

9. TABELLARISCHER ANHANG

Tab. A1 Zusammensetzung und Herstellung der Lösungen

Perfusion und Anfertigung von Organschnitten

Lösung	Zusammensetzung und Herstellung
4%iges Formaldehyd	500 ml 0,2 M Phosphatpuffer mit 400 ml Aqua dest. (A.d.) und 100 ml 37% Formaldehyd in einen Meßkolben geben und gut vermengen.
4%iges Paraformaldehyd (Fixans)	500 ml A.d. auf 60 °C erhitzen, 40 g Paraformaldehyd unter Rühren dazu geben. mit 10M NaOH klären und filtern, mit 500 ml 0,2M Phosphatpuffer verdünnen.
30%ige Zuckerlösung	30 g raffinierten Zucker in 70 g 0,1M Phosphatpuffer unter Rühren lösen.

Immunhistochemie und Histologie

Lösung	Zusammensetzung und Herstellung
TBS (TRIS-gepufferte isotone Kochsalzlösung)	9 g NaCl und 6,06 g TRIS in 1000 ml A.d. lösen und den pH mit 37%iger Salzsäure auf 7,60 einstellen.
„Carrier“-Lösung	100 ml TBS 1 g Rinderserumalbumin 1 ml Kaninchen-Serum 1,5 ml 20% Triton X 100
„Blocking“-Lösung	4,5 ml Carrier-Lösung 100 mg Rinderserumalbumin 0,5 ml Kaninchen-Serum
TRIS/ Nickel-Lösung	0,3 g Nickelammoniumsulfat in 50 ml TBS lösen; pH auf 7,6 einstellen
DAB (Diaminobenzidin)-Lösung	125 µl Ansatz (entspricht 0,125 mg 3,3'-DAB) 4 ml TRIS/ Nickel-Lösung

Glycerin-Eiweiß-Lösung	1 Eiweiß eines frischen Hühnereis mit 1 Thymolkristall schaumig schlagen und filtrieren Glycin (1:1 zum Filtrat) hinzu geben, kräftig schütteln, 1 Thymolkristall hinzu geben (Haltbarkeit).
Gelatinelösung	3,5 g Gelatinepulver und 0,35 g Chromalaun in 500 ml A.d. geben, unter Rühren auf 60 °C erhitzen, 1 Thymolkristall hinzu geben (Haltbarkeit)

Tab. A2 Histologische Färbungen

Färbelösungen und Färbeanleitungen
<p><u>Thioninfärbung:</u></p> <p>Färbelösung:</p> <p>100 ml 1M Essigsäure und 36 ml 1M Natronlauge mit 864 ml A.d. auffüllen und auf 60-70°C erhitzen 1,25 g Thionin darin lösen</p> <p>Lösung eine Stunde rühren und anschließend heiß filtrieren</p> <p>Färbeprotokoll:</p> <p>Absteigende Alkoholreihe zur Rehydrierung je 3 min in 100%, 95%, 70% und 50% Ethanol und 3 min in A.d. belassen,</p> <p>dann 75-90 s in Thioninlösung, gefolgt von</p> <p>aufsteigender Alkoholreihe zur Dehydrierung je 3 min in 50%, 70%, 95% und 100% Ethanol und</p> <p>3 min waschen in Terpeneol/Xylolersatzmedium (XEM, rothistol®, Roth, Karlsruhe, BRD) 2 mal 3 min waschen in XEM sowie</p> <p>eindecken mit Eindeckmedium auf Xylolbasis.</p>

Bielschowsky Silbernitrat-Färbung:

Färbelösungen:

Silver A: 20% Silbernitratlösung (in A.d.) (Sigma-Aldrich Saint Louis, USA)

Reducer A: 100 mg Pyrogallol
 10 ml Formol (10% Formaldehyd)
 1200 ml Alkohol 80%
 3 Objektträger auf 100 ml

Silver B: 5 ml 20% Silbernitratlösung
 + 200 µl 40% NaOH (schwarzer Niederschlag)
 + 20 ml A.d. (gut schütteln)
 Stehen lassen für einige Minuten } 5-6mal wiederholen
 Trüben Überstand verwerfen }
 + 20 ml A.d. + 500 µl 28% Ammoniaklösung (auflösen des Niederschlages)
 Gut schütteln
 + in Tropfen 20 µl Ammoniak (gut schütteln bis wenige schwarze Körner)
 + 80 ml A.d. => Ammoniak langsam zugeben!

Reducer B: 5 ml Formaldehyd + 95 ml A.d.

0,2% Goldchloridlösung (von Roth, Karlsruhe, BRD)

5% Natriumthiosulfat (bindet ungebundenes Silber = verringert Hintergrundfärbung)

Färbeprotokoll (3-5 h):

Absteigende Alkoholreihe bis A.d.

1-2 h Silver A bei 37 °C in einer feuchten Kammer
 2mal kurz spülen in A.d.

3-5 min Reducer A (frisch ansetzen) Schnitte werden gelb, Lösung häufig wechseln
 3mal kurz spülen in A.d.

30 s Silber B (frisch ansetzen) (Fällungsreaktionen möglich!)
 1mal kurz spülen in A.d.

2-5 min Reducer B
 1mal kurz spülen in A.d.

Mikroskopische Kontrolle: Alle Neurone sollen dunkelbraun werden, wenn nicht,
 dann nach „Reducer A“ Schritte solange wiederholen, bis die Färbung eintritt.

1mal kurz spülen in A.d.

2-3 min 0,2% Goldchloridlösung
 1mal kurz spülen in A.d.

5 min 5% Natriumthiosulfat
 1mal kurz spülen in Leitungswasser

aufsteigende Alkoholreihe bis 100% Alkohol, 2mal XEM
 eindecken mit Eindeckmedium auf Xylolbasis.

HE-Färbung:

Färbelösungen:

- A: Saures Hämalaun (nach Mayer):** 1 g Hämatoxilin
(Roth Karlsruhe, BRD) 0,2 g Natriumjodatin
50 g Kalialaun in 1 l A.d.
50 g Chloralhydrat
1 g kristalline Zitronensäure
⇒ filtrieren
- B: 1% wässriges Eosin G:** 50 ml Alkohol 96% + 50 ml A.d.
+ 1 g Eosin (Roth Karlsruhe, BRD)
1:10 mit A.d. verdünnen
3 Tropfen Eisessig auf 100 ml vor Anwendung
- C: salzsaurer Alkohol 1%:** 100 ml Alkohol (70%)
1 ml officinelle HCL (100ml konz. HCL + 50ml A.d)

Färbeprotokoll:

Absteigende Alkoholreihe zur Rehydrierung
je 3 min in 100%, 95%, 70% und 50% Ethanol und 3 min in A.d., dann

7 min in Hämalaun (A) belassen.

Kurz in Leitungswasser spülen, dann 15 min bläuen in fließendem Leitungswasser.

Mikroskopische Kontrolle: Kerne gut blau, der Rest ungefärbt.

Bei Überfärbung durch Hämalaun: bis 15 min in salzsaurem Alkohol (C) einwirken lassen.

Anschließend

100 s 1% Eosinlösung (B)

10 s in A.d. auswaschen bis der rote Farbschleier verschwindet und

aufsteigende Alkoholreihe zur Dehydrierung

je 3 min in 50%, 70%, 95% und 100% Ethanol, sowie

3 min waschen in Terpeneol/Xylolersatzmedium (XEM, rotihistol®, Roth, Karlsruhe, BRD)

2 mal 3 min waschen in XEM und schließlich

eindecken mit Eindeckmedium auf Xylolbasis.

Gemeinsame Legende für die Tab. A3 – A11: Rotenon-Mausmodell

Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$) der Untersuchungen zur Vitalität und zum motorischen Verhalten sowie der Auswertung der TH-Immunhistochemie im chronischen *Rotenon-Maus-Modell*.

Die einzelnen Tabellen fassen jeweils die Werte der drei Altersgruppen (2,5; 5 und 12 Monate) in jeweils zwei Dosisgruppen (2,5 und 4-5 mg/kg Rotenon) und der Kontrollgruppe (Vehikel: Miglyol) zusammen, wie aus der Einteilung der Spalten bzw. Zeilen ersichtlich. Die Behandlungsdauer betrug 45 Tage. Das Körpergewicht ist mehrfach über den Behandlungszeitraum gemessen worden, die Werte der einzelnen Verhaltenstests sind für d 0, d 15, d 30 und d 45 angegeben. Weiterhin sind für jeden Verhaltenstest der untersuchte Parameter und die Maßeinheit angegeben. Bei der Darstellung der TH-Immunhistochemie ist zum \bar{x} der Dichte nigraler Neurone der Wertebereich (Wb), d.h. der jeweils niedrigste und höchste Wert der Versuchsgruppe, angegeben.

Nähere Erläuterungen zur Gruppeneinteilung und zu den einzelnen Methoden s. Kap. 3.

Signifikante Unterschiede, welche sich aus den statistischen Auswertungen ergaben, sind in Kap. 4 graphisch und tabellarisch dargestellt.

Untersuchung der Vitalität und des motorischen Verhaltens

Tab. A3: Körpergewicht: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag										
		0	2	5	10	15	20	25	30	35	40	45
2,5 Monate	<u>1</u> Rotenon 2,5 mg/kg	25,0 ± 1,2	24,9 ± 1,1	23,8 ± 1,2	24,8 ± 1,1	26,4 ± 1,0	26,7 ± 0,9	27,2 ± 1,0	26,9 ± 0,9	27,7 ± 0,9	28,1 ± 1,1	28,4 ± 1,3
	<u>2</u> Rotenon 4,0 mg/kg	26,5 ± 1,4	26,0 ± 1,6	26,3 ± 1,6	26,6 ± 1,2	27,7 ± 1,2	27,8 ± 1,1	28,5 ± 1,7	28,1 ± 1,7	28,8 ± 1,3	28,3 ± 1,2	27,8 ± 1,2
	<u>3</u> Vehikel	28,7 ± 0,4	28,8 ± 0,4	29,5 ± 0,4	29,3 ± 0,3	29,8 ± 0,5	29,8 ± 0,5	30,5 ± 0,4	31,0 ± 0,3	30,8 ± 0,4	31,5 ± 0,4	31,5 ± 0,3
5 Monate	<u>4</u> Rotenon 2,5 mg/kg	24,9 ± 0,5	26,5 ± 0,6	26,8 ± 0,6	26,0 ± 0,5	27,9 ± 0,7	27,8 ± 0,6	27,1 ± 0,6	27,5 ± 0,5	27,8 ± 0,4	27,7 ± 0,5	27,5 ± 0,6
	<u>5</u> Rotenon 5,0 mg/kg	25,3 ± 0,5	25,8 ± 0,7	26,6 ± 0,5	25,4 ± 0,5	27,3 ± 0,5	27,2 ± 0,6	28,2 ± 0,6	28,1 ± 0,6			
	<u>6</u> Vehikel	25,3 ± 0,6	27,3 ± 0,6	27,6 ± 0,9	26,9 ± 0,6	27,3 ± 0,7	27,6 ± 0,6	27,9 ± 0,8	28,0 ± 0,8	28,1 ± 0,9	28,2 ± 0,8	28,3 ± 0,8
12 Monate	<u>7</u> Rotenon 2,5 mg/kg	38,0 ± 1,2	35,5 ± 1,2	34,7 ± 1,1	34,6 ± 1,1	34,9 ± 1,1	34,0 ± 1,2	34,5 ± 1,2	33,2 ± 1,4	34,2 ± 1,5	34,3 ± 1,4	34,4 ± 1,3
	<u>8</u> Rotenon 4,0 mg/kg	37,2 ± 1,5	33,0 ± 1,2	33,4 ± 1,3	32,5 ± 1,0	32,9 ± 0,9	31,6 ± 0,9	32,0 ± 1,2	32,6 ± 1,0	32,3 ± 1,1	32,4 ± 1,3	32,9 ± 1,1
	<u>9</u> Vehikel	38,5 ± 1,9	37,8 ± 1,8	37,2 ± 1,8	37,7 ± 1,8	38,0 ± 1,9	37,5 ± 1,6	37,8 ± 1,7	36,6 ± 1,8	37,1 ± 1,8	37,7 ± 1,9	37,9 ± 1,6

Tab. A4: Aktivität im Open field: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag											
		0			15			30			45		
		Tran.	Rear.	Groo.	Tran.	Rear.	Groo.	Tran.	Rear.	Groo.	Tran.	Rear.	Groo.
2,5 Monate	<u>1</u> Rotenon 2,5 mg/kg	64,0 ± 7,9	27,0 ± 3,1	3,50 ± 0,7	24,4 ± 5,7	8,88 ± 2,3	3,25 ± 0,9	7,13 ± 2,1	3,00 ± 1,8	0,88 ± 0,4	11,1 ± 3,7	2,14 ± 1,1	1,29 ± 0,4
	<u>2</u> Rotenon 4,0 mg/kg	63,6 ± 4,7	33,3 ± 2,6	1,38 ± 0,2	5,75 ± 2,4	1,13 ± 0,8	13,8 ± 2,3	3,57 ± 0,4	0,00 ± 0,0	0,71 ± 0,3	7,33 ± 3,8	0,33 ± 0,2	0,33 ± 0,2
	<u>3</u> Vehikel	63,5 ± 7,2	29,5 ± 2,8	1,67 ± 0,6	33,3 ± 4,4	13,8 ± 2,3	2,33 ± 0,9	24,7 ± 4,6	8,67 ± 2,8	2,83 ± 0,8	31,7 ± 3,3	11,2 ± 2,6	3,00 ± 0,9
5 Monate	<u>4</u> Rotenon 2,5 mg/kg	68,6 ± 5,3	33,6 ± 2,7	3,50 ± 0,5	27,4 ± 5,6	8,80 ± 2,6	4,10 ± 0,8	18,6 ± 4,3	7,00 ± 2,5	6,11 ± 0,8	29,2 ± 4,6	9,22 ± 1,7	3,00 ± 0,4
	<u>5</u> Rotenon 5,0 mg/kg	51,8 ± 8,1	22,8 ± 4,0	2,90 ± 0,5	15,3 ± 4,2	3,25 ± 1,4	3,38 ± 1,4	25,2 ± 8,4	11,3 ± 3,5	4,17 ± 0,6			
	<u>6</u> Vehikel	55,2 ± 14	25,6 ± 7,7	3,80 ± 0,9	37,4 ± 7,8	13,4 ± 3,4	7,40 ± 2,4	42,4 ± 6,7	18,6 ± 2,8	5,80 ± 1,7	40,6 ± 6,7	14,4 ± 5,0	2,40 ± 0,6
12 Monate	<u>7</u> Rotenon 2,5 mg/kg	48,2 ± 5,4	16,4 ± 3,7	0,71 ± 0,2	24,9 ± 4,9	8,79 ± 2,6	1,21 ± 0,2	23,0 ± 2,7	7,58 ± 1,9	1,25 ± 0,2	21,0 ± 5,7	5,64 ± 2,2	1,55 ± 0,3
	<u>8</u> Rotenon 4,0 mg/kg	57,0 ± 5,1	23,8 ± 3,8	1,14 ± 0,2	18,4 ± 3,5	3,46 ± 1,0	1,46 ± 0,3	17,7 ± 4,4	3,33 ± 2,2	0,58 ± 0,2	18,6 ± 5,0	3,25 ± 1,5	1,00 ± 0,1
	<u>9</u> Vehikel	74,2 ± 17	21,1 ± 3,7	1,00 ± 0,0	49,0 ± 9,8	13,8 ± 2,8	1,90 ± 0,3	57,2 ± 6,5	18,0 ± 3,4	1,90 ± 0,4	52,1 ± 6,8	12,4 ± 2,1	1,40 ± 0,3

Tab. A5: Lokomotorische Aktivität im „Activity cage“: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag							
		0		15		30		45	
		Tran.	Rear.	Tran.	Rear.	Tran.	Rear.	Tran.	Rear.
2,5 Monate	1 Rotenon 2,5 mg/kg	656 ± 79,8	24,0 ± 7,49	332 ± 50,3	23,1 ± 9,60	196 ± 32,7	15,0 ± 10,5	97,3 ± 25,5	3,43 ± 0,84
	2 Rotenon 4,0 mg/kg	599 ± 45,3	26,9 ± 6,56	154 ± 48,6	3,50 ± 0,50	104 ± 56,3	4,57 ± 1,41	90,0 ± 29,9	2,33 ± 0,21
	3 Vehikel	578 ± 101	25,0 ± 7,41	465 ± 72,2	19,5 ± 3,74	229 ± 71,8	6,50 ± 2,17	160 ± 79,2	5,33 ± 2,01
5 Monate	4 Rotenon 2,5 mg/kg	642 ± 24,0	24,9 ± 4,34	235 ± 47,4	6,30 ± 1,38	230 ± 50,9	5,89 ± 1,36	372 ± 45,9	8,00 ± 1,91
	5 Rotenon 5,0 mg/kg	469 ± 78,1	14,9 ± 3,31	92,4 ± 17,0	3,63 ± 0,46	172 ± 76,2	3,17 ± 0,83		
	6 Vehikel	517 ± 87,3	12,0 ± 2,61	474 ± 54,5	8,40 ± 3,41	281 ± 74,2	5,20 ± 1,39	493 ± 103	13,8 ± 2,31
12 Monate	7 Rotenon 2,5 mg/kg	390 ± 54,5		436 ± 35,0		328 ± 65,9		335 ± 44,3	
	8 Rotenon 4,0 mg/kg	468 ± 42,6		541 ± 41,9		332 ± 72,2		191 ± 46,7	
	9 Vehikel	811 ± 94,9		775 ± 191		484 ± 82,7		512 ± 115	

Tab. A6: Koordination auf dem Rotarod: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag			
		0	15	30	45
		Latency to fall [4-40 rpm] (s)			
2,5 Monate	1 Rotenon 2,5 mg/kg	206 ± 36,6	231 ± 29,9	210 ± 21,4	224 ± 17,0
	2 Rotenon 4,0 mg/kg	192 ± 21,6	133 ± 30,5	136 ± 21,8	136 ± 10,5
	3 Vehikel	234 ± 26,9	184 ± 37,9	189 ± 34,5	195 ± 22,7
5 Monate	4 Rotenon 2,5 mg/kg	237 ± 22,2	248 ± 16,1	256 ± 16,1	244 ± 20,4
	5 Rotenon 5,0 mg/kg	211 ± 22,8	180 ± 19,1	176 ± 26,9	
	6 Vehikel	229 ± 36,7	219 ± 34,2	241 ± 24,2	247 ± 15,7
12 Monate	7 Rotenon 2,5 mg/kg	82,0 ± 10,9	95,9 ± 16,2	132 ± 27,0	118 ± 17,4
	8 Rotenon 4,0 mg/kg	91,1 ± 11,6	125 ± 17,2	77,1 ± 9,30	121 ± 20,7
	9 Vehikel	83,8 ± 13,6	119 ± 21,8	116 ± 15,3	120 ± 13,9

Tab. A7: Muskelkraft im Grip-strength Test: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag			
		0	15	30	45
		Griffstärke (g)			
2,5 Monate	1 Rotenon 2,5 mg/kg	62,4 ± 3,99	57,4 ± 4,09	47,8 ± 5,99	50,1 ± 3,73
	2 Rotenon 4,0 mg/kg	67,9 ± 4,62	46,6 ± 2,17	39,3 ± 4,90	44,6 ± 5,33
	3 Vehikel	61,0 ± 2,90	67,7 ± 6,25	62,0 ± 5,57	41,5 ± 4,20
5 Monate	4 Rotenon 2,5 mg/kg	61,7 ± 3,96	58,7 ± 2,89	40,9 ± 4,38	41,7 ± 5,51
	5 Rotenon 5,0 mg/kg	56,4 ± 2,55	45,1 ± 2,76	39,3 ± 4,08	
	6 Vehikel	65,9 ± 4,31	55,2 ± 1,45	42,2 ± 3,31	44,4 ± 3,10
12 Monate	7 Rotenon 2,5 mg/kg	54,6 ± 2,28	53,1 ± 3,21	47,3 ± 5,09	33,1 ± 1,80
	8 Rotenon 4,0 mg/kg	57,2 ± 3,23	48,0 ± 2,88	42,9 ± 3,28	32,7 ± 2,35
	9 Vehikel	51,2 ± 2,45	50,7 ± 4,65	46,2 ± 3,02	34,9 ± 3,74

Tab. A8: Muskelkraft im Wire-hang Test: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag			
		0	15	30	45
		Latency to fall [180°] (s)			
2,5 Monate	1 Rotenon 2,5 mg/kg	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00
	2 Rotenon 4,0 mg/kg	60,0 ± 0,00	51,1 ± 6,03	56,9 ± 2,04	60,0 ± 0,00
	3 Vehikel	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00
5 Monate	4 Rotenon 2,5 mg/kg	60,0 ± 0,00	55,4 ± 3,48	60,0 ± 0,00	57,2 ± 2,78
	5 Rotenon 5,0 mg/kg	60,0 ± 0,00	55,7 ± 2,93	60,0 ± 0,00	
	6 Vehikel	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00	60,0 ± 0,00
12 Monate	7 Rotenon 2,5 mg/kg	37,6 ± 5,23	39,6 ± 4,41	33,6 ± 6,76	34,2 ± 6,11
	8 Rotenon 4,0 mg/kg	37,5 ± 5,91	28,8 ± 4,31	29,1 ± 5,69	22,6 ± 4,17
	9 Vehikel	25,9 ± 4,50	27,3 ± 5,35	19,3 ± 4,54	22,5 ± 5,08

Tab. A9: **Katalepsie im Block-Test: $\bar{x} \pm S.E.$**

Gruppe		Behandlungstag			
		0	15	30	45
		Latency to move (s)			
2,5 Monate	1 Rotenon 2,5 mg/kg	0,00 ± 0,00	3,88 ± 2,38	18,1 ± 4,32	23,9 ± 4,04
	2 Rotenon 4,0 mg/kg	0,00 ± 0,00	4,38 ± 3,71	16,4 ± 5,85	30,0 ± 0,00
	3 Vehikel	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
5 Monate	4 Rotenon 2,5 mg/kg	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	9,00 ± 1,86
	5 Rotenon 5,0 mg/kg	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
	6 Vehikel	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	4,60 ± 1,12
12 Monate	7 Rotenon 2,5 mg/kg	0,00 ± 0,00	3,88 ± 2,38	13,3 ± 4,14	7,00 ± 2,11
	8 Rotenon 4,0 mg/kg	0,00 ± 0,00	4,38 ± 3,71	9,62 ± 4,62	9,33 ± 3,32
	9 Vehikel	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

TH-Immunhistochemie

Tab. A10: Striatale Faserdichte TH-positiver Nervenfasern

Anteil der Fläche mit Grauwerten über dem Grenzbereich am Gesamtstriatum in Prozent

	Gruppe								
	2,5 Monate			5 Monate			12 Monate		
	<u>1</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>2</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>3</u> Vehikel	<u>4</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>5</u> Rotenon 5,0 mg/kg	<u>6</u> Vehikel	<u>7</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>8</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>9</u> Vehikel
\bar{x}	50,5	47,1	29,7	41,2	57,0	49,6	67,6	65,9	59,7
\pm S.E.	\pm 4,28	\pm 4,07	\pm 5,09	\pm 3,42	\pm 2,98	\pm 4,83	\pm 1,98	\pm 1,93	\pm 2,97

Tab. A11: Dichte [Neurone / mm³] TH-positiver Neurone der SN: $\bar{x} \pm$ S.E.; Wb

	Gruppe								
	2,5 Monate			5 Monate			12 Monate		
	<u>1</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>2</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>3</u> Vehikel	<u>4</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>5</u> Rotenon 5,0 mg/kg	<u>6</u> Vehikel	<u>7</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>8</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>9</u> Vehikel
total	5396 \pm 403	5717 \pm 524	6165 \pm 503	4645 \pm 386	3914 \pm 381	4310 \pm 396	6309 \pm 327	5329 \pm 380	6095 \pm 420
mediale Subregion	9520 \pm 564; 6033-13259	9980 \pm 853; 3952-14147	10722 \pm 580; 6010-14241	7081 \pm 528; 3250-9658	5741 \pm 559; 3250-10967	6620 \pm 428; 3648-9143	9637 \pm 451; 6244-13726	8075 \pm 578; 3087-14802	9001 \pm 702; 3437-15013
zentrale Subregion	5007 \pm 475; 1590-8535	5516 \pm 531; 2315-9073	5491 \pm 533; 2104-8909	5339 \pm 451; 865-7927	4684 \pm 435; 2409-7857	5023 \pm 596; 1497-7249	6929 \pm 398; 2689-10453	5865 \pm 405; 2268-9915	7001 \pm 442; 1988-9541
laterale Subregion	1660 \pm 171; 702-3040	1656 \pm 189; 702-2572	2282 \pm 395; 935-5285	1515 \pm 180; 842-3063	1317 \pm 150; 561-2105	1286 \pm 164; 608-2275	2362 \pm 131; 982-3461	2046 \pm 156; 795-3952	2282 \pm 115; 1380-3578

Tab. A12: Volumen der SN (μm^2) anterior, zentral und posterior: \bar{x} und S.E.

	Gruppe								
	2,5 Monate			5 Monate			12 Monate		
	<u>1</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>2</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>3</u> Vehikel	<u>4</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>5</u> Rotenon 5,0 mg/kg	<u>6</u> Vehikel	<u>7</u> Rotenon 2,5 mg/kg	<u>8</u> Rotenon 4,0 mg/kg	<u>9</u> Vehikel
anterior	7388 ± 886	5808 ± 1027	8302 ± 1210	9638 ± 827	9747 ± 951	8926 ± 1347	8274 ± 1036	7770 ± 848	8563 ± 678
zentral	221974 ± 6602	229598 ± 11764	230080 ± 7871	188862 ± 8050	200493 ± 9280	210349 ± 5273	239511 ± 7316	238972 ± 8647	256055 ± 8077
posterior	9215 ± 1207	12317 ± 1796	10672 ± 973	9034 ± 1360	9228 ± 803	10417 ± 1568	11064 ± 1272	9468 ± 997	10061 ± 1155

Gemeinsame Legende für die Tab. A13-A22: 6-OHDA-Maus-Modell

Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardfehler ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$) der Untersuchungen zur Vitalität und zum motorischen Verhalten sowie der Auswertung der TH-Immunhistochemie im *akuten und subchronischen 6-OHDA-Mausmodell* (einschließlich DHEA-Applikation).

Die einzelnen Tabellen fassen jeweils die Werte im *akuten Modell* (einmalige Injektion von 8 μg 6-OHDA in 2 μl Vehikel pro Hemisphäre, s. Kap. 3, Tab. 6: Gruppen Nr. 1-4) und im *subchronischen Modell* (5 bzw. 7 Tage täglich 8 μg 6-OHDA in 2 μl Vehikel pro Hemisphäre, s. Kap. 3, Tab. 7: Gruppen Nr. 5-8; 9-12) zusammen. In Gruppe 5-8 wurde (neben der Mikroinjektion) das Vehikel Miglyol, und in Gruppe 9-12 das Neurosteroid DHEA i.p. verabreicht.

Vor der Operation (d 0) und nach der Mikroinjektion (d 16) wurden Verhaltenstests zur Untersuchung der Motorik durchgeführt. 12 Tage nach der ersten Injektion wurden die Tiere narkotisiert, transkardial perfundiert und die Gehirne zur weiteren Auswertung entnommen. Das Körpergewicht ist mehrfach über den Behandlungszeitraum gemessen worden, die Werte der Verhaltenstests sind für d 0 und d 16 angegeben. Weiterhin sind für jeden Verhaltenstest der untersuchte Parameter und die Maßeinheit angegeben. Bei der Darstellung der TH-Immunhistochemie ist zum \bar{x} der Wb, d.h. der jeweils niedrigste und höchste Wert der Versuchsgruppe, angegeben.

Nähere Erläuterungen zur Gruppeneinteilung und zu den einzelnen Methoden s. Kap. 3.

Signifikante Unterschiede, welche sich aus den statistischen Auswertungen ergaben, sind in Kap. 4 graphisch und tabellarisch dargestellt.

Untersuchung der Vitalität und des motorischen Verhaltens

Tab. A13: Körpergewicht: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag									
		0	7	8	9	10	11	12	13	16	18
akut	<u>1</u> NaCl	28,4 ± 1,8	25,7 ± 1,7	25,1 ± 1,3	25,3 ± 1,5	26,0 ± 1,3	26,0 ± 1,4			26,8 ± 1,2	26,9 ± 1,0
	<u>2</u> 6-OHDA in NaCl	30,5 ± 1,0	27,9± 1,5	26,2 ± 1,3	24,6 ± 1,0	26,1 ± 1,7	26,8 ± 1,8			27,2 ± 1,3	27,8 ± 1,1
	<u>3</u> NaCl in Ascorbat	27,0 ± 1,1	24,5 ± 1,0	24,4 ± 1,0	24,9 ± 0,8	25,4 ± 0,7	25,5 ± 0,7			25,5 ± 0,7	26,3 ± 0,8
	<u>4</u> 6-OHDA in Ascorbat	25,7 ± 0,8	24,5 ± 1,0	23,9 ± 1,1	24,4 ± 1,0	24,7 ± 1,0	24,9 ± 1,0			25,5 ± 0,9	26,0 ± 1,0
subchronisch + Vehikel	<u>5</u> „naiv“	23,7 ± 0,5	23,9 ± 0,5	21,7 ± 0,5	20,7 ± 0,5	22,2 ± 0,4	22,9 ± 0,5			24,0 ± 0,4	23,9 ± 0,5
	<u>6</u> 5d NaCl	28,5 ± 0,9	25,2 ± 0,9	24,7 ± 1,1	23,2 ± 1,0	24,6 ± 1,1	25,6 ± 1,1			25,6 ± 0,7	26,0 ± 0,6
	<u>7</u> 5d 6-OHDA	27,2 ± 0,8	24,7 ± 0,5	24,0 ± 0,5	24,2 ± 0,5	22,6 ± 0,7	21,8 ± 0,4			24,7 ± 0,4	24,7 ± 0,2
	<u>8</u> 7d 6-OHDA	26,0 ± 0,5	24,5 ± 0,4	22,7 ± 0,3	22,0 ± 0,4	23,6 ± 0,3	24,0 ± 0,4	23,9 ± 0,3	24,3 ± 0,3	24,0 ± 1,1	24,6 ± 0,7
subchronisch + DHEA	<u>9</u> „naiv“	24,3 ± 0,6	24,8 ± 0,5	23,2 ± 0,8	21,4 ± 0,8	22,6 ± 0,2	23,5 ± 0,4			25,0 ± 0,5	25,1 ± 0,7
	<u>10</u> 5d NaCl	27,0 ± 0,9	24,7 ± 0,9	22,9 ± 0,9	22,0 ± 1,1	23,5 ± 1,3	24,3 ± 1,2			24,7 ± 1,0	25,0 ± 1,0
	<u>11</u> 5d 6-OHDA	27,8 ± 0,4	24,7 ± 0,5	23,8 ± 0,6	22,9 ± 0,5	23,2 ± 0,5	24,0 ± 0,2			24,8 ± 0,8	25,3 ± 0,5
	<u>12</u> 7d 6-OHDA	27,0 ± 0,5	25,1 ± 0,8	23,1 ± 0,8	22,6 ± 0,5	23,6 ± 0,5	23,7 ± 0,6	23,8 ± 0,6	24,4 ± 0,6	24,1 ± 0,7	25,6 ± 0,7

Tab. A14: **Lokomotorische Aktivität im Offenfeld: $\bar{x} \pm S.E.$**

Gruppe		Behandlungstag					
		0			16		
		Tran.	Rear.	Groo.	Tran.	Rear.	Groo.
akut	<u>1</u> NaCl	45,4 ± 5,8	18,2 ± 4,8	1,40 ± 0,2	74,6 ± 16,2	24,6 ± 6,6	2,00 ± 0,6
	<u>2</u> 6-OHDA in NaCl	53,0 ± 10,4	26,0 ± 4,8	1,17 ± 0,5	65,0 ± 8,7	15,7 ± 3,1	1,67 ± 0,5
	<u>3</u> NaCl in Ascorbat	45,4 ± 9,2	14,0 ± 4,2	1,20 ± 0,5	93,0 ± 8,5	29,8 ± 2,4	1,80 ± 0,4
	<u>4</u> 6-OHDA in Ascorbat	74,6 ± 11,3	25,6 ± 4,8	1,00 ± 0,3	74,4 ± 10,2	15,0 ± 4,4	0,80 ± 0,4
subchronisch + Vehikel	<u>5</u> „naiv“	57,2 ± 4,2	21,7 ± 2,2	1,33 ± 0,2	35,8 ± 7,1	14,7 ± 3,7	1,67 ± 0,6
	<u>6</u> 5d NaCl	54,6 ± 9,8	24,0 ± 5,6	1,80 ± 0,6	81,2 ± 9,6	21,2 ± 2,8	1,20 ± 0,2
	<u>7</u> 5d 6-OHDA	32,8 ± 6,9	11,3 ± 4,6	2,50 ± 0,6	54,8 ± 14,5	13,2 ± 5,2	1,67 ± 0,5
	<u>8</u> 7d 6-OHDA	59,4 ± 15,2	19,6 ± 5,4	1,40 ± 0,2	73,6 ± 10,7	25,4 ± 6,4	4,40 ± 0,7
subchronisch + DHEA	<u>9</u> „naiv“	52,3 ± 7,4	17,2 ± 3,71	1,00 ± 0,4	32,0 ± 4,7	13,3 ± 2,0	2,00 ± 0,6
	<u>10</u> 5d NaCl	51,4 ± 8,0	19,2 ± 2,6	1,80 ± 0,6	96,0 ± 4,5	18,2 ± 2,0	1,00 ± 0,5
	<u>11</u> 5d 6-OHDA	49,8 ± 3,2	16,0 ± 2,5	2,17 ± 0,4	73,3 ± 12,6	15,0 ± 5,4	2,33 ± 0,6
	<u>12</u> 7d 6-OHDA	47,0 ± 6,2	22,4 ± 3,6	2,80 ± 0,7	59,8 ± 3,1	26,8 ± 8,2	6,20 ± 0,8

Tab. A15: Lokomotorische Aktivität im „Activity Cage“: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag			
		0		16	
		Tran.	Rear.	Tran.	Rear.
subchronisch + Vehikel	<u>5</u> „naiv“	747 ± 40,0	53,5 ± 11,8	474 ± 98,2	25,8 ± 7,48
	<u>6</u> 5d NaCl	704 ± 56,7	34,8 ± 5,11	837 ± 54,5	38,0 ± 10,3
	<u>7</u> 5d 6-OHDA	430 ± 58,1	13,7 ± 5,14	383 ± 41,5	7,33 ± 2,35
	<u>8</u> 7d 6-OHDA	578 ± 79,6	13,4 ± 4,01	527 ± 37,6	15,8 ± 4,87
subchronisch + DHEA	<u>9</u> „naiv“	827 ± 66,4	36,2 ± 6,90	492 ± 59,1	20,3 ± 2,03
	<u>10</u> 5d NaCl	680 ± 115	28,8 ± 7,74	866 ± 130	35,8 ± 15,1
	<u>11</u> 5d 6-OHDA	532 ± 50,1	13,8 ± 2,86	517 ± 85,5	9,50 ± 5,36
	<u>12</u> 7d 6-OHDA	608 ± 70,2	19,0 ± 5,12	473 ± 77,5	12,6 ± 1,57

Tab. A16: Koordination auf dem Rotarod: $\bar{x} \pm S.E.$

Gruppe		Behandlungstag	
		0	16
		Latency to fall [4-40 rpm] (s)	
akut	<u>1</u> NaCl	154 ± 16,3	152 ± 27,6
	<u>2</u> 6-OHDA in NaCl	117 ± 25,4	123 ± 30,1
	<u>3</u> NaCl in Ascorbat	134 ± 10,3	160 ± 49,8
	<u>4</u> 6-OHDA in Ascorbat	224 ± 32,8	218 ± 20,6
subchronisch + Vehikel	<u>5</u> „naiv“	228 ± 22,9	231 ± 19,1
	<u>6</u> 5d NaCl	183 ± 30,4	133 ± 34,0
	<u>7</u> 5d 6-OHDA	189 ± 21,1	186 ± 41,1
	<u>8</u> 7d 6-OHDA	212 ± 25,7	139 ± 27,5
subchronisch + DHEA	<u>9</u> „naiv“	185 ± 32,0	199 ± 34,3
	<u>10</u> 5d NaCl	154 ± 16,6	188 ± 22,7
	<u>11</u> 5d 6-OHDA	217 ± 27,5	206 ± 28,6
	<u>12</u> 7d 6-OHDA	226 ± 32,3	189 ± 15,0

Tab. A17: **Muskelkraft im Grip-Strength Test: $\bar{x} \pm S.E.$**

Gruppe		Behandlungstag	
		0	16
		Griffstärke (g)	
akut	1 NaCl	60,8 ± 8,23	62,1 ± 7,36
	2 6-OHDA in NaCl	64,7 ± 3,83	60,6 ± 7,32
	3 NaCl in Ascorbat	52,0 ± 3,21	40,6 ± 10,9
	4 6-OHDA in Ascorbat	62,3 ± 6,22	56,0 ± 7,41
subchronisch + Vehikel	5 „naiv“	65,0 ± 3,53	67,5 ± 3,04
	6 5d NaCl	67,4 ± 7,67	51,4 ± 3,46
	7 5d 6-OHDA	67,1 ± 4,15	38,3 ± 5,92
	8 7d 6-OHDA	70,9 ± 4,20	38,3 ± 4,18
subchronisch + DHEA	9 „naiv“	66,2 ± 5,01	74,3 ± 5,69
	10 5d NaCl	68,6 ± 5,30	50,4 ± 4,91
	11 5d 6-OHDA	63,6 ± 2,57	38,7 ± 4,19
	12 7d 6-OHDA	74,8 ± 3,70	45,1 ± 7,01

Tab. A18: **Muskelkraft im Wire-Hang Test: $\bar{x} \pm S.E.$**

Gruppe		Behandlungstag	
		0	16
		Latency to fall [180°] (s)	
akut	1 NaCl	51,6 ± 8,40	28,4 ± 8,01
	2 6-OHDA in NaCl	50,8 ± 5,41	37,3 ± 10,2
	3 NaCl in Ascorbat	60,0 ± 0	48,0 ± 12,0
	4 6-OHDA in Ascorbat	60,0 ± 0	59,0 ± 1,0
subchronisch + Vehikel	5 „naiv“	60,0 ± 0	60,0 ± 0
	6 5d NaCl	60,0 ± 0	42,2 ± 11,0
	7 5d 6-OHDA	60,0 ± 0	49,5 ± 7,27
	8 7d 6-OHDA	60,0 ± 0	60,0 ± 0
subchronisch + DHEA	9 „naiv“	60,0 ± 0	60,0 ± 0
	10 5d NaCl	60,0 ± 0	39,6 ± 9,43
	11 5d 6-OHDA	60,0 ± 0	41,5 ± 9,19
	12 7d 6-OHDA	60,0 ± 0	39,4 ± 9,90

Tab. A19: **Katalepsie im Block-Test: $\bar{x} \pm S.E.$**

Gruppe		Behandlungstag	
		0	16
		Latency to move (s)	
akut	<u>1</u> NaCl	0 ± 0	0 ± 0
	<u>2</u> 6-OHDA in NaCl	0 ± 0	0 ± 0
	<u>3</u> NaCl in Ascorbat	0 ± 0	0 ± 0
	<u>4</u> 6-OHDA in Ascorbat	0 ± 0	0 ± 0
subchronisch + Vehikel	<u>5</u> „naiv“	0 ± 0	0 ± 0
	<u>6</u> 5d NaCl	0 ± 0	0 ± 0
	<u>7</u> 5d 6-OHDA	0 ± 0	0 ± 0
	<u>8</u> 7d 6-OHDA	0 ± 0	6,20 ± 1,32
subchronisch + DHEA	<u>9</u> „naiv“	0 ± 0	0 ± 0
	<u>10</u> 5d NaCl	0 ± 0	0 ± 0
	<u>11</u> 5d 6-OHDA	0 ± 0	0 ± 0
	<u>12</u> 7d 6-OHDA	0 ± 0	8,60 ± 2,11

TH-Immunhistochemie

Tab. A20 Striatale Läsionen und Gesamtstriatum (mm²)

akut

	Läsion		Striatum	
	(2) 6-OHDA in NaCl	(4) 6-OHDA in Ascorbat	(2) 6-OHDA in NaCl	(4) 6-OHDA in Ascorbat
\bar{x}	0,64	0,63	2,45	2,46
Wb	0,31-1,06	0,35-1,00	1,84-2,69	2,27-2,85
S.E.	0,07	0,08	0,07	0,05

subchronisch + Vehikel

	Läsion		Striatum	
	(7) 5d 6-OHDA	(8) 7d 6-OHDA	(7) 5d 6-OHDA	(8) 7d 6-OHDA
\bar{x}	0,51	0,42	2,01	1,98
Wb	0,14-0,80	0,23-0,74	1,82-2,24	1,70-2,20
S.E.	0,06	0,05	0,04	0,05

subchronisch + DHEA

	Läsion		Striatum	
	(11) 5d 6-OHDA	(12) 7d 6-OHDA	(11) 5d 6-OHDA	(12) 7d 6-OHDA
\bar{x}	0,59	0,34	2,03	2,02
Wb	0,35-1,18	0,18-0,50	1,78-2,21	1,86-2,19
S.E.	0,07	0,03	0,04	0,03

Tab. A21 Dichte [Neurone/ mm³] TH-positiver Neurone in der SNC

akut

	linke Gehirnhälfte				rechte Gehirnhälfte			
	(1) NaCl	(2) 6-OHDA in NaCl	(3) NaCl in Ascorbat	(4) 6-OHDA in Ascorbat	(1) NaCl	(2) 6-OHDA in NaCl	(3) NaCl in Ascorbat	(4) 6-OHDA in Ascorbat
\bar{x}	6538	6608	8301	6641	6823	5935	7101	6945
S.E.	673	1041	346	611	341	1139	446	831

	Mittelwerte aus rechter und linker Gehirnhälfte			
	(1) NaCl	(2) 6-OHDA in NaCl	(3) NaCl in Ascorbat	(4) 6-OHDA in Ascorbat
\bar{x}	6793	7701	6272	6681
Wb	4794-9260	5659-8909	2759-9868	4724-7857
S.E.	489	325	737	358

subchronisch + Vehikel

	linke Gehirnhälfte				rechte Gehirnhälfte			
	(5) "naiv"	(6) 5d NaCl	(7) 5d 6-OHDA	(8) 7d 6-OHDA	(5) "naiv"	(6) 5d NaCl	(7) 5d 6-OHDA	(8) 7d 6-OHDA
\bar{x}	5098	6480	4073	4761	5626	5493	3555	4541
S.E.	786	344	292	232	399	1026	511	245

	Mittelwerte aus rechter und linker Gehirnhälfte			
	(5) "naiv"	(6) 5d NaCl	(7) 5d 6-OHDA	(8) 7d 6-OHDA
\bar{x}	5362	5986	3814	4581
Wb	3578-7904	1741-7743	1941-5028	3718-5472
S.E.	425	536	292	164

subchronisch + DHEA

	linke Gehirnhälfte				rechte Gehirnhälfte			
	(9) "naiv"	(10) 5d NaCl	(11) 5d 6-OHDA	(12) 7d 6-OHDA	(9) "naiv"	(10) 5d NaCl	(11) 5d 6-OHDA	(12) 7d 6-OHDA
\bar{x}	4864	5571	4700	4712	4716	4053	3867	4759
S.E.	426	557	445	441	573	985	659	890

	Mittelwerte aus rechter und linker Gehirnhälfte			
	(9) "naiv"	(10) 5d NaCl	(11) 5d 6-OHDA	(12) 7d 6-OHDA
\bar{x}	4790	4812	4283	4813
Wb	2502-6360	1689-6964	1263-6711	2596-8793
S.E.	341	590	399	512