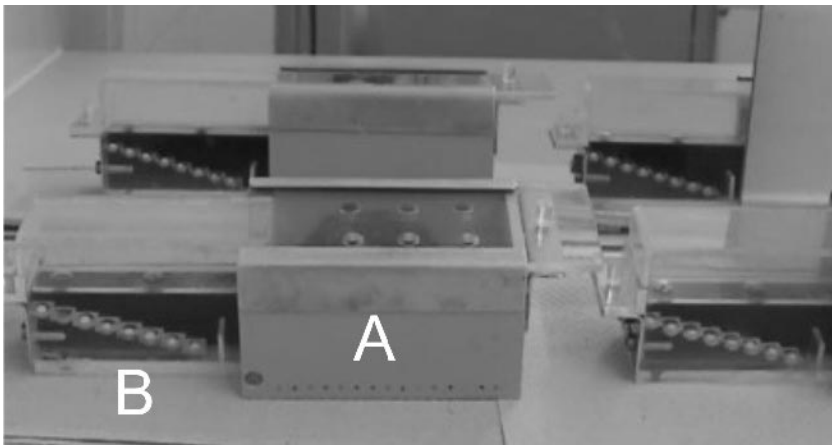


Abb. 12: Staircase Test. 2 Staircases wurden vor einem Spiegel platziert, so dass beide Seiten sichtbar waren. Die Mäuse konnten aus dem hinteren Abteil (A) auf den Steg (B) klettern und dann nach den auf den Stufen platzierten Futterpellets greifen.

3.2.2.9. Angstverhalten

Das Angstverhalten wurde mit dem *Elevated plus maze* beurteilt. Es bestand aus 2 kreuzförmig angeordneten gleichlangen Stegen (30 x 5 cm), die in der Mitte verbunden (5 x 5 cm Plattform) und 50 cm über dem Boden befestigt waren. 2 sich gegenüberliegende Arme waren an den Seiten durch eine Wand aus undurchsichtigem Plastik geschlossen (Höhe 10 cm), die anderen beiden Arme ragten frei über den Boden (s. Abb. 13). Das Elevated plus maze befand sich in einer Kammer, die verschließbar und schallgedämmt war. In dieser Kammer herrschten gleichbleibende Versuchsbedingungen. Sie wurde mit 3 100-Watt-Lampen so ausgeleuchtet, dass in den offenen Armen eine Lichtstärke von 210 Lux, in den geschlossenen Armen von 60 Lux und im Zentrum eine Lichtstärke von 140 Lux erreicht wurde. Durch die hohe Beleuchtungsintensität wurde die Aversion der Tiere gegenüber den offenen Armen gesteigert. Außerdem war eine Kamera (TSE Systems, Bad Homburg, BRD) installiert. Die Maus wurde auf die Plattform ins Zentrum gesetzt und 10 min außerhalb der Kammer über einen Bildschirm beobachtet. Protokolliert wurden dabei die Eintritte in die offenen bzw. geschlossenen Arme (wobei als Eintritt nur gezählt wurde, wenn alle vier Pfoten den anderen Arm betreten haben), die Aufenthaltsdauer in den offenen und geschlossenen Armen bzw. im Zentrum, die Rearings (das Aufrichten auf die Hinterpfoten) sowie Head dips (das Hinunterbeugen des Kopfes über den Rand der offenen Arme hinaus).

Zu den klassischen Parametern, die das Angstverhalten beschreiben, zählen das prozentuale Verhältnis der Eintritte in die offenen Arme zu den Gesamteintritten, die Verweildauer auf den offenen Armen sowie die Anzahl der Head dips. Ängstliche Tiere betreten die offenen Arme seltener und verbringen weniger Zeit auf den offenen Armen. Dieses Verhalten wird zudem von einer niedrigen Anzahl an Head dips verdeutlicht. Die Anzahl der Rearings beschreibt die vertikale Bewegungsaktivität, wobei diese unabhängig vom Angstverhalten ist.

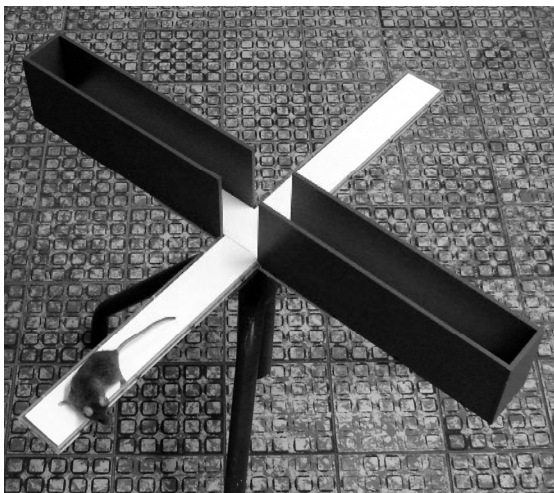


Abb. 13: Elevated plus maze zur Beurteilung des Angstverhaltens. Es werden die Eintritte in die offenen und geschlossenen Arme, die Aufenthaltsdauer in den offenen und geschlossenen Armen sowie im Zentrum und die Anzahl der Rearings und Head dips gezählt bzw. gemessen.

Substanz	Dosierung	Alter	DYT1 (Anzahl der Tiere)	Kontrollen (Anzahl der Tiere)	Durchgeführte Untersuchungen
unbehandelte Tiere		3. LM	10	10	Prüfung neurologischer Reflexe; Tests zur Motorik, Aktivität, zur Händigkeit und zum Angstverhalten
		6. LM	10	10	
		9. LM	10	10	
		12. LM	10	10	
L-DOPA + Carbidopa	100 mg/kg (L-DOPA) + 10 mg/kg (Carbidopa)	3. LM	8-10	9-10	Prüfung neurologischer Reflexe; Tests zur Motorik und Aktivität; „Dystonie“- Score; Katalepsie; Verhaltens-/Aktivitäts- Scores
		6. LM			
		9. LM			
		12. LM			
L-DOPA + Carbidopa	25 mg/kg (L-DOPA) + 10 mg/kg (Carbidopa)	6. LM	10	10	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	25 mg/kg (L-DOPA) + 10 mg/kg (Carbidopa) <i>chronisch über 20 Tage</i>	13. LM	9 S; 9 V	10 S; 9 V	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
GBR 12935	15 mg/kg	6. LM	8-10	9-10	Prüfung neurologischer Reflexe; Tests zur Motorik und Aktivität; „Dystonie“- Score; Katalepsie; Verhaltens-/Aktivitäts- Scores
		9. LM			
		12. LM			
	45 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
Amphetamin	5 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	10 mg/kg		5	5	
A 68930	1 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	2 mg/kg		5	5	
SCH 39166	0,3 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	0,6 mg/kg		5	5	
Quinpirol	1 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	5 mg/kg		5	5	
Racloprid	0,5 mg/kg	6. LM	5	5	„Dystonie“-Score; Katalepsie; Verhaltens- /Aktivitäts-Scores
	3 mg/kg		5	5	

Tab. 4: Anzahl der Tiere, die in den Verhaltensuntersuchungen und pharmakologischen Untersuchungen eingesetzt wurden. Die Gruppenzugehörigkeit der Tiere war dem Experimentator bekannt, allerdings wusste er nicht, welche Tiere die Substanz und welche das Vehikel erhalten hatten. (LM = Lebensmonat; S = Substanz, V = Vehikel)

3.2.3. Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems

Die Größe der Versuchsgruppen sowie die jeweils durchgeführten Untersuchungen sind in Tab. 4 zusammengefasst. Die pharmakologischen Untersuchungen wurden im sog. „Cross-over“ Design durchgeführt. Hierfür wurde sowohl die Gruppe der Kontrolltiere als auch die der transgenen Mäuse halbiert. Die Hälfte jeder Tiergruppe erhielt die Testsubstanz, die andere Hälfte das Vehikel. Im Abstand von einer Woche erhielt dann die Tiergruppenhälfte, die initial die Testsubstanz erhalten hatte nun das Vehikel und umgekehrt. Somit stellte jedes Tier seine eigene Vehikelkontrolle dar. Dabei wusste der Untersucher nicht, welches Tier welche Injektion erhielt („Blindversuch“). Die Substanzen wurden i.p. in einem Injektionsvolumen von 10 ml/kg verabreicht. Die Dosierungen wurden in Anlehnung an Literaturangaben bei Ratten oder Mäusen gewählt, in denen die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanzen charakteristische Verhaltensänderungen hervorriefen (s. 2.3.1.).

Zunächst sollte grundsätzlich festgestellt werden, ob durch pharmakologische Manipulationen des dopaminergen Systems altersabhängige Unterschiede in der Motorik zwischen Kontroll- und transgenen Mäusen verursacht werden können. Hierzu diente der Dopamin-Vorläufer L-DOPA in einer Dosierung von 100 mg/kg in Kombination mit 10 mg/kg Carbidopa (Decarboxylasehemmer) als Testsubstanz, die bei Tieren im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten i.p. appliziert wurde, um 20 min nach Injektion die bereits genannten Tests zur Überprüfung der neurologischen Reflexe und der Motorik (Activity cage, Rotarod, Wire-hang Test, Grip-strength Test und Footprint Test) durchzuführen (s. Abb. 14).

Als zweite Testsubstanz mit einem anderen pharmakologischen Wirkungsmechanismus diente der Dopamin-Wiederaufnahmehemmer GBR 12935 in einer Dosierung von 15 mg/kg. Er wurde in den genannten Tests bei Mäusen im Alter von 6, 9 und 12 Monaten eingesetzt (s. Tab. 4). Da bei den Versuchen mit L-DOPA keine Unterschiede zwischen dem 3. und dem 6. Lebensmonat (LM) erkennbar waren, wurde auf eine Applikation im 3. LM verzichtet.

Ein zweiter Schwerpunkt der pharmakologischen Untersuchungen war die Beurteilung einer möglichen Verstärkung bzw. Verminderung der von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) initial beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen (s. 3.2.2.7.) durch dopaminerge Substanzen. Dies erfolgte mittels eines Score-Systems zusätzlich bei den genannten Untersuchungen von L-DOPA und GBR 12935. Außerdem wurde dies bei weiteren Dosierungen dieser Substanzen und bei den in Tab. 3 aufgeführten Substanzen im Alter von 6 Monaten getestet.

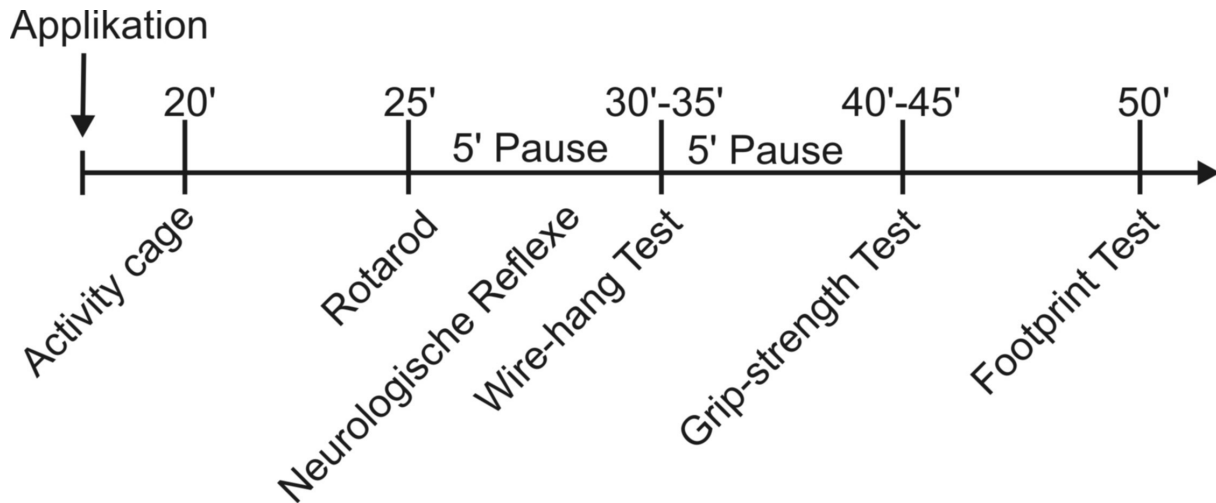


Abb. 14 Zeitstrahl zum Ablauf der pharmakologischen Verhaltenstests nach Applikation von Vehikel bzw. Substanz. Zwischen dem Rotarod und dem Wire-hang Test, sowie zwischen dem Wire-hang Test und dem Grip-strength Test wurde den Tieren jeweils eine Pause von 5 min eingeräumt. Da die Tiere unterschiedlich lange auf dem Rotarod verblieben, gestalteten sich die Zeiten danach variabel (wurden durch die Pausen bestimmt), weshalb hier die möglichen Zeiträume angegeben sind. Der Footprint Test fand als letzter Test max. 50 min nach der Injektion statt.

Vor der Untersuchung mittels **Score-System** wurden die Mäuse einzeln in hohe Makrolonkäfige (Normtyp III-180) gesetzt und diese mittels durchsichtiger Plexiglasscheiben mit Luftschlitzen abgedeckt, um ein übermäßiges Explorationsverhalten sowie ein Entweichen der Tiere zu verhindern. Im Anschluss an die Injektion der Testsubstanz bzw. des Vehikels wurden die Tiere über einen Zeitraum von 3 h zu festgelegten Zeitpunkten beurteilt. Die Beurteilung erfolgte in min 0 (unmittelbar vor Substanzapplikation) und 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 und 180 min nach der Injektion. Neben den Effekten auf die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen wurden auch weitere Verhaltenseffekte bzw. Nebenwirkungen wie *Schnüffeln* (Sniffing), *stereotypes Putzen* und *gestreckter Schwanz* (Straub tail) mittels Scores beurteilt. Die Beurteilung dieser Verhaltenseffekte erfolgte in Anlehnung an das Score-System, das für L-DOPA induzierte Dyskinesien verwendet wird (Lundblad et al., 2002). Folgende Scores wurden für diese Effekte vergeben:

Score 0 = normales Verhalten;

Score 1 = geringgradig (unter 50% der Beobachtungszeit vorhanden);

Score 2 = mittelgradig (über 50% der Beobachtungszeit vorhanden);

Score 3 = hochgradig (ohne Unterbrechung vorhanden).

Außerdem wurde im Rahmen dieser Untersuchungen der Block Test durchgeführt (s. 3.2.2.3.) und die Aktivität ebenfalls mittels Scores beurteilt (s. 3.2.2.2.).

Im Anschluss an diese akuten Versuche wurde bei 13 Monate alten Tieren L-DOPA in einer Dosierung von 25 mg/kg in Kombination mit 10 mg/kg Carbidopa über 20 Tage chronisch verabreicht. Dabei wurde die geringere Dosierung von L-DOPA gewählt, da sich in den akuten Versuchen durch Verabreichung der höheren Dosierung sehr starke Effekte auf die Lokomotion und die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen gezeigt hatten. Die chronische Verabreichung sollte hingegen zeigen, ob sich durch eine länger anhaltende Manipulation des dopaminergen Systems mittels einer geringen Dosierung ohne starke akute Effekte Veränderungen der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen provozieren lassen. Hierzu wurden aus 18 transgenen und 19 Kontrolltieren eine Substanzgruppe (9 bzw. 10 Tiere) und eine Vehikelgruppe (9 Tiere) gebildet. Die Tiere wurden an den Tagen 1, 4, 8, 11, 15, 18 und 20 des 20-tägigen Injektionszeitraums mit dem oben beschriebenen Score-System beurteilt.

3.3. Statistische Versuchsauswertung

Da sich bei den verschiedenen Versuchen immer wieder Ausreißer zeigten, die gegen eine Normalverteilung sprachen, wurden für die Auswertung nur nicht parametrische statistische Testverfahren angewendet. Bei den Testverfahren wurde auf eine Bonferroni-Korrektur der p-Werte (Überschreitungswahrscheinlichkeit) verzichtet, was bei der Interpretation der Daten beachtet werden muss. Die Irrtumswahrscheinlichkeit α („Signifikanzniveau“), bei der die Nullhypothese abgelehnt wird, wurde in dieser Arbeit mit $\alpha = 0,05$ festgelegt. Wenn $p < \alpha$ war, wurde davon ausgegangen, dass die Abweichung der Versuchsergebnisse von den zu erwartenden Werten bei Gültigkeit der Nullhypothese nicht nur zufallsbedingt war. Diese Abweichungen bzw. Unterschiede wurden als signifikant bezeichnet. Bei p-Werten von $0,05 < p < 0,1$ wurde von einer Tendenz gesprochen. Die Qualität der Aussage wurde umso höher angesehen, je kleiner die p war. Für die Auswertung wurden die Einzeltierwerte herangezogen. Die p-Werte wurden mit dem Programm SigmaStat® (Version 3.0) errechnet. Die Darstellungen der Ergebnisse erfolgt mit sog. „Boxplots“ (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das arithmetische Mittel (\bar{x}) als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Von dieser Abbildungsart wird bei der chronischen Applikation aus Gründen der Übersichtlichkeit abgewichen. Da sich in diesen Untersuchungen das \bar{x} nicht stark vom Median unterschied, werden in diesen Abb. das \bar{x} und der Standardfehler (S.E.) dargestellt.

3.3.1. Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens

Da es sich bei den verschiedenen Alterstufen um dieselben Tiere handelte, wurde zunächst die

Varianz für die Altersverläufe mit der Friedman-Varianzanalyse für verbundene Stichproben mit Messwiederholungen ermittelt. Zeigten sich hierbei Unterschiede, so wurde der Wilcoxon-Signed-Rank-Test für verbundene Stichproben herangezogen, um die Altersstufen 3. LM zu 6. LM, 6. LM zu 9. LM und 9. LM zu 12. LM zu beurteilen. Innerhalb der einzelnen Altersstufen wurden die transgenen Tiere und die Kontrollmäuse mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ausgewertet.

3.3.2. Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems

Unterschiede zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung innerhalb der Kontroll- bzw. transgenen Tiere in einer Altersstufe wurden mit dem Wilcoxon-Signed-Rank-Test ermittelt. Bei den anderen Vergleichen wurde jeweils die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung von jedem Tier herangezogen. Bei den Verhaltensuntersuchungen wurde analog zu 3.3.1. vorgegangen. (Substanz – Vehikel).

Beim Score-System wurden jeweils die Maximalwerte der Substanz- und Vehikeluntersuchung, die ein Tier im Beobachtungszeitraum erreicht hat, betrachtet. Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests können Unterschiede in den Verteilungseigenschaften der Gruppen getestet werden. Da die erwarteten Wahrscheinlichkeiten jedoch < 5 waren, konnte der Chi-Quadrat-Test nicht durchgeführt werden. Daher wurde die Auswertung wie folgt durchgeführt: Die Altersstufen (3. LM zu 6. LM, 6. LM zu 9. LM und 9. LM zu 12. LM) wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede getestet, da es sich in den einzelnen Altersstufen hier um verschiedene Tiere handelte. Der Gruppenvergleich zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen fand ebenfalls mit dem Mann-Whitney-U-Test statt. Bei den Substanzen, die nur im 6. LM getestet wurden fand lediglich der Gruppenvergleich zwischen transgenen- und Kontrollmäusen statt. Der Mann-Whitney-U-Tests bei den Scores erfolgte mit dem Programm SPSS® (Version 16), da das Programm SigmaStat® keine korrigierten p-Werte für Stichproben mit Bindungen berechnet.

Bei der chronischen Applikation von L-DOPA wurden die einzelnen Gruppen (Kontrollen Vehikel, Kontrollen Substanz, DYT1 Vehikel und DYT1 Substanz) zunächst mit der Friedman-Varianzanalyse auf Unterschiede im Versuchsverlauf untersucht. Zeigten sich hierbei Unterschiede, wurden die Versuchstage jeweils auf Unterschiede zu Tag 1 mit dem Wilcoxon-Signed-Rank-Test untersucht. An den einzelnen Versuchstagen wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt, ob es Unterschiede zwischen der Substanz- und Vehikelgruppe einer Mauslinie bzw. zwischen den Kontroll- und den DYT1-Mäusen gab.

4. ERGEBNISSE

4.1. Genotypisierung

Um sicherzustellen, dass die transgenen Mäuse das humane Defektgen tragen, wurde eine Genotypisierung mittels PCR durchgeführt. Wie in Abb. 15 beispielhaft dargestellt, wiesen Proben von transgenen Tieren als PCR-Produkt 1 Bande mit einer Größe von ~213 bp und nach dem Verdau mit *Bse*RI 2 Banden, 1 bei 118 bp und 1 bei 95 bp, auf. Bei Kontrolltieren treten diese Banden nicht auf. Nur wenn sich die oben beschriebenen, für transgene Tiere typischen, Banden zeigten, wurden die transgenen Mäuse in Versuchen eingesetzt.

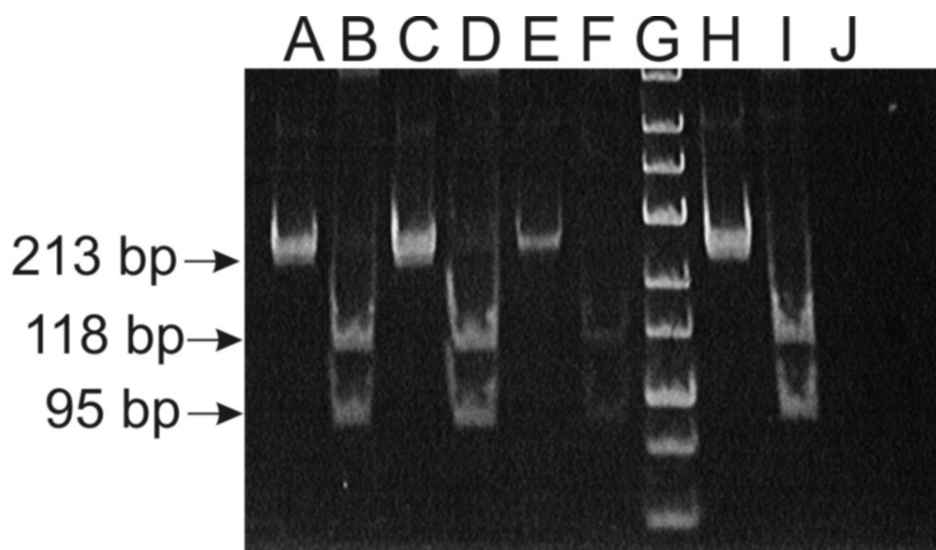


Abb. 15: Beispiel einer Genotypisierung mittels PCR: H stellt die Positivkontrolle vor Verdau und I die verdaute Positivkontrolle (Probe einer transgene Maus) dar. J ist die Negativkontrolle (Probe einer Kontrollmaus). A, C und E sind PCR-Produkte von positiven Tieren und B, D und F die dazugehörigen Verdauproben. G ist die DNA-Leiter (50 bp Leiter) als Standard zum Abgleich der Bandengröße der aufgetragenen Proben.

4.2. Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens bei unbehandelten Mäusen

Diese Untersuchungen wurden bei naiven (d.h. unbehandelten) Kontrollmäusen und transgenen Mäusen in vier verschiedenen Altersstufen (3, 6, 9 und 12 Monate) durchgeführt. Diese Altersabhängigkeit war von besonderem Interesse, da die Erkrankung beim Menschen einen progressiven Verlauf aufweist und daher geklärt werden sollte, ob die DYT1-Mäuse ebenfalls einen solchen aufweisen. Der Median, die 25. und 75. Perzentile, das \bar{x} , der S.E.

sowie die Minimal- und Maximalwerte der jeweiligen Gruppe sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen.

4.2.1. Vitalität und neurologische Reflexe

Über den Versuchszeitraum wurde das KGW zur Beurteilung der Vitalität ermittelt. Es zeigte sich, dass die Gewichtszunahmen bei beiden Versuchsgruppen gleich verliefen (ohne Abbildung).

Der *Lidreflex*, die *Hautsensibilität*, der *Tastsinn (Orientierungsreflex)* und der *Stellungsreflex* waren bei allen Tieren in allen Altersstufen ungestört, d.h. die Reflexantwort erfolgte innerhalb 1-2 s. Beim *Haltungsreflex* zeigten eine Kontrollmaus mit 6 Monaten und eine mit 12 Monaten sowie eine DYT1-Maus mit 12 Monaten eine leicht verzögerte Reflexantwort von 2-3 s. Alle anderen Mäuse zeigten einen ungestörten Haltungsreflex (ohne Abbildung).

Darüber hinaus wurden die Mäuse in ihrem Heimkäfig sowie im Open field (s.u.) regelmäßig in allen Altersstufen beobachtet, mit Hauptaugenmerk auf mögliche Bewegungsstörungen. Das von Shashidharan et al (2005) beschriebene Circling konnte dabei bei einer Dyt1-Maus beobachtet werden. Die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen waren hierüber nicht aufgefallen.

4.2.2. Lokomotorische Aktivität

Bei der *lokomotorischen Aktivität* zeigte sich sowohl bei Kontrollmäusen als auch bei DYT1-Mäusen im Open field und im Activity cage eine signifikant geringere horizontale Bewegungsaktivität (Transitions) bei 6 Monate alten Tieren im Vergleich zu 3 Monate alten Mäusen (s. Abb. 16). Zwischen den beiden Tiergruppen gab es hingegen keinen signifikanten Unterschied. Es zeigte sich allerdings, dass es bei den transgenen Tieren in allen Altersstufen größere Streuungen gab als bei der Kontrollgruppe. Wenn man die Übertritte von einem äußeren Quadrat in ein anderes äußeres Quadrat (B-B) (s. Abb. 17 A) und von einem äußeren Quadrat in das innere Quadrat (B-A) (s. Abb. 17 B) im Open field gesondert betrachtet, so betraten die transgenen Tiere das innere, d.h. „unsichere“, Quadrat im 3. LM signifikant häufiger als die Kontrolltiere. Beide Tiergruppen zeigten im Alter von 3 Monaten signifikant mehr Transitions im Vergleich zum 6. Monat sowohl von B zu B als auch von B zu A. Beim Vergleich des 6. mit dem 9. LM ergab sich eine signifikant geringere Anzahl an Transitions von B zu A bei den transgenen Tieren.

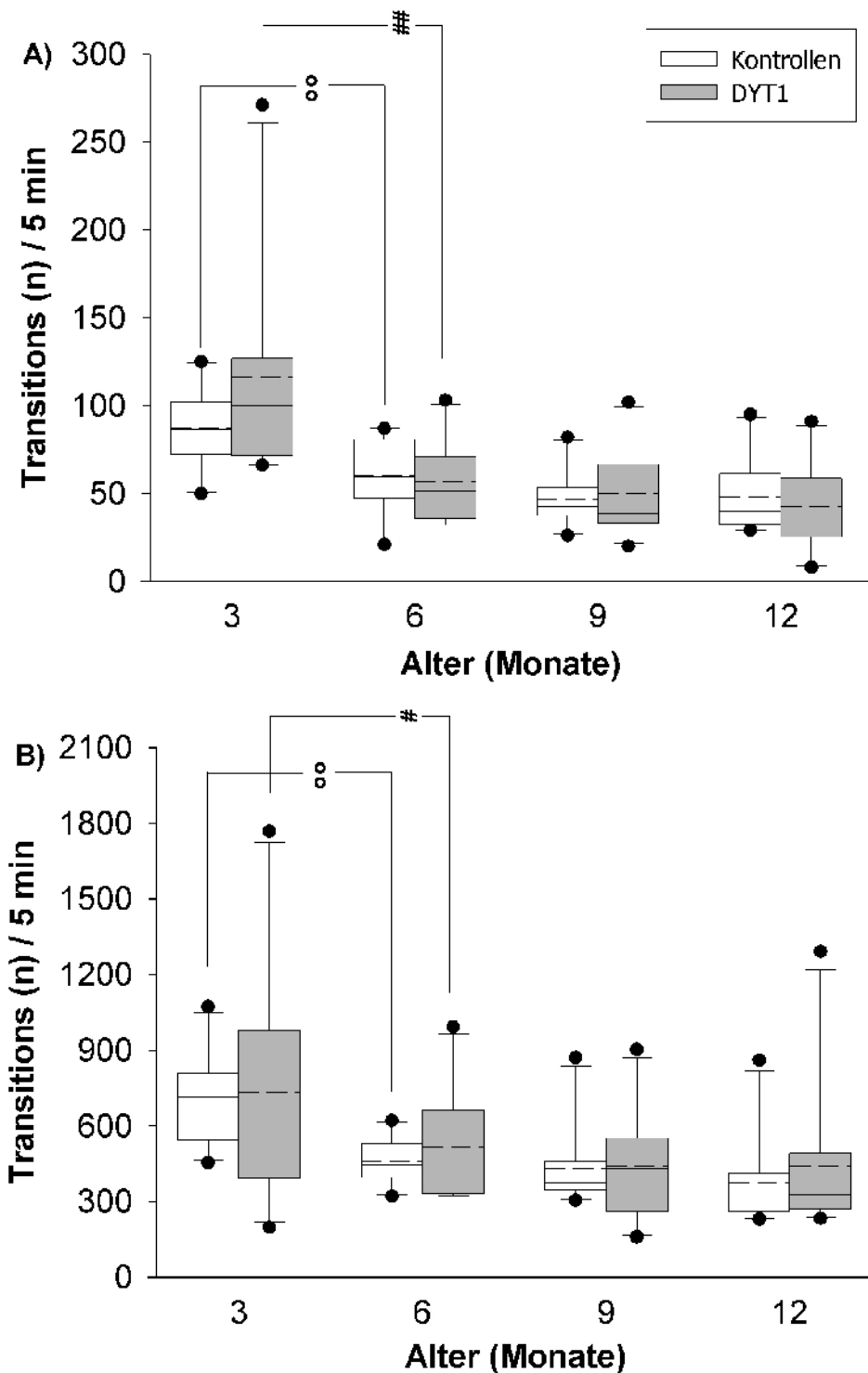


Abb. 16: Horizontale Bewegungsaktivität (Transitions) im Open field (A) und im Activity cage (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (°° $p < 0,01$) und signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der DYT1-Mäuse sind mit Rauten (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$) gekennzeichnet.

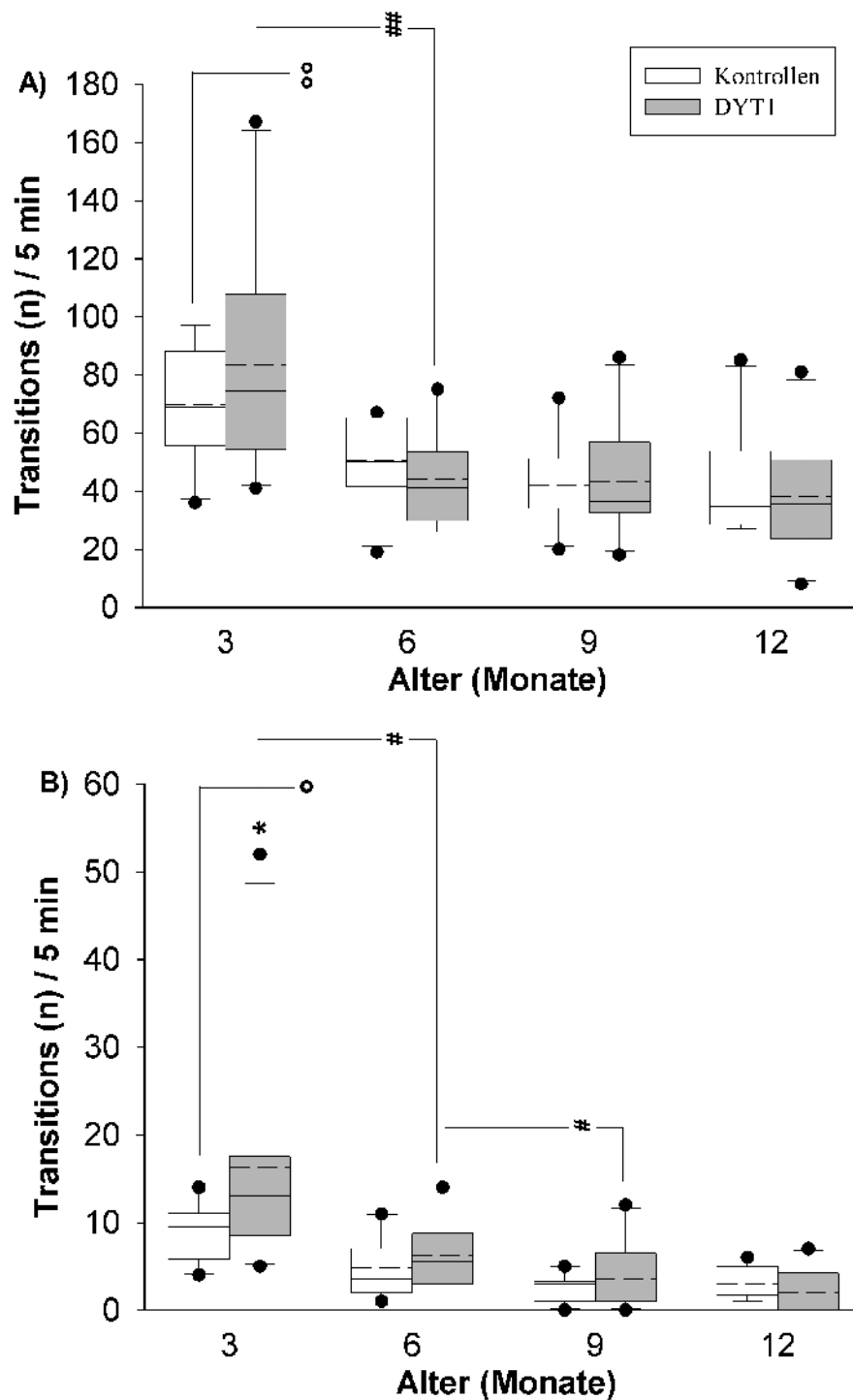


Abb. 17: Horizontale Aktivität im Open field. Übertritte von einem äußeren Quadrat in ein äußeres Quadrat (A) und Übertritte von einem äußeren Quadrat in das innere Quadrat (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p < 0,05$), signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p < 0,05$, °° $p < 0,01$) und signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der DYT1-Mäuse sind mit Rauten (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$) gekennzeichnet.

Die Ergebnisse für die *vertikale Bewegungsaktivität* (Rearings) im Open field und im Activity cage sind in Abb. 18 dargestellt. Im Open field konnte eine signifikant geringere Zahl an Rearings bei 6 Monate alten Kontroll- und transgenen Mäusen beobachtet werden als bei den entsprechenden 3 Monate alten Tieren. Zudem zeigte sich hier eine signifikante Reduktion der Rearings bei 12 Monate alten Kontrollmäusen im Vergleich zu 9 Monate alten Tieren, während zwischen diesen Altersstufen keine Unterschiede bei DYT1-Mäusen vorlagen. Im Activity cage wurde eine signifikant geringere Zahl der Rearings bei 6 Monate alten Kontrolltieren im Vergleich zum Alter von 3 Monaten festgestellt. Überraschenderweise war die Anzahl der Rearings bei 3 Monate alten DYT1-Mäusen signifikant niedriger als bei gleichaltrigen Kontrollmäusen. Andere signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen oder zwischen den Altersstufen innerhalb der Tiergruppen lagen nicht vor.

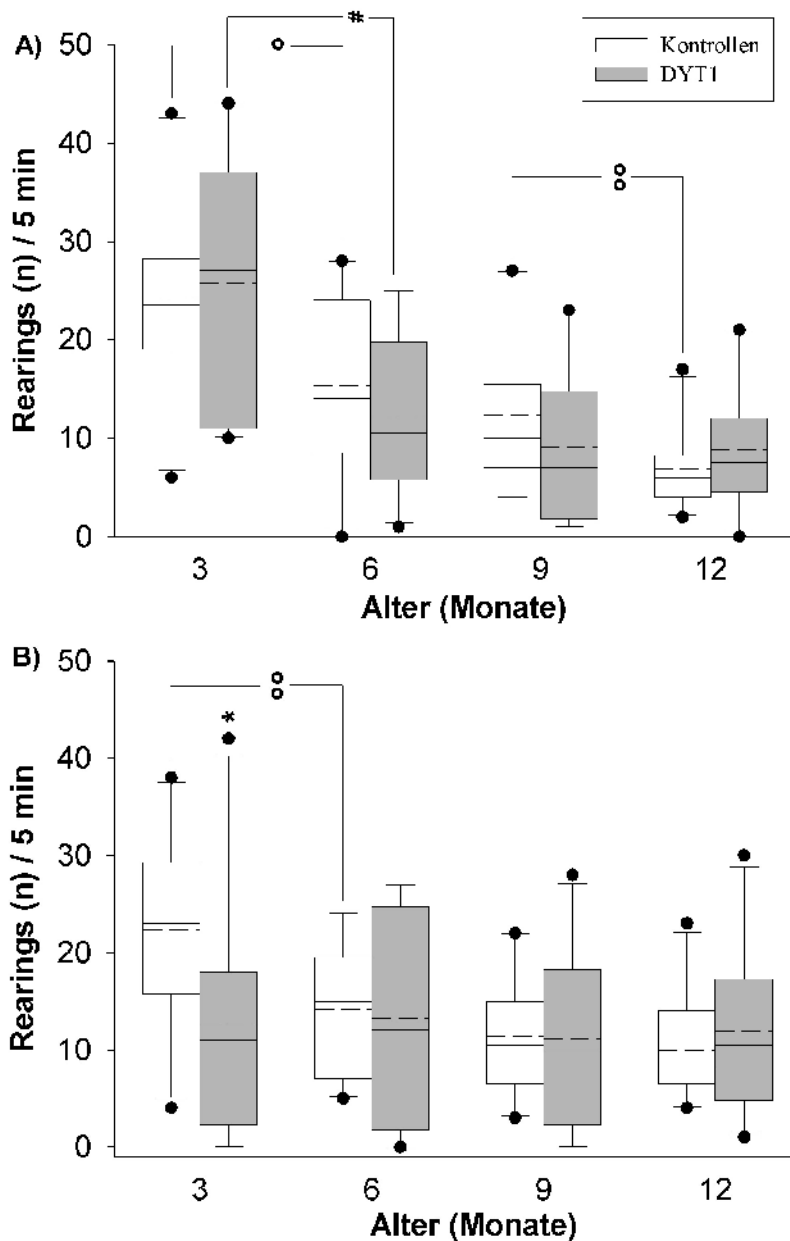


Abb. 18: Vertikale Bewegungsaktivität im Open field (A) und Activity cage (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p < 0,05$), signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p < 0,05$, °° $p < 0,01$) und signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der DYT1-Mäuse sind mit Rauten (# $p < 0,05$) gekennzeichnet.

Bei der *Putzaktivität* (Grooming) im Open field zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Altersverlauf innerhalb der beiden Gruppen. Im 9. LM wiesen allerdings die transgenen Tiere eine deutlich höhere Putzaktivität auf als die Kontrolltiere (s. Abb. 19).

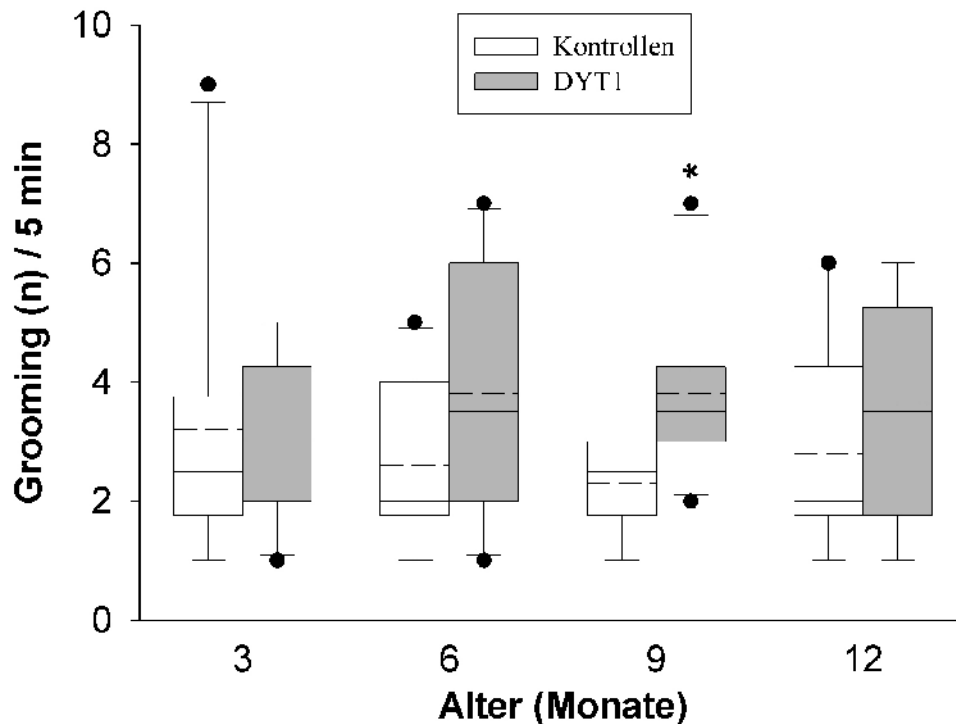


Abb. 19: Putzaktivität im Open field im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p < 0,05$) gekennzeichnet.

Zusammenfassend zeigte sich eine altersabhängige Abnahme der lokomotorischen Aktivität im Vergleich des 6. LM mit dem 3. LM, jedoch wiesen die transgenen Mäuse keine starken Abweichungen zu den Kontrollmäusen auf.

4.2.3. Koordination

Im Accelerating-Modus, in dem über einen Zeitraum von 300 s eine Beschleunigung von 4 rpm auf 40 rpm stattfand, zeigte sich eine signifikante Verbesserung der Rotarod-Performanz bei 6 Monate alten Kontrolltieren im Vergleich zu 3 Monaten (s. Abb. 20). Insgesamt zeigten die transgenen Mäuse keine Defizite in der Koordination im Vergleich zu den Kontrollen.

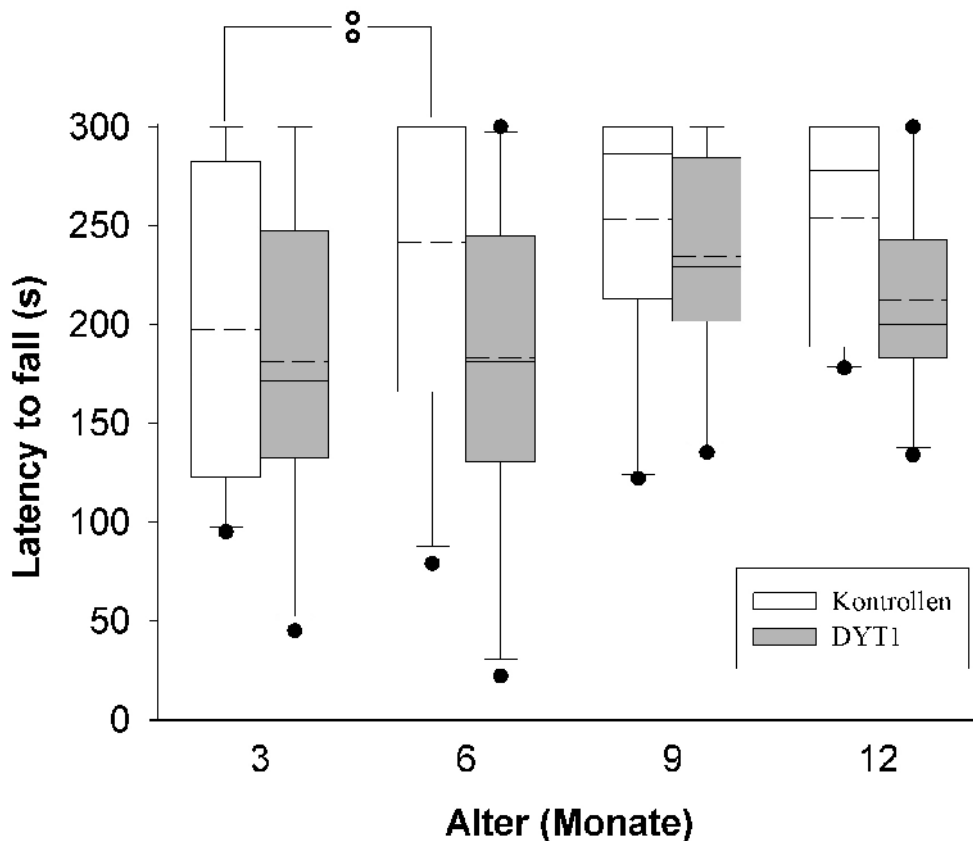


Abb. 20: Latenzzeit bis zum Herabfallen („Latency to fall“) auf dem Rotarod im Accelerating-Modus im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p < 0,01$) gekennzeichnet.

4.2.4. Muskelkraft

Bei der Kraftmessung mittels *Grip-strength Test* zeigten sowohl die transgenen als auch die Kontrolltiere einen signifikanten Unterschied im Vergleich des 6. mit dem 9. LM, wobei es zu einer Verminderung der Muskelkraft kam (s. Abb. 21 A).

Beim *Wire-hang Test* (s. Abb. 21 B) zeigten sich in beiden Tiergruppen bei einer Drehung von 90° (keine signifikanten altersabhängigen Unterschiede ohne Abbildung). Bei einer Drehung von 180° zeigte die Friedman-Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied im Altersverlauf in beiden Tiergruppen, der auf eine verringerte Muskelkraft hindeutete. Dieser ließ sich mit dem post-hoc-Test in den von uns untersuchten Altersvergleichen allerdings nicht bestätigen. Auch beim Vergleich der beiden Tiergruppen ergaben sich weder bei einer Drehung des Gitters um 90° (ohne Abbildung), noch bei einer Drehung um 180° signifikante Unterschiede.

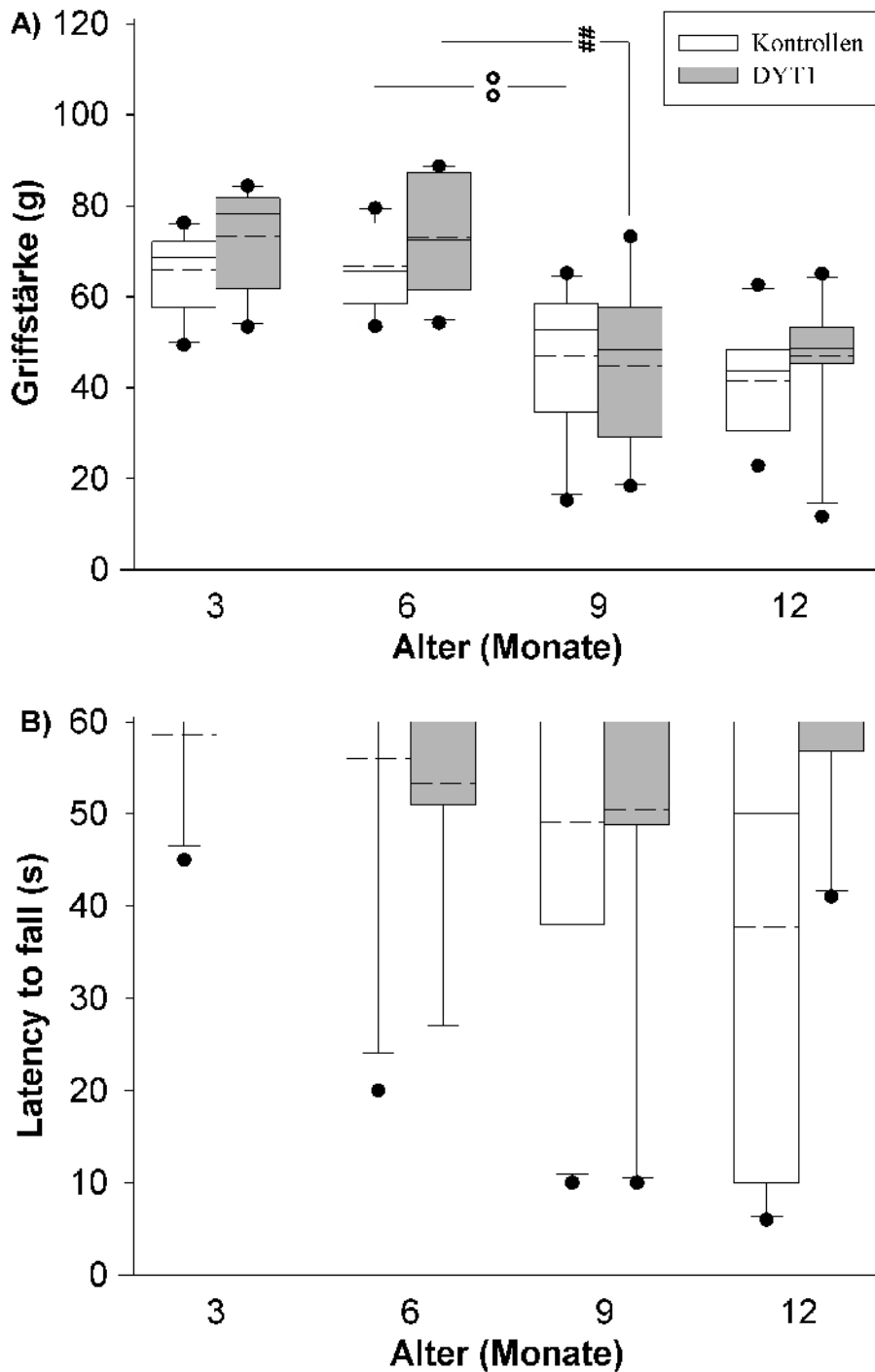


Abb. 21: Griffstärke beim Grip-strength Test (A) sowie die Latenzzeit bis zum Herabfallen („Latency to fall“) beim Wire-hang Test bei einer Käfigdeckeldrehung von 180° (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen ($^{\circ}p < 0,01$) und signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der DYT1-Mäuse sind mit Rauten ($^{\#}p < 0,01$) gekennzeichnet.

4.2.5. Ganganalyse

Da sich bei den *Schrittlängen* der linken und der rechten Körperseite keine Unterschiede zeigten und es sich nicht um ein lateralisiertes Tiermodell handelt (s. 3.2.2.1.), wurde für jedes Tier das \bar{x} aus den Werten der linken und rechten Körperseite gebildet. Für die Schrittlänge der Vorder- und Hinterpfoten (s. Abb. 22) ergab sich im Altersverlauf eine signifikante Verlängerung der Schrittlänge im Vergleich des 6. mit dem 9. LM bei den Kontrolltieren und im Vergleich des 3. mit dem 6. LM sowie des 9. mit dem 12. LM bei den transgenen Tieren. Beim Vergleich der beiden Tiergruppen war im 9. LM eine signifikante kürzere Schrittlänge der transgenen Tiere zu sehen.

Der *Abstand* zwischen den Vorderpfoten bzw. Hinterpfoten der linken und rechten Körperseite zeigte keine signifikanten Unterschiede (s. Abb. 23).

Bei dem Abstand der Vorder- von der Hinterpfote zeigte sich im Altersverlauf innerhalb der Tiergruppen weder auf der linken noch auf der rechten Körperseite ein signifikanter Unterschied. Im Vergleich der beiden Tiergruppen zeigte sich ein signifikant größerer Abstand von der Vorder- zur Hinterpfote bei den transgenen Tieren auf der rechten Körperseite im Alter von 12 Monaten (s. Abb. 24).

Insgesamt zeigten transgene Mäuse somit ab dem 9. LM leichte Ganganomalien im Vergleich zu Kontrollmäusen. Die Anzahl der Tiere in der Auswertung schwankte um 1 bis 2 Tiere, da vereinzelt die Footprints nicht auswertbar waren.

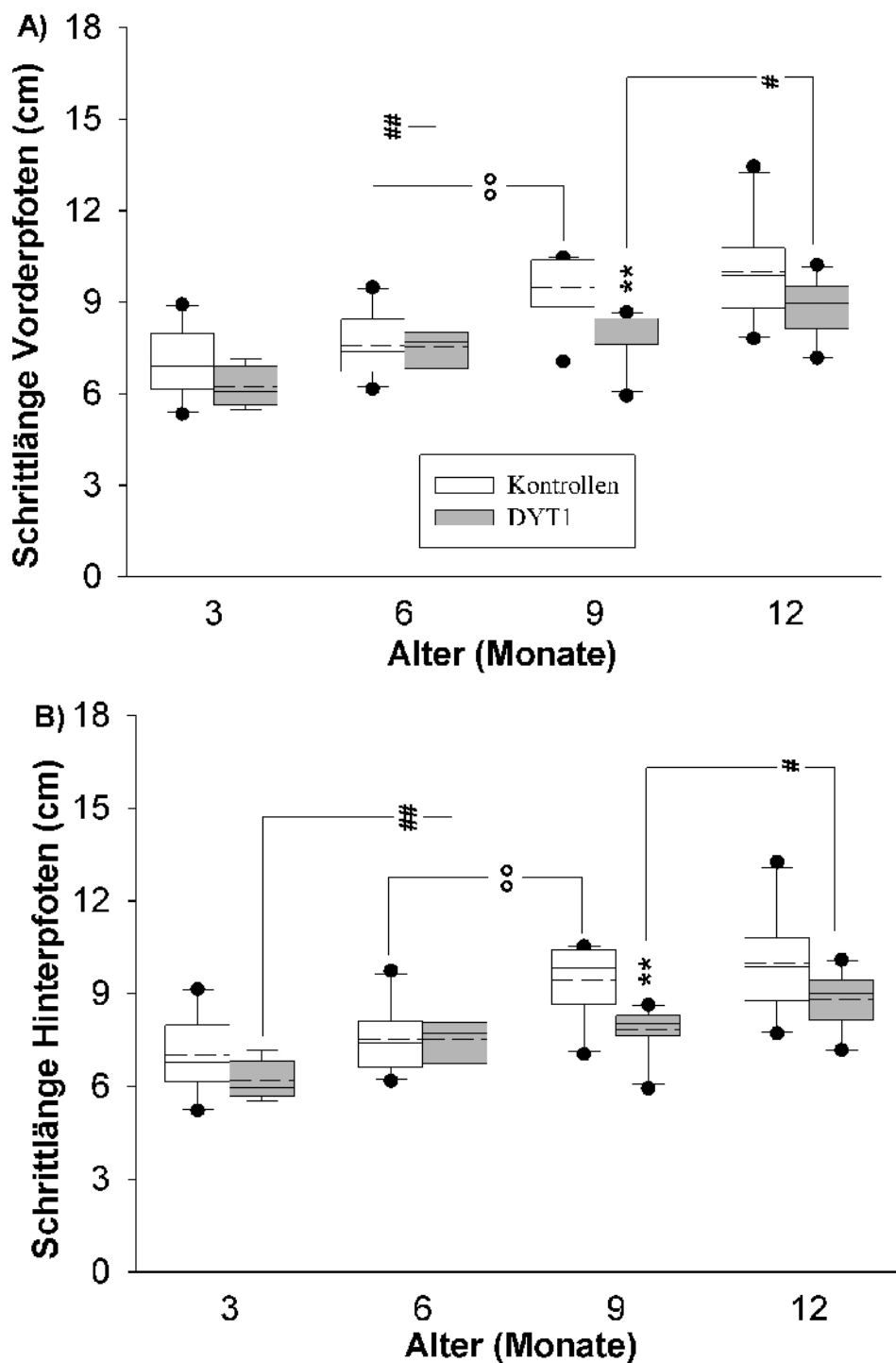


Abb. 22: Schrittlänge (in cm) der Vorderpfoten (A) und der Hinterpfoten (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 8-10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (** $p < 0,01$), signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p < 0,01$) und signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der DYT1-Mäuse sind mit Rauten (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$) gekennzeichnet.

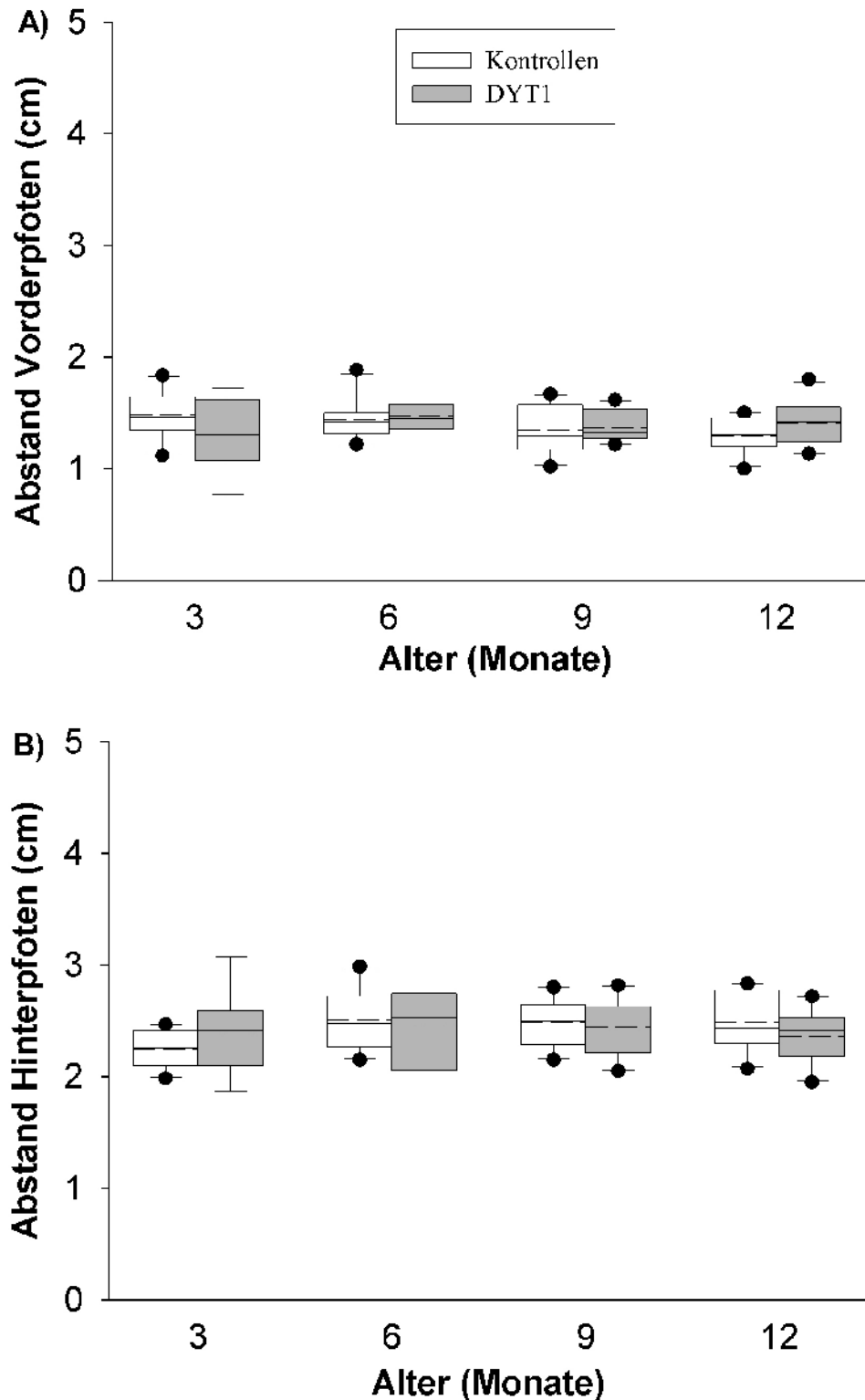


Abb. 23: Abstand zwischen den Vorderpfoten (A) und zwischen den Hinterpfoten (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 8-10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet.

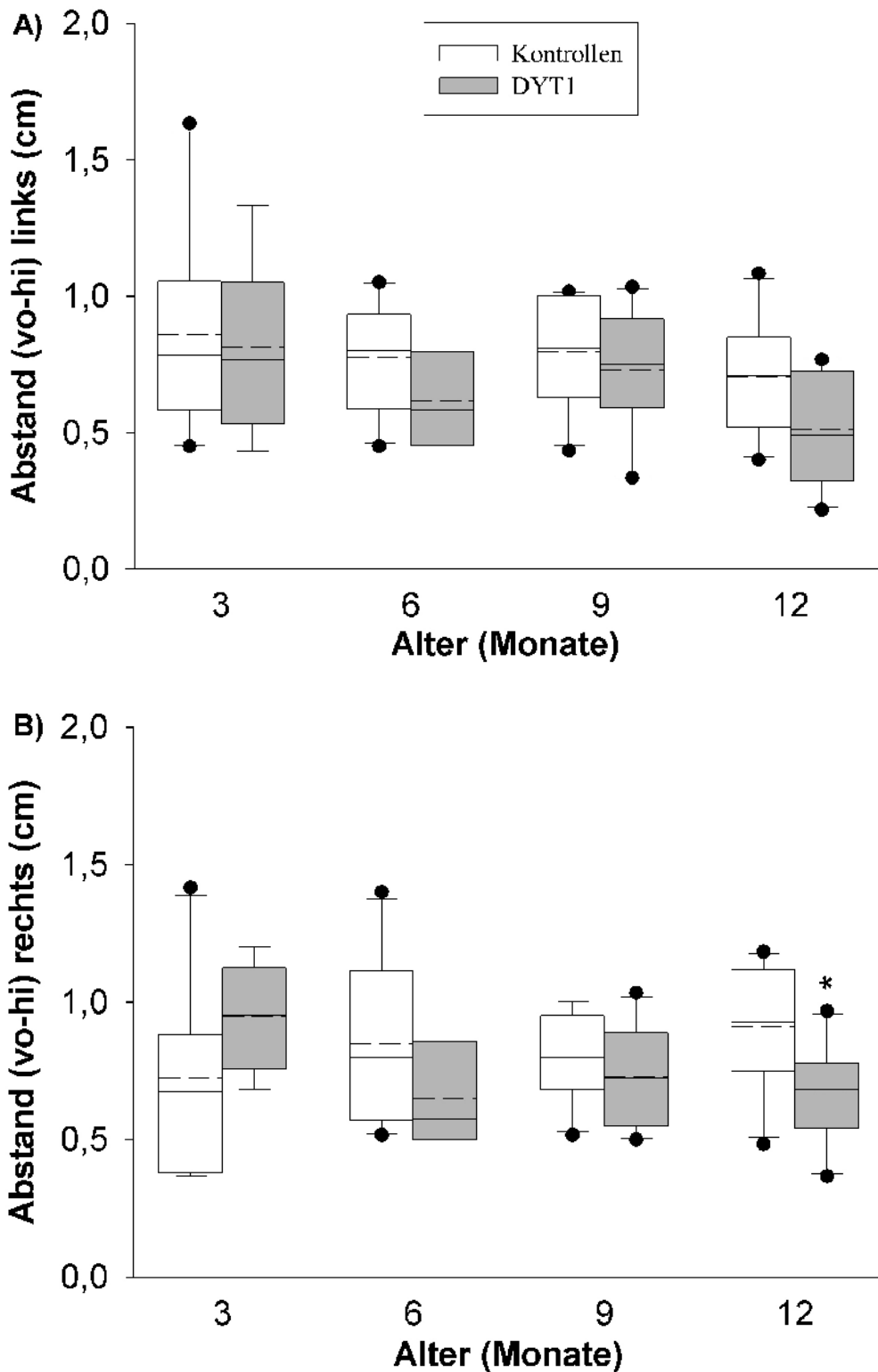


Abb. 24: Abstand zwischen Vorder- und Hinterpfote der linken Seite (A) und der rechten Seite (B) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 8-10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p < 0,05$) gekennzeichnet. (vo-hi = Vorderpfote-Hinterpfote)

4.2.6. Händigkeit und Geschicklichkeit

Der *Staircase Test* bestand aus 3 Trainingstagen, an die sich 5 Testtage anschlossen. Dieses Vorgehen wurde gewählt, da sich zeigte, dass nach 3 Tagen keine wesentlichen Veränderungen in der Anzahl der Pellets der einzelnen Parameter vorhanden waren. Beispielfhaft wird dies in Abb. 25 für die Anzahl der verstreuten Pellets im Alter von 3 Monaten dargestellt.

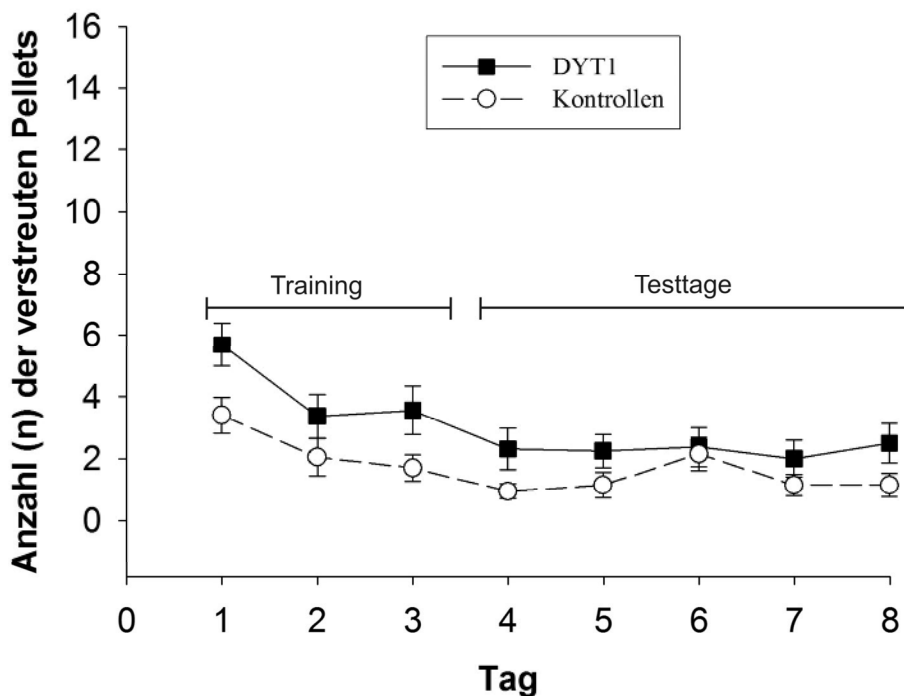


Abb. 25: Anzahl der verstreuten Pellets im Alter von 3 Monaten. Die Werte von 8 transgenen Mäusen (Quadrate) und 10 Kontrolltieren (Kreise). Dargestellt sind das \bar{x} und S.E. der beiden Gruppen an den verschiedenen Tagen des Versuchszeitraumes.

Tiere, die während des gesamten Versuchszeitraumes der einzelnen Altersstufen gar keine Aktivität zeigten oder höchstens an den Trainingstagen Pellets verstreuten, gingen nicht in die Auswertung ein. Dies waren im Alter von 3 Monaten 2 und im Alter von 6 Monaten 3 DYT1-Mäuse aber keine Kontrollmaus, im Alter von 9 und 12 Monaten jeweils 2 transgene Mäuse und eine Kontrollmaus. Für die Auswertungen wurden das \bar{x} der 5 Testtage für die einzelnen Parameter von jedem Tier herangezogen. Da sich bei Betrachtung der Daten gezeigt hat, dass auch Kontrollmäuse individuelle Präferenzen bezüglich der Benutzung der Pfoten zeigten und es sich bei den transgenen Tieren nicht um ein lateralisiertes Tiermodell handelt, wurde das \bar{x} aus der Anzahl der linken und der rechten Körperseite gebildet und somit die Geschicklichkeit insgesamt beurteilt.

Bei der Anzahl der *gefressenen Pellets* gab es weder signifikante Unterschiede im Altersverlauf innerhalb der beiden Versuchsgruppen, noch im Vergleich zwischen den Versuchsgruppen (s. Abb. 26 A). Die Kontrolltiere haben im Vergleich des 6. LM mit dem

9. LM signifikant mehr Pellets *verstreut*. DYT1-Mäuse zeigten bei diesem Parameter keine Unterschiede im Altersvergleich und auch zwischen den Versuchsgruppen gab es keine Unterschiede (s. Abb. 26 B). Bei den *nicht erfolgreich aufgenommenen Pellets* zeigten ebenfalls nur die Kontrolltiere einen signifikanten Unterschied im Altersverlauf, diesmal zwischen dem 3. und dem 6. LM, wobei sie im 6. LM mehr Pellets nicht erfolgreich aufnahmen (s. Abb. 26 C).

Insgesamt war die Händigkeit und Geschicklichkeit bei transgenen Mäusen im Vergleich zu den Kontrollmäusen unverändert.

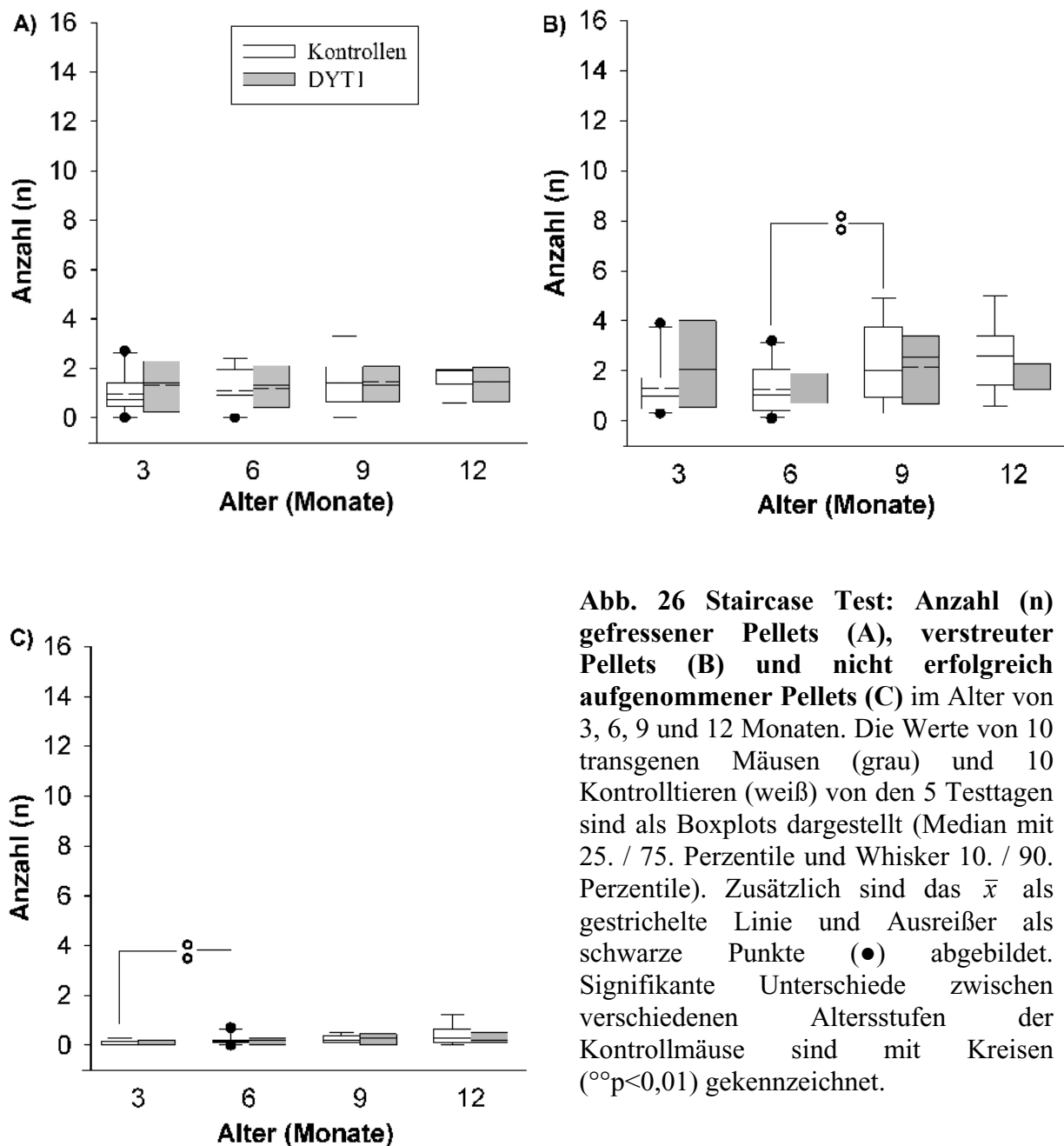


Abb. 26 Staircase Test: Anzahl (n) gefressener Pellets (A), verstreuter Pellets (B) und nicht erfolgreich aufgenommener Pellets (C) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) von den 5 Testtagen sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (°° $p < 0,01$) gekennzeichnet.

4.2.7. Angstverhalten

Die Kontrolltiere zeigten im Elevated plus maze eine signifikante Abnahme der *Eintritte in die offenen Arme in % der Gesamteintritte* vom 3. zum 6. LM. Transgene Mäuse traten im 9. LM signifikant häufiger in die offenen Arme ein als die Kontrolltiere (s. Abb. 27 A).

Bei der *Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen in s* (s. Abb. 27 B) zeigten die Kontrolltiere eine signifikant verkürzte Aufenthaltsdauer im 6. LM im Vergleich zum 3. LM. Die DYT1-Tiere zeigten zwar mit der Friedman-Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied im Altersverlauf, was auf eine Abnahme der Aufenthaltsdauer hindeutete, dies ließ sich aber mit dem Wilcoxon-Signed-Rank-Test in den von uns untersuchten Altersvergleichen nicht bestätigen. Zwischen den Tiergruppen waren keine Unterschiede festzustellen.

Bei den *Head dips* (s. Abb. 27 C) zeigten die Kontrolltiere eine signifikante Abnahme im 6. LM im Vergleich zum 3. LM. Bei den DYT1-Tieren war hingegen kein Unterschied im Altersverlauf sichtbar. Im Alter von 3 Monaten zeigten die transgenen Tiere aber signifikant weniger Head dips als die Kontrolltiere. Im Gegensatz dazu wiesen die transgenen Tiere im Alter von 12 Monaten signifikant mehr Head dips auf als die Kontrolltiere.

Die *vertikale Bewegungsaktivität*, ausgedrückt durch die Rearings (s. Abb. 27 D), zeigte eine signifikante Reduktion vom 3. zum 6. LM bei den Kontrolltieren. Im Altersverlauf bei den DYT1-Tieren sowie zwischen den Versuchsgruppen waren keine Unterschiede nachweisbar.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse im Alter von 3 Monaten auf eine eher größere Ängstlichkeit bei transgenen Mäusen im Vergleich zu den Kontrollen hin. Im Gegensatz dazu steht die eher geringere Ängstlichkeit der transgenen Tiere in den anderen Altersstufen, was mit den Beobachtungen im Open field (Übertritte B in A) übereinstimmt. Nur die Kontrolltiere zeigten eine Abnahme aller Parameter im Vergleich vom 3. zum 6. LM.

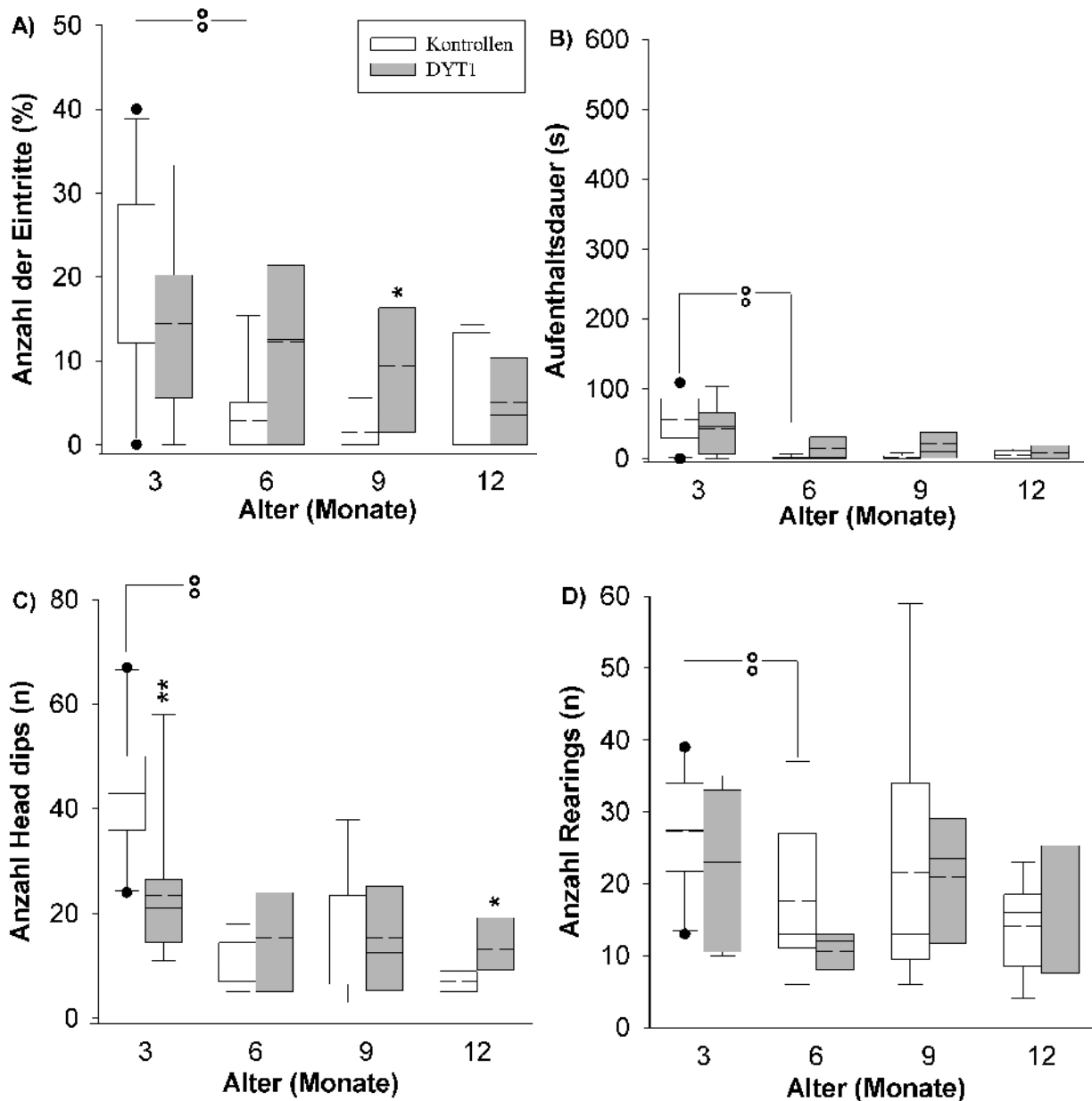


Abb. 27: Elevated plus maze mit Anzahl der Eintritte in die offenen Arme in % der Gesamteintritte (A), Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen in s (B), Anzahl der Head dips (C) und Anzahl der Rearings (D) im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 7-9 transgenen Mäusen (grau) und 9-10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$), signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p < 0,01$) gekennzeichnet.

4.3. Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems

Das dopaminerge System spielt eine entscheidende Rolle bei Dystonien (s. 2.1.3.2.). Daher sollte an den DYT1-Mäusen untersucht werden, ob es Unterschiede im Ansprechen auf verschiedene Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten im dopaminergen System gibt oder ob sich durch Manipulation des dopaminergen Systems dystone Bewegungen bei DYT1-Mäusen auslösen bzw. verstärken lassen. Die pharmakologischen Untersuchungen wurden im sog. Cross-over Design durchgeführt. Zusätzlich handelte es sich um Blindversuche, das heißt, dass der Untersucher nicht wusste, welche Tiere das Vehikel und welche die Substanz bekamen.

Für die statistischen Vergleiche der transgenen Mäuse mit den Kontrolltieren und der Altersverläufe innerhalb der Tiergruppen wurde immer die Differenz von Effekten unter Substanzapplikation und Effekten unter Vehikelapplikation eines jeden Tieres herangezogen. Die einzige Ausnahme war die Untersuchung der chronischen L-DOPA Applikation, da hier die Tiere nicht ihre eigene Vehikelkontrolle darstellten.

Der Median, 25. und 75. Perzentil, \bar{x} , S.E. sowie die Minimal- und Maximalwerte der einzelnen Gruppen sind dem tabellarischen Anhang zu entnehmen.

4.3.1. Wirkungen von L-DOPA und GBR 12935 in Abhängigkeit vom Alter

Die Early-onset-Torsionsdystonie hat beim Menschen meist einen altersabhängigen progressiven Verlauf. Daher war die Untersuchung einer Altersabhängigkeit bei den DYT1-Mäusen von besonderem Interesse, um zu untersuchen ob die Tiere einen progressiven Verlauf der Symptome zeigen, wie die bei DYT1-Patienten der Fall ist (s. 2.1.2.1.).

4.3.1.1. Akute Effekte von L-DOPA

Bei den Untersuchungen der neurologischen Reflexe zur Ermittlung der Vitalität nach i.p. Applikation einer Dosis von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa war der *Lidreflex*, der *Tastsinn (Orientierungsreflex)* und die *Hautsensibilität* bei allen Tieren ungestört. Nach Substanzapplikation war der *Haltungsreflex* im 3. LM bei 1 Kontrollmaus und 1 transgenen Maus gestört. Im 6. LM zeigten 2 transgene Tiere gar keinen Haltungsreflex, 4 Kontrolltiere und 3 transgene Mäuse zeigten einen gestörten Reflex. 9 Kontrolltiere und 2 transgene Tiere hatten außerdem einen gestörten *Stellungsreflex*. Im Alter von 9 Monaten zeigten 6 Kontrolltiere und 5 DYT1-Mäuse einen gestörten *Haltungsreflex*. 5 Kontrolltiere und 2 transgene Tiere hatten außerdem einen gestörten *Stellungsreflex*. Im 12. LM zeigten 6 Kontrolltiere und 4 transgene Tiere einen gestörten *Haltungsreflex*. 5 Kontrolltiere und

6 DYT1-Mäuse hatten einen gestörten *Stellungsreflex* (ohne Abbildung). Widererwartend zeigten aber auch vehikelbehandelte Tiere beider Versuchsgruppen vereinzelt gestörte Reflexe (ohne Abbildung).

Die *horizontale Bewegungsaktivität* (Transitions) wurde durch i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa bei beiden Tiergruppen in allen Altersstufen vermindert (s. Abb. 28). Einzige Ausnahme waren die 3 Monate alten DYT1-Mäuse. Im Vergleich zu Kontrollmäusen war eine signifikant größere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung bei den DYT1-Mäusen im 9. LM festzustellen. Die DYT1-Mäuse zeigten außerdem einen signifikanten Unterschied im Altersverlauf. Dies ließ sich mit dem post-hoc-Test jedoch nicht bestätigen.

Auch die *vertikale Aktivität* (Rearings) wurde durch die Applikation von L-DOPA in allen Altersstufen bei beiden Tiergruppen signifikant vermindert. Es waren aber keine altersabhängige Verminderung der Differenzen oder Unterschiede zwischen den Tiergruppen nachweisbar (s. Tab. 5).

Mittels *Rotarod* war für beide Tiergruppen in jeder Altersstufe eine signifikante Verschlechterung der Rotarod-Performanz nach Applikation von L-DOPA nachweisbar. Beim Vergleich der beiden Tiergruppen und beim Altersverlauf ergaben sich jedoch keine Unterschiede (s. Tab. 5).

Im *Grip-strength Test* ließ sich kein Unterschied zwischen der Substanz- und der Vehikelapplikation erkennen. Außerdem zeigten sich weder zwischen den Tiergruppen noch zwischen den verschiedenen Altersstufen innerhalb einer Tiergruppe Unterschiede (s. Tab. 5). Im *Wire-hang Test* fanden sich ebenfalls weder zwischen Substanz- und Vehikel-Applikation noch im Altersverlauf signifikante Unterschiede. Auch zwischen den Tiergruppen waren keine Unterschiede nachweisbar (s. Tab. 5).

	3 Monate		6 Monate		9 Monate		12 Monate		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Anzahl der Rearings	Vehikel	7,00 (5,00 / 16,0)	16,0 (5,00 / 25,3)	8,50 (5,00 / 16,0)	13,0 (3,00 / 25,0)	6,00 (3,00 / 9,25)	14,0 (8,00 / 23,0)	7,00 (3,00 / 10,0)	6,00 (2,25 / 23,0)
	Substanz	0,00 ⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺⁺ (0,00 / 0,00)	0,00 ⁺ (0,00 / 0,00)
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Vehikel	244 (177 / 278)	300 (260 / 300)	300 (188 / 300)	260 (197 / 300)	244 (180 / 290)	238 (203 / 300)	292 (209 / 300)	228 (204 / 283)
	Substanz	107 ⁺⁺ (95,0 / 130)	76,0 ⁺⁺ (61,0 / 169)	59,5 ⁺⁺ (45,0 / 268)	96,0 ⁺⁺ (61,8 / 150)	54,0 ⁺⁺ (29,3 / 63,8)	118 ⁺ (34,0 / 157)	73,5 ⁺⁺ (35,0 / 175)	70,0 ⁺⁺ (13,8 / 128)
Grip-strength Test Griffstärke (g)	Vehikel	37,7 (32,8 / 44,0)	56,5 (48,8 / 64,4)	38,0 (28,0 / 42,1)	37,0 (29,6 / 42,6)	43,9 (37,8 / 58,4)	33,3 (24,1 / 52,1)	41,2 (27,4 / 51,0)	39,2 (27,3 / 53,9)
	Substanz	33,6 (31,0 / 52,5)	34,1 (32,8 / 50,5)	36,5 (31,5 / 45,7)	34,5 (31,0 / 50,2)	36,9 (29,7 / 41,8)	43,7 (31,3 / 48,0)	33,0 (28,6 / 49,0)	35,1 (32,0 / 42,9)
Wire-hang Test 180° „Latency to fall“ (s)	Vehikel	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (50,8 / 60,0)
	Substanz	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (16,0 / 60,0)

Tab. 5: Wirkungen von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa nach i.p. Applikation auf die Anzahl der Rearings im Activity cage, die Rotarod-Performanz, den Grip-strength Test und den Wire-hang Test. Angegeben sind der Median und die 25. / 75. Perzentile; Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- und L-DOPA-Gabe innerhalb der Gruppe von Kontroll- bzw. DYT1-Mäuse sind mit Plus (⁺p<0,05, ⁺⁺p<0,01) gekennzeichnet.

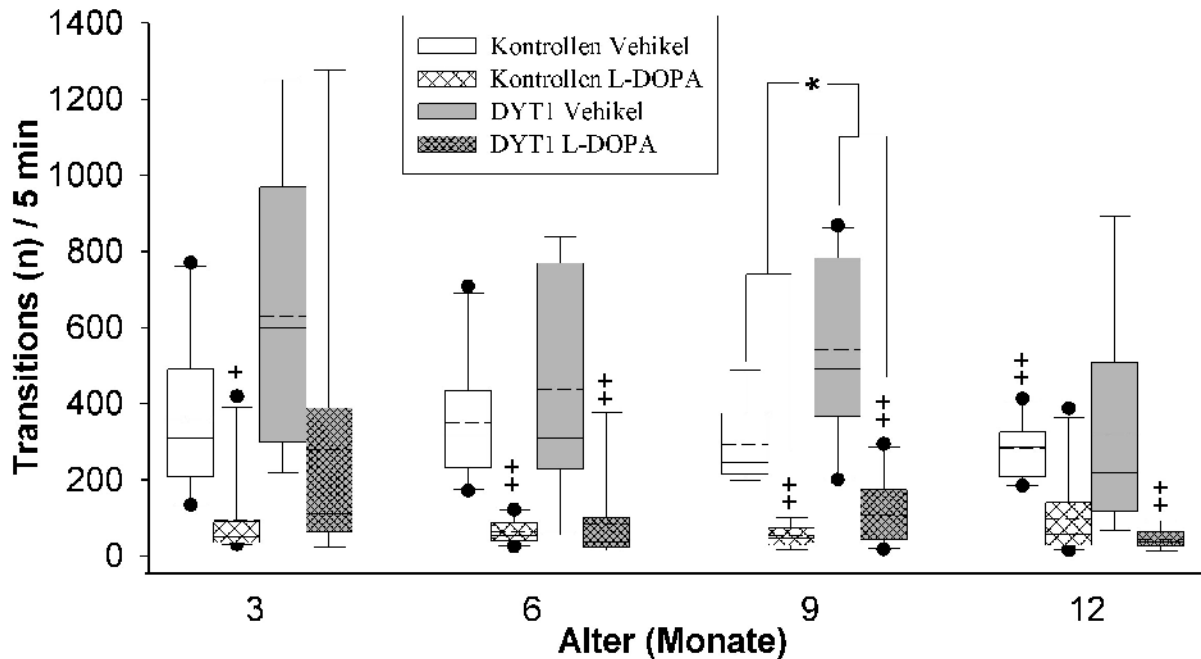


Abb. 28: Horizontale Aktivität im Activity cage nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 9-10 vehikelbehandelten transgenen Mäusen (grau) und 9-10 vehikelbehandelten Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Die Substanzapplikationen sind als schraffierte Flächen gekennzeichnet. Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel und Substanzapplikation innerhalb der Gruppe von Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen (⁺p<0,05, ⁺⁺p<0,01), signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (*p<0,05) gekennzeichnet.

Im *Footprint Test* liefen einige der L-DOPA-behandelten Tiere nicht durch den Tunnel, da die Bewegungsaktivität zu stark vermindert war (s.o.). Diese Tiere gingen nicht mit in die Auswertung ein. Es ergab sich für die Schrittlänge der Vorderpfoten und der Hinterpfoten bei den Kontrolltieren jeweils eine signifikant kürzere Schrittlänge nach Substanzgabe im 6., 9. und 12. LM im Vergleich zur Vehikelgabe. Die transgenen Tiere zeigten im Vergleich zwischen der Substanz- und der Vehikelgabe nur im 9. LM eine signifikant verkürzte Schrittlänge der Vorderpfoten. Im Vergleich der beiden Versuchsgruppen war im 12. LM eine signifikant stärker verkürzte Schrittlänge der Vorderpfoten nach Substanzgabe bei den Kontrollmäusen als bei den DYT1-Mäusen zu sehen (s. Abb. 29 A).

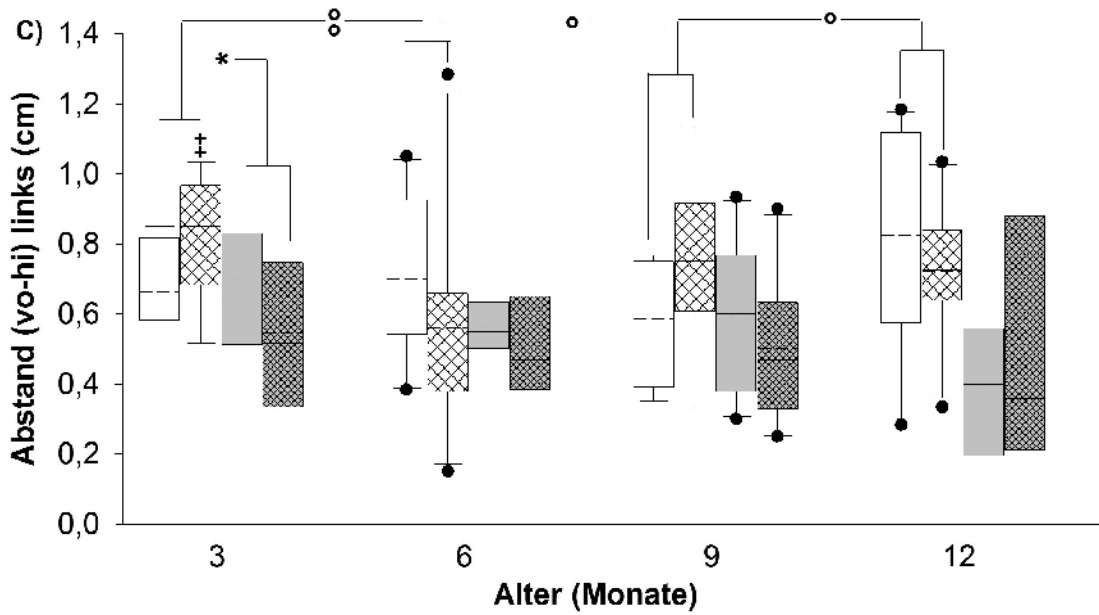
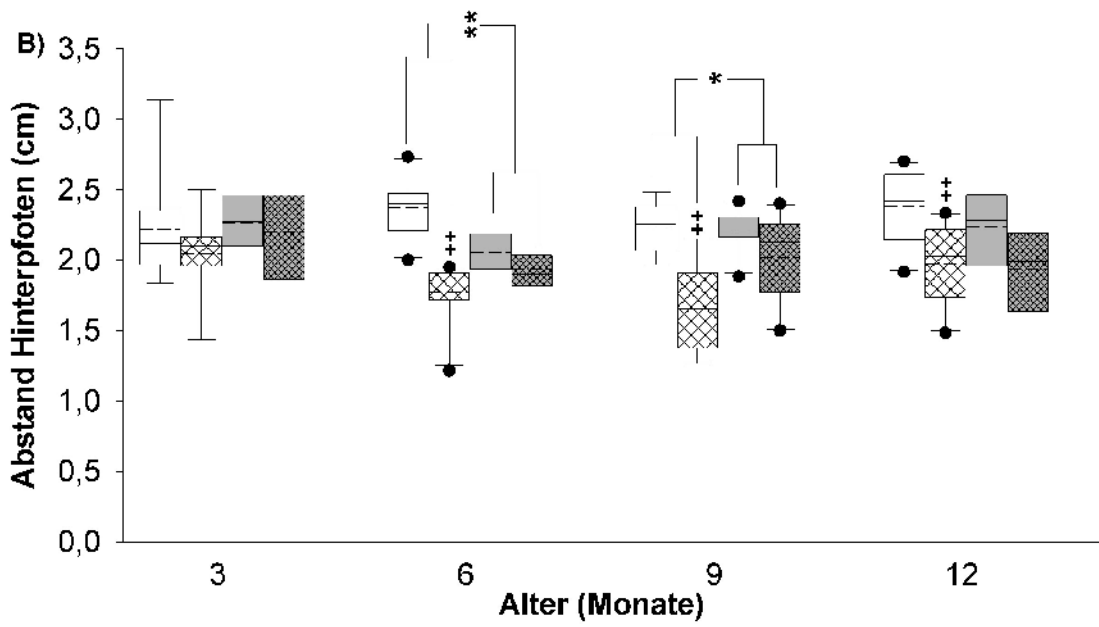
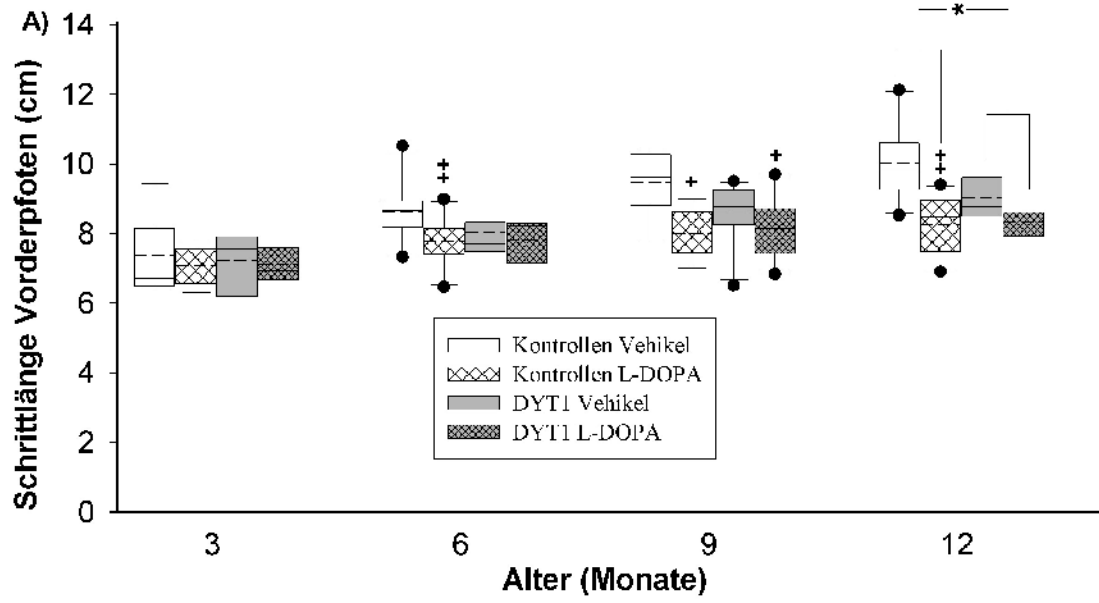
Die Substanzgabe hatte bei beiden Tiergruppen keinen Einfluss auf den Abstand zwischen den Vorderpfoten der linken und der rechten Körperseite. Auch im Altersverlauf oder beim Vergleich der beiden Versuchsgruppen ergab sich diesbezüglich kein signifikanter Unterschied (ohne Abbildung). Nach Substanzapplikation zeigten die Kontrolltiere im 6., 9. und 12. LM einen signifikant geringeren Abstand zwischen den Hinterpfoten als nach der

Vehikelapplikation (s. Abb. 29 B). Auch hier gab es keine Unterschiede im Altersverlauf, beim Vergleich der beiden Versuchsgruppen zeigte sich allerdings im Alter von 6 und 9 Monaten eine signifikant höhere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelgabe bei den Kontrolltieren im Vergleich zu den transgenen Tieren.

Der Abstand zwischen der Vorder- und der Hinterpfote zeigte auf der rechten Körperseite keine signifikanten Unterschiede (nicht dargestellt). Für die linke Körperseite zeigte sich nur bei den Kontrolltieren im Alter von 3 Monaten ein signifikant größerer Abstand nach Substanzapplikation. Außerdem waren bei den Kontrolltieren in allen Altersvergleichen (3. zu 6., 6. zu 9. und 9. zu 12. Monat) signifikante Unterschiede nachweisbar, wobei die Abstände teils größer, teils kleiner wurden. Beim Vergleich der transgenen Tiere mit den Kontrolltieren zeigte sich ein signifikanter Unterschied im 3. LM, wobei die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung bei den DYT1-Mäusen negativ und bei den Kontrolltieren positiv war, d.h. die DYT1-Mäuse hatten unter Substanzgabe einen größeren Abstand als bei Vehikelgabe und die Kontrolltiere unter Substanzgabe einen geringeren Abstand als bei Vehikelgabe (s. Abb. 29 C).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Tiere beider Versuchsgruppen nach Substanzapplikation eine Veränderung des Gangbildes aufwiesen.

Abb. 29 (Seite 77): Schrittlänge der Vorderpfoten (A), Abstand der Hinterpfoten zwischen der rechten und linken Körperseite (B) und Abstand zwischen der Vorder- und der Hinterpfote der linken Körperseite (C) nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 6-10 transgenen Mäusen (grau) und 9-10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Die Substanzapplikationen sind als schraffierte Flächen gekennzeichnet. Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- und Substanzapplikation innerhalb der Gruppe von Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen sind mit Plus (+ $p<0,05$, ++ $p<0,01$), signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (* $p<0,05$, ** $p<0,01$), signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontrollmäuse sind mit Kreisen (° $p<0,05$, °° $p<0,01$) gekennzeichnet.



Beim „Dystonie“-Score wurde die gekrümmte Haltung der Hinterextremitäten, die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschrieben wurde, beurteilt. Sie zeigte sich im Laufen und im Hängen und wurden jeweils mit einem Score von 0-4 beurteilt (s. 3.2.2.7.). Interessanterweise zeigten auch vehikelbehandelt Kontrolltiere wiedererwartend „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen (s. Abb. 30). Für die Dosierung von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa i.p. zeigte sich bei beiden Versuchsgruppen nach Substanzapplikation eine signifikante Erhöhung des Scores in allen Altersstufen. Allerdings ergaben sich keine weiteren signifikanten Unterschiede, weder im Vergleich der Altersstufen noch im Vergleich der beiden Versuchsgruppen.

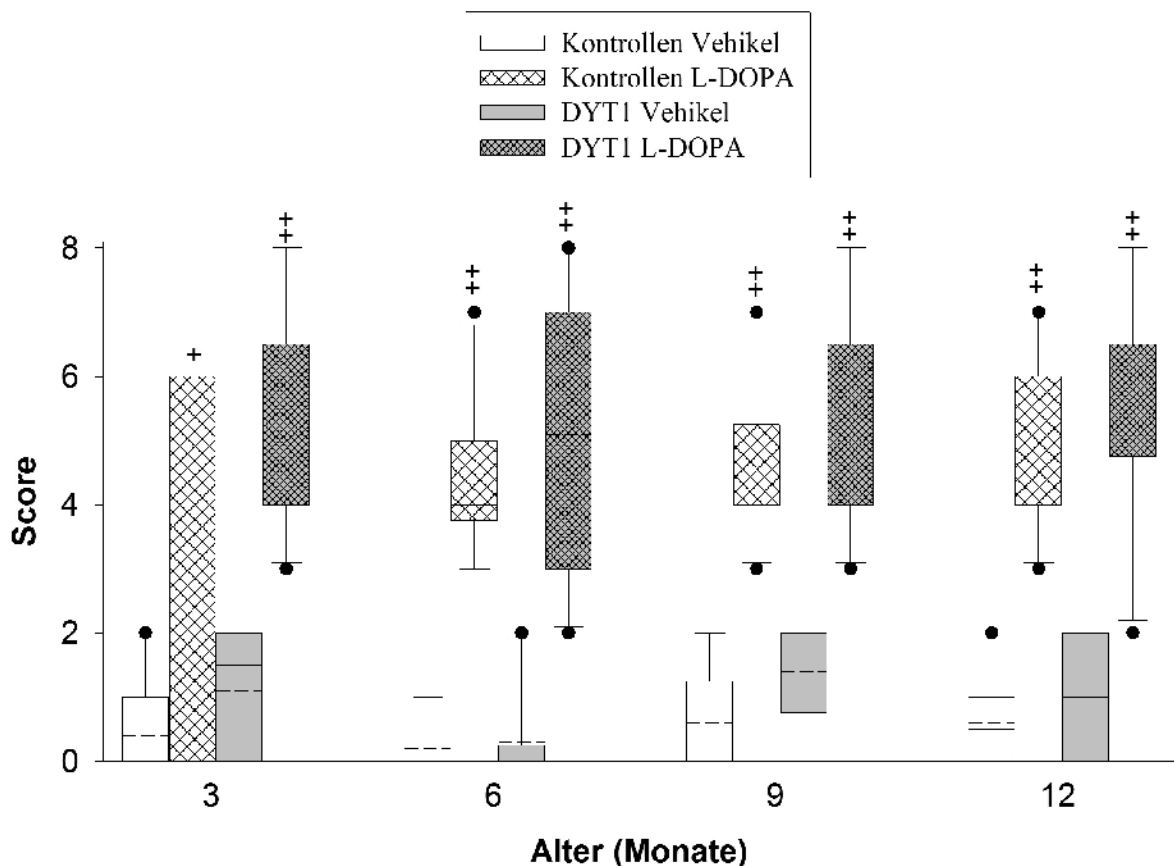


Abb. 30: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa im Alter von 3, 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel und Substanzapplikation innerhalb der Gruppe von Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen sind mit Plus (+ $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$) gekennzeichnet.

Im Rahmen der Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa i.p. wurden außerdem die stereotypen Verhaltensweisen Schnüffeln (Sniffing), gestreckter Schwanz

(Straub tail) und Putzen (Grooming) beurteilt (s. Tab. 6). Die transgenen Tiere zeigten im 3. LM und die Kontrolltiere im 9. und 12. LM eine signifikant geringere *Schnüffelaktivität* nach Substanzapplikation. Bei den transgenen Tieren war außerdem eine signifikant größere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung beim Vergleich zwischen dem 3. und dem 6. LM zu sehen. Beim Vergleich der Kontroll- mit den DYT1-Mäusen zeigten sich signifikante Unterschiede in der Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung beim Sniffing im 12. LM (s. Tab. 6).

Im 3., 6. und 12. LM löste die Substanzapplikation bei den transgenen Tieren einen *Straub tail* aus (s. Tab. 6). Außerdem waren bei diesen Tieren signifikante Unterschiede zwischen dem 3. und 6. sowie zwischen dem 6. und 9. LM vorhanden, wobei die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung im 6. Monat größer war als im 3., dann aber im 9. Monat wieder kleiner war als im 6. Monat. Außerdem zeigten die transgenen Tiere im Alter von 6 Monaten eine deutlich größere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung als die Kontrolltiere.

Beim Parameter *Grooming* traten keine signifikanten Unterschiede auf.

Eine deutliche *Hypolokomotion* war auch im Score-System bei allen Tieren unter Substanzgabe nachweisbar, die nur im 3. LM bei den Kontrolltieren nicht signifikant war (s. Tab. 6). Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen des Activity cage (s.o.)

Der *Block-Test* zur Beurteilung der Katalepsie zeigte nach L-DOPA-Applikation bei den Kontrolltieren im 9. und 12. LM und bei den transgenen Tieren im 12. LM eine signifikant verlängerte Aufenthaltsdauer auf dem Block. Außerdem gab es eine signifikant größere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung im 9. LM im Vergleich zum 6. LM bei den Kontrolltieren, d.h. die Verweildauer unter Substanzapplikation war im 9. LM länger. Allgemein ist allerdings festzuhalten, dass sowohl Kontroll- als auch transgene Tiere im 3. und 6. LM höchstens 8 s auf dem Block verharrten (ohne Abb.).

Weitere Verhaltensänderungen nach Substanzapplikation, die jedoch nicht quantitativ beurteilt und nicht statistisch ausgewertet wurden, waren eine Kußhandstellung bei einer transgenen Maus im Alter von 3 Monaten und einer Weiteren im Alter von 9 Monaten. Eine Hyperreaktivität war im 6. LM bei einem transgenen Tier und im 9. LM bei 6 transgenen Tieren zu sehen. Im 9. LM und im 12. LM zeigten 2 transgene Tiere ein offensives Verhalten. Ein transgenes Tier zeigte im 9. LM sogenanntes „Piano playing“, d.h. auf den Hintergliedmaßen sitzend führte sie stereotype horizontale Bewegungen mit den Vorderpfoten aus. Unkontrolliertes Springen an den Käfigdeckel zeigte im Alter von 3 Monaten 1 Kontrolltier und im Alter von 6 Monaten 4 Kontrolltiere.

	3 Monate		6 Monate		9 Monate		12 Monate	
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Sniffing	Vehikel	1,0 (0,0/2,0)	1,5 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)
	Substanz	0,0 (0,0/0,0)	0,0 ⁺ (0,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 ^{o(zu 3)} (1,0/2,0)	1,0 ⁺ (0,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	0,0 ⁺ (0,0/1,0)
Putzen	Vehikel	1,5 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/1,0)	1,5 (0,0/2,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)
	Substanz	0,5 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)
Straub tail	Vehikel	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (0,0/1,0)
	Substanz	2,0 (1,0/2,0)	2,0 ⁺⁺ (2,0/2,0)	1,0* (0,0/1,0)	3,0 ^{o(zu 3)++} (2,0/3,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 ^{o(zu 6)} (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)
Aktivität	Vehikel	-2,0 (-2,0/-2,0)	-2,0 (-2,0/-1,0)	-1,0 (-1,0/-1,0)	-1,0 (-1,0/-1,0)	-1,0 (-1,0/0,0)	0,0 (-1,0/0,0)	0,0 (-1,0/0,0)
	Substanz	-2,5 (-3,0/-2,0)	-3,0 ⁺ (-3,0/-2,0)	-2,0 ⁺⁺ (-2,0/-2,0)	-2,0 ⁺⁺ (-2,0/-2,0)	-2,0 ⁺⁺ (-2,0/-2,0)	-2,0 ⁺⁺ (-3,0/-2,0)	-2,0 ⁺⁺ (-3,0/-2,0)
Block Test (s)	Vehikel	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/2,0)	2,5 (0,0/4,0)
	Substanz	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)	7,00 ^{o(zu 6)++} (2,00/8,00)	4,5 (2,00/10,0)	5,00 ⁺⁺ (3,00/18,0)

Tab. 6: Maximalscores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von von 100 mg/kg L-DOPA auf die Parameter Sniffing, Putzen, Straub tail, Aktivität und Block Test. Angegeben sind der Median und die 25. / 75. Perzentile; Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- und Substanzapplikation innerhalb der Gruppe von Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen sind mit Plus (⁺p<0,05, ⁺⁺p<0,01), signifikante Unterschiede in der Differenz von Substanz – Vehikel zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen DYT1 sind mit Sternen (*p<0,05, **p<0,01), signifikante Unterschiede in der Differenz von Substanz – Vehikel zwischen verschiedenen Altersstufen der Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen mit Kreisen (^op<0,05) gekennzeichnet.

Insgesamt konnten keine wesentlichen altersabhängigen Unterschiede festgestellt werden. Daher wurde die zweite Dosierung von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa nur im Alter von 6 Monaten beurteilt.

In einer Dosierung von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa zeigte sich beim „Dystonie“-Score in beiden Tiergruppen ein signifikanter Unterschied zwischen der Vehikelbehandlung und der Substanzbehandlung. Allerdings gab es wie auch schon bei der höheren Dosierung keinen Unterschied zwischen den Tiergruppen (s. Abb. 31). Für alle anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming und Katalepsie) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, weshalb auf die Darstellung der Daten verzichtet wird. Im Gegensatz zur höheren Dosis von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa trat in dieser Dosierung keine Hypolokomotion auf (ohne Abb.) auf. Als Verhaltensänderungen wenige min nach Substanzapplikation war unkontrolliertes Springen an den Käfigdeckel bei 2 Kontrollmäusen auffällig.

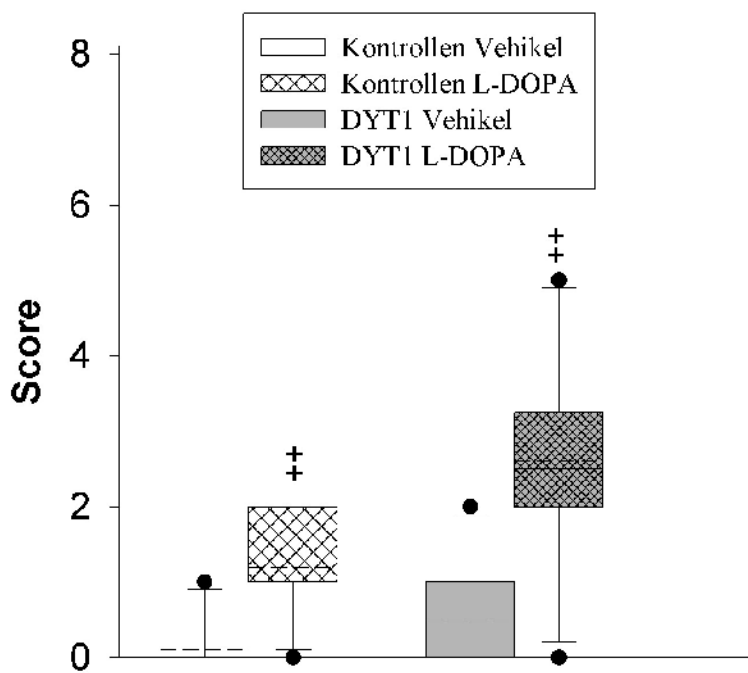


Abb. 31: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 10 transgenen Mäusen (grau) und 10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Die Substanzapplikation ist schraffiert dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- und Substanzapplikation bei Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Plus ($^{++}p < 0,01$) gekennzeichnet.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es nach L-DOPA-Applikation in beiden Dosierungen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den DYT1- und den Kontrollmäusen gab.

4.3.1.2. Wirkungen von GBR 12935

Da die Ergebnisse der akuten i.p. Applikation von L-DOPA alleine noch keinen Ausschluss altersabhängiger Effekte von dopaminergen Manipulationen zuließen, wurde GBR 12935, ein Dopamin-Wiederaufnahmehemmer, als weitere Substanz mit einem anderen Angriffspunkt als L-DOPA bei 6, 9 und 12 Monate alten Tieren i.p. verabreicht. Auf eine Applikation bei 3 Monate alten Tieren wurde verzichtet.

Bei der Untersuchung der *neurologischen Reflexe* nach Verabreichung einer Dosis von 15 mg/kg GBR 12935 war der Haltungsreflex im 6. LM nach Substanzapplikation jeweils bei einer Kontrollmaus und einer transgenen Maus sowie im Alter von 9 Monaten bei 3 transgenen Tieren gestört. Im 12. LM hatten 2 transgene Tiere nach Substanzapplikation einen gestörten Haltungsreflex. Alle anderen Reflexe waren unauffällig (nicht dargestellt).

Die *horizontale Aktivität*, gemessen im Activity cage, wurde durch i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR12935 in beiden Tiergruppen in allen Altersstufen signifikant erhöht. Zwischen den Altersstufen innerhalb einer Tiergruppe und zwischen den Tiergruppen in den einzelnen Alterstufen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (s. Abb. 32 A).

Substanzbehandelte Kontrolltiere in allen Altersstufen und transgene Tiere im Alter von 6 Monaten zeigten eine signifikant erhöhte *vertikale Aktivität*. Die Varianzanalyse ergab eine Signifikanz im Altersverlauf für die Kontrolltiere, die sich mit dem post-hoc-Test jedoch nicht bestätigen ließ. Beim Vergleich der Versuchsgruppen gab es einen signifikanten Unterschied im Alter von 6 Monaten, wobei die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung bei den transgenen Tieren kleiner war (s. Abb. 32 B).

Im *Rotarod* ergaben sich keine signifikanten Effekte auf die Koordination (s. Tab. 7).

Der *Grip-strength Test* und der *Wire-hang Test* bei einer Gitterdrehung von 90° zeigten keine signifikanten Unterschiede, weder durch die Substanzapplikation, noch innerhalb bzw. zwischen den Tiergruppen. Bei einer Gitterdrehung von 180° waren beim *Wire-hang Test* (s. Tab. 7) ebenfalls keine Substanzeffekte zu erkennen. Allerdings war ein signifikanter Unterschied im Alter von 9 Monaten im Vergleich der DYT1- mit den Kontrollmäusen nachweisbar, wobei die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung bei den Kontrolltieren negativ und bei DYT1-Tieren positiv war, d.h. die Kontrolltiere konnten sich unter Substanzgabe eine kürzere Zeit am Deckel festhalten als bei Vehikelgabe und die DYT1-Tieren konnten sich unter Substanzgabe eine längere Zeit am Deckel halten als bei Vehikelgabe.

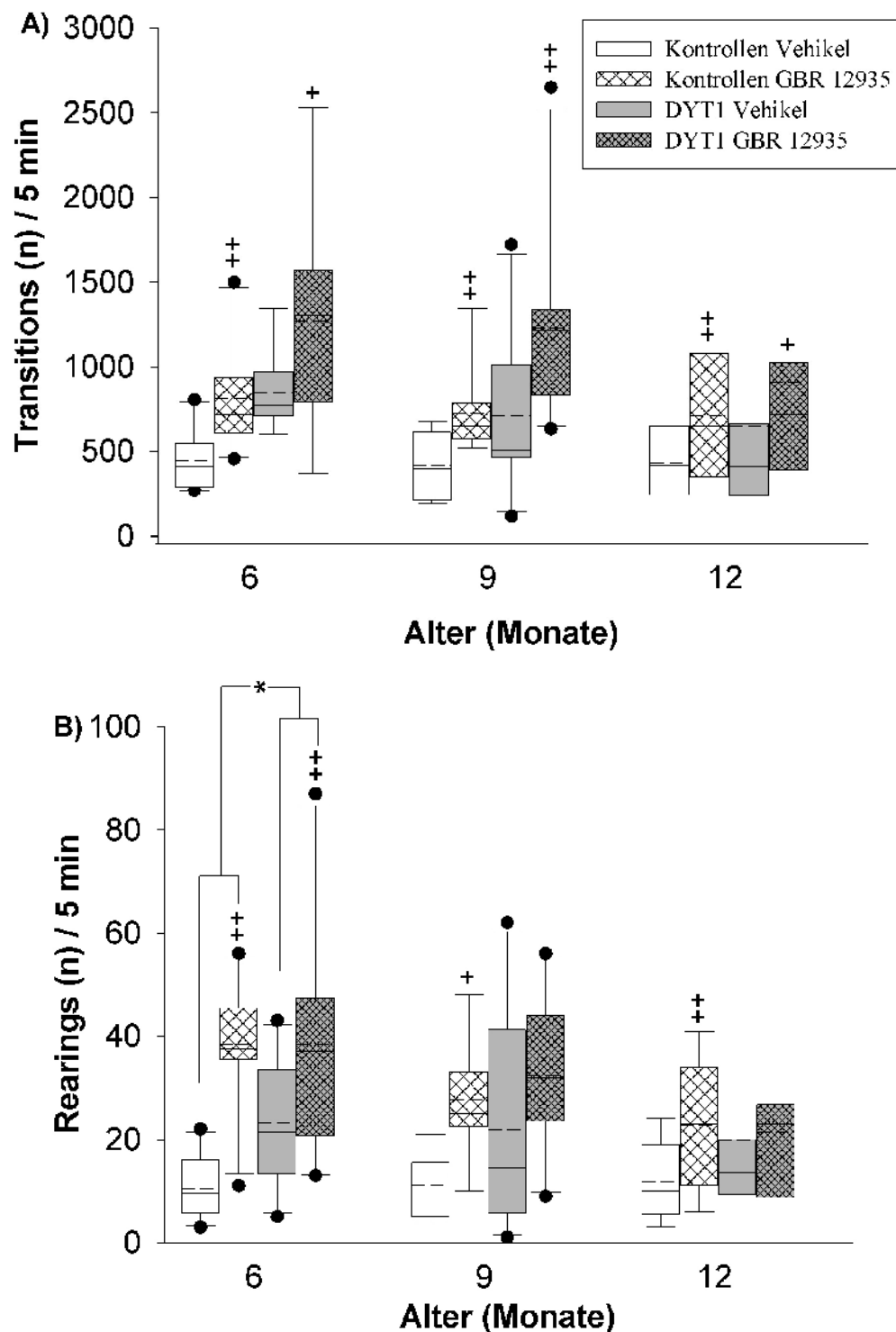


Abb. 32: Activity cage nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935 bzw. Vehikel, Transitions (A) und Rearings (B) im Alter von 6, 9 und 12 Monaten. Die Werte von 8-10 transgenen Mäusen (grau) und 8-10 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich sind das \bar{x} als gestrichelte Linie und Ausreißer als schwarze Punkte (●) abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- bzw. Substanzapplikation bei Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Plus ($^+p<0,05$, $^{++}p<0,01$), signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen ($^*p<0,05$) gekennzeichnet.

	6 Monate		9 Monate		12 Monate		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Vehikel	280 (267 / 290)	181 (137 / 300)	201 (195 / 234)	274 (209 / 300)	300 (211 / 300)	228 (188 / 300)
	Substanz	275 (217 / 300)	148 (79,0 / 291)	225 (205 / 283)	280 (222 / 293)	264 (249 / 300)	190 (145 / 300)
Grip-strength Test Griffstärke (g)	Vehikel	48,3 (38,5 / 63,7)	47,1 (26,6 / 54,4)	39,8 (25,0 / 49,9)	38,2 (26,4 / 44,5)	34,1 (16,1 / 41,7)	38,6 (22,2 / 55,7)
	Substanz	57,3 (47,6 / 63,3)	34,2 (25,3 / 48,5)	43,0 (34,1 / 47,3)	21,8 (18,2 / 36,2)	41,6 (28,4 / 46,7)	27,7 (24,1 / 36,6)
Wire-hang Test 180° „Latency to fall“ (s)	Vehikel	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (23,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	58,5 (14,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (42,5 / 60,0)
	Substanz	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (31,3 / 60,0)	60,0 (29,3 / 60,0)	60,0* (27,0 / 60,0)	60,0 (33,8 / 60,0)	52,0 (21,0 / 60,0)

Tab. 7: Wirkungen von 15 mg/kg GBR 12935 nach i.p. Applikation auf die Rotarod-Performanz, den Grip-strength Test und den Wire-hang-Test. Angegeben sind der Median und die 25. / 75. Perzentile; Signifikante Unterschiede in der Differenz von Substanz – Vehikel zwischen Kontrollen und DYT1 sind mit Sternen (*p<0,05) gekennzeichnet.

Der *Footprint Test* zeigte auf der rechten Körperseite bei transgenen Tiere im 6. LM einen signifikant größeren Abstand zwischen Vorder- und Hinterpfote nach Substanzapplikation. Ein weiterer signifikanter Unterschied ergab sich beim Abstand der Hinterpfoten der linken und rechten Körperseite bei den Kontrolltieren im Vergleich vom 9. mit dem 12. LM. Dabei war auffällig, dass die Differenz von Substanz- zu Vehikelapplikation im 9. LM leicht positiv und im 12. LM leicht negativ war, was darauf hindeutet, dass im 9. LM die Tiere nach Substanzgabe einen weiteren Abstand zwischen den Pfoten zeigten und im 12. Monat nach Substanzgabe einen geringeren Abstand aufwiesen (ohne Abb.).

Die Applikation von 15 mg/kg GBR 12935 hatte keine signifikanten Effekte auf den „*Dystonie*“-Score (Tab. 8). Auch im Altersverlauf und zwischen den Tiergruppen gab es keine Unterschiede. Allerdings zeigten auch hier sogar vehikelbehandelte Kontrolltiere „*Dystonie*-ähnliche“ Bewegungen.

Nach Substanzapplikation trat bei den Kontrolltieren in allen Altersgruppen vermehrtes *Sniffing* auf (Tab. 8), wohingegen die transgenen Tiere nur im Alter von 9 und 12 Monaten vermehrtes Sniffing zeigten. Im 6. LM zeigte sich dementsprechend ein signifikanter Unterschied zwischen den transgenen und den Kontrolltieren. Die Ergebnisse aus dem Activity cage (Abb. 32) konnten mit dem Score-System bestätigt werden. Auch hier ergab sich eine signifikant erhöhte Aktivität bei beiden Tiergruppen nach Substanzapplikation in allen Altersstufen (Tab. 8). Ein *Straub tail* war im 6. LM bei den Kontrolltieren und im 9. LM bei den transgenen Mäusen nach Substanzgabe zu sehen. Beim *stereotypen Putzen* waren keine Unterschiede nachzuweisen (s. Tab. 8) und im Katalepsie-Test verharrte keine Maus länger als 8 s auf dem Block (nicht dargestellt).

Wie bei der Applikation von 100 mg/kg L-DOPA zeigten sich auch bei 15 mg/kg GBR keine wesentlichen Altersunterschiede, weshalb alle anderen Substanzen und Dosierungen ausschließlich im Alter von 6 Monaten getestet wurden.

Die Applikation einer Dosis von 45 mg/kg GBR 12935, die nur im Alter von 6 Monaten verabreicht wurde, hatte ebenfalls keine Auswirkung auf den „*Dystonie*“-Score. Auch bei den Parametern Sniffing, *Straub tail*, Grooming, Aktivität und Katalepsie konnten keine Unterschiede nach Substanzapplikation bzw. zwischen den Kontrollmäusen und den DYT1-Mäusen hervorgerufen werden (s. Tab. 8). Als Substanzeffekt trat unkontrolliertes Beißen in den Boden bei 3 transgenen und 4 Kontrolltieren auf. Zudem wurde bei einer transgenen und einer Kontrollmaus eine Ataxie nach Substanzapplikation beobachtet.

	6 Monate						9 Monate		12 Monate	
	GBR12935 15 mg/kg			GBR12935 45 mg/kg			GBR12935 15 mg/kg		GBR12935 15 mg/kg	
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
„Dystonie“	Vehikel	0,0 (0,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,25)	2,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)	2,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)
	Substanz	0,0 (0,0/1,0)	2,0 (2,0/3,25)	0,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,0)	2,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)	2,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)
Sniffing	Vehikel	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,25)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)	2,0 (2,0/3,0)	1,0 (1,0/1,0)	2,0 (1,0/2,0)
	Substanz	3,0 ⁺⁺ (3,0/3,0)	2,0* (2,0/2,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 ⁺⁺ (2,0/3,0)	2,0 ⁺ (2,0/2,0)	3,0 ⁺⁺ (3,0/3,0)	2,0 ⁺ (2,0/2,0)	3,0 ⁺⁺ (3,0/3,0)
Putzen	Vehikel	0,5 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,75 / 1,25	0,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,0)
	Substanz	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,5)	1,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,0)
Straub tail	Vehikel	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)
	Substanz	2,0 ⁺ (1,0/2,0)	2,0 (1,0/3,0)	3,0 (2,75/3,0)	2,0 (1,75/3,0)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 ⁺ (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	2,0 (2,0/3,0)
Aktivität	Vehikel	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,25)
	Substanz	2,0 ⁺⁺ (1,0/2,0)	3,0 ⁺⁺ (1,75/3,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,75/3,0)	1,0 ⁺ (0,75/2,0)	2,0 ⁺⁺ (1,0/2,0)	2,0 ⁺⁺ (1,0/2,0)	2,0 ⁺⁺ (1,0/2,0)	2,0 ⁺ (2,0/2,25)

Tab. 8: Maximalscores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 15 mg/kg und 45 mg/kg GBR 12935 auf die Parameter Sniffing, Putzen, Straub tail und Aktivität. Angegeben sind der Median und die 25. / 75. Perzentile; Signifikante Unterschiede zwischen Vehikel und Substanzapplikation innerhalb der Gruppen von Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen mit Plus (⁺p<0,05, ⁺⁺p<0,01), signifikante Unterschiede in der Differenz von Substanz – Vehikel zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (*p<0,05) gekennzeichnet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die akute i.p. Applikation von GBR 12935 in den getesteten Dosierungen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den DYT1- und den Kontrollmäusen erkennen ließ.

4.3.2. Wirkungen von Amphetamin

Amphetamin, das die Ausschüttung des DA und damit den Dopaminsatz erhöht, wurde in Dosierungen von 5 und 10 mg/kg i.p. appliziert. In den getesteten Dosierungen hatte Amphetamin keine Effekte auf den „Dystonie“-Score und es waren keine Unterschiede zwischen den DYT1- und den Kontrollmäusen nachweisbar (s. Abb. 33). In beiden Dosierungen zeigte sich für keinen der weiteren bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming, Aktivität und Katalepsie) Unterschiede nach Substanzgabe oder zwischen den transgenen Mäusen und den Kontrollmäusen (ohne Abbildung). Unter Substanzbehandlung war bei der niedrigen Dosierung bei einer transgenen Maus nach Substanzapplikation Licking (stereotypes Lecken mit der Zunge) zu beobachten. Bei der höheren Dosierung zeigten jeweils 3 transgene und 3 Kontrolltiere nach Substanzapplikation Licking. Insgesamt ergab sich nach akuter i.p. Applikation von Amphetamin kein Unterschied zwischen den Tiergruppen.

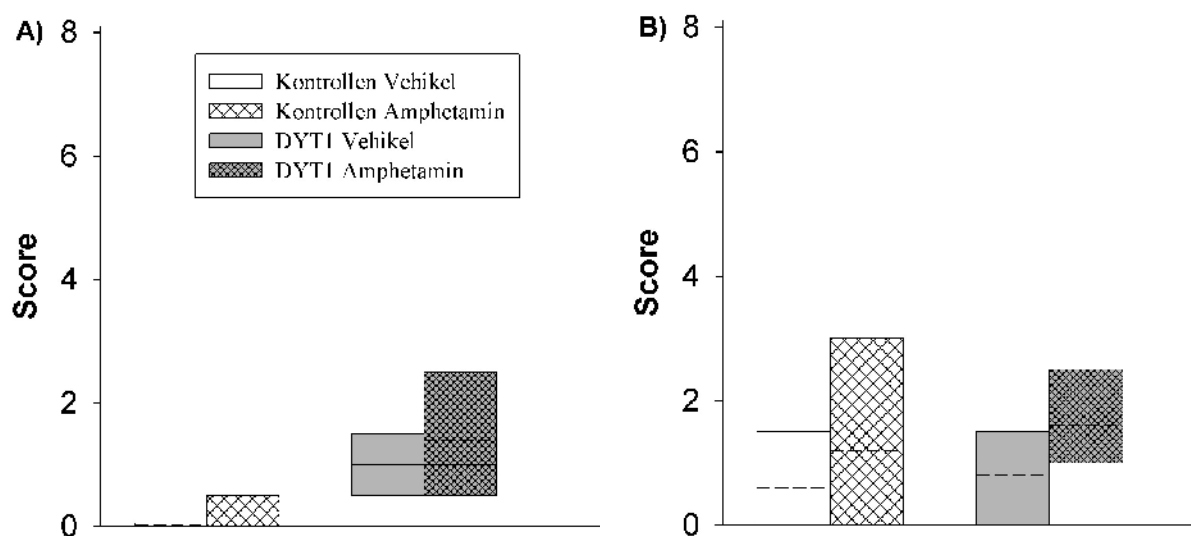


Abb. 33: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 5 mg/kg (A) bzw. 10 mg/kg (B) Amphetamin im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 5 transgenen Mäusen (grau) und Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich ist das \bar{x} als gestrichelte Linie abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt.

4.3.3. Wirkungen von D₁- und D₂-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten

4.3.3.1. Wirkungen des D₁-Rezeptor-Agonisten A 68930

A 68930 wurde in den Dosierungen 1 und 2 mg/kg untersucht. Es gab nach i.p. Verabreichung von beiden Dosierungen keine Unterschiede beim „Dystonie“-Score weder innerhalb noch zwischen den Tiergruppen (s. Abb. 34). Auch die anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming, Aktivität und Katalepsie) unterschieden sich nicht zwischen den transgenen Mäusen und den Kontrollmäusen (s. Tab. 9). Bei einer Dosierung von 1 mg/kg hatten alle substanzbehandelten Tiere eine auffallend hyperämisierte Nase. Nach Applikation der hohen Dosierung zeigten alle Tiere kurzzeitige sich wiederholende Krämpfe und eine transgene sowie 2 Kontrollmäuse ausgeprägtes Licking.

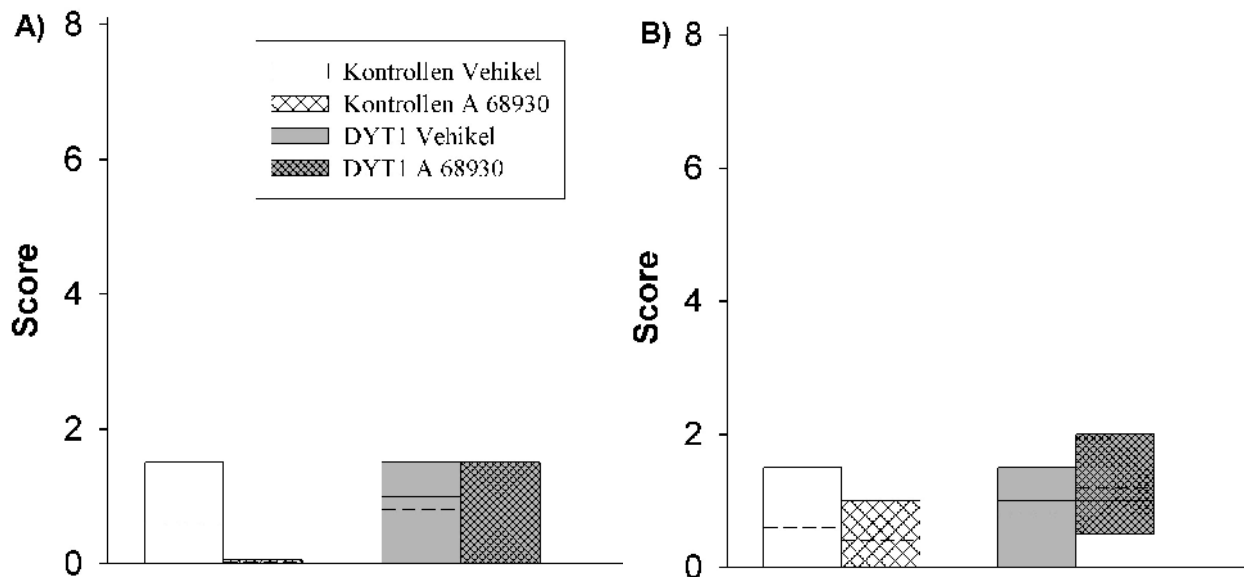


Abb. 34: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 1 mg/kg (A) bzw. 2 mg/kg (B) A 68930 im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 5 transgenen Mäusen (grau) und 5 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich ist das \bar{x} als gestrichelte Linie abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt.

4.3.3.2. Wirkungen des D₁-Rezeptor-Antagonisten SCH 39166

SCH 39166 wurden in Dosierungen von 0,3 und 0,6 mg/kg i.p. appliziert. Nach Verabreichung beider Dosierungen zeigten sich weder im „Dystonie“-Score (s. Abb. 35) noch in einem der anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming, Aktivität und Katalapsie) Unterschiede zwischen der jeweiligen Substanz- und Vehikelgruppe oder zwischen den transgenen Mäusen und den Kontrollmäusen (s. Tab. 9).

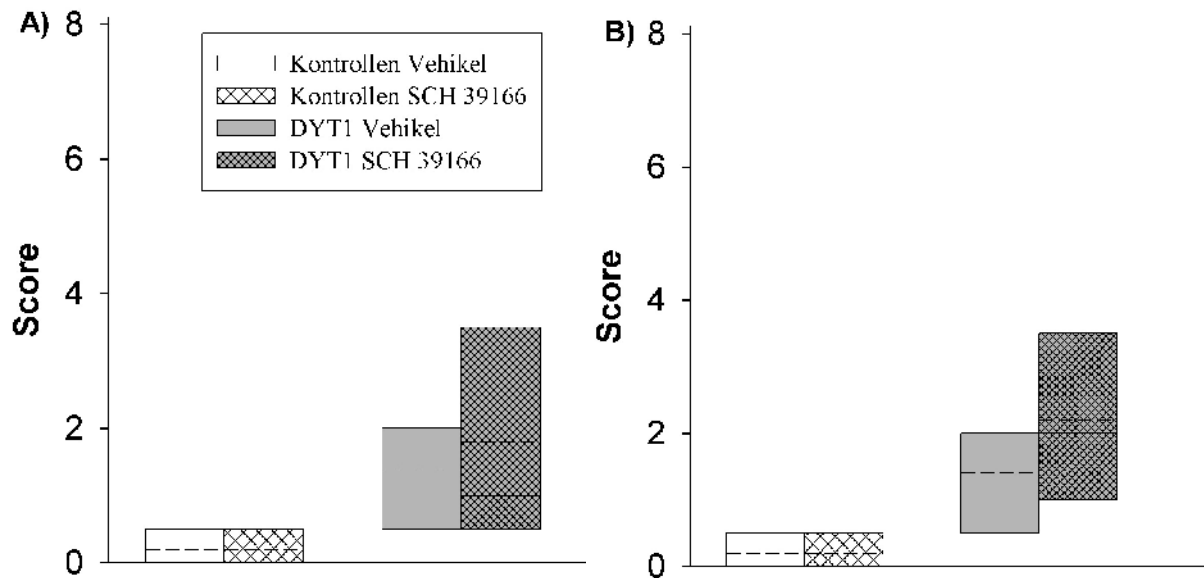


Abb. 35: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 0,3 mg/kg (A) bzw. 0,6 mg/kg (B) SCH 39166 im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 5 transgenen Mäusen (grau) und 5 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich ist das \bar{x} als gestrichelte Linie abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt.

		D ₁ -Rezeptor-Agonisten A 68930				D ₁ -Rezeptor-Antagoniste SCH 39166			
		1 mg/kg		2 mg/kg		0,3 mg/kg		0,6 mg/kg	
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
„Dystonic“	Vehikel	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (0,75 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (0,75 / 2,0)
	Substanz	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,5)	1,0 (0,75 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	1,0 (0,75 / 3,25)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (1,0 / 3,25)
Sniffing	Vehikel	2,0 (2,0 / 2,25)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)
	Substanz	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,0)
Putzen	Vehikel	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)
	Substanz	3,0 (1,75 / 3,0)	3,0 (2,25 / 3,0)	2,0 (1,75 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)
Straub tail	Vehikel	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)
	Substanz	2,0 (2,0 / 2,25)	3,0 (2,75 / 3,0)	2,0 (2,0 / 3,00)	3,0 (2,0 / 3,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)
Aktivität	Vehikel	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)
	Substanz	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -0,75)	-2,0 (-2,25 / -0,75)	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-2,0 (-2,25 / -2,0)

Tab. 9: Maximalscores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von A 68930 in einer Dosierung von 1 mg/kg und 2 mg/kg und SCH 39166 in einer Dosierung von 0,3 mg/kg und 0,6 mg/kg auf die Parameter „Dystonic“, Sniffing, stereotypes Putzen, Straub tail und Aktivität. Angegeben sind der Median und die 25. / 75. Perzentile.

4.3.3.3. Wirkungen des D₂-Rezeptor-Agonisten Quinpirol

Quinpirol wurde in den Dosierungen 1 und 5 mg/kg i.p. verabreicht. Für den „Dystonie“-Score lag bei beiden Dosierungen im Vergleich der Substanzbehandlung mit der Vehikelbehandlung jeweils nur ein tendenzieller Unterschied von $p = 0,063$ vor, was vermutlich auf die geringe Tierzahl ($n = 5$) zurückzuführen ist. Allerdings zeigte sich zwischen den Kontrollmäusen und den DYT1-Mäusen kein Unterschied (s. Abb. 36), so dass auf eine Vergrößerung der Versuchsgruppen verzichtet wurde. Ebenso lag bei beiden Dosierungen eine deutliche Hypolokomotion nach Substanzapplikation in beiden Tiergruppen vor, die allerdings ebenfalls nur tendenziell ($p = 0,063$) war. Durch Verabreichung von 5 mg/kg zeigten die transgenen Tiere allerdings eine signifikant ausgeprägtere Hypolokomotion als die Kontrolltiere. Es lagen keine Unterschiede in einem der anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming und Katalepsie) vor (s. Tab. 10). Eine transgene Maus war nach Substanzapplikation auffallend angriffslustig.

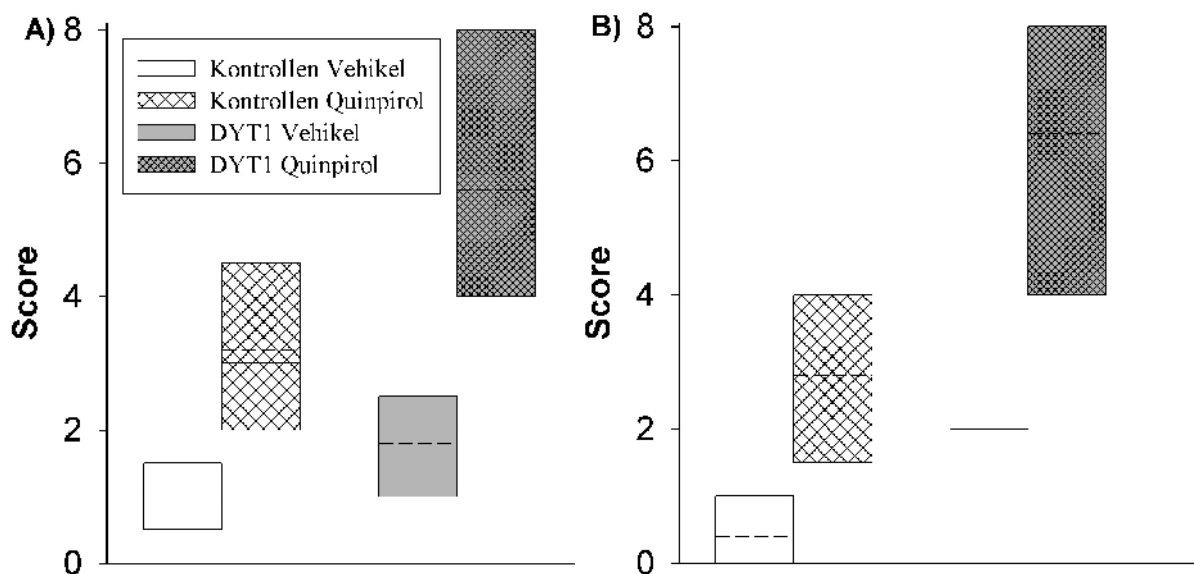


Abb. 36: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 1 mg/kg (A) bzw. 5 mg/kg (B) Quinpirol im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 5 transgenen Mäusen (grau) und 5 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich ist das \bar{x} als gestrichelte Linie abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt.

	Quinpirol						Racloprid					
	1 mg/kg		5 mg/kg		0,5 mg/kg		0,5 mg/kg		3 mg/kg		3 mg/kg	
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
„Dystonie“	Vehikel	1,0 (0,75 / 1,25)	2,0 (1,5 / 2,25)	0,0 (0,0 / 0,5)	2,0 (2,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (2,0 / 2,5)	1,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (0,75 / 2,0)	
	Substanz	3,0 (2,0 / 4,25)	4,0 (4,0 / 8,0)	3,0 (1,75 / 4,0)	8,0 (4,0 / 8,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	2,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (0,0 / 0,5)	2,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	
Sniffing	Vehikel	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 1,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 1,5)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 1,5)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	
	Substanz	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,0)	
Putzen	Vehikel	0,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,5)	1,0 (0,0 / 1,25)	2,0 (0,75 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,75)	0,0 (0,0 / 0,25)	
	Substanz	0,0 (0,0 / 0,25)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,5)	0,0 (0,0 / 0,5)	0,0 (0,0 / 0,5)	0,0 (0,0 / 0,5)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,25)	
Straub tail	Vehikel	1,0 (0,75 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	
	Substanz	2,0 (1,75 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,25)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 3,0)	2,0 (1,0 / 2,25)	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (1,0 / 1,25)	2,0 (1,0 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	
Aktivität	Vehikel	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -1,0)	0,0 (-0,5 / 0,0)	
	Substanz	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,25 / -1,75)	-2,0 (-3,0 / -1,75)	-3,0* (-3,0 / -3,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -3,0)	-3,0* (-3,25 / -3,0)	

Tab. 10: Maximalscores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von Quinpirol in einer Dosierung von 1 mg/kg und 5 mg/kg und Racloprid in einer Dosierung von 0,5 mg/kg und 3 mg/kg auf die Parameter „Dystonie“, Sniffing, stereotypes Putzen, Straub tail und Aktivität. Angegeben ist der Median und die (25. / 75. Perzentilen). Signifikante Unterschiede in der Differenz von Substanz – Vehikel zwischen Kontroll- und DYT1-Mäusen sind mit Sternen (*p<0,05) gekennzeichnet.

4.3.3.4. Wirkungen des D₂-Rezeptor-Agonisten Racloprid

Die Effekte von Racloprid wurden in den Dosierungen 0,5 und 3 mg/kg i.p. untersucht. Beide Dosierungen hatten keinen Einfluss auf den „Dystonie“-Score (s. Abb. 37), auch zwischen den Kontrolltieren und den DYT1-Mäusen waren keine Unterschiede nachweisbar. Nach Substanzapplikation war eine deutliche Hypolokomotion in beiden Tiergruppen erkennbar, die allerdings aufgrund der geringen Tierzahl (n = 5) nur tendenziell (p = 0,063) war. In der höheren Dosierung von 3 mg/kg zeigte sich eine signifikant größere Differenz zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung bei den transgenen Tieren im Vergleich zu den Kontrollmäusen. In keinem der anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming und Katalepsie) gab es Unterschiede zwischen der jeweiligen Substanz- und Vehikelgruppe oder zwischen den transgenen Mäusen und den Kontrollmäusen (s. Tab. 10). Eine transgene Maus zeigte nach Applikation der hohen Dosierung unkontrollierte hektische Bewegungen im Käfig.

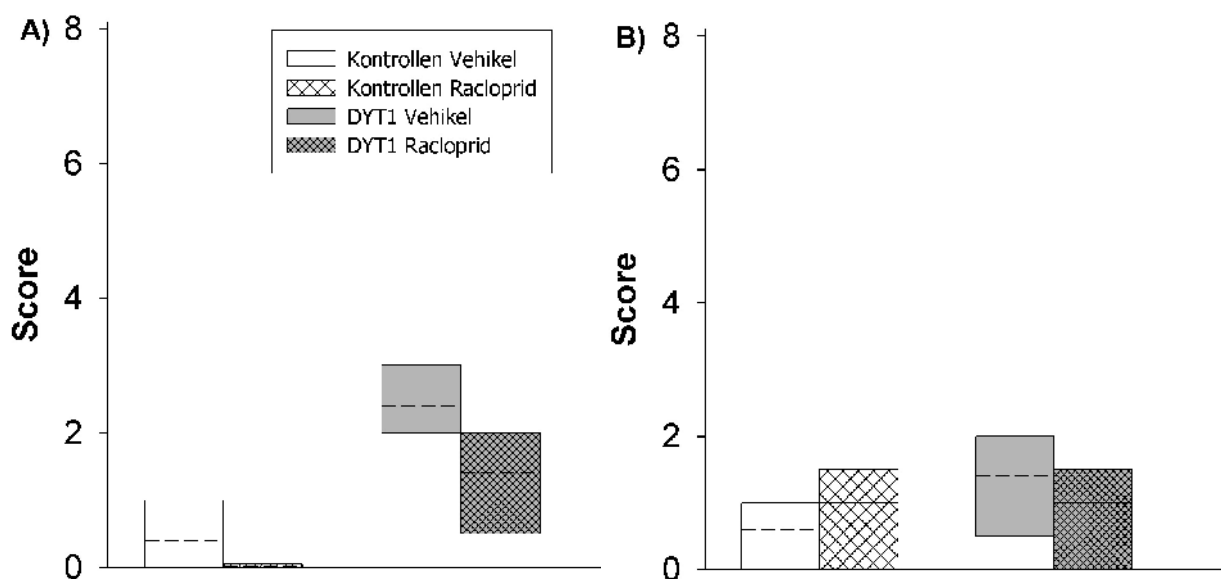


Abb. 37: „Dystonie“-Score (Maximalscore innerhalb von 3 h) nach i.p. Applikation von 0,5 mg/kg (A) bzw. 3 mg/kg (B) Racloprid im Alter von 6 Monaten. Die Werte von 5 transgenen Mäusen (grau) und 5 Kontrolltieren (weiß) sind als Boxplots dargestellt (Median mit 25. / 75. Perzentile und Whisker 10. / 90. Perzentile). Zusätzlich ist das \bar{x} als gestrichelte Linie abgebildet. Die Substanzapplikationen sind schraffiert dargestellt.

Insgesamt zeigte die Manipulation mit D₁- und D₂-Agonisten und -Antagonisten mittels akuter i.p. Applikation keine wesentlichen Unterschiede zwischen den DYT1- und den Kontrolltieren.

4.3.4. Chronische Effekte von L-DOPA

Da die akute Manipulation des dopaminergen Systems keine Unterschiede zwischen den transgenen und den Kontrolltieren aufdeckte, sollte nun mittels chronischer Applikation von L-DOPA/Carbidopa geklärt werden, ob eine längere Aktivierung des dopaminergen Systems zu Unterschieden zwischen den DYT1- und Kontrollmäusen bei den „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen“ führt. L-DOPA wurde als Substanz für den chronischen Versuch ausgewählt, da von dieser Substanz bekannt ist, dass sie z.B. bei Parkinson-Patienten nach längerer Therapie zur Ausprägung von Dyskinesien führen kann.

Für den chronischen Versuch wurde eine Dosierung von 25 mg/kg ausgewählt, da sich nach akuter Applikation dieser Dosis im Gegensatz zu 100 mg/kg keine so starken Effekte auf den „Dystonie“-Score gezeigt hatten und die lokomotorische Aktivität nicht beeinflusst wurde, was eventuell die Effekte der chronischen Applikation hätte überlagern können.

Wie Abb. 38 zu entnehmen ist, stieg der „Dystonie“-Score während der chronischen L-DOPA-Gabe nur bei den DYT1-Mäusen signifikant über den Zeitraum von 20 Tagen an, hingegen nicht in der vehikelbehandelten Gruppe von DYT1-Mäusen und auch in keiner Gruppe der Kontrollmäuse. Dieser Anstieg war signifikant zwischen 1. und 15., 1. und 18. und 1. und 20. Injektionstag. Innerhalb der Gruppe der DYT1-Mäuse zeigten sich signifikant höhere „Dystonie“-Scores nach L-DOPA Behandlung im Vergleich zur Vehikelapplikation mit Ausnahme des 1. und 11. Injektionstages. Innerhalb der Gruppe der Kontrollmäuse konnten keine Unterschiede zwischen L-DOPA- und Vehikelapplikation festgestellt werden. Bei den L-DOPA-behandelten transgenen Mäusen gab es signifikant höhere Scores im Vergleich zu den L-DOPA-behandelten Kontrolltieren am 8., 15., 18. und 20. Injektionstag (s. Abb. 38), während keine Unterschiede zwischen vehikelbehandelten transgenen und Kontrolltieren beobachtet werden konnten.

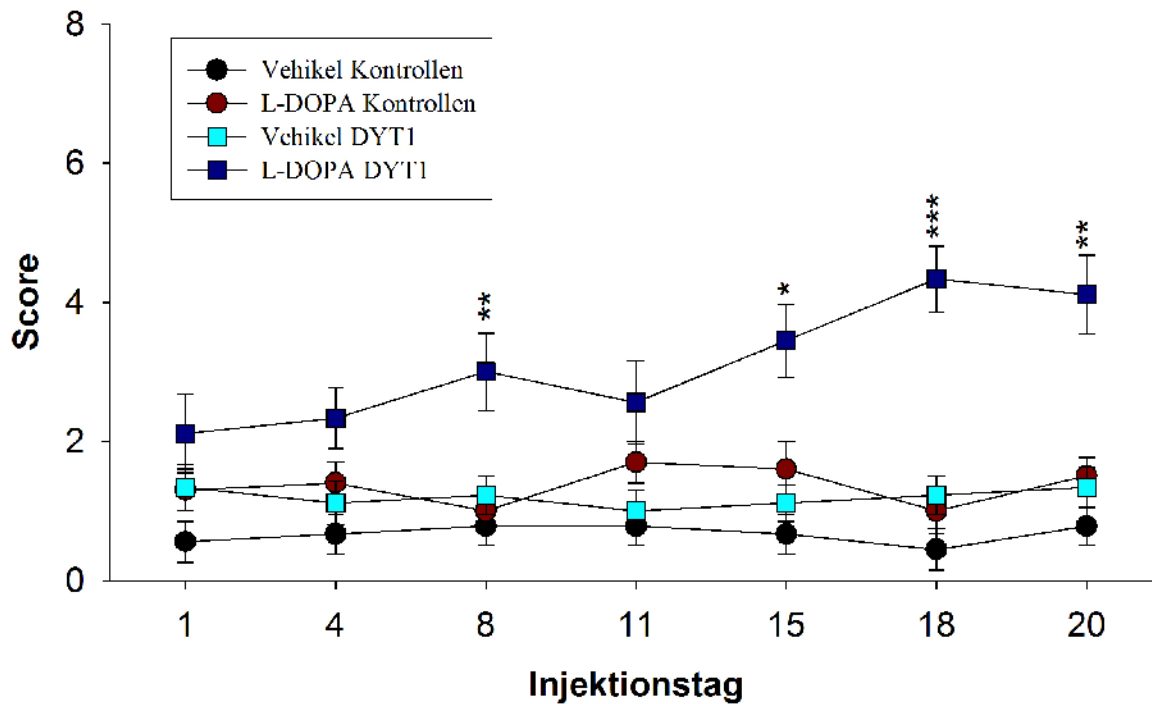


Abb. 38: Entwicklung des „Dystonie“-Scores während der chronischen i.p. Applikation von L-DOPA 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa (Maximalscore innerhalb von 3 h). Dargestellt sind das \bar{x} und S.E. jedes Versuchstages während der 20-tägigen Behandlung, von 9 substanzbehandelten transgenen Mäusen (dunkelblau), 9 vehikelbehandelten transgenen Mäusen (türkis), 10 substanzbehandelten Kontrolltieren (dunkelrot) und 9 vehikelbehandelten Kontrolltieren (schwarz). Signifikante Unterschiede zwischen den L-DOPA behandelten transgenen und Kontrollmäusen sind mit Sternen gekennzeichnet (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Auf die Darstellung der Signifikanzen aus anderen statistischen Vergleichen wurde aus Übersichtsgründen verzichtet (s. Text).

Für die *Hypolokomotion* (s. Abb. 39) ergaben sich in den verschiedenen Versuchsgruppen keine wesentlichen Veränderungen während des Versuchszeitraumes. Bei den transgenen L-DOPA behandelten Tieren konnte eine signifikant ausgeprägtere Hypolokomotion (Tag 4, 11, 15 und 18) im Vergleich zu den vehikelbehandelten transgenen Tieren beobachtet werden. Die Kontrolltiere zeigten keine Unterschiede zwischen Substanz- und Vehikelbehandlung. Die L-DOPA-behandelten transgenen Tiere hatten am 15. Versuchstag hingegen eine signifikant ausgeprägtere Hypolokomotion als die L-DOPA-behandelten Kontrolltiere.

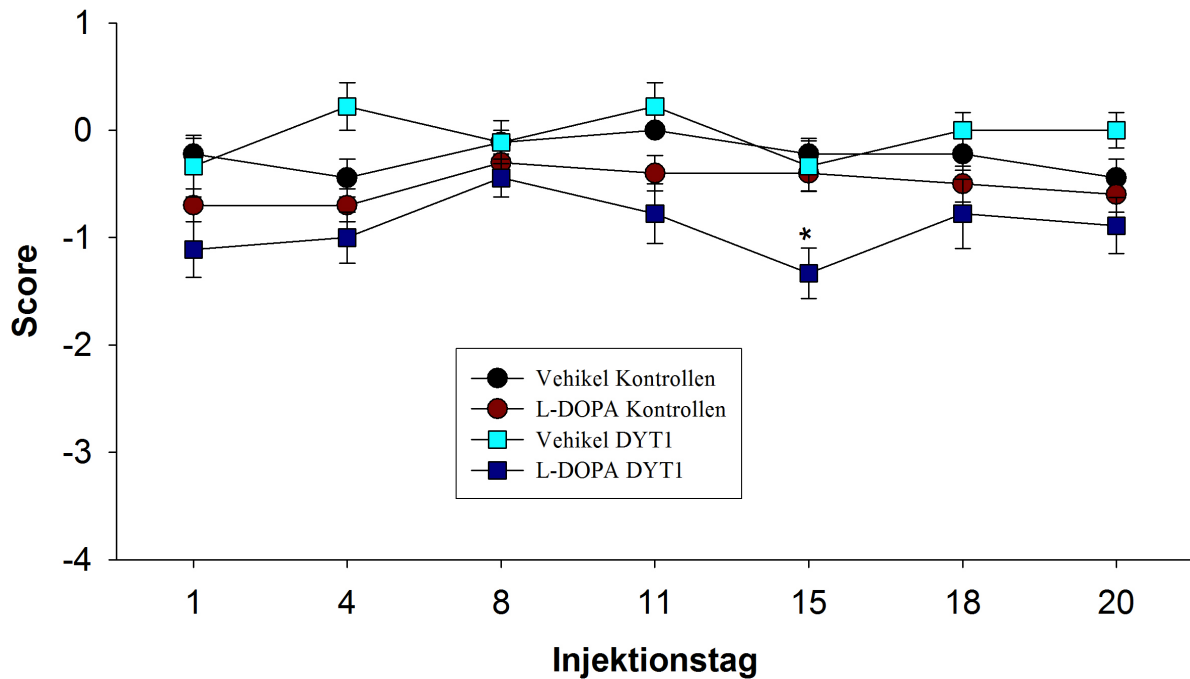


Abb. 39: Entwicklung der Hypolokomotion während der chronischen i.p. Applikation von L-DOPA 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa (Maximalscore innerhalb von 3 h). Dargestellt sind das \bar{x} und S.E. jedes Versuchstages während der 20-tägigen Behandlung. Dargestellt sind die Werte von 9 substanzbehandelten transgenen Mäusen (dunkelblau), 9 vehikelbehandelten transgenen Mäusen (türkis), 10 substanzbehandelten Kontrolltieren (dunkelrot) und 9 vehikelbehandelten Kontrolltieren (schwarz) dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen den L-DOPA behandelten transgenen und Kontrollmäusen sind mit Sternen gekennzeichnet (* $p < 0,05$). Auf die Darstellung der Signifikanzen aus anderen statistischen Vergleichen wurde aus Übersichtsgründen verzichtet (s. Text).

Der Parameter *Sniffing* (s. Tab. 11) zeigte bei den substanzbehandelten DYT1-Mäuse mit der Friedman-Varianzanalyse zwar einen signifikanten Unterschied über den Versuchszeitraum, dieser ließ sich jedoch mit dem post-hoc-Test in den von uns untersuchten Vergleichen nicht bestätigen. Bei vehikelbehandelten transgenen Tieren waren signifikante Unterschiede zwischen dem 1. und 15. sowie zwischen dem 1. und 18. Injektionstag nachweisbar. Die vehikelbehandelten transgenen Tiere zeigten im Vergleich mit den vehikelbehandelten Kontrolltieren einen signifikant höheren Score am 1. Injektionstag.

Beim Parameter *Putzen* wiesen L-DOPA-behandelten transgenen Tieren eine signifikante Zunahme am 11. und 15. Tag, im Vergleich zum ersten Behandlungstag auf (s. Tab. 11). Der Vergleich zwischen vehikel- und substanzbehandelten Tieren zeigte signifikante Erhöhungen am 8., 11., 15. Tag, 18. und 20. Tag bei den transgenen Mäusen sowie am 4. und 18. Tag bei den Kontrolltieren. Zwischen den Tiergruppen ergaben sich signifikant höhere Scores bei den substanzbehandelten transgenen Tieren am 8. und am 11. Tag im Vergleich zu den

substanzenbehandelten Kontrolltiere. (s. Tab. 11).

Für den Parameter *Straub tail* wies keine der Versuchsgruppen signifikante Unterschiede im Verlauf des Versuchs auf. Zwischen Kontroll- und transgenen Mäusen zeigten sich am 1. und 8. Injektionstag moderate, doch signifikante Unterschiede. (s. Tab. 11).

Im *Block Test* verharrte an den einzelnen Versuchstagen keine Kontrollmaus länger als 5 s auf dem Block. Von den DYT1-Mäusen verharrte eine substanzbehandelte Maus am 1. Versuchstag 10 s und am 4. Injektionstag 8 s auf dem Block, alle anderen transgenen Tiere verharrten zu keinem Zeitpunkt länger als 5 s (ohne Abbildung).

Als Verhaltenseffekte wurde außerdem sowohl bei einigen substanz- und vehikelbehandelten DYT1- als auch bei einigen Kontrolltieren ein unkontrolliertes Springen an den Käfigdeckel und ungerichtetes Graben auf dem leeren Käfigboden beobachtet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es während der chronischen Gabe von L-DOPA/Carbidopa im Gegensatz zur akuten Gabe (s. 4.3.1.1.) zu einer signifikanten Verschlimmerung des „Dystonie“-Scores bei den DYT1-Mäusen jedoch nicht bei den Kontrollmäusen kam. Hingegen wurden andere L-DOPA-Effekte nicht durch Langzeitgabe verstärkt.

Tab. 11 (S. 98): Maximalscores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa über einen Zeitraum von 20 Tagen auf die Parameter Sniffing, Putzen und Straub tail. Angegeben ist der Median und die 25. / 75. Perzentile der maximal erreichten Scores innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation an dem jeweiligen Versuchstag; Signifikante Unterschiede im Versuchsverlauf der Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen sind mit Kreisen ($^{\circ}p < 0,05$), signifikante Unterschiede zwischen Vehikel- und Substanzapplikation bei den Kontroll- bzw. DYT1-Mäusen mit Plus ($^+p < 0,05$, $^{++}p < 0,01$), signifikante Unterschiede zwischen vehikelbehandelten bzw. substanzbehandelten Kontrollen und vehikel- bzw. substanzbehandelten DYT1-Mäusen sind mit Sternen ($*p < 0,05$, $**p < 0,01$) gekennzeichnet.

	1.	4.	8.	11.	15.	18.	20.
	Injektionstag	Injektionstag	Injektionstag	Injektionstag	Injektionstag	Injektionstag	Injektionstag
Sniffing	Kontrollen						
	Vehikel	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)
	Substanz						
		2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)
Putzen	DYT1						
	Vehikel	2,0* (2,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	1,0 ^{o(zu 1)} (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)
	Substanz						
		2,0 (1,75/2,25)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,25)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (2,0/2,25)
Straub tail	Kontrollen						
	Vehikel	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)
	Substanz						
		1,5 (0,0/2,0)	1,0 ⁺ (1,0/2,0)	1,0* (0,0/2,0)	1,0** (0,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 ⁺⁺ (1,0/1,0)
Straub tail	Kontrollen						
	Vehikel	1,0 (0,75/1,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,5)
	Substanz						
		0,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 ^{oo(zu 1)+} (1,75/2,0)	2,0 ^{o(zu 1)+} (1,75/2,0)	2,0 ^{o(zu 1)+} (1,0/2,25)	1,0 ⁺ (0,75/2,0)
Straub tail	Kontrollen						
	Vehikel	1,0* (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0* (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (0,75/1,0)	1,0 (1,0/1,0)
	Substanz						
		1,0* (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0* (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)
Straub tail	Vehikel	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,25)
	Substanz						
	2,0 (1,75/2,25)	1,0 (1,0/2,25)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)

5. DISKUSSION

Zur Aufklärung der Pathogenese und zur Erforschung neuer, effizienter Therapiemöglichkeiten ist es essentiell, spezifische Tiermodelle für bestimmte Dystonieformen zu entwickeln. Bisher gibt es nur wenige gut etablierte und geeignete Tiermodelle für paroxysmale Formen (Jinnah et al., 2008; Richter und Löscher, 2000). Tiermodelle sollten eine hohe Vergleichbarkeit mit der Erkrankung des Menschen gewährleisten, was bedeutet, dass sie die klinischen („face validity“) und zugrunde liegenden pathophysiologischen Merkmale („construct validity“) einer Dystonie widerspiegeln und zudem ein den Dystonie-Patienten vergleichbares Ansprechen auf Therapiemaßnahmen („predictive validity“) aufweisen. Außerdem sollte das Modell verlässlich sein („reliability“), d.h. die Symptome müssen sich reproduzieren lassen (Crawley, 1999b).

Für die Early-onset-Torsionsdystonie, für die bislang noch kein geeignetes Tiermodell existiert, wurde als genetischer Hintergrund eine Mutation im DYT1-Gen ausgemacht (Ozelius et al., 1989). Dieser Gendefekt steht mit der Produktion eines veränderten Proteins, des mutierten TorsinA (ΔE -TorsinA) in Zusammenhang. Bis auf diesen Gendefekt ist über die Pathophysiologie der Erkrankung bisher wenig bekannt. Von besonderem Interesse ist hierbei die geringe Penetranz von nur 30-40% bei Genträgern. Welche Faktoren zur Manifestation führen, ist bis heute rätselhaft. Die Erkrankung beginnt im Jugendalter und zeigt meist einen progressiven Verlauf. Eine spezifische Therapie ist, wie bei anderen Dystonieformen auch, aufgrund der geringen Kenntnis über die Pathogenese nicht möglich. Den besten Therapieerfolg erzielt man momentan mit tiefen Hirnstimulationen.

Mäuse, die das Defektgen tragen, könnten als ätiologische Tiermodelle wichtige Beiträge zur Erforschung dieser Dystonieform leisten. Allerdings weisen verschiedene Mauslinien mit dem humanen Defektgen keinen Phänotyp auf und sind somit nicht für die präklinische Arzneimittelentwicklung geeignet (s. 2.2.2.). Von Interesse ist daher die von Shashidharan et al. (2005) beschriebene Mauslinie, die eine „dystonie-ähnliche“ Symptomatik entwickelt sowie eine vergleichbare Penetranz und Progression der Erkrankung wie bei Patienten mit der Early-onset-Torsionsdystonie aufzuweisen scheint. Bislang waren die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) durchgeführten Untersuchungen und Beobachtungen jedoch nicht ausreichend, um eine Aussage über die Eignung der Mäuse als Tiermodell für die Early-onset-Torsionsdystonie zu treffen. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit verschiedene Verhaltens- und pharmakologische Untersuchungen bei den DYT1-Mäusen durchgeführt, um ihre tatsächliche Eignung näher zu beleuchten.

5.1. Aspekte zur Methodik

5.1.1. Genotypisierung

Transgene DYT1-Zuchttiere wurden uns freundlicherweise von Dr. P. Shashidharan (Mount Sinai Medical School, New York, USA) zu Verfügung gestellt. Die Nachzucht dieser Mäuse wurde in unserem Institut vorgenommen. Dabei war die Fertilität der transgenen Tiere vergleichbar mit der von Kontrollmäusen. Bei jeder DYT1-Maus wurde das humane Defektgen mittels PCR nachgewiesen, einer Methode, die als sensitiv für den Nachweis der entsprechenden DNA anzusehen ist (Schenkel, 2006b). Nur auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass die in den Versuchen eingesetzten Tiere auch das humane Defektgen tragen, da uns nicht bekannt war, ob die zur Verfügung gestellten Zuchttiere homo- oder heterozygot waren. Die PCR erfolgte in Anlehnung an das von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebene PCR-Protokoll. Während der gesamten Genotypisierung wurde auf steriles Arbeiten und auf Kühlung der Proben geachtet, um eine Verunreinigung bzw. Schädigung des DNA-Materials zu verhindern. Es wurde bei jedem Ansatz eine positive und eine negative Kontrolle mitgeführt, um falsch positive und falsch negative Ergebnisse auszuschließen.

Die Ergebnisse der von uns durchgeführten PCR waren robust und reproduzierbar. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die in den Versuchen eingesetzten Tiere das humane Defektgen trugen (s. 3.2.1.). Allerdings muss bedacht werden, dass das Vorliegen des entsprechenden Gens allein nicht ausreichend ist, um Aussagen über die Expression des von ihm codierten Proteins TorsinA zu treffen (Schenkel, 2006a). Daher wäre eine Detektion des Proteins unter Umständen sinnvoll gewesen. Hiervon wurde aber abgesehen, da dieser Nachweis in der transgenen Mauslinie, aus der wir Tiere zur Weiterzucht zur Verfügung gestellt bekommen haben, bereits von der kooperierenden Arbeitsgruppe erbracht wurde. Deshalb wurde davon ausgegangen, dass Tiere, bei denen in unseren Untersuchungen das humane Defektgen nachgewiesen wurde, auch das entsprechende mutierte Protein exprimieren.

5.1.2. Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens

Zur Einschätzung der Eignung eines Tiermodells müssen die Tiere auf die Ausprägung der beim Patienten auftretenden Symptome untersucht werden.

Diese sogenannte „face validity“ der DYT1-Maus wurde von Shashidharan und Mitarbeitern

(2005) bisher nur unzureichend überprüft. So stützten sich die bisherigen Aussagen allein auf die Ergebnisse zur Untersuchung der spontanen lokomotorischen Aktivität im Activity cage, sowie auf reine Beobachtungen von abnormen Kopfschüttel-, Kreis- und „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen. Eine Quantifizierung der Ausprägung erfolgte bislang nicht. Um diesen wichtigen Parameter zur Charakterisierung eines Tiermodells weiter zu untersuchen, wurden verschiedene Verhaltenstests (Open field, Activity cage, Rotarod, Wire-hang Test, Grip-strength Test, Footprint Test und Staircase Test) ausgewählt. Diese sind geeignet, motorische Störungen zu untersuchen (Baird et al., 2001; Crawley, 1999a; Dunnett et al., 2003).

Die Untersuchung einer eventuellen Altersabhängigkeit war bei den DYT1-Mäusen von besonderem Interesse, da die Erkrankung beim Menschen meist einen progressiven Verlauf aufweist (Bandmann und Müller, 2002; Bressman, 2006). Zudem trafen Shashidharan und Mitarbeiter (2005) die Aussage, dass sich die bei den Mäusen auftretenden Störungen mit zunehmendem Alter verschlimmerten, ohne dies durch geeignete Untersuchungen zu belegen. Das Alter von 3 Monaten wurde in unseren Untersuchungen als jüngstes Alter gewählt, weil von Shashidharan et al. (2005) beschrieben wurde, dass in diesem Alter bei den Tieren eindeutige phänotypische Merkmale erkennbar waren (s.o.). Bei Mäusen wird dieses Alter als Übergang vom Jugend- zum Erwachsenen-Alter angesehen (Crawley, 1999b). Auch beim Menschen tritt die DYT1-Dystonie spätestens in dieser Altersphase auf. Daher kann ein Untersuchungsbeginn bei 3 Monate alten Mäusen als geeignet angesehen werden. Um eine eventuell vorhandene Progression der Störung bei den Mäusen aufzudecken, wurden diese zusätzlich noch im Alter von 6, 9 und 12 Monaten untersucht.

Während der bereits genannten Tests zur Beurteilung motorischer Störungen durchgeführt wurden, erfolgte eine Testung der neurologischen Reflexe (Lidreflex, Hautsensibilität, Tastsinn [Orientierungsreflex], Haltungsreflex und Stellungsreflex) sowie des KGW. Dieses diente der Überprüfung der allgemeinen Gesundheit der Tiere sowie der Aufdeckung möglicher neurologischer Defizite. Dieses Verfahren war notwendig, da bei der Interpretation von Untersuchungen des motorischen Systems berücksichtigt werden sollte, dass das motorische Verhalten nicht allein durch die zentrale Modulation innerhalb der Basalganglien, sondern auch von anderen zentralen und peripheren Nervenstrukturen und von der Vitalität der Tiere abhängig ist (Matthews, 2001). Dies spielt im Falle der untersuchten DYT1-Mäuse insbesondere eine Rolle, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass die genetische Manipulation auf die Basalganglien beschränkt bleibt. Die in dieser Arbeit verwendeten Testverfahren (s.o.) sind in der Literatur beschrieben und anerkannt (Crawley, 1999a).

Im *Open field* und im *Activity cage* konnte neben der spontanen Bewegungsaktivität, die auf dem Erkundungsverhalten der Mäuse beruht, auch beobachtet werden, wie sich die Tiere bewegen. Somit konnte man eventuell auftretende Bewegungsstörungen oder Körperfehlstellungen bei diesen einfachen Tests schon beurteilen. Bei der horizontalen Bewegungsaktivität zeigten beide Tests vergleichbare Ergebnisse. Interessanterweise gab es jedoch bei der vertikalen Bewegungsaktivität Unterschiede zwischen den Ergebnissen der beiden Tests. So zeigten DYT1-Mäuse im 3. LM im *Activity cage* eine signifikant niedrigere Aktivität als die Kontrolltiere, wohingegen im *Open field* kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen erkennbar war. Dies könnte auf die Tatsache zurückgeführt werden, dass die Tiere im *Open field* den Untersucher im Gegensatz zum *Activity cage* nicht sehen konnten. Bei beiden Tiergruppen kam es im Vergleich vom 3. zum 6. LM zu einem signifikanten Abfall der Aktivität in beiden Tests, während danach ein solcher Abfall nur zwischen dem 9. und 12. LM und nur bei der vertikalen Aktivität im *Open field* bei den Kontrolltieren zu beobachten war. Dies könnte auf eine Habituation an die Versuchsbedingungen im Altersverlauf zurückgeführt werden, da in jeder Altersstufe dieselben Tiere untersucht wurden. Eine allgemeine altersabhängige Bewegungsabnahme wurde schon in der Literatur beschrieben (Amassari-Teule et al., 1994; Lhotellier und Cohen-Salmon, 1989). Durch getrennte Beobachtung der Eintritte ins Zentrum im *Open field* konnte auch eine gewisse Aussage über das Angstverhalten gemacht werden (Dunnett et al., 2003). Diese Ergebnisse konnten dann ergänzend zum *Elevated plus maze* (s.u.) zur Beurteilung herangezogen werden.

Mit dem *Rotarod* im *Accelerating-Modus* konnten Aussagen über das Koordinationsvermögen sowie über das motorische Lernen gemacht werden, da die Tiere ihre Bewegung ständig der ansteigenden Geschwindigkeit anpassen mussten (Crawley, 1999b). Der Geschwindigkeitsanstieg von 4 zu 40 rpm innerhalb von 5 min ist für diesen Test Standard (Crawley, 1999b; Karl et al., 2003). Dieser Parameter war bei den DYT1-Mäusen von besonderem Interesse, da für DYT1-Patienten aber auch für nichtbetroffene Genträger ein verlangsamtes motorisches Lernen beschrieben wurde (Ghilardi et al., 2003). Somit war zu erwarten, dass sowohl phänotypisch auffällige als auch unauffällige DYT1-Mäuse hier altersabhängige Defizite aufweisen würden. Dies wurde auch bereits in anderen DYT1-Mausmodellen nachgewiesen (Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005). Die hier untersuchten DYT1-Mäuse zeigten hingegen keine Defizite (s. 5.2.1.).

Die Muskelkraft ist bei Dystonie-Patienten normalerweise nicht herabgesetzt (Kong et al., 2001). Allerdings wurde dieser Parameter bisher bei keinem der vorhandenen DYT1-

Mausmodelle gemessen um diesen im Sinne der „face validity“ zu bestimmen. Bei Mäusen lässt sich die Griffstärke mittels zweier Tests beurteilen. Der *Wire-hang Test* dient zur Beurteilung der Muskelkraft sowohl von Vorder- als auch von Hinterpfoten. Bei diesem Test musste darauf geachtet werden, dass das Gitter, an dem sich die Mäuse festhielten, nicht zu dicht über dem Boden gehalten wurde. Sonst zeigten die Mäuse eine zu geringe Motivation sich festzuhalten und ließen sich wie im Heimkäfig in den unter dem Gitter stehenden Käfig fallen, was zu einer Verfälschung der Ergebnisse geführt hätte. Die Festsetzung der Maximalzeit von 60 s erfolgte nach Literaturangaben und gilt als Standard für diesen Test (Crawley, 1999a; Karl et al., 2003). Beim *Grip-strength Test* wird über einen Metallbügel, der mit einem elektronischen Kraftmesser verbunden ist, isoliert die Kraft der Vorderpfoten gemessen. Auch bei diesem Test ist die Motivation zum Ergreifen des Bügels wichtig. Diese Motivation ließ bei einigen Mäusen vermutlich durch einen Trainingseffekt im Verlauf des Versuches deutlich nach. Eine weitere wichtige Fehlerquelle bei diesem Test ist der Experimentator, da dieser, je nachdem mit welcher Geschwindigkeit er das Tier nach hinten zieht, das Ergebnis beeinflussen kann. Daher musste genau darauf geachtet werden, dass bei jeder Maus eine gleichmäßige nach hinten gerichtete Kraft aufgebracht wurde. Um diese Fehlerquellen zu verringern, wurden für jedes Tier 5 Messungen durchgeführt, aus denen dann das \bar{x} gebildet wurde. Eine Verbesserung hinsichtlich der Motivation der Mäuse hätte eventuell erreicht werden können, indem man den Bügel frei über einer Tischkante montiert hätte, so dass die Mäuse keinen Boden gesehen und der Bügel für sie den einzigen Halt geboten hätte.

Mit dem *Footprint Test* können auch leichte Ganganomalien beurteilt werden, die mit bloßem Auge nicht erkennbar sind. So sprechen verkürzte Schrittlängen sowie ein größerer Abstand zwischen den Vorder- bzw. Hinterpfoten der linken und rechten Körperseite für eine Ataxie (Dunnett et al., 2003). Dieser Test wurde schon eingesetzt, um Gangfehler durch Defekte im Striatum, genetische Defekte der Purkinje Zellen, sensorische Neuropathien und diffuse Kleinhirnerkrankungen zu beurteilen (Zhao et al., 2008a). Von jeder Maus wurde aus 3 Messungen pro Parameter das \bar{x} gebildet, wobei die ersten und letzten Schritte wie in der Literatur beschrieben nicht gemessen wurden. Dieses Vorgehen ist sinnvoll, da sowohl die initialen Schritte, als auch die letzten Schritte andere Gangmuster aufweisen, als die Schritte in der normalen Vorwärtsbewegung (Karl et al., 2003). Durch die 3 Messungen wurden normale Variationen in den Parametern mit berücksichtigt. Fernagut und Mitarbeiter (2002) haben nachgewiesen, dass Mäuse keinen Trainingseffekt bei diesem Test aufweisen, daher wurde auch in der vorliegenden Arbeit auf ein Training verzichtet und der erste Versuch

gewertet. Um die Motivation der Tiere zu erhöhen hätte man eine Lampe am Startpunkt anbringen und das Ende des Tunnels verdunkeln können (Karl et al., 2003). Da die unbehandelte Tiere allerdings ohne Probleme durch den Tunnel liefen, wurde auf dieses Vorgehen verzichtet.

Der *Staircase Test* wurde von Montoya und Mitarbeitern (1991) zum ersten Mal beschrieben und für die Untersuchung von unilateral läsierten Ratten zur Detektion von Läsionen im Kortex (Montoya et al., 1991) oder im Striatum (Fricker et al., 1996) eingesetzt. Baird und Mitarbeiter (2001) haben den Ratten-Staircase für Mäuse modifiziert und getestet. In Anlehnung an diese Beschreibungen modifizierten wir den Staircase Test, da der gekaufte Staircase und die beschriebene Vorgehensweise unseres Erachtens Verbesserungspotenzial hatten. So ragten die Schrauben, mit denen der Deckel befestigt war, in den vorderen Versuchsraum. Dadurch zeigte sich vereinzelt, dass sich die Schrauben zeitweise in den Rücken der Maus drückten, wenn diese an die Pellets im vorderen Versuchsraum gelangen wollte. Außerdem war der Magnet zum Verschließen des Staircasedeckels so stark, dass man ihn nicht kontrolliert schließen konnte. So bestand die Gefahr, den Schwanz der Maus zwischen Deckel und Wand des Staircase einzuklemmen. Um dies zu vermeiden, haben wir einen Schiebedeckel konstruiert, welcher sich sehr kontrolliert schließen ließ. Des Weiteren besaß der Original-Staircase im vorderen Bereich des Steges eine schlitzförmige Öffnung. Dies führte zu starkem Explorationsverhalten der Mäuse, die sich somit nicht mehr so stark für die angebotenen Futterpellets interessierten. Diesen Schlitz verschlossen wir daher mit Hilfe eines Plexiglaswinkels. Der Test war mit einem langen Futterentzug verbunden. Von Baird und Mitarbeitern (Baird et al., 2001) war ein Futterentzug von 20 h angegeben, direkt nach dem Test bekamen die Mäuse für 4 h Standardfutter. Nach unseren Beobachtungen verloren vor allem die jüngeren (3 Monate alte) Mäuse mit diesem Regime zu viel KGW (teilweise bis zu 20% von einem auf den anderen Tag). Wir verkürzten daher den Futterentzug auf 16 h und fütterten direkt nach dem Versuch zusätzlich zum Standardfutter noch Feuchtfutter sowie Sonnenblumenkerne, wodurch wir das KGW der Tiere relativ stabil halten konnten. Der Gewichtsverlust lag bei max. 5% von einem zum anderen Tag und glich sich häufig zum darauf folgenden Tag wieder aus. Dadurch betrug die maximale durchschnittliche Gewichtsabnahme innerhalb eines Versuchszeitraums 3%, die maximale Zunahme sogar 6%. Durch diese Veränderung gab es keine Verschlechterung der Motivation der Tiere Futterpellets aufzunehmen, was aus der unveränderten Anzahl der aufgenommenen Pellets interpretiert werden konnte. Eine Anpassung erfolgte ebenso in Hinblick auf die Trainingstage und die Testzeit. Beschrieben wurden 15 Tage á 15 Trainingsminuten (Baird et

al., 2001). Allerdings konnten wir an unseren Kontrolltieren beobachten, dass sich bereits nach 3 Tagen eine stabile Pelletaufnahme zeigte, so dass wir die Trainingszeit auf 3 Tage verkürzten. An den Testtagen wurde sogar eine Testzeit von 30 min angegeben (Baird et al., 2001). Diese verringerten wir aufgrund unserer eigenen initialen Beobachtungen ebenfalls auf 15 min, weil die Mäuse während einer 30 min Testzeit die größte Aktivität innerhalb der trainierten 15 min zeigten und die restliche Zeit meist reglos im Käfig saßen. Eine weitere Modifikation des Tests wurde hinsichtlich der Zahl der angebotenen Pellets vorgenommen. So verringerten wir die Anzahl der Pellets pro Stufe von 2 (Baird et al., 2001) auf 1 Pellet. Bei 2 Pellets pro Stufe verstreuten die Mäuse häufig beim Greifen eines Pellets das Zweite automatisch, was allerdings nichts mit Ungeschicklichkeit zu tun hatte, sondern darin begründet lag, dass beide Pellets nicht in die Vertiefungen passten. Dies hätte somit die Ergebnisse verfälscht. Eine weitere Beobachtung war, dass einzelne Mäuse (auch Kontrolltiere) von sich aus eine gewisse Händigkeit aufwiesen. Insgesamt ergab sich jedoch weder für DYT1- noch für die Kontrollmäuse eine Händigkeit. Daher wurden für weitere Auswertungen die Pellets der linken und rechten Seite zusammengezählt und somit die Geschicklichkeit insgesamt beurteilt. Dieses Vorgehen wurde auch schon in der Literatur beschrieben (Dunnett et al., 2003).

Der „beamwalking Test“ wird häufig zur Beurteilung von DYT1-Mäusen herangezogen (Dang et al., 2005; Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005). Dieser Test dient zur Beurteilung feinmotorischer Störungen. Die Mäuse müssen dabei Stäbe mit verschiedenen Durchmessern überqueren und es wird gezählt, wie häufig die Tiere vom Stab abgleiten (Crawley, 1999b). Da bei unseren Untersuchungen im Staircase keine Unterschiede zwischen den Tiergruppen erkennbar waren, wurde darauf verzichtet, diesen Test im Institut zu etablieren, da er vermutlich keine weiteren Erkenntnisse gebracht hätte.

Zurzeit werden psychologische Komponenten von Dystonien diskutiert. So zeigten sich in Untersuchungen von Patienten mit unterschiedlichen Dystonieformen häufig Depressionen und Angststörungen (Balas et al., 2006; Heiman et al., 2004; Jabusch et al., 2004). Daher wurde bei den DYT1-Mäusen das Elevated plus maze, ein gut etablierter und anerkannter Test zur Beurteilung des Angstverhaltens, herangezogen. Er beruht auf dem natürlichen Konflikt zwischen dem Erkundungsverhalten und dem Vermeiden von offenen und daher ungeschützten Flächen (Crawley, 1999b; Karl et al., 2003). Außerdem konnte durch Modifikation des Open field mit einer Einteilung in eine äußere „sichere“ und eine innere „unsichere“ Zone eine zusätzliche Aussage über das Angstverhalten der Mäuse gemacht werden. Allerdings werden auf diese Weise mögliche kognitive Defekte oder Depressionen

nicht untersucht. Da das Hauptziel der Arbeit die Beurteilung motorischer Störungen war, wurde jedoch auf weitergehende Verhaltenstests verzichtet.

5.1.3. Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems

Verschiedene Untersuchungen deuteten darauf hin, dass Fehlfunktionen innerhalb des dopaminergen Systems eine besondere pathophysiologische Rolle bei der Dystonie zukommt (Wichmann, 2008). So wurden bei DYT1-Patienten eine verminderte Bindung an D₁- und D₂-Rezeptoren sowie veränderte DA- und DOPAC-Spiegel nachgewiesen (Augood et al., 2004; Wichmann, 2008).

Bei den in dieser Arbeit untersuchten DYT1-Mäusen wurden veränderte Dopaminspiegel im Striatum nachgewiesen (Shashidharan et al., 2005). Der funktionellen Relevanz dieser früheren Befunde sollte deshalb mittels pharmakologischer Manipulationen durch die akute Applikation dopaminergischer Substanzen nachgegangen werden. Hierzu wurden 2 Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten, nämlich der Dopamin-Vorläufer L-DOPA in einer Dosierung von 100 mg/kg in Kombination mit 10 mg/kg des Decarboxylasehemmers Carbidopa sowie der Dopamin-Wiederaufnahmehemmer GBR 12935 in einer Dosierung von 15 mg/kg, in verschiedenen Altersstufen appliziert. Auf diese Weise konnte eine mögliche altersabhängige Veränderung des dopaminergen Systems, die mit dem progressiven Verlauf der Erkrankung im Zusammenhang stehen könnte, bei den Mäusen überprüft werden. Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf eine mögliche Verschlimmerung motorischer Störungen bzw. „Dystonie-ähnlicher“ Symptome sowie auf die hervorgerufenen Nebenwirkungen im Sinne einer erhöhten oder verminderten Reaktionen bei DYT1-Mäusen gelegt. Die Zeitpunkte der Untersuchungen im Score-System wurden in Anlehnung an die Untersuchungen in einem Mausmodell für L-DOPA induzierte Dyskinesien gewählt (Lundblad et al., 2005). Auch der Startzeitpunkt für die akuten Versuche wurde auf dieser Grundlage ausgewählt, da bei L-DOPA nach 20 min deutliche Effekte auftreten und diese auch lange genug anhalten, um alle Tests durchzuführen. Beim Score-System wurden nur die maximal erreichten Werte innerhalb der dreistündigen Testphase dargestellt. Dieses Verfahren wurde gewählt, da die Darstellungen übersichtlicher sind und sich während des Verlaufs keine Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten. Bei den pharmakologischen Versuchen handelte es sich um „Blindversuche“ im „Cross-over Design“, d.h. der Untersucher wusste nicht, ob die Tiere die Substanz oder das Vehikel bekamen und die Tiere stellten ihre eigene Kontrolle dar. Einzige Ausnahme waren die chronischen Versuche mit L-DOPA, die zwar als „Blindversuch“ durchgeführt wurden, aber nicht in einem „Cross-over

Design“, da die Vehikel- und Substanzgruppe parallel untersucht wurden.

Dazu wurden zum einen die oben beschriebenen Verhaltenstests (Activity cage, Rotarod, Wire-hang Test, Grip-strength Test und Footprint Test) durchgeführt, zum anderen wurde im Rahmen der pharmakologischen Manipulation des dopaminergen Systems ein Score-System für die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen etabliert, damit diese Bewegungen besser quantifiziert werden konnten.

Das Problem jedes Score-Systems ist die subjektive Beurteilung durch den Untersucher, weshalb es wichtig war, dass immer der gleiche Untersucher die Tiere beurteilte. Trotzdem gelten Score-Systeme als geeignetes Beurteilungsmittel im Rahmen der Untersuchung von Tiermodellen (Jinnah und Hess, 2005). Scores zur Beurteilung von dystonen Bewegungen sind in anderen Tiermodellen, wie dem dt^{sz} -Hamster (Richter, 2005) und dem Ratten- sowie dem Mausmodell für die L-DOPA induzierte Dyskinesie (Lundblad et al., 2002; Lundblad et al., 2004) gut etabliert und anerkannt. Beim Score-System für die L-DOPA induzierte Dyskinesie in der Maus werden aber nicht nur motorische Störungen, sondern auch andere Verhaltensweisen, wie z.B. die Aktivität, mit Scores beurteilt (Lundblad et al., 2004). In Anlehnung an diese Scores entwickelten wir für die Beurteilung der DYT1-Mäuse ein eigenes System. Für die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen wurde beschrieben, dass die DYT1-Mäuse, wenn sie am Schwanz hochgehoben wurden, „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen der Hintergliedmaßen zeigten (s. 3.2.2.7.), wohingegen Wildtypiere eine gespreizte Haltung der Gliedmaßen aufwiesen. Die ersten eigenen Beobachtungen nach L-DOPA-Applikation zeigten zudem, dass die Mäuse auch im Laufen ein verändertes Vorführen der Hinterpfoten zeigten. Allerdings war dabei kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Ausprägung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen im Hängen mit derjenigen im Laufen erkennbar. Daher wurden 2 einzelne Scores vergeben, die dann zu einem endgültigen Score addiert wurden. Dieses Vorgehen geschah nicht willkürlich, sondern wurde in Anlehnung an das Score-System bei der L-DOPA induzierten Dyskinesie der Ratte vorgenommen, bei dem die verschiedenen Scores der abnormalen unfreiwilligen Bewegungen (AIMs) ebenso addiert werden (Lundblad et al., 2002). Der Schweregrad wurde in unseren Untersuchungen von „keine „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen zu erkennen“ (Score = 0) über „einseitig nichtpermanent“ (Score = 1), „beidseitig nichtpermanent“ (Score = 2), „einseitig permanent“ (Score = 3) bis „beidseitig permanent“ (Score = 4) bestimmt, da davon ausgegangen wurde, dass eine beidseitige Störung schwerwiegender ist als eine einseitige, bzw. eine permanente Störung schwerwiegender ist als eine nichtpermanente. Ein demnach erreichbarer Maximalscore von 8 (höchster erreichbarer Score = 4 im Hängen + höchster erreichbarer

Score = 4 im Laufen) schien den nötigen Spielraum für eine sinnvolle Quantifizierung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen zu bieten. Wie sich durch die Untersuchung vehikelbehandelter DYT1-Mäuse in Verbindung mit den Untersuchungen zu L-DOPA sowie GBR 12935 zeigte, gab es keine altersabhängigen Unterschiede.

Daher wurde im Anschluss an die oben beschriebene Untersuchung der altersabhängigen Effekte von 100 mg/kg L-DOPA und 15 mg/kg GBR 12935 die Untersuchung weiterer Dosierungen dieser beiden Substanzen sowie auch der Substanzen Amphetamin (zur Erhöhung des Dopaminumsatzes), A 68930 (selektiver D₁-Agonist), SCH 39166 (selektiver D₁-Antagonist), Quinpirol (selektiver D₂-Agonist) sowie Racloprid (selektiver D₂-Antagonist) nur noch im Alter von 6 Monaten vorgenommen. Durch dieses Vorgehen konnte im Sinne des Tierschutzes eine Verringerung der Tierzahl bzw. der Belastung von Einzeltieren durch wiederholte Untersuchungen erreicht werden.

Für ein grobes Screening dieser Wirkstoffe, das vor allem der Erfassung einer abnormen Ansprechbarkeit und somit Hinweise auf bestimmte Veränderungen (z.B. D₁- oder D₂-Rezeptor-Veränderungen) diene, wurde auf umfangreiche Verhaltenstests (s.o.) verzichtet. Statt des Activity cage sollte die Aktivität mit Hilfe eines einfachen Score-Systems beurteilt werden. Hierzu wurde eine Reduktion der lokomotorischen Aktivität, also eine sogenannte Hypolokomotion, mit Scores von -4 bis 0 und eine erhöhte lokomotorische Aktivität, also eine sogenannte Hyperlokomotion, mit Scores von 0 bis 4 (s. 3.2.2.2.) bewertet, wobei 0 als normale Aktivität angesehen wurde. Wie der Vergleich der Daten des Activity cages von 15 mg/kg GBR 12935 und 100 mg/kg L-DOPA mit den Daten des Score-Systems zeigte, war dieses Vorgehen durchaus geeignet, die Aktivität der Tiere zu beurteilen, da beide Systeme gleiche Aussagen lieferten. Andere Substanzeffekte (Sniffing, Putzen, Straub tail) wurden mit einem Score von 0 (nicht vorhanden) bis 3 (dauerhaft zu sehen) beurteilt, um zu ermitteln, ob sich die transgenen Tiere von den Kontrollmäusen im Ansprechen auf die Substanzen unterscheiden.

Da durch die oben genannten akuten, d.h. einmaligen, Applikationen dopaminerger Substanzen keine Unterschiede zwischen den DYT1- und den Kontrollmäusen auftraten, sollte abschließend geklärt werden, ob es durch eine längere Manipulation des dopaminergen Systems mittels chronischer Applikation zum Auftreten „Dystonie-ähnlicher“ Symptome kommen würde, bzw. ob eine Verschlimmerung eintreten würde. Diese Vermutung gründete auf dem Auftreten von Dyskinesien bei Parkinson-Patienten, die chronisch mit L-DOPA behandelt werden (Luquin et al., 1992), während gesunde Personen keine Dyskinesien entwickeln (Thanvi et al., 2007). Daher wählten wir ebenfalls L-DOPA als Substanz für

unseren Versuch. Zur Beurteilung wurde das Score-System aus den akuten Versuchen übernommen. Die Länge der Behandlung (20 Tage) und die Dosierung (25 mg/kg) wurde in Anlehnung an das Mausmodell für L-DOPA induzierte Dyskinesie von Lundblad und Mitarbeitern (2004) gewählt. Außerdem erschien diese Dosierung sinnvoll, da sie in den akuten Versuchen noch keinen so starken Effekt auf die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen zeigte und die lokomotorische Aktivität nicht beeinflusste. Zu beachten ist, dass die Tiere im chronischen Versuch mit 13 Monaten schon recht alt waren. Um auslösende Mechanismen für die Early-onset-Torsionsdystonie zu untersuchen, wäre es sinnvoller, junge Tiere zu beurteilen, da die Erkrankung beim Menschen vor dem 28. Lebensjahr auftritt und somit auslösende Mechanismen früher gewirkt haben müssten. Unsere Untersuchung sollte allerdings zunächst nur einen Hinweis auf eine eventuelle Veränderung des dopaminergen Systems der DYT1-Mäuse liefern, weshalb hier auch nur eine Substanz in einer Dosierung untersucht wurde. Außerdem wurden aufgrund dieses Vorgehens keine weiteren Tiere benötigt. Bei weiterführenden Untersuchungen sollte man allerdings auf junge Tiere (max. 3 Monate) zurückgreifen. Auch eine weitere Beurteilung der Tiere in bestimmten Abständen nach der letzten chronischen Substanzapplikation wäre sinnvoll, um einen anhaltenden Effekt erkennen zu können.

5.2. Ergebnisse

5.2.1. Untersuchung der Vitalität, der Motorik und des Angstverhaltens bei unbehandelten Mäusen

Die neurologischen Reflexe und das KGW zeigten keine Unterschiede zwischen den DYT1-Mäusen und den Kontrolltieren, was belegte, dass die DYT1-Mäuse eine gute Vitalität und keine schwerwiegenden neurologischen Defizite aufwiesen. Bei Dystonie-Patienten werden klinisch nur die dystonen Bewegungsstörungen gesehen (Ceballos-Baumann, 1996), allerdings fehlen genaue Beschreibungen zu den klinisch feststellbaren neurologischen Reflexe.

Da die altersabhängige Abnahme der horizontalen und vertikalen Bewegungsaktivität in beiden Versuchsgruppen auftrat, war sie vermutlich durch das zunehmende Alter bedingt. Diese altersabhängige Bewegungsabnahme wurde schon in der Literatur beschrieben (Ammassari-Teule et al., 1994; Lhotellier und Cohen-Salmon, 1989). Die von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebene Hyperaktivität der transgenen Tiere konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Möglicherweise ist dies darin begründet, dass

Shashidharan et al. (2005) die Tiere nur in einer Altersstufe untersuchten und in unseren eigenen Untersuchungen eine Habituation durch das wiederholte Testen der verschiedenen Altersstufen mögliche Unterschiede verdeckt haben könnte (Bolivar et al., 2000). Allerdings hätte man dann zumindest eine Hyperaktivität im Alter von 3 Monaten bei den DYT1-Mäusen vermutet. Eine weitere Ursache für die Abweichung der Befunde könnte sein, dass in der vorliegenden Arbeit im Unterschied zu der Studie von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) nicht zwischen phänotypisch auffälligen und phänotypisch unauffälligen Tieren unterschieden wurde. Dieses Vorgehen wurde gewählt, da auch die von Shashidharan et al. (2005) beschriebene phänotypische Ausprägung von 30-40% (Kreis- und Kopfschüttelbewegungen) in der Nachzucht unseres Instituts nicht anteilmäßig auftrat. Daher erachteten wir es als tierschutzrechtlich nicht vertretbar eine Vielzahl phänotypisch unauffälliger Tiere zu züchten, die für die Versuche keine Verwendung gefunden hätten, um 10 phänotypisch auffällige Tiere in der Nachzucht zu erhalten. Allerdings muss dieses Vorgehen bei der Interpretation aller Daten berücksichtigt werden. Diese anteilmäßig nur gering vorhandene phänotypische Ausprägung in unserer Nachzucht ließ außerdem Zweifel an der „reliability“ (also der Verlässlichkeit) dieses Mausmodells als phänotypisches Modell aufkommen.

Die Ergebnisse auf dem *Rotarod* zeigten, dass die DYT1-Mäuse keine Schwierigkeiten mit dem Koordinationsvermögen oder dem motorischen Lernen hatten. Untersuchungen des Koordinationsvermögens in den anderen DYT1-Mausmodellen kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. So wiesen Sharma et al. (2005) eine schlechtere Rotarod-Performanz für ihre transgenen Mäuse nach, was allerdings durch Zhao und Mitarbeiter (2008a) im gleichen Mausmodell nicht bestätigt werden konnte. Dang et al. (2005) fanden in ihrem Mausmodell ebenfalls keine Unterschiede zwischen den transgenen und den Wildtyptieren, wohingegen Grundmann und Mitarbeiter (2007) eine schlechtere Rotarod-Performanz für ihre transgenen Mäuse im Vergleich zu Kontrolltieren nachwiesen. Bei DYT1-Genträgern wurde ein schlechteres motorisches Lernen nachgewiesen, wobei es keine Rolle spielte, ob diese auch eine klinisch manifeste Dystonie aufwiesen (Ghilardi et al., 2003). Allerdings fehlen weitere Studien an humanen DYT1-Patienten um diese Ergebnisse abzusichern. Fraglich erscheint daher, ob es für die „face validity“ eines DYT1-Tiermodells wichtig ist, dass die transgenen Tiere Defizite im motorischen Lernen aufweisen. Da diese Defizite beim Menschen unabhängig von der Ausprägung einer klinisch manifesten Dystonie sind, sollte es bei diesem Test auch keine Rolle spielen, dass wir, wie oben beschrieben, nicht zwischen phänotypisch auffälligen und phänotypisch unauffälligen Tieren unterschieden haben.

Beim *Grip-strength Test* kam es zu einer signifikanten Abnahme der Kraft der Vorderpfoten im Vergleich zwischen dem 6. und 9. Monat in beiden Tiergruppen. Dieser Effekt der altersabhängigen Abnahme der Griffstärke wurde für Mäuse schon in früheren Studien beschrieben (Ingram, 1988) und lässt sich aufgrund des Vorkommens in beiden Tiergruppen nicht als durch den Gendefekt verursacht interpretieren. Des Weiteren zeigten sich im *Wire-hang Test* keinerlei Unterschiede, weder zwischen den Tiergruppen noch im Altersverlauf innerhalb der Tiergruppen. Daher wird davon ausgegangen, dass bei den DYT1-Mäusen keine Muskelschwäche vorliegt. Dies war für die sogenannte „face validity“ von Bedeutung, da Dystonie-Patienten ebenfalls keine Defizite in der Muskelkraft aufweisen (Kong et al., 2001). Die Schrittlänge stieg bei beiden Tiergruppen im Alter an, was sicherlich auf die zunehmende Körperlänge der Tiere zurückgeführt werden kann (Fernagut et al., 2002). Im Vergleich zu den Kontrolltieren wiesen die transgenen Tiere jedoch im 9. und 12. Monat eine kürzere Schrittlänge der Vorderpfoten und im 9. Monat auch der Hinterpfoten auf. Allerdings war der Abstand zwischen den Vorder- bzw. Hinterpfoten der linken und rechten Körperseite unauffällig. Da diese beiden Parameter zur Beurteilung einer Ataxie herangezogen werden (Dunnett et al., 2003), kann höchstens von einer leichten Ataxie bei den DYT1-Mäusen ausgegangen werden. Eine verkürzte Schrittlänge wurde im MPTP-Mausmodell, ein Parkinson-Modell, sowie nach Gabe von Reserpin und Haloperidol nachgewiesen (Fernagut et al., 2002). Bei diesen Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass der Dopaminspiegel im Gehirn erniedrigt war bzw. die Dopaminrezeptoren blockiert wurden. Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten DYT1-Mäusen wurden verringerte Dopaminspiegel im Striatum von phänotypisch auffälligen Tieren nachgewiesen (Shashidharan et al., 2005). Beim Menschen mit dem DYT1-Gendefekt ist eine reduzierte Bindung an D₁- bzw. D₂-Rezeptoren bekannt (Breakefield et al., 2008), die eventuell auch bei den DYT1-Mäusen vorliegen könnte. Diese beiden Phänomene, zusammen mit den bekannten Ergebnissen aus dem MPTP-Modell, wären eine mögliche Erklärung für die verkürzte Schrittlänge der transgenen Tiere. Da die Bindung von D₁- und D₂-Rezeptoren in dem hier verwendeten Mausmodell noch nicht untersucht wurde, kann hierüber allerdings nur spekuliert werden. Dagegen spricht allerdings, dass D₁- und D₂-Rezeptor-Manipulationen in unseren Untersuchungen keine abweichenden Effekte beim Vergleich der DYT1- mit den Kontrollmäusen bewirkten (s. 5.2.2.). Die Bindung an D₁- sowie D₂-Rezeptoren wurde bisher lediglich in dem Mausmodell von Sharma und Mitarbeitern (2005) untersucht. Dabei wurde nachgewiesen, dass die transgenen Tiere die gleiche Dichte an Bindungsstellen aufwiesen wie die Kontrolltiere (Balcioglu et al., 2007).

Beim *Staircase Test* zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Tiergruppen. Daher ist

davon auszugehen, dass die DYT1-Mäuse keine Probleme mit dem gerichteten Greifen aufweisen. Weil dieser Test auch etwas mit Koordination und motorischem Lernen zu tun hat, werden hierdurch die Ergebnisse des Rotarods bestätigt und somit die fehlende „face validity“ des Modells diesbezüglich unterstrichen.

Beim *Elevated plus maze Test* werden die Eintritte in die offenen Arme in % der Gesamteintritte, die Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen sowie die Anzahl der Head dips als Parameter zur Beurteilung der Ängstlichkeit der getesteten Tiere herangezogen (Karl et al., 2003). Zwischen den beiden Tiergruppen lagen in den vorgenommenen Untersuchungen nur wenige, teilweise sogar widersprüchliche Unterschiede vor. So war die Anzahl der Head dips bei 3 Monate alten DYT1-Mäusen geringer als bei altersgleichen Kontrolltieren, was für eine größere Ängstlichkeit der DYT1-Mäuse sprechen würde. In den anderen oben genannten Parametern waren in dieser Altersstufe jedoch keine Unterschiede vorhanden. Bei 6 Monate alten Tieren zeigten sich in keinem untersuchten Parameter signifikante Unterschiede zwischen DYT1- und Kontrollmäusen, während 9 Monate alte DYT1-Mäuse häufiger in die offenen Arme eintraten und 12 Monate alte DYT1-Mäuse eine höhere Anzahl von Head dips aufwiesen als vergleichbare Kontrolltiere. Dies würde wiederum für eine geringere Ängstlichkeit von 9 und 12 Monate alten DYT1-Mäusen sprechen. Aufgrund der Befunde von Depressionen und erhöhter Ängstlichkeit von DYT1-Patienten (Heiman et al., 2004) hätte man erwartet, dass die DYT1-Mäuse nicht nur im Alter von 3 Monaten, sondern auch in den anderen Altersstufen ein ängstlicheres Verhalten als die Kontrolltieren zeigen. Dies hätte einer guten „face validity“ im DYT1-Mausmodell entsprochen, die aufgrund der vorliegenden Befunde jedoch nicht eindeutig ist.

Auffällig war außerdem, dass bei den Kontrolltieren im 6. LM eine signifikante Reduktion aller Parameter auf eine größere Ängstlichkeit als im 3. LM hinwies. Dieser Altersunterschied, der für Mäuse in der Literatur allgemein beschrieben wird (Bessa et al., 2005), konnte interessanterweise bei den DYT1-Mäusen nicht beobachtet werden. Es ergab sich lediglich eine Tendenz ($p = 0,058$) für den Altersverlauf mit der Friedmann-Varianzanalyse für den Parameter „Eintritte in die offenen Arme in % der Gesamteintritte“, jedoch für keinen der anderen Parameter. Eine Erklärung für diese Befunde könnten mögliche kognitive Defekte bei den DYT1-Mäusen sein. Da in den verschiedenen Altersstufen dieselben Mäuse eingesetzt wurden, wäre es möglich, dass die Kontrolltiere sich an die Versuchsbedingungen habituierten und die altersabhängige Reduktion aller Parameter durch ein geringeres Explorationsverhalten begründet ist. Die transgenen Tiere müssten hingegen bei einem kognitiven Defekt und einem reduzierten Lernprozess die Apparatur in jeder

Altersstufe neu erkunden. Ein reduziertes motorisches Lernen wurde im Rotarod Test in anderen DYT1-Mausmodellen gefunden (Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005). Allerdings sprechen die Ergebnisse des Rotarod Tests sowie die Untersuchungen im Open Fields bzw. im Activity cage (s.o.) in unseren Untersuchungen gegen eine geringere Habituation und einen kognitiven Defekt bei den hier untersuchten DYT1-Mäusen. Auch Untersuchungsergebnisse von DYT1-Patienten sprechen gegen einen ursächlichen Zusammenhang des Gendefekts mit kognitiven Störungen (Balas et al., 2006).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Untersuchungen an unbehandelten Mäusen keinen entsprechenden dystonen Phänotyp bei den DYT1-Mäusen von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) erkennen ließen. Dies bedeutet, dass die „face validity“ in diesem Tiermodell bei unbehandelten DYT1-Mäusen nicht gegeben ist. Außerdem ist die „reliability“ als phänotypisches Tiermodell wie oben beschrieben nicht gegeben, was allein aus tierschutzrechtlichen Gründen dazu führen sollte, dass dieses Tiermodell nicht als phänotypisches Tiermodell für die präklinische Arzneimittelforschung eingesetzt werden sollte.

5.2.2. Pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems

Da bei unbehandelten Tieren in der vorliegenden Arbeit keine „face validity“ nachgewiesen werden konnte, sollte untersucht werden, ob bei den DYT1-Mäusen dystone Bewegungsstörungen durch pharmakologische Manipulationen des dopaminergen Systems ausgelöst werden können.

Die akute i.p. Applikation von *100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa* bewirkte bei beiden Tiergruppen in allen Altersstufen einen Abfall der lokomotorischen Aktivität. Diese Beobachtung deckt sich mit Ergebnissen von Quinn et al. (2006) bei C57Bl/6J Mäusen, bei denen eine dosisabhängige Abnahme (50, 100 und 200 mg/kg) der Aktivität auftrat. Außerdem zeigten diese Mäuse eine Akinesie. Eine hochgradige Hypolokomotion war auch bei den Mäusen in der vorliegenden Arbeit zu sehen (s. 4.3.1.1.), auch wenn nur im 9. und 12. LM bei den Kontrolltieren und im 12. LM bei den DYT1-Mäusen im Block-Test eine Katalepsie bestätigt werden konnte. Über diese hochgradige Hypolokomotion lässt sich der Ausfall bzw. die Beeinträchtigung des Stellungs- und Haltungsreflexes bei einigen Mäusen sowie die schlechte Rotarod-Performanz nach L-DOPA-Applikation erklären. Die verkürzte Schrittlänge, die im 6., 9. und 12. LM bei den Kontrolltieren sowie im 9. LM bei den transgenen Tieren nach Substanzapplikation auftrat, deutet wie oben erwähnt auf eine geringe Ataxie hin (Dunnett et al., 2003). Allerdings spricht der gleichzeitig verkleinerte Abstand

zwischen den Hinterpfoten bei den Kontrolltieren in den gleichen Altersstufen nach der Substanzapplikation gegen eine Ataxie, da dieser bei einer Ataxie größer wird (Dunnett et al., 2003). Die Griffstärke war durch die Substanzapplikation nicht beeinflusst. Diese an sich gleichen Effekte in beiden Tiergruppen zeigten, dass die DYT1-Mäuse und Kontrolltiere vergleichbar auf die Substanzgabe reagierten. In keinem der durchgeführten Tests konnten Unterschiede im Altersverlauf nachgewiesen werden, mit Ausnahme des Abstandes zwischen Vorder- und Hinterpfote der linken Körperseite bei den Kontrolltieren. Allerdings gab es widersprüchliche Veränderungen, so nahm die Differenz zwischen Substanz- und Vehikelapplikation einerseits zu und andererseits ab. Da kein anderer Parameter des Footprint Tests Veränderungen im Altersverlauf aufwies, ist dies nicht aussagekräftig.

Die substanzbehandelten Tiere zeigten einen Anstieg des „Dystonie“-Scores, der in der Dosierung von 100 mg/kg L-DOPA stärker ausgeprägt war als nach Applikation von 25 mg/kg. Die bei einzelnen DYT1-Mäusen gesehene Kußhandstellung war nur im Ruhezustand zu sehen. Sobald sich die Tiere bewegten, fußten sie normal, weshalb dabei nicht von einer dystonen Bewegung ausgegangen wird. Auch bei einem anderen Modell für eine generalisierte Dystonie, dem *dt^{sz}*-Hamster, wirkte L-DOPA prodyston (Löscher und Fredow, 1992). Allerdings zeigten in der vorliegenden Arbeit auch die Kontrollmäuse diesen Anstieg „Dystonie-ähnlicher“ Bewegungen. Zwischen den Tiergruppen gab es keinen signifikanten Unterschied und die Bewegungen traten auch vereinzelt bei vehikelbehandelten Kontrolltieren auf. Dies spricht gegen die von Shashidharan et al. (2005) vorgeschlagene Deutung dieser Bewegungen als Dystonie bei den DYT1-Mäusen.

Da TorsinA Einfluss auf die Monoamin-Transporter DAT und VMAT hat (Torres et al., 2004), sollte der Vermutung nachgegangen werden, ob hierdurch die DYT1-Mäuse eine höhere Sensitivität auf eine Hemmung der Wiederaufnahme von DA zeigen. Hierzu wurde GBR 12935, ein selektiver Dopamin-Wiederaufnahmehemmer eingesetzt. In beiden Tiergruppen erhöhte sich die lokomotorische Aktivität in allen Altersstufen nach Applikation von 15 mg/kg GBR 12935. Dies entspricht auch Beobachtungen bei Ratten (Zhu et al., 2004). Die Griffstärke und die Rotarod-Performanz wurden hingegen durch die Substanzapplikation nicht beeinflusst. Auch im „Dystonie“-Score zeigten sich weder durch die Applikation von 15 mg/kg noch durch 45 mg/kg Unterschiede zwischen den beiden Tiergruppen oder im Altersverlauf. Dies lässt die Vermutung zu, dass ΔE -TorsinA *in vivo* bei den DYT1-Mäusen keine Veränderung des DAT mit Funktionsbeeinträchtigung zur Folge hat. Ebenfalls gegen ein unterschiedliches Ansprechen auf die Hemmung der Wiederaufnahme von DA spricht, dass bei beiden Tiergruppen in vergleichbarem Maße eine erhöhte Aktivität sowie vermehrtes

Schnüffeln nach Applikation von 15 mg/kg GBR 12935 zu beobachten waren. Im *dt^{sz}*-Hamster, einem Modell für die PDC, zeigte sich nach Applikation eines Dopamin-Wiederaufnahmehemmers ein deutlich prodystoner Effekt (Nobrega et al., 1999).

Amphetamin erhöht den extrazellulären Dopaminspiegel, indem es den vesikulären Dopaminspeicher entleert, die Wiederaufnahme hemmt sowie den Abbau verzögert (Göthert et al., 2005). Dabei löst die Wirkung auf den N. accumbens eine erhöhte lokomotorische Aktivität aus, während die Wirkung im Striatum für das Auftreten von stereotypen Verhaltensweisen verantwortlich ist (Sharp et al., 1987). Als stereotype Verhaltensweisen sind bei Ratten Schnüffeln, Aufrichten, webende Kopfbewegungen und stereotype Maulbewegungen beschrieben (Salmi et al., 1998; Seiden et al., 1993). Nach Applikation von 5 bzw. 10 mg/kg Amphetamin zeigten sich keine Unterschiede im Auftreten der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen im Vergleich der DYT1-Mäuse zu den Kontrolltieren. Im Gegensatz dazu zeigte sich im Modell für die PDC, dem *dt^{sz}*-Hamster, ein deutlich prodystoner Effekt ab einer Dosierung von 5 mg/kg (Rehders et al., 2000). Dies könnte mit unterschiedlichen Pathomechanismen, die den verschiedenen Dystonieformen vermutlich zugrunde liegen, erklärt werden. Interessanterweise wurde im DYT1-Mausmodell von Sharma und Mitarbeitern (2005) nachgewiesen, dass die durch Amphetamin induzierte Dopaminausschüttung bei transgenen Tieren im Vergleich zu Kontrolltieren verringert war (Balcioglu et al., 2007). Wenn diese Dopaminausschüttung aufgrund des mutierten TorsinA verringert wäre, könnte man vermuten, dass dies auch bei den in dieser Arbeit verwendeten DYT1-Mäusen von Shashidharan et al. (2005) der Fall ist. Nachgewiesenermaßen ist bei den DYT1-Mäusen von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) die Dopaminausschüttung nach Stimulation des Striatums in phänotypisch auffälligen Mäusen geringer als bei Kontrolltieren (Bao et al., 2006). Eventuell ist eine verminderte Dopaminausschüttung bei den DYT1-Mäusen dafür ausschlaggebend, dass es zu keiner Ausprägung von „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen nach Applikation von Amphetamin kam. Da die stereotypen Verhaltensweisen Sniffing und Licking sowie eine erhöhte lokomotorische Aktivität bei beiden Tiergruppen in vergleichbarem Maße auftraten, ist allerdings nicht davon auszugehen, dass die DYT1-Mäuse eine erhöhte oder erniedrigte Empfindlichkeit gegenüber Amphetamin aufweisen.

Die bisher beschriebenen Substanzen haben über Veränderungen extrazellulärer Dopaminspiegel eine Wirkung auf verschiedene Dopaminrezeptortypen. Da allerdings davon ausgegangen wird, dass die D₁- und D₂-Rezeptoren mit ihrem Einfluss auf den direkten bzw. indirekten Weg innerhalb der Basalganglien an der Pathophysiologie der Dystonie beteiligt sind, sollte die spezifische Wirkung bei Manipulation der einzelnen Rezeptoren untersucht

werden. Hierzu wurden selektive D₁- bzw. D₂-Agonisten und -Antagonisten eingesetzt.

Die selektive Beeinflussung des D₁-Rezeptors mit dem Agonisten *A 68930* in Dosierungen von 1 und 2 mg/kg und dem Antagonisten *SCH 39166* in Dosierungen von 0,3 und 0,6 mg/kg zeigte keinen Einfluss auf die Ausprägung des „Dystonie“-Scores bei den DYT1-Mäusen. Die D₁-Rezeptoren wurden bisher nur im DYT1-Mausmodell von Sharma und Mitarbeitern (2005) untersucht, wobei keine Unterschiede in der Bindung an die Rezeptoren im Vergleich zwischen den transgenen Tieren und den Kontrolltieren gefunden wurden (Balcioglu et al., 2007). Bei DYT1-Patienten wurde allerdings eine verminderte Bindung an den D₁-Rezeptoren nachgewiesen (Augood et al., 2002). Diese Studie bezieht sich allerdings auf Messungen an lediglich 3 Gehirnen von DYT1-Patienten und weitere Studien fehlen. Bei den hier untersuchten DYT1-Mäusen kann bislang eine reduzierte D₁-Rezeptorbindung nicht ausgeschlossen werden. Eine verminderte Rezeptorbindung kann zum einen auf eine verminderte Affinität, zum anderen aber auch auf eine geringere Dichte hinweisen. Allerdings wäre es bei einer reduzierten D₁-Rezeptordichte nach Applikation des D₁-Antagonisten vermutlich zu einer völligen Blockierung der Rezeptoren gekommen. In einem transgenen Mausmodell, in dem ein Verlust von D₁-Rezeptoren ausgelöst wurde, sind „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen im Tail-suspension Test beschrieben worden, die den von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen der hier untersuchten Mäuse gleichen (Gantois et al., 2007). Daher hätte man vermutet, dass eine vollständige Blockade der Rezeptoren zu einer Verschlimmerung dieser „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen in den hier untersuchten transgenen Mäusen führen würde. Wenn allerdings eine verminderte Affinität vorläge, so könnte dies den ausbleibenden Effekt des Antagonisten erklären. Die Krämpfe, die in beiden Tiergruppen bei einer Dosierung von 2 mg/kg *A 68930* i.p. aufgetreten sind, wurden zuvor schon bei Ratten (DeNinno et al., 1991) und Mäusen (O'Sullivan et al., 2005) beschrieben. Da sowohl DYT1- als auch Kontrolltiere diese Krämpfe in gleichem Ausmaß zeigten, ist nicht von einer verminderten D₁-Rezeptorbindung bei den transgenen Mäusen auszugehen. O'Sullivan und Mitarbeiter (2005) haben in einer Studie nachgewiesen, dass diese Krämpfe nicht durch Bindung am D₅-Rezeptor zustande kommen. Auch die anderen bewerteten Parameter (Sniffing, Straub tail, Grooming, Aktivität und Katalepsie) wiesen keine Unterschiede zwischen den Genotypen auf, was ebenfalls dafür spricht, dass beide Tiergruppen gleich auf die applizierten Substanzen ansprachen. Somit liegen vermutlich keine Veränderungen der D₁-Rezeptoren bei den DYT1-Mäusen vor.

Es wird angenommen, dass eine Enthemmung des THA mit nachfolgender Aktivierung kortikaler Felder bei der Entstehung der Dystonie eine Rolle spielt (Hallett, 1993). Dies ist

z.B. durch verstärkte Aktivierung des striato-pallidalen Weges über D₂-Rezeptoren möglich, da diese einen hemmenden Einfluss auf die GABA-Transmission im Projektionsgebiet haben. Die daraus resultierende Aktivierung pallidaler Neurone führt dann zu einer vermehrten Hemmung des STN. Dadurch ist die aktivierende Wirkung auf die Basalganglienausgangsstrukturen verringert und der THA wird in geringerem Maße inhibiert, wodurch es zu einer verstärkten Aktivierung kortikaler motorischer Felder kommt (Wichmann und DeLong, 1996). Es wäre also davon auszugehen, dass D₂-Agonisten über diesen Weg einen prodystonen Effekt aufweisen, wie dies in einem anderen Dystoniemodell, dem *dt^{sz}*-Hamster, auch nachgewiesen wurde (Rehders et al., 2000). Der D₂-Rezeptoragonist Quinpirol wurde in einer Dosierung von 1 und 5 mg/kg appliziert und führte in beiden Tiergruppen zu einer tendenziellen Erhöhung des „Dystonie“-Scores, wobei es vermutlich auf die geringe Tierzahl (n = 5) zurückzuführen ist, dass es nicht zu einer signifikanten Erhöhung kam. Diese Ergebnisse sollten daher Anlass zu weiteren Untersuchungen in größeren Tiergruppen und Ergänzungen weiterer Dosierungen geben. Im Gegensatz zum Agonisten würde ein Antagonist eine erhöhte Aktivität der Projektionsneurone zur Folge haben. Dadurch würde es zu einer erhöhten Inhibition des GPe und damit zu einer verminderten Inhibition des STN kommen. Die Basalganglienausgangsstrukturen wären vermehrt erregt, in der Folge der THA stärker gehemmt und dadurch die kortikalen Felder weniger aktiviert (Wichmann und DeLong, 1996), was nach heutiger Auffassung einen antidystonen Effekt zur Folge hätte. Der D₂-Rezeptor Antagonist Racloprid zeigte nach Applikation von 0,5 bzw. 3 mg/kg in der vorliegenden Arbeit keinen Effekt auf den „Dystonie“-Score. Für Racloprid ist beschrieben, dass es in Dosierungen von 0,01-2,5 mg bei der Ratte vor allem auf präsynaptische D₂-Autorezeptoren wirkt, was eine dosisabhängige Erhöhung der Dopaminfreisetzung zur Folge hat (Andersson et al., 1995). Im *dt^{sz}*-Hamster führte dies vermutlich dazu, dass es bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg i.p. zu einem prodystonen Effekt kam, wohingegen Dosierungen von 1 und 5 mg/kg eher zu leicht antidystonen Effekten führten (Rehders et al., 2000). Dies wäre auch für die in dieser Arbeit gewählten Dosierungen bei den DYT1-Mäusen denkbar gewesen, wurde durch die Ergebnisse allerdings nicht bestätigt. Da für DYT1-Genträger eine verminderte D₂-Bindung nachgewiesen wurde (Asanuma et al., 2005; Augood et al., 2004), könnte dies auch bei den DYT1-Mäusen der Fall sein und somit erklärt werden, warum es bei den DYT1-Mäusen zu keiner Veränderung der Bewegungen kam. Allerdings beziehen sich diese Studien auf Messungen an nur wenigen Gehirnen und für die DRD wurden erhöhte D₂-Rezeptorbindungen beschrieben (Breakefield et al., 2008). In einem anderen DYT1-Mausmodell von Sharma und Mitarbeitern (2005) wurde allerdings der Nachweis erbracht,

dass es in diesem Modell keine Unterschiede in der Bindung an Dopaminrezeptoren gibt (Balcioglu et al., 2007). Dennoch ist zu betonen, dass die transgenen Tiere nach Applikation von 5 mg/kg Quinpirol und 3 mg/kg Racloprid sogar eine stärkere Hypolokomotion als die Kontrolliere zeigten. Daher ist erstmal nicht von einer verminderten Bindung an die D₂-Rezeptoren bei den DYT1-Mäusen auszugehen. Die Ausprägung einer Hypolokomotion nach Applikation dieser Substanzen deckt sich mit Angaben aus der Literatur (Hillegaart und Ahlenius, 1987). Die Ergebnisse der pharmakologischen Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit erlauben insgesamt aber keine eindeutige Aussage bezüglich der pathophysiologischen Bedeutung der Dopaminrezeptoren, zumal nur ein enges Spektrum an Dosierungen getestet wurde. Wie oben erwähnt, sollten weiterführende Untersuchungen von D₂-Liganden nähere Aufschlüsse geben.

Besonderes Augenmerk wurde bei allen applizierten Substanzen auf die Ausprägung der von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen und als „Dystonie-ähnliche“ Störungen interpretierten Bewegungen bei den Mäusen gelegt. Da in den hier durchgeführten Untersuchungen diese Bewegungen auch bei vehikelbehandelten Kontrollmäusen beobachtet werden konnten, ist die Interpretation als Dystonie höchst zweifelhaft. Klammernde Bewegungen der Hintergliedmaßen (sog. hindlimb clasping) beim Anheben von Mäusen am Schwanz sind bei Mäusen mit Kleinhirnläsionen (Lalonde, 1987a, 1987b), in Mausmodellen für Morbus Huntington (Auerbach et al., 2001), in spasmodischen Mäusen (Buckwalter et al., 1993) und einem Mausmodell der Tay-Sachs Erkrankung (Miklyaeva et al., 2004) beschrieben. Da diese Bewegungen allgemein in Mäusen mit verschiedensten neurologischen Störungen auftreten (Zhao et al., 2008a), bei denen unterschiedliche Gehirnregionen und verschiedene Neurotransmittersysteme involviert sind, kann ein kausaler Zusammenhang mit einer spezifischen Störung bislang nicht festgestellt werden. Bisher werden diese Bewegungen in den verschiedenen Publikationen häufig als typisch für die jeweilige Erkrankung beschrieben, ohne dass sich beim Vergleich der Beschreibungen für den außenstehenden Betrachter Unterschiede in den Bildern zeigen. Leider gibt es bisher keine Untersuchungen, die allein diese Bewegungen charakterisieren und den Grund für deren Auftreten genauer definieren. Obwohl die „hindlimb clasplings“ vermutlich zentral verursacht sind, sollten sie nicht als „Dystonie“ interpretiert werden. Das Auftreten der Bewegungen bei den hier verwendeten Kontrolltieren war besonders unter Substanzapplikationen und bei ausgeprägter Hypolokomotion sichtbar, so dass vermutet werden kann, dass die Wirkung auf das dopaminerge System für das Auftreten dieser Bewegungen eine besondere Rolle spielte.

Nachdem die akute Applikation von Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten im dopaminergen System keine Unterschiede zwischen den DYT1-Mäusen und den Kontrolltieren ergaben, sollte mittels täglicher Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa über 20 Tage untersucht werden, ob durch diese chronische Manipulation des dopaminergen Systems bei den DYT1-Mäusen ein eindeutiger dystoner Phänotyp auslösbar ist.

Der hierbei ermittelte Anstieg des „Dystonie“-Scores bei den DYT1-Mäusen während der 20-tägigen Applikation von L-DOPA ähnelt dem Anstieg der AIMs im Mausmodell für die L-DOPA induzierte Dyskinesie von Lundblad und Mitarbeitern (2005). Im Gegensatz dazu stehen die Befunde von Patienten mit DRD, bei der es zu einer Verbesserung der Symptomatik nach Applikation von L-DOPA kommt. Auch eine chronische Verabreichung dieser Substanz bei Patienten mit DRD führt, im Gegensatz zu Parkinson-Patienten, nicht zum Auftreten von Dyskinesien (Nygaard, 1995). Bei anderen idiopathischen Dystonien kommt es in wenigen Fällen ebenfalls zu einer Verbesserung der Symptomatik (s. 2.1.4.). Eine Erklärung für diese Unterschiede zwischen Parkinson- und DRD-Patienten gibt es bisher nicht. Bei beiden Erkrankungen liegt ein Dopaminmangel vor. Bei der Parkinson'schen Krankheit tritt dieser aufgrund eines Neuronenuntergangs auf, bei der DRD aufgrund einer fehlenden Dopaminsynthese. Diskutiert wird, ob Altersunterschiede im physiologischen Signalweg der Basalganglien zum unterschiedlichen Ansprechen auf die Gabe von L-DOPA führen, denn häufiger entwickeln sich Dyskinesien bei Parkinson-Patienten mit frühem Erkrankungsbeginn vor dem 20. Lebensjahr (Furukawa und Kish, 1999). Ein erniedrigter Dopaminspiegel wurde von Shashidharan et al. (2005) auch für die hier untersuchten DYT1-Mäuse nachgewiesen.

In einem Versuch in dem verschiedene Metaboliten von DA direkt ins Gehirn appliziert wurden, konnte festgestellt werden, dass die Metabolite 3-Methoxytyramin sowie DOPAC selbst Einfluss auf stereotype Verhaltensweisen sowie die lokomotorische Aktivität ausüben können (Nakazato und Akiyama, 2002). Allerdings sind hierfür sehr hohe Konzentrationen notwendig, die physiologischerweise nicht erreicht werden. Nachgewiesenermaßen kommt es aber nach chronischer Applikation von L-DOPA zu einer erhöhten Konzentration dieser Metaboliten (Pycock et al., 1982). In den hier untersuchten Kontrollmäusen war eine Erhöhung dieser Metaboliten aber vermutlich nicht ausreichend, um einen entsprechenden Effekt auf die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen auszulösen. Bei den DYT1-Mäusen von Sharma und Mitarbeitern (2005) wurde schon bei unbehandelten Tieren ein erhöhter Dopaminumsatz festgestellt, der auch bei DYT1-Patienten nachgewiesen wurde (Augood et

al., 2004). Wenn nun die chronische exogene Zugabe von L-DOPA mit dem erhöhten Dopaminumsatz bei den DYT1-Mäusen zusammenfällt, könnten die Konzentrationen dieser Metaboliten kritisch erhöht gewesen sein, so dass bei diesen Tieren „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen aufgetreten sind. Dieser Vermutung könnte man mittels Mikrodialyse bei den DYT1-Mäusen nachgehen. Gegen diese Vermutung spricht, dass Shashidharan et al. (2005) ein erniedrigtes DOPAC/DA-Verhältnis (verminderter Dopaminumsatz) im Hirnhomogenat von DYT1-Mäusen nachgewiesen haben. Mittels Mikrodialyse könnten jedoch andere Ergebnisse auftreten, da hierbei im Gegensatz zum Hirnhomogenat nur die extrazellulären Gehalte bestimmt werden. Außerdem wurde bei diesen Untersuchungen 3-Methoxytyramin nicht untersucht. Eine Untersuchung dieses Metaboliten wäre für den Ausschluss dieser Hypothese interessant.

Ein weiterer interessanter Aspekt könnte die erhöhte Konzentration von Noradrenalin bei chronischer Applikation von L-DOPA darstellen (Pycock et al., 1982). Bei Patienten mit idiopathischer Dystonie sowie im *dt^{sz}*-Hamster wurden erhöhte Noradrenalkonzentrationen ermittelt, die bei der Entstehung der Dystonie eine Rolle spielen könnten (Richter und Löscher, 1998). Sollte diese Erhöhung bei DYT1-Mäusen durch die langfristige L-DOPA-Applikation hervorgerufen werden, so wäre dies eine Erklärung für die stärkere Ausprägung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen. Dieser Vermutung könnte mittels Messung der Noradrenalkonzentration im Gehirn von DYT1-Mäusen nachgegangen werden.

Auch das cholinerge System könnte bei der Verschlimmerung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen eine Rolle spielen. Im Mausmodell von Sharma und Mitarbeitern (2005) wurde eine erhöhte Aktivität cholinergischer Interneurone nach Applikation des D₂-Agonisten Quinpirol nachgewiesen (Pisani et al., 2006). Dies ist erstaunlich, da bei gesunden Individuen die Aktivierung von D₂-Rezeptoren normalerweise zu einer Hemmung cholinergischer Interneurone führt (Löscher und Fredow, 1992; Pisani et al., 2006). Interessanterweise hatte die Applikation sowohl cholinergischer Substanzen als auch des D₂-Agonisten Quinpirol in einem anderen Dystoniemodell, dem *dt^{sz}*-Hamster, einen deutlich prodystonen Effekt zur Folge (Löscher und Fredow, 1992; Rehders et al., 2000). Zwar hatte die akute Gabe von Quinpirol in dem hier untersuchten Mausmodell keinen signifikanten Effekt auf die „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen und es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den transgenen und den Kontrolltieren. Einer tendenziellen Zunahme sollte jedoch durch ergänzende Untersuchungen nachgegangen werden (s.o.). Allerdings könnte die chronische L-DOPA-Applikation über einen erhöhten D₂-Tonus bei den DYT1-Mäusen zu einer länger andauernden erhöhten Aktivität der cholinergen Interneurone führen und somit zu einer

Verschlimmerung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen beitragen. Leider gibt es bislang keine Untersuchungen über die pathophysiologische Bedeutung des cholinergen Systems bei DYT1-Patienten (Pisani et al., 2006). Allerdings werden anticholinerge Substanzen erfolgreich in der Therapie eingesetzt, auch wenn ihr Einsatz durch Nebenwirkungen begrenzt ist (Jankovic, 2006). Um diese Vermutung weiter abzuklären, sollte das cholinerge System bei den DYT1-Mäusen weiter untersucht werden.

5.3. Schlussbetrachtungen

Die Mutation im DYT1-Gen wird als genetische Grundlage für das Auftreten der Early-onset-Torsionsdystonie angesehen (Ozelius et al., 1997). Verschiedene Mausmodelle, in die dieser Gendefekt eingebracht wurde, sind nach der Entdeckung der Mutation entwickelt und als Tiermodell für die Early-onset-Torsionsdystonie vorgeschlagen worden (Dang et al., 2005; Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005; Shashidharan et al., 2005). Ein ideales Tiermodell für eine Erkrankung des Menschen sollte eine hohe Vorhersagevalidität für die klinische Wirksamkeit von möglichen Therapeutika aufweisen („predictive validity“). Dies kann jedoch nur gewährleistet werden, wenn im Modell eine dem Patienten vergleichbare klinische Symptomatik ausgeprägt ist („face validity“), die nach Möglichkeit durch vergleichbare pathophysiologische Mechanismen bedingt sein sollte („construct validity“).

Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurde eine Linie transgener Mäuse ausgewählt, die aufgrund der initialen Beschreibungen von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) „Dystonie-ähnliche“ Bewegungen aufwies und hiermit das Kriterium der „face validity“ zu erfüllen schien. Es zeigte sich jedoch in den hier durchgeführten altersabhängigen Studien unbehandelter Mäuse, dass diese keinen eindeutigen dystonen Phänotypen aufweisen und damit das Kriterium der „face validity“ als wichtige Voraussetzung für einen Einsatz in der präklinischen Arzneimittelforschung nicht erfüllen.

Aufgrund des Einbaus des humanen Defektgens sollte das Kriterium der „construct validity“ zumindest teilweise als erfüllt gelten. Erstaunlicherweise führt dies allein aber nicht zu einer klinischen Ausprägung der Erkrankung in den DYT1-Mäusen. Allgemein muss bei transgenen Tiermodellen immer bedacht werden, dass ein humanes Gen in einem tierischen Organismus nicht unbedingt die gleichen Symptome verursachen muss, die es beim Menschen auslöst. Außerdem bedeutet die häufig vorhandene Überexpression der Gene Stress für den gesamten Organismus, was wiederum zu Störungen in anderen physiologischen Abläufen führen kann. Durch die Verwendung von anderen als den physiologischen Promotoren kann es außerdem zur Genexpression in nicht physiologischen Geweben kommen

(Dang et al., 2005). Dazu kommt, dass in transgenen Tieren häufig das tierische gesunde neben dem menschlichen kranken Gen vorliegt, wie es in dem in dieser Arbeit untersuchten Tiermodell der Fall ist. Auf diese Weise kann es dazu kommen, dass die Funktion des humanen Defektgens durch das noch vorhandene gesunde Gen des Tieres übernommen wird und somit keine Symptomatik auftritt. Diesem Punkt kann man eventuell dadurch entgegenwirken, dass man homologe Sequenzen direkt im tierischen Genom verändert, so wie es von Dang und Mitarbeitern (2005) in einem DYT1-Mausmodell durchgeführt wurde. Aber auch hierbei stellt sich die Frage, ob die Veränderung der homologen Sequenz auch tatsächlich zu den gleichen Veränderungen in dieser Spezies führt. So zeigt auch das Mausmodell von Dang et al. (2005) keinen eindeutigen dystonen Phänotyp. Insgesamt verdeutlichen diese Daten, dass transgene Tiermodelle genau charakterisiert werden müssen, bevor sie als Modell für eine humane Erkrankung herangezogen werden können.

Trotz seiner fehlenden „face validity“ könnte das in dieser Arbeit untersuchte Tiermodell jedoch in Zukunft von großem Nutzen sein, um die Pathophysiologie der Early-onset-Torsionsdystonie aufzudecken. Hierbei sind vor allem die auslösenden Mechanismen von Interesse, die die Erkrankung mit einer Penetranz von nur 30-40% unter den menschlichen Genträgern zur Ausprägung kommt (Bressman, 2006). Bisher existieren über die Ursachen hierfür nur Spekulationen. Würde durch weiterführende Untersuchungen an der DYT1-Maus eine Aufklärung von den auslösenden Faktoren, die zur Manifestation der Erkrankung führen, erfolgen, so könnten auf dieser Grundlage spezifische Therapien für die Early-onset-Torsionsdystonie entwickelt werden.

Obwohl Befunde bei DYT1-Patienten, vorangehende Untersuchungen in den DYT1-Mäusen und die Kenntnisse über die Funktion des Proteins TorsinA auf mögliche Störungen des dopaminergen Systems hingewiesen haben (Shashidharan et al., 2005; Wichmann, 2008), konnte die funktionelle Relevanz dopaminergischer Fehlfunktionen durch die *akute* Applikation dopaminergischer Substanzen in der DYT1-Maus nicht bestätigt werden. Eine Verschlimmerung bzw. Verbesserung der von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen durch pharmakologische Manipulation des dopaminergen Systems blieb aus. Interessanterweise wurden diese Bewegungen in den Substanzuntersuchungen aber auch von Kontrollmäusen gezeigt. Da sogar vehikelbehandelte Kontrolltiere, wenn auch nur in sehr geringer Ausprägung, diese Bewegungen zeigten, ist auszuschließen, dass diese eine Dystonie darstellen.

Die Befunde einer Zunahme der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen in transgenen Mäusen nach der *chronischen* Manipulation des dopaminergen Systems mittels 20-tägiger Applikation

von L-DOPA im Vergleich zu behandelten Kontrolltieren erhärten hingegen die Hinweise auf Fehlfunktionen des dopaminergen Systems in diesem Mausmodell (Shashidharan et al., 2005) und damit auf einen kausalen Zusammenhang zur DYT1-Mutation. Weitere histologische, neurochemische, elektrophysiologische und pharmakologische Untersuchungen sind jedoch dringend erforderlich, um dieser Annahme weiter nachzugehen. Diese Untersuchungen sollten auch andere, an der Pathophysiologie der Early-onset-Torsionsdystonie vermutlich beteiligte Neurotransmittersysteme wie das cholinerge und das noradrenerge System mit einbeziehen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Dystonien gehören zu den häufigsten Bewegungsstörungen des Menschen und sind charakterisiert durch unwillkürliche Muskelkontraktionen, die repetitive drehende Bewegungen verursachen. Die Early-onset-Torsionsdystonie ist gekennzeichnet durch eine Mutation des DYT1-Gens und stellt die häufigste genetische Form der Dystonie dar (Schmidt et al., 2008). Die Erkrankung beginnt zwischen dem 5. und 28. Lebensjahr, weist eine Penetranz von nur 30-40% unter den Genträgern auf und hat meist einen progressiven Verlauf (Bandmann und Müller, 2002; Bressman, 2006). Verschiedene Mausmodelle, in die dieser Gendefekt eingebracht wurde, sind als Modell für die Early-onset-Torsionsdystonie vorgeschlagen worden (Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005; Shashidharan et al., 2005). Allerdings beruhte die Charakterisierung der einzelnen DYT1-Mauslinien bisher auf wenigen Untersuchungen.

Die sog. „face validity“ (Vergleichbarkeit der Symptome beim Modell und beim Patienten) stellt ein wichtiges Kriterium zur Eignung eines Modells für präklinische Arzneimitteluntersuchungen dar. Erste Beschreibungen von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) ließen vermuten, dass die von ihnen generierten transgenen Mäuse eine dystone Symptomatik aufweisen. Daher wurde dieses Mausmodell in der vorliegenden Arbeit weiter charakterisiert. Zunächst wurden unbehandelte DYT1-Mäuse mittels verschiedener Tests zur Beurteilung der Motorik und des Angstverhaltens untersucht. Diese Tests wurden in verschiedenen Altersstufen durchgeführt, um eine mögliche Progression der Erkrankung erkennen und so eine bessere Aussage in Hinblick auf die „face validity“ treffen zu können. Entgegen der initialen Beschreibung von Shashidharan und Mitarbeitern (2005) machten die Ergebnisse dieser Untersuchungen jedoch deutlich, dass dieses Mausmodell keine eindeutige dystone Symptomatik aufweist.

Sowohl Befunde bei DYT1-Patienten als auch Ergebnisse vorangehender Untersuchungen und die Kenntnisse über die Funktion des Proteins TorsinA deuteten darauf hin, dass dem dopaminergen System eine kritische Rolle für die Manifestation von DYT1-Dystonien zukommt (Shashidharan et al., 2005; Wichmann, 2008). Einer möglichen funktionellen Relevanz dopaminerger Fehlfunktionen sollte in der vorliegenden Arbeit zunächst durch die *akute* intraperitoneale (i.p.) Applikation verschiedener dopaminerger Substanzen nachgegangen werden. Dabei sollten vor allem auf eine eventuelle Verschlimmerung bzw. Verbesserung der von Shashidharan et al. (2005) beschriebenen „Dystonie-ähnlichen“

Bewegungen geachtet werden. Zunächst wurde daher mit Hilfe des Dopamin-Vorläufers L-DOPA in einer Dosierung von 100 mg/kg in Kombination mit dem Decarboxylasehemmer Carbidopa in einer Dosierung von 10 mg/kg sowie des Dopamin-Wiederaufnahmehemmers GBR12935 in einer Dosierung von 15 mg/kg untersucht, ob es altersabhängige Unterschiede im Ansprechen auf diese Substanzen bzw. im Auftreten der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen gibt. Hierfür wurden verschiedene Verhaltenstests durchgeführt und zusätzlich ein Score-System zur Beurteilung der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen etabliert, um diese besser quantifizieren zu können. Nachdem in diesen Untersuchungen keine altersabhängigen Effekte auftraten, wurden die Effekte nach Applikation von 25 mg/kg L-DOPA, 45 mg/kg GBR 12935, 5 und 10 mg/kg Amphetamin (zur Erhöhung des Dopaminumsatzes), 1 und 2 mg/kg des selektiven D₁-Agonisten A 68930, 0,3 und 0,6 mg/kg des selektiven D₁-Antagonisten SCH 39166, 1 und 5 mg/kg des selektiven D₂-Agonisten Quinpirol sowie 0,5 und 3 mg/kg des selektiven D₂-Antagonisten Racloprid nur noch im Alter von 6 Monaten mit Hilfe des Score-Systems beurteilt.

Da diese akuten Applikationen keine abweichenden Effekte bei DYT1-Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren zeigten, die auf dopaminerge Fehlfunktionen hätten hinweisen können, wurde untersucht, ob eine längerfristige Manipulation des dopaminergen Systems zu Veränderungen der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen führt. Hierzu wurde L-DOPA in einer Dosierung von 25 mg/kg in Kombination mit 10 mg/kg Carbidopa *chronisch* über einen Zeitraum von 20 Tagen täglich i.p. appliziert. Im Gegensatz zur akuten Applikation erhärten die festgestellten Befunde die Hinweise auf Fehlfunktionen des dopaminergen Systems in diesem Mausmodell und damit auf einen kausalen Zusammenhang zur DYT1-Mutation. So zeigte sich eine Zunahme der „Dystonie-ähnlichen“ Bewegungen bei transgenen Mäusen, hingegen nicht bei den Kontrolltieren.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse einer fehlenden „face validity“ ist das in dieser Arbeit untersuchte DYT1-Mausmodell als nicht geeignet für die präklinische Arzneimittelforschung zu beurteilen. Trotzdem kann dieses Mausmodell eventuell nützliche Hinweise auf die Pathophysiologie der Erkrankung geben und dazu beitragen, auslösende Mechanismen für die Manifestation der Erkrankung aufzudecken.

7. SUMMARY

Nikola Lange

Behavioral and pharmacological investigations in a transgenic mouse model of early-onset torsion dystonia

Dystonia, one of the most common movement disorders, is characterized by involuntary muscle cocontractions, causing repetitive twisting movements. The early-onset torsion dystonia can be identified by a mutation of the DYT1 gene and represents the most common hereditary type of dystonia (Schmidt et al., 2008). This type of dystonia usually occurs between the 5th and the 28th year of age, has a penetrance of only 30-40% in gene carriers and tends to generalize (Bandmann und Müller, 2002; Bressman, 2006). After the detection of the mutation, different mouse lines which carry the human gene defect are recommended as models for the early-onset torsion dystonia (Grundmann et al., 2007; Sharma et al., 2005; Shashidharan et al., 2005). However, characterization of these models is based on only few analyses so far.

The “face validity” (comparable symptoms in model and patient) is an important criterion for the use of a model in the preclinical drug research. Initial descriptions by Shashidharan et al. (2005) led to the assumption that their transgenic mouse model shows “dystonic-like” postures. Therefore, we chose this mouse model for further characterization in this study. For this purpose, we firstly investigated untreated DYT1 mice with different tests for the evaluation of the motor activity and fear behavior. These investigations were done at different ages to recognize a possible progression of the disease and for a better prediction of the “face validity”. Contrary to the initial descriptions by Shashidharan et al. (2005) the results of these studies revealed that this mouse model does not exhibit a clear dystonic phenotype.

The results from DYT1 patients as well as the findings from previous studies in DYT1 mice and knowledge about the function of the protein TorsinA indicate that the dopaminergic system plays a critical role for the occurrence of DYT1 dystonia (Shashidharan et al., 2005; Wichmann, 2008). In order to determine the possible functional role of dopaminergic dysfunctions in DYT1 mice, different dopaminergic drugs were acutely applied intraperitoneally. Thereby, attention was paid to an exacerbation respectively an improvement of the “dystonic-like” postures initially described by Shashidharan et al. (2005). By the

application of the dopamine-precursor L-DOPA at a dosage of 100 mg/kg in combination with the decarboxylase inhibitor carbidopa (10 mg/kg) and of the dopamine reuptake inhibitor GBR 12935 at a dosage of 15 mg/kg at different ages, it was investigated if age-dependent differences in the side effects of these compounds respectively in the “dystonic-like” postures occur. For this purpose, we used several behavioral tests and additionally we established a score-system for the evaluation of “dystonic-like” postures to firstly quantify these postures and movements. Since age-related differences could not be observed in these investigations, the effects of 25 mg/kg L-DOPA, of 45 mg/kg GBR 12935, of 5 and 10 mg/kg amphetamine (to increase the dopamine turnover), of 1 and 2 mg/kg of the selective D₁-agonist A 68930, of 0.3 and 0.6 mg/kg of the selective D₁-antagonist SCH 39166, of 1 and 5 mg/kg of the selective D₂-agonist quinpirole as well as 0.5 and 3 mg/kg of the selective D₂-antagonist raclopride were only evaluated at an age of 6 month by using a score-system.

These acute applications of different dopaminergic substances did not reveal abnormal reactions in DYT1 mice in comparison to control mice and thus, did not indicate a functional relevance of a dopaminergic dysfunction in DYT1 mice. Therefore, it was determined if possible changes of the “dystonic-like” movements and postures could be provoked by chronic manipulations of the dopaminergic system. Consequently, L-DOPA was given at a dose of 25 mg/kg in combination with 10 mg/kg carbidopa i.p. once a day over a period of 20 days. In contrast to the acute application, L-DOPA enhanced the severity of "dystonic-like" movements in transgenic mice but not in L-DOPA treated control animals. This finding indicates that malfunction of the dopaminergic system is involved in this mouse model.

As shown by the results, the here examined DYT1 mouse model shows no „face validity“. Therefore this transgenic line is not suitable for the preclinical drug research. Nevertheless, this mouse model could probably give useful insights into the pathophysiology of the disease. This model can be helpful to identify trigger mechanisms for the manifestation of the disease.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Acri, J. B., Siedleck, B. K., und Witkin, J. M. (1996):

Effects of benztropine on behavioral and toxic effects of cocaine: comparison with atropine and the selective dopamine uptake inhibitor 1-[2-(diphenylmethoxy)ethyl]-4-(3-phenylpropyl)-piperazine.

J Pharmacol Exp Ther **277** (1). S. 198-206

Adler, C. H., Factor, S. A., Brin, M., und Sethi, K. D. (2002):

Secondary nonresponsiveness to botulinum toxin type A in patients with oromandibular dystonia.

Mov Disord **17** (1). S. 158-61

Adriani, W., und Laviola, G. (2002):

Spontaneous novelty seeking and amphetamine-induced conditioning and sensitization in adult mice: evidence of dissociation as a function of age at weaning.

Neuropsychopharmacology **27** (2). S. 225-36

Ammassari-Teule, M., Fagioli, S., und Rossi-Arnaud, C. (1994):

Radial maze performance and open-field behaviours in aged C57BL/6 mice: further evidence for preserved cognitive abilities during senescence.

Physiol Behav **55** (2). S. 341-5

Andersson, J. L., Nomikos, G. G., Marcus, M., Hertel, P., Mathe, J. M., und Svensson, T. H. (1995):

Ritanserin potentiates the stimulatory effects of raclopride on neuronal activity and dopamine release selectivity in the mesolimbic dopaminergic system.

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **352** (4). S. 374-85

Asanuma, K., Ma, Y., Okulski, J., Dhawan, V., Chaly, T., Carbon, M., Bressman, S. B., und Eidelberg, D. (2005):

Decreased striatal D2 receptor binding in non-manifesting carriers of the DYT1 dystonia mutation.

Neurology **64** (2). S. 347-9

Auerbach, W., Hurlbert, M. S., Hilditch-Maguire, P., Wadghiri, Y. Z., Wheeler, V. C., Cohen, S. I., Joyner, A. L., MacDonald, M. E., und Turnbull, D. H. (2001):

The HD mutation causes progressive lethal neurological disease in mice expressing reduced levels of huntingtin.

Hum Mol Genet **10** (22). S. 2515-23

Augood, S. J., Hollingsworth, Z., Albers, D. S., Yang, L., Leung, J., Breakefield, X. O., und Standaert, D. G. (2004):

Dopamine transmission in DYT1 dystonia.

Adv Neurol **94**. S. 53-60

Augood, S. J., Hollingsworth, Z., Albers, D. S., Yang, L., Leung, J. C., Muller, B., Klein, C., Breakefield, X. O., und Standaert, D. G. (2002):

Dopamine transmission in DYT1 dystonia: a biochemical and autoradiographical study.
Neurology **59** (3). S. 445-8

Augood, S. J., Martin, D. M., Ozelius, L. J., Breakefield, X. O., Penney, J. B., Jr., und Standaert, D. G. (1999):

Distribution of the mRNAs encoding torsinA and torsinB in the normal adult human brain.
Ann Neurol **46** (5). S. 761-9

Baird, A. L., Meldrum, A., und Dunnett, S. B. (2001):

The staircase test of skilled reaching in mice.
Brain Res Bull **54** (2). S. 243-50

Balas, M., Peretz, C., Badarny, S., Scott, R. B., und Giladi, N. (2006):

Neuropsychological profile of DYT1 dystonia.
Mov Disord **21** (12). S. 2073-7

Balcioglu, A., Kim, M. O., Sharma, N., Cha, J. H., Breakefield, X. O., und Standaert, D. G. (2007):

Dopamine release is impaired in a mouse model of DYT1 dystonia.
J Neurochem **102** (3). S. 783-8

Bandmann, O., und Müller, U. (2002):

Dystonie.
In: *Neurogenetik.* / O. Rieß und L. Schöls (Hrsg.).
Stuttgart ; Berlin ; Köln Kohlhammer. - S. 338-345.

Bao, L., Patle, J. C., Walker, R. H., Shashidharan, P., und Rice, M. E. (2006):

Alterations in striatal dopamine release in DYT1 mice: implications for early onset dystonia.
Altana. Neuroscience Meeting Planner. 78.8/JJ1

Barneoud, P., Mazadier, M., Miquet, J. M., Parmentier, S., Dubedat, P., Doble, A., und Boireau, A. (1996):

Neuroprotective effects of riluzole on a model of Parkinson's disease in the rat.
Neuroscience **74** (4). S. 971-83

Barnett, M. H., Jarman, P. R., Heales, S. J., und Bhatia, K. P. (2002):

Further case of paroxysmal exercise-induced dystonia and some insights into pathogenesis.
Mov Disord **17** (6). S. 1386-7

Berardelli, A., Rothwell, J. C., Hallett, M., Thompson, P. D., Manfredi, M., und Marsden, C. D. (1998):

The pathophysiology of primary dystonia.
Brain **121** (Pt 7). S. 1195-212

Bertrand, C. M., und Molina-Negro, P. (1988):

Selective peripheral denervation in 111 cases of spasmodic torticollis: rationale and results.
Adv Neurol **50**. S. 637-43

- Bessa, J. M., Oliveira, M., Cerqueira, J. J., Almeida, O. F., und Sousa, N. (2005):**
Age-related qualitative shift in emotional behaviour: paradoxical findings after re-exposure of rats in the elevated-plus maze.
Behav Brain Res **162** (1). S. 135-42
- Bohnen, N. I., Albin, R. L., Frey, K. A., und Fink, J. K. (1999):**
(+)-alpha-[11C]Dihydrotetrabenazine PET imaging in familial paroxysmal dystonic choreoathetosis.
Neurology **52** (5). S. 1067-9
- Bolivar, V. J., Caldarone, B. J., Reilly, A. A., und Flaherty, L. (2000):**
Habituation of activity in an open field: A survey of inbred strains and F1 hybrids.
Behav Genet **30** (4). S. 285-93
- Bragg, D. C., Slater, D. J., und Breakefield, X. O. (2004):**
TorsinA and early-onset torsion dystonia.
Adv Neurol **94**. S. 87-93
- Breakefield, X. O., Blood, A. J., Li, Y., Hallett, M., Hanson, P. I., und Standaert, D. G. (2008):**
The pathophysiological basis of dystonias.
Nat Rev Neurosci **9** (3). S. 222-34
- Bressman, S. (2006):**
Genetics of dystonia.
J Neural Transm Suppl(70). S. 489-95
- Bressman, S. B., Sabatti, C., Raymond, D., de Leon, D., Klein, C., Kramer, P. L., Brin, M. F., Fahn, S., Breakefield, X., Ozelius, L. J., und Risch, N. J. (2000):**
The DYT1 phenotype and guidelines for diagnostic testing.
Neurology **54** (9). S. 1746-52
- Buckwalter, M. S., Testa, C. M., Noebels, J. L., und Camper, S. A. (1993):**
Genetic mapping and evaluation of candidate genes for spasmodic, a neurological mouse mutation with abnormal startle response.
Genomics **17** (2). S. 279-86
- Callan, A. C., Bunning, S., Jones, O. T., High, S., und Swanton, E. (2007):**
Biosynthesis of the dystonia-associated AAA+ ATPase torsinA at the endoplasmic reticulum.
Biochem J **401** (2). S. 607-12
- Ceballos-Baumann, A. O. (1996):**
Dystonien.
In: Bewegungsstörungen in der Neurologie. / B. Conrad und A. O. Ceballos-Baumann (Hrsg.).
Stuttgart: Georg Thieme Verlag. - ISBN: 3-13-102391-0. - S. 89-140.

Ceballos-Baumann, A. O., Schwarz, M., Wessel, K., und Meyring, S. (2006):

Bewegungsstörungen.

In: Klinische Neurologie. / P. Berlit (Hrsg.).

Heidelberg: Springer-Verlag. - S. 880-893.

Chang, H. T., Rumbaiha, W. K., Patterson, J. S., Puschner, B., Knight, A., Goudreau, J., und Lookingland, K. J. (2008):

Revisiting the neuropathology of equine nigropallidal encephalomalacia: A novel animal model for environmental etiology of Parkinson disease?

In: Neuroscience.

Washington, Society of Neuroscience Meeting Planer. -.

Chiken, S., Shashidharan, P., und Nambu, A. (2008):

Cortically evoked long-lasting inhibition of pallidal neurons in a transgenic mouse model of dystonia.

J Neurosci **28** (51). S. 13967-77

Clark, D., und White, F. J. (1987):

D1 dopamine receptor--the search for a function: a critical evaluation of the D1/D2 dopamine receptor classification and its functional implications.

Synapse **1** (4). S. 347-88

Clemmons, R. M., Peters, R. I., und Meyers, K. M. (1980):

Scotty cramp: A Review of cause, characteristics, diagnosis and Treatment.

Comp. Cont. Educ. **II** (5). S. 385-390

Cooper, J. R., Bloom, F. E., und Roth, R. H. (1991):

The Biochemical Basis of Neuropharmacology.

New York, Oxford University Press.

Crawley, J. N. (1999a):

Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests.

Brain Res **835** (1). S. 18-26

Crawley, J. N. (1999b):

What's Wrong with my Mouse.

New York, Wiley-Liss.

Daly, S. A., und Waddington, J. L. (1992):

Two directions of dopamine D1/D2 receptor interaction in studies of behavioural regulation: a finding generic to four new, selective dopamine D1 receptor antagonists.

Eur J Pharmacol **213** (2). S. 251-8

Dang, M. T., Yokoi, F., McNaught, K. S., Jengelley, T. A., Jackson, T., Li, J., und Li, Y. (2005):

Generation and characterization of Dyt1 DeltaGAG knock-in mouse as a model for early-onset dystonia.

Exp Neurol **196** (2). S. 452-63

Darmani, N. A. (1998):

Cocaine and selective monoamine uptake blockers (sertraline, nisoxetine, and GBR 12935) prevent the d-fenfluramine-induced head-twitch response in mice.
Pharmacol Biochem Behav **60** (1). S. 83-90

De Repentigny, Y., Deschenes-Furry, J., Jasmin, B. J., und Kothary, R. (2003):

Impaired fast axonal transport in neurons of the sciatic nerves from dystonia musculorum mice.
J Neurochem **86** (3). S. 564-71

DeLong, M. R. (1990):

Primate models of movement disorders of basal ganglia origin.
Trends Neurosci **13** (7). S. 281-5

DeNinno, M. P., Schoenleber, R., MacKenzie, R., Britton, D. R., Asin, K. E., Briggs, C., Trugman, J. M., Ackerman, M., Artman, L., Bednarz, L., und et al. (1991):

A68930: a potent agonist selective for the dopamine D1 receptor.
Eur J Pharmacol **199** (2). S. 209-19

Deveney, A. M., und Waddington, J. L. (1997):

Psychopharmacological distinction between novel full-efficacy "D1-like" dopamine receptor agonists.
Pharmacol Biochem Behav **58** (2). S. 551-8

Duchen, L. W., Strich, S. J., und Falconer, D. S. (1964):

Clinical and Pathological Studies of an Hereditary Neuropathy in Mice (Dystonia Musculorum).
Brain **87**. S. 367-78

Dunnett, S. B., Pask, T., Brooks, S., und Bensadoun, J.-C. (2003):

Assessment of Motor Impairments in Transgenic Mice.
In: Mouse Behavioral Phenotyping. / J. N. Crawley (Hrsg.).
Washington, DC: Society for Neuroscience. - S. 1-55.

Eilam, D., Golani, I., und Szechtman, H. (1989):

D2-agonist quinpirole induces perseveration of routes and hyperactivity but no perseveration of movements.
Brain Res **490** (2). S. 255-67

Fahn, S. (1988):

Concept and classification of dystonia.
Adv Neurol **50**. S. 1-8

Fahn, S. (1995):

Medical treatment of Dystonia.
In: Handbook of Dystonia. / J. K. C. Tsui und D. B. Calne (Hrsg.).
New York: Marcel Decker. - S. 317-328.

Fernagut, P. O., Diguët, E., Labattu, B., und Tison, F. (2002):

A simple method to measure stride length as an index of nigrostriatal dysfunction in mice.
J Neurosci Methods **113** (2). S. 123-30

Fleming, S. M., Salcedo, J., Hutson, C. B., Rockenstein, E., Masliah, E., Levine, M. S., und Chesselet, M. F. (2006):

Behavioral effects of dopaminergic agonists in transgenic mice overexpressing human wildtype alpha-synuclein.
Neuroscience **142** (4). S. 1245-53

Ford, B., Greene, P., Louis, E. D., Petzinger, G., Bressman, S. B., Goodman, R., Brin, M. F., Sadiq, S., und Fahn, S. (1996):

Use of intrathecal baclofen in the treatment of patients with dystonia.
Arch Neurol **53** (12). S. 1241-6

Fricker, R. A., Annett, L. E., Torres, E. M., und Dunnett, S. B. (1996):

The placement of a striatal ibotenic acid lesion affects skilled forelimb use and the direction of drug-induced rotation.
Brain Res Bull **41** (6). S. 409-16

Furukawa, Y., und Kish, S. J. (1999):

Dopa-responsive dystonia: recent advances and remaining issues to be addressed.
Mov Disord **14** (5). S. 709-15

Gantois, I., Fang, K., Jiang, L., Babovic, D., Lawrence, A. J., Ferreri, V., Teper, Y., Jupp, B., Ziebell, J., Morganti-Kossmann, C. M., O'Brien, T. J., Nally, R., Schutz, G., Waddington, J., Egan, G. F., und Drago, J. (2007):

Ablation of D1 dopamine receptor-expressing cells generates mice with seizures, dystonia, hyperactivity, and impaired oral behavior.
Proc Natl Acad Sci U S A **104** (10). S. 4182-7

Gernert, M., Hamann, M., Bennay, M., Loscher, W., und Richter, A. (2000):

Deficit of striatal parvalbumin-reactive GABAergic interneurons and decreased basal ganglia output in a genetic rodent model of idiopathic paroxysmal dystonia.
J Neurosci **20** (18). S. 7052-8

Ghilardi, M. F., Carbon, M., Silvestri, G., Dhawan, V., Tagliati, M., Bressman, S., Ghez, C., und Eidelberg, D. (2003):

Impaired sequence learning in carriers of the DYT1 dystonia mutation.
Ann Neurol **54** (1). S. 102-9

Giles, L. M., Chen, J., Li, L., und Chin, L. S. (2008):

Dystonia-associated mutations cause premature degradation of torsinA protein and cell-type-specific mislocalization to the nuclear envelope.
Hum Mol Genet **17** (17). S. 2712-22

Goetz, C. G., Chmura, T. A., und Lanska, D. J. (2001):

History of dystonia: part 4 of the MDS-sponsored history of movement disorders exhibit, Barcelona, June, 2000.
Mov Disord **16** (2). S. 339-45

Goodchild, R. E., Kim, C. E., und Dauer, W. T. (2005):

Loss of the dystonia-associated protein torsinA selectively disrupts the neuronal nuclear envelope.

Neuron **48** (6). S. 923-32

Göthert, M., Bönisch, H., Schlicker, E., und Maier, W. (2005):

Psychopharmaka - Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen.

In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. / W. Forth, D. Henschler und W. Rummel (Hrsg.).

München: Elsevier GmbH. - S. 313-345.

Granata, A., Watson, R., Collinson, L. M., Schiavo, G., und Warner, T. T. (2008):

The dystonia-associated protein torsinA modulates synaptic vesicle recycling.

J Biol Chem **283** (12). S. 7568-79

Gronan, R. J. (1975):

Time and dose influences on the behavioral effects of L-DOPA and 5-hydroxytryptophan after inhibition of extracerebral decarboxylase.

Pharmacol Biochem Behav **3** (2). S. 161-6

Grundmann, K., Reischmann, B., Vanhoutte, G., Hubener, J., Teismann, P., Hauser, T. K., Bonin, M., Wilbertz, J., Horn, S., Nguyen, H. P., Kuhn, M., Chanarat, S., Wolburg, H., Van der Linden, A., und Riess, O. (2007):

Overexpression of human wildtype torsinA and human DeltaGAG torsinA in a transgenic mouse model causes phenotypic abnormalities.

Neurobiol Dis **27** (2). S. 190-206

Hahn, J., Kullmann, P. H., Horn, J. P., und Levitan, E. S. (2006):

D2 autoreceptors chronically enhance dopamine neuron pacemaker activity.

J Neurosci **26** (19). S. 5240-7

Hallett, M. (1993):

Physiology of basal ganglia disorders: an overview.

Can J Neurol Sci **20** (3). S. 177-83

Hallett, M. (1998a):

The neurophysiology of dystonia.

Arch Neurol **55** (5). S. 601-3

Hallett, M. (1998b):

Physiology of dystonia.

Adv Neurol **78**. S. 11-8

Hallett, M. (2006):

Pathophysiology of dystonia.

J Neural Transm Suppl(70). S. 485-8

Hamann, M., und Richter, A. (2004):

Effects of rubral microinjections of muscimol and bicuculline in a genetic animal model of paroxysmal dystonia.

Brain Res **1008** (1). S. 126-30

Heiman, G. A., Ottman, R., Saunders-Pullman, R. J., Ozelius, L. J., Risch, N. J., und Bressman, S. B. (2004):

Increased risk for recurrent major depression in DYT1 dystonia mutation carriers.

Neurology **63** (4). S. 631-7

Hewett, J., Gonzalez-Agosti, C., Slater, D., Ziefer, P., Li, S., Bergeron, D., Jacoby, D. J., Ozelius, L. J., Ramesh, V., und Breakefield, X. O. (2000):

Mutant torsinA, responsible for early-onset torsion dystonia, forms membrane inclusions in cultured neural cells.

Hum Mol Genet **9** (9). S. 1403-13

Hewett, J. W., Zeng, J., Niland, B. P., Bragg, D. C., und Breakefield, X. O. (2006):

Dystonia-causing mutant torsinA inhibits cell adhesion and neurite extension through interference with cytoskeletal dynamics.

Neurobiol Dis **22** (1). S. 98-111

Hillegaart, V., und Ahlenius, S. (1987):

Effects of raclopride on exploratory locomotor activity, treadmill locomotion, conditioned avoidance behaviour and catalepsy in rats: behavioural profile comparisons between raclopride, haloperidol and preclamol.

Pharmacol Toxicol **60** (5). S. 350-4

Horvitz, J. C., Williams, G., und Joy, R. (2001):

Time-dependent actions of D2 family agonist quinpirole on spontaneous behavior in the rat: dissociation between sniffing and locomotion.

Psychopharmacology (Berl) **154** (4). S. 350-5

Hutson, P. H., und Curzon, G. (1983):

Monitoring in vivo of transmitter metabolism by electrochemical methods.

Biochem J **211** (1). S. 1-12

Ikeda, M., Mikuni, M., Nishikawa, T., und Takahashi, K. (1989):

A neurochemical study of a new mutant mouse presenting myoclonus-like involuntary movement: a possible model of spontaneous serotonergic hyperactivity.

Brain Res **495** (2). S. 337-48

Ingram, D. K. (1988):

Motor performance variability during aging in rodents. Assessment of reliability and validity of individual differences.

Ann N Y Acad Sci **515**. S. 70-96

Iversen, L. (2006):

Neurotransmitter transporters and their impact on the development of psychopharmacology.

Br J Pharmacol **147 Suppl 1**. S. S82-8

Jaber, M., Robinson, S. W., Missale, C., und Caron, M. G. (1996):

Dopamine receptors and brain function.
Neuropharmacology **35** (11). S. 1503-19

Jabusch, H. C., Muller, S. V., und Altenmuller, E. (2004):

Anxiety in musicians with focal dystonia and those with chronic pain.
Mov Disord **19** (10). S. 1169-75

Jackson, D. M., Ross, S. B., und Edwards, S. R. (1989):

Dopamine D2 agonist-induced behavioural depression is reversed by dopamine D1 agonists.
J Neural Transm **75** (3). S. 213-20

Jankovic, J. (2006):

Treatment of dystonia.
Lancet Neurol **5** (10). S. 864-72

Jarman, P. R., Bhatia, K. P., Davie, C., Heales, S. J., Turjanski, N., Taylor-Robinson, S. D., Marsden, C. D., und Wood, N. W. (2000):

Paroxysmal dystonic choreoathetosis: clinical features and investigation of pathophysiology in a large family.
Mov Disord **15** (4). S. 648-57

Jinnah, H. A., und Hess, E. J. (2005):

Assessment of Movement Disorders in Rodents.
In: Animal Models of Movement Disorders. / M. LeDoux (Hrsg.).
Burlington: Elsevier Inc. - S. 55-72.

Jinnah, H. A., Hess, E. J., Ledoux, M. S., Sharma, N., Baxter, M. G., und DeLong, M. R. (2005):

Rodent models for dystonia research: characteristics, evaluation, and utility.
Mov Disord **20** (3). S. 283-92

Jinnah, H. A., Richter, A., Mink, J. W., Caldwell, G. A., Caldwell, K. A., Gonzalez-Alegre, P., Cookson, M. R., Breakefield, X. O., DeLong, M. R., und Hess, E. J. (2008):

Animal models for drug discovery in dystonia.
Expert Opinion on Drug Discovery **3** (1). S. 83-97

Jinnah, H. A., Sepkuty, J. P., Ho, T., Yitta, S., Drew, T., Rothstein, J. D., und Hess, E. J. (2000):

Calcium channel agonists and dystonia in the mouse.
Mov Disord **15** (3). S. 542-51

Jonkers, N., Sarre, S., Ebinger, G., und Michotte, Y. (2001):

Benserazide decreases central AADC activity, extracellular dopamine levels and levodopa decarboxylation in striatum of the rat.
J Neural Transm **108** (5). S. 559-70

Kamm, C., Boston, H., Hewett, J., Wilbur, J., Corey, D. P., Hanson, P. I., Ramesh, V., und Breakefield, X. O. (2004):

The early onset dystonia protein torsinA interacts with kinesin light chain 1.
J Biol Chem **279** (19). S. 19882-92

Karl, T., Pabst, R., und von Horsten, S. (2003):

Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research.
Exp Toxicol Pathol **55** (1). S. 69-83

Kebabian, J. W., und Calne, D. B. (1979):

Multiple receptors for dopamine.
Nature **277** (5692). S. 93-6

Keyserlingk, D. G. v. (2006):

Neuroanatomie.
In: Klinische Neurologie. / P. Berlit (Hrsg.).
Heidelberg: Springer-Verlag. - S. 3-31.

Kokubun, T. (1991):

A morphological study on the brain in wriggle mouse Sagami, a new neurological mutant with dystonic disorders, with special reference to the abnormality of the cerebellum.
Hokkaido Igaku Zasshi **66** (3). S. 333-47

Kong, C. K., Ko, C. H., Tong, S. F., und Lam, C. W. (2001):

Atypical presentation of dopa-responsive dystonia: generalized hypotonia and proximal weakness.
Neurology **57** (6). S. 1121-4

Krauss, J. K., Toups, E. G., Jankovic, J., und Grossman, R. G. (1997):

Symptomatic and functional outcome of surgical treatment of cervical dystonia.
J Neurol Neurosurg Psychiatry **63** (5). S. 642-8

Kuczenski, R., Melega, W. P., Cho, A. K., und Segal, D. S. (1997):

Extracellular dopamine and amphetamine after systemic amphetamine administration: comparison to the behavioral response.
J Pharmacol Exp Ther **282** (2). S. 591-6

Kuner, R., Teismann, P., Trutzel, A., Naim, J., Richter, A., Schmidt, N., Bach, A., Ferger, B., und Schneider, A. (2004):

TorsinA, the gene linked to early-onset dystonia, is upregulated by the dopaminergic toxin MPTP in mice.
Neurosci Lett **355** (1-2). S. 126-30

Kuner, R., Teismann, P., Trutzel, A., Naim, J., Richter, A., Schmidt, N., von Ahsen, O., Bach, A., Ferger, B., und Schneider, A. (2003):

TorsinA protects against oxidative stress in COS-1 and PC12 cells.
Neurosci Lett **350** (3). S. 153-6

Lalonde, R. (1987a):

Motor abnormalities in staggerer mutant mice.
Exp Brain Res **68** (2). S. 417-20

Lalonde, R. (1987b):

Motor abnormalities in weaver mutant mice.
Exp Brain Res **65** (2). S. 479-81

LeDoux, M. S., Lorden, J. F., und Ervin, J. M. (1993):

Cerebellectomy eliminates the motor syndrome of the genetically dystonic rat.
Exp Neurol **120** (2). S. 302-10

Levant, B. (1996):

Distribution of Dopamine Receptor Subtypes in the CNS.
In: CNS Neurotransmitters and Neuromodulators Dopamine
/T. W. Stone (Hrsg.).
Boca Raton, USA: CRC Press. - S. 77-89.

Levey, A. I., Hersch, S. M., Rye, D. B., Sunahara, R. K., Niznik, H. B., Kitt, C. A., Price, D. L., Maggio, R., Brann, M. R., Ciliax, B. J., und et al. (1993):

Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies.
Proc Natl Acad Sci U S A **90** (19). S. 8861-5

Lew, M. F. (2002):

Review of the FDA-approved uses of botulinum toxins, including data suggesting efficacy in pain reduction.
Clin J Pain **18** (6 Suppl). S. S142-6

Lhotellier, L., und Cohen-Salmon, C. (1989):

Genetics and senescence. I. Age-related changes in activity and exploration in three inbred strains of mice.
Physiol Behav **45** (3). S. 491-3

Liu, Y., Peter, D., Roghani, A., Schuldiner, S., Prive, G. G., Eisenberg, D., Brecha, N., und Edwards, R. H. (1992):

A cDNA that suppresses MPP⁺ toxicity encodes a vesicular amine transporter.
Cell **70** (4). S. 539-51

Liu, Z., Zolkiewska, A., und Zolkiewski, M. (2003):

Characterization of human torsinA and its dystonia-associated mutant form.
Biochem J **374** (Pt 1). S. 117-22

Lorden, J. F., McKeon, T. W., Baker, H. J., Cox, N., und Walkley, S. U. (1984):

Characterization of the rat mutant dystonic (dt): a new animal model of dystonia musculorum deformans.
J Neurosci **4** (8). S. 1925-32

Löschner, W., und Fredow, G. (1992):

Effects of pharmacological manipulation of dopaminergic and cholinergic neurotransmission in genetically dystonic hamsters.

Eur J Pharmacol **213** (1). S. 31-9

Löschmann, P.-A., und Schulz, J. B. (1997):

Degenerative Erkrankungen de Basalganglien.

In: Klinische Neurobiologie. / T. Herdegen, T. R. Tölle und M. Bähr (Hrsg.).

Berlin: Spektrum. - S. 245-280.

Lundblad, M., Andersson, M., Winkler, C., Kirik, D., Wierup, N., und Cenci, M. A. (2002):

Pharmacological validation of behavioural measures of akinesia and dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease.

Eur J Neurosci **15** (1). S. 120-32

Lundblad, M., Picconi, B., Lindgren, H., und Cenci, M. A. (2004):

A model of L-DOPA-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine lesioned mice: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function.

Neurobiol Dis **16** (1). S. 110-23

Lundblad, M., Usiello, A., Carta, M., Hakansson, K., Fisone, G., und Cenci, M. A. (2005):

Pharmacological validation of a mouse model of l-DOPA-induced dyskinesia.

Exp Neurol **194** (1). S. 66-75

Luquin, M. R., Scipioni, O., Vaamonde, J., Gershanik, O., und Obeso, J. A. (1992):

Levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: clinical and pharmacological classification.

Mov Disord **7** (2). S. 117-24

Marsden, C. A. (2006):

Dopamine: the rewarding years.

Br J Pharmacol **147 Suppl 1**. S. S136-44

Marsden, C. D., und Quinn, N. P. (1990):

The dystonias.

Bmj **300** (6718). S. 139-44

Matthews, G. G. (2001):

Part III Motor Control System.

In: Neurobiology: molecules, cells and systems.

Malden, Massachusetts, USA: Blackwell Science, Inc. - S. 137-279.

McGeer, E. G., und McGeer, P. L. (1988):

The dystonias.

Can J Neurol Sci **15** (4). S. 447-83

Miklyaeva, E. I., Dong, W., Bureau, A., Fattahie, R., Xu, Y., Su, M., Fick, G. H., Huang, J. Q., Igdoura, S., Hanai, N., und Gravel, R. A. (2004):

Late onset Tay-Sachs disease in mice with targeted disruption of the Hexa gene: behavioral changes and pathology of the central nervous system.

Brain Res **1001** (1-2). S. 37-50

Misbahuddin, A., Placzek, M. R., Taanman, J. W., Gschmeissner, S., Schiavo, G., Cooper, J. M., und Warner, T. T. (2005):

Mutant torsinA, which causes early-onset primary torsion dystonia, is redistributed to membranous structures enriched in vesicular monoamine transporter in cultured human SH-SY5Y cells.

Mov Disord **20** (4). S. 432-40

Montoya, C. P., Campbell-Hope, L. J., Pemberton, K. D., und Dunnett, S. B. (1991):

The "staircase test": a measure of independent forelimb reaching and grasping abilities in rats.

J Neurosci Methods **36** (2-3). S. 219-28

Nakazato, T., und Akiyama, A. (2002):

Behavioral activity and stereotypy in rats induced by L-DOPA metabolites: a possible role in the adverse effects of chronic L-DOPA treatment of Parkinson's disease.

Brain Res **930** (1-2). S. 134-42

Naudon, L., Delfs, J. M., Clavel, N., Lorden, J. F., und Chesselet, M. F. (1998):

Differential expression of glutamate decarboxylase messenger RNA in cerebellar Purkinje cells and deep cerebellar nuclei of the genetically dystonic rat.

Neuroscience **82** (4). S. 1087-94

Nemeth, A. H. (2002):

The genetics of primary dystonias and related disorders.

Brain **125** (Pt 4). S. 695-721

Neuwald, A. F., Aravind, L., Spouge, J. L., und Koonin, E. V. (1999):

AAA+: A class of chaperone-like ATPases associated with the assembly, operation, and disassembly of protein complexes.

Genome Res **9** (1). S. 27-43

Nobrega, J. N., Gernert, M., Loscher, W., Raymond, R., Belej, T., und Richter, A. (1999):

Tyrosine hydroxylase immunoreactivity and [3H]WIN 35,428 binding to the dopamine transporter in a hamster model of idiopathic paroxysmal dystonia.

Neuroscience **92** (1). S. 211-7

Nutt, J. G., Muentner, M. D., Aronson, A., Kurland, L. T., und Melton, L. J., 3rd (1988):

Epidemiology of focal and generalized dystonia in Rochester, Minnesota.

Mov Disord **3** (3). S. 188-94

Nygaard, T. G. (1995):

Dopa-responsive dystonia.

Curr Opin Neurol **8** (4). S. 310-3

O'Sullivan, G. J., Kinsella, A., Sibley, D. R., Tighe, O., Croke, D. T., und Waddington, J. L. (2005):

Ethological resolution of behavioural topography and D1-like versus D2-like agonist responses in congenic D5 dopamine receptor mutants: identification of D5:D2-like interactions.

Synapse **55** (4). S. 201-11

Otsuka, M., Ichiya, Y., Shima, F., Kuwabara, Y., Sasaki, M., Fukumura, T., Kato, M., Masuda, K., und Goto, I. (1992):

Increased striatal 18F-dopa uptake and normal glucose metabolism in idiopathic dystonia syndrome.

J Neurol Sci **111** (2). S. 195-9

Ozelius, L., Kramer, P. L., Moskowitz, C. B., Kwiatkowski, D. J., Brin, M. F., Bressman, S. B., Schuback, D. E., Falk, C. T., Risch, N., de Leon, D., und et al. (1989):

Human gene for torsion dystonia located on chromosome 9q32-q34.

Neuron **2** (5). S. 1427-34

Ozelius, L. J., Hewett, J. W., Page, C. E., Bressman, S. B., Kramer, P. L., Shalish, C., de Leon, D., Brin, M. F., Raymond, D., Corey, D. P., Fahn, S., Risch, N. J., Buckler, A. J., Gusella, J. F., und Breakefield, X. O. (1997):

The early-onset torsion dystonia gene (DYT1) encodes an ATP-binding protein.

Nat Genet **17** (1). S. 40-8

Ozelius, L. J., Page, C. E., Klein, C., Hewett, J. W., Mineta, M., Leung, J., Shalish, C., Bressman, S. B., de Leon, D., Brin, M. F., Fahn, S., Corey, D. P., und Breakefield, X. O. (1999):

The TOR1A (DYT1) gene family and its role in early onset torsion dystonia.

Genomics **62** (3). S. 377-84

Parra, A., Arenas, M. C., Monleon, S., Vinader-Caerols, C., und Simon, V. M. (1999):

Sex differences in the effects of neuroleptics on escape-avoidance behavior in mice: a review.

Pharmacol Biochem Behav **64** (4). S. 813-20

Pavon, N., Martin, A. B., Mendiola, A., und Moratalla, R. (2006):

ERK phosphorylation and FosB expression are associated with L-DOPA-induced dyskinesia in hemiparkinsonian mice.

Biol Psychiatry **59** (1). S. 64-74

Perlmutter, J. S., und Mink, J. W. (2004):

Dysfunction of dopaminergic pathways in dystonia.

Adv Neurol **94**. S. 163-70

Pisani, A., Martella, G., Tschertter, A., Bonsi, P., Sharma, N., Bernardi, G., und Standaert, D. G. (2006):

Altered responses to dopaminergic D2 receptor activation and N-type calcium currents in striatal cholinergic interneurons in a mouse model of DYT1 dystonia.

Neurobiol Dis **24** (2). S. 318-25

Prinssen, E. P., Ellenbroek, B. A., Stamatovic, B., und Cools, A. R. (1993):

The effects of haloperidol and raclopride in the paw test are influenced similarly by SCH 39166.

Eur J Pharmacol **231** (2). S. 275-80

Pycock, C., Dawbarn, D., und O'Shaughnessy, C. (1982):

Behavioural and biochemical changes following chronic administration of L-dopa to rats.

Eur J Pharmacol **79** (3-4). S. 201-15

Quinn, L. P., Stean, T. O., Chapman, H., Brown, M., Vidgeon-Hart, M., Upton, N., Billinton, A., und Virley, D. J. (2006):

Further validation of LABORAS using various dopaminergic manipulations in mice including MPTP-induced nigro-striatal degeneration.

J Neurosci Methods **156** (1-2). S. 218-27

Randrup, A., und Munkvad, I. (1966):

Role of catecholamines in the amphetamine excitatory response.

Nature **211** (5048). S. 540

Rehders, J. H., Löscher, W., und Richter, A. (2000):

Evidence for striatal dopaminergic overactivity in paroxysmal dystonia indicated by microinjections in a genetic rodent model.

Neuroscience **97** (2). S. 267-77

Reith, M. E., Coffey, L. L., Xu, C., und Chen, N. H. (1994):

GBR 12909 and 12935 block dopamine uptake into brain synaptic vesicles as well as nerve endings.

Eur J Pharmacol **253** (1-2). S. 175-8

Richter, A. (2005):

The Genetically Dystonic Hamster: An Animal Model of Paroxysmal Dystonia.

In: Animal Models of Movement Disorders. / M. LeDoux (Hrsg.).

Burlington: Elsevier Academic Press. - S. 459-466.

Richter, A., und Löscher, W. (1998):

Pathology of idiopathic dystonia: findings from genetic animal models.

Prog Neurobiol **54** (6). S. 633-77

Richter, A., und Löscher, W. (2000):

Animal models of dystonia.

Funct Neurol **15** (4). S. 259-67

Richter, A., und Löscher, W. (2002):

Animal models of paroxysmal dystonia.

Adv Neurol **89**. S. 443-51

Rostasy, K., Augood, S. J., Hewett, J. W., Leung, J. C., Sasaki, H., Ozelius, L. J.,

Ramesh, V., Standaert, D. G., Breakefield, X. O., und Hedreen, J. C. (2003):

TorsinA protein and neuropathology in early onset generalized dystonia with GAG deletion.

Neurobiol Dis **12** (1). S. 11-24

Rothwell, J. C. (1995):

The physiologie of dystonia.

In: Handbook of dystonia. / J. King, D. B. Calne und J. K. C. Tsui (Hrsg.).

New York: Marcel Dekker. - S. 56-77.

Rouse, S. T., Marino, M. J., Bradley, S. R., Awad, H., Wittmann, M., und Conn, P. J.**(2000):**

Distribution and roles of metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit: implications for treatment of Parkinson's disease and related disorders.

Pharmacol Ther **88** (3). S. 427-35

Salmi, P., Malmgren, K., Svensson, T. H., und Ahlenius, S. (1998):

Stimulation of forward locomotion by SCH-23390 and raclopride in d-amphetamine-treated rats.

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **357** (6). S. 593-9

Sawle, G. V., Leenders, K. L., Brooks, D. J., Harwood, G., Lees, A. J., Frackowiak, R. S., und Marsden, C. D. (1991):

Dopa-responsive dystonia: [18F]dopa positron emission tomography.

Ann Neurol **30** (1). S. 24-30

Schenkel, J. (2006a):

Analyse transgener Tiere.

In: Transgene Tiere. / (Hrsg.).

Berlin: Springer-Verlag

- S. 113-118.

Schenkel, J. (2006b):

Sicherung transgener Tierstämme, Tierhygiene.

In: Transgene Tiere. / (Hrsg.).

Berlin: Springer-Verlag. - S. 143-155.

Schmidt, A., Schneider, S. A., Hagenah, J., und Klein, C. (2008):

Dystonia.

Nervenarzt **79 Suppl 2**. S. 53-63; quiz 64-5

Schmidt, W. J. (1984):

L-dopa and apomorphine disrupt long- but not short-behavioural chains.

Physiol Behav **33** (5). S. 671-80

Sciamanna, G., Bonsi, P., Tassone, A., Cuomo, D., Tschertter, A., Viscomi, M. T., Martella, G., Sharma, N., Bernardi, G., Standaert, D. G., und Pisani, A. (2009):

Impaired striatal D2 receptor function leads to enhanced GABA transmission in a mouse model of DYT1 dystonia.

Neurobiol Dis **34** (1). S. 133-45

Seeman, P., und Van Tol, H. H. (1994):

Dopamine receptor pharmacology.

Trends Pharmacol Sci **15** (7). S. 264-70

Seiden, L. S., Sabol, K. E., und Ricaurte, G. A. (1993):

Amphetamine: effects on catecholamine systems and behavior.
Annu Rev Pharmacol Toxicol **33**. S. 639-77

Sharma, N., Baxter, M. G., Petravicz, J., Bragg, D. C., Schienda, A., Standaert, D. G., und Breakefield, X. O. (2005):

Impaired motor learning in mice expressing torsinA with the DYT1 dystonia mutation.
J Neurosci **25** (22). S. 5351-5

Sharp, T., Zetterstrom, T., Ljungberg, T., und Ungerstedt, U. (1987):

A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis.
Brain Res **401** (2). S. 322-30

Shashidharan, P., Sandu, D., Potla, U., Armata, I. A., Walker, R. H., McNaught, K. S., Weisz, D., Sreenath, T., Brin, M. F., und Olanow, C. W. (2005):

Transgenic mouse model of early-onset DYT1 dystonia.
Hum Mol Genet **14** (1). S. 125-33

Siegert, S., Bahn, E., Kramer, M. L., Schulz-Schaeffer, W. J., Hewett, J. W., Breakefield, X. O., Hedreen, J. C., und Rostasy, K. M. (2005):

TorsinA expression is detectable in human infants as young as 4 weeks old.
Brain Res Dev Brain Res **157** (1). S. 19-26

Smeets, W. J., Marin, O., und Gonzalez, A. (2000):

Evolution of the basal ganglia: new perspectives through a comparative approach.
J Anat **196** (Pt 4). S. 501-17

Smith, Y., Bevan, M. D., Shink, E., und Bolam, J. P. (1998):

Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia.
Neuroscience **86** (2). S. 353-87

Sotelo, C., und Guenet, J. L. (1988):

Pathologic changes in the CNS of dystonia musculorum mutant mouse: an animal model for human spinocerebellar ataxia.
Neuroscience **27** (2). S. 403-24

Spinella, G. M., und Sheridan, P. H. (1994):

Research opportunities in dystonia: National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop summary.
Neurology **44** (6). S. 1177-9

Starke, K. (2005):

Grundlagen der Pharmakologie des Nervensystems.

In: Psychopharmaka - Pharmakotherapie psychischer Erkrankungen. / W. Forth, D. Henschler und W. Rummel (Hrsg.).

München: Elsevier GmbH. - S. 126.

Takahashi, K., und Kitamura, K. (1999):

A point mutation in a plasma membrane Ca(2+)-ATPase gene causes deafness in Wriggle Mouse Sagami.

Biochem Biophys Res Commun **261** (3). S. 773-8

Takahashi, K., Osawa, N., Ohmura, M., und Kitamura, K. (1999):

Evaluation of inner ear histology and auditory brainstem response in Wriggle Mouse Sagami. Acta Otolaryngol **119** (7). S. 767-72

Thanvi, B., Lo, N., und Robinson, T. (2007):

Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: clinical features, pathogenesis, prevention and treatment.

Postgrad Med J **83** (980). S. 384-8

Torres, G. E., Sweeney, A. L., Beaulieu, J. M., Shashidharan, P., und Caron, M. G. (2004):

Effect of torsinA on membrane proteins reveals a loss of function and a dominant-negative phenotype of the dystonia-associated DeltaE-torsinA mutant.

Proc Natl Acad Sci U S A **101** (44). S. 15650-5

Verheij, M. M., und Cools, A. R. (2008):

Twenty years of dopamine research: individual differences in the response of accumbal dopamine to environmental and pharmacological challenges.

Eur J Pharmacol **585** (2-3). S. 228-44

Vidailhet, M., Vercueil, L., Houeto, J. L., Krystkowiak, P., Benabid, A. L., Cornu, P., Lagrange, C., Tezenas du Montcel, S., Dormont, D., Grand, S., Blond, S., Detante, O., Pillon, B., Ardouin, C., Agid, Y., Destee, A., und Pollak, P. (2005):

Bilateral deep-brain stimulation of the globus pallidus in primary generalized dystonia.

N Engl J Med **352** (5). S. 459-67

Vitek, J. L. (2002):

Pathophysiology of dystonia: a neuronal model.

Mov Disord **17 Suppl 3**. S. S49-62

Vitek, J. L., und Giroux, M. (2000):

Physiology of hypokinetic and hyperkinetic movement disorders: model for dyskinesia.

Ann Neurol **47** (4 Suppl 1). S. S131-40

Wahnschaffe, U., Fredow, G., Heintz, P., und Loscher, W. (1990):

Neuropathological studies in a mutant hamster model of paroxysmal dystonia.

Mov Disord **5** (4). S. 286-93

Wenning, G. K., Kiechl, S., Seppi, K., Muller, J., Hogl, B., Saletu, M., Rungger, G., Gasperi, A., Willeit, J., und Poewe, W. (2005):

Prevalence of movement disorders in men and women aged 50-89 years (Bruneck Study cohort): a population-based study.

Lancet Neurol **4** (12). S. 815-20

Wichmann, T. (2008):

Commentary: Dopaminergic dysfunction in DYT1 dystonia.
Exp Neurol **212** (2). S. 242-6

Wichmann, T., und DeLong, M. R. (1996):

Functional and pathophysiological models of the basal ganglia.
Curr Opin Neurobiol **6** (6). S. 751-8

Zhao, Y., DeCuypere, M., und LeDoux, M. S. (2008a):

Abnormal motor function and dopamine neurotransmission in DYT1 DeltaGAG transgenic mice.
Exp Neurol **210** (2). S. 719-30

Zhao, Y., Xiao, J., Ueda, M., Wang, Y., Hines, M., Nowak, T. S., Jr., und LeDoux, M. S. (2008b):

Glial elements contribute to stress-induced torsinA expression in the CNS and peripheral nervous system.
Neuroscience **155** (2). S. 439-53

Zhu, J., Green, T., Bardo, M. T., und Dwoskin, L. P. (2004):

Environmental enrichment enhances sensitization to GBR 12935-induced activity and decreases dopamine transporter function in the medial prefrontal cortex.
Behav Brain Res **148** (1-2). S. 107-17

Zhuang, P., Li, Y., und Hallett, M. (2004):

Neuronal activity in the basal ganglia and thalamus in patients with dystonia.
Clin Neurophysiol **115** (11). S. 2542-57

9. TABELLARISCHER ANHANG

Protokoll für die DNA Extraktion aus Schwanzspitzenbiopsien mittels Invisorb® Spin Tissue Mini Kit

1. 400 µl Lyse-Puffer + 40 µl Proteinkinase K in ein 1,5 ml Tube zur Probe geben;
2. die Probe 5-10 s vortexen;
3. die Probe bei 52°C bis zur Lyse inkubieren (ca. 1 h 30 min);
4. Elution Buffer D auf 52°C vorwärmen;
5. die Probe 2 min bei 13000 rpm zentrifugieren;
6. das Supernatant in ein neues 1,5 ml Tube geben;
7. 200 µl Binding Puffer T hinzu geben, dann vortexen;
8. Spinfilter in 2 ml Receiver Tube stellen;
9. das Lysat auf den Spinfilter geben und 1 min bei Raumtemperatur inkubieren;
10. 2 min bei 13000 rpm zentrifugieren, dann das Filtrat verwerfen;
11. 550 µl Wash Buffer auf den Filter geben;
12. 1 min bei 13000 rpm zentrifugieren, dann das Filtrat verwerfen;
13. 550 µl Wash Buffer auf den Filter geben;
14. 1 min bei 13000 rpm zentrifugieren, dann das Filtrat verwerfen;
15. 2 min bei 13000 rpm zentrifugieren;
16. Filter in ein neues 1,5 ml Receiver Tube geben;
17. 50 µl Elution Buffer D auf Spin Filter geben und 3 min bei Raumtemperatur inkubieren;
18. 1 min bei 8500 rpm zentrifugieren;
19. den Filter verwerfen;
20. im Filtrat den DNA Gehalt photometrisch bestimmen.

Tab. 1: Zusammensetzung und Herstellung der Lösungen für das Polyacrylamidgel

Lösung	Zusammensetzung	Herstellung
30% Acrylamid	30 g Acrylamid 0,8 g N'N'-Methylenbis- acrylamid dH ₂ O auf 100 ml	auffüllen und unter Rühren lösen
10% Ammoniumperxidsulfat (APS)	0,2 g APS dH ₂ O auf 2 ml	auffüllen und unter Rühren lösen
10xTBE	108 g Tris-Base 55 g Borsäure 40 ml 0,5 M EDTA dH ₂ O auf 1000 ml	auffüllen und unter Rühren lösen
7%iges Polyacrylamidgel	19,85 ml dH ₂ O 3 ml 10xTBE 7 ml 30%iges Acrylamid 150 µl 10%iges APS 40 µl TEMED	vermischen und sofort zwischen die Glasplatten der vorbereiteten Elektro- phoresekammer gießen

Gemeinsame Legende für die Tabellen 2 - 4

Tabellarische Übersicht zum Median, zu den Perzentilen (25. / 75.), zum arithmetischen Mittelwert (\bar{x}), zum Standardfehler (S.E.) sowie dem Minimal- und Maximalwert (Min-Max) innerhalb der Gruppe zu den Parametern, die an unbehandelten DYT1- und Kontrollmäusen untersucht wurden.

Beim Open field wurden die Anzahl der Eintritte von einem äußeren in ein anderes äußeres Quadrat (B-B) und die Eintritte von einem äußeren in das innere Quadrat (B-A) getrennt betrachtet. Da die Anzahl der Eintritte vom inneren in ein äußeres Quadrat gleich der Anzahl der Eintritten von einem äußeren in das innere Quadrat (B-A) waren, wurden diese nicht gesondert aufgeführt, allerdings sind diese in den Gesamttransitions (Ges.) enthalten.

Tab. 2: Tabellarische Übersicht zum Open field, Activity cage und Rotarod bei unbehandelten Mäusen

	3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI
Open field	Median (25./75.)	69,0 (58,0 / 85,0)	74,5 (56,0 / 98,0)	50,0 (42,0 / 65,0)	41,0 (31,0 / 52,0)	37,5 (35,0 / 50,0)	36,5 (33,0 / 55,0)	34,5 (29,0 / 50,0)	35,5 (26,0 / 50,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	69,7 \pm 6,40	83,4 \pm 12,8	50,6 \pm 4,68	44,2 \pm 4,87	41,8 \pm 4,56	43,3 \pm 6,15	42,2 \pm 6,09	38,1 \pm 6,53			
	Min-Max	36 - 97	41 - 167	19 - 67	26 - 75	20 - 72	18 - 86	27 - 85	8 - 81			
Anzahl der Transitions	Median (25./75.)	9,50 (6,00 / 11,0)	13,0 (9,00 / 17,0)	3,50 (2,00 / 6,00)	5,50 (3,00 / 8,00)	3,00 (1,00 / 3,00)	1,00 (1,00 / 6,00)	2,50 (2,00 / 5,00)	0,50 (0,00 / 4,00)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	8,70 \pm 0,99	16,3 \pm 4,20	4,80 \pm 1,08	6,20 \pm 1,20	2,50 \pm 0,48	3,50 \pm 1,26	3,00 \pm 0,56	2,00 \pm 0,82			
	Min-Max	4 - 14	5 - 52	1 - 11	3 - 14	0 - 5	0 - 12	1 - 6	0 - 7			
Ges.	Median (25./75.)	86,5 (77,0 / 97,0)	100 (73,0 / 112)	59,5 (48,0 / 79,0)	51,5 (37,0 / 38,0)	42,5 (39,0 / 50,0)	38,5 (33,0 / 64,0)	40,0 (33,0 / 56,0)	35,5 (28,0 / 56,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	87,1 \pm 7,34	116 \pm 19,7	60,2 \pm 6,45	56,6 \pm 7,17	46,8 \pm 5,04	50,2 \pm 7,89	48,2 \pm 6,95	42,1 \pm 7,85			
	Min-Max	50 - 125	66 - 271	21 - 87	32 - 103	26 - 82	20 - 102	29 - 95	8 - 91			
Anzahl der Rearings	Median (25./75.)	23,5 (21,0 / 25,0)	27,0 (11,0 / 35,0)	14,0 (9,00 / 23,0)	10,5 (6,00 / 18,0)	10,0 (8,00 / 12,0)	7,00 (2,00 / 13,0)	6,00 (4,00 / 8,00)	7,50 (5,00 / 10,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	24,1 \pm 3,36	25,7 \pm 4,15	15,3 \pm 2,99	12,0 \pm 2,63	12,3 \pm 2,53	9,10 \pm 2,51	6,90 \pm 1,32	8,80 \pm 2,02			
	Min-Max	6 - 43	10 - 44	0 - 28	1 - 25	4 - 27	1 - 23	2 - 17	0 - 21			
Grooming	Median (25./75.)	2,50 (2,00 / 3,00)	3,00 (2,00 / 4,00)	2,00 (2,00 / 4,00)	3,50 (2,00 / 6,00)	2,50 (2,00 / 3,00)	3,50 (3,00 / 4,00)	2,00 (2,00 / 4,00)	3,50 (2,00 / 5,00)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	3,20 \pm 0,79	3,00 \pm 0,42	2,60 \pm 0,43	3,80 \pm 0,66	2,30 \pm 0,26	3,80 \pm 0,44	2,80 \pm 0,53	3,60 \pm 0,60			
	Min-Max	1 - 9	1 - 5	1 - 5	1 - 7	1 - 3	2 - 7	1 - 6	1 - 6			
Anzahl der Transitions	Median (25./75.)	715 (548 / 802)	627 (398 / 871)	445 (401 / 517)	457 (334 / 650)	374 (355 / 437)	430 (274 / 543)	311 (272 / 409)	328 (273 / 463)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	699 \pm 58,3	733 \pm 151	460 \pm 29,1	514 \pm 67,1	432 \pm 52,8	439 \pm 67,8	373 \pm 58,6	439 \pm 100			
	Min-Max	454 - 1073	198 - 1768	322 - 621	323 - 993	305 - 871	159 - 903	231 - 861	234 - 1291			
Anzahl der Rearings	Median (25./75.)	23,0 (16,0 / 28,0)	11,0 (3,00 / 16,0)	15,0 (7,00 / 18,0)	12,0 (2,00 / 24,0)	10,5 (7,00 / 13,0)	10,0 (3,00 / 18,0)	8,00 (7,00 / 14,0)	10,5 (5,00 / 17,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	22,3 \pm 3,15	12,5 \pm 4,09	14,2 \pm 2,11	13,2 \pm 3,54	11,4 \pm 1,95	11,1 \pm 2,86	9,90 \pm 1,79	11,9 \pm 2,73			
	Min-Max	4 - 38	0 - 42	5 - 24	0 - 27	3 - 22	0 - 28	4 - 23	1 - 30			
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Median (25./75.)	173 (127 / 277)	172 (137 / 230)	300 (167 / 300)	181 (138 / 235)	286 (236 / 300)	229 (209 / 279)	278 (190 / 300)	200 (187 / 232)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	197 \pm 25,4	181 \pm 25,0	241 \pm 25,8	183 \pm 25,9	253 \pm 21,3	234 \pm 17,1	254 \pm 16,7	212 \pm 15,4			
	Min-Max	95 - 300	45 - 300	79 - 300	22 - 300	122 - 300	135 - 300	178 - 300	134 - 300			

Tab. 4: Tabellarische Übersicht zum Elevated plus maze und Staircase Test bei unbehandelten Mäusen

	3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1	
Aufenthaltsdauer offener Arm (s)	Median (25. / 75.)	56,5 (36,0 / 79,0)	46,0 (8,00 / 61,8)	0,00 (0,00 / 0,75)	2,00 (0,50 / 27,8)		0,00 (0,00 / 4,00)	10,0 (1,50 / 31,5)		0,00 (0,00 / 10,3)	6,00 (0,00 / 19,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	56,0 \pm 11,4	42,0 \pm 11,4	1,11 \pm 0,81	14,1 \pm 6,92		1,89 \pm 1,06	22,1 \pm 11,1		5,00 \pm 2,08	8,88 \pm 3,48	
	Min-Max	0 - 109	0 - 103	0 - 7	0 - 46		0 - 9	0 - 91		0 - 14	0 - 21	
Eintritte in den offenen Arm in % der Gesamteintritte	Median (25. / 75.)	4,00 (3,00 / 7,00)	3,00 (1,00 / 4,00)	0,00 (0,00 / 0,25)	1,00 (0,25 / 2,50)		0,00 (0,00 / 1,00)	1,50 (0,50 / 2,00)		0,00 (0,00 / 1,00)	0,50 (0,00 / 1,00)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	19,3 \pm 3,64	14,5 \pm 3,41	2,80 \pm 1,92	12,3 \pm 3,82		1,47 \pm 0,76	9,37 \pm 2,64		5,49 \pm 2,24	5,07 \pm 2,06	
	Min-Max	0,00 - 40,0	0,00 - 33,3	0,00 - 10,0	0,00 - 26,3		0,00 - 5,56	0,00 - 20,0		0,00 - 14,3	0,00 - 14,3	
Anzahl der Head dips	Median (25. / 75.)	43,0 (39,0 / 46,0)	21,0 (15,3 / 24,8)	10,0 (7,00 / 13,8)	10,0 (5,75 / 23,5)		13,0 (6,75 / 23,3)	12,5 (6,50 / 22,5)		8,00 (5,50 / 8,50)	12,0 (9,50 / 18,5)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	43,7 \pm 4,20	23,4 \pm 4,72	10,7 \pm 1,44	15,3 \pm 4,32		15,2 \pm 3,79	15,4 \pm 4,07		7,11 \pm 0,81	13,1 \pm 2,70	
	Min-Max	24 - 67	11 - 58	5 - 18	4 - 34		3 - 38	4 - 36		3 - 10	0 - 25	
Anzahl der Rearings	Median (25. / 75.)	27,5 (23,0 / 33,0)	23,0 (10,8 / 32,5)	13,0 (11,0 / 26,5)	12,0 (8,50 / 13,0)		13,0 (9,75 / 33,5)	23,5 (12,5 / 28,0)		16,0 (9,25 / 17,3)	14,0 (9,00 / 22,5)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	27,3 \pm 2,55	21,8 \pm 3,67	17,6 \pm 3,43	10,6 \pm 1,91		21,6 \pm 5,83	20,9 \pm 3,68		14,1 \pm 2,06	15,8 \pm 3,98	
	Min-Max	13 - 39	10 - 35	6 - 37	1 - 17		6 - 59	4 - 35		4 - 23	0 - 35	
Anzahl der gefressene Pellets	Median (25. / 75.)	0,75 (0,50 / 1,20)	1,50 (1,00 / 2,28)	0,90 (0,20 / 1,80)	1,30 (0,55 / 1,90)		1,40 (0,83 / 2,03)	1,30 (0,75 / 1,95)		1,90 (1,48 / 1,93)	1,45 (0,75 / 1,95)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,97 \pm 0,26	1,50 \pm 0,35	1,08 \pm 0,29	1,19 \pm 0,31		1,41 \pm 0,33	1,44 \pm 0,36		1,70 \pm 0,20	1,34 \pm 0,26	
	Min-Max	0,00 - 2,70	0,00 - 2,70	0,00 - 2,40	0,00 - 2,20		0,00 - 3,30	0,10 - 3,40		0,60 - 2,70	0,20 - 2,20	
Anzahl der verstreute Pellets	Median (25. / 75.)	1,00 (0,50 / 1,50)	2,20 (1,45 / 4,00)	1,05 (0,40 / 1,90)	1,60 (0,88 / 1,83)		2,00 (1,23 / 3,33)	2,55 (0,75 / 3,20)		2,60 (1,63 / 3,35)	1,60 (1,30 / 2,15)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,31 \pm 0,35	2,61 \pm 0,62	1,24 \pm 0,33	1,59 \pm 0,42		2,34 \pm 0,54	2,15 \pm 0,46		2,60 \pm 0,44	1,59 \pm 0,27	
	Min-Max	0,30 - 3,90	0,30 - 4,80	0,10 - 3,20	0,20 - 3,70		0,30 - 4,90	0,50 - 3,70		0,60 - 5,00	0,10 - 2,50	
Anzahl der nicht erfolgreich aufgenommene Pellets	Median (25. / 75.)	0,00 (0,00 / 0,10)	0,00 (0,00 / 0,20)	0,15 (0,10 / 0,20)	0,20 (0,25 / 0,28)		0,20 (0,10 / 0,33)	0,30 (0,05 / 0,40)		0,30 (0,10 / 0,63)	0,20 (0,10 / 0,50)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,08 \pm 0,04	0,11 \pm 0,06	0,19 \pm 0,06	0,17 \pm 0,06		0,22 \pm 0,05	0,25 \pm 0,07		0,42 \pm 0,13	0,29 \pm 0,09	
	Min-Max	0,00 - 0,30	0,00 - 0,40	0,00 - 0,70	0,00 - 0,40		0,10 - 0,50	0,00 - 0,50		0,00 - 1,20	0,00 - 0,70	

Gemeinsame Legende für die Tabellen 5 - 25

Tabellarische Übersicht zu Median, Perzentilen (25. / 75.), arithmetischer Mittelwert (\bar{x}), Standardfehler (S.E.) sowie dem Minimal- und Maximalwert (Min-Max) innerhalb der Gruppe zu den Parametern, die an behandelten DYT1- und Kontrollmäusen untersucht wurden. Die intraperitoneal (i.p.) applizierten Substanzen und Dosierungen befinden sich in den Überschriften bzw. in den Tabellen. Das Injektionsvolumen betrug 10 ml/kg.

Tab. 5: Tabellarische Übersicht zum Activity cage und Rotarod nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa

	3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Substanz	Median	51,0	110	54,0	35,0	45,0	78,0	56,0	36,0			
	(25. / 75.)	(35,0 / 78,0)	(69,3 / 371)	(40,0 / 79,0)	(24,8 / 75,8)	(28,0 / 69,5)	(43,0 / 161)	(28,0 / 139)	(24,8 / 55,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	92,6 \pm 37,3	279 \pm 133	62,9 \pm 10,0	83,1 \pm 39,3	51,3 \pm 9,35	109 \pm 27,8	97,2 \pm 35,3	42,3 \pm 9,20			
Min-Max	30 - 419	23 - 1277	25 - 121	14 - 377	17 - 99	17 - 294	15 - 387	11 - 91				
Anzahl der Transitions	Median	308	599	324	307	245	492	286	218			
	(25. / 75.)	(212 / 427)	(302 / 918)	(242 / 409)	(248 / 764)	(216 / 338)	(413 / 777)	(209 / 311)	(133 / 442)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	358 \pm 67,2	630 \pm 122	350 \pm 51,2	438 \pm 95,5	292 \pm 35,0	542 \pm 75,8	282 \pm 23,3	317 \pm 93,2			
Min-Max	134 - 770	218 - 1250	171 - 708	55 - 838	197 - 487	201 - 868	184 - 413	67 - 893				
Differenz	Median	-275	-488	-248	-264	-197	-410	-164	-182			
	(25. / 75.)	(-397 / -90,0)	(-689 / -147)	(-396 / -169)	(-646 / -155)	(-294 / -180)	(-655 / -279)	(-284 / -147)	(-401 / -94,8)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-265 \pm 85,0	-350 \pm 208	-287 \pm 48,4	-355 \pm 94,3	-241 \pm 35,4	-433 \pm 62,4	-184 \pm 36,7	-275 \pm 93,2			
Min-Max	(-692) - 204	(-1159) - 984	(-587) - (-102)	(-799) - (-22)	(-423) - (-120)	(-709) - (-177)	(-385) - 18	(-882) - (-31)				
Activity cage	Median	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
	(25. / 75.)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)	(0,00 / 0,00)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,70 \pm 0,70	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,78 \pm 0,66	0,00 \pm 0,00	0,40 \pm 0,40	1,60 \pm 1,30	0,22 \pm 0,22			
Min-Max	0 - 7	0 - 0	0 - 0	0 - 6	0 - 0	0 - 4	0 - 13	0 - 2				
Anzahl der Rearings	Median	7,00	16,0	8,50	13,0	6,00	14,0	7,00	6,00			
	(25. / 75.)	(5,00 / 16,0)	(5,00 / 25,3)	(5,00 / 16,0)	(3,00 / 25,0)	(3,00 / 9,25)	(8,00 / 23,0)	(3,00 / 10,0)	(2,25 / 23,0)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	10,4 \pm 2,64	17,3 \pm 4,56	10,2 \pm 2,03	15,1 \pm 4,92	6,33 \pm 1,35	14,3 \pm 3,12	6,90 \pm 1,31	11,4 \pm 4,38			
Min-Max	2 - 28	2 - 42	3 - 21	0 - 44	0 - 13	0 - 31	1 - 14	0 - 36				
Differenz	Median	-7,00	-16,0	-8,50	-13,0	-6,00	-14,0	-5,00	-5,00			
	(25. / 75.)	(-16,0 / -5,00)	(-25,3 / -5,00)	(-16,0 / -5,00)	(-24,3 / 0,00)	(-9,25 / -3,00)	(-23,0 / -7,00)	(-8,00 / -3,00)	(-23,0 / -2,25)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-9,70 \pm 2,96	-17,3 \pm 4,56	-10,2 \pm 2,03	-14,3 \pm 5,10	-6,33 \pm 1,35	-13,9 \pm 3,20	-5,30 \pm 1,52	-11,2 \pm 4,41			
Min-Max	(-28) - 5	(-42) - (-2)	(-21) - (-3)	(-44) - 1	(-13) - 0	(-31) - 0	(-14) - 3	(-36) - 0				
Substanz	Median	107	76,0	59,5	96,0	54,0	118	73,5	70,0			
	(25. / 75.)	(95,0 / 130)	(61,0 / 169)	(45,0 / 268)	(61,8 / 150)	(29,3 / 63,8)	(34,0 / 157)	(35,0 / 175)	(13,8 / 128)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	123 \pm 21,6	108 \pm 25,7	125 \pm 34,8	118 \pm 24,9	48,7 \pm 7,01	122 \pm 31,5	106 \pm 30,7	79,4 \pm 22,1			
Min-Max	50 - 300	9 - 244	36 - 300	51 - 282	22 - 79	19 - 300	21 - 300	6 - 199				
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Median	244	300	300	260	244	238	292	228			
	(25. / 75.)	(177 / 278)	(260 / 300)	(188 / 300)	(197 / 300)	(180 / 290)	(203 / 300)	(209 / 300)	(204 / 283)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	229 \pm 18,7	267 \pm 18,7	242 \pm 28,5	235 \pm 24,1	229 \pm 25,3	243 \pm 15,5	266 \pm 13,9	238 \pm 15,1			
Min-Max	121 - 300	130 - 300	33 - 300	78 - 300	72 - 300	159 - 300	200 - 300	183 - 300				
Differenz	Median	-125	-172	-126	-124	-221	-131	-179	-180			
	(25. / 75.)	(-156 / -42,0)	(-206 / -115)	(-196 / -23,0)	(-198 / -24,8)	(-232 / -143)	(-230 / -34,0)	(-219 / -125)	(-209 / -104)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-106 \pm 25,7	-159 \pm 20,6	-117 \pm 33,0	-117 \pm 27,7	-181 \pm 26,8	-121 \pm 37,6	-161 \pm 26,8	-159 \pm 24,2			
Min-Max	(-227) - 28	(-239) - (-56)	(-257) - 22	(-217) - (-13)	(-270) - (-12)	(-273) - 97	(-259) - 0	(-248) - (-29)				

Tab. 6: Tabellarische Übersicht zum Wire-hang Test und Grip-strength Test nach Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa

Wire-hang Test „Latency to fall“ (s)	90°	3 Monate				6 Monate				9 Monate				12 Monate			
		Substanz	Median (25. / 75.)	\bar{x} ± S.E.	Min-Max	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI
			(60,0 / 60,0)	(60,0 / 60,0)	60,0		(60,0 / 60,0)		60,0		(60,0 / 60,0)		60,0		(60,0 / 60,0)		60,0
Wire-hang Test „Latency to fall“ (s)	90°	Substanz	(60,0 / 60,0)	60,0 ± 0,00	60 - 60	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0
		Vehikel	(60,0 / 60,0)	60,0 ± 0,00	60 - 60	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0
		Differenz	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00
		Median	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00
	180°	Substanz	(60,0 / 60,0)	60,0 ± 0,00	60 - 60	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0
		Vehikel	(60,0 / 60,0)	60,0 ± 0,00	60 - 60	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0	(60,0 / 60,0)	60,0
		Differenz	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	0,00
		Median	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00	(0,00 / 0,00)	60,0	(0,00 / 0,00)	0,00
	Grip-strength Test Griffstärke (g)	Substanz	(31,0 / 52,5)	37,6 ± 4,66	14,2 - 58,5	(31,0 / 50,5)	34,1	(31,5 / 45,7)	36,5	(31,0 / 50,2)	34,5	(29,7 / 41,8)	36,9	(31,3 / 48,0)	43,7	(28,6 / 49,0)	33,0
		Vehikel	(32,8 / 44,0)	37,6 ± 2,88	37,7	(48,8 / 64,4)	56,5	(36,4 ± 3,35)	36,4 ± 3,35	(37,8 / 58,4)	37,0	(46,7 ± 4,99)	43,9	(41,6 ± 3,82)	41,2	(27,4 / 51,0)	41,2
		Differenz	-2,50 ± 2,50	-2,50 ± 2,50	-2,50 ± 2,50	(-15) - 0	-13,1	(-15,3 / 9,38)	1,29	(-15,3 / 9,38)	-13,1	(-16,9 / 8,18)	-7,72	(-10,6 ± 6,28)	3,87	(-19,8 / 8,92)	-5,40
		Median	37,6	(37,6 ± 4,66)	37,7	(48,8 / 64,4)	56,5	(36,4 ± 3,35)	36,4 ± 3,35	(37,8 / 58,4)	37,0	(46,7 ± 4,99)	43,9	(41,6 ± 3,82)	41,2	(27,4 / 51,0)	41,2
Grip-strength Test Griffstärke (g)	Substanz	(31,0 / 52,5)	37,6 ± 4,66	14,2 - 58,5	(31,0 / 50,5)	34,1	(31,5 / 45,7)	36,5	(31,0 / 50,2)	34,5	(29,7 / 41,8)	36,9	(31,3 / 48,0)	43,7	(28,6 / 49,0)	33,0	
	Vehikel	(32,8 / 44,0)	37,6 ± 2,88	37,7	(48,8 / 64,4)	56,5	(36,4 ± 3,35)	36,4 ± 3,35	(37,8 / 58,4)	37,0	(46,7 ± 4,99)	43,9	(41,6 ± 3,82)	41,2	(27,4 / 51,0)	41,2	
	Differenz	-2,50 ± 2,50	-2,50 ± 2,50	-2,50 ± 2,50	(-15) - 0	-13,1	(-15,3 / 9,38)	1,29	(-15,3 / 9,38)	-13,1	(-16,9 / 8,18)	-7,72	(-10,6 ± 6,28)	3,87	(-19,8 / 8,92)	-5,40	
	Median	37,6	(37,6 ± 4,66)	37,7	(48,8 / 64,4)	56,5	(36,4 ± 3,35)	36,4 ± 3,35	(37,8 / 58,4)	37,0	(46,7 ± 4,99)	43,9	(41,6 ± 3,82)	41,2	(27,4 / 51,0)	41,2	

Tab. 7: Tabellarische Übersicht zum Footprint Test nach Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa

		3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
		Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI		
Schrittlänge vorne (cm)	Substanz	Median (25. / 75.)	7,18 (6,63 / 7,56)	6,93 (6,71 / 7,55)	7,90 (7,53 / 8,13)	8,23 (7,18 / 8,29)	7,94 (7,51 / 8,52)	8,15 (7,49 / 8,58)	8,48 (7,58 / 8,94)	8,51 (8,01 / 8,58)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	7,08 \pm 0,18	7,12 \pm 0,22	7,77 \pm 0,22	7,81 \pm 0,35	8,01 \pm 0,23	8,14 \pm 0,28	8,25 \pm 0,27	8,33 \pm 0,16			
	Min-Max	6,29 - 7,76	6,36 - 8,23	6,47 - 8,99	6,38 - 9,13	7,02 - 8,99	6,84 - 9,70	7,68 - 8,68	8,77				
Schrittlänge hinten (cm)	Vehikel	Median (25. / 75.)	6,71 (6,50 / 8,08)	7,55 (6,40 / 7,89)	8,65 (8,41 / 8,91)	7,72 (7,54 / 8,27)	9,63 (9,06 / 10,3)	8,76 (8,33 / 9,26)	9,79 (9,31 / 10,3)	8,51 (8,51 / 9,43)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	7,37 \pm 0,36	7,24 \pm 0,34	8,64 \pm 0,28	8,03 \pm 0,26	9,48 \pm 0,30	8,61 \pm 0,28	10,0 \pm 0,35	9,02 \pm 0,28			
	Min-Max	6,36 - 9,43	5,74 - 8,47	7,33 - 10,5	7,48 - 9,42	7,79 - 10,4	6,52 - 9,51	8,53 - 12,1	8,47 - 10,2				
Footprint	Differenz	Median (25. / 75.)	-0,33 (-1,50 / 0,89)	-0,33 (-0,73 / 0,63)	-0,77 (-0,88 / -0,51)	-0,11 (-1,05 / 0,61)	-1,85 (-2,42 / -0,47)	-0,75 (-0,84 / 0,05)	-2,21 (-2,52 / -0,73)	-0,65 (-0,79 / 0,03)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,29 \pm 0,42	-0,12 \pm 0,27	-0,87 \pm 0,24	-0,22 \pm 0,47	-1,47 \pm 0,41	-0,47 \pm 0,19	-1,78 \pm 0,32	-0,69 \pm 0,33			
	Min-Max	(-2,26) - 1,40	(-1,01) - 0,92	(-2,58) - 0,43	(-2,27) - 1,41	(-2,98) - 0,60	(-1,28) - 0,48	(-3,12) - (-0,15)	(-2,16) - 0,06				
Schrittlänge vorne (cm)	Substanz	Median (25. / 75.)	7,23 (6,49 / 7,62)	6,95 (6,63 / 7,45)	7,83 (7,47 / 8,13)	8,28 (7,19 / 8,32)	7,89 (7,42 / 8,44)	8,11 (7,63 / 8,55)	8,45 (7,47 / 8,77)	8,51 (7,84 / 8,58)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	7,04 \pm 0,21	7,05 \pm 0,22	7,72 \pm 0,24	7,86 \pm 0,35	7,94 \pm 0,23	8,12 \pm 0,29	8,17 \pm 0,27	8,30 \pm 0,18			
	Min-Max	6,18 - 7,82	6,20 - 8,13	6,24 - 8,96	6,45 - 9,23	6,90 - 8,97	6,76 - 9,61	6,84 - 9,32	7,66 - 8,68				
Schrittlänge hinten (cm)	Vehikel	Median (25. / 75.)	6,75 (6,38 / 8,18)	7,53 (6,46 / 7,93)	8,53 (8,33 / 8,80)	7,68 (7,63 / 8,66)	9,60 (8,85 / 10,1)	8,64 (8,42 / 9,19)	9,73 (9,38 / 10,4)	8,72 (8,39 / 9,39)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	7,35 \pm 0,37	7,25 \pm 0,35	8,64 \pm 0,23	8,10 \pm 0,26	9,37 \pm 0,29	8,52 \pm 0,31	10,0 \pm 0,35	8,98 \pm 0,30			
	Min-Max	6,33 - 9,36	5,70 - 8,43	7,54 - 10,4	7,43 - 9,22	7,81 - 10,2	6,35 - 9,66	8,62 - 12,4	8,39 - 10,2				
Footprint	Differenz	Median (25. / 75.)	-0,27 (-1,75 / 0,93)	-0,31 (-0,90 / 0,55)	-0,85 (-1,30 / -0,63)	-0,14 (-1,01 / 0,45)	-1,84 (-2,23 / -0,44)	-0,51 (-0,83 / 0,20)	-2,05 (-2,69 / -0,77)	-0,62 (-0,82 / 0,19)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,32 \pm 0,45	-0,20 \pm 0,28	-0,92 \pm 0,26	-0,24 \pm 0,45	-1,44 \pm 0,39	-0,40 \pm 0,20	-1,83 \pm 0,32	-0,68 \pm 0,39			
	Min-Max	(-2,13) - 1,49	(-1,16) - 0,89	(-2,34) - 0,62	(-2,06) - 1,59	(-3,03) - 0,55	(-1,33) - 0,42	(-3,40) - (-0,42)	(-2,40) - 0,19				
Abstand Vorderpfoten (cm)	Substanz	Median (25. / 75.)	1,50 (1,09 / 1,65)	1,50 (1,45 / 1,63)	1,41 (1,33 / 1,58)	1,52 (1,47 / 1,72)	1,30 (1,18 / 1,42)	1,43 (1,32 / 1,53)	1,11 (1,05 / 1,48)	1,54 (1,40 / 1,58)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,41 \pm 0,12	1,57 \pm 0,07	1,42 \pm 0,09	1,54 \pm 0,08	1,29 \pm 0,10	1,42 \pm 0,07	1,24 \pm 0,09	1,46 \pm 0,08			
	Min-Max	0,98 - 1,90	1,43 - 2,00	0,85 - 1,82	1,20 - 1,82	0,72 - 1,73	1,07 - 1,72	0,92 - 1,73	1,07 - 1,60				
Footprint	Vehikel	Median (25. / 75.)	1,45 (1,39 / 1,52)	1,33 (1,18 / 1,60)	1,28 (1,27 / 1,38)	1,37 (1,23 / 1,51)	1,08 (1,05 / 1,24)	1,42 (1,25 / 1,62)	1,08 (0,95 / 1,38)	1,45 (1,17 / 1,50)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,46 \pm 0,06	1,38 \pm 0,10	1,31 \pm 0,05	1,37 \pm 0,07	1,15 \pm 0,07	1,39 \pm 0,09	1,18 \pm 0,10	1,37 \pm 0,12			
	Min-Max	1,15 - 1,80	0,97 - 1,85	1,05 - 1,63	1,12 - 1,62	0,85 - 1,55	0,93 - 1,75	0,82 - 1,78	0,88 - 1,75				
Footprint	Differenz	Median (25. / 75.)	-0,02 (-0,34 / 0,08)	0,19 (0,08 / 0,42)	0,07 (-0,22 / 0,32)	0,17 (0,09 / 0,28)	0,15 (-0,10 / 0,38)	0,09 (-0,20 / 0,12)	0,17 (-0,47 / 0,28)	0,06 (0,00 / 0,18)			
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,05 \pm 0,11	0,19 \pm 0,11	0,11 \pm 0,10	0,17 \pm 0,07	0,14 \pm 0,11	0,03 \pm 0,08	0,06 \pm 0,16	0,09 \pm 0,08			
	Min-Max	(-0,47) - 0,58	(-0,40) - 0,57	(-0,27) - 0,77	(-0,17) - 0,42	(-0,33) - 0,63	(-0,32) - 0,42	(-0,73) - 0,92	(-0,18) - 0,42				

Tab. 8: 1 Tabellarische Übersicht zum Footprint Test nach Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa

	3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYTI		Kontrollen	DYTI		Kontrollen	DYTI		Kontrollen	DYTI	
	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$ Min-Max			Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$ Min-Max			Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$ Min-Max			Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$ Min-Max		
Substanz	2,10 (1,96 / 2,15)	2,27 (1,90 / 2,45)		1,85 (1,75 / 1,90)	1,90 (1,82 / 2,00)		1,65 (1,40 / 1,90)	2,13 (1,83 / 2,23)		2,03 (1,77 / 2,20)	1,99 (1,70 / 2,13)	
	2,04 ± 0,09	2,20 ± 0,10		1,77 ± 0,07	1,94 ± 0,06		1,67 ± 0,10	2,02 ± 0,10		1,97 ± 0,09	1,94 ± 0,14	
	1,43 - 2,50	1,80 - 2,55		1,22 - 1,95	1,80 - 2,28		1,27 - 2,15	1,50 - 2,40		1,48 - 2,33	1,45 - 2,37	
Abstand Hinterpfote (cm)	2,12 (1,99 / 2,33)	2,28 (2,13 / 2,42)		2,40 (2,22 / 2,43)	2,07 (1,94 / 2,16)		2,25 (2,09 / 2,35)	2,17 (2,17 / 2,28)		2,42 (2,18 / 2,60)	2,28 (1,98 / 2,43)	
	2,22 ± 0,13	2,26 ± 0,09		2,37 ± 0,07	2,06 ± 0,05		2,23 ± 0,06	2,20 ± 0,05		2,38 ± 0,08	2,24 ± 0,11	
	1,83 - 3,13	1,82 - 2,65		2,00 - 2,73	1,90 - 2,27		1,97 - 2,48	1,88 - 2,42		1,92 - 2,70	1,88 - 2,55	
Differenz	-0,17 (-0,47 / 0,12)	-0,12 (-0,28 / 0,13)		-0,59 (-0,77 / -0,52)	-0,08 (-0,33 / 0,04)		-0,65 (-0,84 / -0,38)	-0,12 (-0,33 / 0,00)		-0,40 (-0,53 / -0,22)	-0,37 (-0,43 / -0,12)	
	-0,18 ± 0,12	-0,07 ± 0,11		-0,60 ± 0,05	-0,12 ± 0,09		-0,56 ± 0,12	-0,17 ± 0,09		-0,41 ± 0,08	-0,30 ± 0,12	
	(-0,70) - 0,28	(-0,48) - 0,48		(-0,78) - (-0,30)	(-0,43) - 0,22		(-1,08) - 0,13	(-0,67) - 0,23		(-0,95) - (-0,08)	(-0,68) - 0,18	
Substanz	0,85 (0,73 / 0,96)	0,52 (0,38 / 0,73)		0,49 (0,38 / 0,63)	0,47 (0,40 / 0,61)		0,75 (0,65 / 0,92)	0,47 (0,35 / 0,60)		0,73 (0,65 / 0,80)	0,36 (0,23 / 0,83)	
	0,81 ± 0,06	0,55 ± 0,08		0,56 ± 0,10	0,50 ± 0,05		0,76 ± 0,08	0,50 ± 0,07		0,72 ± 0,06	0,49 ± 0,14	
	0,52 - 1,03	0,23 - 0,88		0,15 - 1,28	0,38 - 0,68		0,33 - 1,13	0,25 - 0,90		0,33 - 1,03	0,15 - 1,02	
Abstand Vorder- zu Hinterpfote links (cm)	0,65 (0,61 / 0,80)	0,64 (0,54 / 0,83)		0,68 (0,58 / 0,92)	0,55 (0,51 / 0,61)		0,68 (0,40 / 0,75)	0,60 (0,38 / 0,75)		0,89 (0,65 / 1,12)	0,40 (0,20 / 0,52)	
	0,66 ± 0,05	0,70 ± 0,11		0,70 ± 0,07	0,56 ± 0,02		0,59 ± 0,06	0,59 ± 0,07		0,82 ± 0,10	0,40 ± 0,08	
	0,37 - 0,85	0,23 - 1,33		0,38 - 1,05	0,50 - 0,67		0,35 - 0,77	0,30 - 0,93		0,28 - 1,18	0,18 - 0,68	
Differenz	0,13 (0,05 / 0,22)	-0,19 (-0,34 / -0,12)		0,01 (-0,32 / 0,03)	-0,10 (-0,16 / 0,04)		0,23 (-0,08 / 0,38)	-0,03 (-0,13 / 0,05)		-0,14 (-0,40 / 0,30)	0,08 (-0,18 / 0,33)	
	0,15 ± 0,06	-0,15 ± 0,11		-0,14 ± 0,10	-0,06 ± 0,05		0,17 ± 0,12	-0,09 ± 0,08		-0,10 ± 0,13	0,09 ± 0,14	
	(-0,12) - 0,48	(-0,45) - 0,53		(-0,77) - 0,23	(-0,20) - 0,15		(-0,42) - 0,72	(-0,67) - 0,23		(-0,78) - 0,45	(-0,23) - 0,65	
Substanz	0,70 (0,67 / 0,86)	0,64 (0,56 / 0,72)		0,72 (0,37 / 0,82)	0,58 (0,50 / 0,74)		0,50 (0,44 / 0,92)	0,61 (0,32 / 0,85)		0,71 (0,55 / 0,95)	0,47 (0,38 / 0,67)	
	0,75 ± 0,05	0,64 ± 0,04		0,62 ± 0,08	0,61 ± 0,06		0,65 ± 0,09	0,61 ± 0,09		0,70 ± 0,08	0,60 ± 0,17	
	0,53 - 1,07	0,50 - 0,82		0,23 - 0,93	0,40 - 0,82		0,27 - 1,02	0,27 - 0,98		0,22 - 1,03	0,25 - 1,38	
Abstand Vorder- zu Hinterpfote rechts (cm)	0,68 (0,52 / 0,69)	0,75 (0,62 / 0,91)		0,73 (0,57 / 0,85)	0,55 (0,49 / 0,81)		0,70 (0,65 / 0,81)	0,48 (0,42 / 0,55)		0,93 (0,75 / 1,00)	0,66 (0,60 / 0,77)	
	0,64 ± 0,05	0,76 ± 0,07		0,73 ± 0,05	0,68 ± 0,12		0,73 ± 0,05	0,50 ± 0,05		0,89 ± 0,06	0,65 ± 0,07	
	0,42 - 0,88	0,47 - 1,03		0,52 - 0,95	0,38 - 1,33		0,47 - 1,07	0,30 - 0,78		0,47 - 1,18	0,35 - 0,85	
Differenz	0,07 (-0,05 / 0,24)	-0,12 (-0,21 / -0,01)		-0,17 (-0,30 / 0,07)	-0,07 (-0,31 / 0,26)		-0,15 (-0,26 / 0,13)	0,11 (-0,13 / 0,38)		-0,29 (-0,47 / 0,03)	-0,09 (-0,27 / 0,17)	
	0,11 ± 0,09	-0,11 ± 0,08		-0,11 ± 0,10	-0,07 ± 0,14		-0,08 ± 0,09	0,11 ± 0,10		-0,20 ± 0,10	-0,05 ± 0,15	
	(-0,20) - 0,60	(-0,50) - 0,27		(-0,50) - 0,42	(-0,75) - 0,27		(-0,43) - 0,38	(-0,37) - 0,57		(-0,52) - 0,23	(-0,52) - 0,53	

Tab. 9: Tabellarische Übersicht zum Activity cage und Rotarod nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935

		6 Monate			9 Monate			12 Monate		
		Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	
Activity cage	Anzahl der Transitions	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	718 (622 / 851) 811 \pm 98,7	1302 (841 / 1515) 1267 \pm 208	649 (579 / 780) 723 \pm 82,7	1214 (849 / 1332) 1227 \pm 177	650 (377 / 1061) 708 \pm 131	718 (445 / 986) 908 \pm 267	
		Vehikel	Min-Max	455 - 1498	370 - 2530	517 - 1340	632 - 2649	256 - 1228	306 - 2658	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	409 (293 / 492) 444 \pm 57,8	772 (708 / 895) 845 \pm 78,4	397 (215 / 596) 418 \pm 63,5	507 (478 / 973) 711 \pm 145	415 (249 / 630) 430 \pm 80,5	411 (256 / 654) 650 \pm 253	
	Anzahl der Rearings	Vehikel	Min-Max	268 - 804	599 - 1339	190 - 673	116 - 1720	105 - 746	199 - 2364	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	323 (292 / 395) 367 \pm 53,6	521 (193 / 633) 422 \pm 153	327 (179 / 417) 305 \pm 64,2	486 (297 / 733) 515 \pm 87,3	256 (120 / 440) 278 \pm 62,8	321 (139 / 374) 257 \pm 63,1	
		Substanz	Min-Max	187 - 790	(-374) - 1191	8 - 667	108 - 929	80 - 511	(-77) - 470	
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Anzahl der Transitions	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	37,5 (36,0 / 45,0) 38,4 \pm 3,96	37,0 (23,0 / 42,0) 38,3 \pm 7,22	25,0 (23,3 / 31,5) 27,6 \pm 3,48	32,0 (26,0 / 43,0) 32,4 \pm 4,45	23,0 (11,5 / 31,0) 22,8 \pm 4,12	23,0 (11,5 / 26,5) 21,5 \pm 4,53	
		Vehikel	Min-Max	11 - 56	13 - 87	10 - 48	9 - 56	6 - 41	5 - 45	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	9,50 (6,00 / 16,0) 10,4 \pm 1,89	21,5 (14,0 / 33,0) 23,2 \pm 3,73	13,0 (5,00 / 15,3) 11,0 \pm 2,04	14,5 (6,00 / 40,0) 21,8 \pm 6,39	10,0 (6,75 / 18,5) 11,8 \pm 2,46	13,5 (9,50 / 19,0) 19,9 \pm 7,53	
	Anzahl der Rearings	Vehikel	Min-Max	3 - 22	5 - 43	4 - 21	1 - 62	3 - 24	4 - 71	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	30,0 (24,0 / 4,00) 28,0 \pm 3,50	10,0 (3,00 / 20,0) 15,1 \pm 5,72	16,0 (7,75 / 26,5) 16,6 \pm 4,33	13,0 (4,00 / 22,0) 10,6 \pm 4,96	12,0 (5,25 / 17,0) 11,0 \pm 2,15	3,50 (-4,00 / 12,0) 1,63 \pm 4,81	
		Substanz	Min-Max	5 - 47	(-3) - 58	(-5) - 34	(-12) - 35	2 - 20	(-26) - 16	
Rotarod „Latency to fall“ (s)	Anzahl der Transitions	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	275 (217 / 300) 259 \pm 14,4	148 (79,0 / 291) 171 \pm 33,5	225 (205 / 283) 234 \pm 15,8	280 (222 / 293) 255 \pm 15,6	264 (249 / 300) 273 \pm 9,16	190 (145 / 300) 209 \pm 29,0	
		Vehikel	Min-Max	190 - 300	52 - 300	173 - 300	170 - 300	233 - 300	102 - 300	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	280 (267 / 290) 269 \pm 14,4	181 (137 / 300) 196 \pm 28,9	201 (195 / 234) 220 \pm 13,9	274 (209 / 300) 252 \pm 17,0	300 (211 / 300) 256 \pm 18,4	228 (188 / 300) 234 \pm 22,0	
	Anzahl der Rearings	Vehikel	Min-Max	143 - 300	60 - 300	185 - 300	174 - 300	162 - 300	137 - 300	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	6,00 (-50,0 / 22,0) -10,0 \pm 21,8	-8,00 (-53,8 / 0,75) -24,7 \pm 17,1	7,00 (-4,50 / 27,3) 14,1 \pm 10,5	-3,50 (-12,0 / 8,00) 2,60 \pm 11,7	0,00 (0,00 / 38,5) 17,2 \pm 14,58	-3,00 (-42,0 / 0,00) -24,6 \pm 15,5	
		Substanz	Min-Max	(-108) - 127	(-129) - 45	(-27) - 80	(-64) - 64	(-50) - 102	(-117) - 10	

Tab. 10: Tabellarische Übersicht zum Wire-hang Test und Grip-strength Test nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935

		6 Monate			9 Monate			12 Monate			
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1		
Wire-hang Test „Latency to fall“ (s)	90°	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	
		Vehikel	Min-Max	58,0 ± 1,33 50 - 60	60,0 60,0	58,9 ± 1,11 50 - 60	60,0 60,0	60,0 ± 0,00 60 - 60	60,0 ± 0,00 60 - 60	60,0 ± 0,00 60 - 60	
		Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	
	180°	Substanz	Min-Max	-2,00 ± 1,33 (-10) - 0	0,00 ± 0,00 60 - 60	-0,56 ± 1,30 (-10) - 5	0,00 ± 0,00 0 - 0	0,00 ± 0,00 0 - 0	0,00 ± 0,00 0 - 0	0,00 ± 0,00 0 - 0	
		Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	
		Differenz	Min-Max	52,2 ± 5,45 10 - 60	46,2 ± 5,92 15 - 60	45,2 ± 6,63 13 - 60	49,2 ± 5,16 25 - 60	48,6 ± 6,07 12 - 60	41,9 ± 7,61 9 - 60	41,9 ± 7,61 9 - 60	
	Grip-strength Test Griffstärke (g)	90°	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)	60,0 (60,0 / 60,0)
			Vehikel	Min-Max	58,7 ± 1,30 47 - 60	41,9 ± 7,50 5 - 60	58,0 ± 2,00 42 - 60	41,5 ± 7,48 7 - 60	55,9 ± 4,11 23 - 60	51,4 ± 5,07 26 - 60	51,4 ± 5,07 26 - 60
			Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (-7,50 / 8,75)	0,00 (-26,3 / 0,00)	0,00 (0,00 / 13,0)	0,00 (-14,5 / 0,00)	0,00 (-18,0 / 0,00)	0,00 (-9,50 ± 4,88)
180°		Substanz	Min-Max	-6,50 ± 4,38 (-37) - 0	4,33 ± 8,46 (-27) - 55	-12,8 ± 5,74 (-47) - 0	7,70 ± 3,88 (-5) - 35	-7,33 ± 4,02 (-30) - 0	-9,50 ± 4,88 (-37) - 0	-9,50 ± 4,88 (-37) - 0	
		Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	57,3 (47,6 / 63,3)	34,2 (25,3 / 48,5)	43,0 (34,1 / 47,3)	21,8 (18,2 / 36,2)	41,6 (28,4 / 46,7)	27,7 (24,1 / 36,6)	27,7 (24,1 / 36,6)	
		Differenz	Min-Max	54,9 ± 4,36 28,9 - 73,3	38,8 ± 5,31 21,9 - 69,9	43,0 ± 3,62 29,6 - 65,0	28,0 ± 4,35 13,9 - 57,0	37,6 ± 4,15 13,8 - 53,8	31,1 ± 3,96 18,4 - 53,6	31,1 ± 3,96 18,4 - 53,6	
Grip-strength Test Griffstärke (g)		90°	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	48,3 (38,5 / 63,7)	47,1 (26,6 / 54,4)	39,8 (25,0 / 49,9)	38,2 (26,4 / 44,5)	34,1 (16,1 / 41,7)	38,6 (22,2 / 55,7)	38,6 (22,2 / 55,7)
			Vehikel	Min-Max	49,3 ± 5,35 17,2 - 71,0	40,3 ± 6,57 8,08 - 70,9	39,5 ± 5,17 21,8 - 66,1	36,0 ± 3,26 21,4 - 51,7	30,4 ± 4,28 14,5 - 44,7	38,6 ± 6,17 16,6 - 59,1	38,6 ± 6,17 16,6 - 59,1
			Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	6,4/ (-5,08 / 16,1)	-3,52 (-29,1 / 24,2)	12,2 (-13,6 / 15,2)	-9,30 (-21,0 / 10,6)	4,50 (-9,30 / 26,8)	-10,9 (-26,6 / 5,47)	-10,9 (-26,6 / 5,47)
180°	Substanz	Min-Max	5,55 ± 8,23 (-42,0) - 56,1	-1,51 ± 10,2 (-49,0) - 38,6	3,45 ± 5,31 (-20,4) - 21,2	-8,09 ± 5,52 (-32,9) - 18,9	7,20 ± 7,34 (-30,9) - 32,8	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0		
	Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	5,55 ± 8,23 (-42,0) - 56,1	-1,51 ± 10,2 (-49,0) - 38,6	3,45 ± 5,31 (-20,4) - 21,2	-8,09 ± 5,52 (-32,9) - 18,9	7,20 ± 7,34 (-30,9) - 32,8	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0		
	Differenz	Min-Max	5,55 ± 8,23 (-42,0) - 56,1	-1,51 ± 10,2 (-49,0) - 38,6	3,45 ± 5,31 (-20,4) - 21,2	-8,09 ± 5,52 (-32,9) - 18,9	7,20 ± 7,34 (-30,9) - 32,8	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0	-7,50 ± 8,15 (-32,8) - 37,0		

Tab. 11: Tabellarische Übersicht zum Footprint Test nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935

		6 Monate			9 Monate			12 Monate		
		Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	
Schrittlänge vorne (cm)	Substanz	Median (25./75.)	8,70 (8,33/9,10)	8,34 (7,71/9,00)	8,25 (8,05/9,06)	8,52 (8,02/9,41)	9,36 (9,14/9,85)	9,27 (8,10/9,77)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	8,65 \pm 0,27	8,44 \pm 0,36	8,58 \pm 0,33	8,71 \pm 0,35	9,53 \pm 0,18	9,01 \pm 0,34		
	Min-Max	7,30 - 10,1	7,12 - 10,3	7,16 - 10,3	7,16 - 10,5	9,08 - 10,5	7,62 - 10,2	9,07		
Schrittlänge hinten (cm)	Vehikel	Median (25./75.)	8,45 (8,08/9,71)	8,29 (7,77/9,30)	9,07 (8,36/10,5)	9,11 (7,93/9,60)	8,92 (8,46/10,2)	9,07 (8,71/9,38)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	8,82 \pm 0,41	8,37 \pm 0,36	9,32 \pm 0,41	8,92 \pm 0,37	9,24 \pm 0,42	9,02 \pm 0,15		
	Min-Max	7,23 - 11,2	6,63 - 9,65	7,89 - 11,4	7,02 - 10,5	7,66 - 11,1	8,29 - 9,58	8,29 - 9,58		
Abstand Vorderpfoten (cm)	Differenz	Median (25./75.)	-0,33 (-1,08/1,02)	0,33 (-0,95/0,60)	-0,30 (-1,36/-0,14)	-0,29 (-0,63/0,71)	0,55 (-0,38/1,14)	0,01 (-0,46/0,55)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,16 \pm 0,40	0,06 \pm 0,37	-0,74 \pm 0,38	-0,21 \pm 0,28	0,29 \pm 0,43	-0,02 \pm 0,34		
	Min-Max	(-2,32) - 1,73	(-1,28) - 1,80	(-2,93) - 0,87	(-2,08) - 0,84	(-2,03) - 1,73	(-1,70) - 1,38	9,13		
Footprint	Substanz	Median (25./75.)	8,55 (8,04/8,88)	8,40 (7,66/9,04)	8,26 (7,87/8,93)	8,65 (7,88/9,38)	9,29 (9,04/9,79)	9,13 (8,03/9,73)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	8,46 \pm 0,26	8,40 \pm 0,32	8,50 \pm 0,32	8,67 \pm 0,37	9,41 \pm 0,16	8,93 \pm 0,35		
	Min-Max	7,26 - 9,58	7,18 - 9,84	7,19 - 10,2	6,83 - 10,4	8,90 - 10,1	7,50 - 10,2	9,01		
Footprint	Vehikel	Median (25./75.)	8,47 (8,07/9,74)	8,34 (7,72/9,36)	9,01 (8,24/10,3)	9,25 (7,98/9,63)	8,79 (8,49/10,1)	9,01 (8,58/9,36)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	8,75 \pm 0,40	8,39 \pm 0,37	9,17 \pm 0,40	8,91 \pm 0,37	9,20 \pm 0,41	8,96 \pm 0,15		
	Min-Max	7,05 - 11,1	6,67 - 9,66	7,86 - 11,1	7,10 - 10,5	7,68 - 11,1	8,33 - 9,44	-0,05		
Footprint	Differenz	Median (25./75.)	-0,66 (-1,15/0,80)	0,21 (-0,92/0,52)	-0,32 (-1,09/-0,02)	-0,39 (-0,62/0,68)	0,48 (-0,53/1,16)	-0,05 (-0,62/0,61)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,30 \pm 0,40	0,01 \pm 0,37	-0,67 \pm 0,37	-0,25 \pm 0,29	0,20 \pm 0,45	-0,02 \pm 0,36		
	Min-Max	(-2,28) - 1,68	(-1,37) - 1,83	(-2,88) - 0,78	(-2,21) - 0,92	(-2,23) - 1,63	(-1,66) - 1,58	1,43		
Footprint	Substanz	Median (25./75.)	1,38 (1,30/1,55)	1,29 (1,12/1,45)	1,42 (1,15/1,59)	1,40 (1,32/1,57)	1,32 (1,12/1,54)	1,43 (1,17/1,75)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,46 \pm 0,07	1,29 \pm 0,09	1,38 \pm 0,10	1,44 \pm 0,08	1,35 \pm 0,10	1,45 \pm 0,10		
	Min-Max	1,20 - 1,92	0,92 - 1,72	1,00 - 1,82	1,10 - 1,85	1,02 - 1,80	1,10 - 1,80	1,44		
Footprint	Vehikel	Median (25./75.)	1,26 (1,10/1,48)	1,41 (1,35/1,58)	1,30 (1,18/1,40)	1,39 (1,17/1,45)	1,29 (1,17/1,48)	1,44 (1,26/1,57)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,31 \pm 0,07	1,45 \pm 0,07	1,30 \pm 0,08	1,32 \pm 0,08	1,34 \pm 0,09	1,41 \pm 0,06		
	Min-Max	1,07 - 1,67	1,18 - 1,77	0,88 - 1,80	0,90 - 1,60	1,03 - 1,82	1,18 - 1,62	0,09		
Footprint	Differenz	Median (25./75.)	0,15 (-0,22/0,47)	-0,09 (-0,34/0,04)	0,02 (-0,12/0,28)	0,09 (-0,03/0,20)	-0,01 (-0,07/0,13)	0,09 (-0,13/0,19)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,15 \pm 0,11	-0,16 \pm 0,13	0,08 \pm 0,14	0,12 \pm 0,05	0,00 \pm 0,06	0,04 \pm 0,09		
	Min-Max	(-0,33) - 0,68	(-0,85) - 0,33	(-0,60) - 0,87	(-0,05) - 0,42	(-0,32) - 0,23	(-0,43) - 0,42			

Tab. 12: Tabellarische Übersicht zum Footprint Test nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935

		6 Monate			9 Monate			12 Monate		
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Footprint	Abstand Hinterpfoten (cm)	Median (25. / 75.)	2,48 (2,38 / 2,82)	2,45 (2,27 / 2,66)	2,53 (2,32 / 2,70)	2,47 (2,33 / 2,63)	2,35 (2,05 / 2,65)	2,29 (2,20 / 2,73)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,57 \pm 0,10	2,45 \pm 0,09	2,52 \pm 0,12	2,45 \pm 0,08	2,35 \pm 0,12	2,41 \pm 0,11		
		Min-Max	2,10 - 3,08	2,08 - 2,77	1,97 - 3,22	1,98 - 2,83	1,92 - 2,82	2,02 - 2,82		
	Vehikel	Median (25. / 75.)	2,28 (2,18 / 2,72)	2,54 (2,39 / 2,66)	2,32 (2,22 / 2,52)	2,49 (2,08 / 2,58)	2,49 (2,21 / 2,79)	2,23 (2,13 / 2,56)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,41 \pm 0,09	2,52 \pm 0,09	2,37 \pm 0,08	2,37 \pm 0,08	2,45 \pm 0,13	2,31 \pm 0,11		
		Min-Max	2,07 - 2,83	2,12 - 2,90	2,00 - 2,82	1,97 - 2,68	1,82 - 2,82	1,85 - 2,80		
	Differenz	Median (25. / 75.)	0,24 (-0,07 / 0,32)	-0,11 (-0,36 / 0,13)	0,03 (-0,11 / 0,35)	0,08 (-0,10 / 0,13)	-0,13 (-0,16 / -0,03)	0,01 (-0,10 / 0,24)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,15 \pm 0,08	-0,08 \pm 0,13	0,15 \pm 0,12	0,08 \pm 0,09	-0,10 \pm 0,04	0,10 \pm 0,10		
		Min-Max	(-0,30) - 0,60	(-0,50) - 0,58	(-0,15) - 0,98	(-0,30) - 0,75	(-0,25) - 0,10	(-0,18) - 0,68		
Footprint	Abstand Vorder- zu Hinterpfote links (cm)	Median (25. / 75.)	0,79 (0,55 / 0,83)	0,61 (0,42 / 0,84)	0,88 (0,73 / 1,00)	0,74 (0,67 / 0,82)	0,65 (0,48 / 0,79)	0,67 (0,33 / 0,90)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,75 \pm 0,08	0,62 \pm 0,09	0,87 \pm 0,06	0,75 \pm 0,03	0,66 \pm 0,08	0,64 \pm 0,11		
		Min-Max	0,38 - 1,17	0,27 - 0,95	0,55 - 1,12	0,60 - 0,90	0,38 - 1,05	0,23 - 1,08		
	Vehikel	Median (25. / 75.)	0,77 (0,40 / 0,93)	0,58 (0,47 / 0,76)	0,72 (0,62 / 0,87)	0,72 (0,63 / 0,97)	0,73 (0,55 / 0,98)	0,50 (0,46 / 0,67)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,71 \pm 0,09	0,60 \pm 0,08	0,76 \pm 0,11	0,81 \pm 0,10	0,73 \pm 0,09	0,54 \pm 0,04		
		Min-Max	0,27 - 1,12	0,27 - 0,95	0,27 - 1,33	0,32 - 1,47	0,35 - 1,00	0,40 - 0,70		
	Differenz	Median (25. / 75.)	0,06 (-0,32 / 0,27)	-0,07 (-0,15 / 0,29)	0,20 (-0,05 / 0,31)	0,05 (-0,22 / 0,17)	-0,11 (-0,19 / 0,04)	0,15 (-0,21 / 0,35)		
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,05 \pm 0,13	0,01 \pm 0,11	0,11 \pm 0,12	-0,06 \pm 0,11	-0,08 \pm 0,06	0,10 \pm 0,11		
		Min-Max	(-0,55) - 0,90	(-0,50) - 0,45	(-0,60) - 0,62	(-0,87) - 0,42	(-0,30) - 0,22	(-0,32) - 0,50		
Substanz	Median (25. / 75.)	0,76 (0,65 / 0,98)	0,81 (0,80 / 0,87)	0,73 (0,61 / 0,86)	0,72 (0,47 / 0,93)	0,69 (0,58 / 0,75)	0,8 (0,62 / 0,89)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,78 \pm 0,07	0,87 \pm 0,06	0,76 \pm 0,08	0,71 \pm 0,09	0,76 \pm 0,11	0,74 \pm 0,07			
	Min-Max	0,45 - 1,12	0,75 - 1,28	0,42 - 1,17	0,30 - 1,20	0,55 - 1,47	0,37 - 0,97			
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,83 (0,53 / 0,87)	0,70 (0,50 / 0,80)	0,83 (0,63 / 0,89)	0,72 (0,57 / 0,97)	0,73 (0,62 / 0,81)	0,58 (0,50 / 0,63)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,73 \pm 0,06	0,65 \pm 0,06	0,76 \pm 0,08	0,73 \pm 0,09	0,70 \pm 0,06	0,57 \pm 0,04			
	Min-Max	0,32 - 0,93	0,37 - 0,80	0,23 - 1,10	0,20 - 1,13	0,38 - 0,90	0,37 - 0,75			
Differenz	Median (25. / 75.)	0,01 (-0,15 / 0,15)	0,20 (0,06 / 0,42)	-0,02 (-0,25 / 0,20)	0,03 (-0,17 / 0,12)	-0,05 (-0,14 / 0,12)	0,22 (-0,01 / 0,35)			
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,05 \pm 0,10	0,23 \pm 0,07	0,01 \pm 0,10	-0,02 \pm 0,07	0,06 \pm 0,11	0,16 \pm 0,08			
	Min-Max	(-0,38) - 0,62	(-0,02) - 0,48	(-0,37) - 0,55	(-0,47) - 0,37	(-0,15) - 0,75	(-0,32) - 0,48			

Tab. 13: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa für die Parameter „Dystonic“, Sniffing und Putzen

	3 Monate		6 Monate		9 Monate		12 Monate	
	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI	Kontrollen	DYTI
Substanz	Median (25./75.)	4,5 (0,0/6,0)	5,5 (4,0/6,0)	4,0 (4,0/5,0)	5,5 (3,0/7,0)	4,0 (4,0/5,0)	4,0 (4,0/6,0)	5,5 (5,0/6,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	3,40 ± 0,83	5,40 ± 0,54	4,40 ± 0,37	5,10 ± 0,64	4,50 ± 0,37	4,50 ± 0,37	5,50 ± 0,56
	Min-Max	0-6	3-8	3-7	2-8	3-7	3-8	3-7
„Dystonic“	Median (25./75.)	0,0 (0,0/1,0)	1,5 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,40 ± 0,22	1,10 ± 0,31	0,20 ± 0,13	0,30 ± 0,21	0,60 ± 0,27	0,60 ± 0,27	1,00 ± 0,30
	Min-Max	0-2	0-2	0-1	0-2	0-2	0-2	0-2
Differenz	Median (25./75.)	3,5 (0,0/5,0)	5,5 (2,0/6,0)	4,0 (4,0/5,0)	5,5 (3,0/6,0)	4,0 (3,0/4,0)	4,0 (3,0/5,0)	4,0 (3,0/6,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	3,00 ± 0,76	4,30 ± 0,65	4,20 ± 0,29	4,80 ± 0,53	3,90 ± 0,46	3,90 ± 0,46	4,10 ± 0,41
	Min-Max	0-6	1-6	3-6	2-7	2-7	2-6	2-8
Substanz	Median (25./75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,30 ± 0,21	0,30 ± 0,15	1,40 ± 0,27	1,70 ± 0,21	0,60 ± 0,16	0,60 ± 0,16	1,20 ± 0,20
	Min-Max	0-2	0-1	0-3	1-3	0-1	0-2	0-2
Vehikel	Median (25./75.)	1,0 (0,0/2,0)	1,5 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,00 ± 0,30	1,30 ± 0,26	1,70 ± 0,15	1,80 ± 0,20	1,70 ± 0,15	1,70 ± 0,15	1,20 ± 0,20
	Min-Max	0-2	0-2	1-2	1-3	1-2	1-2	0-2
Differenz	Median (25./75.)	-0,5 (-2,0/0,0)	-1,0 (-2,0/0,0)	0,0 (-1,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	-1,0 (-2,0/0,0)	-1,0 (-2,0/-1,0)	0,0 (0,0/1,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,70 ± 0,33	-1,00 ± 0,33	-0,30 ± 0,30	-0,10 ± 0,18	-1,10 ± 0,28	-1,10 ± 0,28	0,00 ± 0,30
	Min-Max	(-2) - 1	(-2) - 1	(-2) - 1	(-1) - 1	(-2) - 0	(-1) - 1	(-2) - 1
Substanz	Median (25./75.)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,50 ± 0,22	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,13	0,20 ± 0,13
	Min-Max	0-2	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-1
Vehikel	Median (25./75.)	1,5 (0,0/2,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,5 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,10 ± 0,31	0,60 ± 0,22	0,70 ± 0,26	0,70 ± 0,26	0,60 ± 0,22	0,70 ± 0,26	0,20 ± 0,20
	Min-Max	0-2	0-2	0-2	0-2	0-2	0-2	0-2
Differenz	Median (25./75.)	-0,5 (-1,0/0,0)	-1,0 (-1,0/0,0)	-0,5 (-1,0/0,0)	-0,5 (-1,0/0,0)	-0,5 (-1,0/0,0)	-0,5 (-1,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,60 ± 0,31	-0,60 ± 0,22	-0,70 ± 0,26	-0,70 ± 0,26	-0,60 ± 0,22	-0,70 ± 0,26	0,00 ± 0,15
	Min-Max	(-2) - 1	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-1) - 1

Tab. 14: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 100 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa für die Parameter Straub tail, Aktivität und Block Test

	3 Monate			6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1		Kontrollen	DYT1	
Substanz	Median (25. / 75.)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	3,0 (2,0 / 3,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,60 ± 0,27	2,10 ± 0,18	1,50 ± 0,22	2,60 ± 0,16	1,60 ± 0,27	1,60 ± 0,27	1,60 ± 0,27	1,60 ± 0,27	1,40 ± 0,27	1,60 ± 0,16	
	Min-Max	0 - 3	1 - 3	1 - 3	2 - 3	1 - 3	1 - 3	1 - 3	1 - 3	1 - 3	1 - 2	
Straub tail	Median (25. / 75.)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,90 ± 0,23	1,30 ± 0,21	1,10 ± 0,10	1,00 ± 0,15	0,90 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,90 ± 0,10	1,00 ± 0,10	0,80 ± 0,25	
	Min-Max	0 - 2	0 - 2	1 - 2	0 - 2	0 - 1	0 - 1	1 - 2	1 - 2	1 - 1	0 - 2	
Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	0,5 (0,0 / 1,0)	0,5 (0,0 / 1,0)	0,5 (0,0 / 1,0)	0,5 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,70 ± 0,33	0,80 ± 0,13	0,40 ± 0,27	1,60 ± 0,27	0,70 ± 0,26	0,70 ± 0,26	0,70 ± 0,26	0,70 ± 0,26	0,40 ± 0,27	0,80 ± 0,20	
	Min-Max	(-1) - 3	0 - 1	(-1) - 2	0 - 3	0 - 2	(-1) - 2	(-1) - 2	(-1) - 2	0 - 2	0 - 2	
Substanz	Median (25. / 75.)	-2,5 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-2,40 ± 0,22	-2,60 ± 0,16	-2,10 ± 0,18	-2,10 ± 0,18	-2,20 ± 0,13	-2,20 ± 0,13	-2,20 ± 0,13	-2,20 ± 0,13	-2,30 ± 0,15	-2,20 ± 0,13	
	Min-Max	(-3) - (-1)	(-3) - (-2)	(-3) - (-1)	(-3) - (-1)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	
Aktivität	Median (25. / 75.)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -1,0)	-1,0 (-1,0 / -1,0)	-1,0 (-1,0 / -1,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-1,70 ± 0,21	-1,70 ± 0,26	-0,90 ± 0,18	-1,00 ± 0,15	-0,60 ± 0,16	-0,60 ± 0,16	-0,60 ± 0,16	-0,60 ± 0,16	-0,30 ± 0,15	-0,60 ± 0,27	
	Min-Max	(-2) - 0	(-3) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	(-2) - 0	
Differenz	Median (25. / 75.)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-2,0 (-2,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -1,0)	-1,0 (-1,0 / -1,0)	-1,5 (-2,0 / -1,0)	-1,5 (-2,0 / -1,0)	-1,5 (-2,0 / -1,0)	-1,5 (-2,0 / -1,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-2,0 (-2,0 / -1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,70 ± 0,26	-0,90 ± 0,28	-1,20 ± 0,25	-1,10 ± 0,18	-1,60 ± 0,22	-1,60 ± 0,22	-1,60 ± 0,22	-1,60 ± 0,22	-2,00 ± 0,21	-1,60 ± 0,22	
	Min-Max	(-2) - 1	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-3) - (-1)	(-3) - (-1)	(-3) - (-1)	(-2) - (-1)	(-3) - (-1)	(-2) - 0	
Substanz	Median (25. / 75.)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	7,00 (2,00 / 8,00)	7,00 (2,00 / 8,00)	7,00 (2,00 / 8,00)	7,00 (2,00 / 8,00)	5,00 (3,00 / 18,0)	20,0 (0,00 / 30,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 ± 0,00	1,50 ± 0,89	1,30 ± 0,47	0,40 ± 0,27	7,90 ± 2,72	7,90 ± 2,72	7,90 ± 2,72	7,90 ± 2,72	9,40 ± 3,30	16,2 ± 4,51	
	Min-Max	0 - 0	0 - 8	0 - 4	0 - 2	0 - 30	0 - 30	0 - 30	0 - 30	0 - 30	0 - 30	
Block Test (s)	Median (25. / 75.)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	3,00 (0,00 / 6,00)	2,50 (0,00 / 4,00)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,30 ± 0,30	0,00 ± 0,00	1,10 ± 0,53	1,10 ± 0,53	1,10 ± 0,53	1,10 ± 0,53	0,90 ± 0,38	3,80 ± 1,45	
	Min-Max	0 - 0	0 - 0	0 - 3	0 - 0	0 - 5	0 - 5	0 - 5	0 - 5	0 - 3	0 - 12	
Differenz	Median (25. / 75.)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	6,00 (2,00 / 8,00)	6,00 (2,00 / 8,00)	6,00 (2,00 / 8,00)	6,00 (2,00 / 8,00)	2,00 (0,00 / 10,0)	10,5 (0,00 / 26,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 ± 0,00	1,50 ± 0,89	1,00 ± 0,52	0,40 ± 0,27	6,80 ± 2,30	6,80 ± 2,30	6,80 ± 2,30	6,80 ± 2,30	6,00 ± 3,24	12,4 ± 4,13	
	Min-Max	0 - 0	0 - 8	(-1) - 4	0 - 2	0 - 25	0 - 25	0 - 25	0 - 25	(-4) - 24	(-1) - 30	

Tab. 15: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935 für die Parameter „Dystonie“, Sniffing und Putzen

	6 Monate			9 Monate			12 Monate		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Substanz	Median (25. / 75.)	2,0 (2,0 / 3,25)	0,0 (0,0 / 0,0)	2,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	2,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	2,0 (0,0 / 2,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,50 \pm 0,27	2,44 \pm 0,34	0,11 \pm 0,11	1,20 \pm 0,33	0,11 \pm 0,11	1,22 \pm 0,40	0,11 \pm 0,11	
	Min-Max	0 - 2	1 - 4	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 3	0 - 3	
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (0,0 / 2,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,70 \pm 0,30	1,78 \pm 0,32	0,33 \pm 0,24	1,20 \pm 0,33	0,33 \pm 0,24	1,11 \pm 0,35	0,56 \pm 0,24	
	Min-Max	0 - 2	1 - 4	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	
Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,20 \pm 0,25	0,67 \pm 0,24	-0,22 \pm 0,28	0,00 \pm 0,30	0,00 \pm 0,30	-0,44 \pm 0,29	0,11 \pm 0,11	
	Min-Max	(-2) - 1	0 - 2	(-2) - 1	(-2) - 2	(-2) - 1	(-2) - 1	0 - 1	
Substanz	Median (25. / 75.)	3,0 (3,0 / 3,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	3,0 (2,0 / 3,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	3,0 (2,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (2,75 / 3,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,90 \pm 0,10	2,00 \pm 0,00	2,56 \pm 0,18	1,90 \pm 0,10	2,89 \pm 0,11	2,78 \pm 0,15	2,78 \pm 0,15	
	Min-Max	2 - 3	2 - 2	2 - 3	1 - 2	2 - 3	2 - 3	2 - 3	
Vehikel	Median (25. / 75.)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,80 \pm 0,20	1,67 \pm 0,17	1,44 \pm 0,18	1,20 \pm 0,13	1,89 \pm 0,11	1,67 \pm 0,17	1,67 \pm 0,17	
	Min-Max	1 - 3	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	
Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,25)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,10 \pm 0,23	0,33 \pm 0,17	1,11 \pm 0,20	0,70 \pm 0,15	1,00 \pm 0,17	1,11 \pm 0,20	1,11 \pm 0,20	
	Min-Max	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 2	0 - 2	
Substanz	Median (25. / 75.)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,70 \pm 0,21	1,00 \pm 0,29	0,44 \pm 0,24	0,40 \pm 0,22	0,78 \pm 0,28	0,56 \pm 0,24	0,56 \pm 0,24	
	Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,5 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	1,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,70 \pm 0,26	0,22 \pm 0,15	0,67 \pm 0,24	0,30 \pm 0,15	0,78 \pm 0,28	0,33 \pm 0,17	0,33 \pm 0,17	
	Min-Max	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 1	
Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (-1,0 / 1,0)	1,0 (-0,25 / 2,0)	0,0 (-1,0 / 0,25)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 \pm 0,37	0,78 \pm 0,40	-0,22 \pm 0,32	0,10 \pm 0,28	0,00 \pm 0,29	0,22 \pm 0,22	0,22 \pm 0,22	
	Min-Max	(-2) - 2	(-1) - 2	(-2) - 1	(-1) - 2	(-1) - 1	(-1) - 1	(-1) - 1	

Tab. 16: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 15 mg/kg GBR 12935 für die Parameter Straub tail, Aktivität und Block Test

		6 Monate		9 Monate		12 Monate		
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Straub tail	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	2,0 (1,0 / 2,0) 1,80 \pm 0,20	2,0 (1,0 / 3,0) 1,78 \pm 0,36	1,0 (1,0 / 2,0) 1,33 \pm 0,17	2,0 (1,0 / 2,0) 1,90 \pm 0,23	1,0 (1,0 / 1,25) 1,22 \pm 0,15	2,0 (2,0 / 3,0) 2,33 \pm 0,24
	Vehikel	Min-Max	1 - 3	0 - 3	1 - 2	1 - 3	1 - 2	1 - 3
	Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	1,0 (1,0 / 1,0) 1,10 \pm 0,18	1,0 (1,0 / 1,25) 1,11 \pm 0,20	1,0 (1,0 / 1,0) 0,89 \pm 0,11	1,0 (1,0 / 1,0) 0,90 \pm 0,10	1,0 (1,0 / 1,0) 0,90 \pm 0,10	1,0 (1,0 / 1,0) 1,00 \pm 0,00
Aktivität	Substanz	Min-Max	0 - 1	0 - 3	0 - 1	0 - 1	0 - 1	1 - 3
	Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	1,0 (0,0 / 1,0) 0,70 \pm 0,15	1,0 (0,0 / 1,25) 0,67 \pm 0,33	0,0 (0,0 / 1,0) 0,44 \pm 0,18	1,0 (0,0 / 2,0) 1,00 \pm 0,26	0,0 (0,0 / 0,25) 0,22 \pm 0,15	0,0 (0,0 / 0,25) 0,78 \pm 0,32
	Differenz	Min-Max	0 - 1	(-1) - 2	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Block Test (s)	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	2,0 (1,0 / 2,0) 1,60 \pm 0,16	3,0 (1,75 / 3,0) 2,33 \pm 0,29	1,0 (0,75 / 2,0) 1,11 \pm 0,26	2,0 (1,0 / 2,0) 1,90 \pm 0,31	2,0 (1,0 / 2,0) 1,78 \pm 0,22	2,0 (2,0 / 2,25) 2,00 \pm 0,29
	Vehikel	Min-Max	1 - 2	1 - 3	0 - 2	1 - 4	1 - 3	0 - 3
	Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,0 (0,0 / 0,0) 0,20 \pm 0,13	0,0 (0,0 / 0,25) 0,22 \pm 0,28	0,0 (0,0 / 0,0) 0,00 \pm 0,00	0,0 (0,0 / 1,0) 0,50 \pm 0,31	0,0 (0,0 / 0,0) 0,00 \pm 0,00	0,0 (0,0 / 0,0) 0,44 \pm 0,34
Block Test (s)	Substanz	Min-Max	0 - 1	(-1) - 2	0 - 0	0 - 3	0 - 0	0 - 3
	Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	1,0 (1,0 / 2,0) 1,40 \pm 0,16	2,0 (1,75 / 3,0) 2,11 \pm 0,26	1,0 (0,75 / 2,0) 1,11 \pm 0,26	1,0 (1,0 / 2,0) 1,40 \pm 0,22	2,0 (1,0 / 2,0) 1,78 \pm 0,22	2,0 (1,5 / 2,0) 1,56 \pm 0,41
	Differenz	Min-Max	1 - 2	1 - 3	0 - 2	1 - 3	1 - 3	(-1) - 3
Block Test (s)	Substanz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,00 (0,00 / 0,00) 0,60 \pm 0,40	2,00 (0,00 / 2,50) 1,78 \pm 0,70	0,00 (0,00 / 0,00) 0,22 \pm 0,22	4,50 (0,00 / 6,00) 4,00 \pm 1,00	0,00 (0,00 / 1,25) 0,56 \pm 0,29	0,00 (0,00 / 2,50) 1,44 \pm 0,84
	Vehikel	Min-Max	0 - 3	0 - 6	0 - 2	0 - 8	0 - 2	0 - 7
	Differenz	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,00 (0,00 / 0,00) 0,50 \pm 0,34	0,00 (0,00 / 1,25) 1,11 \pm 0,77	1,00 (0,00 / 2,00) 1,00 \pm 0,33	4,50 (0,00 / 7,00) 4,60 \pm 1,32	2,00 (0,00 / 2,00) 1,11 \pm 0,35	3,00 (0,00 / 7,25) 3,56 \pm 1,23
Block Test (s)	Substanz	Min-Max	0 - 3	0 - 7	0 - 2	0 - 13	0 - 2	0 - 8
	Vehikel	Median (25. / 75.) $\bar{x} \pm S.E.$	0,00 (0,00 / 0,00) 0,10 \pm 0,38	0,00 (-1,00 / 2,00) 0,67 \pm 0,65	-1,00 (-2,00 / 0,00) -0,78 \pm 0,46	0,00 (-4,00 / 1,00) -0,60 \pm 1,42	0,00 (-2,00 / 0,00) -0,56 \pm 0,38	-1,00 (-4,75 / 0,00) -2,11 \pm 1,26
	Differenz	Min-Max	(-2) - 3	(-2) - 4	(-2) - 2	(-7) - 8	(-2) - 1	(-8) - 4

Tab. 17: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter „Dystonic“, Sniffing und Putzen

		L-DOPA 25 mg/kg			GBRI 2935 45mg/kg			Amphetamin 5 mg/kg			Amphetamin 10 mg/kg		
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Substanz	Median (25./75.)	1,0 (1,0/2,0)	2,5 (2,0/3,0)	0,0 (0,0/2,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,25)	1,0 (0,75/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,75/1,25)	0,0 (0,0/2,5)	1,0 (1,0/1,75)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,20 ± 0,20	2,60 ± 0,43	0,80 ± 0,49	0,60 ± 0,40	0,20 ± 0,20	0,60 ± 0,40	0,20 ± 0,20	1,40 ± 0,51	1,20 ± 0,80	1,40 ± 0,51	1,20 ± 0,80	1,60 ± 0,60
	Min-Max	0-2	0-5	0-2	0-2	0-1	0-2	0-1	0-3	0-4	0-3	0-4	1-4
Vehikel	Median (25./75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,5)	0,0 (0,0/0,5)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,10 ± 0,10	0,50 ± 0,22	0,60 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,00 ± 0,00	0,60 ± 0,40	0,00 ± 0,00	1,00 ± 0,32	0,60 ± 0,40	1,00 ± 0,32	0,60 ± 0,40	0,80 ± 0,37
	Min-Max	0-1	0-2	0-2	0-2	0-0	0-2	0-0	0-2	0-2	0-2	0-2	0-2
Differenz	Median (25./75.)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (2,0/3,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,5)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,25)	3,0 (3,0/3,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	3,0 (3,0/3,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (-0,25/1,75)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,10 ± 0,23	2,10 ± 0,43	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,63	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,63	0,20 ± 0,20	0,40 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,40 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,80 ± 0,86
	Min-Max	0-2	0-4	0-1	(-2)-2	0-1	(-2)-2	0-1	0-2	0-2	0-2	0-2	(-1)-4
Substanz	Median (25./75.)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	2,75 (2,75/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	1,0 (1,0/2,0)	3,0 (3,0/3,0)	1,0 (1,0/2,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,40 ± 0,27	1,80 ± 0,20	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,80 ± 0,20	3,00 ± 0,00	2,80 ± 0,20	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	Min-Max	0-3	1-3	3-3	3-3	2-3	3-3	2-3	3-3	3-3	3-3	3-3	3-3
Vehikel	Median (25./75.)	1,5 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (2,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,40 ± 0,22	1,60 ± 0,16	1,60 ± 0,40	1,60 ± 0,40	1,40 ± 0,24	1,60 ± 0,24	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,24	2,20 ± 0,20	1,40 ± 0,24
	Min-Max	0-2	1-2	1-3	1-3	0-2	1-2	0-2	1-2	1-2	1-2	2-3	1-2
Differenz	Median (25./75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	2,0 (0,75/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,5)	1,0 (1,0/1,5)	1,0 (0,75/1,0)	0,0 (0,0/1,5)	1,0 (0,75/1,0)	0,0 (0,0/1,5)	1,0 (0,75/1,0)	2,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 ± 0,21	0,20 ± 0,25	1,40 ± 0,40	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,40	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,40	1,60 ± 0,24	1,60 ± 0,24	1,60 ± 0,24	0,80 ± 0,20	1,60 ± 0,24
	Min-Max	(-1)-1	(-1)-1	0-2	1-2	1-3	1-2	1-3	1-2	1-2	1-2	0-1	1-2
Substanz	Median (25./75.)	1,5 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,5)	1,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/3,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,20 ± 0,29	1,10 ± 0,28	1,00 ± 0,55	0,80 ± 0,37	0,80 ± 0,37	0,80 ± 0,37	0,60 ± 0,40	0,80 ± 0,58	0,80 ± 0,58	0,80 ± 0,58	0,00 ± 0,00	1,20 ± 0,73
	Min-Max	0-2	0-2	0-3	0-2	0-2	0-2	0-2	0-3	0-3	0-3	0-0	0-3
Vehikel	Median (25./75.)	1,5 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,75/1,25)	1,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/2,0)	0,0 (-0,25/1,0)	0,0 (0,0/2,0)	0,0 (-0,25/1,0)	2,0 (1,0/2,0)	1,0 (0,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,10 ± 0,31	0,80 ± 0,25	1,00 ± 0,32	0,40 ± 0,24	0,80 ± 0,49	0,40 ± 0,24	0,80 ± 0,49	0,60 ± 0,40	0,60 ± 0,40	0,60 ± 0,40	1,60 ± 0,24	1,00 ± 0,45
	Min-Max	0-2	0-2	0-2	0-1	0-2	0-1	0-2	0-2	0-2	0-2	1-2	0-2
Differenz	Median (25./75.)	0,0 (0,0/1,0)	0,5 (-1,0/2,0)	0,0 (-1,0/0,5)	1,0 (-0,25/1,0)	0,0 (-2,0/1,25)	1,0 (-2,0/1,25)	0,0 (-2,0/1,25)	3,0 (2,75/3,0)	0,0 (-2,0/1,0)	3,0 (2,75/3,0)	-2,0 (-2,0/-1,0)	-1,0 (-2,0/3,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,10 ± 0,35	0,30 ± 0,50	0,00 ± 0,55	0,40 ± 0,40	0,00 ± 0,80	0,40 ± 0,40	0,00 ± 0,80	0,20 ± 0,37	-1,60 ± 0,24	0,20 ± 0,37	-1,60 ± 0,24	0,20 ± 1,16
	Min-Max	(-2)-2	(-2)-2	(-1)-2	(-1)-1	(-2)-2	(-1)-1	(-2)-2	(-1)-1	(-2)-2	(-1)-1	(-2)-2	(-2)-3

Tab. 18: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter Straub tail, Aktivität und Block Test

	L-DOPA 25 mg/kg			GBR1 2935 45mg/kg			Amphetamin 5 mg/kg			Amphetamin 10 mg/kg		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Straub tail	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0/1,0)	3,0 (2,75/3,0)	2,0 (1,75/3,0)	3,0 (2,75/3,0)	3,0 (2,75/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (3,0/3,0)	3,0 (1,75/3,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,00 ± 0,15	2,80 ± 0,20	2,20 ± 0,37	2,80 ± 0,20	2,80 ± 0,20	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,40 ± 0,40
	Min-Max	0 - 2	2 - 3	1 - 3	2 - 3	2 - 3	3 - 3	3 - 3	3 - 3	3 - 3	3 - 3	1 - 3
Vehikel	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (0,75/1,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,10 ± 0,10	1,20 ± 0,20	1,40 ± 0,24	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,20 ± 0,20	1,00 ± 0,32
	Min-Max	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	0 - 2
Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0/0,0)	2,0 (1,5/2,0)	1,0 (0,0/1,25)	2,0 (1,5/2,0)	2,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	1,0 (0,75/2,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,10 ± 0,18	1,60 ± 0,40	0,80 ± 0,37	1,60 ± 0,40	1,60 ± 0,24	1,80 ± 0,20	1,80 ± 0,20	1,80 ± 0,20	1,80 ± 0,20	1,80 ± 0,20	1,40 ± 0,51
	Min-Max	(-1) - 1	0 - 2	0 - 2	0 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	0 - 3
Substanz	Median (25. / 75.)	-1,0 (-1,0/-1,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,75/3,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-1,00 ± 0,21	1,20 ± 0,26	2,20 ± 0,37	1,20 ± 0,37	2,20 ± 0,37	2,40 ± 0,24	2,40 ± 0,24	2,40 ± 0,24	2,40 ± 0,24	2,40 ± 0,24	1,60 ± 0,24
	Min-Max	(-2) - 0	0 - 2	1 - 3	0 - 2	1 - 2	2 - 3	2 - 2	2 - 2	2 - 2	2 - 2	1 - 2
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (-1,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,50 ± 0,22	-1,00 ± 0,15	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	Min-Max	(-2) - 0	(-2) - 0	0 - 1	0 - 0	0 - 1	0 - 0	0 - 1	0 - 0	0 - 1	0 - 0	0 - 0
Differenz	Median (25. / 75.)	-0,5 (-1,0/0,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,5/3,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (2,0/2,0)	2,0 (1,0/2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,50 ± 0,17	1,20 ± 0,37	2,00 ± 0,55	1,20 ± 0,37	2,00 ± 0,55	2,20 ± 0,37	2,20 ± 0,37	2,20 ± 0,37	2,20 ± 0,37	2,20 ± 0,37	1,60 ± 0,24
	Min-Max	(-1) - 0	0 - 2	0 - 3	0 - 2	1 - 2	1 - 3	1 - 2	1 - 2	1 - 3	2 - 2	1 - 2
Substanz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,30 ± 0,30	0,90 ± 0,71	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	Min-Max	0 - 3	0 - 7	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 0	0 - 0
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,00)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/1,00)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/0,50)	0,0 (0,0/0,50)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,20 ± 0,20	0,70 ± 0,70	0,00 ± 0,00	0,40 ± 0,40	0,80 ± 0,80	0,40 ± 0,40	0,40 ± 0,40	0,40 ± 0,40	0,40 ± 0,40	0,40 ± 0,40	0,40 ± 0,40
	Min-Max	0 - 2	0 - 7	0 - 0	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 4	0 - 2
Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (-1,0/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-1,00/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)	0,0 (-0,50/0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,10 ± 0,10	0,20 ± 0,90	0,00 ± 0,00	-0,80 ± 0,80	-0,80 ± 0,80	-0,40 ± 0,40	-0,40 ± 0,40	-0,40 ± 0,40	-0,40 ± 0,40	-0,40 ± 0,40	-0,40 ± 0,40
	Min-Max	0 - 1	(-5) - 7	0 - 0	(-4) - 0	(-4) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-4) - 0	(-2) - 0

Tab. 19: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter „Dystonic“, Sniffing und Putzen

		A 68930 1 mg/kg		A 68930 2 mg/kg		SCH 39166 0,3 mg/kg		SCH 39166 0,6 mg/kg	
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Substanz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,5)	1,0 (0,75 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	1,0 (0,75 / 3,25)	0,0 (0,0 / 0,25)	0,0 (0,0 / 0,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 \pm 0,00	0,60 \pm 0,00	0,40 \pm 0,40	1,20 \pm 0,37	0,20 \pm 0,20	1,80 \pm 0,73	0,20 \pm 0,20	2,20 \pm 0,58
	Min-Max	0 - 0	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 1	0 - 4	0 - 1	1 - 4
Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (0,75 / 2,0)	0,0 (0,0 / 0,25)	2,0 (0,75 / 2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,60 \pm 0,40	0,80 \pm 0,37	0,60 \pm 0,40	0,80 \pm 0,37	0,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,40	0,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,40
	Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2
Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (-1,25 / 0,0)	0,0 (-1,25 / 1,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 1,25)	0,0 (-0,25 / 0,25)	0,0 (-0,25 / 1,25)	0,0 (-0,25 / 0,25)	0,0 (0,0 / 1,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,60 \pm 0,40	-0,20 \pm 0,58	-0,20 \pm 0,20	0,40 \pm 0,51	0,00 \pm 0,32	0,40 \pm 0,51	0,00 \pm 0,32	0,80 \pm 0,37
	Min-Max	(-2) - 0	(-2) - 1	(-1) - 0	(-1) - 2	(-1) - 1	(-1) - 2	(-1) - 1	0 - 2
Substanz	Median (25. / 75.)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	3,0 (3,0 / 3,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	3,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,32	0,80 \pm 0,20
	Min-Max	3 - 3	3 - 3	3 - 3	3 - 3	1 - 1	1 - 1	0 - 2	0 - 1
Vehikel	Median (25. / 75.)	2,0 (2,0 / 2,25)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,24	2,20 \pm 0,20	1,60 \pm 0,24	1,40 \pm 0,24	1,60 \pm 0,24	1,40 \pm 0,24	1,60 \pm 0,24
	Min-Max	2 - 3	1 - 2	2 - 3	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2
Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (0,75 / 1,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,25)	-1,0 (-1,25 / 0,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,80 \pm 0,20	1,60 \pm 0,24	0,80 \pm 0,20	1,40 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,24	-0,60 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,40	-0,80 \pm 0,37
	Min-Max	0 - 1	1 - 2	0 - 1	1 - 2	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 1	(-2) - 0
Substanz	Median (25. / 75.)	3,0 (1,75 / 3,0)	3,0 (2,25 / 3,0)	2,0 (1,75 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,40 \pm 0,40	2,40 \pm 0,60	2,00 \pm 0,32	1,80 \pm 0,37	0,80 \pm 0,37	0,60 \pm 0,40	1,00 \pm 0,45	1,00 \pm 0,45
	Min-Max	1 - 3	0 - 3	1 - 3	1 - 3	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2
Vehikel	Median (25. / 75.)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,60 \pm 0,24	1,00 \pm 0,45	1,60 \pm 0,24	0,60 \pm 0,24	1,00 \pm 0,32	0,80 \pm 0,37	1,00 \pm 0,32	0,80 \pm 0,37
	Min-Max	1 - 2	0 - 2	1 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2
Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (0,75 / 1,0)	2,0 (0,25 / 3,0)	0,0 (-0,25 / 1,25)	1,0 (0,0 / 2,25)	0,0 (-0,25 / 1,25)	0,0 (0,0 / 2,25)	0,0 (-1,0 / 0,25)	0,0 (-1,25 / 1,25)
	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,80 \pm 0,20	1,40 \pm 0,93	0,40 \pm 0,51	1,20 \pm 0,58	-0,20 \pm 0,37	-0,20 \pm 0,37	0,00 \pm 0,71	0,20 \pm 0,58
	Min-Max	0 - 1	(-2) - 3	(-1) - 2	0 - 3	(-1) - 1	(-1) - 1	(-2) - 2	(-1) - 2

Tab. 20: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter Straub tail, Aktivität und Block Test

		A 68930 1 mg/kg			A 68930 2 mg/kg			SCH 39166 0,3 mg/kg			SCH 39166 0,6 mg/kg		
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Straub tail	Substanz	Median (25. / 75.)	2,0 (2,0 / 2,25)	3,0 (2,75 / 3,0)	2,0 (2,0 / 3,0)	3,0 (2,0 / 3,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,20 \pm 0,20	2,80 \pm 0,20	2,40 \pm 0,24	2,60 \pm 0,24	0,60 \pm 0,24	0,60 \pm 0,24	0,80 \pm 0,20	0,80 \pm 0,20	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	
		Min-Max	2 - 3	2 - 3	2 - 3	2 - 3	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	1 - 1	1 - 1	
Straub tail	Vehikel	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (1,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,25)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,20 \pm 0,20	1,00 \pm 0,32	1,20 \pm 0,20	1,00 \pm 0,32	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	
		Min-Max	1 - 2	0 - 2	1 - 2	0 - 2	1 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	
Aktivität	Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (0,75 / 1,25)	2,0 (1,0 / 2,25)	1,0 (0,75 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,00 \pm 0,32	1,80 \pm 0,37	1,20 \pm 0,37	1,60 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,24	-0,20 \pm 0,20	-0,20 \pm 0,20	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	
		Min-Max	0 - 2	1 - 3	0 - 2	1 - 2	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	0 - 0	0 - 0	
Aktivität	Substanz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -0,75)	-1,0 (-2,25 / -0,75)	-2,0 (-2,25 / -2,0)	-2,0 (-2,25 / -2,0)	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-2,0 (-2,25 / -2,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 \pm 0,00	0,40 \pm 0,24	0,40 \pm 0,24	0,00 \pm 0,00	-1,20 \pm 0,37	-1,60 \pm 0,51	-2,40 \pm 0,24	-2,40 \pm 0,24	-2,40 \pm 0,24	-2,20 \pm 0,20	
		Min-Max	0 - 0	0 - 1	0 - 1	0 - 0	(-2) - 0	(-3) - 0	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-2)	
Aktivität	Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	-0,80 \pm 0,37	-0,60 \pm 0,24	-0,80 \pm 0,37	-0,60 \pm 0,24	-0,80 \pm 0,37	-0,60 \pm 0,24	
		Min-Max	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	
Aktivität	Differenz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,5 / 0,0)	-1,0 (-1,5 / 0,0)	-2,0 (-2,25 / -0,75)	-1,0 (-2,25 / -1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,00 \pm 0,00	0,40 \pm 0,24	0,40 \pm 0,24	0,00 \pm 0,00	-0,40 \pm 0,24	-0,40 \pm 0,24	-1,00 \pm 0,55	-1,00 \pm 0,55	-1,60 \pm 0,51	-1,60 \pm 0,40	
		Min-Max	0 - 0	0 - 1	0 - 1	0 - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-3) - 0	(-3) - 0	(-3) - 0	(-3) - (-1)	
Block Test (s)	Substanz	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 0,50)	0,0 (0,0 / 2,00)	3,0 (0,0 / 3,25)	0,0 (0,0 / 3,00)	0,0 (0,0 / 6,00)	0,0 (0,0 / 5,00)	3,0 (1,75 / 5,00)	3,0 (1,75 / 5,00)	2,0 (0,00 / 4,25)	4,0 (1,50 / 7,00)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,40 \pm 0,40	0,80 \pm 0,49	2,00 \pm 0,84	1,60 \pm 1,17	4,00 \pm 3,52	4,00 \pm 3,52	3,60 \pm 1,21	3,60 \pm 1,21	2,20 \pm 1,02	4,40 \pm 1,72	
		Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 4	0 - 6	0 - 18	0 - 18	1 - 8	1 - 8	0 - 5	0 - 10	
Block Test (s)	Vehikel	Median (25. / 75.)	3,0 (0,00 / 3,25)	0,0 (0,00 / 0,50)	3,0 (0,00 / 3,25)	0,0 (0,00 / 0,50)	2,0 (0,00 / 2,50)	2,0 (0,00 / 2,50)	1,0 (0,00 / 2,25)	1,0 (0,00 / 2,25)	2,0 (0,00 / 2,50)	1,0 (0,00 / 2,25)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,00 \pm 0,84	0,40 \pm 0,40	2,00 \pm 0,84	0,40 \pm 0,40	1,60 \pm 0,75	1,60 \pm 0,75	1,20 \pm 0,58	1,20 \pm 0,58	1,60 \pm 0,75	1,20 \pm 0,58	
		Min-Max	0 - 4	0 - 2	0 - 4	0 - 2	0 - 4	0 - 4	0 - 3	0 - 3	0 - 4	0 - 3	
Block Test (s)	Differenz	Median (25. / 75.)	-1,0 (-3,25 / 0,00)	0,0 (0,00 / 0,50)	0,0 (-0,25 / 0,25)	0,0 (0,00 / 2,50)	0,0 (-2,00 / 5,00)	0,0 (-2,00 / 5,00)	2,0 (1,00 / 3,00)	2,0 (1,00 / 3,00)	0,0 (-0,50 / 1,75)	2,0 (0,75 / 5,75)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-1,60 \pm 0,81	0,40 \pm 0,40	0,00 \pm 0,32	1,20 \pm 0,80	2,40 \pm 2,99	2,40 \pm 2,99	2,40 \pm 0,93	2,40 \pm 0,93	0,60 \pm 0,98	3,20 \pm 1,46	
		Min-Max	(-4) - 0	0 - 2	(-1) - 1	0 - 4	(-2) - 14	(-2) - 14	1 - 6	1 - 6	(-2) - 4	0 - 8	

Tab. 21: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter „Dystonie“, Sniffing und Putzen

		Quinpirol 1 mg/kg		Quinpirol 5 mg/kg		Racloprid 0,5 mg/kg		Racloprid 3 mg/kg	
		Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1
Dystonie	Substanz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	3,0 (2,0/4,25) 3,20 ± 0,58	4,0 (4,0/8,0) 5,60 ± 0,98	3,0 (1,75/4,0) 2,80 ± 0,58	8,0 (4,0/8,0) 6,40 ± 0,98	0,0 (0,0/0,0) 0,00 ± 0,00	2,0 (0,75/2,0) 1,40 ± 0,40	1,0 (0,0/1,25) 0,80 ± 0,37
		Min-Max	2-5	4-8	1-4	4-8	0-0	0-2	0-2
	Vehikel	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	1,0 (0,75/1,25) 1,00 ± 0,32	2,0 (1,5/2,25) 1,80 ± 0,49	0,0 (0,0/0,5) 0,40 ± 0,40	2,0 (2,0/2,0) 2,00 ± 0,00	0,0 (0,0/1,0) 0,40 ± 0,24	2,0 (2,0/2,5) 2,40 ± 0,40	1,0 (0,0/1,0) 0,60 ± 0,24
Sniffing	Differenz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	2,0 (1,0/3,25) 2,20 ± 0,58	2,0 (1,75/6,5) 3,80 ± 1,36	2,0 (1,75/3,25) 2,40 ± 0,51	6,0 (2,0/6,0) 4,40 ± 0,98	0,0 (-1,0/0,0) -0,40 ± 0,24	-1,0 (-2,0/0,0) -1,00 ± 0,45	1,0 (-1,0/1,0) 0,20 ± 0,49
		Min-Max	1-4	1-8	1-4	2-6	(-1)-0	(-2)-0	(-1)-1
	Substanz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	1,0 (1,0/2,0) 1,40 ± 0,24	1,0 (0,75/1,25) 1,00 ± 0,32	1,0 (0,75/2,0) 1,20 ± 0,37	1,0 (1,0/2,0) 1,40 ± 0,24	1,0 (1,0/2,25) 1,60 ± 0,40	1,0 (0,0/1,25) 0,80 ± 0,37	1,0 (0,0/1,0) 0,60 ± 0,24
Putzen	Differenz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	0,0 (-0,25/0,25) 0,00 ± 0,32	0,0 (0,0/0,0) 0,00 ± 0,00	0,0 (-1,25/1,0) -0,20 ± 0,58	0,0 (0,0/0,25) 0,20 ± 0,20	0,0 (-0,25/0,25) 0,00 ± 0,32	0,0 (-1,25/0,25) -0,40 ± 0,51	-1,0 (-1,0/-0,75) -0,80 ± 0,20
		Min-Max	(-1)-1	0-0	(-2)-1	0-1	(-1)-1	(-2)-1	(-1)-0
	Substanz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	0,0 (0,0/0,25) 0,20 ± 0,20	0,0 (0,0/0,0) 0,00 ± 0,00	0,0 (0,0/0,25) 0,20 ± 0,20	0,0 (0,0/0,0) 0,00 ± 0,00	0,0 (0,0/0,5) 0,40 ± 0,40	0,0 (0,0/0,5) 0,40 ± 0,40	1,0 (0,0/1,25) 0,80 ± 0,37
Putzen	Differenz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	0,0 (-2,0/0,25) -0,60 ± 0,60	0,0 (-1,0/0,0) -0,40 ± 0,24	0,0 (-0,25/0,0) -0,20 ± 0,20	1,0 (-1,25/0,0) -0,80 ± 0,37	2,0 (-2,0/0,25) -1,00 ± 0,63	0,0 (0,0/0,5) 0,40 ± 0,40	0,0 (-0,25/1,0) 0,20 ± 0,37
		Min-Max	(-2)-1	(-1)-0	(-1)-0	(-2)-0	(-2)-1	0-2	(-1)-1
	Substanz	Median (25./75.) $\bar{x} \pm$ S.E.	0,0 (0,0/0,25) 0,80 ± 0,49	0,0 (0,0/1,0) 0,40 ± 0,24	0,0 (0,0/0,5) 0,40 ± 0,40	1,0 (0,0/1,25) 0,80 ± 0,37	2,0 (0,75/2,0) 1,40 ± 0,40	0,0 (0,0/0,0) 0,00 ± 0,00	0,0 (0,0/0,75) 0,60 ± 0,60
	Min-Max	0-1	0-1	0-2	0-2	0-2	0-0	0-3	0-1

ab. 22: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation der angegebenen Substanzen für die Parameter Straub tail, Aktivität und Block Test

	Quinpirol 1 mg/kg		Quinpirol 5 mg/kg		Racloprid 0,5 mg/kg		Racloprid 3 mg/kg		
	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	Kontrollen	DYT1	
Straub tail	Substanz	Median (25. / 75.)	2,0 (1,75 / 2,0)	2,0 (2,0 / 3,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,80 \pm 0,20	1,60 \pm 0,40	1,40 \pm 0,24	2,40 \pm 0,24	1,80 \pm 0,37	1,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,24
		Min-Max	1 - 2	1 - 3	1 - 2	2 - 3	1 - 3	1 - 2	1 - 2
Straub tail	Vehikel	Median (25. / 75.)	1,0 (0,75 / 1,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,75 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,25)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,80 \pm 0,20	0,00 \pm 0,00	0,80 \pm 0,20	0,80 \pm 0,37	0,80 \pm 0,20	0,80 \pm 0,37	1,40 \pm 0,24
		Min-Max	0 - 1	0 - 0	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2	1 - 2
Straub tail	Differenz	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (1,0 / 1,0)	1,0 (0,0 / 1,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 1,5)	0,0 (0,0 / 0,25)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,00 \pm 0,00	1,60 \pm 0,40	0,60 \pm 0,24	1,60 \pm 0,24	1,00 \pm 0,55	0,40 \pm 0,51	0,20 \pm 0,20
		Min-Max	1 - 1	1 - 3	0 - 1	1 - 2	0 - 3	(-1) - 2	0 - 1
Aktivität	Substanz	Median (25. / 75.)	-2,0 (-3,0 / -2,0)	-3,0 (-3,25 / -1,75)	-2,0 (-3,0 / -1,75)	-3,0 (-3,0 / -3,0)	-2,0 (-2,0 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -3,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-2,40 \pm 0,24	-2,60 \pm 0,51	-2,20 \pm 0,37	-3,00 \pm 0,00	-2,00 \pm 0,00	-2,60 \pm 0,24	-3,00 \pm 0,00
		Min-Max	(-3) - (-2)	(-4) - (-1)	(-3) - (-1)	(-3) - (-3)	(-2) - (-2)	(-3) - (-2)	(-3) - (-3)
Aktivität	Vehikel	Median (25. / 75.)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,20 \pm 0,20	-0,20 \pm 0,20	-0,40 \pm 0,24	0,00 \pm 0,00	-0,60 \pm 0,24	-1,00 \pm 0,45	-1,40 \pm 0,24
		Min-Max	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	0 - 0	(-1) - 0	(-2) - (-1)	(-2) - 0
Aktivität	Differenz	Median (25. / 75.)	-2,0 (-2,25 / -2,0)	-3,0 (-3,0 / -1,75)	-2,0 (-2,25 / -1,0)	-3,0 (-3,0 / -3,0)	-1,0 (-2,0 / -1,0)	-1,0 (-2,25 / -1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-2,20 \pm 0,20	-2,40 \pm 0,40	-1,80 \pm 0,37	-3,00 \pm 0,00	-1,40 \pm 0,24	-1,60 \pm 0,40	-1,60 \pm 0,24
		Min-Max	(-3) - (-2)	(-3) - (-1)	(-3) - (-1)	(-3) - (-3)	(-2) - (-1)	(-3) - (-1)	(-3) - (-2)
Block Test (s)	Substanz	Median (25. / 75.)	6,00 (5,00 / 7,25)	0,00 (0,00 / 0,00)	4,00 (3,00 / 6,75)	0,00 (0,00 / 0,50)	0,00 (0,00 / 1,50)	13,0 (5,25 / 21,8)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	6,20 \pm 0,58	0,00 \pm 0,00	5,00 \pm 1,14	0,40 \pm 0,40	1,20 \pm 1,20	13,4 \pm 4,74	3,80 \pm 1,24
		Min-Max	5 - 8	0 - 0	3 - 9	0 - 2	0 - 6	0 - 27	0 - 7
Block Test (s)	Vehikel	Median (25. / 75.)	2,00 (0,00 / 4,00)	0,00 (0,00 / 1,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	0,00 (0,00 / 1,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	9,00 (2,25 / 10,3)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,40 \pm 1,29	0,80 \pm 0,80	0,00 \pm 0,00	0,80 \pm 0,80	0,00 \pm 0,00	6,60 \pm 2,16	1,00 \pm 1,00
		Min-Max	0 - 7	0 - 4	0 - 0	0 - 4	0 - 0	0 - 11	0 - 5
Block Test (s)	Differenz	Median (25. / 75.)	3,00 (1,50 / 6,50)	0,00 (-1,00 / 0,00)	4,00 (3,00 / 6,75)	0,00 (-1,00 / 0,50)	0,00 (0,00 / 1,50)	10,00 (-0,75 / 12,3)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	3,80 \pm 1,43	-0,80 \pm 0,80	5,00 \pm 1,14	-0,40 \pm 0,98	1,20 \pm 1,20	6,80 \pm 3,57	2,80 \pm 1,20
		Min-Max	0 - 8	(-4) - 0	3 - 9	(-4) - 2	0 - 6	(-3) - 16	0 - 7

Tab. 23: Maximalscore innerhalb von 3 h nach i.p. Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa für die Parameter „Dystonie“ und Sniffing

		1. Injektionstag	4. Injektionstag	8. Injektionstag	11. Injektionstag	15. Injektionstag	18. Injektionstag	20. Injektionstag	
„Dystonie“	Kontrollen	Median (25. / 75.)	0,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	1,0 (0,0 / 1,25)	0,0 (0,0 / 0,5)	1,0 (0,0 / 1,25)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,56 ± 0,29	0,67 ± 0,29	0,78 ± 0,28	0,78 ± 0,28	0,67 ± 0,29	0,44 ± 0,29	0,78 ± 0,28
	Substanz	Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2
		Median (25. / 75.)	2,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,5 (1,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)
	DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,30 ± 0,30	1,40 ± 0,31	1,00 ± 0,26	1,70 ± 0,30	1,60 ± 0,40	1,00 ± 0,33	1,50 ± 0,27
		Min-Max	0 - 2	0 - 3	0 - 2	0 - 3	0 - 4	0 - 3	0 - 2
	Kontrollen	Median (25. / 75.)	2,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (0,0 / 2,0)	1,0 (0,75 / 2,0)	1,0 (0,75 / 2,0)	2,0 (0,75 / 2,0)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,33 ± 0,33	1,11 ± 0,31	1,22 ± 0,28	1,00 ± 0,29	1,11 ± 0,26	1,22 ± 0,28	1,33 ± 0,29
	DYT1	Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 3	0 - 2	0 - 2	0 - 2
		Median (25. / 75.)	2,0 (1,0 / 2,25)	2,0 (2,0 / 3,0)	2,0 (2,0 / 4,25)	2,0 (1,0 / 3,5)	4,0 (2,0 / 4,25)	5,0 (3,0 / 5,25)	4,0 (2,75 / 5,25)
Kontrollen	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,11 ± 0,56	2,33 ± 0,44	3,00 ± 0,55	2,56 ± 0,60	3,44 ± 0,53	4,33 ± 0,47	4,11 ± 0,56	
	Min-Max	0 - 6	0 - 5	1 - 6	1 - 6	1 - 6	2 - 6	2 - 7	
Sniffing	Kontrollen	Median (25. / 75.)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,44 ± 0,18	1,44 ± 0,24	1,44 ± 0,24	1,56 ± 0,18	1,56 ± 0,18	1,56 ± 0,18	1,44 ± 0,18
Sniffing	DYT1	Min-Max	1 - 2	0 - 2	0 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2
		Median (25. / 75.)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (1,0 / 2,0)
Sniffing	DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,11 ± 0,11	1,67 ± 0,17	1,67 ± 0,17	1,78 ± 0,15	1,44 ± 0,18	1,33 ± 0,17	1,67 ± 0,17
		Min-Max	2 - 3	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2
Sniffing	Kontrollen	Median (25. / 75.)	2,0 (1,75 / 2,25)	2,0 (2,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,25)	2,0 (1,0 / 2,0)	1,0 (1,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,0)	2,0 (2,0 / 2,25)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	2,00 ± 0,24	2,00 ± 0,17	2,22 ± 0,15	1,44 ± 0,24	1,56 ± 0,24	1,89 ± 0,11	2,22 ± 0,15
Sniffing	DYT1	Min-Max	1 - 3	1 - 3	2 - 3	0 - 2	1 - 3	1 - 2	2 - 3

Tab. 24: von 3 h nach i.p. Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa für die Parameter Putzen und Straub tail

		1. Injektionstag	4. Injektionstag	8. Injektionstag	11. Injektionstag	15. Injektionstag	18. Injektionstag	20. Injektionstag	
Putzen	Kontrollen	Median (25./75.)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/1,25)	0,0 (0,0/0,0)	0,0 (0,0/1,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,44 ± 0,24	0,22 ± 0,15	0,44 ± 0,24	0,44 ± 0,18	0,56 ± 0,29	0,11 ± 0,11	0,56 ± 0,24
	DYT1	Min-Max	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 1	0 - 2
		Median (25./75.)	1,5 (0,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)
	Substanz	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,20 ± 0,29	1,01 ± 0,23	1,00 ± 0,26	0,80 ± 0,2	1,10 ± 0,18	0,90 ± 0,18	1,10 ± 0,23
		Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2
	Vehikel	Median (25./75.)	1,0 (0,75/1,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/2,0)	1,0 (0,0/1,25)	1,0 (0,0/1,0)	0,0 (0,0/0,25)	0,0 (0,0/0,5)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,89 ± 0,20	0,89 ± 0,26	1,00 ± 0,29	0,78 ± 0,28	0,67 ± 0,17	0,33 ± 0,24	0,44 ± 0,29
	Substanz	Min-Max	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 1	0 - 2	0 - 2
		Median (25./75.)	0,0 (0,0/1,0)	1,0 (0,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,75/2,0)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (0,75/2,0)	1,0 (1,0/1,25)
Vehikel	$\bar{x} \pm$ S.E.	0,56 ± 0,24	1,22 ± 0,28	1,89 ± 0,20	1,67 ± 0,24	1,67 ± 0,33	1,11 ± 0,26	1,11 ± 0,20	
	Min-Max	0 - 2	0 - 2	1 - 3	0 - 2	0 - 3	0 - 2	0 - 2	
Straub tail	Kontrollen	Median (25./75.)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (0,75/1,0)	1,0 (1,0/1,0)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	0,89 ± 0,11	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,78 ± 0,15	0,89 ± 0,11
	DYT1	Min-Max	0 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	1 - 1	0 - 1	0 - 1
		Median (25./75.)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/2,0)
	Substanz	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,30 ± 0,15	1,20 ± 0,20	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,50 ± 0,27	1,20 ± 0,13	1,30 ± 0,26
		Min-Max	1 - 2	0 - 2	1 - 1	1 - 1	1 - 3	1 - 2	0 - 3
	Vehikel	Median (25./75.)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/1,0)	1,0 (1,0/1,25)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,78 ± 0,28	1,22 ± 0,22	1,67 ± 0,33	1,11 ± 0,20	1,22 ± 0,15	1,11 ± 0,11	1,22 ± 0,15
	Substanz	Min-Max	1 - 3	0 - 2	0 - 3	0 - 2	1 - 2	1 - 2	1 - 2
		Median (25./75.)	2,0 (1,75/2,25)	1,0 (1,0/2,25)	2,0 (1,0/2,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)	1,0 (1,0/2,0)	1,0 (1,0/1,25)
Vehikel	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,00 ± 0,24	1,56 ± 0,34	1,78 ± 0,28	1,22 ± 0,22	1,11 ± 0,20	1,44 ± 0,29	1,33 ± 0,24	
	Min-Max	1 - 3	0 - 3	1 - 3	0 - 2	0 - 2	0 - 3	1 - 3	

Tab. 25: von 3 h nach i.p. Applikation von 25 mg/kg L-DOPA + 10 mg/kg Carbidopa für die Parameter Aktivität und Block Test

		1. Injektionstag	4. Injektionstag	8. Injektionstag	11. Injektionstag	15. Injektionstag	18. Injektionstag	20. Injektionstag	
Aktivität	Kontrollen	Median (25. / 75.)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,22 ± 0,15	-0,44 ± 0,18	-0,11 ± 0,11	0,00 ± 0,00	-0,22 ± 0,15	-0,22 ± 0,15	-0,44 ± 0,18
	Substanz	Min-Max	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	0 - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0
		Median (25. / 75.)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	-0,5 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,0 / 0,0)
	DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,70 ± 0,15	-0,70 ± 0,15	-0,30 ± 0,15	-0,40 ± 0,16	-0,40 ± 0,16	-0,50 ± 0,17	-0,60 ± 0,16
		Min-Max	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0	(-1) - 0
	Kontrollen	Median (25. / 75.)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-0,25 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (-1,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)	0,0 (0,0 / 0,0)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	-0,33 ± 0,29	0,22 ± 0,22	-0,11 ± 0,20	0,22 ± 0,22	-0,33 ± 0,24	0,00 ± 0,17	0,00 ± 0,17
	Substanz	Min-Max	(-2) - 1	0 - 2	(-1) - 1	(-1) - 2	(-1) - 1	(-1) - 1	(-1) - 1
		Median (25. / 75.)	-1,0 (-2,0 / -0,75)	-1,0 (-1,25 / -0,75)	0,0 (-1,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)	-1,0 (-2,0 / -1,0)	0,0 (-2,0 / 0,0)	-1,0 (-1,25 / 0,0)
DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	-1,11 ± 0,26	-1,00 ± 0,24	-0,44 ± 0,18	-0,78 ± 0,28	-1,33 ± 0,24	-0,78 ± 0,32	-0,89 ± 0,26	
	Min-Max	(-2) - 0	(-2) - 0	(-1) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	(-2) - 0	
Block Test (s)	Kontrollen	Median (25. / 75.)	3,00 (0,00 / 3,00)	2,00 (0,00 / 2,00)	2,00 (0,00 / 3,00)	2,00 (1,50 / 2,25)	2,00 (2,00 / 2,25)	2,00 (2,00 / 2,25)	2,00 (2,00 / 2,00)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	1,67 ± 0,53	1,56 ± 0,44	1,67 ± 0,44	1,78 ± 0,36	2,44 ± 0,47	2,00 ± 0,29	2,00 ± 0,33
	Substanz	Min-Max	0 - 3	0 - 4	0 - 3	0 - 3	0 - 5	0 - 3	0 - 4
		Median (25. / 75.)	2,00 (0,00 / 3,00)	0,00 (0,00 / 0,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)
	DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	1,90 ± 0,48	0,50 ± 0,40	1,10 ± 0,38	1,10 ± 0,38	1,10 ± 0,38	1,10 ± 0,38	0,90 ± 0,38
		Min-Max	0 - 4	0 - 4	0 - 3	0 - 3	0 - 3	0 - 3	0 - 3
	Kontrollen	Median (25. / 75.)	4,00 (0,00 / 5,25)	2,00 (0,00 / 5,00)	0,00 (0,00 / 3,00)	2,00 (0,00 / 3,00)	0,00 (0,00 / 2,50)	0,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 2,50)
		$\bar{x} \pm$ S.E.	3,33 ± 1,14	2,67 ± 0,80	1,44 ± 0,63	1,78 ± 0,62	1,44 ± 0,65	1,00 ± 0,47	1,44 ± 0,73
	Substanz	Min-Max	0 - 10	0 - 6	0 - 5	0 - 5	0 - 5	0 - 4	0 - 6
		Median (25. / 75.)	2,00 (0,75 / 4,00)	2,00 (0,75 / 5,00)	0,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	1,00 (0,00 / 2,00)	0,00 (0,00 / 3,00)	0,00 (0,00 / 3,25)
DYT1	$\bar{x} \pm$ S.E.	2,78 ± 1,02	2,78 ± 0,89	0,67 ± 0,33	1,11 ± 0,39	1,33 ± 0,55	1,44 ± 0,63	1,67 ± 0,75	
	Min-Max	0 - 10	0 - 8	0 - 2	0 - 3	0 - 5	0 - 5	0 - 6	

Präsentationen vorläufiger Ergebnisse der Dissertation

Vortrag

Lange, N., Hamann, M., Shashidharan, P., Richter, A., (2008)

Verhaltensanalytische und pharmakologische Untersuchungen in einem transgenen Mausmodell für die Early-onset-Torsionsdystonie.

18. Symposium der deutschsprachigen Veterinärpharmakologen, Gießen, 15/16.9.2008

Lange, N., Hamann, M., Shashidharan, P., Richter, A., (2008)

Pharmacological manipulations of the dopaminergic system in a transgenic mouse model of early-onset dystonia.

Dystonia Europe 2008, Hamburg, 17.10.-19.10.2008, Abstractband S. 26

Abstracts/Poster

Lange, N., Hamann, M., Shashidharan, P., Richter, A., (2008)

Behavioral and pharmacological investigations in a transgenic mouse model of early-onset dystonia.

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 377 (Suppl. 1), 2008, 231

Lange, N., Hamann, M., Shashidharan, P., Richter, A., (2008)

Behavioural and pharmacological investigations in a transgenic mouse model of early-onset dystonia.

In: Flechsig, S., Lange, N., Kosmis, K., (Hrsg.): 3. Doktoranden-Symposium am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin: Programm und Abstracts. 27. Juni 2008, Mensch und Buch Verlag. S. 60, ISBN:9783866644120

Lange, N., Hamann, M., Shashidharan, P., Richter, A., (2008)

Pharmacological manipulations of the dopaminergic system in a transgenic mouse model of early-onset dystonia.

Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Washington D.C./USA, 15.-19.11.2008, S. 248.4

Danksagung

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei *Frau Prof. Dr. A. Richter* für die Überlassung des Themas und die hervorragende wissenschaftliche Anleitung bei der Durchführung der Versuche und bei der Abfassung dieser Dissertation.

Außerdem danke ich der *Forschungskommission der Freien Universität Berlin* für die Gewährung von Übergangsgeldern und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG)* für die Finanzierung einer halben Stelle.

Weiterhin möchte ich mich bedanken bei:

Frau Dr. Melanie Hamann, Frau Dr. Svenja Sander und *Frau Dr. Franziska Richter* für die fachliche Einweisung in die Laborarbeit, die Verhaltensuntersuchungen, die statistischen und graphischen Computerprogramme, die Diskussionsbereitschaft, die jederzeit gewährte Unterstützung und für ihre humorvolle Art;

Herrn Alfred Russ für die Unterstützung bei den Verhaltensversuchen und für die Verbreitung von positiven Gedanken auch in schwierigen Zeiten;

Frau Alexandra Wistel für die Einweisung in die PCR, die jederzeit gewährte Unterstützung und für ihre humorvolle Art;

Frau Dr. Gisela Arndt und *Frau Anja Lüdecke* für die fachliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung;

Frau R. Magunsky für die vielen Handgriffe im Labor.

den Tierpflegern, insbesondere *Frau S. Wegner*, für die sorgsame Betreuung der Mäuse;

allen Mitarbeitern des Institutes für die freundliche Aufnahme und stets gewährte Hilfsbereitschaft;

Meiner Mutter möchte ich für die liebevolle, stets vorhandene Unterstützung danken, ohne die das Studium und die Dissertation nicht möglich gewesen wären. Meinem Lebensgefährten *Sven* danke ich für seine Geduld und Unterstützung.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 23.03.2009 Nikola Lange