

Aus dem Institut für Anatomie  
Der Universitätsmedizin Rostock  
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Markus Kipp

**Rezeptordichten von Dopamin, Serotonin, GABA, Alpha-1, Alpha-2, sowie  
Adenosin-A1 Rezeptoren im 6-OHDA Hemiparkinson-Modell der Ratte nach  
intrastriataler Botulinum-Neurotoxin-A-Injektion**

**Inauguraldissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
der medizinischen Fakultät  
der Universität Rostock**

vorgelegt von

Samer Sabarini, geb. am 11.09.1993 in Kassel

Rostock, den 23.01.2023

**Dekan:** Prof. Dr. med. Emil C. Reisinger

**Gutachter:**

1. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Wree, Institut für Anatomie Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Uwe Walter, Klinik und Poliklinik für Neurologie Rostock

3. Gutachter: PD Dr. rer. nat. Nicola Palomero-Gallagher, INM-1 Jülich

Eröffnung des Promotionsverfahrens: 23.01.2023

Datum der Verteidigung: 25.06.2024

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Abkürzungsverzeichnis                                          | I  |
| Zusammenfassung                                                | IV |
| <br>                                                           |    |
| 1 Einleitung                                                   | 1  |
| 1.1 Epidemiologie / Ätiologie                                  | 1  |
| 1.2 Klinik                                                     | 8  |
| 1.3 Diagnostik                                                 | 12 |
| 1.4 Therapie                                                   | 15 |
| 1.4.1 L-Dopa                                                   | 16 |
| 1.4.2 COMT                                                     | 18 |
| 1.4.3 MAO – B Hemmer                                           | 19 |
| 1.4.4 Dopaminagonisten                                         | 19 |
| 1.4.5 Glutamatantagonisten                                     | 21 |
| 1.4.6 Anticholinergika                                         | 22 |
| 1.4.7 Interventionelle, funktionelle Verfahren und Perspektive | 22 |
| 1.5 Basalganglien                                              | 23 |
| 1.5.1 Striatum                                                 | 24 |
| 1.5.2 Globus pallidus                                          | 25 |
| 1.5.3 Substantia nigra                                         | 26 |
| 1.5.4 Nucleus subthalamicus                                    | 26 |
| 1.5.5 Verschaltung der Basalganglien                           | 27 |
| 1.5.6 Rolle beim Morbus Parkinson                              | 30 |
| 1.6 Botulinum                                                  | 32 |
| 1.6.1 Wirkung                                                  | 32 |
| 1.6.2 Einsatz in der Medizin                                   | 36 |
| 1.7 Tiermodell                                                 | 38 |
| 1.8 Rezeptoren                                                 | 41 |
| 1.8.1 Serotonin                                                | 41 |
| 1.8.2 GABA                                                     | 42 |
| 1.8.3 Dopamin                                                  | 43 |
| 1.8.4 Adenosin                                                 | 44 |
| 1.8.5. Adreno                                                  | 45 |
| 1.9 Fragestellung                                              | 46 |

|                                               |     |
|-----------------------------------------------|-----|
| 2 Methode                                     | 48  |
| 2.1 Versuchstiere                             | 48  |
| 2.2. Narkose                                  | 49  |
| 2.3 6-OHDA Injektion                          | 49  |
| 2.4 BoNT-A Injektion                          | 51  |
| 2.5 Tötung und Aufarbeitung der Tiere         | 52  |
| 2.6 Rezeptorautoradiographie                  | 53  |
| 2.7 Auswertung MCID                           | 57  |
| 2.8 Statistische Auswertung                   | 64  |
| <br>                                          |     |
| 3 Ergebnisse                                  | 65  |
| 3.1 5HT2A                                     | 66  |
| 3.2 A1                                        | 70  |
| 3.3.1 Alpha1                                  | 74  |
| 3.3.2 Alpha2                                  | 77  |
| 3.4 D1                                        | 81  |
| 3.5.1 GABA-A                                  | 83  |
| 3.5.2 GABA-A mit Benzodiazepin-Bindungsstelle | 86  |
| 3.5.3 GABA-B                                  | 90  |
| <br>                                          |     |
| 4 Diskussion                                  | 94  |
| 4.1. Beurteilung des Studiendesigns           | 94  |
| 4.2 Auswertung 5HT2A                          | 97  |
| 4.3 Auswertung D1                             | 100 |
| 4.4.1 Auswertung Alpha1                       | 102 |
| 4.4.2 Auswertung Alpha2                       | 104 |
| 4.5. Auswertung GABA-A                        | 105 |
| 4.6 Ausblick                                  | 106 |
| <br>                                          |     |
| 5 Literaturverzeichnis                        | 108 |
| 5.1 Abbildungsverzeichnis                     | 132 |
| 5.2 Tabellenverzeichnis                       | 133 |

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| 6 Anhang                   | 134 |
| 6.1 Abbildungsanhang       | 134 |
| 6.2 Tabellenanhang         | 145 |
| Thesen                     | 148 |
| Eigenständigkeitserklärung | 150 |
| Danksagung                 | 151 |
| Lebenslauf                 | 152 |

## Abkürzungsverzeichnis

| Abkürzung   | Bedeutung                                                  |
|-------------|------------------------------------------------------------|
| 5-HT        | 5-Hydroxytryptamin                                         |
| 6-OHDA      | 6-Hydroxydopamin (OH = Hydroxygruppe)                      |
| AcB         | Nucleus accumbens                                          |
| ACh         | Acetylcholin                                               |
| AMPA        | $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure |
| ATP         | Adenosintriphosphat                                        |
| BSA         | Bovines Serumalbumin                                       |
| BoNT        | Botulinum Neurotoxin                                       |
| CA1/3       | Teilregionen im Hippocampus                                |
| cAMP        | Cyclisches Adenosinmonophosphat                            |
| CG          | Cingulärer Kortex                                          |
| CGP-54626   | GABA-Antagonist                                            |
| COMT-Hemmer | Catechol-O-Methyltransferase – Hemmer                      |
| CPu         | Caudatus-Putamen-Komplex                                   |
| DAT         | Dopamin-Transporter                                        |
| DDC         | DOPA-Decarboxylase                                         |
| DG          | Gyrus dentatus                                             |
| DJ-1        | Protein Deglycase DJ-1                                     |
| DPCPX       | Adenosin-A1 Rezeptor Antagonist                            |

|        |                                                                             |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------|
| GABA   | $\gamma$ -Aminobuttersäure                                                  |
| GP     | Globus pallidus                                                             |
| GPe    | Globus pallidus externus                                                    |
| GPI    | Globus pallidus internus                                                    |
| GW     | Gemessener Grauwert                                                         |
| HC     | Heavy-Chain BoNT                                                            |
| Hz     | Herzt                                                                       |
| IPS    | Idiopathische Parkinson-Syndrom                                             |
| K      | Kontrolle                                                                   |
| KG     | Körpergewicht                                                               |
| Kd     | Dissoziationskonstante                                                      |
| kDa    | Kilodalton                                                                  |
| LB     | Versuchsgruppe der läsierten und mit BoNT-A behandelten Ratten              |
| LC     | Light-Chain BoNT                                                            |
| L-Dopa | Levodopa                                                                    |
| LD50   | Letale Dosis                                                                |
| LV     | Versuchsgruppe der läsierten und mit Vehikellösung scheinbehandelten Ratten |
| M      | Motorischer Kortex                                                          |
| MAO-B  | Monoaminoxidase B                                                           |
| MFB    | Mediales Vorderhirnbündel                                                   |
| MPTP   | 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin                                 |

|             |                                                               |
|-------------|---------------------------------------------------------------|
| NMDA        | N-Methyl-D-Aspartat                                           |
| PBS         | Phosphatpufferlösung                                          |
| RD          | Rezeptordichte                                                |
| ROS         | Reaktive Sauerstoffspezies                                    |
| S           | Somatosensorischer Kortex                                     |
| SA          | Spezifische Aktivität                                         |
| SN (pc, pr) | Substantia nigra (Pars compacta, Pars reticulata)             |
| SNARE       | Soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor |
| STN         | Nucleus subthalamicus                                         |
| SV2         | synaptische Vesikelprotein 2                                  |
| UCH-L1      | Ubiquitin-carboxy-terminale Hydrolase L1                      |
| UK-14,304   | $\alpha$ 2-Adrenorezeptor Agonist                             |
| UKPDSBB     | UK Parkinson's Disease Brain Bank                             |
| UPDRS       | Unified Parkinson's Disease Rating Scale                      |
| ZNS         | Zentrales Nervensystem                                        |

\*Genderhinweis: Personenbezogene Bezeichnungen sind genderneutral zu verstehen.

## **Zusammenfassung**

Als neurodegenerative Erkrankung wird der Morbus Parkinson klinisch durch die drei Kardinalsymptome Tremor, Akinese und Rigor gekennzeichnet und auf zellulärer Ebene durch das Absterben von dopaminergen Neuronen ausgelöst. Dieser Dopaminmangel wird aktuell im klinischen Alltag symptomatisch mit Levodopa substituiert, was jedoch bei langfristiger Einnahme mit schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden ist. Auch andere Therapieansätze behandeln die Erkrankung nur symptomatisch. Die von uns experimentell entwickelte Studie mit dem Botulinum-Neurotoxin-A stellt die Frage, ob dem pathologischen Hypercholinismus hiermit entgegenwirkt werden kann.

Mit der vorliegenden Arbeit sollen Veränderungen der Rezeptordichten verschiedener Rezeptorklassen nach intrazerebral appliziertem BoNT-A und Sham-BoNT im 6-OHDA Hemiparkinson-Modell der Ratte untersucht werden. Hierzu wurden entsprechende Hirnareale autoradiographisch erfasst und unter Verwendung der graphischen Analysesoftware MCID Analysis ausgewertet. Die entsprechenden Injektionsexperimente und Erstellung der Autoradiogramme wurden im Vorfeld dieser Promotion durch Mitarbeiter des Institutes für Neurowissenschaften und Medizin Jülich und am Institut für Anatomie der Universitätsmedizin Rostock angefertigt.

Mit dieser Dissertation soll explizit untersucht und dargestellt werden, welche Veränderung BoNT-A nach unilateraler Injektion an ipsilateral 6-OHDA läsierten Ratten verursacht wird, bemessen an der autoradiographischen Rezeptordichte über einen Zeitraum von 9 Monaten. Des Weiteren soll untersucht werden, welche Wirkung die operative intrazerebrale Applikation eines Wirkstoffs (hier mit Sham-Botulinum-Neurotoxin) auf die Rezeptordichten hat.

Die Studie zeigt, korrelierend zu vorherigen Verhaltenstest und Apomorphin Rotationstest, eine positive Wirkung auf die Rezeptordichte von GABA<sub>A</sub>, D<sub>1</sub>, 5HT<sub>2A</sub>,  $\alpha$ 1 und  $\alpha$ 2 Rezeptoren in verschiedenen essentiellen Hirnregionen der motorischen Basalganglienschleife. Die Ergebnisse deuten auf einen möglichen Behandlungsansatz von Morbus Parkinson hin, durch die BoNT-A Applikation für die Zukunft.

## 1. Einleitung

### 1.1 Epidemiologie / Ätiologie

Nach der Demenz ist der Morbus Parkinson weltweit die häufigste neurodegenerative Erkrankung. Schätzungsweise 0,3% der Gesamtbevölkerung leidet am Morbus Parkinson. Die mittlere Prävalenz steigt ab dem 65. Lebensjahr exponentiell an und liegt bei ungefähr 3%. Er kommt in allen ethnischen Gruppen vor, dabei besteht eine leicht erhöhte Prävalenz bei Männern. Auch das Lebenszeitrisiko liegt bei Männern mit 4,4% leicht höher als bei Frauen mit 3,7%. Aufgrund des demographischen Wandels wird erwartet, dass die Anzahl der Morbus Parkinson Patienten sich bis 2030 verdoppelt, und dass bis 2040 neurodegenerative Erkrankungen Karzinome als zweithäufigste Todesursache unter Senioren ablöst (de Rijk et al., 1997, von Campenhausen et al., 2005).

Erstmalig in der Literatur wurde der Morbus Parkinson 1817 durch James Parkinson in seiner Arbeit 'An Essay on the Shaking Palsy' beschrieben, die charakteristischen Symptome, wie Ruhetremor oder Störungen des Stellreflexes, zusammenfasste. Dabei stellt der Morbus Parkinson, oder auch idiopathisches Parkinson Syndrom (IPS) genannt, nur eines von vier Parkinson-Syndromen dar. Es wird weiter unterschieden in atypische Parkinson-Syndrome im Rahmen von neurodegenerativen Erkrankungen wie der Multisystematrophie oder der Lewy-Körperchen Demenz, hereditäre (familiäre) Parkinson-Syndrome, sowie sekundäre symptomatische Parkinson-Syndrome.

Die Ursachen für sekundär symptomatische Parkinson-Syndrome sind vielfältig. So sind hierfür Traumata, Tumore oder Raumforderungen, Entzündungen, metabolische Störungen wie im Rahmen des Morbus Wilson oder des Hypoparathyreodismus und Medikamenteneinnahme von klassischen Neuroleptika wie Haloperidol, Pipamperon, Melperon, aber auch Lithium als ursächlich erachtet (Eggert et al., 2012, de Lau und Breteler, 2006). Eine weitere wichtige Ursache wurde Anfang der 80er bei jungen Patienten beschrieben, die fälschlicherweise die Substanz MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) eingenommen haben. Dieser Vorfall hat neue Erkenntnisse über den Dopamintransport und Relevanz beim idiopathischen Parkinson Syndrom erbracht.

Die hereditären Parkinson-Syndrome machen nur ca. 5% aller Parkinson-Erkrankungen aus. Das familiäre Auftreten eines Parkinson-Syndroms gilt als Ausschlusskriterium für die

Diagnose eines IPS (Hughes et al., 1992). Die familiären Parkinson-Syndrome werden nach den Mendelschen Regeln autosomal-dominant oder autosomal-rezessiv vererbt. Einige der identifizierten veränderten Gene sind als Suszeptibilitätsgene oder anderweitige pathogenetische Faktoren auch beim IPS von großer Bedeutung. Sie sind zum Verständnis der Pathogenese beim IPS und Entwicklung von Tiermodellen von entscheidender Rolle.

Die wichtigsten Gene werden an dieser Stelle erwähnt:

PARK1: Es kodiert für das Protein  $\alpha$ -Synuklein. Mutationen des Gens konnten bei Parkinson-Patienten nicht identifiziert werden, jedoch kommt es hierbei ähnlich wie beim IPS zu pathologischen Ablagerungen des  $\alpha$ -Synuklein in den Lewy-Körperchen (Spillantini et al., 1997). Außerdem konnten Polymorphismen des PARK1-Gens bei IPS-Patienten gefunden werden und im Sinne eines Suszeptibilitätsfaktor angesehen werden (Kruger et al., 1999). PARK2: Es kodiert für das Protein E3-Ubiquitinligase auch bezeichnet als Parkin. Hierbei kommt es zu einer Störung und Reduktion des Enzyms, welches eine wesentliche Rolle in der Ubiquitinierung von Proteinen und ihren Abbau spielt (Lim et al., 2005). Somit kommt es ähnlich wie beim IPS zur Akkumulation von  $\alpha$ -Synuklein und Synphilin-1 und damit zur Schädigung der Zelle.

PARK5: Es kodiert für die Ubiquitin-carboxy-terminale Hydrolase L1 (UCH-L1). Aufgrund eines Aminosäureaustausch an Position 93 kommt es zu einer Reduktion der Enzymaktivität. Es ist am Ubiquitin-Proteasom-Komplex beteiligt und damit auch an der Degradation von Proteinen. Es setzt Ubiquitin-Moleküle von abgebauten Proteinen frei, um diese dann zur Ubiquitinierung neuer Proteine wieder zu verwenden (Leroy et al., 1998).

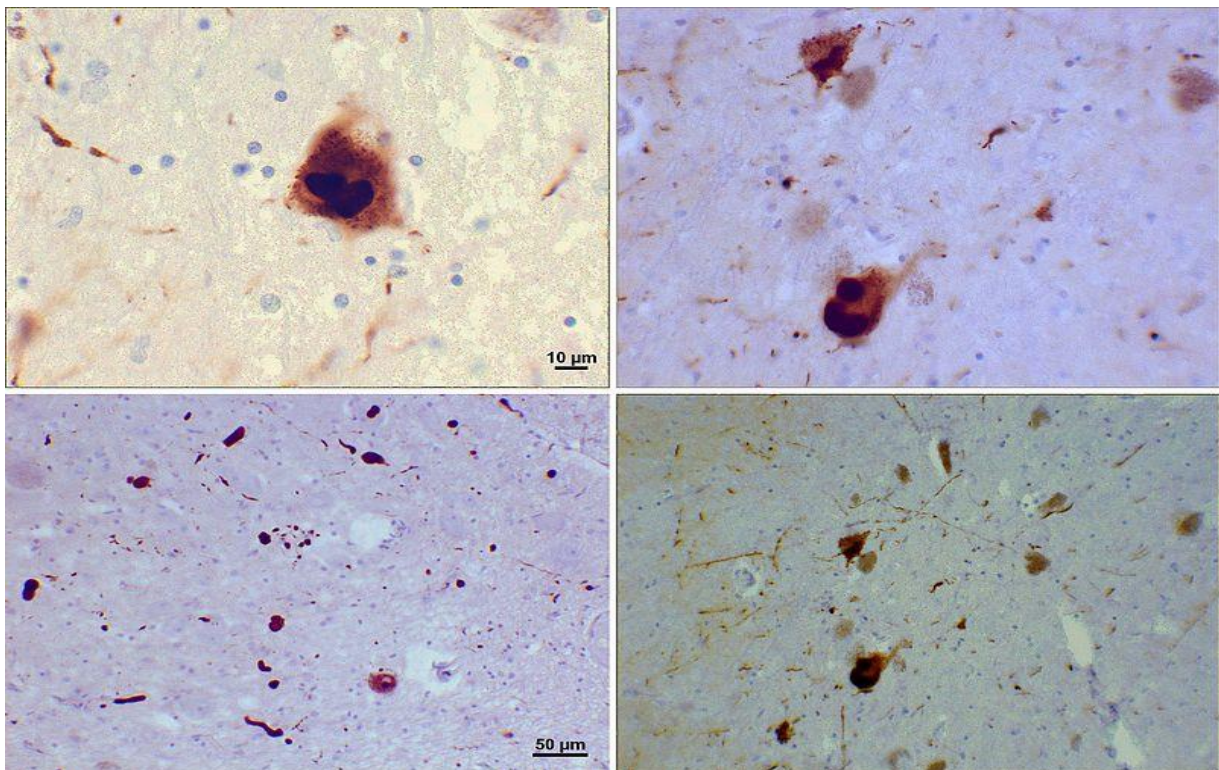
PINK1: Es kodiert für ein mitochondriales Protein mit einer Proteinkinase-Domäne. Die Lokalisation legt die Bedeutung der Mitochondrien und dem verbundenen hohen Energie- und oxidativen Stoffwechsel nahe im Zusammenhang mit der Pathogenese des IPS (Singleton, 2004).

PARK7: Es kodiert für ein hydroperoxid-sensitives Protein namens DJ-1. Es stellt ein Sensormolekül für oxidativen Stress dar (Mitsumoto et al., 2001).

Nuclear receptor-related 1 (Nurr1): Es kodiert für einen Transkriptionsfaktor, welcher für die Differenzierung, die Neurotransmitteridentität und das Überleben von dopaminergen Neuronen essentiell ist (Eells, 2003). Mutationen an diesem Gen führen zu einer Reduktion der Nurr1- mRNA und damit reduzierter Überlebensfähigkeit der Zelle.

Synphilin-1: Es handelt sich hierbei um ein Protein welches – ähnlich wie  $\alpha$ -Synuklein – ein Substrat des Parkin Enzyms ist. Fehlfaltungen des Proteins führen in Interaktion mit  $\alpha$ -Synuklein zur Ablagerung in den Lewy-Körperchen, wie auch beim IPS (Engelender et al., 1999).

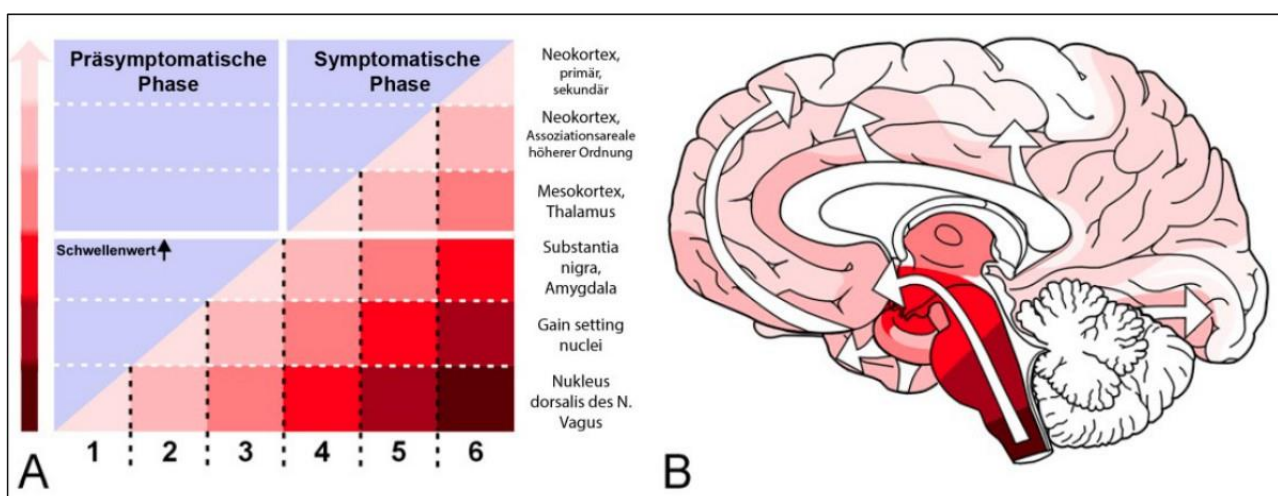
Die Ätiologie des idiopathischen Parkinson Syndroms ist noch weiterhin unklar. Ansätze in der Entstehung lassen sich in der Pathologie finden. Neuropathologisch ist das IPS durch die Degeneration der dopaminergen Neurone der Substantia nigra pars compacta gekennzeichnet. Dabei lassen sich Lewy-Körperchen in den Somata und Dendriten von Neuronen der Substantia nigra, aber auch in anderen Bereichen des Nervensystems nachweisen (Braak et al., 2003). Hierbei handelt es sich um intrazelluläre Einschlusskörperchen aus ubiquitinierten Proteinen, welche nicht adäquat abgebaut werden konnten. Hauptsächlich bestehen die Lewy-Körperchen aus  $\alpha$ -Synuklein, aber auch andere Proteine wie Synphilin-1, Ubiquitin, Tau,  $\alpha$ -Tubulin und Synaptophysin sind identifizierbar (Pollanen et al., 1993). Ein lichtmikroskopisches Beispiel von Lewy-Körperchen ist in Abb. 1.1 dargestellt (Suraj Rajan, 2012).



**Abb. 1.1** Einschlusskörperchen-Pathologie beim idiopathischen Parkinson-Syndrom in verschiedenen Vergrößerungen. Es zeigen sich aggregierte  $\alpha$ -Synuklein Proteine, welche die Lewy-Körperchen formen. Färbung: Hämatoxyllin-Eosin Färbung (Suraj Rajan, 2012).

Diese striatale Veränderung und dadurch bedingten Dopaminmangel führen zu veränderten Signalwegen in der direkten und indirekten motorischen Basalganglienschleife und stellen den Hauptgrund für die motorischen Symptome des IPS dar (Blandini et al., 2000).

Interessanterweise treten die Lewy-Körperchen nicht gleichförmig im zeitlichen Verlauf der Erkrankung auf, sondern verteilen sich je nach Stadium an anderen Stellen des zentralen Nervensystems und dabei auch lange vor klinischer Erstmanifestation der Erkrankung. Untersuchungen über die Ausbreitung führten zur Veröffentlichung der Braak-Stadien (Braak et al., 2003) wie in Abb. 1.2 dargestellt.



**Abb. 1.2** Histopathologische Stadien der Parkinson-Erkrankung. A: Darstellung des quantitativen Auftretens von Lewy-Körperchen in vulnerablen Hirnregionen (stärkerer Befall wird durch dunklere Rottöne dargestellt), B: Räumliche Darstellung der Ausbreitung, der Farbton korrespondiert mit A (Braak et al., 2003).

In den ersten Stadien sind dabei insbesondere das vegetative System mit dem Nervus vagus und das olfaktorische Nervensystem mit dem Nervus olfactorius betroffen, was die Frühsymptomatik von Obstipation und Geruchsstörungen gut erklärt. Als Endpunkt wird der Neokortex genannt und erklärt damit das versetzte Auftreten der motorischen und im Verlauf zunehmend kognitive Defizite. Seither geht man von einer aszendierenden Ausbreitung der Erkrankung aus (Braak et al., 2003).

Die Braak-Stadien definieren sich wie folgt:

Stadium 1: Erstmanifestation der Lewy-Körperchen im dorsalen motorischen Kern des Nervus vagus und in vorderen Anteilen des Bulbus olfactorius.

Stadium 2: Ausbreitung auf den Locus coeruleus, Formatio reticularis und medialen Raphe-Kern.

Stadium 3: Manifestation im limbischen System mit Einbezug des Hippocampus, Amygdala und entorhinaler Kortex. Ebenfalls wird hier erstmalig das Vorkommen in der Substantia nigra pars compacta und basaler Frontalkortex beschrieben. Hierbei kann es erstmalig zu motorischen Symptomen kommen.

Stadium 4: Weiterausbreitung in den Mesocortex, ventrales Pallidum.

Stadium 5/6: Befall des Kortex wie beispielsweise primär und sekundär sensomotorische Kortexareale.

Die befallenen Neurone weisen dabei alle eine Eigenschaft auf: Sie besitzen lange, unmyelinisierte Axone, wodurch sie besonders vulnerabel gegenüber externen Noxen sind. Außerdem besitzen sie eine autonome Schrittmacheraktivität von L-Typ-Calcium-Kanälen, welche einen erhöhten Energiebedarf bedingen und somit verbunden auch erhöhten oxidativen Stress bedeuten (Surmeier und Sulzer 2013).

Wie bereits erwähnt, ist die eigentliche Ursache, welche zum Auftreten dieser Degeneration führt, weiterhin ungeklärt, jedoch haben viele neue Erkenntnisse über die familiären Parkinson-Syndrome, sowie auch sekundär symptomatische Parkinson-Syndrome, zu neuen Theorien und Modelle beigetragen. Dabei scheint es sich um ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren zu handeln.

Studien der letzten Jahre haben die Bedeutung des oxidativen Stresses in der Pathogenese gut belegt. Im zentralen Nervensystem herrscht eine besondere Stoffwechsellage mit verstärkter Radikalbildung. Aufgrund des hohen ATP-Bedarfs findet im ZNS mehr als 20% des Sauerstoffverbrauchs statt, wobei es nur einen Bruchteil der gesamten Körpermasse ausmacht (Halliwell, 2006). Die Bildung freier Radikale ist ein physiologischer Prozess in vielen Zellen. In dopaminergen Neuronen der Substantia nigra konnte nachgewiesen werden, dass sowohl mehr freie Radikale gebildet und auch verlangsamt abgebaut werden (Fahn und Cohen, 1992). Dies lässt sich einerseits durch die erhöhte Stoffwechselrate

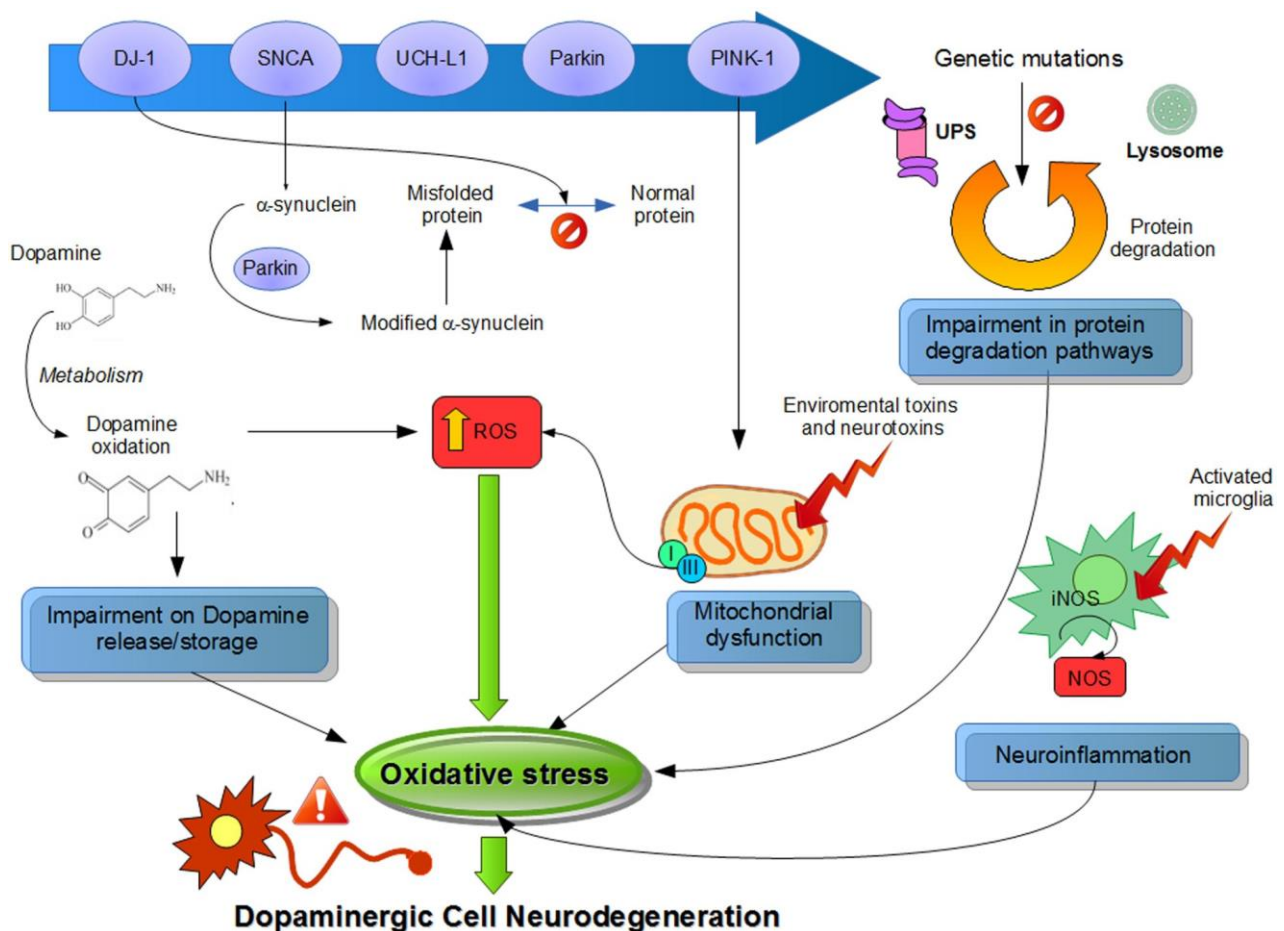
erklären, in welcher bereits physiologisch geringe Mengen an freien Radikalen auftreten (Turens, 2003) - andererseits durch den Metabolismus von Neurotransmitter, insbesondere Katecholamine wie Dopamin (Spencer et al., 1998). Des Weiteren lagern dopaminerge Neuronen vermehrt Eisen (III)-Ionen ein, welches eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Radikalen spielt (Olanow und Tatton, 1999). Die Bedeutung des oxidativen Stresses in der Degeneration von dopaminergen Neuronen wurde durch die Identifikation des Genlokus PARK7 unterstützt. Das entsprechende Protein DJ-1 wird bei oxidativem Stress hochreguliert und trägt zur Antioxidation bei und kommt in Morbus Parkinson Patienten erhöht vor (Taira et al., 2004). Es konnten auch erniedrigte Spiegel gewisser Enzyme nachgewiesen werden, wie beispielsweise der Glutathion-Peroxidase, welche dazu beitragen, den oxidativen Stress zu reduzieren. Dadurch liegt die Annahme nahe, dass der Untergang dopaminerger Neurone möglicherweise eine Dekompensation, beziehungsweise auf einen erhöhten oxidativen Stress zurückzuführen ist (Brigelius-Flohé, 1999; Sofic et al., 1992). Neben dem oxidativen Stress wurde auch eine Störung in der mitochondrialen ATP-Produktion von dopaminergen Neuronen festgestellt. Es konnte eine reduzierte Aktivität des Komplex I nachgewiesen werden und damit einhergehend auch eine reduzierte Energieproduktion (Schapira et al., 1998).

Eine weitere Rolle bei der Pathogenese des Morbus Parkinson scheint das  $\alpha$ -Synuklein zu spielen. Nach Identifikation der Genmutation wurde die Bedeutung des Proteins für die Pathophysiologie des sporadischen IPS untersucht. Wie bereits beschrieben, wurde es als Hauptbestandteil der Lewy-Körperchen identifiziert (Takeda et al., 1998). Obwohl die konkrete Rolle des Proteins noch ungeklärt ist, scheint es eine modulierende Rolle bei der Dopamin Freisetzung zu spielen (Abeliovich et al., 2000; Burré et al., 2010). Das Protein befindet sich membrangebunden an der Präsynapse und bietet eine  $\alpha$ -helikale Struktur. Bei genetischer Mutation des PARK1-Gens oder bei erhöhter Konzentration kommt es vermehrt zu Anteilen von  $\beta$ -Faltblattstrukturen, welche dazu neigen, intrazelluläre Aggregate zu bilden (Conway et al., 1998). Diese Aggregate können zusätzlich nur schlecht proteasomal abgebaut werden durch Parkin (PARK2) oder Ubiquitinhydrolase (PARK5). Interessanterweise wurde auch eine Reduktion der proteasomalen Aktivität der beiden Enzyme in sporadischen IPS-Patienten festgestellt (McNaught et al., 2003). Letztlich kommt es zu einem Anstieg der intrazellulären  $\alpha$ -Synuklein Konzentration, was wiederum die Apoptose dopaminerger Neurone induziert (Eslamboli et al., 2007). Das freigesetzte fehlgefaltete Protein könnte wiederum über noch unbekannte Wege in benachbarte

gesunde Neurone wiederaufgenommen werden und eine Fehlfaltung des nativen  $\alpha$ -Synuklein fördern, wodurch sich die Erkrankung Prionen-artig auszubreiten scheint (Angot und Brundin, 2009). Diese Theorie wurde durch Studien unterstützt, in welcher gesunde mesenzephalie fetale Neurone, nach Implantation in das Putamen von IPS-Patienten, Jahre später ebenfalls Lewy-Körperchen nachweisen ließen (Kordower et al., 2008).

Eine weitere Bedeutung bei der multifaktoriellen Genese der Erkrankung können genetische Polymorphismen spielen. Wie bereits oben erwähnt, finden sich veränderte Gene, wie das PARK1 oder Synphilin-1, welche bei monogenetischen Formen eine wichtige Rolle spielen, auch bei einem kleinen Teil (5%) der IPS-Patienten wieder. Sie werden als Suszeptibilitätsgene betrachtet. Weitere Studien konnten prädisponierende Polymorphismen nachweisen bei Genen, die für Proteinstrukturen von Dopaminrezeptoren, des Dopamintransports, der MAO-B und COMT-Enzyme kodieren (Comings et al., 1991; Le Couteur et al., 1997; Kunugi et al., 1997).

Zusätzlich scheint der Dopamintransporter ebenfalls ein Ansatzpunkt für die selektive Vulnerabilität dopaminergischer Neurone zu sein, durch die Aufnahme endogener oder exogener Neurotoxine. Der Dopamintransporter wird in höchster Dichte in den Neuronen exprimiert, die beim Morbus Parkinson besonders vulnerabel und betroffen sind. In experimentellen Studien an Tiermodellen konnte die Parkinson-Erkrankung durch das Nervengift MPTP verhindert werden, und zwar durch die Gabe von Blockern des Dopamintransporters (Javitch et al., 1985). Des Weiteren können auch andere toxische Substanzen mit struktureller Verwandtschaft zu Dopamin oder MPTP, die unter anderem auch im Rahmen des Dopamin-Metabolismus anfallen, durch den Dopamintransporter aufgenommen werden und sich intrazellulär anhäufen (Storch et al., 2004).



**Abb. 1.3** Schematische Darstellung verschiedener Dysfunktion in dopaminergen Neuronen, welche zu einem erhöhten oxidativen Stress führen und in Zusammenhang mit der Genese eines IPS stehen können. Dargestellt sind Umwelteinflüsse und genetische Mutationen, welche zu mitochondrialer Dysfunktion führen, eine gestörte Proteinfehlfaltung begünstigen oder die Bildung von Sauerstoffradikalen durch einen gestörten Dopaminmetabolismus begünstigen (Blesa et al., 2015).

Letztendlich wird von einer möglichen Interaktion und gegenseitiger Verstärkung aller oben genannten Faktoren ausgegangen, welche in Abb. 1.3. durch Blesa et al. (2015) schematisch zusammengefasst werden. Es bleibt allerdings unklar, wie es zu dieser selektiven Degeneration dopaminergener Neurone im Gehirn kommt.

## 1.2 Klinik

Der Morbus Parkinson wird durch die drei motorischen Kardinalsymptome Tremor, Rigor und Bradykinese beschrieben. Dabei gilt die Akinese als obligates Syndrom. Als viertes Leitsymptom werden Störungen des Halte- bzw. Stellreflexes beschrieben (Hughes et al., 1992; Parkinson, 1817).

Charakteristisch für den Morbus Parkinson ist meist zunächst das Auftreten von zeitlich

versetzten Symptomen unilateral oder zumindest asymmetrisch in leichter Ausprägung, mit unterschiedlich starker Krankheitsprogression. Die initialen motorischen Symptome beginnen meist schleichend und unspezifisch. Sie äußern sich im Alltag durch Steifigkeitsgefühle, Ungeschicklichkeit oder Verlangsamung meist einer Extremität (Goetz et al., 1987).

Anhand der klinischen Leitsymptome kann der Morbus Parkinson in drei verschiedenen Subtypen eingeteilt werden, in einen tremor-dominanten, akinetisch-rigiden und Äquivalenz-Typ. Der Tremordominanz-Typ ist vorrangig durch den Tremor geprägt und tritt insbesondere bei jüngeren Patienten auf. Vor allem jüngere Patienten zeigen hier eine langsamere Progressionsgeschwindigkeit im Vergleich zu den anderen Typen, jedoch treten hier Medikamenten-assoziierte motorische Nebenwirkungen früher und häufiger auf (Fahn, 2003). Beim akinetisch-rigiden Typ ist der Tremor nur schwach gekennzeichnet und die fehlende Mobilität prägt das Bild. Beim Äquivalenz-Typ herrscht eine Mischung aus Tremor und Akinese (Obeso et al., 2010).

Als Tremor definiert man unwillkürliche rhythmische Oszillationen von Körperabschnitten. Beim Morbus Parkinson ist das markanteste Symptom der Ruhetremor. In klinischen Studien konnten bei 79% bis 90% der Morbus Parkinson Patienten ein Ruhetremor nachgewiesen werden (Hoehn und Yahr, 1967; Gelb et al., 1999). Er kann weiter in 3 Typen eingeteilt werden (nach Deuschl et al. 1998):

- Typ I – Klassischer Parkinson Tremor  
Ruhetremor zusätzlich mit posturalem oder kinetischem Tremor identischer Frequenz
- Typ II – Ruhe und Haltetremor unterschiedlicher Frequenzen  
Ruhetremor mit zusätzlich einem zweiten Tremortyp und einem Frequenzunterschied größer als 1.5 Hz
- Typ III – Reiner Halte- und Aktionstremor  
Isolierter Halte- und Aktionstremor mit Frequenzen meist oberhalb von 5 Hz

Die Frequenz des klassischen Ruhetremors Typ I liegt bei 4 bis 6 Hertz und kann auch in frühen Stadien der Krankheitsentwicklung mit Frequenzen von bis zu 9 Hertz auftreten (Koller et al., 1989). Er kann während Willkürbewegungen oder Haltearbeit abgeschwächt

werden und wird wiederum affektiv oftmals verstärkt. Am häufigsten wird der Ruhetremor an distalen Extremitäten beobachtet als Zittern der Hand, welches aufgrund der charakteristischen Bewegungen auch als 'Pillendreher-Tremor' bezeichnet wird (Deuschl et al., 1998). Der Typ II – Tremor besteht in milder Form bei den meisten Parkinson Patienten. Der Typ III – Tremor beschrieben durch einen Halte- (5-7 Hz) und Aktionstremor (8-12 Hz) tritt vorwiegend bei der akinetisch-rigiden Variante häufiger auf. Weitere frühe motorische Symptome sind der Kopftremor ('Tremor capitis') und der Kiefertremor ('Rabbit-Phänomen') (Deuschl et al., 1998).

Unter Rigor versteht man eine nicht-spastische Erhöhung des Muskeltonus. Klinisch zeigt sich der Rigor durch ziehende proximale Muskelschmerzen, gebeugter Haltung und Störung der Feinmotorik, welche sich zum Beispiel durch eine Dysarthrie oder Mikrographie äußert. Im Frühstadium äußert sich der Rigor meist durch das verminderte Mitschwingen der Arme beim Gehen. Er betrifft beim Morbus Parkinson sowohl die agonistischen als auch die antagonistischen Muskeln. In Folge der Störung der reziproken Innervation kommt es bei passiven Bewegungen der Extremitäten zu typisch erhöhten wächsernen Bewegungswiderstände und zu Unterbrechungen der Bewegung, welches auch als Zahnradphänomen beschrieben wird. Durch Spiegelbildbewegungen im kontralateralen Arm, kann der Rigor im untersuchten Arm verstärkt werden (Hughes et al., 1992).

Die Bradykinese bezeichnet die allgemeine Verlangsamung der Motorik, bis hin zu dem vollständigen Verlust von Willkürbewegungen (Akinese) in Abwesenheit von Paresen. Am deutlichsten zeigt sich in der klinischen Untersuchung die Bradykinese bei wiederholter Ausführung rascher, alternierender, distaler Extremitätenbewegungen wie bei der Supination und Pronation des Unterarms oder beim Fingertapping. Im frühen Krankheitsstadium zeigt sich hierbei im Seitenvergleich ein deutlicher Abfall im Tempo und der Amplitude der ausgeführten Bewegung. Infolgedessen imponiert der Patient durch die Unfähigkeit, eine Aufrechterhaltung des Körpers zu gewährleisten mit einem schlurfenden kleinschrittigen Gangbild und erhöhter Fallneigung. In der kranialen Motorik fallen frühzeitig eine Hypomimie, Veränderung der Schluckmotorik (Dysphagie) und eine monotone und leise Stimme (Hypophonie) auf. Im fortgeschrittenen Stadium tritt der akinetische Aspekt in den Vordergrund. Hierbei kommt es zu Starthemmnungen zum Beispiel nach dem Aufstehen aus sitzender Position oder ‚Freezing‘ während des Gehens (Oertel et al., 2011; Mutch et al., 1986).

Neben den motorischen Kardinalsymptomen treten beim Morbus Parkinson häufig noch andere psychiatrische und vegetative Störungen auf. Zu den nichtmotorischen psychiatrischen Symptomen zählen Depression, dementielle Syndrome, Schlafstörungen und akute Psychosen, meist medikamenteninduziert. Dabei tritt statistisch gesehen eine Depression als Begleiterkrankung am häufigsten auf beim Morbus Parkinson im Vergleich zu anderen chronischen Erkrankungen (Starkstein et al., 1990; Gotham et al., 1986). Im Vergleich zur klassischen Depression stehen vielmehr Traurigkeit, Pessimismus, Dysphorie oder Suizidgedanken im Vordergrund und dafür Halluzinationen, Schuldgefühle, Wahn oder Suizidhandlung eher im Hintergrund (Lemke, 2002). Zu den vegetativen Symptomen gehören gastrointestinale Beschwerden wie Obstipation oder Hypersalivation, Miktionsstörungen oder Libidoverlust (Obeso et al., 2010). In späteren Phasen rückt die Kreislaufinstabilität in den Vordergrund mit orthostatischer Dysregulation und Störungen der kardialen Reflexe auf Grundlage des Untergangs der vegetativen Innervation des Herzens (Goetz et al., 1986). Häufig im Frühstadium und nicht selten viele Jahre vor Eintritt erster motorischer Symptome werden auch Riechstörungen beschrieben (Sommer et al., 2004).

Anhand der Klinik wird der Morbus Parkinson in verschiedene Stadien nach Hoehn & Yahr (1967) unterteilt (siehe Tbl. 1.1). Dabei wird die Haltungsinstabilität als Hauptfaktor zur Beurteilung herangezogen.

**Tabelle 1.1** Klinische Einstufung des IPS nach Hoehn & Yahr (1967).

| Grad | Hoehn-und-Yahr-Skala                                                                                                     |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I    | Einseitige Symptomatik mit fehlender oder nur geringer funktioneller Behinderung                                         |
| II   | Beidseitige Symptomatik, keine Haltungsinstabilität                                                                      |
| III  | Beidseitige Symptomatik, geringe bis mäßige Behinderung mit leichter Haltungsinstabilität, noch körperlich selbstständig |
| IV   | Starke Behinderung, Patient aber ohne Hilfe steh- und gehfähig                                                           |
| V    | Ohne Hilfe an Rollstuhl oder Bett gebunden                                                                               |

Sie dient zur Einschätzung des Schweregrades des Morbus Parkinson und korreliert eng zur Progression der Erkrankung (Hoehn & Yahr, 1967).

### 1.3 Diagnostik

Die Diagnosestellung des idiopathischen Parkinson-Syndrom geschieht in der klinischen Praxis primär anhand seiner klinischen Symptomatik. Es wurden hierfür verschiedene klinische Kriterien empfohlen, welche nach aktuellem Stand am besten durch die Kriterien der englischen Hirnbank (UKPDSBB) repräsentiert werden (Hughes et al., 1992) und in der Tabelle 1.2 aufgeführt werden. Der wesentliche Nachteil dieser Leitlinie ist die Nichtberücksichtigung von Patienten mit symmetrischer hypokinetisch-rigider Symptomatik.

**Tabelle 1.2** Klinische Diagnosekriterien des IPS (nach Hughes et al., 1992).

#### **1. Schritt: Diagnose eines Parkinson-Syndroms**

Bradykinese und mindestens eines der folgenden Symptome

- Rigor
- 4-6 Hz Ruhetremor
- Haltungsinstabilität (gestörte posturale Reflexe), die nicht primär durch visuelle, vestibuläre, zerebelläre oder propriozeptive Störungen erklärbar ist

#### **2. Schritt: Ausschlusskriterien**

Keines der nachliegenden Faktoren darf vorliegen:

- Anamnestisch: apoplektiformer Verlauf
- Anamnestisch: Schädel-Hirn-Trauma
- Anamnestisch: Enzephalitis
- Okulogyre Krisen
- Andauernde Remission
- Einnahme von Neuroleptika bei Beginn der Symptome
- Mehr als ein Verwandter 1. Grades mit Parkinson-Syndrom
- Ausschließlich einseitige Zeichen nach 3 Jahren
- Supranukleäre Blickparese
- Zerebelläre Symptome
- Pyramidenbahnzeichen
- Früh ausgeprägte autonome Störungen
- Tumor oder Hydrozephalus communicans in der cranialen Computertomographie (cCT)
- Frühe Demenz mit Sprach-, Gedächtnisstörungen und Apraxie

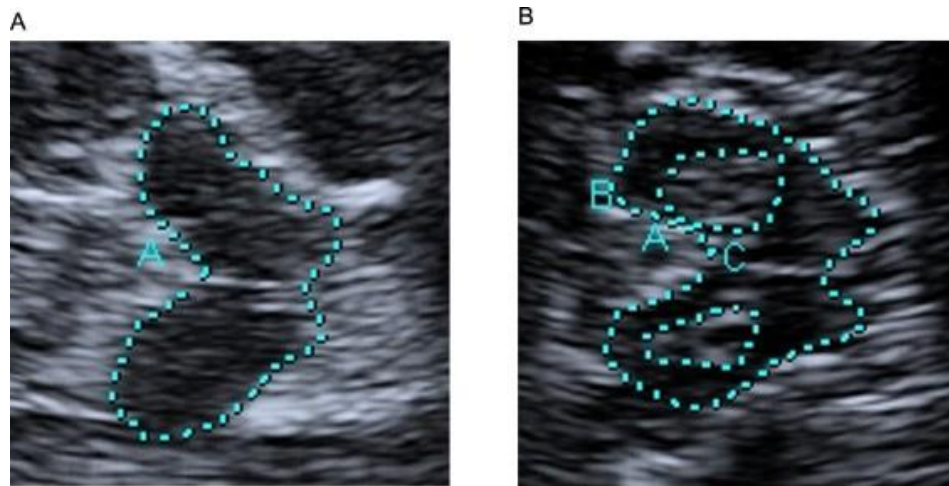
- Fehlendes Ansprechen auf hohe Dosen von Levodopa (wenn Malabsorption ausgeschlossen wurde)
- Exposition zu MPTP

### **3. Schritt: Liegen prospektive positive Kriterien für ein IPS vor?**

Drei oder mehr erforderlich für die Diagnose eines „definite Parkinson disease“:

- Einseitiger Beginn
- Ruhetremor
- Progressive Erkrankung
- Persistierende Seitenasymmetrie im Verlauf
- Sehr gutes Ansprechen (70–100%) auf Levodopa
- Schwere Dopa-induzierte Dyskinesien
- Positiver Levodopa-Effekt länger als 5 Jahre
- Verlauf > 10 Jahre

Zusätzlich können zur Unterstützung der klinischen Diagnose bildgebende Verfahren eingesetzt werden. Zwar bietet die cMRT Bildgebung keinen positiven Hinweis auf das Vorliegen eines IPS, jedoch dient sie zum Ausschluss anderer neurodegenerativer Parkinson-Syndrome wie der Multisystematrophie oder progressive supranukleäre Paralyse in der Differentialdiagnose. Des Weiteren dient die transkranielle Sonographie zur Feststellung von Schädigungen der Substantia nigra. Hierfür wird das temporale Knochenfenster genutzt, wodurch die Substantia nigra im schmetterlingsförmigen Mesencephalon identifiziert wird. Da die Signalstärke bzw. Echogenität nicht quantifizierbar ist, wird die hyperechogene Fläche im Mesencephalon gemessen und verglichen zur mittleren Fläche einer Kontrollgruppe (Berg et al., 2002). So konnte in einer Studie von Berg et al. (1999) zum Beispiel in 90% der untersuchten IPS Patienten eine charakteristische Vergrößerung der hyperechogenen Fläche in der Substantia nigra festgestellt werden oberhalb der 75. Perzentile einer Kontrollgruppe. Zusätzlich wurde eine verstärkte Hyperechogenität auf der kontralateralen Seite gefunden, korrelierend zur klinisch stärker betroffenen Seite. Eine beispielhafte Ultraschalldarstellung mit pathologischem Befund ist in Abb. 1.4 dargestellt (Xu et al., 2020).



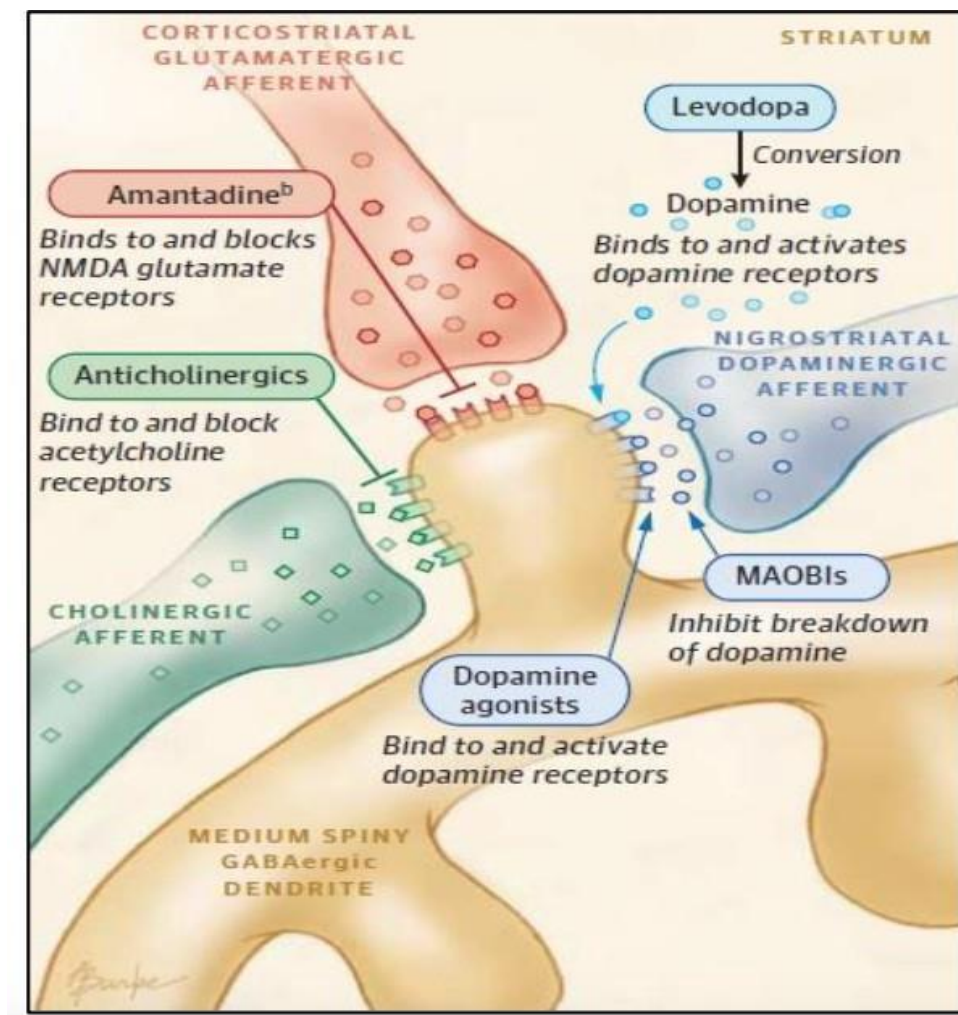
**Abb. 1.4** Ultraschalldarstellung der Substantia nigra. Links: Normales homogenes Signalverhalten im gesunden, hier umrandet zur Visualisierung. Rechts: Hyperechogene Regionen im Bereich der Substantia nigra bei IPS, hier zusätzlich umrandet (Xu et al., 2020).

Zusätzlich stehen auch nuklearmedizinische Verfahren wie SPECT-Tracer mittels DaTSCAN zur Verfügung zur quantitativen Darstellung der dopaminergen Neuronen der Substantia nigra, wodurch bereits frühzeitig dopaminerge Mängel erkennbar sind (Tatsch et al., 2017).

Wie in Tabelle 1.2 erwähnt, ist das Ansprechen auf L-Dopa beim Vorliegen eines IPS ein wesentliches diagnostisches Kriterium, welches durch den Apomorphintest und / oder L-Dopa-Belastungstest beurteilt werden kann. Beim Apomorphintest werden Patienten 3 Tage im Voraus mit Domperidon 60 mg pro Tag vorbehandelt. Vor Verabreichung des Apomorphins erfolgt eine klinische Untersuchung zur Beurteilung der motorischen Beeinträchtigung nach dem UPDRS, Teil III. Das Apomorphin wird in steigender Dosierung, beginnend bei 2-3 mg, alle 30 Minuten subkutan injiziert. Anschließend erfolgt eine Re-Evaluation der motorischen Beeinträchtigung. Wenn eine Besserung von über 20% vorliegt, stärkt dies die Diagnose eines IPS (Gasser et al., 1992; Rossi et al., 2000). Beim L-Dopa-Belastungstest wird in der Regel 200 mg L-Dopa in Kombination mit einem Dekarboxylase-Hemmer oral verabreicht. Vor Gabe des Medikaments und ca. 60 Minuten nach Gabe erfolgt die Beurteilung der motorischen Beeinträchtigung anhand der UPDRS, Teil III. Bei einer Besserung von 20% wird das Vorliegen eines IPS gestärkt (Rossi et al., 2000). Vorteil des L-Dopa-Tests ist die bessere Verträglichkeit, da beim Apomorphintest Übelkeit, Erbrechen und / oder hypotone Kreislaufreaktionen als Nebenwirkungen auftreten können. Ein Nachteil des L-Dopa-Tests liegt in der höheren Variabilität der Ergebnisse, die durch die individuelle enterale Absorptionsrate entstehen können (Rossi et al., 2000).

## 1.4 Therapie

Eine kurative oder neuroprotektiv prophylaktische Behandlung des Morbus Parkinson ist nach dem aktuellen Stand nicht möglich. Da die Ätiopathogenese der zentralen Degeneration dopaminergischer Neurone weiterhin nicht eindeutig geklärt ist, fungieren die Behandlungsansätze zur rein symptomatischen Therapie. Hierbei liegt im Vordergrund, die Erhaltung der Lebensqualität zu gewährleisten sowie die auch Lebenserwartung zu verbessern. Wie bereits zuvor erwähnt, ist der Morbus Parkinson auf zellulärer Ebene durch einen Mangel an Dopamin, einem Hypercholinismus im Striatum und Überaktivität des STN gekennzeichnet. Zum Wiederherstellen dieses Gleichgewichts stehen eine Vielzahl von Medikamenten zur Verfügung, welche unterschiedliche Wirkprinzipien ausnutzen. Die Angriffspunkte der Pharmakotherapie sind in Abb. 1.5 (nach Lang, 2014) schematisch dargestellt.



**Abb. 1.5** Wirkmechanismen der verschiedenen Substanzklassen von Parkinsonmedikamenten im Striatum (Connolly und Lang 2014).

Mögliche Ansätze sind hier die Dopamin-Substitution durch Gabe von Dopaminvorläufersubstanzen oder direkt wirksame Dopaminagonisten und die Hemmung von beteiligten Enzymen im Dopaminabbau zur Steigerung des Dopaminspiegels. Zur Entgegenwirkung des Hypercholinismus oder Überaktivität bestimmter Hirnregionen können ebenfalls Anticholinergika oder NMDA-Antagonisten zum Einsatz kommen. Grundsätzlich wird die medikamentöse Therapie stets durch supportive Maßnahmen wie regelmäßige logopädische und physiotherapeutische Beübung unterstützt und begleitet. In späteren Stadien der Krankheit können auch invasive Verfahren eingesetzt werden, welche die Ablation oder die tiefe Hirnstimulation beinhalten. Im Nachfolgenden werden zunächst die medikamentösen Therapien diskutiert.

#### **1.4.1 L-Dopa**

Bei einem funktionellen Dopaminmangel scheint die Substitution die meist naheliegende Therapie zu sein. Jedoch kann Dopamin nicht die Blut-Hirn-Schranke passieren und ist auch peripher wirksam am Herzen oder der Niere. 1962 wurde erstmalig die Dopamin Vorstufe L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (kurz L-Dopa) eingesetzt, um die Blut-Hirn-Schranke zu passieren (Birkmayer und Hornykiewicz, 1962). L-Dopa wird von den nigrostriatalen Neurone und Gliazellen aufgenommen und mit Hilfe der Dopa-Decarboxylase in Dopamin umgewandelt. Um zu verhindern, dass L-Dopa peripher umgewandelt wird in seine wirksame Endstufe, sowie um die damit verbundenen Nebenwirkungen zu minimieren und damit auch Großteil der gegebenen L-Dopa Dosis in das ZNS ankommt, erfolgt die Gabe stets mit einem nicht-ZNS gängigen Dopa-Decarboxylase-Inhibitor (DDC-Inhibitor), wie Benserazid oder Carbidopa, meist im Verhältnis 1:4 oder 1:10 (Cotzias et al., 1967). Die exakte Lokalisation der L-Dopa Umwandlung, sowie der Mechanismus der synaptischen Freisetzung von exogenem gebildetem Dopamin ist bis heute nur teilweise verstanden (Nutt, 2003). Sie scheint jedoch nicht vollständig von den dopaminergen Neuronen abzuhängen, da sonst im fortgeschrittenen Stadium die Wirksamkeit mit der Anzahl der verbliebenen dopaminergen Neurone sinken müsste.

Die Substitutionstherapie mit L-Dopa wird in vielen Studien als Goldstandard bezeichnet, zumindest, was die kurzfristige Therapie betrifft. Es führt zu einer Reduktion der Kardinalsymptome von mehr als 50% und wurde einer überlegenen Effektivität im Vergleich

zu anderen Medikamenten zugeschrieben (Fahn et al., 2004; Italian-Consensus-Guidelines, 2003).

Zu Anfang der Therapie wird oft eine ‚Honeymoon-Phase‘ beschrieben, welche bis zu mehreren Jahren andauert. Hier wird eine sehr gute Verträglichkeit beschrieben und die Patienten sind häufig nahezu asymptomatisch. Nach 5 Jahren entwickeln jedoch etwa 20% - 40% der Patienten das sogenannte L-Dopa-Langzeitsyndrom (Koller et al., 1986), worunter in erster Linie motorische Fluktuationen wie End-of-Dose Akinesie, L-Dopa Dyskinesien und Wearing-Off Phänomene beschrieben werden, als Resultat der fortschreitenden Grunderkrankung und chronischer Medikamentenexposition.

Die Dyskinesien treten meist nach direkter Einnahme von L-Dopa im Zusammenhang mit dem Erreichen der maximalen Plasmakonzentration auf. Sie werden daher auch als Peak-Dose-Dyskinesien bezeichnet. Die Patienten klagen hierbei meist über eine einseitige choreatische Bewegungsunruhe bis hin zu beidseitigen schmerzhaften und erschöpfenden unwillkürlichen Bewegungen. Außerdem klagt ein Drittel der betroffenen Patienten in den frühen Morgenstunden oder nach langen einnahmefreien Intervallen über distalbetonte einseitige dystone Verkrampfungen (Olanow et al., 2013).

Wearing-Off Phänomene unter L-Dopa Therapie korrelieren nachvollziehbar mit der absinkenden Plasmakonzentration von L-Dopa. Bei chronischer L-Dopa Exposition kommt es jedoch bei 10 % - 15 % von Patienten zu paroxysmale On-Off-Schwankungen ohne Beziehung zur Tabletten-Einnahme. Hierbei wechseln die Patienten mehrmals abrupt zwischen voll ausgeprägter Parkinson-Symptomatik und Asymptomatik. Aufgrund des L-Dopa-Langzeitsyndroms wird daher von einer Monotherapie über mehrere Jahre abgeraten. Des Weiteren wird zur Reduzierung der notwendigen L-Dopa Dosis empfohlen, dass auch andere Präparate dazugezogen werden sollten (Olanow et al., 2013).

Es bleibt weiterhin unklar, welche Wirkung die Dopamin Substitution auf den Krankheitsverlauf hat. Wie bereits vorhin beschrieben, finden sich in der Substantia nigra Zeichen eines erhöhten oxidativen Stresses. Der Metabolismus von L-Dopa und Dopamin ist biochemisch auch mit einem erhöhten oxidativen Stress Level verbunden. In Zellkultur-Experimenten mit primärem Mittelhirngewebe konnte reproduzierbar eine dosisabhängige Schädigung der dopaminergen Neuronen festgestellt werden durch L-Dopa, sodass die

Hypothese eines Krankheitsprogress durch Erhöhung des oxidativen Stresses bei L-Dopa Substitution zumindest eine fundierte Basis birgt (Storch et al., 2000). Diese Ergebnisse ließen sich jedoch nicht in tierexperimentellen Studien bei Nagern und Primaten reproduzieren (Zeng et al., 2001; Lyras et al., 2002). In einer weiteren plazebokontrollierten Studie wurden Patienten mit der Erstdiagnose eines IPS zunächst für 40 Wochen mit L-Dopa behandelt und anschließend wieder ausgeschlichen. Hierbei wurden auch 2 Wochen nach Absetzen von L-Dopa, also weit über der Halbwertszeit hinaus, eine klinische Gesamtbesserung beschrieben (Fahn et al., 2004). Andererseits wurde aber in SPECT Untersuchungen eine L-Dopa dosisabhängige Reduktion des Dopamintransporters festgestellt (Fahn et al., 2004), was insgesamt auch auf eine beschleunigte Krankheitsprogression hindeuten könnte. Im Kontrast hierzu wurden bei Patienten, welche aufgrund von anderen Erkrankungen wie das Restless-Legs-Syndrom langfristig mit L-Dopa behandelt wurden, oder irrtümlich mit L-Dopa behandelt wurden bei essentiellen Tremor, keine Veränderungen der Substantia nigra beobachtet (Rajput, 2001; Pittcock et al., 2004).

#### **1.4.2 COMT-Hemmer**

Catechol-O-Methyltransferase-Inhibitor (COMT-Hemmer) ist ein ubiquitär vorkommendes Enzym, was zentral und peripher über O-Methylierung Katecholamine wie Dopamin und auch die Vorläufer Stufe L-Dopa verstoffwechselt und abbaut. Eine Hemmung dieses Enzyms führt demnach zu einer Verbesserung der Bioverfügbarkeit und länger anhaltende therapeutische L-Dopa Spiegel. Durch Zugabe eines COMT-Inhibitors kommt es dosisabhängig zu einer Erhöhung des L-Dopa Spiegels von 50 % bis 80 % (Limousin et al., 1995) und Reduktion der nötigen L-Dopa Zufuhr von 10 % - 20 %. COMT-Inhibitoren führen somit zu einer Verlängerung der ON-Phasen und Reduktion der OFF-Phasen. Somit finden sie ihren Einsatz insbesondere bei IPS-Patienten mit Wirkfluktuationen (Widnell und Comella, 2005). Eine Monotherapie ist obsolet. Eine Verhütung oder Hinauszögerung durch prophylaktische Gabe eines COMT-Hemmers vom L-Dopa-Langzeitsyndrom ist aktuell noch Gegenstand der Forschung (DGN, 2016).

Aktuell verfügbare COMT-Hemmer sind Entacapone und Tolcapone. Entacapone ist allerdings nur peripher wirksam, wohingegen Tolcapone sowohl zentral und auch peripher wirksam ist und somit zur Behandlung von Wirkfluktuationen überlegen (EMA, 2004). Allerdings wurde bei 1% - 3% der Tolcapone behandelten Patienten eine lebertoxische

Wirkung beobachtet (Brooks, 2004), sodass nach Erstlinie eine medikamentöse Therapie mit Entacapone vorgezogen werden sollte. Bei unzureichender Ansprache kann ein Präparatwechsel erfolgen unter engmaschiger Kontrolle der Leberwerte. Des Weiteren wird diskutiert, ob die COMT-Inhibition zu einer Verschiebung der Dopamin Verstoffwechselung in Richtung Autooxidation führt und somit den oxidativen Stress erhöhen könnte (Marino et al., 2020).

#### **1.4.3 MAO – B Hemmer**

Die Monaminoxidase – B ist ebenfalls am Abbauprozess vom Dopamin beteiligt. Zur Verfügung stehen aktuell zwei MAO – B Inhibitoren, nämlich Selegilin und Rasagilin. Durch seine Hemmung kommt es ähnlich wie bei den COMT-Hemmer zu einem verminderten endogenen Dopaminabbau und zu einer erhöhten striatalen Dopaminkonzentration. Im Gegensatz zu den COMT-Hemmer sind MAO – B Hemmer auch für die Monotherapie zugelassen, jedoch potenziert sich ihre Wirkung in Kombination mit L-Dopa. Hierdurch lässt sich die L-Dopa Tagesdosis um 10 % - 30 % reduzieren. Beide Substanzen wirken selektiv an MAO – B. Jedoch verliert sich die Selektivität bei steigender Dosis, wodurch auch die typischen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Schwindel, Flush-Syndrom oder hypertensive Krisen bei Genuss tyraminhaltiger Nahrung entstehen. Des Weiteren haben MAO – B Inhibitoren eine antriebssteigernde Wirkung, was bei IPS-Patienten mit depressiver Klinik durchaus gewünscht sein kann (DGN, 2016).

#### **1.4.4 Dopaminagonisten**

Dopaminagonisten sind biochemisch dem Dopamin ähnelnde Substanzen und wirken über eine direkte Bindung und Aktivierung von Dopaminrezeptoren, welche sich zum Beispiel an der Membran nigrostriataler Neurone prä- und postsynaptisch befinden. Ein großer Vorteil der Dopaminagonisten liegt darin, dass sie in ihrer Funktionalität unabhängig von dopaminergen Neuronen sind und daher nicht auf funktionsfähige Neurone angewiesen sind wie bspw. bei L-Dopa (Müller, 2012).

Zur Behandlung des IPS sind aktuell 8 Dopaminagonisten zugelassen, wobei es sich hier um 5 ältere Substanzen mit einer Ergot-Struktur und 3 neuere Substanzen mit einer Non-Ergot-Struktur handelt. Vom Wirkungsmechanismus ähneln sich Dopaminagonisten im Wesentlichen der L-Dopa Substitution, sind jedoch in ihrer Effektivität unterlegen. Dies ist durch ihre unterschiedliche Spezifität bedingt, da Dopaminagonisten präferiert an den D2-Rezeptor binden und nur eine geringe Affinität gegenüber dem D1-Rezeptor bieten. Des

Weiteren binden vor allem Ergot-Derivate auch an andere Monoamino-Rezeptoren wie zum Beispiel adrenerge oder serotoninerge Rezeptoren (Gerlach et al., 2003), wohingegen bei Non-Ergot-Derivaten eine höhere Spezifität für Dopaminrezeptoren beschrieben wurde und damit auch verbunden eine bessere Verträglichkeit (Newman-Tancredi et al., 2002). Die Spezifität der Wirkung einzelner Dopaminrezeptoren ist in Tabelle 1.3 aufgelistet (Schwarz et al., 2007).

**Tabelle 1.3** Pharmakologische Charakteristika der Dopaminagonisten (Schwarz et al., 2007).

| <b>Substanz</b>           | <b>Plasmahalbwertszeit (min)</b> | <b>Proteinbindung (%)</b> | <b>Bioverfügbarkeit (%)</b> | <b>Elimination</b> | <b>Dopamin-Rezeptorbindung</b> |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------------------|
| <i>Ergot-Derivate</i>     |                                  |                           |                             |                    |                                |
| Bromocriptin              | 80                               | 90                        | 8                           | hepatisch          | D2                             |
| Lisurid                   | 60                               | 70                        | 20                          | hepatisch/renal    | D2»D1                          |
| Pergolid                  | 60-120                           | 90                        | 20                          | hepatisch/renal    | D2>D3>D1                       |
| Carbegolin                | 120-240                          | 40                        | 60                          | hepatisch          | D2»D1                          |
| <i>Non-Ergot-Derivate</i> |                                  |                           |                             |                    |                                |
| Pribedil                  | 75                               | 75                        | 80                          | renal              | D2                             |
| Ropinirol                 | 90                               | 25                        | 50                          | renal              | D3>D2>D4                       |
| Pramipexol                | 60-180                           | <20                       | >90                         | renal              | D3>D2>D4                       |
| Apomorphin                | 10                               | 90                        | 90 (s.c.)                   | hepatisch          | D2=D1                          |

Vom Nebenwirkungsprofil ähneln sich die Dopaminagonisten der L-Dopa Substitution. Allerdings werden hier Nebenwirkung häufiger und ausgeprägter ausgelöst, weshalb sie einschleichend aufdosiert und stets mit einem peripher wirksamen Dopaminantagonisten wie Domperidon gegeben werden sollten. Im Vordergrund liegen hier Übelkeit, orthostatische Dysregulation und psychotische Syndrome. Weit spezifischer treten bei Dopaminagonisten auch Unterschenkelödeme, Tagesmüdigkeit und verkürzte Einschlafzeiten auf. Bei Ergot-Derivaten, insbesondere Pergolid und Lisurid, wurden zusätzlich selten Weichteilfibrosen beschrieben, welche zu Herz-, Lunge- und Retroperitonealfibrosen führen können (Rascol et al., 2004; Tintner et al., 2005). Daher sind Non-Ergot Derivate in der Therapie u.a. auch aufgrund der höheren Spezifität zu

Dopaminrezeptoren und niedrigeren Nebenwirkungsprofil vorzuziehen (Schwarz et al., 2007).

Obwohl Dopaminagonisten in der Erstbehandlung als Monotherapie weniger effektiv sind, konnte in mehreren Studien eindrucksvoll nachgewiesen werden, dass das Auftreten von Motorfluktuationen signifikant verzögert werden konnte und Patienten erst zu einem späteren Zeitpunkt in ihrer Behandlung L-Dopa-pflichtig wurden (Malcolm et al., 2000; Parkinson-Study-Group, 2000).

Apomorphin ist das aktuell potenteste Dopamimetikum, da es sowohl D2- als auch D1-Rezeptoren selektiv stimuliert. Allerdings muss Apomorphin aufgrund eines hohen First-pass Effektes in der Leber paraenteral appliziert werden. Bei subkutaner Injektion besteht eine Bioverfügbarkeit von 90%, so dass sich insbesondere für Patienten in späteren Stadien der Erkrankung, die schon eine chronische Therapie mit Dopaminagonisten gewohnt sind, eine Behandlung mittels subkutaner Injektion durch eine Apomorphin-Pumpe anbietet (DGN, 2016).

#### **1.4.5 Glutamatantagonisten**

Zur Behandlung von IPS-Patienten stehen aktuell Amantadin und Budipin zur Verfügung. Ihre Wirkung wird über einen niedrig affinen, nicht kompetitiven Antagonismus auf Glutamat-Rezeptoren erklärt, da es beim IPS u.a. zu einer Überstimulation des STN kommt. Sie haben in der Monotherapie nur eine geringe symptomlindernde Wirkung auf die motorischen Kardinalsymptome, wobei sie potenzierend in Kombination mit einer L- Dopa Substitution wirken und auch das Nebenwirkungsprofil von L-Dopa minimieren (Verhagen Metman et al., 1998). Des Weiteren wird auch eine protektive Wirkung auf dopaminerge Neurone diskutiert, wodurch ein Hinauszögern der dopamimetischen Therapie möglich ist.

Beschriebene Nebenwirkung bei Amantadin sind: Livedo reticularis durch lokale Gefäßkonstriktion, Schlafstörungen, Übelkeit und selten psychotische Symptome wie Halluzinationen oder Verwirrtheit. Amantadine sollten bei Patienten mit Demenz oder positiver Anfallsanamnese eher zurückhaltend verabreicht werden. Der Einsatz von Budipin wiederum ist durch seine kardialen Nebenwirkungen limitiert. Es wurden Verlängerungen der QTc – Zeit beschrieben mit Gefahr der Torsade-de-pointe Herzrhythmusstörungen (Oertel et al., 2011).

#### **1.4.6 Anticholinergika**

Anticholinergika wie Biperiden oder Bornaprin stellen die erste und somit älteste Therapieoption beim IPS dar. Ziel der Therapie ist es den funktionellen Hypercholinismus im Striatum, welcher beim IPS besteht, auszugleichen. Jedoch sind sie mit der Zeit aufgrund von effektiveren Pharmaka und ihrer zahlreichen Nebenwirkungen bei systemischer Applikation aktuell nur noch nachrangig in der Therapie vom IPS geworden (Marino et al., 2020).

Das Verhältnis von klinischer Besserung zu den Nebenwirkungen ist eher ungünstig. Hierzu zählen Mundtrockenheit, Obstipation und Blasenentleerungsstörungen, Tachykardie und Akkomodationsstörungen. Bei Patienten mit Prostatahyperplasie oder Engwinkelglaukom besteht eine absolute Kontraindikation. In einer Studie konnten außerdem Alzheimer-ähnliche kortikale Veränderungen bei chronischer Einnahme nachgewiesen werden (Perry et al., 2003). Aktuell sind Anticholinergika im Einzelfall bei jüngeren Patienten mit therapierefraktärem Tremor indiziert. Des Weiteren dürfen Anticholinergika nicht abrupt abgesetzt werden, da sonst Entzugssymptome oder delirante Zustände auftreten können (DGN, 2016).

Eine Möglichkeit zur gezielten ZNS beschränkten Wirkung besteht aktuell noch nicht und ist daher aktuell Gegenstand der Forschung, wie zum Beispiel durch die stereotaktisch gezielte Applikation eines Inhibitors der Acteylcholinfreisetzung in Form von Botulinum-Neurotoxin-A (BoNT-A) (Wree et al., 2011).

#### **1.4.7 Weitere interventionelle, funktionelle Verfahren und Perspektiven**

Beim Versagen der medikamentösen Therapie besteht auch die Möglichkeit interventioneller Verfahren zur Behandlung des IPS.

Bei den läsionellen Verfahren lassen sich die Pallidotomie und Thalamotomie unterscheiden. Hierbei wird eine Sonde stereotaktisch in das entsprechende Areal herangeführt und über 60 Sekunden auf 80°C erhitzt, um umliegende Zellen zu zerstören. Diese Eingriffe sind mit einer hohen Komplikationsrate verbunden und nur eingeschränkt beidseits anwendbar. Durch die Einführung der tiefen Hirnstimulation haben sie im Verlauf der Jahre an Bedeutung in der Therapie von IPS-Patienten verloren (Guridi & Lozano, 1997).

Eine einseitige Thalamotomie bewirkt eine Verbesserung des Ruhetremors auf der Gegenseite in bis zu 90% der Fälle, jedoch bleiben die weiteren motorischen Symptome unbeeinflusst. Von einer beidseitigen Thalamotomie wird strikt abgeraten aufgrund der erheblichen Nebenwirkungen wie Dysarthrie, Gesichtsfelddefekte und Paresen (Chao et al., 2007). Die Pallidotomie hat als Ziel den überaktiven GPi auszuschalten. Dies führt insbesondere zur Besserung der Akinese und Rigidität, sowie auch Dyskinesien beim L-Dopa-Spätsyndrom (Lozano et al., 1995; Limousin et al., 1995).

Bei der tiefen Hirnstimulation werden über ein kleines Bohrloch zwei dünne Kabel mit Elektroden meist am Nucleus subthalamicus herangeführt. Ziel ist also nicht direkt die Schädigung der überaktiven Regionen wie bei den läsionellen Verfahren, sondern die Gegenregulation durch Stromimpulse. Diese Impulse werden durch einen externen Generator erzeugt und sind je nach Patienten präzise individuell einstellbar. Die tiefe Hirnstimulation zeigt nachweislich eine deutlichere Verbesserung der IPS-Symptome gegenüber einer alleinigen Pharmakotherapie bei einem selektierten Patientenkollektiv (Weaver et al., 2009). Dennoch besteht wie bei auch allen anderen invasiven Eingriffen das Risiko von Komplikationen wie Blutungen, Infektion oder Ischämien, welche auch letal enden können in 0.5 – 3 % der Fälle (Umemura et al., 2003).

Gegenstand aktueller Forschungen ist der Ersatz der dopaminergen Neurone im Gehirn mittels Zelltransplantation von Stammzellen oder auch direkt mittels bereits ausgereifter dopaminergener Neurone. Allerdings zeigten diese Neurone nach Transplantation bei Morbus Parkinson Patienten bei Nachuntersuchungen ebenfalls pathologische Veränderungen. In den transplantierten Zellen konnten Lewy-Körperchen nachgewiesen werden (Olanow, 2009).

Außerdem wird die Möglichkeit einer aktiven oder passiven Immunisierung gegen die Aggregation von  $\alpha$ -Synuklein untersucht (Poewe et al., 2017), sowie auch die Möglichkeit einer Gentherapie (Christine et al., 2009).

## **1.5 Basalganglien**

Für ein besseres Verständnis des Krankheitsbild Morbus Parkinson ist die Veranschaulichung der Neuroanatomie der Basalganglien und ihrer Verschaltung essentiell. Die Basalganglien befinden sich im Telenzephalon und bestehen aus einer

Gruppe von 5 subkortikalen Kernen, sowie auch eine Gruppe von funktionell assoziierten Kernen des Di- und Mesencephalons. Funktionell gesehen stellen die Basalganglien eine zum Kortex parallel geschaltete Struktur dar, welche eine wichtige Rolle in der Verarbeitung, Transformation und Regulation zufließender Informationen aus dem sub- und kortikalen Bereich spielen (Obeso, 2008). Dabei besitzen die Basalganglien nicht nur eine wichtige Rolle in der Regulation von Bewegungsabläufen, sondern auch in höheren kortikalen Funktionen wie Kognition oder Emotionen, oder auch in den okulomotorischen, frontalen oder limbischen Verschaltungsschleifen.

Zu den Basalganglien zählen das Corpus striatum, welches sich aus dem Putamen und Nucleus caudatus zusammensetzt, der Globus pallidus mit seinem internen und externen Anteil, die Substantia nigra pars reticulata und pars compacta, der Nucleus subthalamicus und Nucleus accumbens.

#### **1.5.1 Striatum**

In der frühen Embryogenese liegen das Putamen und Nucleus caudatus noch eng beieinander. Im weiteren Verlauf werden sie durch auf- und absteigende Nervenfasern der Capsula interna zum Kortex getrennt, wobei vereinzelt feine Streifen der grauen Substanz verbleiben und durch die makroskopische Kennzeichnung auch den Namen als Streifenkörper erteilt hat. In der Ratte bleibt diese Trennung aus, sodass diese anatomisch zusammenhängende Struktur in der Literatur und auch in dieser Arbeit als Caudatus-Putamen Komplex (CPu) bezeichnet wird (Blandini et al., 2000)

Das Striatum erhält als größter Kern die meisten Afferenzen und gilt daher als ‚Haupteingangskern‘ der Basalganglien. Den Großteil der Afferenzen bilden glutamaterge Neurone aus Bereichen des Kortex, Thalamus und nachrangig Amygdala. Dadurch exprimiert das Striatum die höchste Konzentration an Glutamaterezeptoren unter den Basalganglien. Außerdem erhält das Striatum auch noradrenerge und serotonerge Afferenzen aus dem Nucleus coeruleus und den Nuclei raphes des Hirnstammes, sowie auch dopaminerge Projektionen aus der Substantia nigra pars compacta, welche die Übertragung an glutamatergen Synapsen moduliert (Blandini et al., 2000).

Im Striatum lassen sich zwei verschiedene Neuronen Populationen unterscheiden. Den Großteil bilden mit 95% inhibierende GABAerge Projektionsneuronen, welche sich je nach

Projektionsziel und Neuropeptidgehalt unterscheiden in striato-nigrale Neurone mit Co-Transmitter Substanz-P und Dynorphin, welche D1-Rezeptoren exprimieren und in den Globus pallidus internus sowie Substantia nigra pars reticulata projizieren (direkter Weg) oder striato-pallidale Neurone mit dem Co-Transmitter Enkephalin, welche den D2-Rezeptor exprimieren und in den Globus pallidus externus projizieren (indirekter Weg). Die Funktion dieser Neurone ist es die Informationsströme des Kortex und Thalamus aufzunehmen (Oertel et al., 2011; Blandini et al., 2000).

Die restlichen 5% machen Interneurone aus, welche in weitere vier Typen unterschieden werden können. Die ersteren drei beinhalten GABA als Neurotransmitter und werden unterschieden in Parvalbumin-positive, NO-Synthase/Somatostatin-positive und Calretinin-positive Interneurone (Calabresi et al., 2014; Wree und Schmitt 2015). Sie üben einen inhibitorischen Einfluss auf die striatalen Projektionsneurone aus. Die letzte Gruppe beinhaltet Acetylcholin als Neurotransmitter. Diese Interneurone machen 1% der striatalen Neurone aus und wirken im Striatum vor allem an M1 - und M4 – Acetylcholinrezeptoren im Striatum (Pisani et al, 2007). Sie erhalten starke dopaminerge Zuströme von der Substantia nigra pars compacta und exprimieren D2-Rezeptoren. (Surmeier et al., 2007). Sie sind tonisch aktiv und scheinen eine Rolle in der Regulation von Bewegung und neuronaler Plastizität zu spielen (Pisani et al., 2007).

### **1.5.2 Globus pallidus**

Makroskopisch stellt sich der GP als heller Kern dar. Durch die auf- und absteigenden Nervenfasern der Capsula interna wird der GP nach lateral verlagert und liegt in enger Nähe zum Putamen. Durch intrathalamische Marklamellen lässt er sich weiter in ein inneres Segment – Globus pallidus internus (GPi) und in ein äußeres Segment – Globus pallidus externus (GPe) differenzieren. In der Ratte entspricht der GPi dem Nucleus entopeduncularis (Blandini et al., 2000) und der GPe dem gesamten GP (Smith et al., 1998), sodass sich in dieser Arbeit die Bezeichnung GP auf den GPe bezieht.

Der GPi ist das kleinste Kerngebiet der Basalganglien und erhält seine Afferenzen inhibierend aus dem Striatum mittels GABA und exzitatorisch aus dem Nucleus subthalamicus über den Neurotransmitter Glutamat. Die efferenten GABAerge Projektionsneuronen projizieren hauptsächlich in motorische Kerne des Thalamus, wie dem

ventrolateralen Kern, aber auch in Kerne mit Assoziation zum limbischen System oder frontalen Kortex (Jaeger et al, 2011).

Der GPe besteht ebenfalls hauptsächlich aus GABAerge Projektionsneuronen welche inhibitorisch zum Nucleus subthalamicus, GPi und Substantia nigra pars reticulata projizieren. Seine Afferenzen erhält er hauptsächlich aus dem Striatum, Nucleus subthalamicus und Substantia nigra pars compacta (Jaeger et al., 2011).

### **1.5.3 Substantia nigra**

Die Substantia nigra sitzt im Tegmentum des Mesencephalons und besteht aus zwei unterschiedlichen Bereichen. Sie lässt sich funktionell und makroskopisch unterscheiden in eine melaninhaltige Pars compacta (SNpc) und eine Pars reticulata (SNpr) (Blandini et al., 2000).

Die SNpr besteht aus GABAerge Neurone und ist funktionstechnisch dem GPi zuzuordnen (Oertel et al., 2011). Sie projiziert ähnlich in den Thalamus, allerdings vorwiegend in den ventroanterioren und mediodorsalen Kern (Blandini et al., 2000). Somit stellt die SNpr gemeinsam mit dem GPi den Austrittspunkt von Informationen dar. Beide Kerne sind tonisch aktiv und werden vor allem durch striatale Projektionen reguliert (Sgambato-Faure und Cenci, 2012).

Die SNpc des Menschen ist aufgrund ihres hohen Melaningehaltes im Perikaryon makroskopisch gut als schwarzer Bereich identifizierbar. Die Projektionsneurone produzieren den Neurotransmitter Dopamin und haben als Zielpunkt die D1- und D2-Rezeptoren des Striatums. Über Axonkollaterale werden auch der GPe und STN erreicht. Die Neuronen der SNpc erhalten zahlreiche Afferenzen aus dem Striatum, GPe, STN und dorsalen Raphekernen (Hedreen und DeLong, 1991).

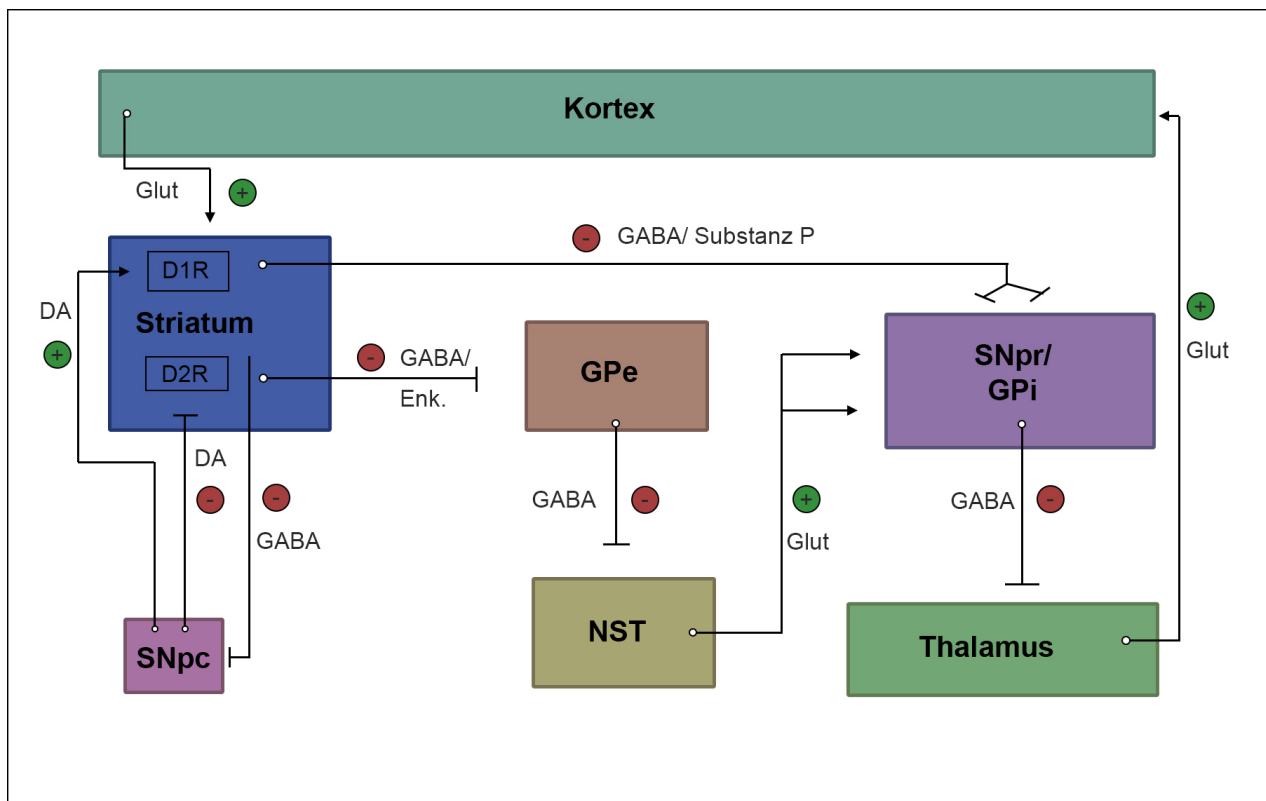
### **1.5.4 Nucleus subthalamicus**

Der Nucleus subthalamicus (STN) besitzt als einziger Kern glutamaterge Neurone und hat insgesamt eine hemmende Funktion auf Bewegungsimpulse. Die tonisch aktiven Efferenzen ziehen zum größten Teil in den GPi und SNpr. Des Weiteren projizieren einige Neurone exzitatorisch auf den GPe und SNpc, welche wiederum afferent auf den STN

zurück projizieren, wodurch ein Rückkopplungssystem entsteht. Weitere regulierende Afferenzen erhält der STN aus dem Kortex und Thalamus (Blandini et al., 2000; Obeso et al., 2008).

### **1.5.5 Verschaltung der Basalganglien**

Zusammen bilden die oben genannten Kerne die Einheit der Basalganglien zur Verarbeitung kortikaler Signale. Dabei dient das Striatum als Eingangspforte für Informationssignale, welche dann an die weiteren Kerne weitergeleitet, verarbeitet und moduliert über den Thalamus zurück an kortikale Regionen geschickt werden (Blandini et al., 2000). Somit entsteht ein geschlossener Informationskreis, welcher als die Basalganglienschleife bezeichnet wird. Es existieren hierbei verschiedene Verschaltungsschleifen je nach Ursprung der kortikalen Signale wie zum Beispiel die dorsolaterale-präfrontale Schleife oder mediofrontal-limbische Schleife, welche respektive Informationen aus dem frontalen Kortex und limbischen System erhalten und von wichtiger Bedeutung bei kognitiven Funktionen wie Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeit oder auch Emotionen sind (Obeso et al., 2008). Projektionen aus dem sensomotorischen Kortex bilden die motorische Schleife und verarbeiten Impulse zur Durchführung zielgerichteter Bewegungen als extrapyramidales System (siehe Abb. 1.6). Da sich diese Arbeit mit dem Morbus Parkinson befasst, wird die weitere Fortführung auf die motorische Schleife beschränkt.



**Abb. 1.6** Physiologisches Verschaltungsmuster der Basalganglien in der motorischen Schleife (modifiziert nach Gerlach et al., 2007) Abk.: D1R/D2R = D1- bzw. D2-Dopaminrezeptoren; DA = Dopamin; Enk. = Enkephalin; Glut = Glutamat; GABA = Gammahydroxybuttersäure; GPe = Globus pallidus pars externa; GPi = Globus pallidus pars interna; NST = Nucleus subthalamicus; SNpc = Substantia nigra pars compacta; SNpr = Substantia nigra pars reticulata; + = fördernder Einfluss; - = hemmender Einfluss.

In der klassischen Theorie teilt sich die motorische Basalganglienschleife in zwei Wege, in einen polysynaptischen direkten und indirekten Weg, über welche die striatale Projektionsneurone ihre Information an die Austrittspforte dem GPi und SNpr weiterleiten. Studien der letzten Jahre haben diese strikte Trennung verworfen und postulieren ein Zusammenspiel der unterschiedlichen Systeme, wodurch das klassische Modell als vereinfachte Darstellung zur Veranschaulichung einer komplexen Verschaltung zu verstehen ist (Smith und Kieval, 2000). Dennoch hat das klassische Modell geholfen, viele neue Erkenntnisse über die Pathogenese und Therapiemöglichkeiten des Morbus Parkinson zu gewinnen und wird daher auch in dieser Arbeit verwendet.

Bei Durchführung einer Bewegung erhält das Striatum glutamaterge Impulse aus dem sensomotorischen Kortex Lamina III, welche über NMDA- und AMPA-Rezeptoren exzitatorisch am Striatum wirken (Surmeier et al., 2007). Beim direkten Weg (Hauptschleife)

werden diese exzitatorische Signale auf D1-Rezeptor-tragende striatale Projektionsneurone übertragen, welche dann vermehrt über GABAerge Synapsen am GPi und SNpr eine Inhibition auslösen. Hierdurch wird die tonisch inhibierende Grundaktivität der Ausgangsneurone der GPi und SNpr zum Thalamus gehemmt, wodurch die exzitatorische Aktivität der thalamokortikalen Neurone gesteigert wird. Im Endeffekt kommt es zu einer Steigerung der motorischen Aktivität. Beim indirekten Weg (Nebenschleife) werden die empfangene glutamaterge Signale aus der Lamina V im Striatum auf D2-Rezeptor-tragende Projektionsneurone weitergeleitet, welche wiederum inhibierend über GABAerge Synapsen die Aktivität der GPe Neuronen reduzieren. Die reduzierte Aktivität des GPe führt zu einer Enthemmung des STN, welches wiederum über exzitatorische glutamaterge Synapsen die Aktivität der Ausgangsneurone des GPi und SNpr erhöht. Es kommt zu einer Reduktion der Aktivität der thalamokortikalen Neurone und einer Reduktion der motorischen Aktivität (Albin et al., 1989; Calabresi et al., 2014).

Die Substantia nigra pars compacta kann über nigrostriatale Projektionsneurone die Aktivität beider Wege modulieren. Über den D1-Rezeptor können durch stimulatorische G-Proteine die Erregbarkeit der striatalen Neurone gegenüber den kortikalen Afferenzen erhöht werden, bspw. durch Erhöhung der Dichte von NMDA – und AMPA – Rezeptoren oder Aktivierung von Calcium – Kanälen. Hierdurch wird das Striatum sensibler gegenüber kortikalen Afferenzen. Im Gegensatz hierzu senken die D2 – Rezeptoren über inhibitorische G – Proteine die Erregbarkeit, durch Verminderung der Dichte von Glutamat – Rezeptoren oder Inaktivierung von Natriumkanälen (Surmeier et al., 2007). Wenn das Striatum nun beim direkten Weg „sensibler“ gegenüber kortikalen Afferenzen ist, kann es den GPi stärker hemmen und der Thalamus wiederum wird dadurch enthemmt. Wenn das Striatum nicht gut erregt wird, dann ist der GPe aktiver und hemmt den GPi, sodass wiederum der Thalamus weniger erregt wird. Bei diesem indirekten Weg wird also durch die Ausschüttung von Dopamin aus der SNc über D2-Rezeptoren im Striatum die Erregbarkeit des Striatums gegenüber kortikalen Afferenzen gesenkt, sodass dessen Aktivität abnimmt (Surmeier et al., 2007).

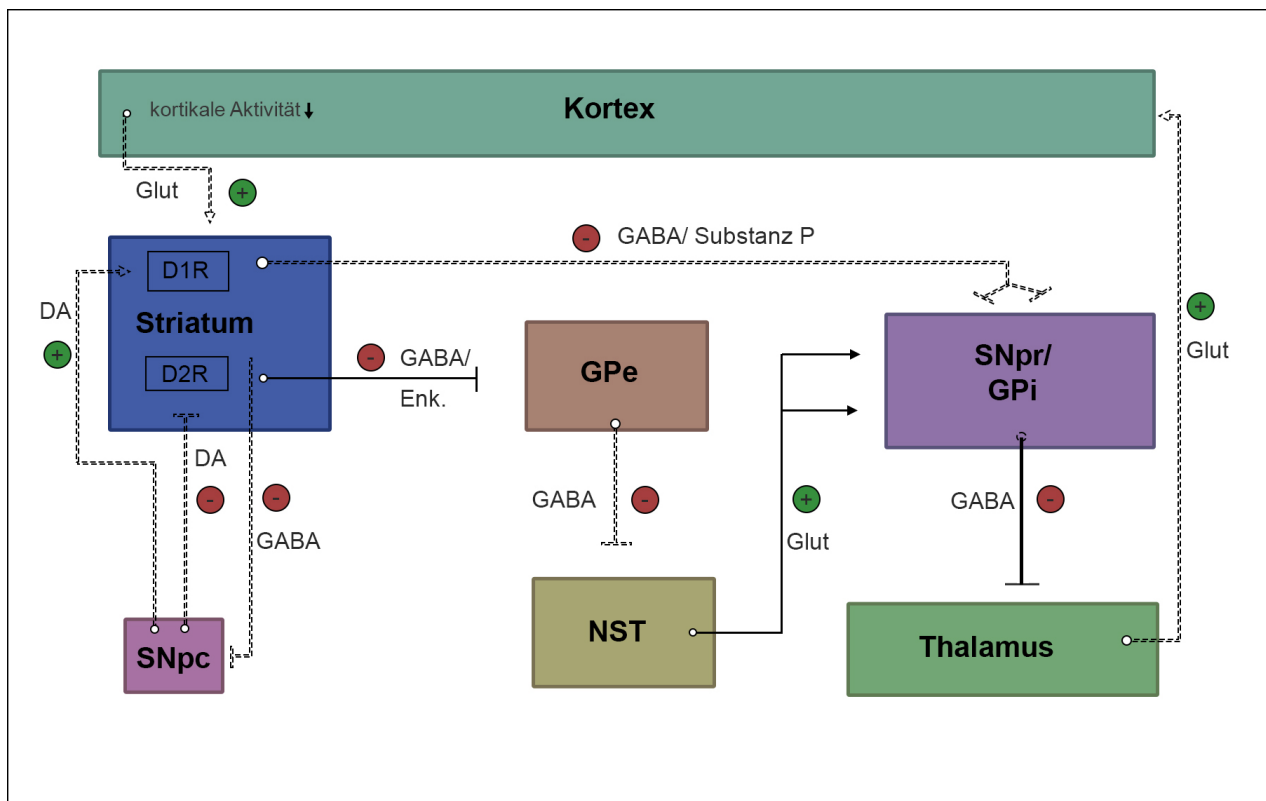
Neben dem direkten und indirekten Weg besteht noch ein weiterer disynaptischer ‚hyperdirekter‘ Weg, zwischen Kortex und STN. Hierbei führen Impulse aus dem Kortex

über den STN zu einer Aktivierung des GPi, welcher im Thalamus gewünscht als auch ungewünschte Bewegungen hemmt (DeLong, 1990).

Wie bereits am Anfang erwähnt, bestehen gewisse Einschränkungen beim klassischen Modell. So konnte zum Beispiel in Studien die gemeinsame Expression von D1 – und D2 – Rezeptoren in striatalen Neuronen nachgewiesen werden. Ebenso haben in-vivo Aktivitätsmessungen gezeigt, dass bei Initiierung und Ausführung einer Bewegung eine erhöhte Aktivität von Neuronen in beide Wege auftreten (Calabresi et al., 2014). Ein weiterer Punkt sind entdeckte Axonkollaterale aus der SNpc zum GPe und STN, wodurch eine Verbindung beider Wege besteht (Hedreen und DeLong, 1991).

#### **1.5.6 Rolle beim Morbus Parkinson**

Beim Morbus Parkinson kommt es zu einem Untergang der dopaminergen Neuronen der Basalganglien in der SNpc, welcher beim Menschen bereits makroskopisch durch das Ablassen der Substantia nigra beobachtet werden kann. Basierend auf dem klassischen Modell der Verschaltung der Basalganglien ergibt sich hierdurch eine reduzierte dopaminerge Innervierung der striatalen Projektionsneurone, welche die Funktionalität der Basalganglien beträchtlich einschränkt. Beim indirekten Weg fällt die inhibitorische Modulation des Striatums auf dem GPe aus. Es kommt zu einer Hemmung des GPe und dadurch verminderte Inhibition des GPi. Dies führt zu einer Überaktivität des GPi, welcher überschießend den Thalamus hemmt und in einer gesteigerten Hemmung der thalamokortikalen Projektionen mündet. Beim direkten Weg fallen die inhibierenden Projektionen aus dem Striatum in den GPi aus, wodurch die Eigenaktivität des GPi sich steigert und erneut vermehrt den Thalamus hemmen kann (siehe Abb. 1.7). Zusammenfassend fällt die positive motorikführende Beeinflussung des direkten Weges aus, sowie auch die negative motorikinhibierende Beeinflussung des indirekten Weges und bildet die Grundlage des klinischen Bildes der Akinese (Obeso et al., 2008).



**Abb. 1.7** Pathologische Basalganglienschaltung in der motorischen Schleife bei der PD (modifiziert nach Gerlach et al., 2007) Abk.: D1R/D2R = D1- bzw. D2-Dopaminrezeptoren; DA = Dopamin; Enk. = Enkephalin; Glut = Glutamat; GABA = Gammahydroxybuttersäure; GPe = Globus pallidus pars externa; GPi = Globus pallidus pars interna; NST = Nucleus subthalamicus; SNpc = Substantia nigra pars compacta; SNpr = Substantia nigra pars reticulata; + = fördernder Einfluss; - = hemmender Einfluss; = verstärkte/ verminderte Aktivität.

Ein weiterer zentraler Punkt und korrelierend zur gesteigerten Aktivität des indirekten Weges scheint in der Überaktivität des STN zu liegen, welcher bereits in Studien mehrfach beschrieben wurde. Auf Grundlage des klassischen Modells führt die reduzierte Aktivität des GPe zu einer Enthemmung des STN und somit erhöhten Glutamat Ausschüttung in den GPi und SNpr. Neuere Studien konnten jedoch kein reduziertes Aktivitätsmuster des GPe feststellen als Ursache für die Enthemmung des STN (Levy et al., 1997). Vielmehr scheint hierbei eine Verschaltung zur SNpc von Bedeutung zu sein, dabei projizieren dopaminerge Neurone aus der SNpc inhibitorisch über einen D2-Rezeptor auf den STN und von dem STN glutamaterg exzitatorisch auf die SNpc zurück. Durch den Untergang dopaminerge Neurone der SNpc kommt es zu einer Enthemmung des STN und gleichzeitig gesteigerte glutamaterge Rückprojektion auf die SNpc. Hierdurch wird ein exzitotoxischer Einfluss des STN auf die SNpc in der Pathophysiologie angenommen und die Entstehung des Morbus Parkinson (Obeso et al., 2008). Eine Überaktivität durch gesteigerte Projektionen aus dem

Nucleus penducolopontinus wurde ebenso in Studien beschrieben (Obeso et al., 2008), sowie auch eine Reduktion der kortikostriatalen Projektionen durch Reduktion der kortikalen Afferenzen (Mallet et al., 2006).

Des Weiteren spielen auch die tonisch aktiven cholinergen Interneurone eine Rolle bei der Pathogenese des Morbus Parkinson. Die Degeneration der dopaminergen Neuronen führt zu einem Ausfall der Impulsreduktion durch den Wegfall eines D2-Rezeptor vermittelten Mechanismus und Reduktion der Aktivität von muskarinergen Rezeptoren. Dabei handelt es sich um Autorezeptoren, welche Teil eines negativen Feedback-Mechanismus sind. Durch diese Dysfunktion kommt es zu einer gesteigerten Freisetzung von Acetylcholin und somit zu einem funktionellen Hypercholinismus (Duvoisin, 1967; Pisani et al., 2007) welche eine Reduktion des kortikalen Inputs bedingen (Surmeier et al., 2007).

Zusammenfassend kommt es durch eine Hemmung des direkten Weges und Förderung des indirekten Weges zu einem Ungleichgewicht in der Aktivität der Basalganglienschleife. Zusätzlich führt die Verringerung des kortikalen Inputs zu einer Exazerbation dieses Ungleichgewichts.

## **1.6 Botulinum**

Botulinum-Neurotoxin (BoNT) ist ein Sammelbegriff für mehrere neurotoxisch ähnelnde Proteine. Diese Neurotoxine werden durch die gram-positive, obligat anaerobe Bakterien *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium barati* und *Clostridium argentinense* gebildet und ausgeschieden, wodurch sie auch als Exotoxin charakterisiert werden (Chaddock und Marks, 2006; Schiavo et al., 2000). Ihre Sporen sind hitzestabil und resistent gegen viele Umwelteinflüsse. Das Botulinum-Neurotoxin ist mit einer LD50 von 0.001 mg pro kg Körpergewicht für den Menschen das mit Abstand tödlichste Gift unter den natürlich vorkommenden Substanzen (RKI, 2018).

### **1.6.1 Wirkung und Eigenschaften von BoNT**

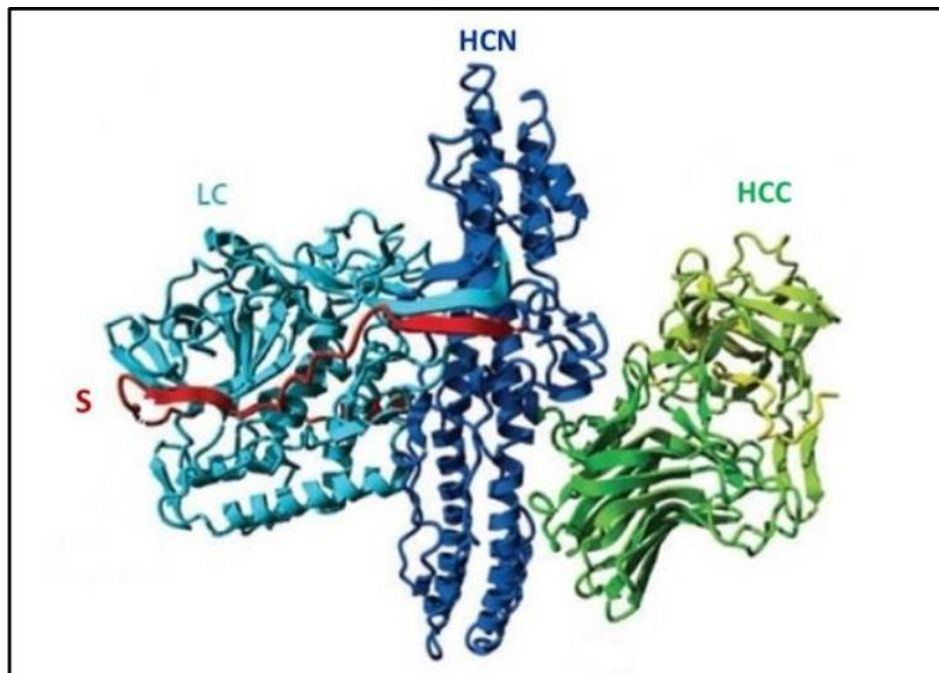
Eine Intoxikation mit BoNT wird als ‚Botulismus‘ bezeichnet. Der Begriff ‚Botulus‘ stammt aus dem Latein und bedeutet Wurst. Die Intoxikation wurde vor allem durch den Verzehr verdorbener Lebensmittel in Konservendosen verursacht, da sich hier die Clostridien unter

optimalen sauerstoffarmen Bedingungen vermehren und das Neurotoxin bilden können. Somit stellen verdorbene Fleischprodukte in Konservendosen die häufigste Toxinquelle dar.

Das Wirkungsprinzip des Gifts basiert auf einer Hemmung der Erregungsübertragung insbesondere von cholinergen Neuronen. Davon ist in erster Linie das periphere motorische System betroffen, in welchem das Signal der Muskelkontraktion über eine cholinerge motorische Endplatte vermittelt wird. Bei einer akuten Intoxikation kommt es daher allgemein zu einer in den Extremitäten beginnenden Muskelschwäche, Sehstörungen, Erschöpfungszuständen, Schluckstörungen, gastrointestinale Hypomotilität, reduzierte Speichelproduktion und letztendlich je nach Dosis zum Atemstillstand durch Ausschaltung der Atemhilfsmuskulatur. Das Gift greift im Frühstadium insbesondere die kleine Augenmuskulatur an, wodurch sich die o.g. Sehstörungen meist als Erstmanifestation einer Intoxikation äußert und die Ausprägung der Lähmung auch ein guter klinischer Verlaufssparameter bietet die Schwere und Progress der Intoxikation zu beurteilen (Critchley, 1991; RKI 2018).

Darüber hinaus bestehen noch weitere Formen des Botulismus; infantile Botulismus durch Besiedlung des kindlichen Darms mit Clostridien, Wundbotulismus und iatrogen verursachte Botulismus.

Je nach Antiserum kann man das Botulinum-Neurotoxin in 9 verschiedene Serotypen einteilen: BoNT-A, -B, -C1, -C2, -D, -E, -F, -G und H. Das vom Clostridium produzierte Toxin ist zunächst in einem inaktiven Zustand und besteht aus zwei unterschiedlich funktionierenden und großen Ketten, eine N-terminale leichte Kette mit 50 kDa (light chain, LC sie beinhaltet das katalytische Zentrum) und eine C-terminale schwere Kette mit 100 kDa (heavy chain, HC), welche dem Schutz der LC und der intrazellulären Aufnahme dient. Beide Ketten sind über eine Disulfidbrücke verbunden und weitere nicht kovalente Bindungen. Solange beide Ketten noch verbunden sind, liegt das katalytische Zentrum der LC nicht frei und ist somit noch inaktiv. Umhüllt wird das Neurotoxin von nicht-toxischen Hüllproteine bakteriellen Ursprungs. Das Neurotoxin ist in Abb. 1.8 schematisch dargestellt (Montal, 2010).



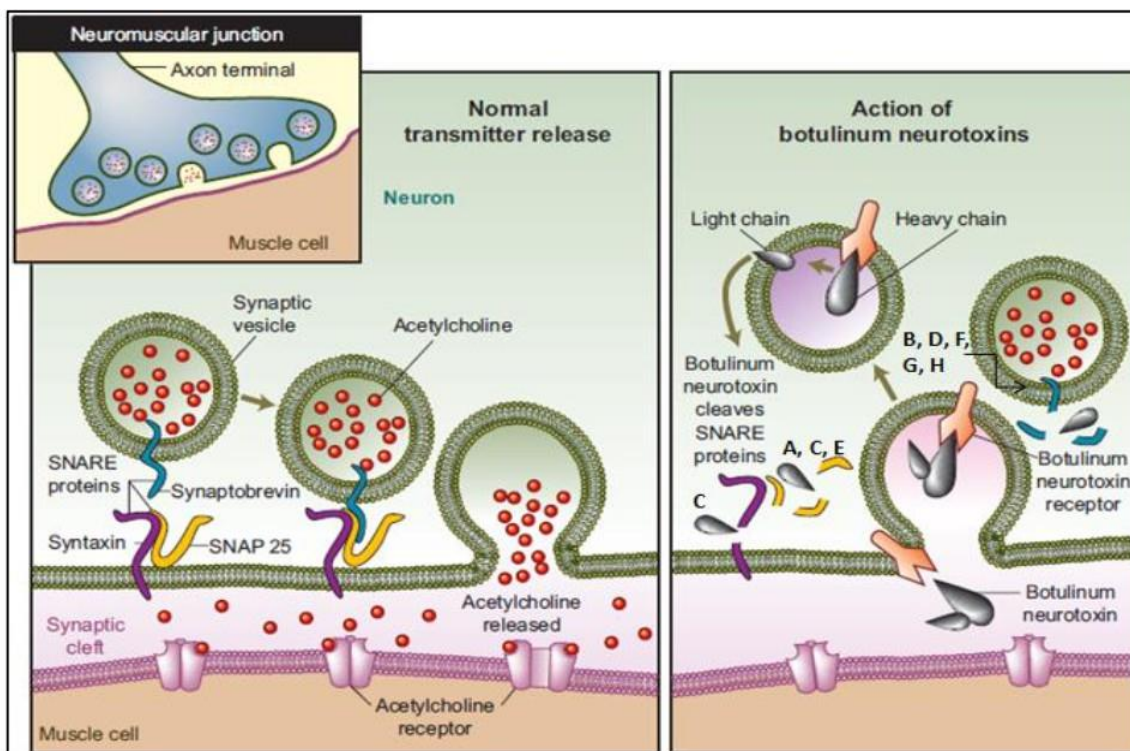
**Abb. 1.8** Molekulare Struktur von BoNT-A (Montal, 2010) Abk.: HCC = C-terminale Einheit der schweren Kette; HCN = N-terminale Einheit der schweren Kette; LC = leichte Kette; S = Molekülschleife.

Bei oraler Aufnahme schützen die HC sowie weitere nicht-toxische Hämagglutinine die funktionelle LC vor dem sauren Milieu des Magens und seinen proteolytischen Enzymen. Im alkalischen Milieu des Dünndarms lösen sich die Hämagglutinine, hierdurch können die Toxine nun mittels Autolyse freigesetzt und über den Dünndarm in die Blutbahn aufgenommen werden (Schiavo et al., 2000).

Im nächsten Schritt fungiert die HC über ihr C-terminales Ende zur Vermittlung der Bindung an der Zielstruktur und Aufnahme ins Zytosol. Sie kann spezifisch über Bindungsdomänen selektiv an membrangebundene Proteine binden, wie Ganglioside oder Bindungsrezeptoren der präsynaptischen Membran (Chaddock und Marks, 2006; Schiavo et al., 2000). Bei diesen Bindungsrezeptoren handelt es sich um Rezeptoren der Vesikelmembran; sie sind insbesondere stark exprimiert in hochaktiven Neuronen wie im motorischen System. Sie sind für jeden Serotypen spezifisch, so bindet bspw. BoNT -A, -D, -E und -F an synaptisches Vesikelprotein 2 (SV2), wohingegen BoNT -B und -G an Synaptotagmin I und II bindet (Fu et al., 2009, Rummel et al., 2009).

Nach Bindung an diesen Rezeptor erfolgt die Endozytose in den intrazellulären Raum über Endosome. Im sauren Milieu folgt eine Protonierung der HC, was durch eine positive Gesamtladung eine Interaktion mit der negativ geladenen Membran des Endosoms fördert. Hierdurch kommt es zu einer Verlagerung des N-terminalen Endes der HC in die hydrophobe Ebene der Vesikelmembran, sodass sich eine Pore bildet, durch welche die LC in das Zytosol gelangen kann. Während der Passage wird die verbindende Disulfidbrücke durch zelleigene Reduktionsenzyme zwischen der HC und LC gebrochen, wodurch sich die LC entfalten kann und ihr katalytisches Zentrum frei liegt (Shiavo et al., 2000; Rossetto et al., 2013).

Die LC funktioniert als zinkabhängige Metalloprotease, welche jeweils unterschiedliche Bestandteile des SNARE-Komplexes (soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor) spalten kann (siehe Abb. 1.9). Der SNARE-Komplex ist ein essentieller Baustein für die Exozytose von Neurotransmitter aus der Präsynapse in den synaptischen Spalt. Er spielt somit eine zentrale Rolle bei der Fortleitung von Impulsen an chemischen Synapsen (Schiavo et al., 2000; Montal, 2010; Rossetto et al., 2013).



**Abb. 1.9** Schematischer Ablauf der normalen Transmitterexozytose (links) sowie der Wirkung von BoNT an der motorischen Endplatte (rechts) (Dickerson und Janda, 2006).

Der SNARE-Komplex besteht aus mehreren verschiedenen Proteinen, wie zum Beispiel Synaptobrevin, Syntaxin und SNAP-25. Diese Bausteine bieten unterschiedliche Angriffspunkte für die verschiedenen Serotypen dar. So kann zum Beispiel SNAP-25 von BoNT -A, -C und -E gespalten werden, wohingegen Synaptobrevin durch BoNT -B, -D, -F, -G und Syntaxin nur durch BoNT -C gespalten werden kann (Rossetto et al., 2014). In Motoneuronen wird durch Spaltung des SNARE-Komplexes die Acetylcholinfreisetzung an der motorischen Endplatte gehemmt, was letztendlich klinisch zum Bild der schlaffen Parese führt.

Die Wirkung von BoNT beschränkt sich auf das periphere Nervensystem, da es in der Regel nicht die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann. Jedoch ist auch eine direkte intrazerebrale Injektion von BoNT möglich und wie in Studien beschrieben, auch direkt wirksam (Verderio et al., 2006; Wree et al., 2011). In höheren Dosen verliert BoNT seine spezifische Wirkung im cholinergen System und beeinflusst auch zunehmend die Freisetzung anderer Neurotransmitter (Bigalke et al., 1985).

### **1.6.2 Einsatz von BoNT in der Medizin**

In den 1970er wurde erstmalig eine therapeutische Wirkung von BoNT-A beschrieben zur Behandlung von Spastiken im Rahmen erhöhter Muskelaktivität wie bei muskulären Dystonien, Strabismus, Hemispasmus facialis oder Blepharospasmus. Ähnlich wie beim Morbus Parkinson ist die Pathogenese hierbei unklar, jedoch werden auch ähnlicherweise die Basalganglien als Ausgangspunkt diskutiert. Ziel der Therapie ist die Ausschaltung der überaktiven Muskeln. Diese werden vorher elektromyografisch aufgesucht und anschließend durch lokale BoNT-A Applikation gehemmt. Gegenüber der klassischen Therapie mit systematischen Anticholinergika ist die lokale BoNT-A Applikation insofern überlegen, da sie mit einem deutlich reduzierten systemischen Nebenwirkungsprofil einhergeht und durch die lokale Applikation gezielter wirkt (Costa et al., 2005; Jankovic, 2013). Dennoch können durch Umverteilungsprozesse und je nach Dosis auch lokale Nebenwirkungen entstehen, so kann es bspw. bei zervikalen Dystonien selten zu Schluckstörung oder Schwäche der Halsmuskulatur kommen. Die Nebenwirkung lassen sich durch Gabe mehrerer kleiner Dosen gut reduzieren (Borodic et al., 1994).

Im Rahmen der zunehmenden Anwendung ist auch die kosmetische verjüngende Wirkung bei Applikation im Gesicht aufgefallen. BoNT-A schaltet hierbei überaktive Muskeln im Gesicht aus und wirkt damit der Faltenbildung entgegen. Weitere Anwendungsgebiete über die Ästhetik hinaus finden sich in der Behandlung von Hyperhidrose oder hyperaktiver Blasenmuskulatur.

BoNT verliert in höheren Dosen seine Selektivität im cholinergen Transmittersystem. Dennoch scheint es präferierend das exzitatorische Transmittersystem zu inhibieren. BoNT-A und -E hemmen vermehrt die Transmitterausschüttung an exzitatorischen Synapsen, u.a. auch Glutamat. Das GABAerge System scheint es nur bedingt zu hemmen. Dabei scheint die Selektivität mit dem Zielprotein SNAP-25 zusammenzuhängen (Verderio et al., 2007). Auf Grundlage dieser Erkenntnisse wird zunehmend die Behandlungsmöglichkeit mit BoNT-A und -E bei neurologischen Erkrankungen untersucht mit Grundlage einer exzitatorischen Überaktivität, wie auch beim Morbus Parkinson, der Temporallappen-Epilepsie, Schlaganfälle oder Migräne.

In experimentellen Studien an Tiermodellen der mesialen Temporallappen-Epilepsie konnte durch eine einseitige intrahippocampale Injektion von BoNT-E eine signifikante Reduktion der Anfallsfrequenzen und auch absolute Anzahl der Anfälle beobachtet werden, durch Hemmung der Freisetzung von exzitatorisch wirksamen Glutamat, ohne dabei das GABAerge System zu beeinflussen (Constantin et al., 2005). Der maximale Wirkungseintritt wurde um den 21. Tag beobachtet. Eine Wirkung auf der kontralateralen Seite bspw. bedingt durch aktiven axonalen Transport oder passiver Umverteilung entsprechend eines Konzentrationsgradienten wurde nicht beobachtet. Des Weiteren wurden auch keine Intoxikationserscheinungen beobachtet (Constantin et al., 2005). In experimentellen Tierstudien ist BoNT-E hinsichtlich der Wirkung den klassischen Medikamenten aktuell überlegen (Antonucci et al., 2010).

Beim zerebralen Schlaganfall kommt es durch Minderperfusion und nachfolgender Hypoxie zu einer reduzierten Energieversorgung. Auf zellulärer Ebene können dadurch nicht mehr die Funktion aktiver Ionenkanäle aufrechterhalten werden, was wiederum zu einem Ungleichgewicht der Elektrolyte, der Osmolarität und einer unkontrollierten Depolarisation

führt, mit Freisetzung verschiedener Neurotransmitter wie Glutamat. Das Glutamat akkumuliert im synaptischen Spalt und bindet an metabotrope Glutamatrezeptoren, was zu einer weiteren Elektrolytverschiebung führt und die Depolarisation vorantreibt. Durch die Elektrolytverschiebung kommt es zusätzlich vermehrt zu Wassereinlagerungen. Das resultierende Hirnödem wirkt komprimierend auf das umliegende Gewebe und schränkt auch hier die Funktion und Durchblutung ein (Dirnagl et al., 1999). Insgesamt wirkt das Glutamat exzitotoxisch.

Für einen ischämischen Schlaganfall besteht mit vasokonstriktorisch wirkendes Endothelin-1 ebenfalls ein etabliertes Tiermodell. In Studien konnte durch Injektion von BoNT-E eine reduzierte Freisetzung von Glutamat in diesen Tiermodellen beobachtet und somit eine neuroprotektive Wirkung zugeschrieben werden (Antonucci et al., 2010).

Die cholinerge Überaktivität spielt eine wesentliche Rolle beim Morbus Parkinson. Ebenfalls lange bekannt ist die positive Wirkung von oralen Anticholinergika auf die Symptome beim Morbus Parkinson, welche jedoch durch ihr erhebliches Nebenwirkungsprofil bei systemischer Applikation nur eingeschränkt zu nutzen kommen. Hypothetisch wäre eine lokale und selektive Wirkung an cholinergen Synapsen der Basalganglien effektiver und vorteilhafter. Dies wurde durch die stereotaktische Injektion von BoNT-A in Ratten am Modell des 6-OHDA induzierten Hemiparkinson durch die Arbeitsgruppe von Prof. Wree an der Universitätsmedizin Rostock untersucht. Es konnte in diversen Verhaltenstests eine therapeutische Wirkung von BoNT-A in einer Dosis von 1-2 ng über einen Zeitraum von bis zu 6 Monaten beobachtet werden (Wree et al., 2011). Des Weiteren zeigte sich auch bei Injektion von BoNT-A in der gesunden Ratte keine toxische Wirkung in Bezug auf Gesamtzahl der Neuronen im Striatum, oder Größe des Nucleus caudatus im Verlauf von einem Jahr (Antipova et al., 2013; Mehlan et al., 2016).

### **1.7 6-OHDA Tiermodelle**

Tiermodelle werden in der experimentellen Medizin herangezogen, um die Pathogenese und mögliche Therapieansätze von menschlichen Erkrankungen zu untersuchen. Das Krankheitsbild IPS wurde in der Ratte bisher spontan noch nicht beschrieben. Im Jahre 1968 gelang es Ungerstedt erstmalig ein Parkinson Modell der Ratte zu beschreiben durch die intrazerebrale Injektion von 6 – Hydroxydopamin (6 – OHDA). Hierbei handelt es sich

strukturell um hydroxliertes Dopamin, welches die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann (Ungerstedt, 1968). Durch die intrazerebrale Applikation kam es zu einer anterograden Degeneration des nigrostriatalen, dopaminergen Systems in der Substantia nigra Pars compacta. Das 6 – OHDA – Modell der Ratte wird bis heute, neben dem 1 – Methyl – 4 – phenyl – 1, 2, 3, 6 – Modell des Primaten, genutzt im Rahmen der Forschung vom Morbus Parkinson. Das 6 – OHDA – Modell besitzt einen hohen prädiktiven Wert, da alle aktuellen Parkinsonmedikamente zunächst ihre Wirksamkeit anhand des Modells nachwiesen (Blandini et al., 2012).

Die Injektion erfolgt am Rattenhirn einseitig in die SNpc oder in das mediale Vorderhirnbündel (MFB), welche nigrostriatale Fasern beinhaltet, die zum Striatum ziehen. Anschließend erfolgt die selektive Aufnahme des Toxins an dopaminergen Enden über Dopamin – Transporter (DAT) (Ungerstedt, 1968). Die intrazelluläre Akkumulation von 6-OHDA führt zur Bildung freier Radikale (Reaktive Sauerstoff Spezies – ROS), hemmt antioxidative Substanzen wie Glutathion und beeinträchtigt die Energieproduktion durch Hemmung von Komplex I und IV in der mitochondrialen Kette (Blandini et al., 2008). Bereits 12 Stunden nach Injektion führt 6-OHDA zum Zelltod nigraler Neurone. Mit einer Verzögerung von 48 bis 72 Stunden folgt der Untergang der dopaminergen Enden und damit verbunden ein reduzierter Dopamin – Spiegel im nigrostriatalen System und ein funktioneller Hypercholinismus im Striatum (Zuch et al., 2000; Blandini et al., 2008). Dabei weist bei einer unilateralen Injektion, die kontralaterale nicht – läionierte Seite (Kontrollseite) keine Veränderungen vor. Dies ist dadurch begründet, dass dopaminerge Neurone der SNpc wenige bis keine Verbindungen zur kontralateralen Seite bilden (Schwartz & Huston, 1996). Darüber hinaus kann 6-OHDA auch über weitere Transporter in noradrenerge Neurone aufgenommen werden. Um dies zu unterbinden und die Wirksamkeit von 6-OHDA an dopaminerge Neurone zu steigern, erfolgt vorher die systemische Gabe von Desipramin (Blandini et al., 2008).

Die Überprüfung des Läsionserfolges erfolgt durch Messung der Aktivität der Tyrosinhydroxylase oder Konzentration vom Dopamin – Transporter im Striatum. Zusätzlich kann der Läsionserfolg klinisch beurteilt werden durch den Apomorphin – induzierten Rotationstest. Als direkter Agonist des Dopamin – Rezeptors führt die Gabe von Apomorphin in diesen läionierten Ratten zu Rotation nach kontralateral von der

Läsionsseite weg. Ursache hierfür ist die Hochregulation der Rezeptoren auf der läsierten Seite nach Denervierung (Duty und Jenner, 2011). In Studien unserer Arbeitsgruppe zeigten die Ratten nach erfolgreicher 6-OHDA Läsion und Degeneration von über 90% der dopaminergen Neurone, ca. neun Rotationen pro Minute (Wree et al., 2011). Alternativ kann der Läsionserfolg auch durch Gabe von Amphetamin untersucht werden. Diese wirken als indirekte Agonisten, in dem sie an der Präsynapse eine gesteigerte Dopamin Freisetzung bewirken und zu einer gesteigerten Aktivität in der intakten kontralateralen Seite führen. Klinisch führt dies zu einer ipsilateralen Rotation zur Läsionsseite hin, bereits ab einem partiellen Zellverlust von 50 % - 60 % (Duty und Jenner, 2011). Da die Wirkung von 6-OHDA Dosis abhängig ist, bietet es die Möglichkeit auch zur inkompletten Läsion zur Untersuchung früherer Krankheitsstadien oder Testung neuroprotektiver Substanzen bei subakuteren Verläufen (Blandini et al. 2008).

Insgesamt bietet das 6-OHDA-Hemi-Parkinson-Modell der Ratte eine gute Möglichkeit Studien im Rahmen der Morbus Parkinson Behandlung durchzuführen. Durch die unilaterale Schädigung lassen sich auch sehr gute Vergleiche innerhalb des Individuums zur gesunden kontralateralen Seite ziehen. Als Nachteil des Modells werden diskutiert das Fehlen von Lewy-Körperchen, sowie die unnatürlich schnelle Degeneration. Des Weiteren beschränkt sich das Modell auf das nigrostriatale System und bildet somit nur einen Ausschnitt ab, der komplexen Prozesse im ganzen ZNS, welche im Rahmen der Erkrankung auftreten.

In unserer Arbeit erfolgte die einseitige, nahezu komplette Läsion des nigrostriatalen Systems, durch die Injektion von 6-OHDA am rechten MFB. Sowohl die erfolgreiche 6-OHDA-Läsion als auch ein positiver Therapieeffekt durch BoNT-A Applikation konnte von unserer Arbeitsgruppe durch den „Apomorphin-Rotationstest“ zuvor bereits bestätigt werden (Wree et al., 2011).

Für die Untersuchungen wurden die Tiere in insgesamt fünf experimentelle Gruppen eingeteilt:

- 1 Unbehandelte Ratten (Kontrolltiere)
- 2 Hemiparkinson-Ratten
- 3 BoNT-A injizierte Ratten
- 4 BoNT-A injizierte Hemiparkinson-Ratten
- 5 Vehikel injizierte Hemiparkinson-Ratten

Um den Behandlungserfolg auf Rezeptorebene und auch mögliche Veränderungen anderer Neurotransmitter – Rezeptoren zu untersuchen, wurde die Methode der quantitativen in vitro Rezeptoraudiographie verwendet. Um eine neuronale Plastizität der Rezeptoren sowie einen möglichen transienten Effekt von BoNT-A zu erfassen, wurden bei allen experimentellen Gruppen Überlebenszeiten zwischen ein und neun Monate untersucht. In dieser Arbeit wurden Ratten aus der Gruppe 4 und 5 untersucht.

## **1.8 Rezeptoren**

### **1.8.1 Serotonin-Rezeptoren**

Der Neurotransmitter Serotonin (auch 5-Hydroxytryptamin, 5-HT) entfaltet seine Wirkung über Bindung an verschiedene Serotoninrezeptoren. Insgesamt sind 7 Subklassen bekannt: 5HT1 bis 5HT7, welche teilweise sowohl zentral als auch peripher vorkommen wie im Magen-Darm-Trakt oder Herzkreislaufsystem. Die Serotoninrezeptoren sind G-Protein gekoppelte und somit metabotrop. Die Ausnahme hierfür bildet der 5HT3 Rezeptor als Liganden-gesteuerter Ionenkanal. 5HT1 wirkt über die Inhibierung der Adenylatcyclase, während die Subklassen 5HT4 und 5HT6 über eine Aktivierung der Adenylatcyclase wirken.

Gegenstand dieser Arbeit ist der 5HT2A – Rezeptor, welcher seine Wirkung über den Phospholipase-C Signalweg entfaltet und zu den  $G_{q/11}$  - Protein gekoppelt Rezeptoren gehört. Der 5HT2A Rezeptor ist einer von drei Subtypen (A, B, C) mit hoher Sequenzhomologie (Roth, 2006). Insbesondere der 5HT2A Rezeptor der Ratte besitzt eine 87% Sequenzhomologie zum menschlichen Serotoninrezeptor (Barnes und Sharp, 1999).

Im ZNS findet sich die höchste Dichte dieses Rezeptors im Neokortex, insbesondere in der Großhirnrinde postsynaptisch an den Dendriten der Pyramidenzellen (Roth, 2006). Weitere Hirnregionen mit hoher Dichte des Rezeptors sind striatale Afferenzen aus dem Locus coeruleus und auf dopaminergen Axonen der Substantia nigra pars compacta, im Tuberculum olfactorium, Amygdala und der Gyrus dentatus des Hippocampus (Roth, 2006;

Xu und Pandey, 2000). Außerdem konnte der 5HT<sub>2A</sub> Rezeptor auch auf einer Untergruppe der striatalen Interneurone nachgewiesen werden, welche Parvalbumin binden (Roth, 2006).

Dem 5HT<sub>2A</sub> Rezeptor wird in der Pathophysiologie bei psychiatrischen Krankheitsbildern wie der Depression oder Schizophrenie eine bedeutende Rolle zugeschrieben. Der Bezug des serotonergen Systems auf den Morbus Parkinson ist noch nicht vollständig geklärt. Der 5HT<sub>2A</sub> Rezeptor findet sich im Striatum, der SNpc und Kortex häufig mit Dopamin Rezeptoren koexprimiert (Goldman-Rakic, 1999). Des Weiteren scheint die Expression des 5HT<sub>2A</sub> Rezeptors im Striatum über dopaminerge Mechanismen reguliert zu werden (Numan et al., 1995), welches wie beim Morbus Parkinson beim Dopaminmangel zu einer Dysbalance des serotonergen Systems führen kann.

### **1.8.2 GABA - Rezeptoren**

Der inhibitorische Neurotransmitter  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) entfaltet seine Wirkung über Bindung an verschiedenen GABA – Rezeptoren. Es existieren 3 Rezeptorsubklassen GABA A, GABA B und GABA A- $\rho$  (auch in der Literatur als GABA A- $\rho$  bezeichnet). Bei dem GABA A - und GABA A- $\rho$  - Rezeptor handelt es sich um ionotrope Rezeptoren. Der GABA B - Rezeptor ist ein metabotroper Rezeptor. In der vorliegenden Arbeit wurden die GABA A - und GABA B - Rezeptoren untersucht.

#### **GABA A – Rezeptor**

Der GABA A – Rezeptor besitzt eine heteropentamere Form, somit besteht er aus 5 Untereinheiten. Jede Untereinheit besteht wiederum aus 4 transmembranäre Domänen, wobei die zweite Domäne die Kanalpore bildet. Es sind insgesamt 19 verschiedene Untereinheiten bekannt, welche durch separate Gene kodiert werden ( $\alpha$ 1- $\alpha$ 6,  $\beta$ 1- $\beta$ 3,  $\gamma$ 1- $\gamma$ 3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$  und  $\rho$ 1- $\rho$ 3) (Goetz et al., 2007). Die Bindungsstelle für GABA befindet sich zwischen der Kontaktstelle der  $\alpha$  - und  $\beta$  - Untereinheit. Bei Aktivierung öffnet sich eine Kanalpore für Chloridionen. Der Einstrom von Chloridionen führt zur Hyperpolarisation der Zelle. Die Zusammensetzung der Untereinheiten beim GABA A - Rezeptor determinieren die Affinität und Pharmakologie des Rezeptors gegenüber dem Neurotransmitter GABA und unterscheiden sich je nach Zelllokalisation (Goetz et al., 2007).

Am häufigsten im Rattenhirn vorkommend ist die Zusammensetzung aus den Untereinheiten  $\alpha 1$ ,  $\beta 2/3$  und  $\gamma 2$  (Fujiyama et al., 2000). Sie findet sich vor allem auf den Perikarya, Dendriten und Spines bei den striatalen Projektionsneuronen, striatale Interneurone und einer kleinen Subpopulation von Neuronen im Globus pallidus (Fujiyama et al., 2000).

#### GABA A – Rezeptor mit Benzodiazepin-Bindungsstelle

Zusätzlich zur Bindungsstelle für GABA besitzt dieser GABA A – Rezeptor noch eine Bindungsstelle für Benzodiazepine oder strukturähnliche Substanzen. Benzodiazepine können durch Bindung den Effekt von GABA verstärken, indem sie die Affinität vom Neurotransmitter zum Rezeptor erhöhen. Dabei wirken sie als allosterische Modulatoren. Eine alleinige Benzodiazepin-Bindung führt zu keiner Rezeptoraktivierung. Die Bindungsstelle liegt hierbei an der Kontaktstelle zwischen der  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Untereinheit. Von den  $\alpha$  – Untereinheiten können nur  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  und  $\alpha 5$  gemeinsam mit der  $\gamma$ -Untereinheit eine Bindungsstelle für Benzodiazepine bilden. Mit knapp über 25% sind im Striatum der Ratte die  $\alpha 5$  – Untereinheiten repräsentiert für die Benzodiazepin-Bindungsstelle (Benavides et al., 1993).

#### GABA B – Rezeptor

Hierbei handelt es sich um einen metabotropen  $G_i$  – Protein gekoppelten Rezeptor. Bei Bindung von GABA kommt es zu einem erhöhten  $K^+$ -Einstrom, Verminderung der Leitfähigkeit von  $Ca^{2+}$  und letztendlich Hyperpolarisation der Zelle. Der GABA B – Rezeptor ist als Heterodimer aufgebaut aus GABAB1 und GABAB2 welche aus gewundenen sieben Transmembrandomänen bestehen (Marshall et al., 1999). Die Rezeptoren sind in hoher Dichte im Striatum exprimiert, wobei zwischen 60% - 70% postsynaptisch und 30% - 40% sich präsynaptisch befinden (Lacey et al., 2005).

#### 1.8.3 Dopamin – Rezeptoren

Dopamin – Rezeptoren sind metabotrope G-Protein gekoppelte Rezeptoren mit spezifischer Bindungsstelle für das Katecholamin Dopamin. Strukturell besteht der Rezeptor aus sieben Transmembrandomänen (Roth, 2006). Dopamin – Rezeptoren kommen sowohl im peripheren als auch im zentralen Nervensystem vor. Ihre Wirkung hängt

von ihrem Subtyp ab. Insgesamt wurden bisher fünf verschiedene Dopamin – Rezeptoren beschrieben, D<sub>1</sub> – D<sub>5</sub>. Die D<sub>1</sub> – und D<sub>5</sub> – Rezeptoren gehören zur Klasse der D<sub>1</sub> – ähnlichen Rezeptoren und führen zu einer Aktivierung der Adenylatcyclase und wirken letztendlich exzitatorisch. Die D<sub>2</sub> –, D<sub>3</sub> – und D<sub>4</sub> – Rezeptoren gehören zur Klasse der D<sub>2</sub> – ähnlichen Rezeptoren, führen zu einer reduzierten Aktivität der Adenylatcyclase und wirken letztendlich inhibitorisch. Gegenstand dieser Arbeit ist der D<sub>1</sub> – Rezeptor.

#### D<sub>1</sub> – Rezeptor

Bei Bindung von Dopamin am D<sub>1</sub> – Rezeptor kommt es zu einer Aktivierung der Adenylatcyclase und Bildung des sekundären Botenstoffs cAMP. Darüber hinaus fördert die Aktivierung des D<sub>1</sub> – Rezeptor die Erregbarkeit der Neurone noch über andere Wege, zum Beispiel über stimulatorische Einflüsse auf L-Typ-Calcium-Kanälen und Glutamatrezeptoren vom NMDA und AMPA-Typ, oder durch inhibitorisch Effekte auf Natrium-Kanäle oder P/Q – Typ Calciumkanäle.

Die D<sub>1</sub> – Rezeptoren weisen eine sehr hohe Dichte in den Basalganglien auf, insbesondere dem Striatum (CPu) und Globus pallidus (Dumartin et al., 2007). Der D<sub>1</sub> – Rezeptor ist auf ungefähr die Hälfte aller GABAergen Projektionsneurone im Striatum exprimiert, welche zum Globus pallidus internus und der Substantia nigra Pars reticulata projizieren und ist fast ausschließlich postsynaptisch lokalisiert an den Dendriten und am Perikayon (Dumartin et al., 2007). Zusätzlich ist der Rezeptor auch in der Substantia nigra pars compacta vorhanden (Boyson et al., 1986). Demgegenüber werden die D<sub>2</sub> – Rezeptoren auf GABAerge Projektionsneurone exprimiert, welche zum Globus pallidus externus projizieren.

#### **1.8.4 Adenosin – Rezeptoren**

Die Adenosin – Rezeptoren können in Hinblick auf ihre Pharmakologie in vier Gruppen unterteilt werden: A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> und A<sub>3</sub> – Rezeptoren. Sie entfalten ihre Wirkung an der postsynaptischen Membran durch Bindung des Purinnukleosid Adenosin und sind ebenfalls G-Protein gekoppelte Rezeptoren. Demgegenüber steht eine antagonistische Wirkung beschrieben durch Bindung von strukturell ähnlichem Xanthin – Derivate wie Theophyllin

oder Koffein. Gegenstand dieser Arbeit ist der bisher am meisten untersuchte  $A_1$  – Rezeptor.

### $A_1$ – Rezeptor

Der  $A_1$  – Rezeptor hat eine inhibierende Wirkung auf die Adenylatcyclase und senkt die cAMP – Konzentration. Die Signaltransduktion ist gebunden an  $G_{i/o}$  – Protein. Der  $A_1$  – Rezeptor wird vor allem in der Herzmuskulatur exprimiert und übt eine negative ino- und domotrope Wirkung aus. Darüber hinaus findet sich auch eine ubiquitäre Expression im ZNS, vor allem in hoher Dichte im Kortex, Hippocampus, Thalamus und Cerebellum (Xie et al., 2007). Auf zellulärer Ebene ist der  $A_1$  – Rezeptor vorwiegend präsynaptisch lokalisiert an glutamatergen Enden kortikalen Ursprungs (Xie et al., 2007) und auch an den nigrostriatalen dopaminergen Enden (Borycz et al., 2007), wodurch es die Dopamin und Glutamat Freisetzung moduliert. Postsynaptisch ist der  $A_1$  – Rezeptor vorwiegend auf Projektionsneurone des direkten und indirekten Weges exprimiert (Ferre et al., 1996) und moduliert die Affinität der Dopamin – Rezeptoren gegenüber seinem Neurotransmitter.

### **1.8.5 Adrenozeptoren**

Bei den Adrenozeptoren handelt es sich ebenfalls um metabotrope G – Protein gekoppelte Rezeptoren. Sie spielen vor allem eine Rolle im sympathischen Nervensystem, wie auch im ZNS und bei der Thrombozytenaggregation. Sie können in drei Familien unterteilt werden mit mehreren Subtypen:  $\alpha 1$  – Adrenozeptoren mit den Subtypen  $\alpha 1A$ ,  $\alpha 1B$  und  $\alpha 1D$ ,  $\alpha 2$  – Adrenozeptoren mit den Subtypen  $\alpha 2A$ ,  $\alpha 2B$  und  $\alpha 2C$  und  $\beta$  – Adrenozeptoren mit den Subtypen  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  und  $\beta 3$ . Gegenstand dieser Arbeit sind die  $\alpha 1$  – und  $\alpha 2$  – Rezeptoren.

### $\alpha 1$ – Rezeptor

Die  $\alpha 1$  – Rezeptoren gehören zur Gruppe der  $G_{q/11}$  – Protein gekoppelten Rezeptoren. Sie werden durch Bindung von endogenen Katecholamine wie Adrenalin und Noradrenalin stimuliert. Im ZNS kommen die Rezeptoren vor allem intrastriatal vor, auf präsynaptischen Afferenzen des Kortex und Thalamus, sowie auch auf cholinergen Interneuronen (Morrow et al., 1985; Rommelfanger et al., 2009). Aufgrund der präsynaptischen Lokalisation wird eine indirekte Beeinflussung der dopaminergen nigrostriatalen Neuronen vermutet. Über die präsynaptische Stimulation von  $\alpha 1$  – Rezeptor auf glutamatergen Terminalen im

Striatum wird die Glutamatfreisetzung erhöht, welches wiederum zu einer Erhöhung der striatalen Dopamin-Transmission führt (Rommelfanger et al., 2009).

## $\alpha 2$ – Rezeptor

Die  $\alpha 2$  – Rezeptoren gehören zur Gruppe der  $G_{i/o}$  – Protein gekoppelten Rezeptoren und werden ebenfalls durch die endogene Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin aktiviert. Im Striatum ist er sowohl prä – als auch post – synaptisch exprimiert. Präsynaptische Lokalisation werden beschrieben auf Afferenzen aus dem Kortex, Thalamus, Raphe – Kerne, Locus coeruleus und SNc. Postsynaptische Lokalisation werden beschrieben an GABAerge striatonigrale und striatopallidale Projektionsneuronen (Cash et al., 1986, Bauer et al., 2005, Hara et al., 2010). Des Weiteren wurde in der Ratte noch ein weiterer Subtyp ( $\alpha 2D$ ) beschrieben, welcher die Variante des humanen  $\alpha 2A$  – Rezeptor darstellt.

## 1.9 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es die Veränderungen von Rezeptordichten (RD) von zuvor ausgewählten Rezeptoren und Hirnbereichen im 6-OHDA Hemiparkinson-Modell der Ratte nach intrazerebraler BoNT-A Injektion weiter zu untersuchen und zu objektivieren.

Beim Morbus Parkinson führen die degenerativen Prozesse zu einem gestörten Gleichgewicht an Neurotransmittern und Abweichungen im Verteilungsmuster von Transmitter-Rezeptoren zu einer Beeinträchtigung der neuronalen Signaltransmission. Diese Veränderung führen zu den typischen motorischen Beeinträchtigungen, welche im klinischen Alltag beobachtet werden können. Durch unsere Arbeitsgruppe wurde bereits im Rahmen der Grundlagenforschung Veränderungen der Rezeptordichten in diversen Hirnarealen im 6-OHDA Hemiparkinson-Modell der Ratte untersucht. Ebenfalls wurden durch vorherige Experimente unserer Arbeitsgruppe bekannt, dass die lokale intrazerebrale Gabe von BoNT-A bei Ratten im 6-OHDA Hemiparkinson-Modell therapeutisch einen positiven Effekt hatte. Über einem Zeitraum von mindestens 3 Monaten zeigte sich eine deutliche Besserung der zuvor induzierten motorischen Störungen (Antipova et al., 2013; Wree et al., 2011). Die Beobachtung legen nahe, dass BoNT-A entscheidend in die bestehenden Veränderungen auf Rezeptorebene eingreift und reguliert, welche zuvor durch die 6-OHDA Läsion verursacht wurden.

Die vorliegende Dissertation untersucht Veränderung der RD von Dopamin, Serotonin, GABA, Alpha-1, Alpha-2, sowie Adenosin-A1 Rezeptoren in ausgewählten Hirnarealen von 3 Tiergruppen:

1. Unbehandelte Ratten (Kontrolltiere)
2. BoNT-A injizierte Hemiparkinson-Ratten
3. Vehikel injizierte Hemiparkinson-Ratten

Die Auswertung der hergestellten Autoradiogramme erfolgte mittels der Analysesoftware MCID. Die Injektionsexperimente, sowie die Erstellung der Autoradiogramme erfolgten im Institut für Anatomie der Universitätsmedizin Rostock und durch Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Neurowissenschaften am Forschungszentrum Jülich.

Die Arbeit soll prüfen, ob

1. die intrazerebrale BoNT-A Injektion nach 6-OHDA Läsionierung die RD der o.g. Rezeptoren moduliert.
2. der invasive Prozess einer intrazerebralen Applikation einer Vehikellösung (Sham-BoNT) nach 6-OHDA Läsion eine Auswirkung auf die RD der o.g. Rezeptoren hat.
3. Veränderungen der gemessenen RD in Abhängigkeit der Überlebenszeit von bis zu 9 Monaten erkennbar sind.

Abschließend werden die Ergebnisse diskutiert unter Berücksichtigung der bereits publizierten Literatur und auf Grundlage der erhobenen Daten der RD unserer Arbeitsgruppe nach isolierter 6-OHDA Läsion und isolierter BoNT-A Injektion. Zusätzlich soll geprüft werden, ob ein Korrelat gefunden werden kann in der gemessenen RD zu den positiven klinischen Beobachtungen der Motorik in den Hemiparkinson-Ratten nach BoNT-A Injektion.

## 2 Methode

### 2.1 Versuchstiere

Die verwendeten Versuchstiere in dieser Arbeit waren 3 Monate alte männliche Wistar Ratten mit einem Körpergewicht von ca. 250g (*Rattus norvegicus*), welche von der Firma Charles River WIGA GmbH (Sulzfeld, Deutschland) bezogen wurden. Die Tiere wurden zu dritt in Kunststoffkäfigen mit Metallgitteraufsätzen gehalten auf einer Grundfläche von 720 cm<sup>2</sup> im klimatisierten Tierstall bei 22° ± 2°. Nahrung (Ssniff, Soest, Deutschland) und Wasser wurden stets uneingeschränkt zur Verfügung gestellt. Mittels einer Zeitschaltuhr wurde die Beleuchtung so reguliert, um konsequent künstlich einen Tag – Nacht – Rhythmus zu gewährleisten (12 Std. - 12 Std.). Die Haltung, Zucht und Experimente erfolgten stets unter Einhaltung des Tierschutzes gemäß den gesetzlichen Tierschutzbestimmungen. Die Genehmigung der Tierversuche erfolgte durch die zuständige Behörde (Aktenzeichen LALLF M-V/TSD/7221.3-1.1-99/13).

Die Versuchstiere für diese Arbeit wurden in drei Gruppen aufgeteilt: **K** – unbehandelte Kontrollgruppe; **LB** – Tiere mit 6-OHDA und BoNT-A-Injektion; **LV** – Tiere mit 6-OHDA und Vehikel-Injektion (Sham-BoNT Gruppe). Die genau zeitliche Unterteilung kann der Tabelle 2.1 entnommen werden.

**Tabelle 2.1** Details zur Kontrollgruppe sowie zu den untersuchten Interventionsgruppen und deren Untergruppen.

**K**      Native Kontrollen n = 7

Tötung sechs Wochen nach Erreichen eines Körpergewichtes von 300 g  
(n = 7)

**LB**      6-OHDA-Läsion rechts + intrastriatale BoNT-A-Applikation rechts sechs Wochen nach Läsion (n = 34)

LB6W1M      Tötung einen Monat nach BoNT-A-Applikation (n = 9)

LB6W3M      Tötung drei Monate nach BoNT-A-Applikation (n = 9)

LB6W6M      Tötung sechs Monate nach BoNT-A-Applikation (n = 8)

LB6W9M Tötung neun Monate nach BoNT-A-Applikation (n = 8)

**LV** 6-OHDA-Läsion rechts + intrastriatale Vehikel-Applikation rechts sechs Wochen nach Läsion (n = 12)

LV6W1M Tötung einen Monat nach Vehikel-Applikation (n = 6)

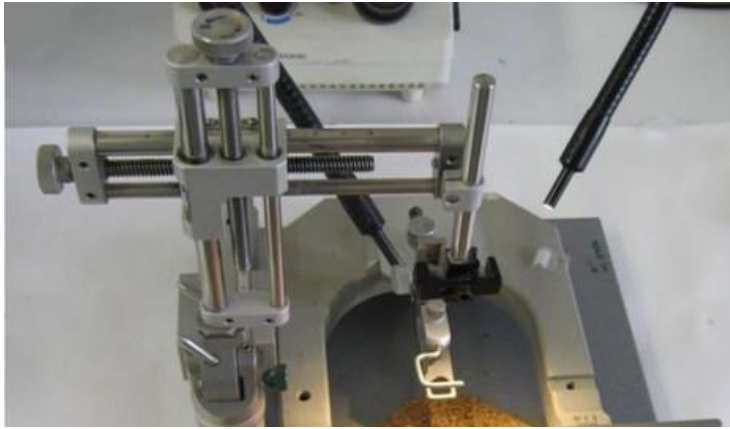
LV6W3M Tötung drei Monate nach Vehikel-Applikation (n = 6)

## **2.2. Narkose der Tiere**

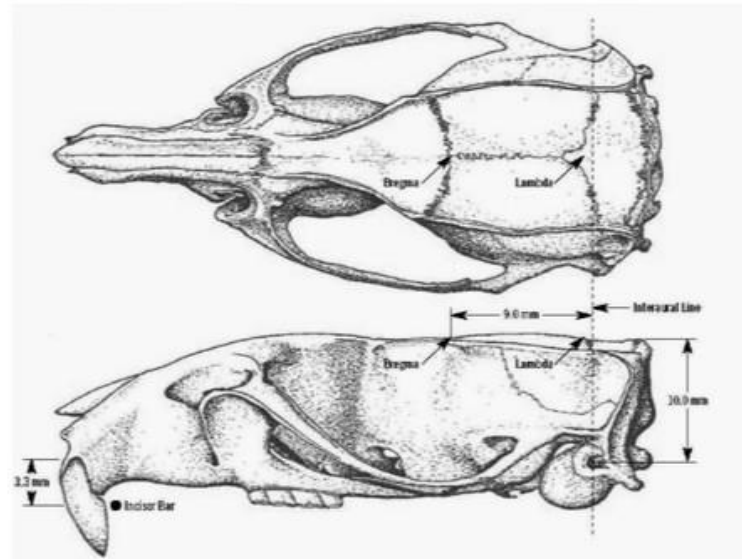
Die Versuchstiere wurden vor jeglicher Intervention wie der 6-OHDA Läsion, BoNT- oder Vehikel-Injektion mit einer Mischung aus Ketamin (50 mg/kg KG) und Xylazin (4 mg/kg KG) narkotisiert durch intraperitoneale Injektion. Das Ketamin wurde von Bela-Pharm (Vechta, Deutschland) und Xylazin als ‚Rompun‘ von Bayer bezogen.

## **2.3 6-OHDA-Injektion**

Die intrazerebralen Injektionen mit 6-OHDA zur Läsionierung wurden durch Herrn Prof. A. Wree am Institut für Anatomie an der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt. Die Zielregionen und Kerngebiete wurden zuvor unter Einbezug von histologischen Färbungen und mit exakter Benennung aus dem Atlas ‚The Rat Brain‘ von Paxinos und Watson (2007) vordefiniert. Nach erfolgreicher Narkotisierung wurde der Kopf der Ratte in der horizontalen ‚Flat Skull‘ Stellung zur gezielten Injektion an einem stereotaktischen Apparat (David Kopf, Tujunga, CA, USA, siehe Abb. 2.1) fixiert. Hierbei wurden zwei Stifte (‚Ear-bars‘) in die Gehörgänge eingeführt und eine Oberkieferklemme (Tooth-bar) hinter die zwei Inzisivi des Oberkiefers eingehakt.



**Abb. 2.1** Apparatur für stereotaktische Operationen an Ratten (Abbildung aus Hawlischka, 2012).

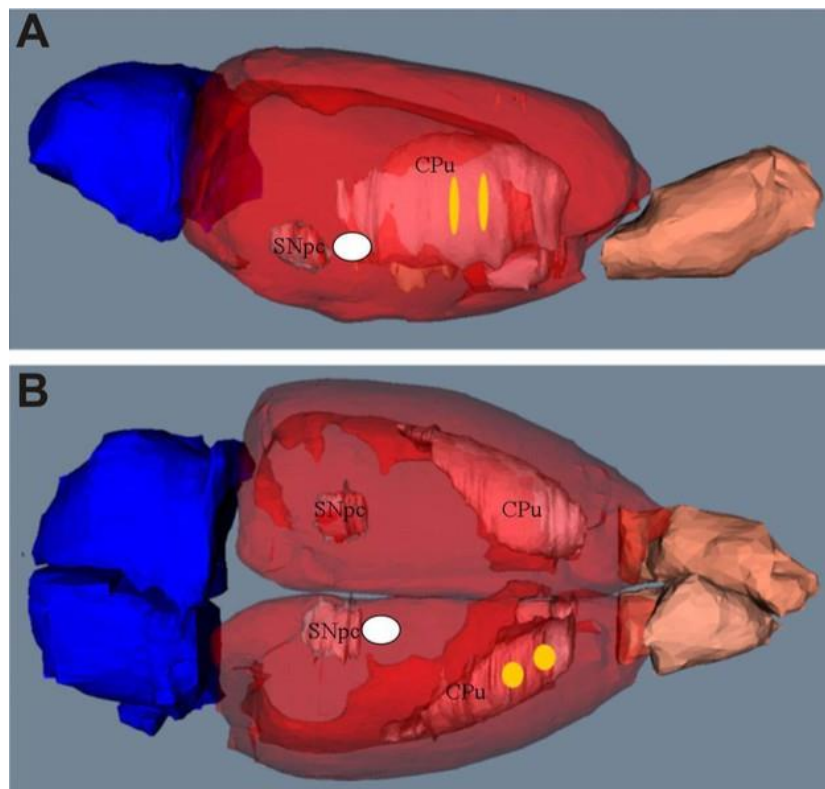


**Abb. 2.2** Dorsale und laterale Ansicht eines Rattenschädels.

Die Kreuzung zwischen den Suturae sagittalis und coronalis wird als Bregma bezeichnet und stellt den Nullpunkt der stereotaktischen Interventionen dar (Abbildung aus „The Rat Brain“ von Paxinos und Watson, 2007).

Unter aseptischen Bedingungen erfolgte eine ca. 2 cm lange Inzision in sagittaler Ebene an der Kopfschwarte. Anschließend wurde das darunter liegende Periost von der Kalotte abgeschoben und das Bregma (Schnittstelle von Kreuznaht und Pfeilnaht, Paxinos und Watson, 2007, siehe Abb. 2.2) als Referenzpunkt bzw. Nullpunkt identifiziert. Anschließend erfolgte eine Kraniotomie mittels eines feinen Bohrers (Stainless Steel Burrs, F.S.T) an einer definierten Stelle unter Berücksichtigung der Zielkoordinaten ausgehend von Bregma anterior-posterior = -2.3 mm, lateral = -1.5 mm, ventral = -9.0 mm. Anschließend erfolgte die Inzision der Dura mater mit einem feinen Skalpell. Nun erfolgte die unilaterale Läsionierung. Eine 5 µl Hamiltonspritze wurde bis zur Zielcoordinate am rechten medialen Vorderhirnbündel vorgeschoben. Über 4 Minuten hinweg wurden 4 µl einer 0.1 molaren Zitratpufferlösung mit insgesamt 24 µg 6-OHDA injiziert. Die Kanüle wurde für weitere 5 Minuten am Ort belassen.

Von einer vorherigen Desipramin – Injektion zum Schutz der adrenergen Neurone wurde abgesehen, da dies mit einer erhöhten Mortalität der Versuchstiere verbunden war. Vier Wochen nach 6-OHDA Injektion wurde der Läsionserfolg mit Hilfe des Apomorphinrotationstests geprüft. Dabei musste ein Tier mindestens vier Rotationen pro Minuten entgegen der läsionierten Seite aufweisen, um als erfolgreich läsioniert gewertet zu werden.



**Abb. 2.3** Injektionsstellen von BoNT-A in das Striatum sowie von 6-OHDA in das MVB der Ratte. A.) laterale Ansicht eines transparenten Rattenhirnmodells. B.) dorsale Ansicht. Legende: weiße Ellipse = Injektionsstelle für 6-OHDA im MVB, gelbe Kreise / Ellipse = Injektionsstellen für BoNT-A im Striatum, SNpc = Substantia nigra pars compacta, CPu = Caudatus-Putamen-Komplex (Aus: Wree et al., 2011).

## 2.4 BoNT-A-Injektion

Das in dieser Arbeit verwendete BoNT-A wurde in Pulverform von der Firma List Biological Laboratories, INC bezogen. Nach erfolgreicher rechtsseitiger 6-OHDA Läsion erfolgte die BoNT-A Injektion in das rechte Striatum (6 Wochen nach 6-OHDA Injektion), in der Versuchstierreihe der Gruppe **LB**. Für den Eingriff wurden die Versuchstiere, wie oben beschrieben, narkotisiert und fixiert. Insgesamt wurden 1 ng BoNT-A gleichmäßig verteilt auf 2 Injektionsstellen in das rechte CPu injiziert (siehe Abb. 2.3). Das BoNT-A wurde in 1 µl Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS) mit 0.1 % bovinen Serumalbumin (BSA)

gelöst. Das bovine Serumalbumin hatte dabei die Funktion, die BoNT-A Moleküle vor einem frühzeitigen Verfall zu schützen. Die Injektion erfolgte über 4 Minuten mit einer Laufrate von 0.25 µl / min. Die Injektionsnadel wurde für jeweils 4 Minuten an der Injektionsstelle belassen, um eine ausreichende Diffusion zu gewährleisten und einen Reflux zu vermeiden. Die Koordinaten vom Referenzpunkt Bregma ausgehend waren: anterior – posterior = + 1.3 mm / - 0.4 mm, lateral = -2.6 mm / - 3.6 mm, ventral = -5.5 mm / -5.5 mm.

Versuchstiere aus der Gruppe **LV** erhielten an beiden Injektionsstellen je 0.5 µl der Vehikellösung (PBS + 0.1 % BSA) nach selbigem Verfahren.

## **2.5 Tötung der Tiere und Aufarbeitung**

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte durch eine Überdosis an Ketamin und Xylazin, welches intraperitoneal appliziert wurde. Anschließend erfolgte die Entnahme des Rattenhirns, welche umgehend in -50°C Isopentan schockgefroren und anschließend bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C gelagert wurden.

Die Aufarbeitung der Hirnschnitte erfolgte mittels einem Kryo-Staten (Leica Instrumente GmbH, Wetzlar, Deutschland). Die Gehirne wurden an der Medulla oblongata auf einem speziellen Aluminiumstempel mittels ‚Tissue Freezing Medium‘ (Jung, Deutschland) aufgerichtet und anschließend auf den Schneidemechanismus des Kryo-Staten eingespannt. Bis zum eigentlichen ersten Anschnitt wurde die Trimmfunktion genutzt.

Pro Rattenhirn wurden nach einem festgelegten Schneideprotokoll in 7 Ebenen insgesamt 240 Schnitte angefertigt. Innerhalb der 7 Schnittebenen wurden je 30 Hirnschnitte mit einer Dicke von 20 µm angefertigt. Hiervon dienten 19 Schnitte der Inkubation mit den unterschiedlichen Liganden zur Rezeptordichtemessung, 2 Schnitte zur histologischen Färbung und die restlichen 9 Schnitte als Reserve. Rostral der ersten Schnittebene wurden weitere 30 Schnitte entnommen zur Herstellung eines unspezifischen Bindungsbilds. Die Schnittebenen wurden vom Referenzpunkt Bregma definiert als Schnitt 1: +1.56 mm, Schnitt 2: -0.36 mm, Schnitt 3: -0.84 mm, Schnitt 4: -2.16 mm, Schnitt 5: -2.2 mm, Schnitt 6: -3.60 mm und Schnitt 7: -5.20 mm (Paxinos and Watson 2007). Die ausgewählten

Schnittebenen beinhalteten das CPU und andere für die Untersuchung interessant erscheinende Kerngebiete und Areale.

Die angefertigten Schnittpräparate wurden präzise, auf einen mit ausschließlich Gelatine beschichteten Objektträger aufgetragen, die zuvor bei -20°C gelagert wurden. Anschließend erfolgte die Trocknung auf dem Objektträger Strecktisch bei +35°C für ca. 25 Minuten. Bis zur weiteren Verarbeitung zur Herstellung der Rezeptorautoradiogramme wurden die Präparate vakuumversiegelt bei -80°C gelagert. Nach Beendigung des Schneidens wurde das restliche Gehirn inklusive Gefrierkleber vom Schneidemechanismus des Kryostats entfernt.

## **2.6 Rezeptorautoradiographie**

Zur Quantifizierung der unterschiedlichen Rezeptorendichte dient die quantitative Rezeptorautoradiographie, in welcher die Rezeptormoleküle in den zuvor hergestellten Hirnschnitten mit spezifischen radioaktiven Liganden (Radioligand) markiert werden. Die Durchführung der autoradiographischen Markierung der Hirnschnitte erfolgte im Forschungszentrum Jülich (Institut für Neurowissenschaften und Medizin) unter der Leitung von Prof. Dr. med. K. Zilles, strikt nach standardisierten und bereits publizierten Protokollen (Zilles und Palomero – Gallagher, 2002; Zilles, 2004). Der Prozess erfolgt im Wesentlichen in drei Schritten: 1. Vorinkubation, 2. Hauptinkubation, 3. Waschvorgang.

Zur Vorinkubation wurden die Hirnschnitte aufgetaut, rehydriert und einem Vorinkubationspuffer ausgesetzt. Die Pufferlösung diente zur Lösung der im Gewebe befindlicher endogenen Substanzen, wie zum Beispiel Neurotransmitter oder Konglomerate, um die Rezeptorbindungsstellen für den in der Hauptinkubation verwendeten radioaktiv markierten Liganden freizustellen. Die Zusammensetzung und pH – Wert der Pufferlösung variierte in Abhängigkeit von den biochemischen Eigenschaften des untersuchten Rezeptors und bindende Liganden.

Während der Hauptinkubation wurden die Hirnschnitte je nach untersuchten Rezeptoren in individuelle Pufferlösungen mit dem radioaktiv markierenden Liganden exponiert. Zur radioaktiven Markierung wurde hierfür das radioaktive Isotop Tritium ( $^3\text{H}$ ) verwendet. Im

Vergleich zu anderen verwendbaren radioaktiven Isotopen wie  $^{125}\text{I}$  oder  $^{14}\text{C}$ , besitzt Tritium eine bessere lokale Auflösung für das hier genutzte in-vitro Verfahren. Während der Hauptinkubation bindet der Radioligand zusätzlich zu den spezifischen Bindungsstellen auch an weitere unspezifische Bindungsstellen. Die Bindung des Radioliganden an den spezifischen und unspezifischen Bindungsstellen wird als Gesamtbindung bezeichnet. Zur Erfassung der unspezifischen Bindung wurden zusätzliche Hirnschnitte in einem zweiten Experiment mit einem hochspezifisch konzentrierten nichtmarkierten kompetitiven Liganden zusätzlich vorinkubiert. Durch diesen Kompetitor werden die spezifischen Bindungsstellen blockiert, wodurch der Radioligand nur noch an den unspezifischen Bindungsstellen binden kann. Demzufolge wird im Rezeptorautoradiogramm nur die emittierte Strahlung des Radioliganden an den unspezifischen Bindungsstellen erfasst. Die erfasste unspezifische Bindung wird von der Gesamtbindung abgezogen im Datensatz, sodass die spezifische Bindung durch die Radioliganden ermittelt werden.

Im Anschluss erfolgt als letzter Schritt der Waschvorgang in mehreren Schritten, in welchem überschüssige nicht gebundene Radioliganden und Puffersalze ausgespült wurden, da diese zu Artefakten auf der Filmemulsion führen. Hierfür wurden die Hirnschnitte in reiner Pufferlösung gesäubert und mit destilliertem Wasser ausgespült. Abschließend erfolgte die Trocknung aller autoradiographisch markierten Schnitte unter kaltem Luftstrom. Die Tabelle 2.2 zeigt einen Überblick über die verwendeten Liganden, Pufferlösungen, Inkubations – und Waschvorgänge.

**Tabelle 2.2** Zusammenfassung der Inkubationsbedingungen für die acht  $[^3\text{H}]$  Liganden; für alle erfolgte zuletzt ein Trocknungsvorgang unter einem kalten Föhn bzw. unter Ventilator im Abzug bei Raumtemperatur.

| Rezeptor      | $[^3\text{H}]$ Ligand<br>(Konzentration) | Inkubationslösung                                                          | Vorinku-<br>bation | Inkubation       | Waschvorgang                                                                 |
|---------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GABA-A</b> | Muscimol<br>[7,7 nM]                     | 50 mM Tris-Citrat<br>(pH: 7,0)<br><br>Kompetitor:<br>10 $\mu\text{M}$ GABA | 3x 5min<br>bei 4°C | 40min bei<br>4°C | 3 x 3sec bei 4°C<br>in Puffer +<br>1 x bei 4°C in<br>dest. Wasser<br>tauchen |

|                                                 |                         |                                                                                                                            |                    |                     |                                                                               |
|-------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GABA-A<br/>Benzodiazepin<br/>-assoziiert</b> | Flumazenil<br>[1,0 nM]  | 170 mM Tris- HCl<br>(pH: 7,4)<br>Kompetitor:<br>2 µM Clonazepam                                                            | 15min<br>bei 4°C   | 60min<br>bei 4°C    | 2 x 1min<br>bei 4°C in Puffer +<br>1x bei 4°C in dest.<br>Wasser tauchen      |
| <b>GABA-B</b>                                   | CGP-54626<br>[2,0 nM]   | 50 mM Tris-HCl<br>(pH: 7,2) + 2,5mM<br>CaCl <sub>2</sub> Kompetitor:<br>100 µM<br>CGP- 55845                               | 3x 5min<br>bei 4°C | 60min bei<br>4°C    | 3 x 2 sec bei 4°C<br>in Puffer +<br>1 x bei 4°C in<br>dest. Wasser<br>tauchen |
| <b>Adenosin-A1</b>                              | DPCPX<br>[1,0 nM]       | 170 mM Tris-HCl<br>(pH 7,4) + 2 U/l<br>Adenosin<br>Deaminase<br>Kompetitor:<br>R-[-]-PIA 100 µM                            | 15 min<br>bei 4°C  | 120 min<br>bei 22°C | 2 x 5 min in Puffer<br>bei 4°C + 1x bei<br>4°C in dest.<br>Wasser tauchen     |
| <b>Adreno-α1</b>                                | Prazosin<br>[0,09 nM]   | 50 mM Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -<br>Phosphat-Puffer<br>(pH 7,4)<br>Kompetitor:<br>Phentol-<br>aminmesylat:<br>10 µM | 15 min<br>bei 4°C  | 60 min<br>bei 22°C  | 2 x 5 min in Puffer<br>bei 4°C + 1x bei<br>4°C in dest.<br>Wasser tauchen     |
| <b>Adreno-α2</b>                                | UK-14,304<br>[0,64 nM]  | 50 mM Tris-HCl (pH<br>7,7) + 100 µM<br>MnCl <sub>2</sub> Kompetitor:<br>Phentol-<br>aminmesylat:<br>10 µM                  | 15 min<br>bei 22°C | 90 min bei<br>22°C  | 1 x 5 min in Puffer<br>bei 4°C + 1x bei<br>4°C in dest.<br>Wasser tauchen     |
| <b>Serotonin<br/>5HT2A</b>                      | Ketanserin<br>[1,14 nM] | 170 mM Tris-HCl<br>(pH: 7,7)<br>Kompetitor:<br>10 µM Mianserin                                                             | 30 min<br>bei 22°C | 20 min bei<br>22°C  | 2 x 10 min in<br>Puffer bei 4°C + 3<br>bei 4°C in dest.<br>Wasser tauchen     |

|                   |                      |                                                                                                                                                                      |                    |                    |                                                                          |
|-------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>Dopamin-D1</b> | SCH23390<br>[1,67nM] | 50 mM Tris-HCl<br>(pH: 7,4)<br>+ 120 mM NaCl<br>+ 5mM KCl + 2mM<br>CaCl <sub>2</sub><br>+ 1mM MgCl <sub>2</sub><br>+ 1 µM Mianserin<br>Kompetitor:<br>1 µM SKF 83566 | 20 min<br>bei 22°C | 90 min bei<br>22°C | 2 x 4 min in Puffer<br>bei 4°C +1x bei<br>4°C in dest.<br>Wasser tauchen |
|-------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------|

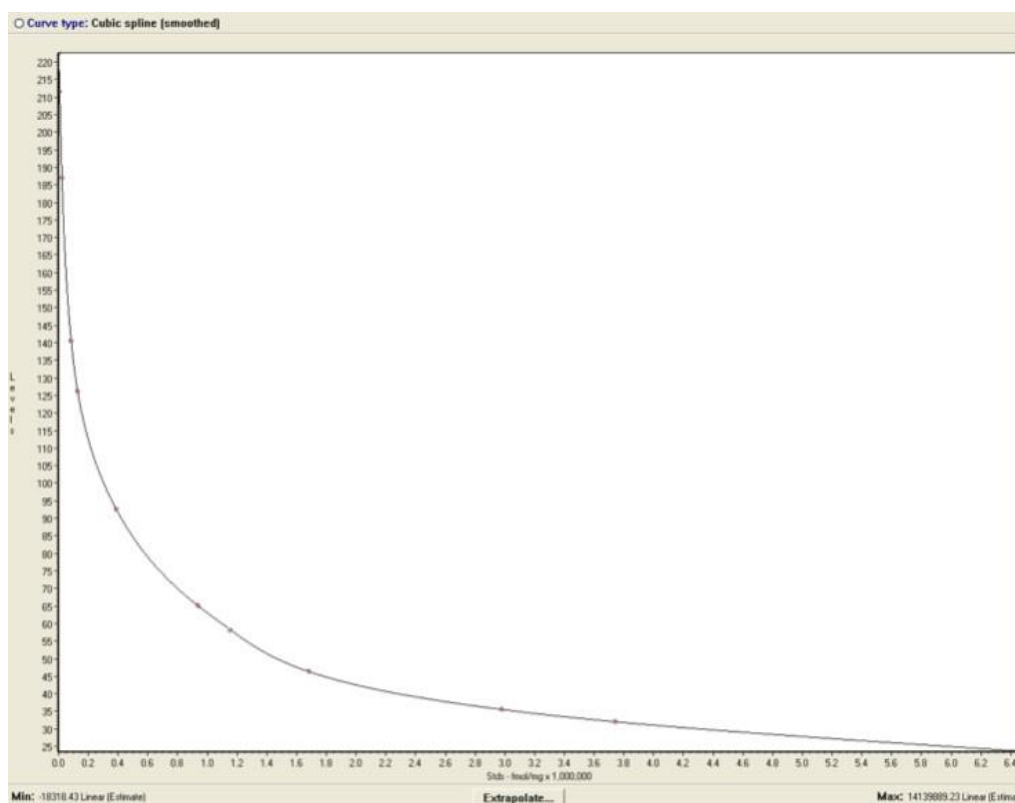
Die fertigen radioaktiv markierten Hirnschnitte wurden gemeinsam mit sogenannten ‚microscales‘ Plastik – <sup>3</sup>H – Standards (Firma GE Healthcare) in Röntgenkassetten gegenüber einem für radioaktiven β-Zerfallssensitiven Röntgenfilm (Kodak, Perkin Elmer LA GmbH, Deutschland) exponiert, im Dunkeln bei 4°C und je nach untersuchten Radioliganden für bis zu 15 Wochen. Anschließend wurden die Filme bei Raumtemperatur mit dem Kodak D19 System entwickelt, für 10 Minuten im Kodak Polymax System fixiert und abschließend 30 Minuten unter fließendem Wasser gewaschen sowie Luft getrocknet. Die auf den belichteten Filmen abgebildete Hirnschnitte werden als Rezeptorautoradiogramme bezeichnet. Durch Vergleiche mit histologisch gefärbten Parallelschnitten mittels Nissl- und Markscheidenfärbung konnte die genaue Identifizierung von Hirnareale und Kerngebiete erfolgen.

Die Digitalisierung der Rezeptorautoradiogramme erfolgte durch das Bildanalysesystem Kontroll KS400 mittels einer schwarz-weiß Kamera (AxionCam Hrm, Carl Zeiss Mikrolmaging GmbH, Deutschland). Die Filme wurden auf einem Messpult platziert mit einer homogenen Ausleuchtungsquelle (Flachlicht FI-5x8W, Georg Ronge Lichtquellen). Zur Korrektur von Fehlern durch Restinhomogenität der Beleuchtung wurden Aufnahmen von unbelichteten Stellen im Filmhintergrund als Referenzbild verwendet. Die digitalisierten Autoradiogramme wurden mit einer Auflösung von 4164 x 3120 Pixel als 8-Bit Grauwertbilder gespeichert. Je dunkler eine Stelle im Autoradiogramm sich darstellte, umso höher ist die Rezeptordichte in dieser Hirnregion. Die Schwärzungstiefe entspricht einer bestimmten Radioaktivität, welches als Maß für die Anzahl der spezifisch gebundenen

Radioliganden dient und wiederum der Rezeptordichte entspricht. Zusammenfassend wurden pro Gehirn für jeden zu untersuchenden Rezeptor je 8 Bilder hergestellt, 7 zur Messung der Gesamtbindung und 1 zur Messung der unspezifischen Bindung.

## 2.7 Auswertung MCID

Mit dem Programm MCID Analysis v7.0 (Interfocus imaging Ltd., Linton, UK – <http://www.mcid.co.uk/>) wurde die densitometrische Bestimmung der Rezeptordichte durchgeführt auf einem Computer des Betriebssystem Windows XP. Mit dem Programm MCID ist es möglich, den durchschnittlichen Grauwert eines Bildausschnittes einer Ligandenkonzentration zuzuordnen, durch standardisierte Kalibrierungskurven. Die Kalibrierungskurven wurden auf Grundlage von in Jülich konzipierten Kalibrierungstabellen erstellt. Durch vorherige Messungen von microscaler der Firma GE Healthcare und deren Werteübertragung wurde eine interpolierte Kalibrierungskurve mittels kubischer Spline – Funktion berechnet (Abb. 2.4).



**Abb. 2.4** Beispiel Kalibrierungskurve für  $^3\text{H}$ -CGP54626.

Jedes Autoradiographiebild wurde nun mit einer Kalibrierungskurve verknüpft und neu als MCID – Bilddatei gespeichert. Es wurde jedem mittleren Grauwert im Wertebereich von 0 bis 255 Einheiten eine exakte Ligandenkonzentration zugeordnet. Als Einheit für die

Ligandenkonzentration wurde fmol / mg Protein gewählt. Große Grauwerte waren Ausdruck einer niedrigen Ligandenkonzentration und haben sich in Bildern als hellgraue (ca. 230) bis weiße (ca. 255) Pixel dargestellt. Niedrige Grauwerte wie zum Beispiel dunkelgrau (ca. 50) bis schwarz (ca. 0) entsprachen einer besonders hohen Ligandenkonzentration. Bildbereiche dessen Ligandenkonzentration geringer war als der Betrag des hellsten Grauwertes (über 255), wurde in der Kalibrierung die Ligandenkonzentration 0 fmol / mg zugeordnet.

Vor Messbeginn wurde der Wert für die unspezifische Ligandenbindung bestimmt. An dieser Stelle wurde anders als im Protokoll aus Jülich (Bozkurt, 2004) verfahren. Es bestand eine geringe Korrelation der Hirnareale zwischen den hergestellten Hirnschnitten für die unspezifische Bindung, zur Ermittlung der Konzentration spezifischer Rezeptorbindungsstellen in Jülich, und den Hirnschnitten für die Messung der Gesamtbindung. Im Gegenzug wurde im ersten Bild einer Reihe die Ligandenkonzentration des Hintergrundes bestimmt, kennzeichnend für die Bindung unspezifischer Liganden. Hierfür wurde der Hintergrund unter Aussparung des Gehirns großzügig umfahren. Der ermittelte mittlere Hintergrund Grauwert wurde durch MCID in einen Ligandenbindungswert umgerechnet. Dieser ermittelte Wert wurde für die gesamte Schnittserie von 7 Bildern als konstanter unspezifischer Bindungswert gespeichert und jeglicher Messung unterschiedlicher Hirnregionen direkt subtrahiert. Somit wurde die hintergrundkorrigierte Ligandenkonzentration gemessen. Für den Fall, dass die ermittelte Ligandenkonzentration des Hintergrundes um mehr als 4 Einheiten von dem als 0 fmol / mg definierten Grauwert abwich, wurde die Kalibrierungskurve für die aktuelle Bildserie angepasst, in dem der gemessene Hintergrundwert der Ligandenkonzentration von 0 fmol / mg zugeordnet wurde.

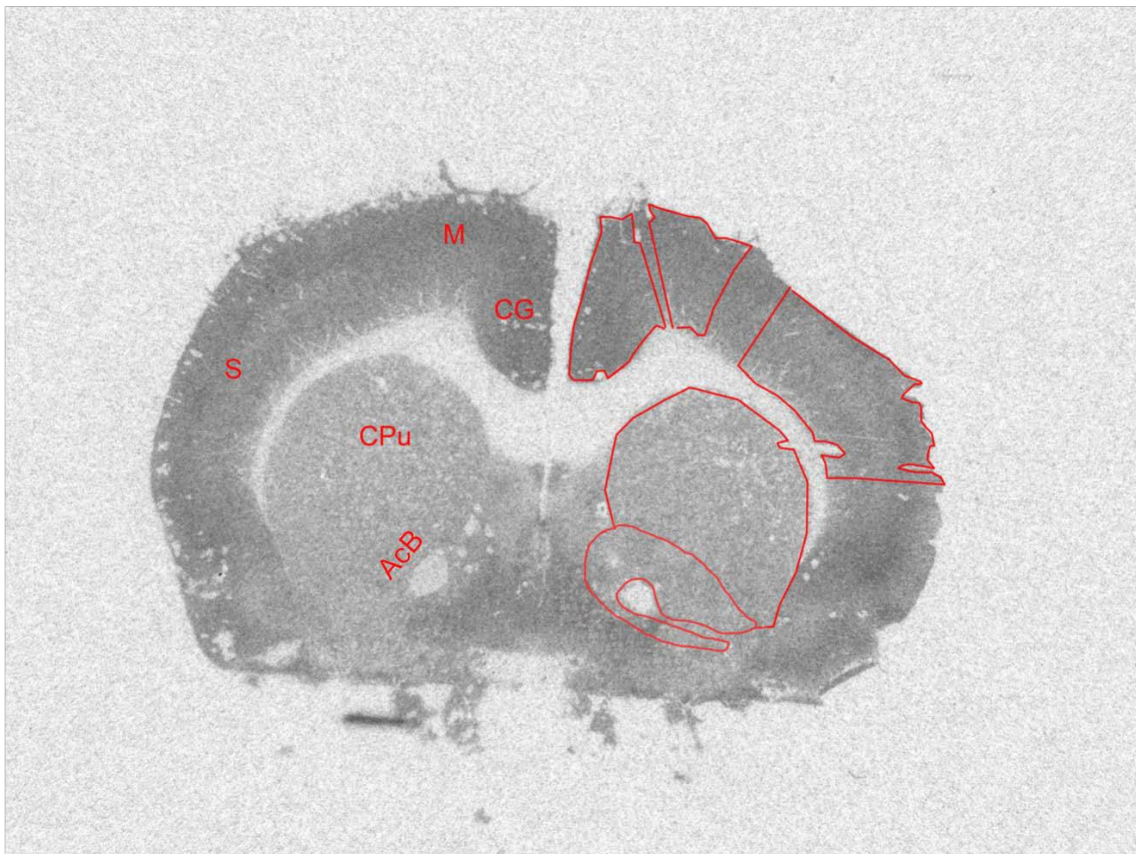
Anschließend erfolgten links- und rechtshemisphärisch die Messung der Ligandenkonzentration zahlreicher Hirnstrukturen in den autoradiographischen Bildern. Diese Kerngebiete und Regionen wurden zuvor unter Einbezug der histologischen Färbung und mit exakter Benennung aus dem Atlas ‚The Rat Brain‘ von Paxinos und Watson (2007) vordefiniert. Hierfür wurde mit Hilfe der Maus eine Konturlinie gelegt um die ‚Region of Interest‘, in welcher MCID die Grauwerte ermittelte. Zusätzlich wurden auch die Fläche und Umfang der gemessenen Region bestimmt. In Abhängigkeit von dem zu messenden

Liganden wurden unterschiedliche Hirnregionen untersucht und sind in Tbl. 2.3 zusammengefasst.

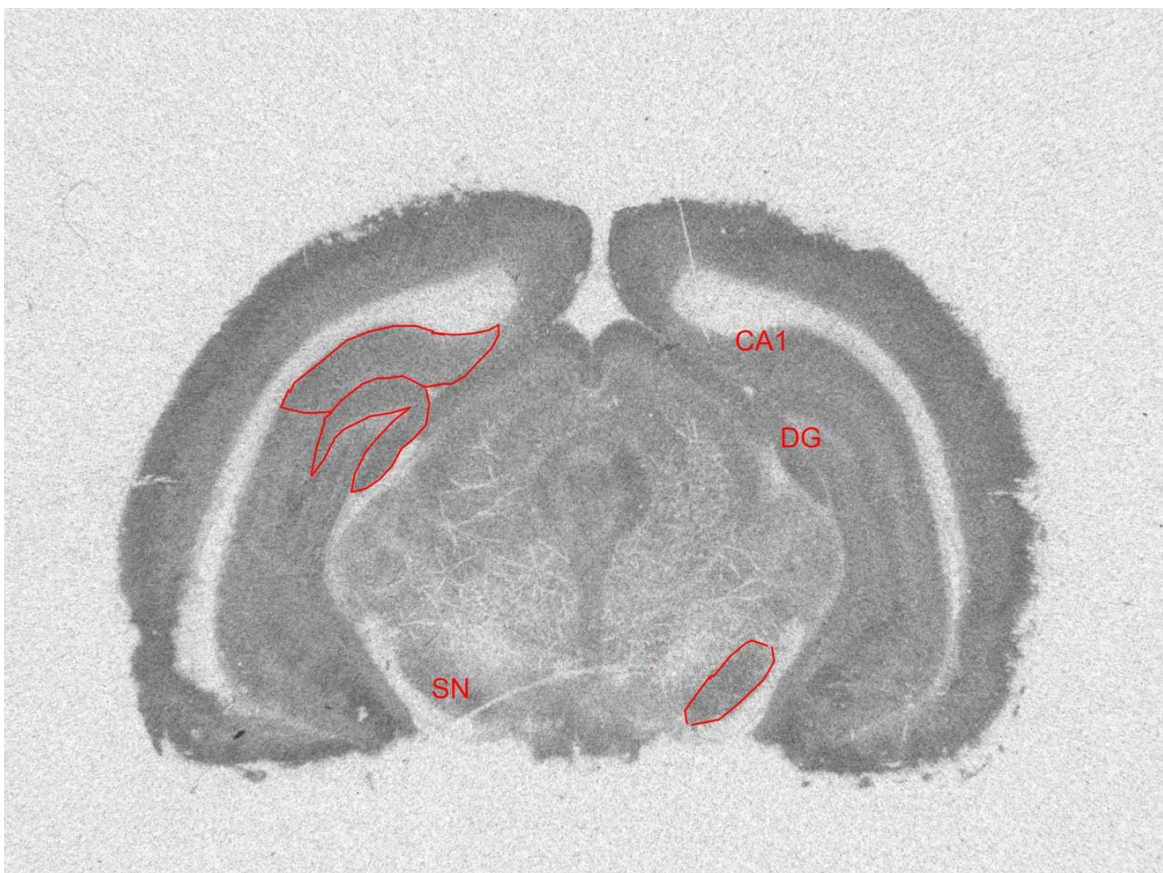
**Tabelle 2.3** Übersicht der Rezeptoren mit den jeweils gemessenen Hirnregionen.

| <b>Rezeptor</b>                       | <b>CG</b> | <b>M</b> | <b>S</b> | <b>CPu</b> | <b>AcB</b> | <b>GP</b> | <b>CA1</b> | <b>DG</b> | <b>SN</b> |
|---------------------------------------|-----------|----------|----------|------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| <b>GABA-A</b>                         | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>GABA-A<br/>Benzo-<br/>diazepin</b> | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>GABA-B</b>                         | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>Adenosin-<br/>A1</b>               | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>Adreno-<math>\alpha</math>1</b>    | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>Adreno-<math>\alpha</math>2</b>    | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>Serotonin<br/>5HT2A</b>            | X         | X        | X        | X          | X          | X         | X          | X         | X         |
| <b>Dopamin-<br/>D1</b>                |           |          |          | X          | X          | X         |            |           | X         |

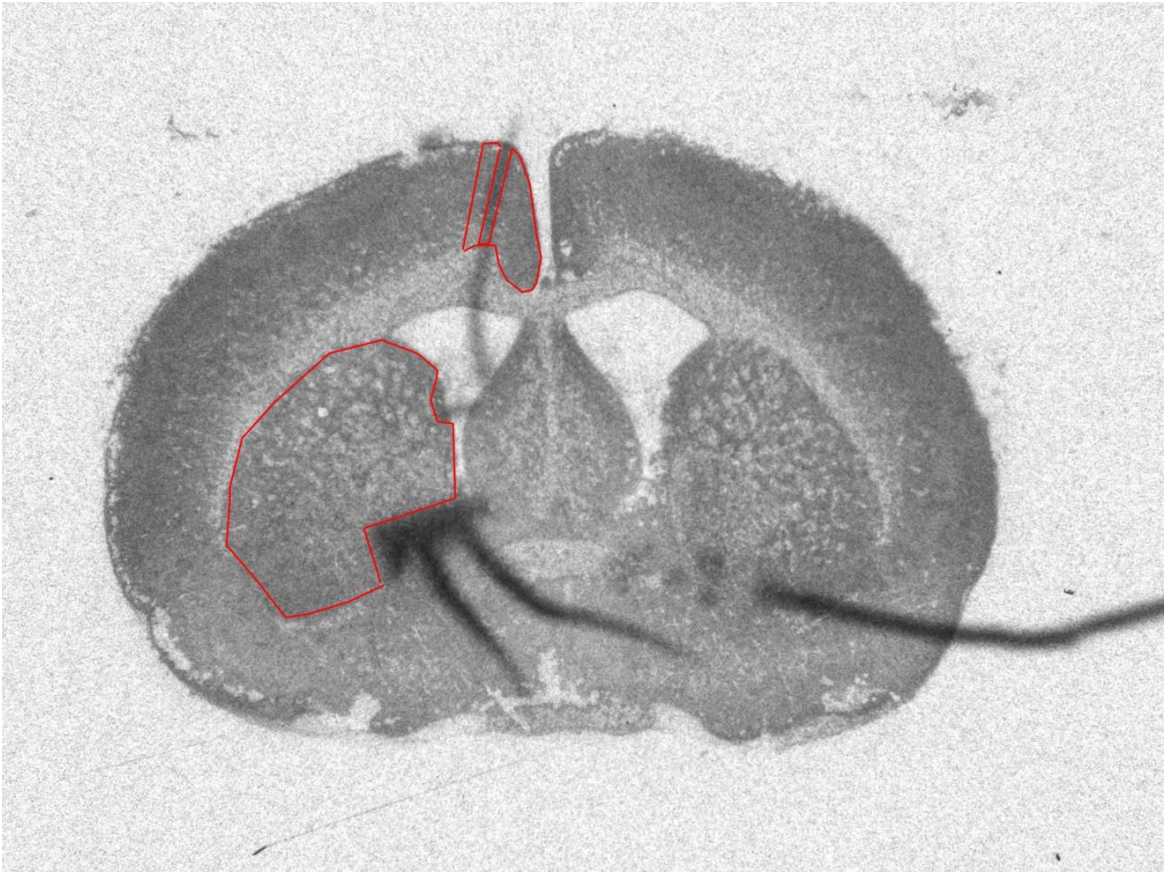
Bedingt durch Artefakte und / oder durch herstellungsbedingte Qualitätsverluste wie Einrisse oder Faltenbildungen konnten einige Regionen nur partiell oder gar nicht gemessen werden. So wurden zum Beispiel einige Artefakte innerhalb der zu messenden Region unter Abschätzung geeigneter Konturlinien ausgespart (siehe Abb. 2.5).



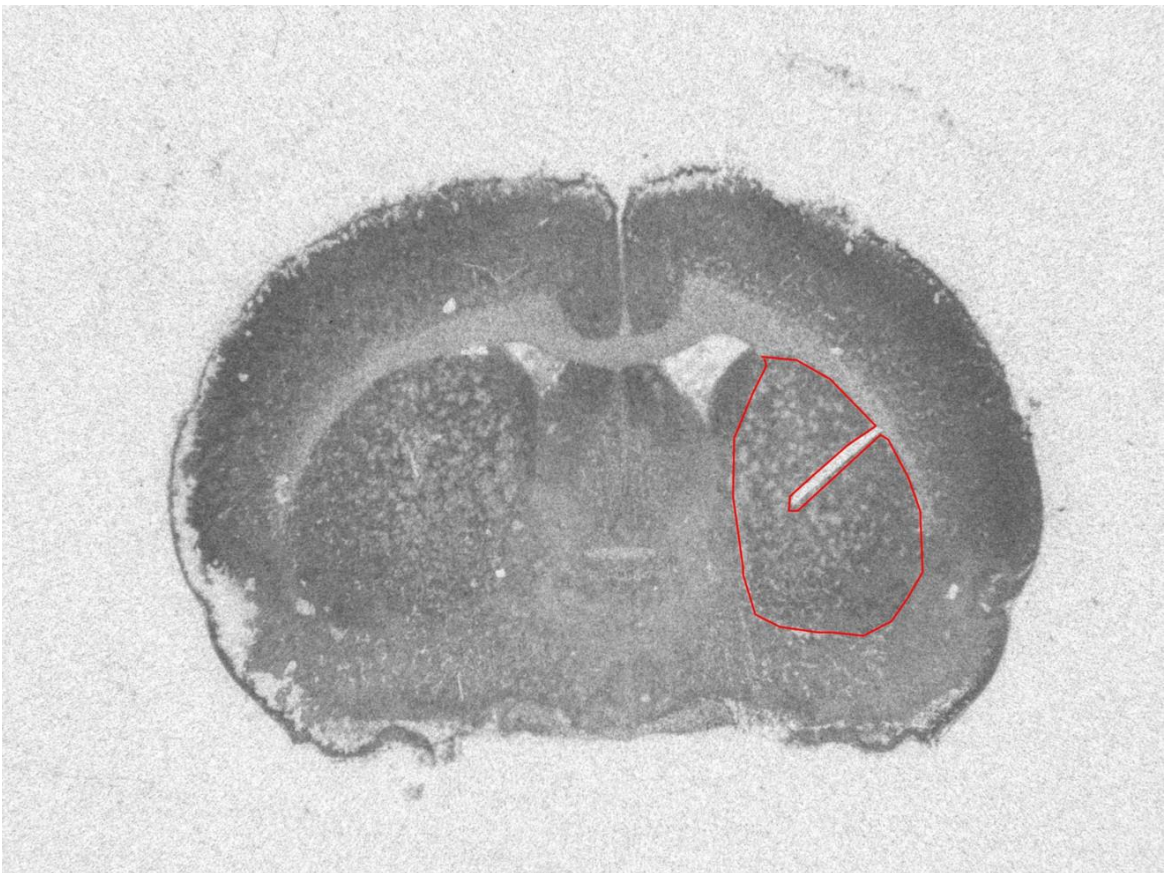
**Bild A**



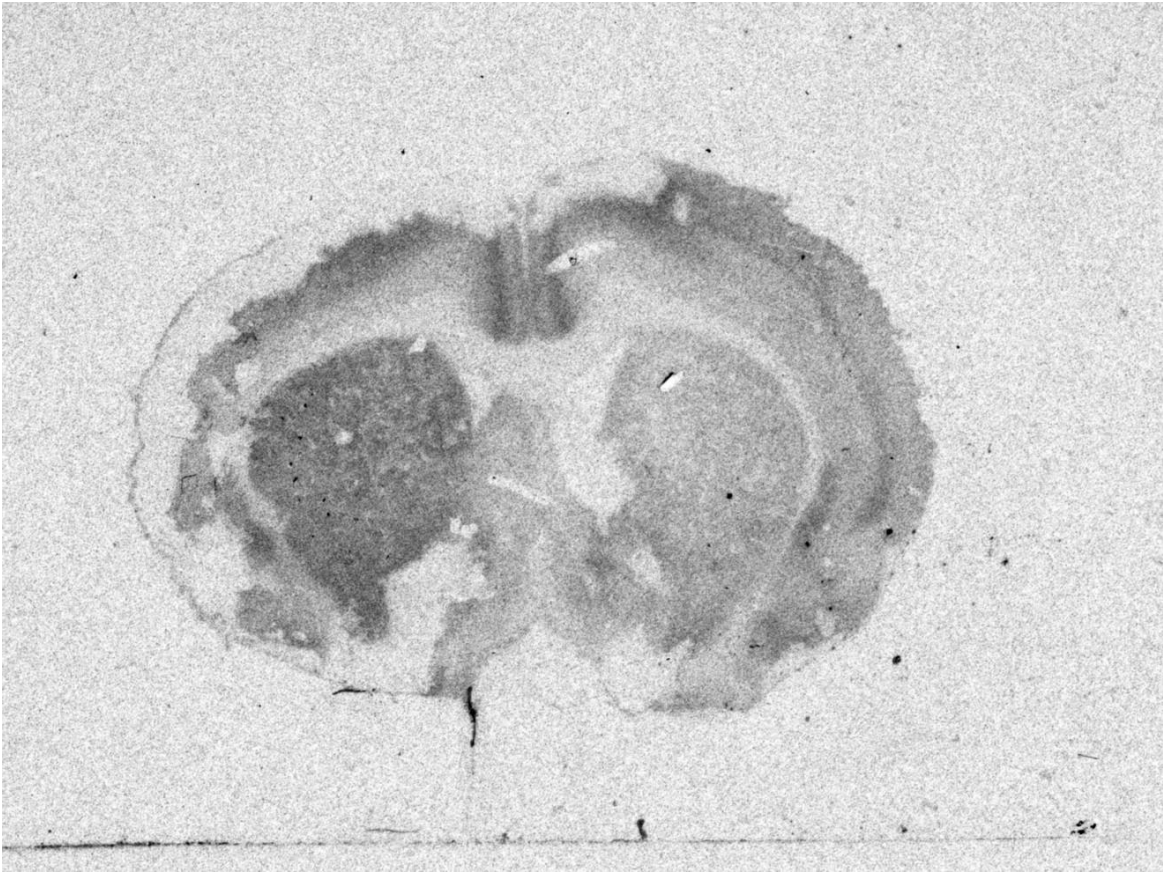
**Bild B**



**Bild C**



**Bild D**



**Bild E**

**Abb. 2.5** Bild A: Gemessene Hirnregionen Schnitt 1, Bild B: Gemessene Hirnregionen Schnitt 7, Bild C: Beispiel Aussparung durch Artefakt, Bild D: Beispiel Aussparung durch Riss, Bild E: Nicht verwertbares Bild aufgrund von Einklappungen und größere Risse.

Die gemessene Ligandenkonzentration wurde durch das MCID Programm, nach Abzug des zuvor definierten unspezifischen Bindungswertes, automatisiert in eine Ergebnistabelle übertragen. Hierbei ermittelte MCID teilweise vereinzelt Pixelareale mit einem Helligkeitswert größer 255 Einheiten bzw. Ligandenkonzentration 0 fmol / mg. Diese Werte wurden durch MCID rot markiert. Da der mittlere Grauwert jedoch aus allen Pixeln innerhalb des Areals bestimmt wurden, konnten diese einzelnen helleren Pixel vernachlässigt werden.

Die gemessene Werte einer Bilderserie wurden aus der MCID – Tabelle nach Sortierung in einer vorgefertigten Microsoft Office Excel 2010 v. 14.0 Tabelle eingefügt. Die gemessene Ligandenkonzentration wurde mit folgender Formel in Rezeptordichte (RD) umgerechnet:

$$RD \left[ \frac{fmol}{mg} \right] = \frac{GW}{SA \left[ \frac{Ci}{mmol} \right]} \times \frac{Kd [nM] + RK [nM]}{RK [nM]}$$

Die Rezeptordichte (RD) ergibt sich aus dem mittleren gemessenen Grauwert (GW) und aus der ligandspezifischen Konstanten. Die spezifische Aktivität (SA) beschreibt die Strahlungsaktivität des jeweiligen Liganden. Die Dissoziationskonstante (Kd) beschreibt die halbmaximale Sättigungskonzentration. Sie ist ein Maß für die Affinität des Liganden zu seinem Rezeptor. Ein kleiner Kd – Wert entspricht einer hohen Affinität und umgekehrt ein hoher Kd – Wert einer niedrigen Affinität. Gleichzeitig stellt die Dissoziationskonstante einen Richtwert für die Ligandenkonzentration im Inkubationsmedium dar. Die Realkonzentration (RK) beschreibt die tatsächliche Konzentration im genutzten Inkubationsmedium.

**Tabelle 2.4** Angaben zur verwendeten ligandspezifischen Standardaktivität (SA), Dissoziationskonstante (Kd) und Realkonzentration (RK) der tritiummarkierten Liganden.

| Rezeptor         | Ligand      | SA (Ci/mmol) | Kd (nM) | RK (nM) |
|------------------|-------------|--------------|---------|---------|
| 5HT2A            | Ketanserin  | 53,4         | 1,14    | 1,14    |
| D1               | SCH23390    | 85           | 1,67    | 1,72    |
| GABA A           | Muscimol    | 35,6         | 7,7     | 7,74    |
| GABA A mit BZ-BS | Flumanzenil | 78,8         | 1,67    | 0,94    |
| GABA B           | CGP52626    | 30           | 2       | 2,05    |
| A1               | DPCPX+Gpp   | 120          | 1       | 0,82    |
| α1               | Prazosin    | 85,3         | 0,09    | 0,09    |
| α2               | UK14,304    | 54,1         | 0,64    | 0,63    |

Für jeden Schnitt einer Bilderserie wurde so die RD für Regionen der rechten und linken Hemisphäre bestimmt. Ein Mittelwert der 7 Schnitte wurde für die jeweiligen Regionen gebildet, sodass jedem Tier je eine RD für zum Beispiel das rechte und linke CPU zugeordnet wurde. Anschließend wurden die mittleren Dichte-Werte mit der durchschnittlich gemessenen Fläche verknüpft und in Versuchsgruppen zusammengefasst. Das am Ende entstandene Übersichtshistogramm bildet die mittleren flächengewichteten RD einer Versuchsgruppe für ein Hirnareal mit ihrer Standardabweichung ab.

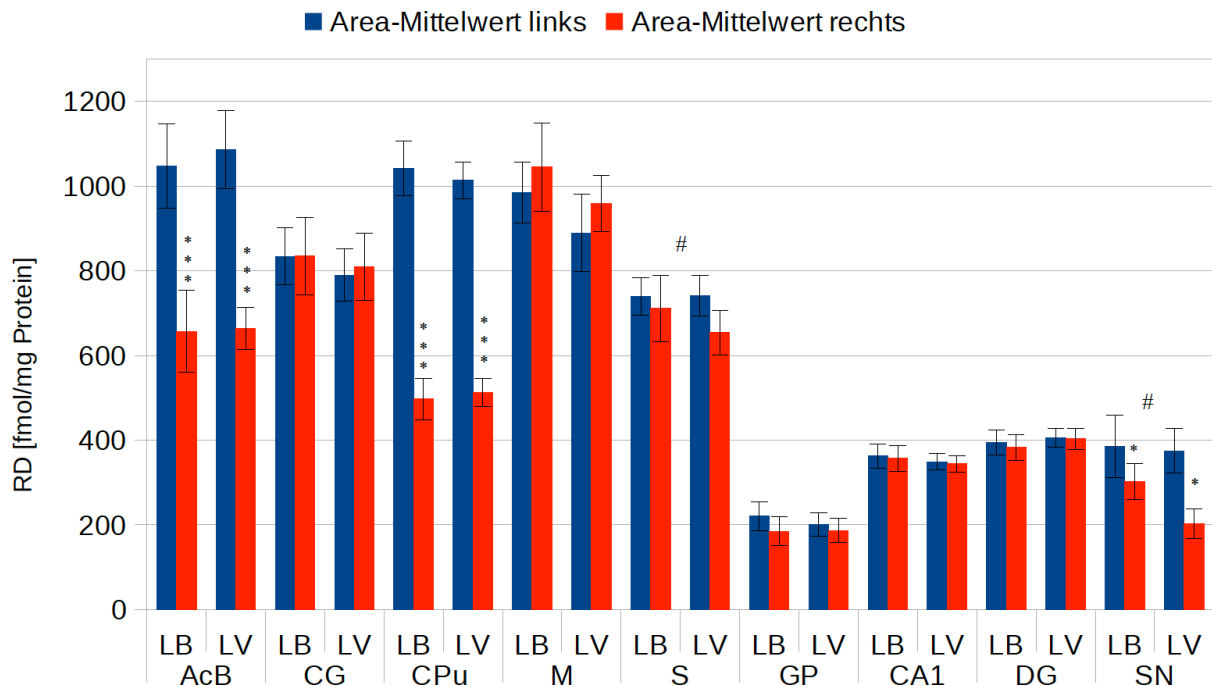
## **2.8 Statistische Auswertung**

Die statistische Analyse der Daten wurden mithilfe des Programms IBM SPSS Statistics Version 20 durchgeführt. Zum Wertevergleich der einzelnen, unabhängigen Gruppen wurde eine ANOVA, einfaktorielle Varianzanalyse, durchgeführt. Zuvor wurde die, für die Anwendung dieses parametrischen Testverfahrens, vorausgesetzte Normalverteilung der Daten mithilfe des Kolmogorow-Smirnow Test geprüft. Nach Signifikanznachweis in der ANOVA folgte zur genauen Darstellung der signifikanten Paarvergleiche ein Post-Hoc-Test mit Bonferoni-Korrektur. Dabei wurde, wie allgemein üblich, ein Signifikanzniveau von 0,05 festgelegt, d.h. ab einem p-Wert  $<0,05$  galten die Ergebnisse als signifikant.

### 3 Ergebnisse

Die in vitro Rezeptorautoradiographie wurde zur Analyse der mittleren ligandenspezifischen Dichte der Rezeptoren verwendet. Zur Vervollständigung der zuvor erhobenen Daten für dieses Projekt wurden neben den Strukturen der Basalganglien weitere Hirnareale gemessen mit funktionellem Zusammenhang und Verschaltung zu den Basalganglien. Zu diesen Arealen gehören kortikale Areale wie der cinguläre Kortex (CG), motorische Kortex (M), sensorische Kortex (S) und hippocampale Areale wie Teile des Cornu ammonis (CA1) und des Gyrus dentatus (DG). Die Strukturen der Basalganglien werden wie folgt abgekürzt: Nucleus accumbens (AcB), Striatum (CPu), Globus pallidus (GP), Substantia nigra (SN). In dieser Arbeit wird die RD für die Versuchsgruppe LB und LV verschiedener Rezeptoren gegenübergestellt. Alle Messwerte, die in den folgenden Abschnitten benannt werden, sind in Tabelle 6.1 (Anhang) übersichtlich aufgelistet. In den Abbildungen zu jedem Rezeptor werden Seitendifferenzen der einzelnen Versuchsgruppen (LB und LV) dargestellt. Negative Seitendifferenzen stehen für eine reduzierte RD rechts gegenüber links. Positive Seitendifferenzen stehen für eine erhöhte RD rechts gegenüber links. Weitere Diagramme mit zeitlichen Verläufen innerhalb der Gruppen für die Hirnareale der Rezeptoren sind im Anhang zu finden. Hirnareale, in denen die RD unter 200 fmol/mg lag, wurden zunächst gemessen, aber aufgrund der Ungenauigkeit der Werte hier nicht weiter berücksichtigt. Die Werte der Kontrollgruppe K für die einzelnen Hirnareale (siehe Diagramme im Anhang 6.1) wurden bereits von weiteren Doktoranden des Instituts für Anatomie gemessen und für diese Arbeit bereitgestellt.

### 3.1 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für Serotonin 5HT2A – Rezeptor ( $[^3\text{H}]$ -Ketanserin)



**Abbildung 3.1: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -Ketanserin des 5HT2A – Rezeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Die mittlere RD pro Fläche für den Rezeptor 5HT2A im **AcB** der Versuchsgruppe K liegt bei  $1200 \pm 112$  fmol/mg (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung [SD]) (Abb. 6.1 Anhang). Dabei wurden keine rechts-links Differenzen festgestellt (2,0%). Eine signifikante Abweichung zwischen rechter und linker Hemisphäre von -38,9% der mittleren RD wurde erst bei der Versuchsgruppe LV festgestellt, ausgelöst durch die 6-OHDA Injektion in die rechte Hemisphäre (Abb. 3.1). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit blieben konstant: 1Monat (M) = -40,6% Abweichung und 3M = -37,0% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz zwischen rechter und linker Hemisphäre bei LB-Ratten ist mit -37,3% signifikant und nur um 1,6% geringer als bei den LV-Ratten (Abb. 3.1). Das heißt, dass die RD nach BoNT-Injektion nur um 1,6% gestiegen ist im Vergleich zur LV-Ratte. Hier sieht man folgende

Veränderungen der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = -39,4%, 3M = -34,3%, 6M = -37,8% und 9M = -37,8% (Abb. 6.1 Anhang).

In der **CG**-Region beträgt die mittlere RD für 5HT2A in Kontrollen  $872 \pm 71,5$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (3,5%). In der Gruppe LV ist ebenfalls keine signifikante Differenz zur 6-OHDA läsionierten Seite von 2,5% zu verzeichnen (Abb. 3.1). In Bezug auf die Überlebenszeit ergaben sich folgende Abweichungen: 1M = 3,9% und 3M = 1,0% (Abb. 6.1 Anhang). Durch Injektion von BoNT-A zeigt sich keine weitere Veränderung in der mittleren RD, die rechts-links Differenz beträgt nur 0,7% in der LB Gruppe (Abb. 3.1). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 3,6%, 3M = 4,0%, 6M = -4,7% und 9M = -2,9% (Abb. 6.1 Anhang). Es ist eine leichte Abnahme der RD durch BoNT-A Injektion zu erkennen, bei längerer Überlebenszeit.

Im Hirnareal **CPu** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $1057 \pm 58,5$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (1,5%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung signifikante -49,4% (Abb. 3.1) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit nur leicht gestiegen: 1M = -48,0% und 3M = -53,2% (Abb. 6.1 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt -52,3% (Abb. 3.1) und ist somit im Verhältnis zur LV um 2,7% gering gestiegen. Die Differenz der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betragen: 1M = -53,6%, 3M = -52,3%, 6M = -50,5% und 9M = -52,7% (Abb. 6.1 Anhang). Damit bleiben die Werte nach BoNT-A-Applikation konstant.

Für das Hirnareal **M** ist die mittlere RD der Gruppe K  $1062 \pm 86$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 8,0%. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 7,8% (Abb. 3.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende konstante Werte: 1M = 8,5% und 3M = 7,2% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen 6,0% (Abb. 3.1) und ist somit um 1,8% geringer als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 6,1%, 3M = 5,9%, 6M = 5,4% und 9M = 6,9% (Abb. 6.1 Anhang). Damit bleiben die Werte nach BoNT-Injektion konstant.

In der **S**-Region beträgt die mittlere RD der Gruppe K für 5HT2A  $798 \pm 55$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (5,2%). Bei der Gruppe LV ist eine Differenz zur 6-OHDA läsierten Seite von -11,8% zu verzeichnen (Abb. 3.1). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -8,5% und 3M = -15,3% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB beträgt nur -3,8% (Abb. 3.1). Das heißt, dass die Differenz der RD im Vergleich zur LV Gruppe signifikant um 8% gesunken ist. Im einzelnen beträgt dies: 1M = -3,9%, 3M = -0,1%, 6M = -8,5% und 9M = -2,2% (Abb. 6.1 Anhang). Insgesamt ist eine Reduzierung der negativen Differenz nach BoNT-A-Injektion zur Gruppe LV zu verzeichnen.

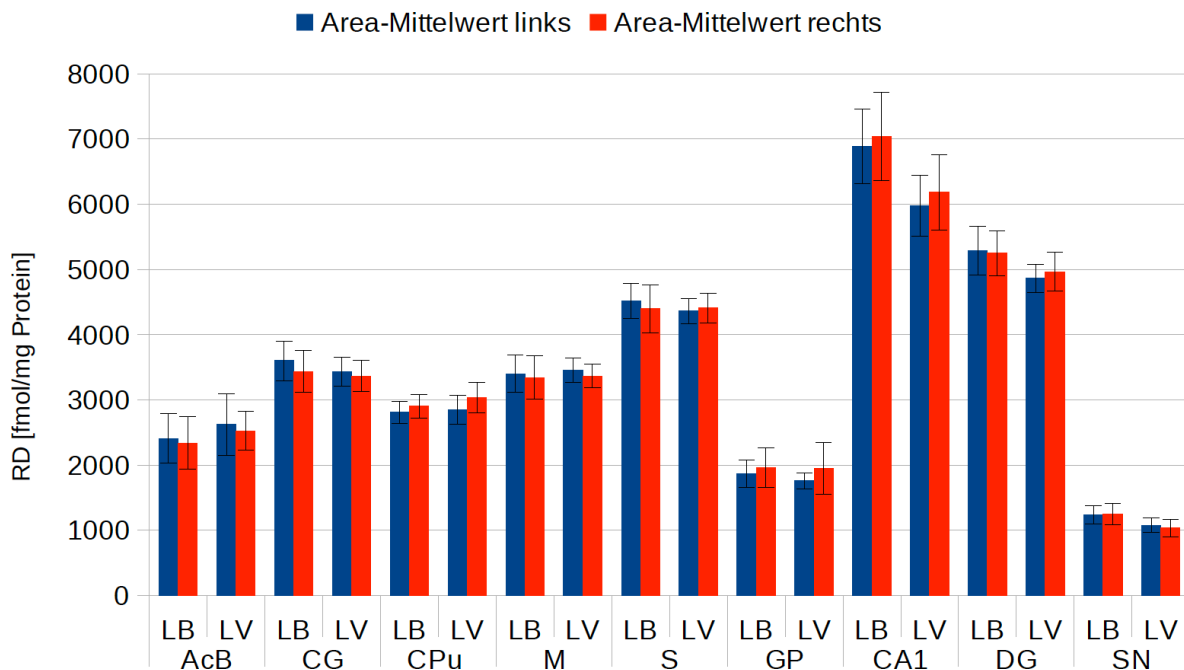
In der **GP**-Region beträgt die mittlere RD der Gruppe K für 5HT2A  $233 \pm 22$  fmol/mg. Aufgrund der hohen Ungenauigkeit von Werten um und unter 200 fmol/mg wurden die Werte hier nicht weiter ausgeführt (Abb. 6.1 Anhang).

Für das Hirnareal **CA1** ist die mittlere RD der Gruppe K  $361 \pm 26$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 2,5%. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -1,4% (Abb. 3.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende konstante Werte: 1M = -2,7% und 3M = -0,1% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt -0,9% (Abb. 3.1) und ist somit um 0,5% geringer als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -2,1%, 3M = 1,6%, 6M = -1,9% und 9M = -4,5% (Abb. 6.1 Anhang). Damit bleiben die Werte nach BoNT-Injektion konstant.

Für die **DG**-Region ist die mittlere RD der Gruppe K  $441 \pm 3,95$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 2,3%. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV betragen -0,7% (Abb. 3.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende konstante Werte: 1M = -2,0% und 3M = 0,7% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt -2,5% (Abb. 3.1) und ist somit um 1,8% höher als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -3,1%, 3M = -1,7%, 6M = -2,6% und 9M = -5,8% (Abb. 6.1 Anhang). Damit bleiben die Werte nach BoNT-Injektion konstant.

Die mittlere RD pro Fläche für den Rezeptor 5HT<sub>2A</sub> im **SN** der Versuchsgruppe K liegt bei  $461 \pm 58,5$  fmol/mg (Abb. 6.1 Anhang). Dabei wurden keine rechts-links Differenzen festgestellt (0,4%). Eine signifikante Abweichung zwischen rechter und linker Hemisphäre von -46,2% der mittleren RD wurde erst bei der Versuchsgruppe LV festgestellt, ausgelöst durch 6-OHDA Injektion in die rechte Hemisphäre (Abb. 3.1). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit blieben konstant bei: 1Monat (M) = -47,2% Abweichung und 3M = -45,4% (Abb. 6.1 Anhang). Die Differenz zwischen rechter und linker Hemisphäre bei LB-Ratten ist mit -21,5% um signifikante 24,7% gesunken im Vergleich zu den LV-Ratten (Abb. 3.1). Hier sieht man folgende Veränderungen der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = -19,6%, 3M = -27,5%, 6M = -17,0% und 9M = -24,5% (Abb. 6.1 Anhang).

### 3.2 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für Adenosin A<sub>1</sub> – Rezeptor ([<sup>3</sup>H]-DPCPX+Gpp)



**Abbildung 3.2: Darstellung der mittleren RD für den Ligand [<sup>3</sup>H]-DPCPX+Gpp des A<sub>1</sub> – Rezeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Für das Hirnareal **AcB** ist die mittlere RD für den A<sub>1</sub> – Rezeptor  $1974 \pm 176$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 3,1% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -3,7% (Abb. 3.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = -5,6% und 3M = -1,9% (Abb. 6.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt -3,0% (Abb. 3.2). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 2,3%, 3M = -2,9%, 6M = -8,2% und 9M = -3,1% (Abb. 6.2 Anhang). Es zeigt sich ein langsamer Abfall der RD nach BoNT-A Injektion.

Die mittlere RD für das Areal **CG** beträgt  $3676 \pm 274$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.2 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (3,8%). Die Abweichung der Gruppe

LV beträgt dabei geringe -2,0% (Abb. 3.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen konstant: 1M = -1,5% und 3M = -2,5% (Abb. 6.2 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel eine gering höhere rechts-links Differenz ermittelt als bei LV (-4,5%) (Abb. 3.2). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -2,8%, 3M = -3,6%, 6M = -3,9% und 9M = -7,2% (Abb. 6.2 Anhang). Nach BoNT-A-Injektion ist hier ein langsamer konstanter Abfall der RD zu verzeichnen.

Für das Hirnareal **CPu** ist die mittlere RD der Gruppe K  $2661 \pm 220$  fmol/mg (Abb. 6.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 1,6% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 6,5% über dem Normalwert (Abb. 3.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 7,3% und 3M = 5,7% (Abb. 6.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen 3,3% (Abb. 3.2) und ist damit ähnlich der LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 6,5%, 3M = 4,1%, 6M = 1,7% und 9M = 1,4% (Abb. 6.2 Anhang). Hier ist festzustellen, dass die RD nach BoNT-A-Injektion im zeitlichen Verlauf leicht abnimmt.

In dem Hirnareal **M** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $3475 \pm 292$  fmol/mg (Abb. 6.2 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (1,3%). Bei der Gruppe LV ist eine Differenz zur 6-OHDA läsierten Seite von -2,5% zu verzeichnen (Abb. 3.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -4,1% und 3M = -0,9% (Abb. 6.2 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB ist gegenüber der Gruppe LV mit -1,7% konstant (Abb. 3.2). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = -3,9%, 3M = -7,8%, 6M = 0,7% und 9M = 3,1% (Abb. 6.2 Anhang). Hier ist zu erkennen, dass die RD nach BoNT-A Injektion zunächst abfällt und sich im Verlauf wieder ausgleicht.

Im Hirnareal **S** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $4522 \pm 224$  fmol/mg (Abb. 6.2 Anhang). Auch hier ist keine starke rechts-links Differenz zu verzeichnen (1,3%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung 1,1% (Abb. 3.2) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit nur leicht gestiegen: 1M = 0,6% und 3M = 1,7% (Abb. 6.2 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt -2,8% (Abb. 3.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M

= -5,6%, 3M = -5,2%, 6M = -2,9% und 9M = 2,2% (Abb. 6.2 Anhang). Auch hier ist zu erkennen, dass die RD nach BoNT-A Injektion zunächst abfällt und im Verlauf sich wieder ausgleicht.

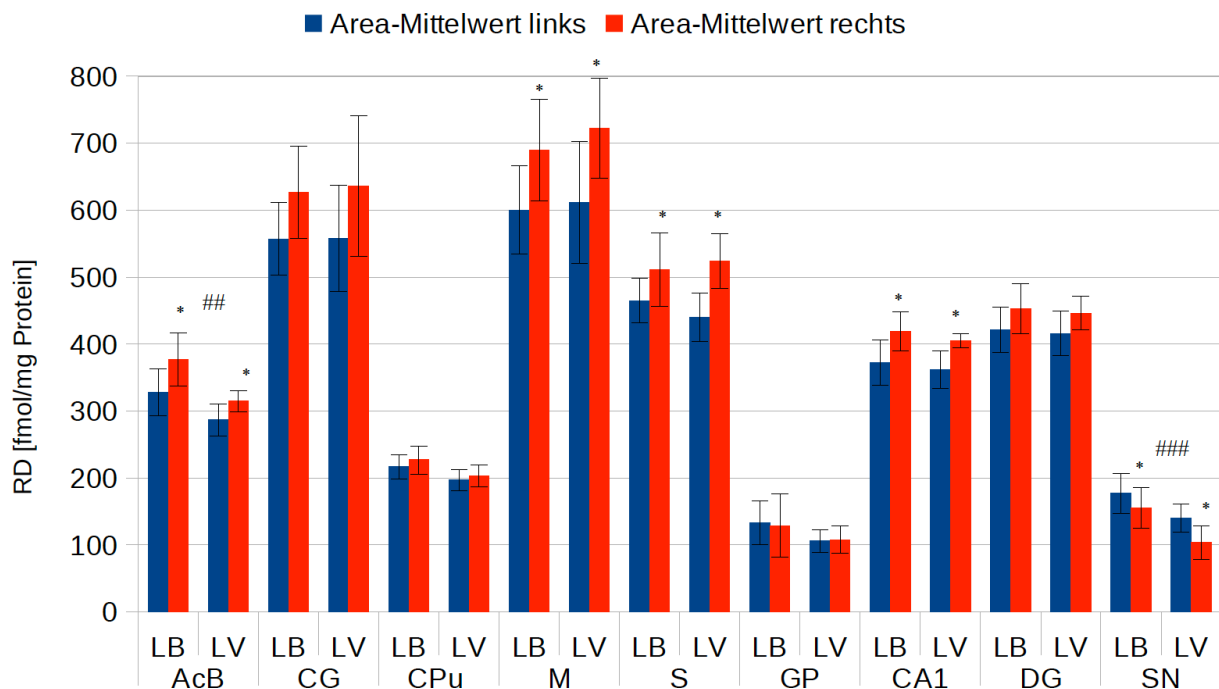
Im Hirnareal **GP** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $1782 \pm 152$  fmol/mg (Abb. 6.2 Anhang). Auch hier ist keine starke rechts-links Differenz zu verzeichnen (1,6%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung 10,8% über dem Normalwert links (Abb. 3.2) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit konstant verblieben: 1M = 10,6% und 3M = 11,0% (Abb. 6.2 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt 4,7% (Abb. 3.2) und ist somit im Verhältnis zur LV um 5,9% niedriger. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = 21,7%, 3M = 7,9%, 6M = 0,5% und 9M = -12,3% (Abb. 6.2 Anhang), trotz des sichtbaren Trends zeigen sich die Werte jedoch in der statistischen Auswertung als nicht signifikant aufgrund der hohen Standardabweichungen. Hier ist zu Beginn eine starke Wirkung von BoNT-A auf die RD zu verzeichnen, die mit der Überlebenszeit deutlich abnimmt.

Für das Hirnareal **CA1** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $6630 \pm 640$  fmol/mg (Abb. 6.2 Anhang). Hier liegt die rechts-links Differenz bei 4,1%, welche nicht signifikant ist. Ebenfalls ist hier keine größere Abweichung bei der Gruppe LV festzustellen mit 2,1% (Abb. 3.2). Nach 1 Monat lag dabei der Unterschied bei 1,8% und nach 3 Monate bei 5,4% (Abb. 6.2 Anhang). Auch die Differenz nach BoNT-A-Injektion ist im Mittel mit 3,5% nicht signifikant (Abb. 3.2). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende konstante Abweichungen gemessen: 1M = 3,4%, 3M = 0,6%, 6M = 0,3% und 9M = 4,1% (Abb. 6.2 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **DG** beträgt  $5360 \pm 589$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.2 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,1%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei geringe 2,1% (Abb. 3.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen: 1M = -0,8% und 3M = 5,4% (Abb. 6.2 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel ebenfalls keine signifikante rechts-links Differenz ermitteln können (-0,6%) (Abb. 3.2). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -2,3%, 3M = -3,0%, 6M = 0,5% und 9M = 1,4% (Abb. 6.2 Anhang).

Im Hirnareal **SN** beträgt die mittlere RD  $1266 \pm 177$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 12,4%. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -3,9% (Abb. 3.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 0,6% und 3M = -7,7% (Abb. 6.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen 1,4% (Abb. 3.2) und ist damit um 5,1% positiver als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -1,5%, 3M = 8,1%, 6M = -1,4% und 9M = 1,2% (Abb. 6.2 Anhang).

### 3.3.1 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für $\alpha 1$ – Adrenozeptor ( $[^3\text{H}]$ -Prazosin)



**Abbildung 3.3.1: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -Prazosin des  $\alpha 1$  – Adrenozeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Für das Hirnareal **AcB** ist die mittlere RD für den  $\alpha 1$  – Rezeptor  $295 \pm 28,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.3.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 1,6% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt signifikante 9,7% (Abb. 3.3.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende abfallende Werte: 1M = 12,9% und 3M = 6,6% (Abb. 6.3.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt signifikante 14,9% (Abb. 3.3.1). Damit ist die RD um 5,2% signifikant erhöht gegenüber der LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 9,0%, 3M = 16,3%, 6M = 16,6% und 9M = 17,7% (Abb. 6.3.1 Anhang). Damit zeigt sich im Verlauf eine zunehmende positive Wirkung nach BoNT-A-Injektion relativ zum Wert der linken Hemisphäre.

Die mittlere RD für das Areal **CG** beträgt  $613 \pm 38,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.3.1 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (2,6%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt 13,0% (Abb. 3.3.1), welche sich jedoch durch die hohe Standardabweichung als nicht signifikant erweist. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen konstant: 1M = 15,1% und 3M = 12,7% (Abb. 6.3.1 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel eine gering niedrigere rechts-links Differenz ermittelt als bei LV (12,6%) (Abb. 3.3.1). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten ebenfalls konstant: 1M = 14,7%, 3M = 13,5%, 6M = 8,8% und 9M = 12,8% (Abb. 6.3.1 Anhang).

Für das Hirnareal **CPu** ist die mittlere RD der Gruppe K  $202 \pm 13,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 1,9% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 3,0% über dem Normalwert (Abb. 3.3.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 3,5% und 3M = 2,0% (Abb. 6.3.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt 4,6% (Abb. 3.3.1) und ist damit ähnlich zu den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 4,1%, 3M = 5,9%, 6M = 5,3% und 9M = 2,6% (Abb. 6.3.1 Anhang). Insgesamt zeigt der Adrenorezeptor hier eine niedrige Expression.

Im Hirnareal **M** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $648 \pm 54,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.1 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (6,4%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung signifikante 18% (Abb. 3.1.1) und ist unabhängig von der Überlebenszeit konstant geblieben: 1M = 17,5% und 3M = 18,3% (Abb. 6.3.1 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt signifikante 15,0% (Abb. 3.3.1) und ist somit im Verhältnis zur LV geringer. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = 16,4%, 3M = 16,4%, 6M = 14,2% und 9M = 13,4% (Abb. 6.3.1 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **S** beträgt  $471 \pm 26$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.3.1 Anhang), bei keiner erheblichen rechts-links Differenz (7,1%). Die Abweichung der Gruppe LV betragen dabei signifikante 19,1% (Abb. 6.3.1). Die Dichtewerte bei längerer

Überlebenszeit betrugen: 1M = 16,9% und 3M = 21,0% (Abb. 7.3.1 Anhang). In der Gruppe LB wurde im Mittel eine geringere positive, aber dennoch signifikante Differenz von 9,9% festgestellt (Abb. 3.3.1). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = 11,6%, 3M = 9,3%, 6M = 7,0% und 9M = 11,1% (Abb. 6.3.1 Anhang).

Für das Hirnareal **GP** beträgt der RD Mittelwert der Gruppe K  $128 \pm 7,5$  fmol/mg, somit wurde dieser aufgrund der niedrigen RD nicht weiter bewertet.

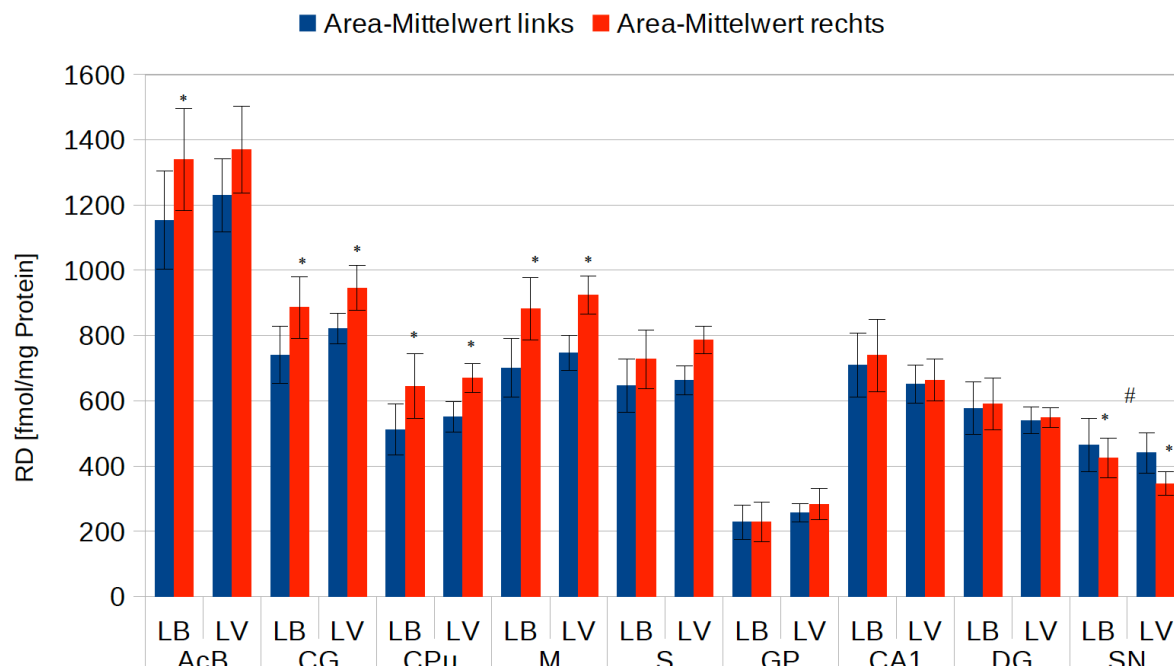
Die mittlere RD für das Areal **CA1** beträgt in den Kontrollen  $375,5 \pm 16$  fmol/mg (Abb. 6.3.1 Anhang) bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,7%). Die Abweichung der Gruppe LV betragen dabei signifikante 11,9% (Abb. 3.3.1). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen konstant: 1M = 11,0% und 3M = 12,6% (Abb. 6.3.1 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel ebenfalls eine signifikant höhere rechts-links Differenz von 12,6% gemessen (Abb. 3.3.1). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = 17,9%, 3M = 12,8%, 6M = 8,7% und 9M = 11,4% über den Wert der linken Hemisphäre (Abb. 6.3.1 Anhang).

Für das Hirnareal **DG** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $432 \pm 26$  fmol/mg (Abb. 6.3.1 Anhang). Hier ist die rechts-links Differenz nicht signifikante 2,6%. Es ist eine positive rechts-links Abweichung in der Gruppe LV feststellbar von 7,6% (Abb. 3.3.1). Nach 1 Monat lag dabei der Unterschied bei 6,1% und nach 3 Monaten bei 8,6% (Abb. 6.3.1 Anhang). Die Differenz nach BoNT-Injektion ist im Mittel mit 7,2% ähnlich positiv wie in der Gruppe LV (Abb. 3.3.1). Über längere Zeit gesehen wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = 7,1%, 3M = 9,9%, 6M = 6,1% und 9M = 7,0% (Abb. 6.3.1 Anhang).

Für das Hirnareal **SN** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $200 \pm 41,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.1 Anhang). Hier ist die rechts-links Differenz nicht signifikante 4,6%. Es ist eine signifikante rechts-links Abweichung in der Gruppe LV feststellbar von -25,7% (Abb. 3.3.1). Nach 1 Monat lag dabei der Unterschied bei -23,5% und nach 3 Monate bei -27,0% gering progredient (Abb. 6.3.1 Anhang). Die Differenz nach BoNT-Injektion der Gruppe LB ist im

Mittel mit -12,4% um signifikante 13,4% geringer im Vergleich zur Gruppe LV (Abb. 3.3.1). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = -12,9%, 3M = -15,6%, 6M = -6,1% und 9M = -14,2% (Abb. 6.3.1 Anhang). Hohe Schwankungen der Messung sind hier auch durch die geringe RD bedingt.

### 3.3.2 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für $\alpha 2$ – Adrenozeptor ( $[^3\text{H}]$ -UK14,304)



**Abbildung 3.3.2: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -UK14,304 des  $\alpha 2$  – Adrenozeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Die mittlere RD für den Antagonisten  $[^3\text{H}]$ -UK14,304 des  $\alpha 2$ -Rezeptor im **AcB** liegt bei  $1128 \pm 195,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.3.2 Anhang), dabei wurden keine signifikanten rechts-links Differenzen festgestellt (3,8%). Eine erhöhte Abweichung von 11,2% der mittleren RD wurde bei der Versuchsgruppe LV festgestellt (Abb. 3.3.2). Die Dichtewerte

bei längerer Überlebenszeit blieben konstant bei: 1M = 10,4% Abweichung und 3M = 12,3% (Abb. 6.3.2 Anhang). Die Differenz zwischen rechter und linker Hemisphäre bei LB-Ratten ist signifikant und auf 16,0% bemessen. Somit ist die Differenz in der Gruppe LB um 5,6% im Mittel höher als bei den LV-Ratten (Abb. 3.3.2). Auch hier sieht man Veränderungen der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit, die dann zum Ende wieder abnimmt: 1M = 12,8%, 3M = 14,7%, 6M = 22,2% und 9M = 15,3% (Abb. 6.3.2 Anhang).

In der **CG**-Region beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $722 \pm 79,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.2 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,9%). Bei der Gruppe LV ist eine positive Differenz zur 6-OHDA läsierten Seite von signifikanten 15,0% zu verzeichnen (Abb. 3.3.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = 15,9% und 3M = 14,2% (Abb. 6.3.2 Anhang). Dagegen ist die Differenz in der Gruppe LB höher mit signifikanten 19,6% (Abb. 3.3.2). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 13,9%, 3M = 16,7%, 6M = 24,3% und 9M = 25,1% (Abb. 6.3.2 Anhang). Es ist eine stetige Hochregulation der RD rechts gegenüber links zu erkennen, welche bei längerer Überlebenszeit anhält.

Im Hirnareal **CPu** liegt die mittlere RD bei  $547 \pm 81,5$  fmol/mg Für die Gruppe K (Abb. 6.3.2 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (3,3%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung signifikante 21,5% (Abb. 3.3.2) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit deutlich gestiegen: 1M = 16,0% und 3M = 27,4% (Abb. 6.3.2 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt signifikante 26,0% (Abb. 3.3.2) und ist somit im Verhältnis zur LV um 5,5% gestiegen. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit sind: 1M = 11,4%, 3M = 26,0%, 6M = 33,7% und 9M = 25,6% (Abb. 6.3.2 Anhang). Zu Beginn ist eine geringere Wirkung des BoNT-A auf die RD zu verzeichnen, die mit der Überlebenszeit steigt.

Für das Hirnareal **M** ist die mittlere RD  $728 \pm 69,5$  fmol/mg in der Gruppe K (Abb. 6.3.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 1,6% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt signifikante 23,8% (Abb. 3.3.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 21,2% und 3M =

26,8% (Abb. 6.3.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen signifikante 26,0% über der Normalverteilung (Abb. 3.3.2). Damit ist die Differenz der RD leicht höher mit 2,2% im Vergleich zu den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 17,8%, 3M = 22,0%, 6M = 34,6% und 9M = 32,5% (Abb. 6.3.2 Anhang). Zu Beginn ist ebenfalls eine geringere Wirkung des BoNT-A auf die RD zu verzeichnen, die mit der Überlebenszeit steigt.

In dem Areal **S** beträgt die mittlere RD für die Gruppe K  $727 \pm 75,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.2 Anhang), mit einer erhöhten rechts-links Differenz (8,7%). Bei der Gruppe LV ist eine Differenz von 16,7% zu verzeichnen (Abb. 3.3.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende fast konstante Abweichungen: 1M = 17,2% und 3M = 15,8% (Abb. 6.3.2 Anhang). Dagegen ist die Differenz in der Gruppe LB mit nur 12,5% gering niedriger (Abb. 3.3.2). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 0,3%, 3M = 11,2%, 6M = 19,0% und 9M = 22,6% (Abb. 6.3.2 Anhang).

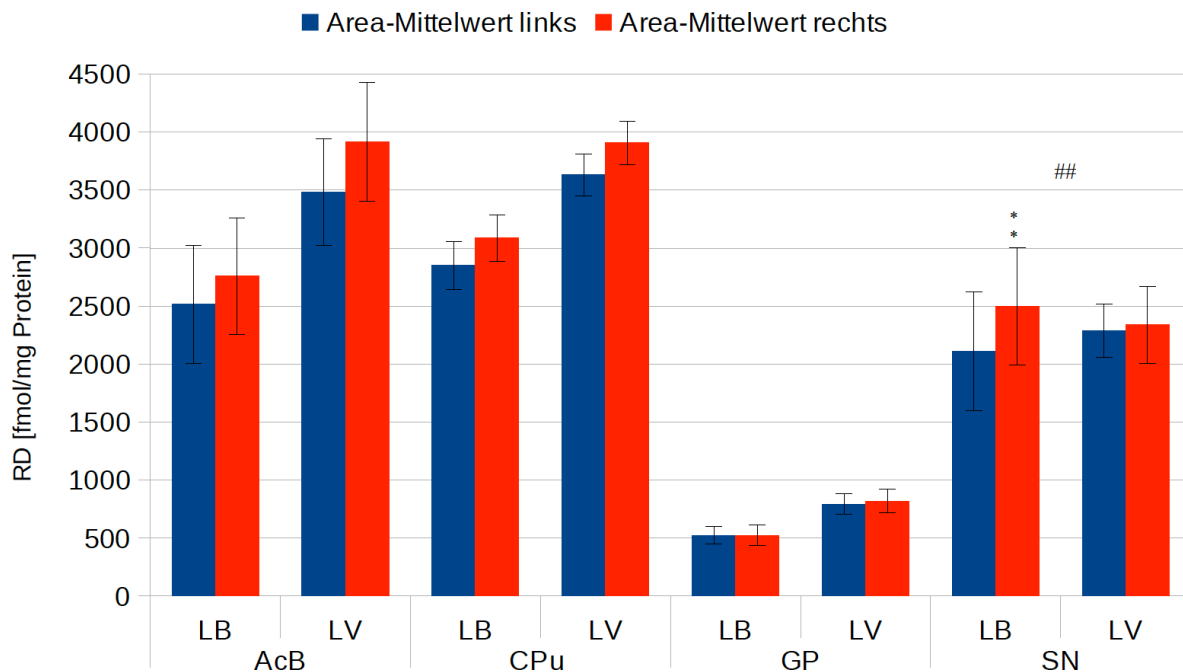
In dem Areal **GP** beträgt die mittlere RD für die Gruppe K  $320 \pm 68$  fmol/mg (Abb. 6.3.2 Anhang), mit einer rechts-links Differenz von 6,0%. Bei der Gruppe LV ist eine Differenz von 10,1% zu verzeichnen (Abb. 3.3.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende fast konstante Abweichungen: 1M = 8,5% und 3M = 11,9% (Abb. 6.3.2 Anhang). Dagegen liegt die Differenz in der Gruppe LB bei nur 0,4% (Abb. 3.3.2). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = -16,6%, 3M = 9,1%, 6M = 11,9% und 9M = -2,1% (Abb. 6.3.2 Anhang). Aufgrund der niedrigen RD sind die Werte jedoch nur eingeschränkt beurteilbar.

Für das Hirnareal **CA1** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $578 \pm 78$  fmol/mg (Abb. 6.3.2 Anhang). Hier ist keine rechts-links Differenz zu vermerken (1,8%). Auch ist keine größere Abweichung bei der Gruppe LV festzustellen (1,8%) (Abb. 3.3.2). Nach 1 Monat war der Unterschied bei 3,4% und nach 3 Monaten bei 0,4% (Abb. 6.3.2 Anhang). Auch die Differenz nach BoNT-A-Injektion ist im Mittel mit 4,2% nicht signifikant (Abb. 3.3.2). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = 1,6%, 3M = 2,4%, 6M = 8,8% und 9M = 2,0% (Abb. 6.3.2 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **DG** beträgt in den Kontrollen  $515 \pm 62,5$  fmol/mg (Abb. 6.3.2 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (1,6%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei geringe 1,7% (Abb. 3.3.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen: 1M = 2,3% und 3M = 0,9% (Abb. 6.3.2 Anhang). Bei der Gruppe LB ergab sich im Mittel ebenfalls keine signifikante rechts-links Differenz (2,3%) (Abb. 3.3.2). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -4,3%, 3M = 2,3%, 6M = 8,1% und 9M = 3,6% (Abb. 6.3.2 Anhang).

Für die **SN** beträgt die mittlere RD  $458 \pm 148,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.3.2 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (5,5%). In der Gruppe LV ist eine signifikante Differenz zur läsionierten Seite von -21,5% zu verzeichnen (Abb. 3.3.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -16,2% und 3M = -25,8% (Abb. 6.3.2 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB liegt bei signifikanten -9,6% (Abb. 3.3.2). Die Differenz der RD ist im Vergleich zur LV Gruppe signifikant gesunken um insgesamt 10,9%. Im Einzelnen beträgt dies: 1M = -10,6%, 3M = -9,3%, 6M = -13,1% und 9M = -8,1% (Abb. 6.3.2 Anhang). Im SN ist die RD des  $\alpha 2$ -Rezeptors sehr gering, was zu Schwankungen in den Ergebnissen führen kann.

### 3.4 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für D<sub>1</sub> – Dopaminrezeptor ([<sup>3</sup>H]-SCH23390)



**Abbildung 3.4: Darstellung der mittleren RD für den Ligand [<sup>3</sup>H]-SCH23390 des D<sub>1</sub> – Dopaminrezeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

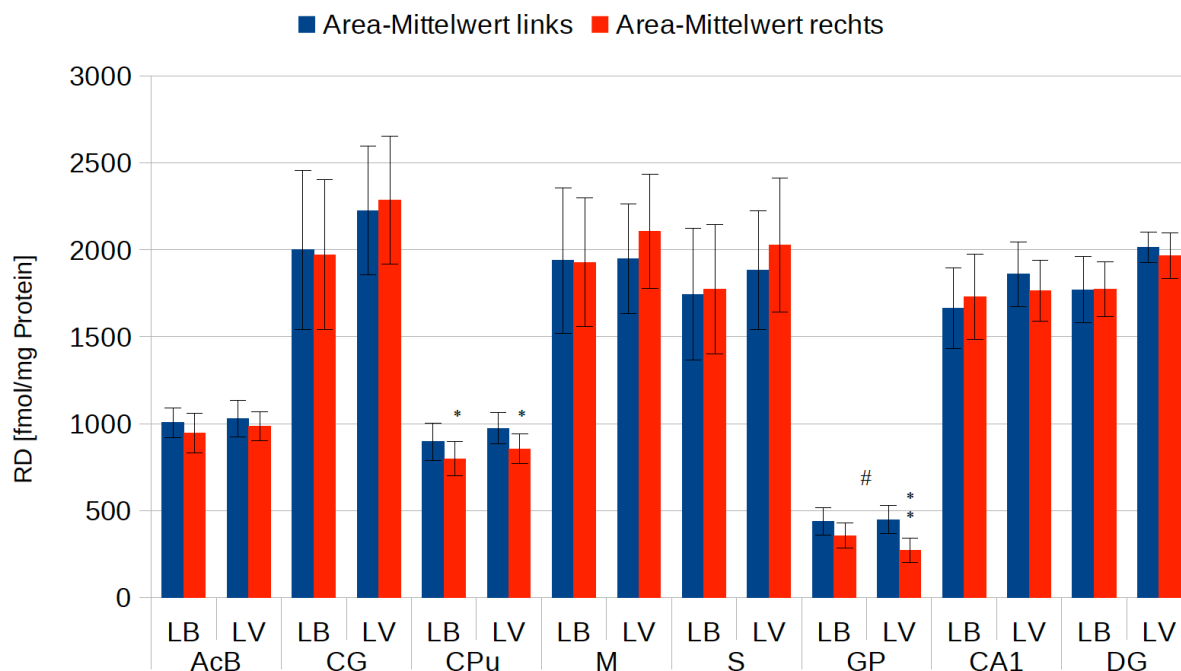
Die mittlere RD für den Liganden [<sup>3</sup>H]-SCH23390 des D<sub>1</sub> – Dopaminrezeptor im **AcB** liegt bei  $1710 \pm 179$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.4 Anhang), dabei wurden keine signifikanten rechts-links Differenzen festgestellt (2,2%). Eine erhöhte Abweichung von 12,5% der mittleren RD wurde bei der Versuchsgruppe LV festgestellt (Abb. 3.4). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit blieben konstant bei: 1M = 12,0% Abweichung und 3M = 13,1% (Abb. 6.4 Anhang). Die Differenz zwischen rechter und linker Hemisphäre bei LB-Ratten ist mit 9,7% um 3,4% im Mittel geringer als bei den LV-Ratten (Abb. 3.4). Hier sieht man eine verzögerte Reaktion nach BoNT-A Injektion der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = 4,3%, 3M = 12,3%, 6M = 10,4% und 9M = 19,4% (Abb. 6.4 Anhang).

Im Hirnareal **CPu** liegt die mittlere RD bei  $2046 \pm 150,5$  fmol/mg für die Gruppe K (Abb. 6.4 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (1,5%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung 7,6% (Abb. 3.4) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit etwas gestiegen: 1M = 5,5% und 3M = 9,4% (Abb. 6.4 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt 8,3% (Abb. 3.4) und ist somit im Verhältnis zur LV nur gering um 0,7% gestiegen. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit sind: 1M = 4,8%, 3M = 11,9%, 6M = 9,2% und 9M = 10,2% (Abb. 6.4 Anhang).

Für das Hirnareal **GP** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $386 \pm 25,5$  fmol/mg (Abb. 6.4 Anhang). Hier ist keine rechts-links Differenz zu vermerken (3,6%). Auch ist keine größere Abweichung bei der Gruppe LV festzustellen (3,4%) (Abb. 3.4). Nach 1 Monat war der Unterschied bei -2,7% und stieg nach 3 Monaten auf 9,6% (Abb. 6.4 Anhang). Auch die Differenz nach BoNT-A-Injektion ist im Mittel mit 0,1% nicht signifikant (Abb. 3.4). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = 1,2%, 3M = 5,5%, 6M = -7,3% und 9M = -3,8% (Abb. 6.4 Anhang).

Für die **SN** beträgt die mittlere RD  $1154 \pm 180,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.4 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (6,8%). In der Gruppe LV ist eine Differenz zur läsionierten Seite von 2,2% zu verzeichnen (Abb. 3.4). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = 9,1% und 3M = -3,1% (Abb. 6.4 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB liegt bei signifikanten 18,2% (Abb. 3.4). Die RD ist im Vergleich zur LV Gruppe um insgesamt 16,0% signifikant gestiegen. Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 21,2%, 3M = 20,1%, 6M = 8,0% und 9M = 20,3% (Abb. 6.4 Anhang). Es ist eine Erhöhung der RD nach BoNT-A Injektion zu erkennen, diese ist unabhängig von der Vehikelinjektion.

### 3.5.1 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für GABA A – Rezeptor ( $[^3\text{H}]$ -Muscimol)



**Abbildung 3.5.1: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -Muscimol des GABA A – Rezeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Für das Hirnareal **AcB** ist die mittlere RD für den GABA A – Rezeptor  $1303 \pm 194,5$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier -6,4% und ist nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -4,2% (Abb. 3.5.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende konstante Werte: 1M = -4,4% und 3M = -3,8% (Abb. 6.5.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen -5,8% (Abb. 3.5.1). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -10,8%, 3M = -6,8%, 6M = -5,8% und 9M = 2,8% (Abb. 6.5.1 Anhang). Hier scheint die BoNT-A Injektion zunächst eine negative Wirkung auf die RD zu haben, die im Verlauf wieder nachlässt.

Für das Hirnareal **CG** ist die mittlere RD in den Kontrollen  $2688 \pm 322$  fmol/mg (Abb. 6.5.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 0,6% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 2,6% (Abb. 3.5.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 1,7% und 3M = 3,4% (Abb. 6.5.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen -1,4% (Abb. 3.5.1). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen der Dichtewerte ermittelt: 1M = -4,4%, 3M = -1,7%, 6M = 1,9% und 9M = -0,8% (Abb. 6.5.1 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **CPu** beträgt für die Gruppe K  $1174 \pm 82$  fmol/mg (Abb. 6.5.1 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (3,9%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei signifikante -12,1% (Abb. 3.5.1). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen: 1M = -11,1% und 3M = -13,0% (Abb. 6.5.1 Anhang). In der Gruppe LB wurde ebenfalls eine gering reduzierte, aber dennoch signifikante rechts-links Differenz (-11,0%) festgestellt (Abb. 3.5.1). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -14,3%, 3M = -9,2%, 6M = -11,1% und 9M = -8,9% (Abb. 6.5.1 Anhang). Nach BoNT-A-Injektion verblieb die RD konstant.

Im Hirnareal **M** liegt die mittlere RD für die Gruppe K bei  $2499 \pm 346$  fmol/mg (Abb. 6.5.1 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (7,0%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung 8,1% (Abb. 3.5.1) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit gestiegen: 1M = 3,9% und 3M = 11,8% (Abb. 6.5.1 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt -0,6% (Abb. 3.5.1) und ist somit im Verhältnis zur LV gesunken um 8,7%. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = -6,2%, 3M = -0,2%, 6M = -1,5% und 9M = 5,5% (Abb. 6.5.1 Anhang).

Für das Hirnareal **S** ist die mittlere RD für die Kontrollen  $2390 \pm 165$  fmol/mg (Abb. 6.5.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 5,5% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 7,7% (Abb. 3.5.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende konstante Werte: 1M = 8,2% und 3M = 7,2% (Abb. 6.5.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen 1,6%

und ist damit ebenfalls zu dem Wert der LV-Ratten gesunken (Abb. 3.5.1). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -3,0%, 3M = 2,0%, 6M = 0,2% und 9M = 6,4% (Abb. 6.5.1 Anhang).

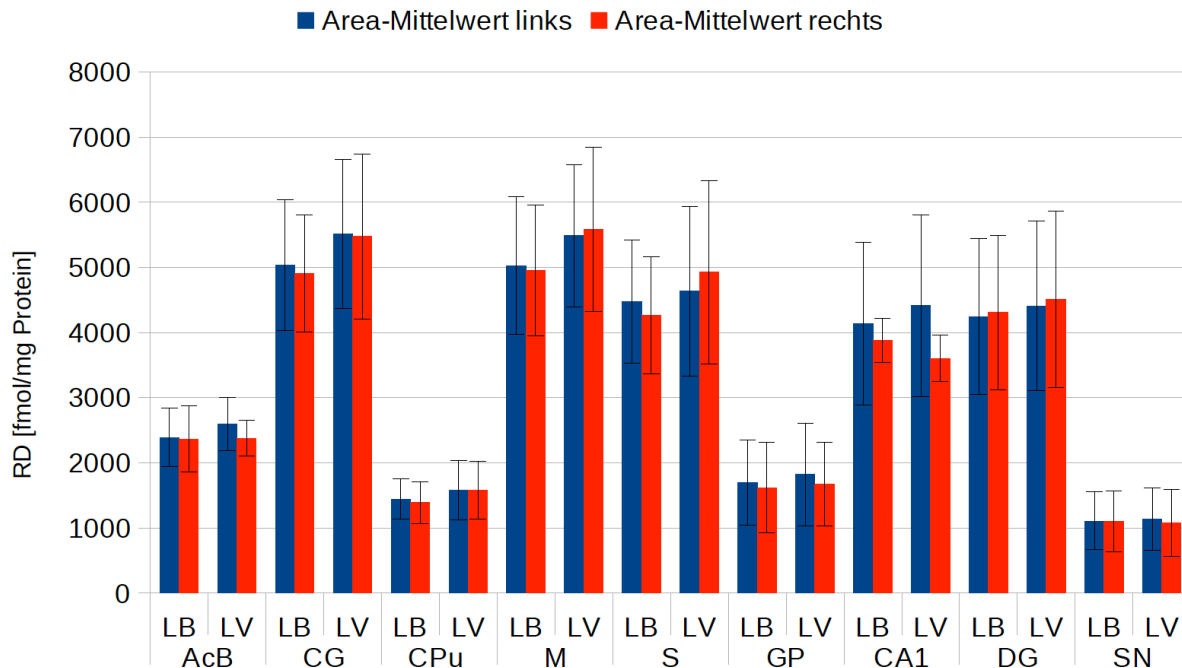
Für das Hirnareal **GP** ist die mittlere RD  $564 \pm 151,1$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.1 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt 2,2% und ist nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt signifikante -39,2% (Abb. 3.5.1) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = -41,5% und 3M = -37,2% (Abb. 6.5.1 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen -18,6% und ist damit signifikant niedriger als bei den LV-Ratten (Abb. 3.5.2). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -15,4%, 3M = -16,5%, 6M = -20,6% und 9M = -20,2% (Abb. 6.5.2 Anhang). Es ist festzustellen, dass die RD nach BoNT-A-Injektion gestiegen ist. Jedoch sind große Schwankungen der Messungen durch die etwas niedrige RD zu erwarten.

Die mittlere RD für das Areal **CA1** beträgt  $2187 \pm 258,5$  fmol/mg für die Gruppe K (Abb. 6.5.1 Anhang), bei einer rechts-links Differenz von 9,5%. Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei -5,0% (Abb. 3.5.1). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen: 1M = -2,7% und 3M = -6,9% (Abb. 6.5.1 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel eine positivere rechts-links Differenz ermittelt als bei LV (4,0%) (Abb. 3.5.1). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = 8,7%, 3M = 0,6%, 6M = 2,5% und 9M = 4,3% (Abb. 6.5.1 Anhang).

In der **DG**-Region beträgt die mittlere RD für die Gruppe K  $2202 \pm 175$  fmol/mg (Abb. 6.5.1 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (5,5%). Bei der Gruppe LV ist eine Differenz zur 6-OHDA läsierten Seite von -2,4% zu verzeichnen (Abb. 3.5.1). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -1,7% und 3M = -3,1% (Abb. 6.5.1 Anhang). Dagegen ist die Differenz in der Gruppe LB leicht auf 0,2% über den linken Wert gestiegen (Abb. 3.5.1). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 0,0%, 3M = -0,8%, 6M = -1,0% und 9M = 2,8% (Abb. 6.5.1 Anhang). Es ist eine leichte Erhöhung der RD durch BoNT-A-Injektion über den Normalwert zu erkennen.

Im Hirnareal **SN** wurden **n** mittlere RD Werte unter dem Bereich von 200 fmol/mg ermittelt und somit nicht weiter analysiert auf Grund der hohen Ungenauigkeit der Werte.

### 3.5.2 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für GABA A – Rezeptor mit Benzodiazepin – Bindungsstelle ( $[^3\text{H}]$ -Flumazenil)



**Abbildung 3.5.2: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -Flumazenil des GABA A – Rezeptors mit Benzodiazepin – Bindungsstelle**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Für das Hirnareal **AcB** ist die mittlere RD  $2658 \pm 318$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 1,6% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -8,2% (Abb. 3.5.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = -4,4% und 3M = -12,0% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt -1,1% und ist somit 7,1% höher im Vergleich zur LV Gruppe (Abb. 3.5.2). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende

Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -4,9%, 3M = -2,9%, 6M = 6,4% und 9M = -2,5% (Abb. 6.5.2 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **CG** beträgt  $5421 \pm 747$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.2 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,1%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei geringe -0,6% (Abb. 3.5.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen konstant: 1M = -0,9% und 3M = -0,2% (Abb. 6.5.2 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel eine gering größere rechts-links Differenz ermittelt als bei LV mit -2,6% (Abb. 3.5.2). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -7,8%, 3M = -3,5%, 6M = 1,3% und 9M = -0,7% (Abb. 6.5.2 Anhang). Es ist keine Veränderung der RD zu beobachten durch die BoNT-A Injektion.

Für das Hirnareal **CPu** ist die mittlere RD der Gruppe K  $1601 \pm 106,5$  fmol/mg (Abb. 6.5.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 4,4% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 0,2% über dem Normalwert (Abb. 3.5.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 2,3% und 3M = -1,8% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen -3,5% (Abb. 3.5.2). In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = -5,1%, 3M = -5,0%, 6M = -2,6% und 9M = 1,3% (Abb. 6.5.2 Anhang). Es ist keine Veränderung der RD zu beobachten durch die BoNT-A Injektion.

In der **M**-Region beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $5052 \pm 678$  fmol/mg (Abb. 6.5.2 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (2,0%). Bei der Gruppe LV ist eine positive Differenz zur 6-OHDA läsierten Seite von 1,8% zu verzeichnen (Abb. 3.5.2). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = 1,2% und 3M = 2,3% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB liegt bei -1,6% leicht gesunken (Abb. 3.5.2). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = -5,6%, 3M = -1,4%, 6M = -2,6% und 9M = 1,3% (Abb. 6.5.2 Anhang). Es ist keine Veränderung der RD zu beobachten bedingt durch BoNT-A Injektion.

Im Hirnareal **S** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $4462 \pm 736$  fmol/mg (Abb. 6.5.2 Anhang). Auch hier ist keine starke rechts-links Differenz zu verzeichnen (6,1%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung ebenfalls ähnlich 6,3% (Abb. 3.5.2) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit konstant: 1M = 6,6% und 3M = 6,0% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt -4,8% (Abb. 3.5.2) und ist somit im Verhältnis zur LV negativ. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = -5,7%, 3M = -7,5%, 6M = -5,4% und 9M = -0,1% (Abb. 6.5.2 Anhang).

Im Hirnareal **GP** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $1968 \pm 245$  fmol/mg (Abb. 6.5.2 Anhang). Auch hier ist keine starke rechts-links Differenz zu verzeichnen (0,5%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung -7,9% unter dem Normalwert links (Abb. 3.5.2) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit gesunken: 1M = -6,2% und 3M = -11,0% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt -4,6% (Abb. 3.5.2) und ist somit im Verhältnis zur LV um 3,3% geringer. Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = -12,8%, 3M = 2,0%, 6M = -7,4% und 9M = -3,7% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz der RD scheint sich nach BoNT-A Injektion im Verlauf wieder auszugleichen.

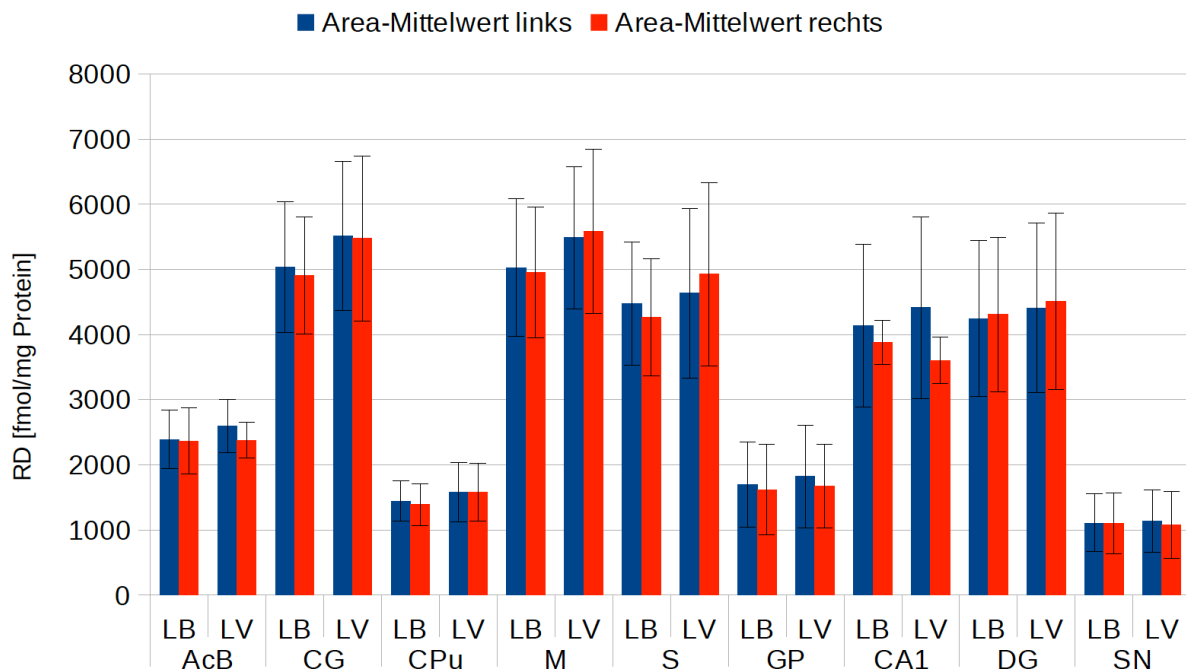
Im Hirnareal **CA1** liegt die mittlere RD der Gruppe K bei  $4209 \pm 810$  fmol/mg (Abb. 6.5.2 Anhang). Auch hier ist keine starke rechts-links Differenz zu verzeichnen (2,6%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung -18,3% unter dem Normalwert links (Abb. 3.5.2). Nach 1 Monat lag dabei der Unterschied bei -10,1% und nach 3 Monate bei -25,5% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz nach BoNT-A-Injektion ist im Mittel mit -6,3% insgesamt 12% niedriger im Vergleich zur LV Ratte (Abb. 3.5.2). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = 4,4%, 3M = -27,1%, 6M = 0,7% und 9M = 4,4% (Abb. 6.5.2 Anhang). Jedoch zeigt sich aufgrund der hohen Standardabweichung der Werte keine statistische Relevanz.

Die mittlere RD für das Areal **DG** beträgt  $3927 \pm 605$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.2 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,7%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei geringe 2,4% (Abb. 3.5.2). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit

betragen konstant: 1M = 2,1% und 3M = 2,4% (Abb. 6.5.2 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel ebenfalls keine signifikante rechts-links Differenz ermitteln können (1,4%) (Abb. 3.5.2). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten ebenfalls konstant: 1M = -1,1%, 3M = 0,9%, 6M = 3,8% und 9M = 2,0% (Abb. 6.5.2 Anhang).

Hirnareal **SN** beträgt die mittlere RD  $1127 \pm 193$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.2 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 2,5%. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt -5,2% (Abb. 3.5.2) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = -9,8% und 3M = 0,8% (Abb. 6.5.2 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen -0,5% (Abb. 3.5.2) und ist damit um 4,7% niedriger als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 3,0%, 3M = 4,2%, 6M = 6,1% und 9M = -14,2% (Abb. 6.5.2 Anhang). Aufgrund der hohen Standardabweichung der Werte besonders in der Gruppe LB9M zeigt sich hier keine statistische Relevanz.

### 3.5.3 Quantitative Betrachtung der Rezeptordichte für GABA B – Rezeptor ( $[^3\text{H}]$ -CGP52626)



**Abbildung 3.5.3: Darstellung der mittleren RD für den Ligand  $[^3\text{H}]$ -CGP52626 des GABA B – Rezeptors**

Die mittlere RD in fmol/mg Protein ist hier für die Versuchsgruppen LV und LB im Vergleich, jeweils für die linke und rechte Hemisphäre je Hirnareal, dargestellt. Die Tiere der Gruppe LB sind dabei 6-OHDA läsiert und mit BoNT-A therapiert. Tiere der Gruppe LV sind läsiert und mit einer Vehikellösung scheinbehandelt. Alle Daten stellen den Mittelwert  $\pm$  SD dar. Die statistische Analyse erfolgte mit post hoc ANOVA. Mit Sternchen markierte sind interhemisphärische Signifikanzen, dabei steht \* für  $p \leq 0,05$ , \*\* für  $p \leq 0,01$  und \*\*\* für  $p \leq 0,001$ . Statistisch signifikante Werte zwischen der rechten LV und LB sind mit # für  $p \leq 0,05$ , ## für  $p \leq 0,01$  und ### für  $p \leq 0,001$  markiert. Die einzelnen Werte sind im folgenden Text erläutert.

Die mittlere RD im **AcB** liegt bei  $4920 \pm 145$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.3 Anhang), dabei wurden keine signifikanten rechts-links Differenzen festgestellt (1,4%). Eine Abweichung von 4,7% der mittleren RD wurde bei der Versuchsgruppe LV festgestellt (Abb. 3.5.3). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit blieben konstant bei: 1M = 6,1% und 3M = 3,1% (Abb. 6.5.3 Anhang). Die Differenz zwischen rechter und linker Hemisphäre bei LB-Ratten ist mit 2,3% leicht gesunken (Abb. 3.5.3). Auch hier sieht man keine Veränderungen der Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit: 1M = 0,3%, 3M = 1,5%, 6M = 5,4% und 9M = 2,0% (Abb. 6.5.3 Anhang).

In der **CG**-Region beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $7921 \pm 689,5$  fmol/mg (Abb. 6.5.3 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (0,9%). Bei der Gruppe LV ist eine positive Differenz zur 6-OHDA läsionierten Seite von 5,8% zu verzeichnen (Abb. 3.5.3). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = 6,3% und 3M = 5,3% (Abb. 6.5.3 Anhang). Dagegen ist die positive Differenz in der Gruppe LB nahezu nicht mehr vorhanden bei nur 0,5% (Abb. 3.5.3). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 0,8%, 3M = 0,1%, 6M = 1,2% und 9M = -0,1% (Abb. 6.5.3 Anhang).

Im Hirnareal **CPu** liegt die mittlere RD bei  $3410 \pm 153$  fmol/mg Protein für die Gruppe K (Abb. 6.5.3 Anhang). Auch hier ist keine signifikante rechts-links Differenz zu verzeichnen (1,5%). In der Gruppe LV beträgt die Abweichung -0,5% (Abb. 3.5.3) und ist in Abhängigkeit der Überlebenszeit konstant: 1M = -1,7% und 3M = 0,7% (Abb. 6.5.3 Anhang). Die rechts-links Differenz der Gruppe LB beträgt ähnlich -0,9% (Abb. 3.5.3). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit sind: 1M = -3,5%, 3M = -0,2%, 6M = -2,0% und 9M = 3,1% (Abb. 6.5.3 Anhang).

Für das Hirnareal **M** ist die mittlere RD  $7434 \pm 667,5$  fmol/mg in der Gruppe K (Abb. 6.5.3 Anhang). Die rechts-links Differenz beträgt hier 6,1% und ist damit nicht signifikant. Die Abweichung in der Versuchsgruppe LV beträgt 7,7% (Abb. 3.5.3) und über die Überlebenszeit der Ratten betrachtet, ergaben sich folgende Werte: 1M = 7,2% und 3M = 8,1% (Abb. 6.5.3 Anhang). Die Differenz der Gruppe LB beträgt dagegen nur -0,5% (Abb. 3.5.3). Damit ist die RD um 7,5% negativer als bei den LV-Ratten. In Abhängigkeit des Alters wurden folgende Abweichungen bei den Dichtewerten ermittelt: 1M = 3,2%, 3M = 1,0%, 6M = -0,5% und 9M = -2,2% (Abb. 6.5.3 Anhang). Es ist keine Verbesserung der RD zu beobachten durch die BoNT-A Injektion, die RD nimmt im Verlauf ab.

In dem Areal **S** beträgt die mittlere RD für die Gruppe K  $6556 \pm 618,5$  fmol/mg (Abb. 6.5.3 Anhang), mit einer stark erhöhten rechts-links Differenz (24,8%). Bei der Gruppe LV ist eine Differenz von 7,7% zu verzeichnen (Abb. 3.5.3). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende fast konstante Abweichungen: 1M = 8,0% und 3M = 7,4% (Abb. 6.5.3 Anhang). Dagegen sinkt die Differenz in der Gruppe LB mit nur 4,8% (Abb. 3.5.3).

Im Einzelnen beträgt dies: 1M = 4,6%, 3M = 6,1%, 6M = -4,2% und 9M = 11,8% (Abb. 6.5.3 Anhang).

In dem Areal **GP** beträgt die mittlere RD für die Gruppe K  $1741 \pm 115$  fmol/mg (Abb. 6.5.3 Anhang), mit einer rechts-links Differenz von 3,0%. Bei der Gruppe LV ist eine Differenz von -7,7% zu verzeichnen (Abb. 3.5.3). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -9,0% und 3M = -6,3% (Abb. 6.5.3 Anhang). Dagegen erhöht sich die Differenz in der Gruppe LB weiter auf -9,6% (Abb. 3.5.3). Im Einzelnen beträgt dies konstant: 1M = -8,2%, 3M = -10,0%, 6M = -9,7% und 9M = -11% (Abb. 6.5.3 Anhang). Insgesamt scheint die BoNT-A Injektion zu einer Reduzierung der RD hier geführt zu haben.

Für das Hirnareal **CA1** beträgt die mittlere RD der Gruppe K  $6425 \pm 701$  fmol/mg (Abb. 6.5.3 Anhang). Hier ist keine rechts-links Differenz zu vermerken (4,7%). Auch ist keine größere Abweichung bei der Gruppe LV festzustellen (-5,3%) (Abb. 3.5.3). Nach 1 Monat war der Unterschied bei -2,5% und nach 3 Monaten bei -7,9% (Abb. 6.5.3 Anhang). Auch die Differenz nach BoNT-A-Injektion ist im Mittel mit 0,4% nicht signifikant (Abb. 3.5.3). Über längere Zeit gesehen, wurden folgende Abweichungen gemessen: 1M = 0,1%, 3M = 2,0%, 6M = 0,6% und 9M = -1,2% (Abb. 6.5.3 Anhang).

Die mittlere RD für das Areal **DG** beträgt in den Kontrollen  $7275 \pm 943$  fmol/mg (Abb. 6.5.3 Anhang), bei keiner signifikanten rechts-links Differenz (3,2%). Die Abweichung der Gruppe LV beträgt dabei -4,7% (Abb. 3.5.3). Die Dichtewerte bei längerer Überlebenszeit betrugen: 1M = -0,4% und 3M = -8,6% (Abb. 6.5.3 Anhang). Bei der Gruppe LB hat man im Mittel eine leicht positive rechts-links Differenz (1,4%) (Abb. 3.5.3). Hier waren die Dichtewerte in Abhängigkeit des Alters der Ratten: 1M = -0,7%, 3M = -0,7%, 6M = 4,8% und 9M = 2,4% (Abb. 6.5.3 Anhang).

Für die **SN** beträgt die mittlere RD für  $1445 \pm 212$  fmol/mg in den Kontrollen (Abb. 6.5.3 Anhang), mit keiner signifikanten rechts-links Differenz (5,1%). In der Gruppe LV ist eine

Differenz zur läsierten Seite von -7,1% zu verzeichnen (Abb. 3.5.3). In den jeweiligen Altersgruppen betrachtet, ergibt dies folgende Abweichungen: 1M = -3,7% und 3M = -11,3% (Abb. 6.5.3 Anhang). Die Differenz in der Gruppe LB ist mit -10,6% ebenfalls erhöht (Abb. 3.5.3). Im Einzelnen beträgt dies: 1M = -6,8%, 3M = -14,2%, 6M = -13,8% und 9M = -4,3% (Abb. 6.5.3 Anhang). Die Werte zeigten sich auf Grund von hoher Standardabweichungen in der statistischen Auswertung als nicht signifikant.

#### **4. Diskussion**

Im Nachfolgenden werden die autoradiographisch ermittelten Rezeptordichten für 5HT<sub>2A</sub>, D<sub>1</sub>,  $\alpha$ <sub>1</sub>,  $\alpha$ <sub>2</sub> und GABA<sub>A</sub> diskutiert, sowie die Vor- und Nachteile des Studiendesigns diskutiert. Für die Rezeptoren A<sub>1</sub>, GABA<sub>A</sub> mit Benzodiazepin Bindungsstelle und GABA<sub>B</sub> zeigten sich keine relevante Veränderung nach BoNT-A oder Sham – Injektion an den zuvor 6-OHDA läsierten Ratten. Unauffällig zeigten sich die RD der drei Rezeptoren auch nach isolierter 6-OHDA Läsion oder isolierter BoNT-A Injektion in unserer Arbeitsgruppe (Findeisen, 2020; van Bonn, 2017).

##### **4.1 Beurteilung des Tiermodells und Studiendesign**

Als Grundlage aller Untersuchungen diente das am weitesten verbreitete 6-OHDA-Hemi-Parkinson-Modell der Ratte mit unilateraler stereotaktischer Injektion in das mediale Vorderhirnbündel. Hierbei handelte es sich um ein Neurotoxin-basiertes Tiermodell. Des Weiteren existieren auch genetisch-induzierte Tiermodelle für die Untersuchungen des Morbus Parkinson. Je nach Modell werden verschiedene Aspekte des Morbus Parkinson besser oder schlechter abgebildet. Die Auswahl des geeigneten Modells hängt von der Fragestellung ab und von unterschiedlichen Faktoren wie z.B. dem Grad der dopaminergen Neuronen Degeneration, dem Überwinden der Blut-Hirn-Schranke, der Bildung von Lewy-Körperchen oder dem Absinken der Dopaminkonzentration im Striatum.

Das Neurotoxin 6-OHDA besitzt eine hohe strukturelle Ähnlichkeit zu dem endogen vorkommenden Dopamin. Durch die Injektion von 6-OHDA in das mediale Vorderhirnbündel, folgt die selektive Aufnahme über Dopamin-Transporter in dopaminerge Neurone der Substantia nigra Pars compacta, dessen Axone in das Striatum ziehen. Durch Erhöhung des oxidativen Stresses und Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion, induziert 6-OHDA letztendlich die Apoptose von bis zu 98% der dopaminergen Neurone und Reduktion der Dopamin-Konzentration im ipsilateralen Striatum (Hernandez-Baltazar et al., 2017, Blandini et al., 2008).

Als großer Vorteil der lokalen Gabe von 6-OHDA ist die daraus resultierende hohe Selektivität für das nigrostriatale dopaminerge System. Hierdurch können pharmakologisch – induzierte funktionelle Störungen der dopaminergen Neurotransmission, die durch eine

systematische Applikation von bspw. Reserpin auftreten würden, verhindert werden. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass verschiedene Stadien des Morbus Parkinson im Seitenvergleich, in Abhängigkeit der injizierten 6-OHDA Dosis dargestellt werden und Veränderung von Rezeptordichten untersucht werden können. Des Weiteren wird das 6-OHDA Modell auch zur Wirkungsforschung möglicher Parkinsontherapien verwendet, wie bei der Substitution mit L-Dopa oder bei der Tiefenhirnstimulation. Damit eignet sich das Tiermodell zur Erforschung der Wirkung des von uns verwendeten BoNT-A. Es bietet die Möglichkeit ein Teilaspekt der Erkrankung isoliert zu untersuchen und Rückschlüsse auf Ursache und Wirkung der nigrostriatalen Degeneration zu treffen.

Der Nachteil des 6-OHDA-Hemi-Parkinson-Modell ist, dass ein einziges Tiermodell nicht alle komplexen Aspekte des Morbus Parkinson widerspiegeln kann. In erster Linie steht hier das Fehlen von Lewy-Körperchen sowie die unphysiologische Progressivität der Degeneration dopaminergener Neuronen nach nur 12 Stunden (Hartung, 2008). Des Weiteren beschränkt sich das Modell nur auf das nigrostriatale System. Im Verlauf des Morbus Parkinson kommt es progredient zur Beeinträchtigung mehrerer neuronaler Strukturen, welche in diesem Modell nicht erfasst werden. Zu diesen bedeutsamen Strukturen zählen die Area tegmentales ventrales, der primär motorische und somatosensorische Kortex, pedunculopontinale Kerne und nicht dopaminerge Neuronen. Des Weiteren werden kognitive Beeinträchtigungen nicht berücksichtigt, so bleibt z.B. eine Schädigung des Nucleus basalis (Meynert) aus. Dieser zählt zu den wichtigsten ACh-produzierenden Kernen und zeigt mit Fortschreiten des Morbus Parkinson eine Dysfunktion auf (Schulz et al., 2018). Diese Schädigung bleibt aufgrund der hohen dopaminergen Selektivität bei 6-OHDA aus.

Um Tiermodelle zur Auswertung menschlicher Erkrankungen zu verwenden, müssen Unterschiede und Ähnlichkeiten beider biologischen Systeme evaluiert werden. Obwohl sich zwischen den beiden Spezies die Größe und Form unterscheiden, haben Forschungen gezeigt, dass der Aufbau und die Physiologie des Rattenhirns dem des Menschen ähnelt (Bayer et al., 1993). Hierbei verfügen sie über ähnliche Hirnregionen, Nervenbahnen und die selben Neurotransmitter mit den entsprechenden Rezeptor-Systeme (Semple et al., 2013). Auch in der klinischen Ausprägung bei den Ratten zeigte sich in Bezug auf

die Symptomatik, ähnlich wie beim Menschen, motorische Einschränkungen der Vorderpfoten (Antipova et al., 2013). Des Weiteren erfolgte in unserem Modell die Läsion unilateral an den Ratten, beim Menschen beginnt der Morbus Parkinson häufig einseitig (Heinrichs- Graham et al., 2017). Gewisse Grenzen bei der Übertragbarkeit bestehen, da es sich um eine Erkrankung handelt, welche so physiologisch nicht in der Tierwelt auftritt und dessen Ätiopathogenese selbst beim Menschen nicht vollständig geklärt ist. Außerdem handelte es sich in dieser Studie um junge, adulte männliche Ratten aus Inzuchtstämmen. Dies erweist sich als vorteilhaft, um weitgehend standardisierte Gruppen zu schaffen und Fehlerquellen zu minimieren, birgt jedoch den Nachteil an einer geringen genetischen Varianz wie bei den menschlichen Patienten, dessen Erkrankung sich erst im späteren Lebensstadium manifestiert.

Als nächsten Schritt zur Prüfung der Übertragbarkeit würde sich eine Tiermodellstudie am Primaten anbieten, welches jedoch ethische Schwierigkeiten birgt. Somit stellt das 6-OHDA-Hemi-Parkinson-Modell der Ratte als Säugetier aktuell die geeignetste Versuchsgruppe dar.

Über die theoretischen Limitationen hinaus bestehen auch Limitationen in der Praktikabilität und Umsetzung. Die quantitative Rezeptorautoradiographie ist eine in-vitro- Messung, in dem das Bindungsverhalten von Liganden an ihren Rezeptoren nach dem Tod der Tiere und Schnittaufbereitung untersucht wird. Durch die verursachte Hypoxie oder auch Verarbeitung des Materials nach Entnahme sind Veränderungen in der Rezeptorstabilität möglich (Manuel et al., 2015; Sovago et al., 2001). Dabei scheint die Kryokonservierung keine Wirkung auf die Rezeptorstabilität zu haben (McKinney und Raddatz, 2006), weshalb auch in unserer Studie die Schnitte umgehend nach Entnahme in Isopentan eingefroren und bei -80°C gelagert wurden.

Ebenfalls von großer Bedeutung ist die Methode der indirekten Rezeptordichtemessung. Grauwerte der Autoradiogramme werden unter Verwendung eines Eichstandards mit bekannter Radioaktivität in eine Ligandenkonzentration übersetzt (Zilles et al., 1991). Von der Radioaktivitätskonzentration der markierten Liganden wird auf eine Rezeptordichte

geschlossen. Verschiedene externe Faktoren wie Temperatur, pH oder Lichtverhältnisse können zu einem Affinitätsverlust der Liganden führen und damit auch Reduktion der Ligandenbindung (McKinney und Raddatz, 2006). Endogene Liganden, die trotz Waschvorgänge noch im Gewebe vorliegen, können ebenfalls als Kompetitor wirken und die Ligandenbindung verhindern. Des Weiteren verlieren Liganden mit zunehmender Konzentration ihre Selektivität für einen spezifischen Rezeptor und können auch unspezifisch an Gewebebestandteile binden (Manuel et al., 2015). Das Ausmaß dieser unspezifischen Bindung kann durch Herstellung eines weiteren Bildes dargestellt werden.

Die gemessenen Grauwerte der exponierten Filmfolien werden beeinflusst durch die Expositionszeit, die Emissionsstärke, den Abstand der Strahlenquelle zum Film und die Filmdicke (Manuel et al., 2015). Daher ist es wichtig für die Vergleichbarkeit der Werte, die Hirnschnitte gemeinsam mit denen zur Kalibrierung genutzten Standards auf einer Folie zu inkubieren. Als letzter Punkt müssen noch entstandene Artefakte einbezogen werden, wie zum Beispiel Luftblasen, Verunreinigungen oder Risse, welche vereinzelt Schnitte betreffen. Dies erschwert den Vergleich der absoluten Werte innerhalb und auch außerhalb im Vergleich zu anderen Studien.

Dennoch eignet sich die Methode der quantitativen Rezeptorautoradiographie, trotz der genannten Einschränkungen gut zur Darstellung von Veränderungen der Rezeptordichte. Im 6-OHDA-Hemi-Parkinson-Modell dient vor allem die kontralaterale Seite als Kontrollvergleich. Hiermit können dynamische Entwicklungen wie Hoch- oder Herunterregulation gut verglichen werden.

#### **4.2 Diskussion Rezeptordichte 5HT2-A**

Dieser serotonerge Rezeptor wurde in unserer Studie durch den Rezeptorantagonisten [<sup>3</sup>H]-Ketanserin sichtbar gemacht und in mehreren Regionen (AcB, Cpu, M, S, CG, GP, CA1, DG, SN) gemessen. Die Ergebnisse der LV Ratten entsprach gemäß der entsprechenden Literatur den mittleren RD Werte für Cortexareale, CPu und AcB und in höhere Dichte GP, hippocampale Regionen und SN (Kish et al., 2008; Li et al., 2012; Cremer et al., 2015). In vielen Studien zuvor wurde bereits die Wirkung einer dopaminergen Depletion auf die Expression des serotonergen 5-HT<sub>2a</sub> Rezeptor untersucht, teilweise mit

gegensätzlichen Ergebnissen. In der Studie von Radja et al. (1993) konnte nach neonataler Zerstörung des nigrostriatalen Systems in adulten Ratten eine Erhöhung des striatalen 5HT2A Expression von 60% bemessen werden. Ähnlicherweise konnte auch in anderen Studien eine gesteigerte Konzentration von kodierender mRNA im Zytosol festgestellt werden für den 5HT2A-Rezeptor im Striatum (Numan et al., 1995; Zhang et al., 2007). Hieraus wurde geschlussfolgert, dass Dopamin normalerweise eine inhibierende Wirkung auf die Expression des 5HT2A-Rezeptor hat und durch den Wegfall der dopaminergen Innervation es zu einer Überexpression des 5HT2A-Rezeptor führt. Gegensätzlich wurden in Studien an Sprague-Dawley Ratten eine Reduktion der 5HT2A Rezeptordichte im CG von 18,2%, S von 17,7% und CPu von 14,5% beschrieben, 3 Wochen nach 6-OHDA Läsion (Li et al., 2010). Es zeigten sich des Weiteren keine signifikanten Veränderungen im M oder AcB (Li et al., 2010). Eine deutlich signifikantere Reduktion der CPu RD wurde in einer Studie durch Cremer et al. (2015) an Pitx3<sup>ak</sup>-Mäusen beschrieben mit 48%. Weitere Areale wie sensomotorische Kortexareale, hippocampale Areale oder die Substantia nigra waren nicht von Veränderungen signifikant betroffen (Cremer et al., 2015). Ursachen für diese unterschiedlichen Ergebnisse der genannten Untersuchungen sind divers. Als Erklärungsansatz käme in Frage: die Nutzung von unterschiedlichen Versuchstieren wie Sprague-Dawley Ratten bei Bauer et al. (2005), unterschiedliche Dosierung von 6-OHDA mit 32µg bei Li et al. (2010) (wohingegen in unserer Studie nur 24µg verwendet wurden), Unterschiede in der Hirnschnittherstellung oder unterschiedliche Beobachtungszeiträume. Somit ist die absolute Vergleichbarkeit der Werte hierdurch erschwert.

Postmortale Gewebsschnitte von Morbus Parkinson erkrankten Patienten zeigten ebenfalls widersprüchliche Ergebnisse. In postmortalen Gewebsschnitten wurden zum Beispiel erhöhte RD für 5HT2A-Rezeptoren im motorischen Kortex postuliert, bei unveränderter RD im CPu und SN (Huot et al., 2010). Dem voraus konnte ebenfalls eine konstante RD im CPu durch Maloteaux et al. (1988) konstatiert werden. Obwohl keine reduzierte RD gemessen wurde, zeigten sich in postmortalen Untersuchungen verringerte Serotoninspiegel, Serotoninmetabolite und Vehikeltransporter (Kish et al., 2008; Mann et al., 2018). In anderen Studien wiederum wurde ein 5HT2A-Rezeptor Verlust im CPu, GP und SN (Fahn et al., 1971), sowie auch CG und Hippocampus (Scatton et al., 1983) beschrieben.

In unserer Arbeitsgruppe zeigte sich ein Abfall der 5HT-2A RD in 6-OHDA läsierten Ratten konstant im CPu von 49%, AcB 41% und SN von 40%. Diese Ergebnisse stimmen gut mit denen von Li et al. (2012) und Cremer et al. (2015) überein. Aus der Literatur geht hervor, dass eine größere Menge von striatalen 5HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren auf dopaminergen Neuronen lokalisiert sind (Ennis et al., 1981; Fink und Göthert, 2007). Ergebnisse von Cremer et al. (2015) deuten stark auf einen präsynaptischen Sitz des Rezeptors auf dopaminerge Enden hin. Durch die Injektion von 6-OHDA in das MFB kommt es also zum selektiven Absterben dieser dopaminergen Neuronen, was sich in unserer konstant niedrig gemessenen RD widerspiegelt, über einen langen Beobachtungszeitraum. Die restlich gemessene RD lässt sich durch eine Studie von Bubser et al. (2001) erklären. Hier wird nach wie vor die überwiegende Lokalisation auf striatalen Afferenzen beschrieben, aber auch eine Lokalisation auf intrinsischen striatalen Neuronen. Außerdem wurde die Lokalisation auf inhibitorische Interneurone beschrieben (Fink und Göthert, 2007).

Des Weiteren deuten die Abnahme der RD im AcB und SN auf eine präsynaptische Lokalisation an dopaminergen Enden hin. Zusätzlich wird eine inhibierende Wirkung von Serotonin im SN vermutet (Arborelius et al., 1993). Durch die Depletion der dopaminergen Neurone durch 6-OHDA werden nun die direkten bzw. indirekten Verschaltungsschleifen der Basalganglien vermindert bzw. vermehrt respektive aktiviert. Unter Annahme dieser inhibitorischen Funktion könnte die reduzierte 5HT<sub>2A</sub> RD in der SN auch die verringerte kompensatorische Rückkopplung zu den dopaminergen Rezeptoren im CPu erklären.

In jedem Fall ist bekannt, dass eine gegenseitige Wechselwirkung zwischen dem serotonergen und dopaminergen System besteht und sich Läsionen am nigrostriatalen System auf die Dichte von 5HT<sub>2A</sub> Rezeptoren auswirken (Ng et al., 1999; Li et al., 2010). Des Weiteren ist auch die Korrelation zwischen Beeinträchtigungen des serotonergen Systems bekannt mit Auftreten von Depressionen.

Studien, welche die Wechselwirkung zwischen BoNT-A und dem serotonergen System untersuchen, liegen aktuell noch nicht vor. In der Versuchsreihe der LB und LV Ratten zeigten sich signifikante Veränderungen für die Bereiche CPu, AcB und SN. Hierbei lag

die rechts-links Differenz in der Region CPu in der Gruppe LV (49,4%) und LB (52,3%), sowie in der Region AcB in der Gruppe LV (38,9%) und LB (37,3%) weitgehend im Einklang mit den 6-OHDA läsierten Ratten (CPu = 49%, AcB = 41%). Hier zeigt weder das Neurotoxin BoNT-A noch die invasive stereotaktische Applikation eine positive oder negative Wirkung im Zeitraum von 9 Monaten auf die RD von 5HT2A zu haben scheint. In der SN wurde in der Gruppe LV eine rechts-links Differenz von 46,2% bestimmt, passend hierzu lag die Differenz in der Gruppe der isoliert läsierten Ratten bei 40%. In der Gruppe LB konnte hier eine signifikante Besserung der RD gemessen werden auf 21,5%. Diese zeigte sich im zeitlichen Verlauf stabil bis zum 9 Monate vorhanden bei 24,5%. Im Übrigen zeigte sich keine signifikante Verschlechterung der RD für 5HT2A in der kontralateralen Seite, welches nochmals die lokale Wirkung von BoNT-A unterstreicht. Zusammenfassend zeigte BoNT-A keine negativen Wirkungen auf das serotonerge System und verschaffte eine Ausgleiung der RD in der SN. Somit stehen die Ergebnisse im Einklang mit den positiven Beobachtungen in den Verhaltenstest (Wree et al., 2011) und dienen als theoretischen Ansatz zur Behandlung der Depression als Komorbidität vom Morbus Parkinson (Richard et al., 2012).

#### **4.3 Diskussion Rezeptordichte D<sub>1</sub>**

Der D<sub>1</sub> – Rezeptor, welcher durch den Rezeptorantagonisten [3H]-SCH23390 sichtbar gemacht wurde, wurde in den folgenden Hirnregionen untersucht; AcB, CPu, GP und SN. In bisherigen Studien wurde die RD von dopaminergen D<sub>1</sub> – Rezeptor vorwiegend im CPu untersucht. Hierbei wurden erneut gegensätzliche Ergebnisse beschrieben. In unserer Arbeit wurde für das CPu postläsional eine Erhöhung der RD gemessen, welches mit zunehmendem Alter der Ratten wieder abnahm und sich dem Ausgangswert näherte (Mann et al., 2018). Ähnliche Verläufe zeigten sich in Studien von Fornaretto et al. (1993). In Studien von Araki et al. (2000) führte die Läsion mit 6-OHDA nach 2 und 4 Wochen ebenfalls zu einem Anstieg der ipsilateralen RD für D<sub>1</sub> – Rezeptoren, welcher nach 8 Wochen wieder abnahm. Einen längeren Anstieg der RD konnte in einer Studie von Narang und Wamsley (1995) verzeichnet werden. Hier kam es nach unilateraler Injektion von 6-OHDA in das MFB bereits in der ersten Woche zu einer Hochregulation, welche bis zur 16. Woche anhielt. Demgegenüber verzeichneten Gagnon et al. (1991) nur einen geringfügigen Anstieg der RD von 12%, jedoch lag hier der Tötungszeitpunkt mit 4 Wochen sehr früh. Unter ähnlichen zeitlichen Bedingungen fanden Savasta et al. (1988) keine

Veränderung der RD und Xu et al. (2005) sogar eine Reduktion der RD im CPu. Bezüglich weiterer Hirnareale konnte in der Literatur bei Fornaretto et al (1993) und Ryu et al. (1996) ein geringer Abfall der RD in der SN verzeichnet werden. Durch Araki et al. (2000) wurden keine Veränderungen in kortikalen Arealen beschrieben.

Die Ursache solch hoher Werteschwankungen sind wie bereits zuvor diskutiert divers und können erklärt werden durch die unterschiedlichen Beobachtungszeiträume, Rattenspezies, Autoradiogrammherstellung, Inkubationsmethoden, 6-OHDA Injektionsort und Differenzen der Dosis. So zeigte die Studie von Iwata et al. (1996) unterschiedliche Spannweiten der Hochregulation. Bei einem Zellverlust von 95% der dopaminergen Zellen wurde eine Hochregulation der RD vom D<sub>1</sub> – Rezeptor von 42% verzeichnet, während ein Zellverlust von ca. nur 75% der dopaminergen Zellen zu einer Hochregulation von 16% führte. An dieser Stelle sei auch erwähnt, dass der von uns verwendete Ligand SCH23390, sowohl D<sub>1</sub> – als auch D<sub>5</sub> – Rezeptoren bindet. Eine Trennung ist somit nicht eindeutig möglich (Xu et al., 2005). Die Werteschwankungen zwischen Vergleichsstudien werden nochmals unterstrichen beim Vergleich der Kontrollgruppen. Für unsere Kontrollgruppe ergab sich eine mittlere RD von 2137 fmol/mg Protein im Striatum. Diese lag in Studien von Savasta et al. (1988) und Araki et al. (2000) deutlich niedriger. Höhere RD wurden bei Bauer et al. (2005) mit 2798 fmol/mg Protein festgestellt und weitaus höher bei Cremer et al. (2015) mit 4227 fmol/mg Protein.

Letztendlich bleibt die Vergleichbarkeit schwierig, zumal nach aktuellem Stand keine Untersuchungen vorliegen über einen derzeit langen Untersuchungszeitraum von 9 Monaten. Dennoch scheint zusammenfassend die Tendenz, wie auch in unserer Arbeit, eine Hochregulation des nigrostriatalen Systems zu sein nach 6-OHDA Läsion. Hierfür wird ein ähnlicher Mechanismus vermutet wie bereits beschrieben bei der Hochregulation von D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> – Rezeptoren (Mann et al., 2018). Es wird eine Supersensitivität der D<sub>1</sub> – Rezeptoren diskutiert, die in Abhängigkeit zum Verlust der dopaminergen Neurone steht (Gagnon et al., 1991; Iwata et al., 1996). Ein weiterer Faktor könnte die bislang noch ungeklärte kontralaterale Einwirkung des nicht läsionierten Striatums sein. Es ist bekannt, dass Querverbindungen zwischen beiden nigrostriatalen Systeme bestehen (Gerlach et al., 2007). Somit ist ein axonaler Transport von 6-OHDA zur Gegenseite nicht ausgeschlossen,

oder eine kompensatorisch modulierende Wirkung der nicht läsierten Seite zur läsierten.

Bezüglich der Interaktion zwischen BoNT-A und  $D_1$  – Rezeptoren liegen nach aktuellem Stand keine Studien vor. In unserer Arbeitsgruppe konnte sich kein Einfluss von isolierter BoNT-A Injektion in gesunden Ratten zeigen. In der Versuchsgruppe LB und LV der 6-OHDA läsierten Ratten zeigte sich eine rechts-links Hochregulation im CPu und AcB von ca. 10%. Diese Werte entsprechen dem der unbehandelten läsierten Gruppe. Im GP konnten sich ebenfalls keine statistisch relevanten Unterschiede zeigen. In der SN zeigte sich in der Gruppe LV keine Veränderungen in der RD, jedoch in der Gruppe LB ein signifikanter Anstieg der rechts-links Differenz auf 18,2% mit anhaltender Wirkung bis zu 9 Monaten. Unter Einbezug der Supersensitivitäts Hypothese (Mann et al., 2018) von  $D_1$ , könnte man hypothetisch annehmen, dass BoNT-A hier einen therapeutischen Effekt haben könnte. Die Ergebnisse korrelieren mit den positiven Beobachtungen im Apomorphin-induzierten Rotationstest (Wree et al., 2011).

#### **4.4.1 Diskussion Rezeptordichte $\alpha_1$**

Der  $\alpha_1$  – Rezeptor wurde in unserer Studie mit dem Liganden [ $^3H$ ]-Prazosin in den Regionen CG, M, S, CPu, AcB, GP, CA1, DG und SN untersucht. Entsprechend unserer Ergebnisse, sowie auch der Literatur ist der Rezeptor am stärksten im CG und M Kortex exprimiert, sowie auch im Hippocampus (Waeber et al., 1991; Cremer et al., 2015). Die Auswirkung einer 6-OHDA Läsion wurde auf die exprimierte  $\alpha_1$  – Rezeptordichte bereits häufig untersucht. In einer Studie von U’Prichard et al. (1980) wurde der  $\alpha_1$  – Rezeptor mit dem Liganden [ $^3H$ ]-WB 4101 untersucht. In der Studie zeigte sich 6 Wochen nach bilateraler 6-OHDA Injektion in den Locus coeruleus männlicher Wistar Ratten ein signifikanter Anstieg der RD im frontalen Cortex von 45% und leichte Anstiege der RD im CPu und Hippocampus von ca. 12%. Dies konnte in einer Studie von Cash et al. (1986) ebenfalls bestätigt werden, jedoch zeigte sich hier keine Veränderung der RD im CPu. In einer weiteren Studie von Skolnick et al. (1978) erfolgte die 6-OHDA Injektion intraventrikulär. Nach Bindung mit dem Liganden [ $^3H$ ]-WB 4101 ergaben die autoradiographische Untersuchungen keine signifikante Veränderung der RD. In den Pitx3<sup>ak</sup>-Mäusen von Cremer et al. (2015) konnte als Reaktion der dopaminergen Depletion des nigrostriatalen Systems ein signifikanter

Anstieg der RD im CPu (8%), CA1 (8%), DG (11%) und SN (19%) festgestellt werden. Keine Veränderung zeigte sich im sensomotorischen Kortexareal (Cremer et al., 2015). Mögliche Erklärungen für diese Differenzen liegen wie bereits diskutiert in den unterschiedlichen Studiendesigns. An dieser Stelle bspw. hervorzuheben ist die intraventrikuläre Applikation von Skolnick et al. (1978). Diese führt zu einer diffusen zerebralen Verbreitung des 6-OHDA und nur einem variablen Untergang der dopaminergen Neurone (Yuan et al., 2005). Die bilaterale Injektion von 6-OHDA in den Locus coeruleus, wie bei U'Prichard et al. (1980), führt hingegen vorwiegend zu einer signifikanten Depletion von mesencephalen und striatalem Norepinephrin und sekundär zu einer geringen Reduktion des striatalen Dopamingehalts (Pucilowski et al., 1986).

Postmortale Untersuchungen der RD mit [<sup>3</sup>H]-Prazosin bei Parkinson Patienten zeigten insgesamt erhöhte zerebrale RD für  $\alpha_1$  (Cash et al., 1984). Diese wurden wiederum durch Waeber et al., (1991) widerlegt, hier wurde keine veränderte RD im CPu von Parkinson Patienten beschrieben.

In unserer Arbeitsgruppe wurde eine ipsilaterale Hochregulation von adrenergen  $\alpha_1$  – Rezeptoren gemessen in der Gruppe der 6-OHDA läsierten Ratten im CG (12%), M (12%), S (13%), CA1 (11%) und DG (6%). Die Regionen GP, AcB und CPu zeigten sich unverändert, und in der SN konnte ein signifikanter Abfall von -43% gemessen werden. Diese Ergebnisse lassen einen Sitz von  $\alpha_1$  – Rezeptoren auf den untergehenden nigrostriatalen dopaminergen Enden vermuten sowie eine kompensatorische Hochregulation kortikaler Gebiete, welche aus einer verminderten adrenergen Innervation hergeht.

In der Gruppe LB und LV konnten diese Ergebnisse weitgehend widerspiegelt werden. Eine ähnliche gleichbleibende Hochregulation konnte für die Regionen CG (12% LB, 13% LV), M (15% LB, 18% LV), S (10% LB, 19% LV), CA1 (12% LB, 11% LV) und DG (7% LB und LV) gemessen werden, sowie zusätzlich eine Hochregulation des AcB (15% LB, 10% LV). Keine Veränderungen zeigten sich im GP und CPu. In der SN ergab sich jedoch eine signifikante Gegenregulation der RD im Vergleich zu der läsierten Gruppe. Die RD der

Gruppe LV lag bei -25% und in der Gruppe LB nur noch bei -12%. Somit stützten unsere Ergebnisse die Behandlungsmöglichkeit von BoNT-A zum Ausgleich noradrenerger Defizite und damit verbundene motorische oder kognitive Defizite (Richard et al., 2012).

#### **4.4.2 Diskussion Rezeptordichte $\alpha 2$**

Der  $\alpha 2$  – Rezeptor wurde in unserer Studie mit dem Liganden [ $^3\text{H}$ ]-UK 14,304 in den Regionen CG, M, S, CPu, AcB, GP, CA1, DG und SN untersucht. Nach aktuellem Stand ist bisher noch wenig in der Literatur beschrieben über Veränderungen der  $\alpha 2$  – Rezeptordichte nach 6-OHDA Läsion. In einer Studie von Waeber et al. (1991) wurden  $\alpha 2$  – Rezeptoren 6 Wochen nach 6-OHDA Läsionierung in männlichen Wistar Ratten mittels [ $^3\text{H}$ ]-Clonidin untersucht. Es ergaben sich Veränderungen im Sinne einer Hochregulation der RD im frontalen Cortex von 59%. Keine Veränderung wurden im Hippocampus beschrieben (Waeber et al., 1991). In einer Studie von Alachkar et al. (2012) wurde 5 Wochen nach 6-OHDA Injektion eine erhöhte Expression von  $\alpha 2$  – mRNA im CPu festgestellt. Ältere experimentelle Studien mit Reserpin – behandelten Ratten zeigten ebenfalls erhöhte mRNA Konzentrationen in den Vorderhirnregionen (Hornykiewicz, 1963; Fahn et al., 1971; Jenner et al., 1983). In den Pitx3<sup>ak</sup>-Mäusen von Cremer et al. (2015) konnte jedoch keine Auswirkung einer dopaminergen Depletion auf die verschiedenen Hirnregionen beobachtet werden.

In unserer Arbeitsgruppe wurde eine ipsilaterale Hochregulation von adrenergen  $\alpha 2$  – Rezeptoren gemessen in der Gruppe der 6-OHDA läsierten Ratten im CG (14%), M (17%), CPu (15%), AcB (10%). Die Regionen GP, S, CA1 und DG zeigten sich unverändert, und in der SN konnte ein signifikanter Abfall von -37% gemessen werden. Diese Ergebnisse lassen ebenfalls einen Sitz von  $\alpha 2$  – Rezeptoren auf den untergehenden nigrostriatalen dopaminergen Enden vermuten sowie eine kompensatorischen Hochregulation kortikaler Gebiete, welche aus einer verminderten adrenergen Innervation hergeht.

Die Ergebnisse der Gruppe LB und LV zeigen ähnlich hochregulierte RD in den Regionen CG (19% LB, 15% LV), M (26% LB, 23% LV), CPu (25% LB, 21% LV), AcB (16% LB, 11% LV) und neu S (13% LB, 18% LV). Unverändert blieben die RD für GP, CA1 und DG. In der SN ergab sich jedoch eine signifikante Besserung der RD im Vergleich zu der läsierten

Gruppe. Die RD der Gruppe LV lag bei -22% und in der Gruppe LB nur noch bei -11%. Somit stützten unsere Ergebnisse erneut die Behandlungsmöglichkeit von BoNT-A zum Ausgleich noradrenerger Defizite.

#### **4.5 Diskussion Rezeptordichte GABA<sub>A</sub>**

Der GABA<sub>A</sub> – Rezeptor wurde in unserer Studie mit dem Liganden [<sup>3</sup>H]-Muscimol in den Regionen CG, M, S, CPu, AcB, GP, CA1, DG und SN untersucht. Die Auswirkung einer dopaminergen Depletion mittels 6-OHDA Läsion wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Pan et al. (1985) konnten in Sprague-Dawley Ratten 4 Wochen nach 6-OHDA Läsionierung, ipsilateral eine Abnahme der RD von 44% im GP und 19% im CPu feststellen. Yu et al. (2001) führte rezeptorautoradiographische Untersuchungen mit dem Liganden [<sup>3</sup>H]-Flunitrazepam durch, und stellte 5-10 Wochen nach Läsionierung ein Abfall der GABA<sub>A</sub> - Rezeptordichte von 16% im GP und 20% im CPu fest. Ähnliche Veränderungen der RD konnten mit dem Liganden [<sup>3</sup>H]-Flunitrazepam in postmortalen Untersuchungen von Parkinson Patienten im Putamen festgestellt werden (Gnanalingham und Robertson, 1993). Eine Hochregulation wiederum wurde vorwiegend in genetisch veränderten PD-Mäusen beschrieben (Stasi et al., 1999). Zum Beispiel wurde in den Pitx3<sup>ak</sup>-Mäusen von Cremer et al. (2015) mit dem agonistischen Liganden [<sup>3</sup>H]-Muscimol erhöhte RD im M (31%) und S (28%) gemessen. Mit einem antagonistischen Liganden [<sup>3</sup>H]-SR 95531 wurden zudem Erhöhungen der RD im CA1 (21%) und DG (69%) beschrieben. Diese Ergebnisse wurden als eine kompensatorische verstärkte zerebrale GABA<sub>A</sub> – Rezeptorexpression gedeutet in Folge einer Reduktion des zerebralen GABA-Spiegels im Rahmen des Morbus Parkinson (de Jong et al., 1984; Gerlach et al., 1996; Cremer et al., 2015).

In unserer Arbeitsgruppe zeigten sich in der Gruppe der 6-OHDA läsierten Ratten ähnliche Abnahmen der GABA<sub>A</sub> – RD im CPu (13%), AcB (12%) und GP (42%). Diese Abnahme kann teilweise durch Studien erklärt werden, in denen die Freisetzung von GABA nach dopaminergen Depletion zunahm (Tossman et al., 1986; Molina-Holgado et al., 1993). Die Ergebnisse der Gruppe LV und LB zeigten ähnliche rechts-links Differenzen im CPu (11% LB, 12% LV), AcB (6% LB, 4% LV). Im GP zeigt sich eine signifikante Gegenregulation der RD nach BoNT-A-Applikation (18% LB, 41% LV). Wie zuvor beschrieben, spielen die GABA<sub>A</sub> – Rezeptoren in der Verschaltung und Regulation der motorischen Schleife eine zentrale Rolle (Gerlach et al., 2007). Der Ausgleich des Defizites wäre ein Ansatz zur

Behandlung der motorischen Symptomatik. In den restlichen Hirnregionen blieben die Werte unverändert.

#### **4.6 Ausblick**

Durch die Studien unserer Arbeitsgruppe konnte ein weiterer Schritt nach vorne in der Erforschung der Pathologie und Behandlung des Morbus Parkinson auf neuronaler Rezeptorebene gemacht werden. Zusammenfassend wurde gezeigt, dass durch die Injektion von 6-OHDA die Rezeptordichten von multiplen Neurotransmittern beeinflusst wurden. Insbesondere zeigte sich eine Reduktion von GABA<sub>A</sub>, D<sub>1</sub>, 5HT<sub>2A</sub>,  $\alpha$ 1 und  $\alpha$ 2 Rezeptoren in essentiellen Arealen der motorischen Basalganglienschleife, welche im direkten Zusammenhang mit dem Untergang dopaminerger Neurone stehen (van Bonn, 2017). Diese Ergebnisse zeigten sich konform mit den pathologischen Beobachtungen im Apomorphin Rotationstest und Verhaltenstest (Wree et al., 2011). In einer weiteren Studie konnte eine negative Wirkung von intrastriataler BoNT-A Applikation an gesunden Ratten ausgeschlossen werden (Findeisen, 2020). Dass die Applikation eines Wirkstoffs keine Auswirkung auf die Rezeptordichte hat, konnte mit der Versuchsgruppe LV ebenfalls bestätigt werden.

Es konnte eine positive Wirkung von BoNT-A auf die Rezeptordichte von GABA<sub>A</sub>, D<sub>1</sub>, 5HT<sub>2A</sub>,  $\alpha$ 1 und  $\alpha$ 2 Rezeptoren in der läsionierten Hemisphäre festgestellt werden in wichtigen Kerngebieten der motorischen Basalganglienschleife wie der SN, CPU und GP. Die beobachtete positive Wirkung von BoNT-A auf die motorische und kognitive Leistung der Versuchstiere (Wree et al., 2011), kann somit auf die beschriebene positive Veränderung auf Rezeptorebene zurückgeführt werden. Die Erkenntnisse lassen eine Behandlungsmöglichkeit des Morbus Parkinson mittels BoNT-A oder intrastriataler Gabe eines anderen Wirkstoffes für die Zukunft offen.

Es ist geplant, die Versuche an weiteren Versuchstieren, u.a. Mäusen und Primaten fortzuführen, um artspezifische RD-Veränderung auszuschließen, und um eine Übertragung der Werte auf dem Menschen später zu ermöglichen. Des Weiteren ist es sinnvoll auch an anderen Tiermodellen zu forschen, welche sich nicht ausschließlich auf dem Untergang dopaminerger nigrostriataler Neuronen beschränkt. Weiterhin von Interesse bleibt die

Auswirkung der BoNT-A Applikation nach unilateraler 6-OHDA Läsion an anderen Rezeptoren, wie glutamatergen oder acetylcholinergen Rezeptoren, um die Wirkung von BoNT-A umfassend zu bewerten. Da teilweise eine nachlassende Wirkung von BoNT-A über 9 Monate festgestellt wurde, wäre ebenfalls die Wirkung von multiplen zeitversetzten Injektionen von Interesse.

## 5 Literaturverzeichnis

- Abeliovich, A., Schmitz, Y., Fariñas, I., Choi-Lundberg, D., Ho, W.H., Castillo, P.E., Shinsky, N., Verdugo, J.M., Armanini, M., Ryan, A., Hynes, M., Phillips, H., Sulzer, D., Rosenthal, A. (2000). Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*, 25 (1), 239-52. Doi: 10.1016/s0896-6273(00)80886-7.
- Alachkar, A., Brotchie, J.M., Jones, O.T. (2012). Changes in the mRNA levels of  $\alpha$  2A and  $\alpha$  2C adrenergic receptors in rat models of parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia. *J Mol Neurosci*, 46, 145-152. Doi: 10.1007/s12031-011-9539-x.
- Albin, R.L., Young, A.B., Penney, J.B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci*, 12, 366-375. Doi: 10.1016/0166-2236(89)90074-x.
- Angot, E., Brundin, P. (2009). Dissecting the potential molecular mechanisms underlying alpha-synuclein cell-to-cell transfer in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 15 (3), 143-147. Doi: 10.1016/S1353-8020(09)70802-8.
- Antipova, V., Hawlitschka, A., Mix, E., Schmitt, O., Dräger, D., Benecke, R., Wree, A. (2013). Behavioral and structural effects of unilateral intrastriatal injections of botulinum neurotoxin a in the rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci Res*, 91 (6), 838-847. Doi: 10.1002/jnr.23210.
- Antonucci, F., Cerri, C., Maya Vetencourt, J.F., Caleo, M. (2010). Acute neuroprotection by the synaptic blocker botulinum neurotoxin E in a rat model of focal cerebral ischaemia. *Neurosci*, 169, 395-401. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.04.059.
- Araki, T., Tanji, H., Kato, H., Imai, Y., Mizugaki, M., Itoyama, Y. (2000). Temporal changes of dopaminergic and glutamatergic receptors in 6-hydroxydopamine-treated rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol*, 10, 365-375. Doi: 10.1016/s0924-977x(00)00094-8.
- Arborelius, L., Chergui, K., Murase, S., Nomikos, G.G., Hook, B.B., Chouvet, G. (1993). The 5-HT<sub>1A</sub> receptor selective ligands, (R)-8-OH-DPAT and (S)-UH-301, differentially affect the activity of midbrain dopamine neurons. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 347, 353–362. Doi: 10.1007/BF00165384.
- Barnes, N.M., Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38 (8), 1083–1152. Doi: 10.1016/S0028-3908(99)00010-6.

- Bauer, A., Zilles, K., Matusch, A., Holzmann, C., Riess, O., Horsten, S. (2005). Regional and subtype selective changes of neurotransmitter receptor density in a rat transgenic for the Huntington's disease mutation. *J Neurochem*, 94, 639-650. Doi: 10.1111/j.1471-4159.2005.03169.x.
- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., Zhang, X. (1993). Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, 14, 83-144. PMID: 8361683.
- Benavides, J., Peny, B., Ruano, D., Vitorica, J., Scatton, B. (1993), Comparative autoradiographic distribution of central omega (benzodiazepine) modulatory site subtypes with high, intermediate and low affinity for zolpidem and alpidem. *Brain Res*, 604 (1-2), 240–250. Doi: 10.1016/0006-8993(93)90375-w.
- Berg, D., Becker, G., Zeiler, B., Tucha, O., Hofmann, E., Preier, M., Benz, P., Jost, W., Reiners, K., Lange, K.W. (1999). Vulnerability of the nigrostriatal system as detected by transcranial ultrasound. *Neurology*, 53 (5), 1026-31. Doi: 10.1212/wnl.53.5.1026.
- Berg, D., Becker, G. (2002). Perspectives on B-mode transcranial ultrasound. *Neuroimage*, 15, 463-473. Doi: 10.1006/nimg.2001.1014.
- Bertran, J. M., Alperovitch, A., Rocca, W.A. (1997). Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European Community Concerted Action on the Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 62, 10-15. DOI: 10.1136/jnnp.62.1.10.
- Bigalke, H., Dreyer, F., Bergey, G. (1985). Botulinum a neurotoxin inhibits non-cholinergic synaptic transmission in mouse spinal cord neurons in culture. *Brain Res.*, 360, 318–324. Doi:10.1016/0006-8993(85)91248-X.
- Birkmayer, W., Hornykiewicz, O. (1962). [The L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) effect in Parkinson's syndrome in man: On the pathogenesis and treatment of Parkinson akinesia]. *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr*, 203, 560-74. Doi: 10.1007/BF00343235.
- Blandini, F., Armentero, M. T. (2012). Animal models of Parkinson's disease. *The FEBS journal*, 279 (7), 1156-1166. Doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08491.x.

- Blandini, F., Armentero, M.T., Martignoni, E. (2008). The 6-hydroxydopamine model: News from the past. *Park Relat Disord*, 14 (2), 124-129.  
Doi: 10.1016/j.parkreldis.2008.04.015.
- Blandini, F., Nappi, G., Tassorelli, C., Martignoni, E. (2000). Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 62, 63-88.  
Doi: 10.1016/s0301-0082(99)00067-2.
- Blesa, J., Trigo-Damas, Quiroga-Varela, A., Jackson-Lewis, V.R. (2015). Oxidative stress and Parkinson's disease. *Front Neuroanat*, 9, 91. Doi: 10.3389/fnana.2015.00091.
- Borodic, G. E., Ferrante, R., Pearce, L. B., Smith, K. (1994). Histologic assessment of dose- related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum A toxin injections. *Mov Disord*, 9, 31-39. DOI: 10.1002/mds.870090106.
- Borycz, J., Pereira, M.F., Melani, A., Rodrigues, R.J., Köfalvi, A., Panlilio, L., Pedata, F., Goldberg, S.R., Cunha, R.A., Ferré, S. (2007). Differential glutamate-dependent and glutamate-independent adenosine A1 receptor-mediated modulation of dopamine release in different striatal compartments. *J Neurochem*, 101 (2), 355-63.  
Doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.04386.
- Boyson, S.J, McGonigle, P., Molinoff, P.B. (1986). Quantitative autoradiographic localization of the D1 and D2 subtypes of dopamine receptors in rat brain. *J Neurosci*, 6 (11), 3177-3188. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.06-11-03177.1986.
- Bozkurt, A., (2004). In-vitro Rezeptorautoradiographie und Konnektivitätsanalysen des Gyrus cinguli bei Makaken (Dissertationsschrift). Düsseldorf: C. & O. Vogt Institut für Hirnforschung der Heinrich-Heine-Universität.
- Braak, H., Tredici, K.D., Rüb, U, de Vos, R.A.I., Jansen Steur, E.N.H., Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 24, 197-211. Doi: 10.1016/s0197-4580(02)00065-9.
- Brigelius-Flohé, R. (1999). Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases, *Free Radic Biol Med*, 27 (9-10), 951-65. Doi: 10.1016/s0891-5849(99)00173-2.
- Brooks, D.J. (2004). Safety and tolerability of COMT inhibitors. *Neurology*, 13, 62, 39-46.  
Doi: 10.1212/wnl.62.1\_suppl\_1.s39.

- Bubser, M., Backstrom, J. R., Sanders-Bush, E., Roth, B. L., Deutch, A. Y. (2001). Distribution of serotonin 5-HT(2A) receptors in afferents of the rat striatum. *Synapse*, 39 (4), 297-304. Doi: 10.1002/1098-2396(20010315)39:4<297.
- Burré, J., Sharma, M., Tsetsenis, T., Buchman, V., Etherton, M. R., Südhof, T. C. (2010). Alpha-synuclein promotes SNARE- complex assembly in vivo and in vitro. *Science*, 329 (5999), 1663-1667. Doi: 10.1126/science.1195227.
- Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., Di Filippo, M. (2014). Direct and indirect pathways of basal ganglia; A critical reappraisal. *Nat Neurosci*, 17 (8), 1022-1030. Doi: 10.1038/nn.3743.
- Cash, R., Raisman, R., Lanfumey, L., Ploska, A., Agid, Y. (1986). Cellular localization of adrenergic receptors in rat and human brain. *Brain Res*, 370, 127–135. Doi: 10.1016/0006-8993(86)91112-1.
- Cash, R., Raisman, R., Lanfumey, L., Ploska, A., Agid, Y. (1986). Cellular localization of adrenergic receptors in rat and human brain. *Brain Res*, 370, 127-135. Doi: 10.1016/0006-8993(86)91112-1.
- Cash, R., Ruberg, M., Raisman, R., Agid, Y. (1984). Adrenergic receptors in Parkinson's disease. *Brain Res*, 322 (2), 269-275. Doi: 10.1016/0006-8993(84)90117-3.
- Chaddock, J. A., Marks, P. M. H. (2006). Clostridial neurotoxins: structure-function led design of new therapeutics. *Cellular and molecular life sciences*, 63 (5), 540-551. Doi: 10.1007/s00018-005-5505-5.
- Chao, Y., Gang, L., Na, Z. L., Ming, W. Y., Zhong, W. S., Mian, W. S. (2007). Surgical management of Parkinson's disease: update and review. *Interv Neuroradiol*, 13 (4), 359–368. Doi: 10.1177/159101990701300407.
- Christine, C.W., Starr, P.A, Larson, P.S., Eberling, J.L., Jagust, W.J., Hawkins, R.A., VanBrocklin, H.F., Wright, J.F., Bankiewicz, K.S., Aminoff, M.J. (2009). Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease. *Neurology*, 73 (20), 1662-1669. Doi: 10.1212/WNL.0b013e3181c29356.
- Comings, D.E., Comings, B.G., Muhleman, D., Dietz, G., Shahbahrami, B., Tast, D., Knell, E., Kocsis, P., Baumgarten, R., Kovacs, BW., et al. (1991). The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA*, 266 (13), 1793-800. Pmid: 1832466.

- Connolly, B.S., Lang, A.E. (2014). Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*, 311 (16), 1670-83. Doi: 10.1001/jama.2014.3654.
- Constantin, L., Bozzi, Y., Richichi, C., Viegi, A., Antonucci, F., Funicello, M., Gobbi, M., Mennini, T., Rossetto, O., Montecucco, C., Maffei, L., Vezzani, A., Caleo, M. (2005). Antiepileptic effects of botulinum neurotoxin E. *J Neurosci*, 25 (8), 1943-1951. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4402-04.2005.
- Conway, K. A., Harper, J. D., Lansbury, P. T. (1998). Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat Med*, 4 (11), 1318-1320. Doi: 10.1038/3311.
- Costa, J., Espírito-Santo, C., Borges, A., Ferreira, J. J., Coelho, M., Sampaio, C. (2005). Botulinum toxin type A versus anticholinergics for cervical dystonia. *Cochrane Database Syst Rev*, 1. Doi: 10.1002/14651858.CD004312.pub2.
- Cotzias, G.C., Van Woert, M.H., Schiffer, L.M. (1967). Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *N Engl J Med*, 276 (7), 374-379. Doi: 10.1056/NEJM196702162760703.
- Cremer, J. N., Amunts, K., Graw, J., Piel, M., Rösch, F., Zilles, K. (2015). Neurotransmitter receptor density changes in Pitx3ak mice--a model relevant to Parkinson's disease. *Neuroscience*, 285, 11-23. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.10.050.
- Critchley, E. M. (1991). Botulism. *Postgrad Medical Journal*, 67 (786), 401. Doi: 10.1136/pgmj.67.786.401.
- de Jong, P.J., Lakke, J.P., Teelken, A.W. (1984). CSF GABA levels in Parkinson's disease. *Adv Neurol*, 40, 427-430. Pmid: 6695622.
- de Rijk, M.C., Tzourio, C., Breteler, M.M., Dartigues, J.F., Amaducci, L., Lopez-Pousa, S., Manubens-Bertan, J.M., Alperovitch, A., Rocca, W.A. (1997). Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: the EUROPARKINSON Collaborative Study. European Community Concerted Action on the Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 62 (1), 10-15. Doi: 10.1136/jnnp.62.1.10.
- DeLong, M.R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.*, 13 (7), 281-285. Doi: 10.1016/0166-2236(90)90110-v.

- Deuschl, G., Bain, P., Brin, M. (1998). Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee. *Mov Disord*, 13 (3), 2-23. Doi: 10.1002/mds.870131303.
- Deutsche Gesellschaft für Neurologie. (2016). DGN S3-Leitlinie Idiopathisches Parkinson-Syndrom AWMF-Register-Nummer: 030-010. Berlin: Deutsche Gesellschaft für Neurologie.
- Dickerson, T. J., Janda, K. D. (2006). The Use of Small Molecules to Investigate Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets for Treatment of Botulinum Neurotoxin A Intoxication. *ACS Chem Biol*, 1, 359-369. Doi:10.1021/cb600179d.
- Dirnagl, U., Iadecola, C., Moskowitz, M. A. (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci*, 22 (9), 391-397. Doi: 10.1016/s0166-2236(99)01401-0.
- Dumartin, B., Doudnikoff, E., Gonon, F., Bloch, B. (2007). Differences in ultrastructural localization of dopaminergic D1 receptors between dorsal striatum and nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience letters*, 419 (3), 273-277. Doi:10.1016/j.neulet.2007.04.034.
- Duty, S., Jenner, P. (2011). Animal models of Parkinson's disease; A source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *B J Pharmacol*, 164, 1357-1391. Doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01426.x.
- Duvoisin, R. C. (1967). Cholinergic-anticholinergic antagonism in parkinsonism. *Arch Neurol*, 17 (2), 124-136. Doi: 10.1001/archneur.1967.00470260014002.
- Eells, J.B. (2003). The control of dopamine neuron development, function and survival: insights from transgenic mice and the relevance to human disease. *Curr Med Chem*, 10 (10), 857-870. Doi: 10.2174/0929867033457700.
- Eggert, K., Oertel, W., Reichmann, H. (2012). Leitlinien: Parkinson-Syndrome – Diagnostik und Therapie. AWMF-Registernummer: 030/010. Berlin: Deutsche Gesellschaft für Neurologie.
- EMA (2005). EMA annual report for 2004. London: European Medicines Agency.
- Engelender, S., Kaminsky, Z., Guo, X., Sharp, A.H., Amaravi, R.K., Kleiderlein, J.J., Margolis, R.L., Troncoso, J.C., Lanahan, A.A., Worley, P.F., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Ross, C.A. (1999). Synphilin-1 associates with alpha-synuclein and

- promotes the formation of cytosolic inclusions. *Nat Genet*, 22 (1), 110-114. Doi: 10.1038/8820.
- Ennis, C., Kemp, J. D., Cox, B. (1981). Characterisation of inhibitory 5- hydroxytryptamine receptors that modulate dopamine release in the striatum. *J Neurochem*, 36 (4), 1515-1520. Doi: 10.1111/j.1471-4159.1981.tb00594.x.
- Eslamboli, A., Romero-Ramos, M., Burger, C., Bjorklund, T., Muzyczka, N., Mandel, R. J., Baker, H., Ridley, R.M., Kirik, D. (2007). Long-term consequences of human alpha-synuclein overexpression in the primate ventral midbrain. *Brain*, 130 (3), 799-815. Doi: 10.1093/brain/awl382.
- Fahn, S., Cohen, G. (1992). The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann Neurol*, 32 (6), 804-812. Doi: 10.1002/ana.410320616.
- Fahn, S., Libsch, L.R., Cutler, R.W. (1971). Monoamines in the human neostriatum: topographic distribution in normals and in Parkinson's disease and their role in akinesia, rigidity, chorea, and tremor. *J Neurol Sci*, 14 (4), 427-55. Doi: 10.1016/0022-510x(71)90178-x.
- Fahn, S., Oakes, D., Shoulson, I., Kieburtz, K., Rudolph, A., Lang, A., Olanow, C.W., Tanner, C., Marek, K. (2004). Parkinson Study Group. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 351 (24), 2498-508. Doi: 10.1056/NEJMoa033447.
- Fahn, S. (2003). Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 991, 1-14. Doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07458.x.
- Ferre, S., Popoli, P., Tinner-Staines, B., Fuxe, K. (1996). Adenosine A1 receptor-dopamine D1 receptor interaction in the rat limbic system: modulation of dopamine D1 receptor antagonist binding sites. *Neuroscience letters*, 208 (2), 109-12. Doi: 10.1016/0304-3940(96)12577-5.
- Findeisen, J.I. (2020). Einfluss der intrastriatalen Botulinumneurotoxin-A-Applikation auf die Rezeptordichte im Hemi-Parkinson-Modell der Ratte, Universität Rostock, Verfügbar unter: [https://doi.org/10.18453/rosdok\\_id00003666](https://doi.org/10.18453/rosdok_id00003666).
- Fink, K.B., Göthert, M. (2007). 5-HT Receptor Regulation of Neurotransmitter Release. *Pharmacol Rev*, 59 (4), 360-417. Doi: 10.1124/pr.59.07103.

- Fornaretto, M.G., Caccia, C., Caron, M.G., Fariello, R.G. (1993). Dopamine receptors status after unilateral nigral 6-OHDA lesion hybridization study in the rat brain. *Mol Chem Neuropathol*, 19, 147-162. Doi: 10.1007/BF03160175.
- Fu, Z., Chen, C., Barbieri, J. T., Kim, J. P., Baldwin, M. R. (2009). Glycosylated SV2 and gangliosides as dual receptors for botulinum neurotoxin serotype F. *Biochemistry*, 48 (24), 5631-5641. Doi: 10.1021/bi9002138.
- Fujiyama, F., Fritschy, J. M., Stephenson, F. A., Bolam, J. P. (2000). Synaptic localization of GABA(A) receptor subunits in the striatum of the rat. *J Comp Neurol*, 416 (2), 158-172. Pmid: 10581463.
- Gagnon, C., Bédard, P.J., Rioux, L., Gaudin, D., Martinoli, M.G., Pelletier, G., Di Paolo, T. (1991). Regional changes of striatal dopamine receptors following denervation by 6-hydroxydopamine and fetal mesencephalic grafts in the rat. *Brain Research*, 558 (2), 251-263. Doi: 10.1016/0006-8993(91)90776-R.
- Gasser, T., Schwarz, J., Arnold, G., Trenkwalder, C., Oertel, W.H. (1992). Apomorphine test for dopaminergic responsiveness in patients with previously untreated Parkinson's disease. *Arch Neurol*, 49 (11), 1131-1134. Doi: 10.1001/archneur.1992.00530350045017.
- Gelb, D.J., Oliver, E., Gilman, S. (1999). Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol*, 56 (1), 33-39. Doi: 10.1001/archneur.56.1.33.
- Gerlach, M., Gsell, W., Kornhuber, J., Jellinger, K., Krieger, V., Pantucek, F., Vock, R., Riederer, P. (1996). A post mortem study on neurochemical markers of dopaminergic, GABA-ergic and glutamatergic neurons in basal ganglia-thalamocortical circuits in Parkinson syndrome. *Brain Res*, 741, 142-152. Doi: 10.1016/s0006-8993(96)00915-8.
- Gerlach, M., Reichmann, H., Riederer, P. (2003). *Die Parkinson-Krankheit*. Vienna: Springer Vienna. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-3746-8>.
- Gnanalingham, K.K., Robertson, R.G. (1993). Chronic continuous and intermittent L-3,4-dihydroxyphenylalanine treatments differentially affect basal ganglia function in 6-hydroxydopamine lesioned rats—An autoradiographic study using [3H]funitrazepam. *Neuroscience*, 57 (3), 673-681. Doi: 10.1016/0306-4522(93)90014-7.

- Goetz, C.G., Charcot, J.M., (1987). Charcot, the clinician: The Tuesday lessons. New York: Raven Press.
- Goetz, C.G., Lutge, W., Tanner, C.M. (1986). Autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Neurology*, 36, 73-75. Doi: 10.1212/wnl.36.1.73.
- Goetz, T., Arslan, A., Wisden, W., Wulff, P. (2007). GABAA receptors: structure and function in the basal ganglia. *Prog Brain Res*, 160, 21-4. Doi: 10.1016/S0079-6123(06)60003-4.
- Goldman-Rakic, P.S. (1999). The "psychic" neuron of the cerebral cortex. *Ann N Y Acad Sci*, 868, 13-26. Doi: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb11270.x.
- Gotham, A.M., Brown, R.G., Marsden, C.D. (1986). Depression in Parkinson's disease: a quantitative and qualitative analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 49 (4), 381-389. Doi: 10.1136/jnnp.49.4.381.
- Guridi, J., Lozano, A. M. (1997). A brief history of pallidotomy. *Neurosurgery*, 41 (5), 1169-1183. Doi: 10.1097/00006123-199711000-00029.
- Halliwel, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *J Neurochem*, 97 (6), 1634-1658. Doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x.
- Hara, M., Fukui, R., Hieda, E., Kuroiwa, M., Bateup, H.S., Kano, T., Greengard, P., Nishi, A. (2010). Role of adrenoceptors in the regulation of dopamine/DARPP-32 signaling in neostriatal neurons. *J Neurochem*, 113 (4), 1046-1059. Doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06668.x.
- Hartung, T. (2008). Vor- und Nachdenkliches ... zu Tierversuchen. *Altex.*, 25, 10-16. Doi:10.14573/altex.2008.1.10.
- Hedreen, J.C., DeLong, M.R. (1991). Organization of striatopallidal, striatonigral, and nigrostriatal projections in the macaque. *J Comp Neurol*, 304 (4), 569-595. Doi: 10.1002/cne.903040406.
- Heinrichs-Graham, E., Santamaria, P.M., Gendelman, H.E., Wilson, T.W. (2017). The cortical signature of symptom laterality in Parkinson's disease. *NeuroImage Clin*, 14, 433-440. Doi: 10.1016/j.nicl.2017.02.010.
- Hernandez-Baltazar, D., Zavala-Flores, L. M., and Villanueva-Olivo, A. (2017). The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: Novel findings in an older model. *Neurología*, 32 (8), 533-539. Doi:10.1016/J.NRLENG.2015.06.019.

- Hoehn, M.M., Yahr, M.D. (1967). Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 17 (5), 427-42. Doi: 10.1212/wnl.17.5.427.
- Hornykiewicz, O. (1963). Die topische Lokalisation und das Verhalten von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) in the Substantia nigra des normalen und Parkinsonkranken Menschen. *Wien Klin Wochenschr*, 75, 309-312. Pmid: 13954967.
- Hughes, A.J., Daniel, S.E., Kilford, L., Lees, A.J. (1992). Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 55 (3), 181-184. Doi: 10.1136/jnnp.55.3.181.
- Huot, P., Johnston, T.H., Darr, T., Hazrati, L.N., Visanji, N.P., Pires, D., Brotchie, J.M., Fox, S.H. (2010). Increased 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the temporal cortex of parkinsonian patients with visual hallucinations. *Movement Disorders*, 25 (10), 1399-140. Doi: 10.1002/mds.23083.
- Italian-Consensus-Guidelines (2003). Treatment of Parkinson's disease. *Neurol Sci*, 24 (3), 165-213. Doi: 10.1007/s100720300068.
- Iwata, S., Shimizu, T., Nomoto, M., Fukuda, T. (1996). Characteristic upregulation of dopamine D<sub>1</sub>-receptor in rat striatum after 6-hydroxydopamine treatment. *Japanese journal of pharmacology*, 71 (3), 255-258. Doi: 10.1254/jjp.71.255.
- Jaeger, D., Kita, H. (2011). Functional connectivity and integrative properties of globus pallidus neurons. *Neuroscience*, 198, 44–53. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.07.050.
- Jankovic, J. (2013). Medical treatment of dystonia. *Mov Disord*, 28 (7), 1001-1012. Doi: 10.1002/mds.25552.
- Javitch, J.A., D'Amato, R.J., Strittmatter, S.M., Snyder, S.H. (1985). Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 -tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82 (7), 2173-2177. Doi: 10.1073/pnas.82.7.2173.
- Jenner, P., Sheehy, M., Marsden, C.D. (1983). Noradrenaline and 5-Hydroxytryptamine modulation of brain dopamine function: implications for the treatment of parkinson's disease. *Br J clin Pharmacol*, 15 (2), 277-289. Doi: 10.1111/j.1365-2125.1983.tb05876.x.

- Kish, S.J., Tong, J., Hornykiewicz, O., Rajput, A., Chang, L.J., Guttman, M., Furukawa, Y. (2008). Preferential loss of serotonin markers in caudate versus putamen in Parkinson's disease. *Brain*, 131, 120-131. Doi: 10.1093/brain/awm239.
- Koller, W., Lang, A., Vetere-Overfield, B., Findley, L., Cleeves, L., Factor, S., Singer, C., Weiner, W. (1989). Psychogenic tremors. *Neurology*, 39 (8), 1094-1099. Doi: 10.1212/wnl.39.8.1094.
- Koller, W.C. (1986). Pharmacologic treatment of parkinsonian tremor. *Arch Neurol*, 43 (2), 126-7. Doi: 10.1001/archneur.1986.00520020020009.
- Kordower, J. H., Chu, Y., Hauser, R. A., Freeman, T. B., Olanow, C. W. (2008). Lewy body- like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nat Med*, 14 (5), 504-506. Doi: 10.1038/nm1747.
- Krüger, R., Vieira-Saecker, A.M., Kuhn, W., Berg, D., Müller, T., Kühnl, N., Fuchs, G.A., Storch, A., Hungs, M., Woitalla, D., Przuntek, H., Epplen, J.T., Schöls, L., Riess, O. (1999). Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined alpha-synuclein/apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol*, 45 (5), 611-617. Doi: 10.1002/1531-8249(199905)45:5<611::aid-ana9>3.0.co;2-x.
- Kunugi, H., Nanko, S., Ueki, A., Otsuka, E., Hattori, M., Hoda, F., Vallada, H.P., Arranz, M.J., Collier, D.A. (1997). High and low activity alleles of catechol-O-methyltransferase gene: ethnic difference and possible association with Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 221 (2-3), 202-204. Doi: 10.1016/s0304-3940(96)13289-4.
- Lacey, C.J., Boyes, J., Gerlach, O., Chen, L., Magill, P.J., Bolam, J.P. (2005). GABAB receptors at glutamatergic synapses in the rat striatum. *Neuroscience*, 136 (4), 1083-1095. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.07.013.
- de Lau, L.M.L., Breteler, M.M.B., (2006): Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*, 5 (6), 525-535. Doi: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9.
- Le Couteur, D.G., Leighton, P.W., McCann, S.J., Pond, S.M. (1997). Association of a polymorphism in the dopamine-transporter gene with Parkinson's disease. *Mov Disord*, 12 (5), 760-763. Doi: 10.1002/mds.870120523.
- Lemke, M.R., Wendorff, T., Linnemann, M. (2002). Lokomotion und Depression - Klinik und Physiologie des Ganges bei Morbus Parkinson und affektiven Störungen -

[Locomotion and depression. Clinical and physiological aspects of gait alterations in Parkinson's disease and major depression]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 70 (6) 289-296. Doi: 10.1055/s-2002-32025.

Leroy, E., Boyer, R., Auburger, G., Leube, B., Ulm, G., Mezey, E., Harta, G., Brownstein, M.J., Jonnalagada, S., Chernova, T., Dehejia, A., Lavedan, C., Gasser, T., Steinbach, P.J., Wilkinson, K.D., Polymeropoulos, M.H. (1998). The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature*, 395 (6701), 451-452. Doi: 10.1038/26652.

Levy, R., Hazrati, L.N., Herrero, M.T., Vila, M., Hassani, O.K., Mouroux, M., Ruberg, M., Asensi, H., Agid, Y., Feger, J., Obeso, J.A., Parent, A., Hirsch, E.C. (1997). Re-evaluation of the functional anatomy of the basal ganglia in normal and Parkinsonian states. *Neuroscience*, 76 (2), 335-343. Doi: 10.1016/s0306-4522(96)00409-5.

Li, L., Qiu, G., Ding, S., Zhou, F.M. (2012). Serotonin hyperinnervation and upregulated 5-HT<sub>2A</sub> receptor expression and motor-stimulating function in nigrostriatal dopamine-deficient *Pitx3* mutant mice. *Brain Res*, 1491, 236-250. Doi: 10.1016/j.brainres.2012.11.010.

Li, Y., Huang, X.F., Deng, C., Meyer, B., Wu, A., Yu, Y., Ying, W., Yang, G.Y., Yenari, M.A., Wang, Q. (2010). Alterations in 5-HT<sub>2A</sub> receptor binding in various brain regions among 6-hydroxydopamine- induced Parkinsonian rats. *Synapse*, 64 (3), 224-230. Doi: 10.1002/syn.20722.

Lim, K.L., Chew, K.C., Tan, J.M., Wang, C., Chung, K.K., Zhang, Y., Tanaka, Y., Smith, W., Engelender, S., Ross, C.A., Dawson, V.L., Dawson, T.M. (2005). Parkin mediates nonclassical, proteasomal-independent ubiquitination of synphilin-1: implications for Lewy body formation. *J Neurosci*, 25 (8), 2002-2009. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4474-04.2005.

Limousin, P., Pollak, P., Pfefen, J.P., Tournier-Gervason, C.L., Dubuis, R., Perret, J.E. (1995). Acute administration of levodopa-benserazide and tolcapone, a COMT inhibitor, Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol*, 18 (3), 258-265. Doi: 10.1097/00002826-199506000-00006.

- Lozano, A. M., Lang, A. E., Galvez-Jimenez, N., Miyasaki, J., Duff, J., Hutchinson, W. D., Dostrovsky, J. O. (1995). Effect of GPi pallidotomy on motor function in Parkinson's disease. *Lancet*, 346 (8987), 1383-1387. Doi: 10.1016/s0140-6736(95)92404-3.
- Lyras, L., Zeng, B.Y., McKenzie, G., Pearce, R.K., Halliwell, B., Jenner, P. (2002). Chronic high dose L-DOPA alone or in combination with the COMT inhibitor entacapone does not increase oxidative damage or impair the function of the nigro-striatal pathway in normal cynomolgus monkeys. *J Neural Transm*, 109 (1), 53-67. Doi: 10.1007/s702-002-8236-2.
- Mallet, N., Ballion, B., Le Moine, C., Gonon, F. (2006). Cortical inputs and GABA interneurons imbalance projection neurons in the striatum of parkinsonian rats. *J Neurosci*, 26 (14), 3875-3884. Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4439-05.2006.
- Maloteaux, J.M., Laterre, E.C., Laduron, P.M., Javoy-Agid, F., Agid, Y. (1988). Decrease of serotonin- S2 receptors in temporal cortex of patients with Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord*, 3 (3), 255-262. Doi: 10.1002/mds.870030310.
- Mann, T., Zilles, K., Dikow, H., Hellfritsch, A., Cremer, M., Piel, M., Rösch, F., Hawlitschka, A., Schmitt, O., Wree, A. (2018). Dopamine, Noradrenaline and Serotonin Receptor Densities in the Striatum of Hemiparkinsonian Rats following Botulinum Neurotoxin-A Injection. *Neuroscience*, 374, 187-204. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.01.053.
- Manuel, I., Barreda-Gomez, G., Gonzalez de San Roman, E., Veloso, A., Fernandez, J.A., Giralt, M.T., Rodriguez-Puertas, R. (2015). Neurotransmitter receptor localization; From autoradiography to imaging mass spectrometry. *ACS Chem Neurosci*, 6 (3), 362-373. Doi: 10.1021/cn500281t.
- Marino, B., de Souza, L.R., Sousa, K., Ferreira, J.V., Padilha, E.C., da Silva, C., Taft, C. A., Hage-Melim, L. (2020). Parkinson's Disease: A Review from Pathophysiology to Treatment. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 20 (9), 754-767. Doi: 10.2174/1389557519666191104110908.
- Marshall, F.H., White, J., Main, M., Green, A., Wise, A. (1999). GABA(B) receptors function as heterodimers. *Biochem Soc Trans.*, 27 (4), 530-535. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10917635>.

- McKinney, M., Raddatz, R. (2006). Practical aspects of radioligand binding. *Current Protocols in Pharmacology*. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0103s33>.
- McNaught, K.P, Belizaire, R., Isacson, O., Jenner, P., Olanow, C. W. (2003). Altered proteasomal function in sporadic Parkinson's disease. *Exp Neurol*, 179 (1), 38-46. Doi: 10.1006/exnr.2002.8050.
- Mehlan, J., Brosig, H., Schmitt, O., Mix, E., Wree, A., Hawlitschka, A. (2016). Intrastriatal injection of botulinum neurotoxin-A is not cytotoxic in rat brain - A histological and stereological analysis. *Brain Research*, 1630, 18-24. Doi: 10.1016/j.brainres.2015.10.056.
- Mitsumoto, A., Nakagawa, Y. (2001). DJ-1 is an indicator for endogenous reactive oxygen species elicited by endotoxin. *Free Radic Res*, 35 (6), 885-893. Doi: 10.1080/10715760100301381.
- Molina-Holgado, E., Dewar, K.M., Grondin, L., van Gelder, N.M., Reader, T.A (1993). Amino acid levels and  $\gamma$ -aminobutyric acid, receptors in rat neostriatum, cortex, and thalamus after neonatal 6-hydroxydopamine lesion. *Journal of Neurochemistry*, 60, 936-945. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb03240.x>.
- Montal, M. (2010). Botulinum Neurotoxin: A Marvel of Protein Design. *Annu Rev Biochem*, 79, 591-617. Doi: 10.1146/annurev.biochem.051908.125345.
- Morrow, A.L., Battaglia, G., Norman, A.B., Creese, I. (1985). Identification of subtypes of [3H]prazosin-labelled alpha 1 receptor binding sites in rat brain. *Eur J Pharmacol*, 109, 285-287. Pmid: 3010073.
- Müller, T. (2012). Drug therapy in patients with Parkinson's disease. *Transl Neurodegener*, 1, 10. Doi: 10.1186/2047-9158-1-10.
- Mutch, W.J., Strudwick, A., Roy, S.K., Downie, A.W. (1986). Parkinson's disease: disability, review, and management. *Br Med J*, 293 (6548), 675-677. Doi: 10.1136/bmj.293.6548.675.
- Narang, N., Wamsley, J.K. (1995). Time dependent changes in DA uptake sites, D1 and D2 receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 9 (1), 41-53. Doi: 10.1016/0891-0618(95)00064-E.

- Newman-Tancredi, A., Cussac, D., Audinot, V., Nicolas, J.P., De Ceuninck, F., Boutin, J.A., Millan, M.J. (2002). Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. II. Agonist and antagonist properties at subtypes of dopamine D(2)-like receptor and alpha(1)/alpha(2)-adrenoceptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 303 (2), 805-814. Doi: 10.1124/jpet.102.039875.
- Ng, N.K., Lee, H.S., Wong, P.T. (1999). Regulation of striatal dopamine release through 5-HT1 and 5-HT2 receptors. *J Neurosci Res*, 55 (5), 600-607. Doi: 10.1002/(SICI)1097-4547(19990301)55:5<600.
- Numan, S., Lundgren, K.H., Wright, D.E., Herman, J.P., Seroogy, K.B. (1995). Increased expression of 5HT2 receptor mRNA in rat striatum following 6-OHDA lesions of the adult nigrostriatal pathway *Brain Res. Mol Brain Res*, 29 (2), 391-396. Doi: 10.1016/0169-328x(95)00004-c.
- Numan, S., Lundgren, K.H., Wright, D.E., Herman, J.P., Seroogy, K.B. (1995). Increased expression of 5HT2 receptor mRNA in rat striatum following 6-OHDA lesions of the adult nigrostriatal pathway *Brain Res. Mol Brain Res*, 29, 391-396. Doi: 10.1016/0169-328x(95)00004-c.
- Nutt, J.G. (2003). Long-term L-DOPA therapy: challenges to our understanding and for the care of people with Parkinson's disease. *Exp Neurol*, 184 (1), 9-13. Doi: 10.1016/s0014-4886(03)00304-2.
- Obeso, J.A., Marin, C., Rodriguez-Oroz, C., Blesa, J., Benitez-Temino, B., Mena-Segovia, J., Rodriguez, M., Olanow, C.W. (2008). The basal ganglia in Parkinson's disease; Current concepts and unexplained observations. *Ann Neurol*, 64 (2). 30-46. Doi: 10.1002/ana.21481.
- Obeso, J.A., Rodriguez-Oroz, M.C., Goetz, C.G., Marin, C., Kordower, J.H., Rodriguez, M., Hirsch, E.C., Farrer, M., Schapira, A.H.V., Halliday, G. (2010). Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nat Med*, 16 (6), 653-661. Doi: 10.1038/nm.2165. Epub 2010 May 23.
- Oertel, W.H., Deuschl, G., Poewe, W. (2011). *Parkinson-Syndrome und andere Bewegungsstörungen*, Stuttgart: Thieme.
- Olanow, C.W., Prusiner, S.B. (2009). Is Parkinson's disease a prion disorder? *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 12571-12572. Doi:10.1073/pnas.0906759106.

- Olanow, C.W., Tatton, W.G. (1999). Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annual review of neuroscience*, 22, 123-144. Doi: 10.1146/annurev.neuro.22.1.123.
- Olanow, C.W., Kieburtz, K., Rascol, O., Poewe, W., Schapira, A.H., Emre, M., Nissinen, H., Leinonen, M., Stocchi, F. (2013). Stalevo Reduction in Dyskinesia Evaluation in Parkinson's Disease (STRIDE-PD) Investigators. Factors predictive of the development of Levodopa-induced dyskinesia and wearing-off in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 28 (8), 1064-1071. Doi: 10.1002/mds.25364.
- Pan, H.S., Penney, J.B., Young A.B. (1985). g-Aminobutyric acid and benzodiazepine receptor changes induced by unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the medial forebrain bundle. *J Neurochem*, 45 (5), 1396-1404. Doi: 10.1111/j.1471-4159.1985.tb07205.x.
- Parkinson Study Group (2000). A randomized controlled trial comparing pramipexole with levodopa in early Parkinson's disease: design and methods of the CALM-PD Study. *Clin Neuropharmacol*, 23 (1), 34-44. Doi: 10.1097/00002826-200001000-00007.
- Paxinos, G., Watson, C. (2007). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Australia: Academic Press.
- Perry, R.H., Piggott, M.A., Owens, J., O'Brien, J., Colloby, S., Fenwick, J., Wyper, D., Jaros, E., Johnson, M., Perry, E.K. (2003). Muscarinic receptors in basal ganglia in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *J Chem Neuroanat*, 25, 161-173. Doi: 10.1016/s0891-0618(03)00002-4.
- Pisani, A., Bernardi, G., Ding, J., Surmeier, D.J. (2007). Re-emergence of striatal cholinergic interneurons in movement disorders. *Trends Neurosci*, 30 (10), 545-553. Doi: 10.1016/j.tins.2007.07.008.
- Pittock, S.J., Parrett, T., Adler, C.H., Parisi, J.E., Dickson, D.W., Ahlskog, J.E. Neuropathology of primary restless leg syndrome: absence of specific tau- and alpha-synuclein pathology. *Mov Disord*, 19 (6), 695-699. Doi: 10.1002/mds.20042.
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C.M., Halliday, G.M., Brundin, P., Volkmann, J., Schrag, A.E., Lang, A.E. (2017). Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17013. Doi: 10.1038/nrdp.2017.13.

- Pollanen, M.S., Dickson, D.W., Bergeron, C. (1993). Pathology and biology of the Lewy body. *J Neuropathol Exp Neurol*, 52 (3), 183-191. Doi: 10.1097/00005072-199305000-00001.
- Puciłowski O, Kozak W, Valzelli L (1986). Effect of 6-OHDA injected into the locus coeruleus on apomorphine-induced aggression. *Pharmacol Biochem Behav*, 24 (3), 773-5. Doi: 10.1016/0091-3057(86)90590-3.
- Radja, Fatiha; Descarries, Laurent; Dewar, Karen M.; Reader, Tomás A. (1993): Serotonin 5-HT1 and 5-HT2 receptors in adult rat brain after neonatal destruction of nigrostriatal dopamine neurons: a quantitative autoradiographic study. *Brain Research*, 606 (2), S. 273-285. Doi: 10.1016/0006-8993(93)90995-Y.
- Rajput A.H. (2001) Levodopa prolongs life expectancy and is non-toxic to substantia nigra. *Parkinsonism Relat Disord*, 8 (2), 95-100. Doi: 10.1016/s1353-8020(01)00023-2.
- Rascol O, Pathak A, Bagheri H, Montastruc JL. (2004). Dopaminagonists and fibrotic valvular heart disease: further considerations. *Mov Disord*, 19 (12), 1524-1525. Doi: 10.1002/mds.20328.
- Richard, I.H., McDermott, M.P., Kurlan, R., Lyness, J.M., Como, P.G., Pearson, N., Factor, S.A., Juncos, J., Serrano Ramos, C., Brodsky, M., Manning, C., Marsh, L., Shulman, L., Fernandez, H.H., Black, K.J., Panisset, M., Christine, C.W., Jiang, W., Singer, C., Horn, S., Pfeiffer, R., Rottenberg, D., Slevin, J., Elmer, L., Press, D., Hyson, H.C., McDonald, W., SAD-PD Study Group. (2012). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of antidepressants in Parkinson disease. *Neurology*, 78 (16), 1229-1236. Doi: 10.1212/WNL.0b013e3182516244.
- Robert-Koch-Institut (2018). Ratgeber-Botulismus. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Botulismus.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Botulismus.html).
- Rommelfanger, K.S., Mitrano, D.A., Smith, Y., Weinshenker, D. (2009). Light and Electron Microscopic Localization of Alpha-1 Adrenergic Receptor Immunoreactivity in the Rat Striatum and Ventral Midbrain. *Neuroscience*, 158 (4), 1530-1540. Doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.11.019.

- Rossetto, O., Pirazzini, M., Montecucco, C. (2014). Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nat Rev Microbiol*, 12 (8), 535-549. Doi: 10.1038/nrmicro3295.
- Rossetto, O., Megighian, A., Scorzeto, M., Montecucco, C. (2013). Botulinum neurotoxins. *Toxicon. Official journal of the International Society on Toxinology*, 67, 31-36. Doi: 10.1016/j.toxicon.2013.01.017.
- Rossi, P., Colosimo, C., Moro, E., Tonali, P., Albanese, A. (2000). Acute challenge with apomorphine and levodopa in Parkinsonism. *Eur Neurol*, 43 (2), 95-101. Doi: 10.1159/000008142.
- Roth, B.L. (2006). The serotonin receptors. From molecular pharmacology to human therapeutics. Totowa, New jersey: Humana Press.
- Rummel, A., Häfner, K., Mahrhold, S., Darashchonak, N., Holt, M., Jahn, R., Beermann, S., Karnath, T., Bigalke, H., Binz, T. (2009). Botulinum neurotoxins C, E and F bind gangliosides via a conserved binding site prior to stimulation-dependent uptake with botulinum neurotoxin F utilising the three isoforms of SV2 as second receptor. *J Neurochem*, 110 (6), 1942-1954. Doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.06298.x.
- Ryu, J.H., Yanai, K., Zhao, X.L., Watanabe, T. (1996). The effect of dopamine D1 receptor stimulation on the up-regulation of histamine H3-receptors following destruction of the ascending dopaminergic neurones. *Br J Pharmacol*, 118 (3), 585-592. Doi: 10.1111/j.1476-5381.1996.tb15441.x.
- Savasta, M., Dubois, A., Benavidès, J., Scatton, B. (1988). Different plasticity changes in D1 and D2 receptors in rat striatal subregions following impairment of dopaminergic transmission. *Neuroscience letters*, 85 (1), 119-124. Doi: 10.1016/0304-3940(88)90440-5.
- Scatton, B., Javoy-Agid, F., Rouquier, L., Dubois, B., Agid, Y. (1983). Reduction of cortical dopamine, noradrenaline, serotonin and their metabolites in Parkinson's disease. *Brain Res*, 275 (2), 321-328. Doi: 10.1016/0006-8993(83)90993-9.
- Schapira, A.H., Gu, M., Taanman, J.W., Tabrizi, S.J., Seaton, T., Cleeter, M., Cooper, J.M. (1998). Mitochondria in the etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 44, 89-98. Doi: 10.1002/ana.410440714.

- Schiavo, G., Matteoli, M., Montecucco, C. (2000). Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiol Rev*, 80 (2), 717-766. Doi: 10.1152/physrev.2000.80.2.717.
- Schulz, J., Pagano, G., Fernández Bonfante, J.A., Wilson, H., Politis, M. (2018). Nucleus basalis of Meynert degeneration precedes and predicts cognitive impairment in Parkinson's disease. *Brain*, 141 (5), 1501-1516. Doi: 10.1093/brain/awy072.
- Schwartz, R.K.W., Huston, J.P. (1996a). The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol*, 50, 275-331. Doi:10.1016/S0304-0082(96)00040-8.
- Schwarz, J., Storch, A. (2007). *Parkinson-Syndrome*, Stuttgart: Kohlhammer Verlag, S. 211.
- Semple, B.D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D.M., Noble-Haeusslein, L.J. (2013). Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol*, 106-107, 1-16. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.04.001.
- Sgambato-Faure, V., Cenci, M.A. (2012). Glutamatergic mechanisms in the dyskinesias induced by pharmacological dopamine replacement and deep brain stimulation for the treatment of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 96, 69-86.
- Singleton, A. (2004). What does PINK1 mean for Parkinson diseases?. *Neurology*, 63 (8), 1350-1351. Doi: 10.1212/01.wnl.0000144272.53634.49.
- Skolnick, P., Stalvey, L.P., Daly, J.W., Hoyler, E., Davis, J.N. (1978). Binding of alpha- and beta- adrenergic li-gands to cerebral cortical membranes: effect of 6-hydroxydopamine treatment and relationship to the responsiveness of cyclic AMP-generating systems in two rat strains. *Europ J Pharmacol*, 47 (2), 201-210. Doi: 10.1016/0014-2999(78)90391-6.
- Smith, Y., Bevan, M.D., Shink, E., Bolam, J.P. (1998). Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience*, 86 (2), 353-387. Doi: 10.1016/s0306-4522(98)00004-9.
- Smith, Y., Kieval, J.Z. (2000). Anatomy of the dopamine system in the basal ganglia. *Trends Neurosci*, 23 (10), 28-33. Doi: 10.1016/s1471-1931(00)00023-9.

- Sofic, E., Lange, K. W., Jellinger, K., Riederer, P. (1992). Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, 142 (2), 128-130. Doi: 10.1016/0304-3940(92)90355-b.
- Sommer, U., Hummel, T., Cormann, K., Mueller, A., Frasnelli, J., Kropp, J., Reichmann, H. (2004). Detection of presymptomatic Parkinson's disease: combining smell tests, transcranial sonography, and SPECT. *Mov Disord*, 19 (10), 1196-1202. Doi: 10.1002/mds.20141.
- Sovago, J., Dupuis, D.S., Gulyas, B., Hall, H. (2001). An overview on functional receptor autoradiography using 35SGTPgammaS. *Brain Research Reviews*, 38, 149-164. Doi: 10.1016/s0165-0173(01)00106-0.
- Spencer, J.P., Jenner, P., Daniel, S.E., Lees, A.J., Marsden, D.C., Halliwell, B. (1998). Conjugates of catecholamines with cysteine and GSH in Parkinson's disease: possible mechanisms of formation involving reactive oxygen species. *Journal of Neurochemistry*, 71 (5), 2112-2122. Doi: 10.1046/j.1471-4159.1998.71052112.x.
- Spillantini, M.G., Schmidt, M.L., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., Jakes, R., Goedert, M. (1997). Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*, 388 (6645), 839-840. Doi: 10.1038/42166.
- Starkstein, S.E., Preziosi, T.J., Bolduc, P.L., Robinson, R.G. (1990). Depression in Parkinson's disease. *J Nerv Ment Dis*, 178 (1), 27-31. Doi: 10.1097/00005053-199001000-00005.
- Stasi, K., Mitsacos, A., Giompres, P., Kouvelas, E.D., Triarhou L.C. (1999). Partial restoration of striatal GABAA receptor balance by functional mesencephalic dopaminergic grafts in mice with hereditary Parkinsonism. *Experimental neurology*, 157 (2), 259-267. Doi: 10.1006/exnr.1999.7048.
- Suraj Rajan (2012). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [Figure, Alpha-synuclein deposits, Lewy bodies, Pathology]. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470193/figure/article-26674.image.f4/>.
- Storch, A., Burkhardt, K., Ludolph, A.C., Schwarz, J. (2000). Protective effects of riluzole on dopamine neurons: involvement of oxidative stress and cellular energy metabolism. *Journal of Neurochemistry*, 75 (6), 2259-2269. Doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0752259.x.

- Storch, A., Ludolph, A.C., Schwarz, J. (2004). Dopamine transporter: involvement in selective dopaminergic neurotoxicity and degeneration. *Journal of neural Transmission*, 111 (10-11), 1267-1286. Doi: 10.1007/s00702-004-0203-2.
- Surmeier, D.J., Sulzer, D. (2013). Neuronal vulnerability, pathogenesis and Parkinson's disease. *Mov Disord*, 28, 41-50. Doi: 10.1002/mds.25095.
- Taira, T., Saito, Y., Niki, T., Iguchi-Ariga, S.M., Takahashi, K., Ariga, H. (2004). DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death. *EMBO Rep*, 5 (2), 213-218. Doi: 10.1038/sj.embor.7400074.
- Takeda, A., Mallory, M., Sundsmo, M., Honer, W., Hansen, L., Masliah, E. (1998). Abnormal accumulation of NACP/alpha-synuclein in neurodegenerative disorders. *Am J Pathol*, 152 (2), 367-372. Pmid: 9466562.
- Tatsch, K., Buchert, R., Bartenstein, P., Barthel, H., Boecker, H., Brust, P., Drzezga, A., Fourgère, C., Gründer, G., Grünwald, F., Krause, B.J., Kuwert, T., Langen, K.J., Rominger, A., Sabri, O., Schreckenberger, M., Meyer, P.T. (2017). DGN-Handlungsempfehlung (S1-Leitlinie) SPECT-Untersuchung mit dem 123I-markierten Dopamintransporter-Liganden FP-CIT (DaTSCANTM), Stand: 05/2017 – AVMF Registernummer: 031-037. Göttingen: Deutsche Gesellschaft für Nuklearmedizin.
- Tintner, R., Manian, P., Gauthier, P., Jankovic, J. (2005). Pleuropulmonary fibrosis after long-term treatment with the dopamine agonist pergolide for Parkinson Disease. *Archives of Neurology*, 62 (8), 1290-1295. Doi: 10.1001/archneur.62.8.1290.
- Tossman, U., Segovia, J., Ungerstedt U. (1986). Extracellular levels of amino acids in striatum and globus pallidus of 6 hydroxydopamine-lesioned rats measured with microdialysis. *Acta Physiol Scand*, 127 (4), 547-551. Doi: 10.1111/j.1748-1716.1986.tb07939.x.
- Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*, 552 (2), 335-344. Doi: 10.1113/jphysiol.2003.049478.
- U'Prichard, D.C., Reisine, T.D., Mason, S.T., Fibiger, H.C., Yamamura, H.I. (1980). Modulation of rat brain alpha- and beta-adrenergic receptor populations by lesion of the dorsal noradrenergic bundle. *Brain Res*, 187, 143-154. Doi: 10.1016/0006-8993(80)90500-4.

- Umemura, A., Jaggi, J.L., Hurtig, H.I., Siderowf, A.D., Colcher, A., Stern, M.B., Baltuch, G.H. (2003). Deep brain stimulation for movement disorders: morbidity and mortality in 109 patients. *J Neurosurg*, 98 (4), 779-784. Doi: 10.3171/jns.2003.98.4.0779.
- Ungerstedt, U. (1968). 6-Hydroxydopamine-induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol*, 5, 107-110. Doi: 10.1016/0014-2999(68)90164-7.
- Van Bonn, S.M. (2017). Multiple Veränderungen der Rezeptorbindungsstellen in den Strukturen der Basalganglienschleife von Hemiparkinson-Ratten, Universität Rostock, Verfügbar unter: [https://doi.org/10.18453/rosdok\\_id00002371](https://doi.org/10.18453/rosdok_id00002371).
- Verderio, C., Rossetto, O., Grumelli, C., Frassoni, C., Montecucco, C., Matteoli, M. (2006). Entering neurons: botulinum toxins and synaptic vesicle recycling. *EMBO Rep*, 7 (10), 995-999. Doi: 10.1038/sj.embor.7400796
- Verderio, C., Grumelli, C., Raiteri, L., Coco, S., Paluzzi, S., Caccin, P., Rossetto, O., Bonanno, G., Montecucco, C., Matteoli, M. (2007). Traffic of botulinum toxins A and E in excitatory and inhibitory neurons. *Traffic*, 8 (2), 142-153. Doi: 10.1111/j.1600-0854.2006.00520.x.
- Verhagen Metman, L., Del Dotto, P., van den Munckhof, P., Fang, J., Mouradian, M.M., Chase, T.N. (1998). Amantadine as treatment for dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. *Neurology*, 50 (5), 1323-1326. Doi: 10.1212/wnl.50.5.1323
- von Campenhausen, S., Bornschein, B., Wick, R., Bötzel, K., Sampaio, C., Poewe, W., Oertel, W., Siebert, U., Berger, K., Dodel, R. (2005). Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe. *Eur Neuropsychopharmacol*, 15 (4), 473-490. Doi: 10.1016/j.euroneuro.2005.04.007.
- Waeber, C., Rigo, M., Chinaglia, G., Probst, A., Palacios, J.M. (1991). Beta-adrenergic receptor subtypes in the basal ganglia of patients with Huntington's chorea and Parkinson's disease. *Synapse*, 8 (4), 270-280. Doi: 10.1002/syn.890080405.
- Weaver, F.M., Follett, K., Stern, M., Hur, K., Harris, C., Marks, W.J. Rothlind, J., Sager, O., Reda, D., Moy, C.S., Pahwa, R., Burchiel, K., Hogarth, P., Lai, E.C., Duda J.E., Holloway, K., Samii, Ali, Horn, S., Bornstein, J., Stoner G., Heemskerk, J., Huang, G.D., CSP 468 Study Group (2009). Bilateral deep brain stimulation vs best

- medical therapy for patients with advanced Parkinson disease: a randomized controlled trial. *JAMA*, 301 (1), 63-73. Doi: 10.1001/jama.2008.929.
- Widnell, K.L., Comella, C. (2005). Role of COMT inhibitors and dopamine agonists in the treatment of motor fluctuations. *Mov Disord*, 20 (11), 30-37. Doi: 10.1002/mds.20461.
- Wree, A., Schmitt, O. (2015). Basal Ganglia. Arthur W. Toga, Hrsg. *Brain Mapping, Anatomy and Physiology Systems*. Elsevier, 217-227. Doi: 10.1159/000209233.
- Wree, A., Mix, E., Hawlitschka, A., Antipova, V., Witt, M., Schmitt, O., Benecke, R. (2011). Intrastratial botulinum toxin abolishes pathologic rotational behaviour and induces axonal varicosities in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 41 (2), 291-298. Doi: 10.1016/j.nbd.2010.09.017. Epub 2010 Oct 16.
- Xie, X., Ramkumar, V., Toth, L.A. (2007). Adenosine and dopamine receptor interactions in striatum and caffeine-induced behavioral activation. *Comp Med*, 57 (6), 538-545. Pmid: 18246865.
- Xu, R., Chen, G., Mao, Z., Gao, H., Deng, Y., Tao, A. (2020). Diagnostic Performance of Transcranial Sonography for Evaluating Substantia Nigra Hyper-echogenicity in Patients with Parkinson's Disease. *Ultrasound Med Biol*, 46 (5), 1208-1215. Doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.01.019.
- Xu, T., Pandey, S.C. (2000): Cellular localization of serotonin<sub>2A</sub> (5HT<sub>2A</sub>) receptors in the rat brain. *Brain Research Bulletin*, 51 (6), 499-505. Doi: 10.1016/S0361-9230(99)00278-6.
- Xu, Z.C., Ling, G.S., Robert, N., Neal-Beliveau, B.S. (2005): Asymmetrical changes of dopamine receptors in the striatum after unilateral dopamine depletion. *Brain Research*, 1038 (2), 163-170. Doi: 10.1016/j.brainres.2005.01.033.
- Yu, T.S., Wang, S.D., Liu, J.C., Yin, H.S. (2001). Changes in the Gene Expression of GABA Receptor A in the Basal Ganglia of the Rats with Unilateral 6-Hydroxydopamine Lesion and Embryonic Mesencephalic Grafts. *Experimental Neurol*, 168, 231-241. Doi: 10.1006/exnr.2000.7590.
- Yuan, H., Sarre, S., Ebinger, G., Michotte, Y. (2005). Histological, behavioural and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA lesions

- as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods*, 144, 35-45. Doi: 10.1016/j.jneumeth.2004.10.004.
- Zeng, B.Y., Pearce, R.K., MacKenzie, G.M., Jenner, P. (2001). Chronic high dose L-dopa treatment does not alter the levels of dopamine D-1, D-2 or D-3 receptor in the striatum of normal monkeys: an autoradiographic study. *J Neural Transm*, 108 (8-9), 925-941. Doi: 10.1007/s007020170013.
- Zhang, X., Andren, P.E., Svenningsson, P. (2007). Changes on 5-HT<sub>2</sub> receptor mRNAs in striatum and subthalamic nucleus in Parkinson's disease model. *Physiol Behav*, 92, 29-33. Doi: 10.1016/j.physbeh.2007.05.033.
- Zilles, K., Palomero-Gallagher, N., Schleicher, A. (2004) Transmitter receptors and functional anatomy of the cerebral cortex. *J Anat*, 205 (6), 417-432. Doi: 10.1111/j.0021-8782.2004.00357.x.
- Zilles, K., Schleicher, A., Palomero-Gallagher, N., Amunts, K. (2002). Quantitative Analysis of Cyto- and Receptor Architecture of the Human Brain. *Brain Mapping: The Methods*, pp 573–602. Elsevier. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012693019150023X>.
- Zilles, K., Werner, L., Qü, M., Schleicher, A., Gross, G. (1991). Quantitative autoradiography of 11 different transmitter binding sites in the basal forebrain region of the rat--evidence of heterogeneity in distribution patterns. *Neuroscience*, 42 (2), 473-481. Doi: 10.1016/0306-4522(91)90390-a.
- Zuch, C.L., Nordstroem, V.K., Briedrick, L.A., Hoernig, G.R., Granholm, A.C., Bickford, P.C. (2000). Time course of degenerative alterations of nigral dopaminergic neurons following a 6- hydroxydopamine lesion. *J Comp Neurol*, 427 (3), 440- 454. Doi: 10.1002/1096-9861(20001120)427:3<440::aid-cne10>3.0.co;2-7.

## 5.1 **Abbildungsverzeichnis**

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1 Lichtmikroskopischer Befund im Parkinsongehirn von Lewy-Körperchen                                                           | 3  |
| 1.2 Histopathologische Stadien der Parkinson-Erkrankung                                                                          | 4  |
| 1.3 Schematische Darstellung vermuteter ätiopathologischer Genese des Morbus Parkinson                                           | 8  |
| 1.4 Ultraschall Darstellung der Substantia nigra bei IPS                                                                         | 14 |
| 1.5 Wirkmechanismen verschiedener Substanzklassen von Parkinsonmedikamenten im Striatum                                          | 15 |
| 1.6 Physiologische Verschaltung der Basalganglien in der motorischen Schleife                                                    | 28 |
| 1.7 Pathologische Basalganglienschaltung in der motorischen Schleife bei der PD                                                  | 31 |
| 1.8 Molekulare Struktur von BoNT-A                                                                                               | 34 |
| 1.9 Schematischer Ablauf der normalen Transmitterexozytose sowie der Wirkung von BoNT an der motorischen Endplatte               | 35 |
| 2.1 Apparatur für stereotaktische Operationen an Ratten                                                                          | 50 |
| 2.2 Dorsale und laterale Ansicht eines Rattenschädels                                                                            | 50 |
| 2.3. Laterale (A) und dorsale (B) Ansicht eines Rattenhirnmodel mit Kennzeichnung der Injektionsstellen                          | 51 |
| 2.4 Beispiel Kalibrierungskurve 3H-CGP54626                                                                                      | 57 |
| 2.5 Beispiel Rezeptorautoradiogramme                                                                                             | 60 |
| 3.1 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Ketanserin, 5HT <sub>2A</sub> Rezeptor                         | 66 |
| 3.2 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-DPCPX+Gpp, A <sub>1</sub> Rezeptor                             | 70 |
| 3.3.1 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Prazosin, α <sub>1</sub> Adrenozeptor                        | 74 |
| 3.3.2 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-UK14,304, α <sub>2</sub> Adrenozeptor                        | 77 |
| 3.4 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-SCH23390, D <sub>1</sub> Dopaminrezeptor                       | 81 |
| 3.5.1 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Muscimol, GABA A Rezeptor.                                   | 83 |
| 3.5.2 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Muscimol, GABA A Rezeptor mit Benzodiazepin – Bindungsstelle | 86 |
| 3.5.3 Darstellung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-CGP52626, GABA B Rezeptor                                    | 90 |

|                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.1 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Ketanserin des 5HT <sub>2A</sub> – Rezeptors                            | 134 |
| 6.2 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-DPCPX+Gpp des A <sub>1</sub> – Rezeptors                                | 135 |
| 6.3.1 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Prazosin des α <sub>1</sub> – Adrenozeptors                           | 137 |
| 6.3.2 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-UK14,304 des α <sub>2</sub> – Adrenozeptors                           | 138 |
| 6.4 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-SCH23390 des D <sub>1</sub> – Dopaminrezeptors                          | 140 |
| 6.5.1 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Muscimol des GABA A – Rezeptors                                       | 140 |
| 6.5.2 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-Flumanzenil des GABA A – Rezeptors mit Benzodiazepin – Bindungsstelle | 142 |
| 6.5.3 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ <sup>3</sup> H]-CGP52626 des GABA B – Rezeptors                                       | 143 |

## 5.2 Tabellenverzeichnis

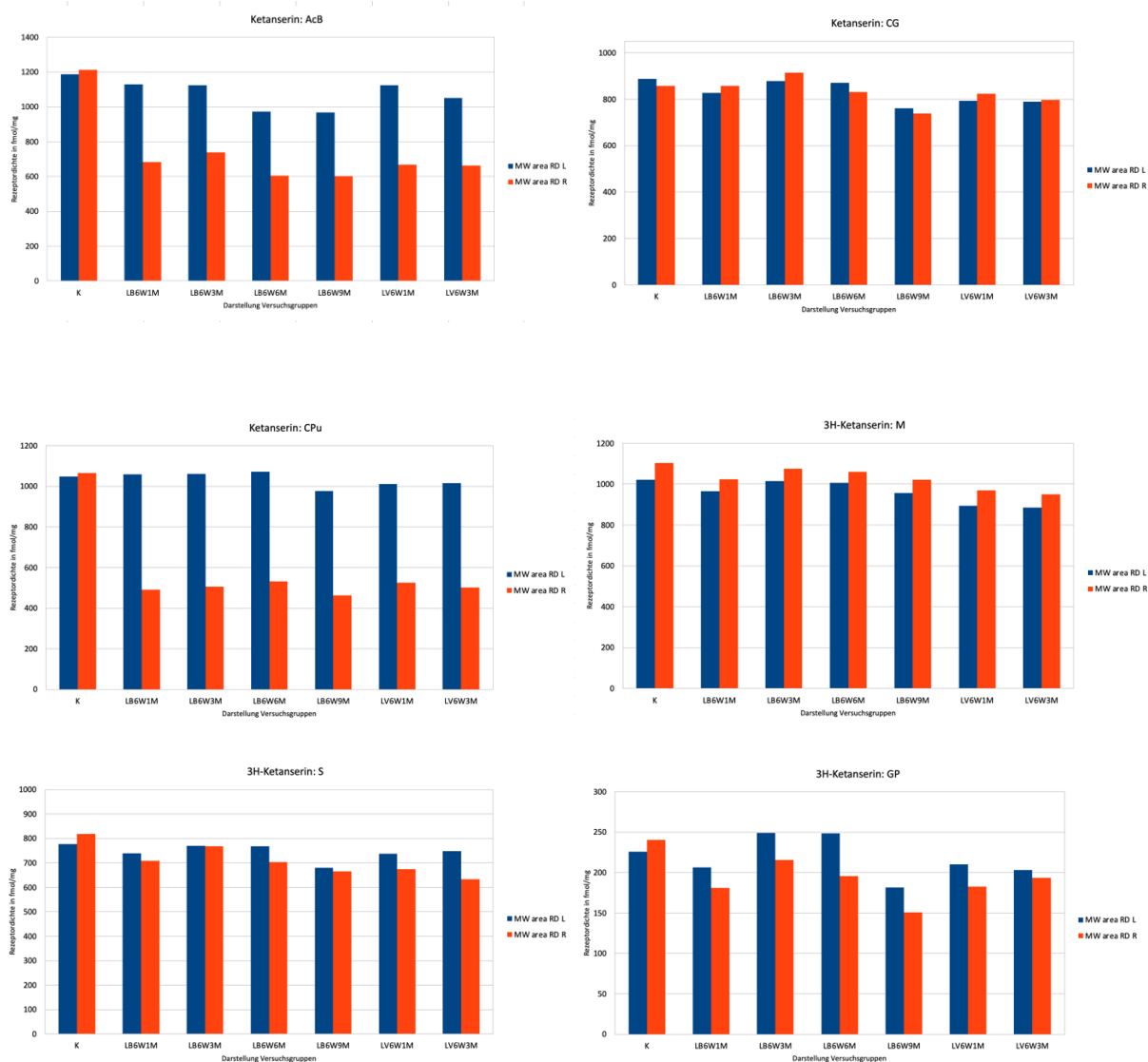
|                                                                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.1 Klinische Einstufung des IPS nach Hoehn & Yahr                                                                                                                                                | 11  |
| 1.2 Klinische Diagnosekriterien des IPS                                                                                                                                                           | 12  |
| 1.3 Pharmakologische Charakteristika der Dopaminagonisten                                                                                                                                         | 20  |
| 2.1 Details zur Kontrollgruppe sowie zu den verschiedenen Interventionsgruppen und deren Untergruppen                                                                                             | 48  |
| 2.2 Zusammenfassung der Inkubationsbedingungen                                                                                                                                                    | 54  |
| 2.3 Übersicht der Rezeptoren mit den jeweils gemessenen Hirnregionen                                                                                                                              | 59  |
| 2.4 Angaben zur verwendeten ligandenspezifischen Standardaktivität (SA), Dissoziationskonstante (K <sub>d</sub> ) und Realkonzentration (L) der tritiummarkierten Liganden                        | 63  |
| 6.1 Zusammenfassung der mittleren RD (MW) pro Fläche der einzelnen Hirnareale für alle analysierten Rezeptoren in fmol/mg Protein ± SD (Standardabweichung) für die Versuchsgruppen: K, LB und LV | 145 |

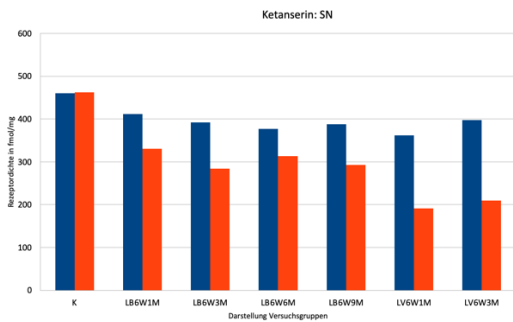
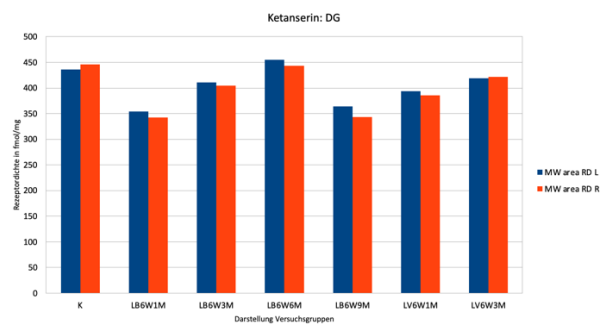
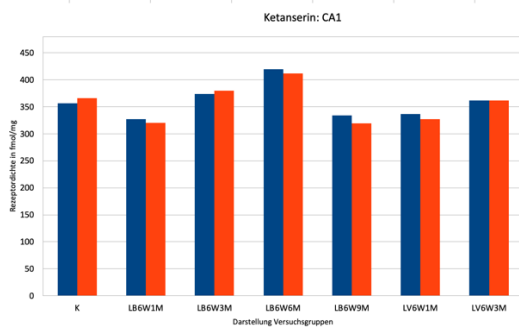
## 6 Anhang

### 6.1 Abbildungsanhang

#### Abbildung 6.1: Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [<sup>3</sup>H]-Ketanserin des 5HT<sub>2A</sub> – Rezeptors

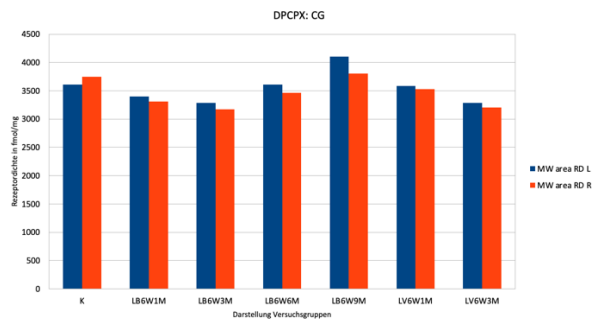
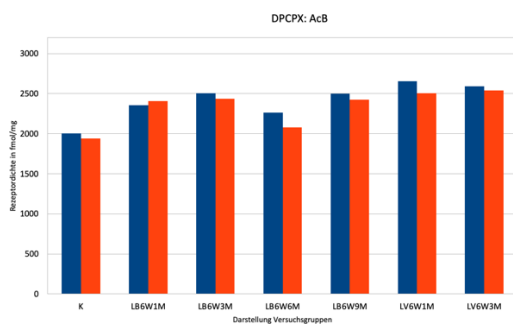
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.

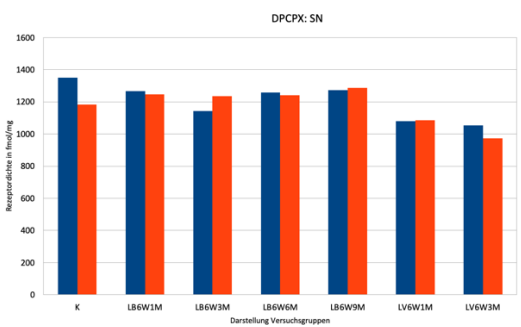
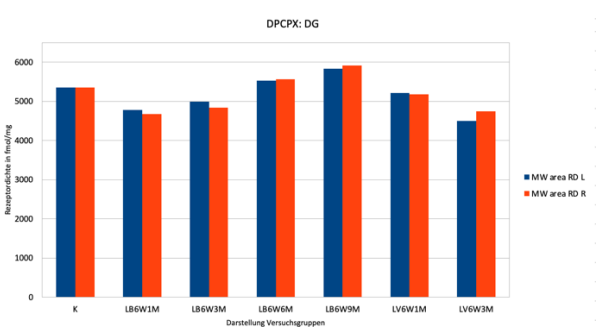
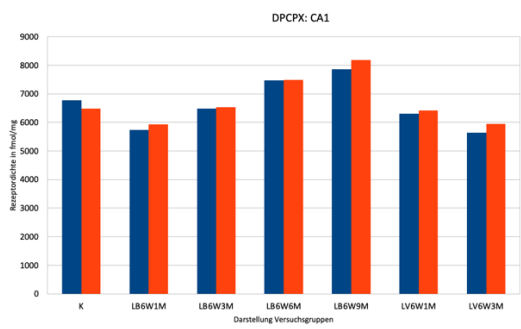
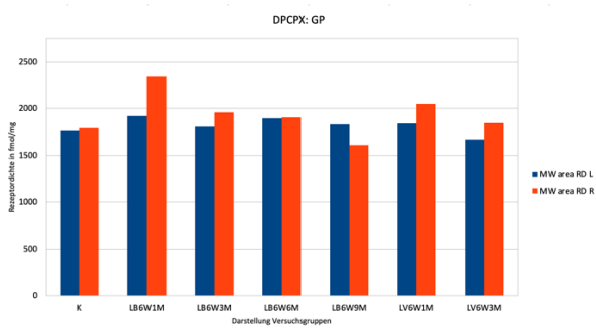
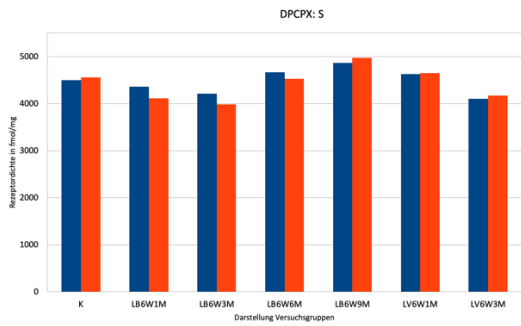
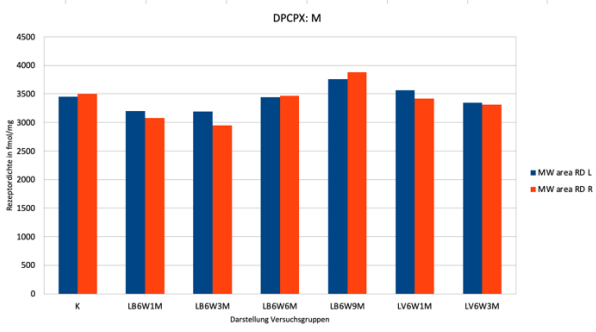
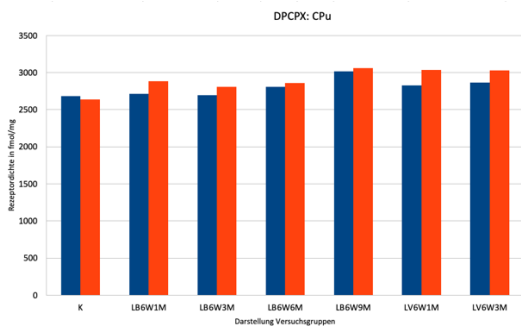




**Abbildung 6.2: Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ $^3$ H]-DPCPX+Gpp des A<sub>1</sub> – Rezeptors**

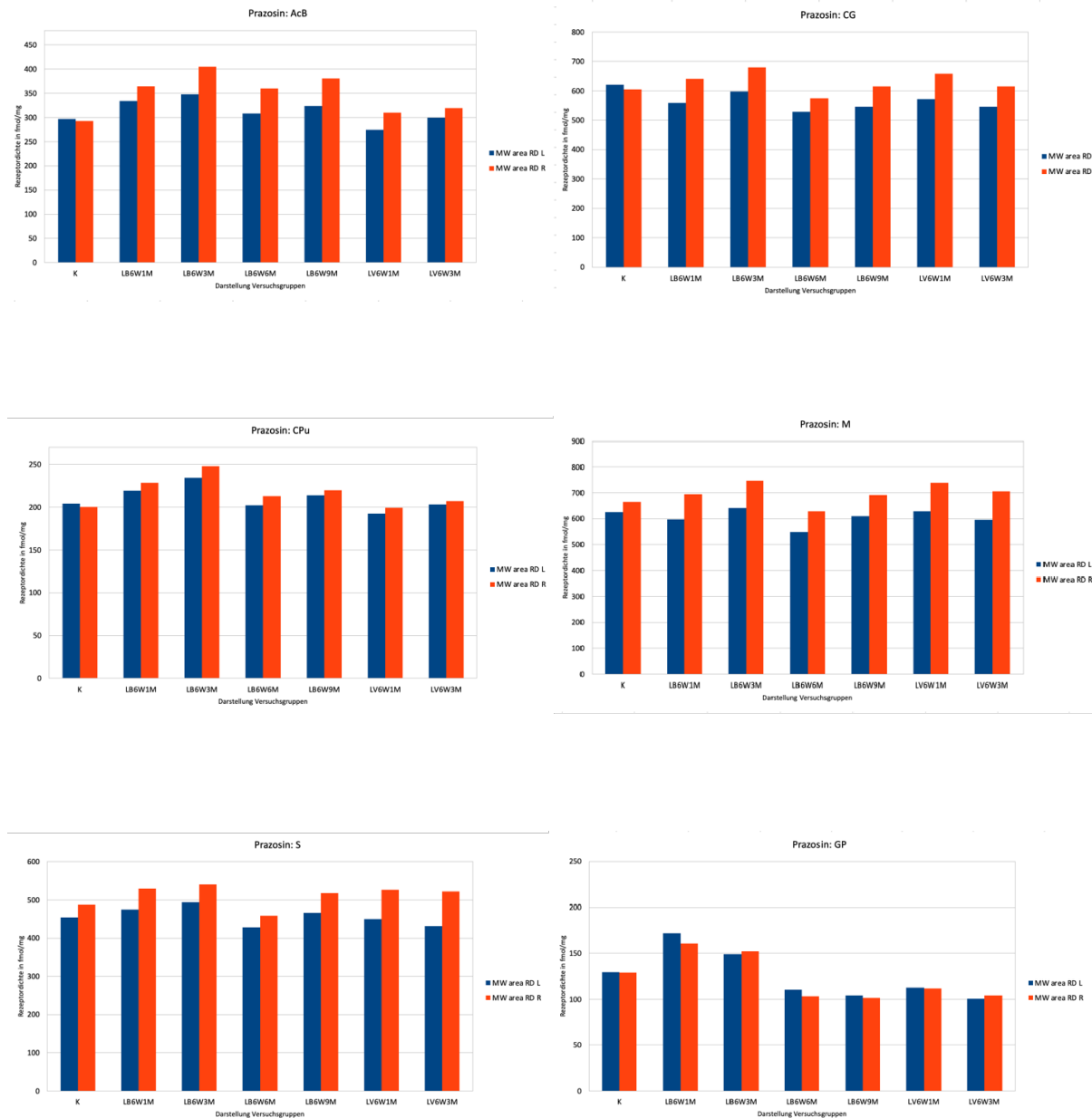
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.

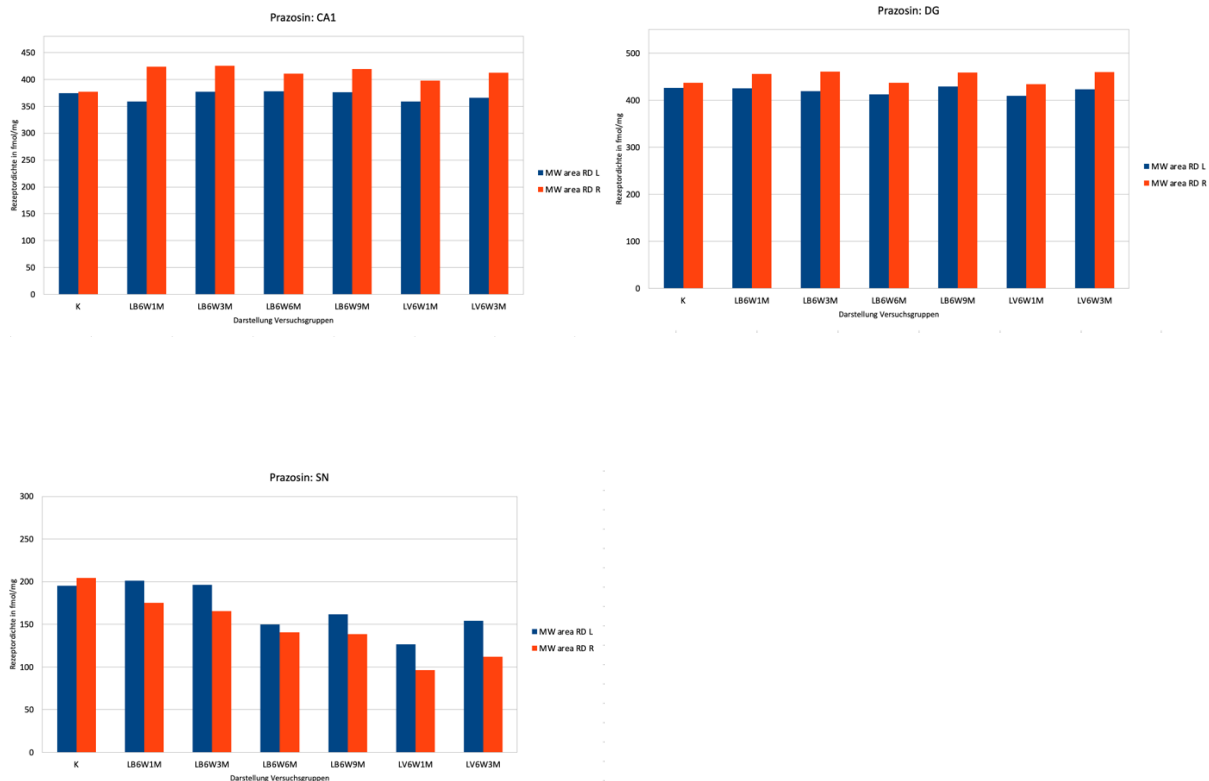




### Abbildung 6.3.1 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [<sup>3</sup>H]-Prazosin des α1 – Adrenozeptors

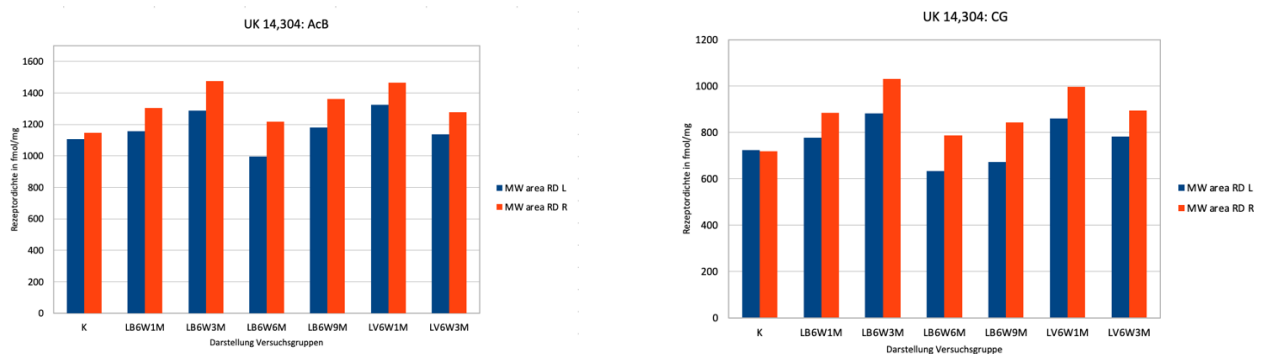
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangenen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.

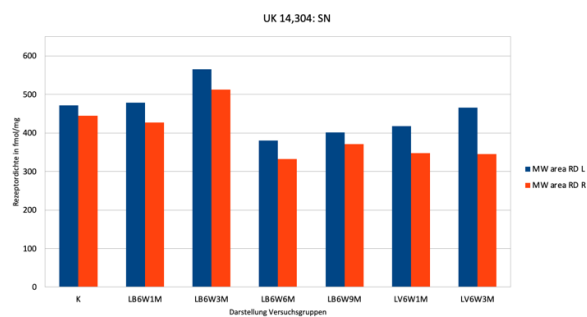
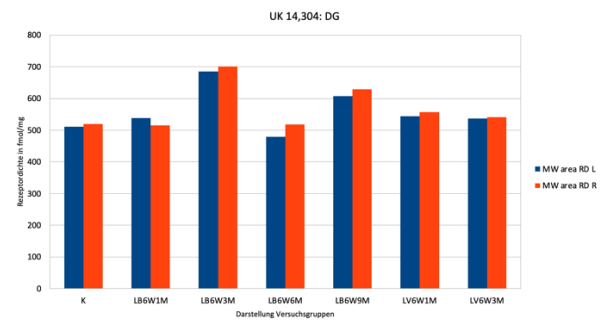
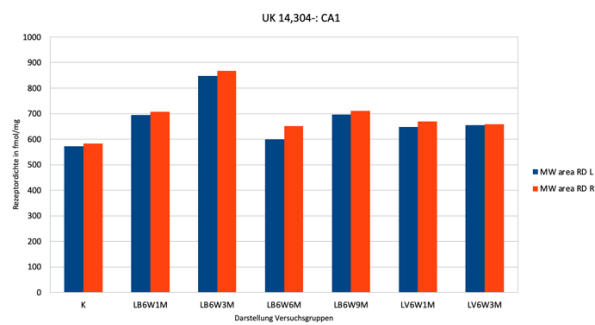
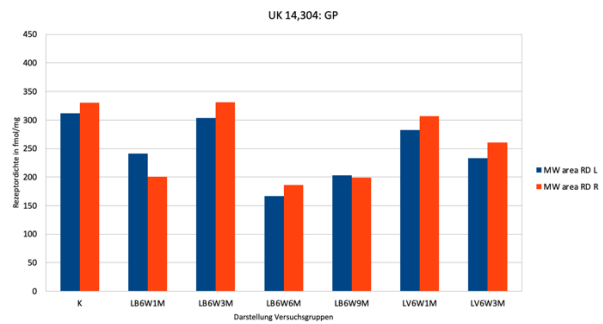
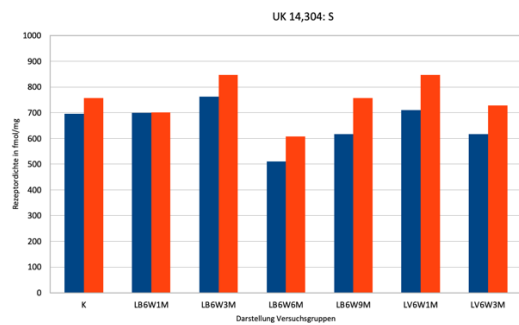
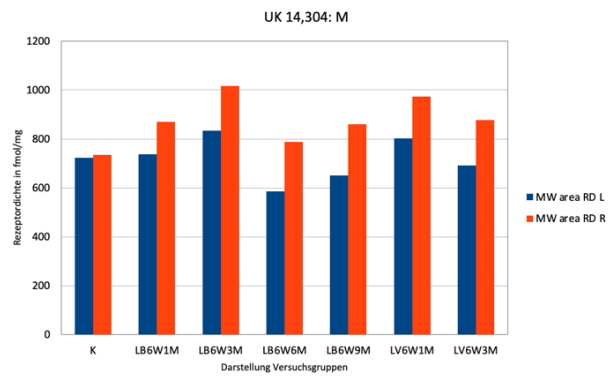
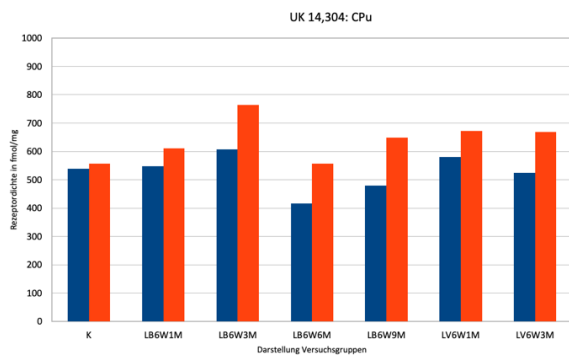




**Abbildung 6.3.2 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand ( $[^3\text{H}]$ -UK14,304) des  $\alpha_2$  – Adrenozeptors**

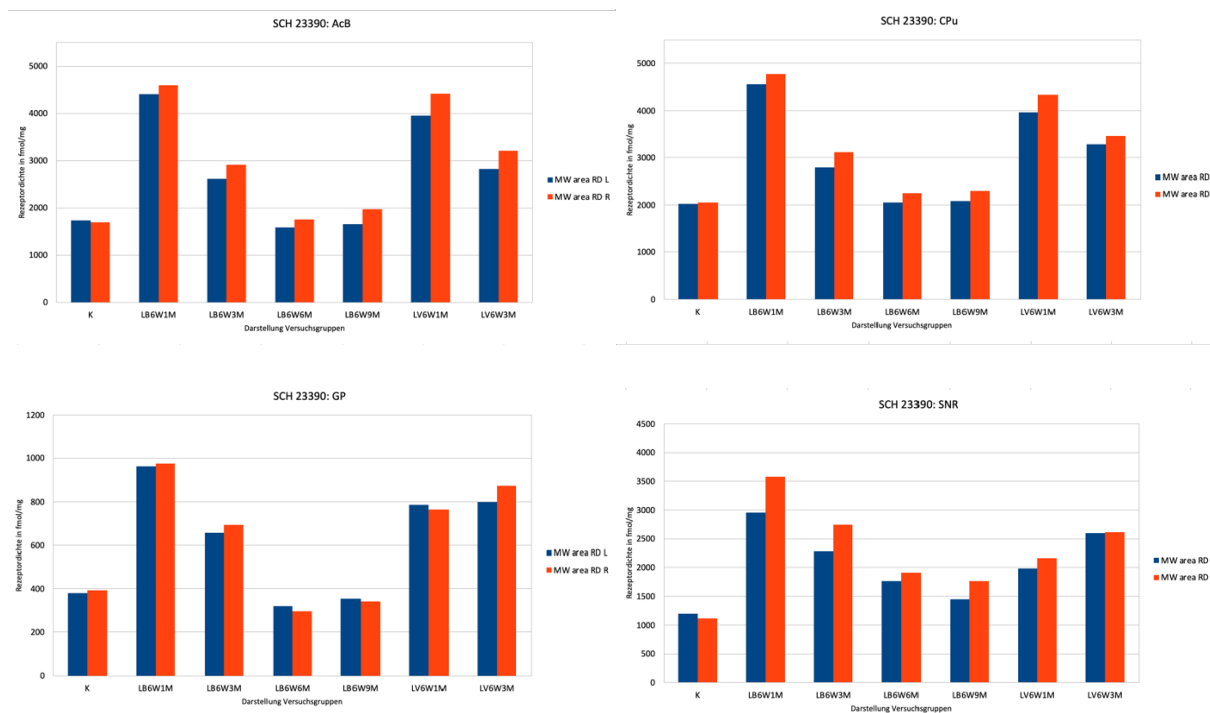
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.





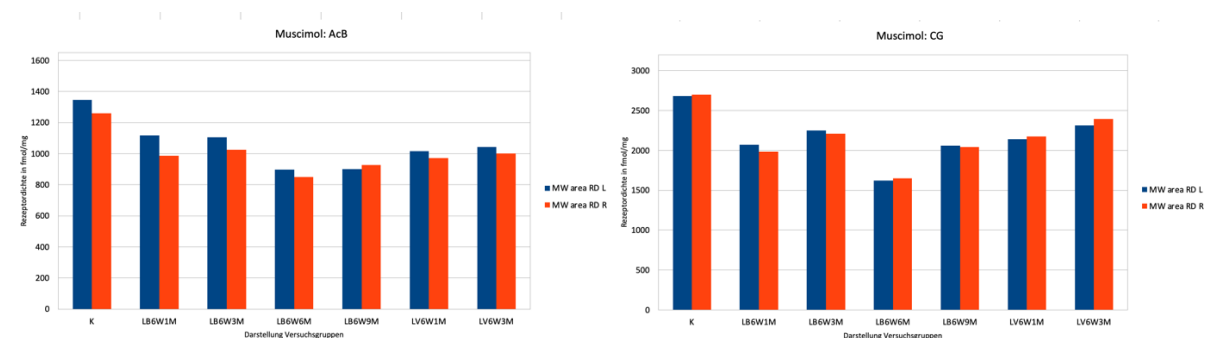
## Abbildung 6.4 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand ( $[^3\text{H}]$ -SCH23390) des $\text{D}_1$ – Dopaminrezeptors

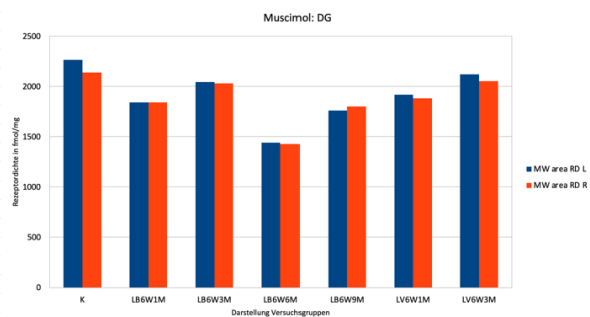
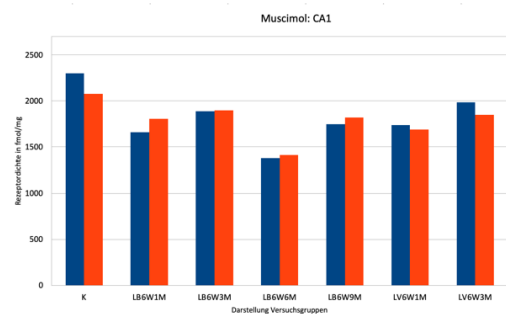
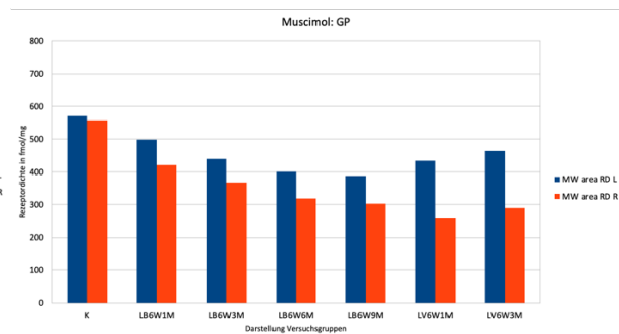
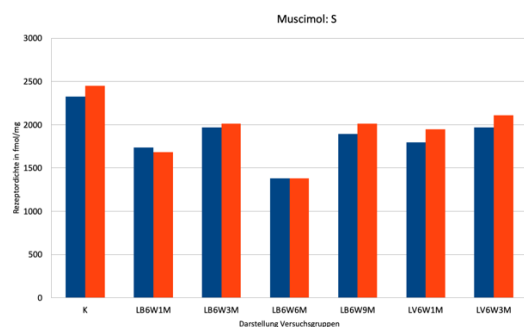
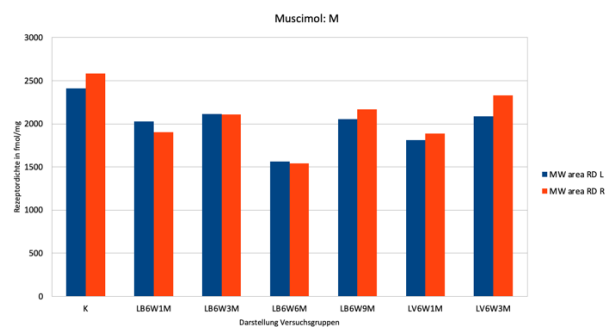
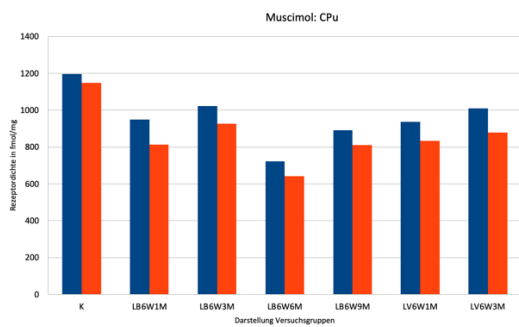
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangenen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.



## Abbildung 6.5.1 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand $[^3\text{H}]$ -Muscimol des GABA A – Rezeptors

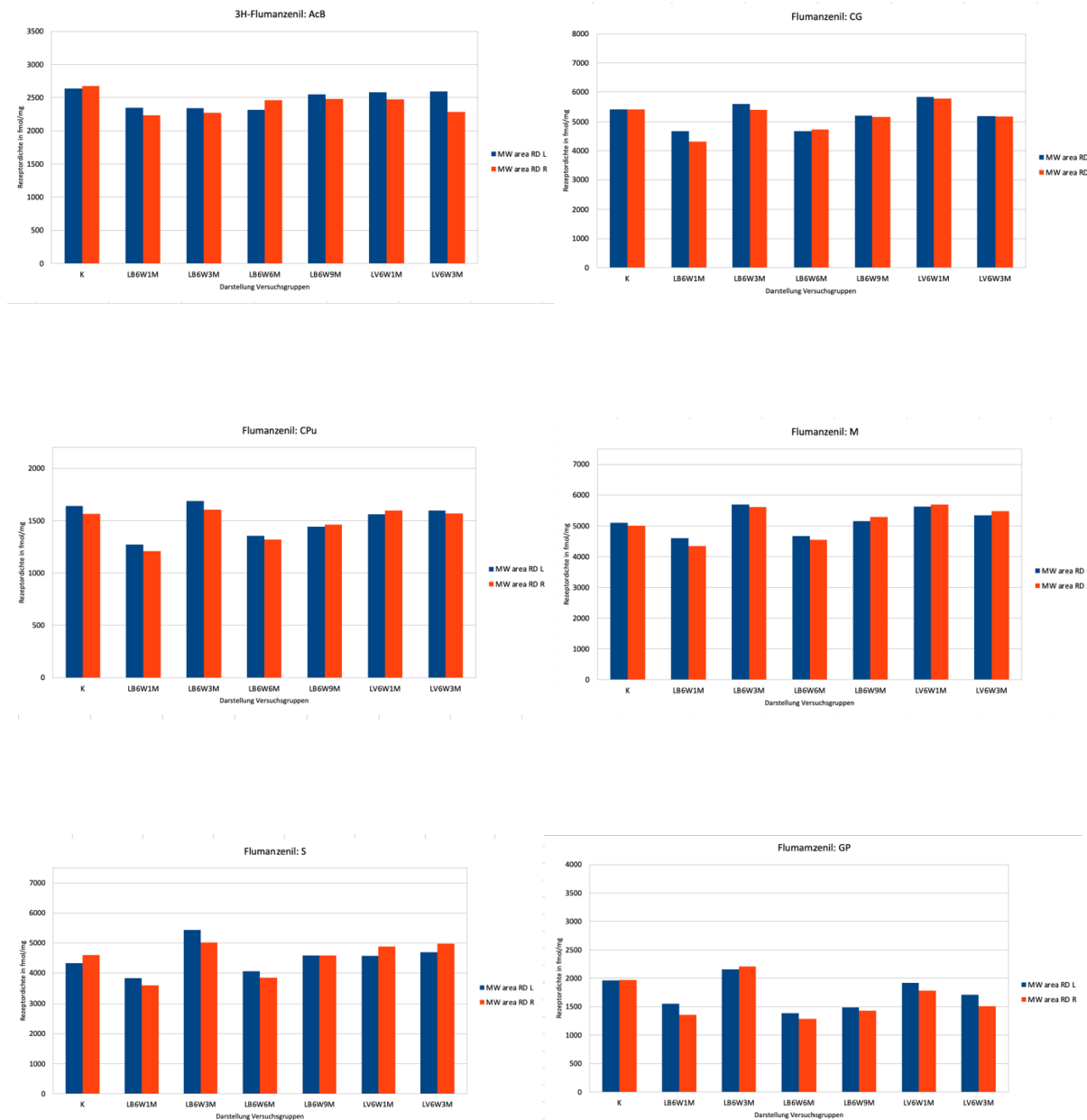
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangenen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.

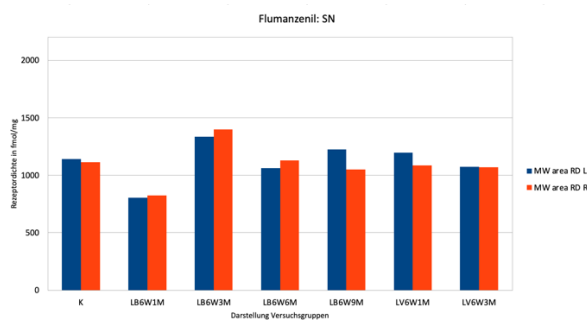
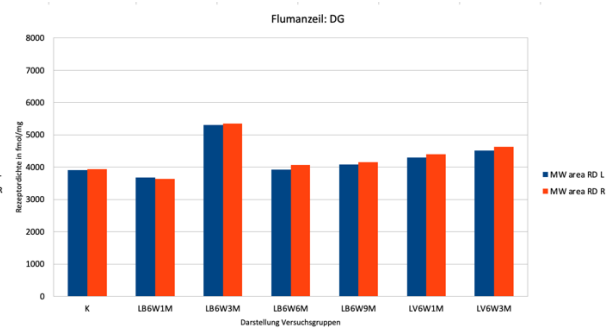
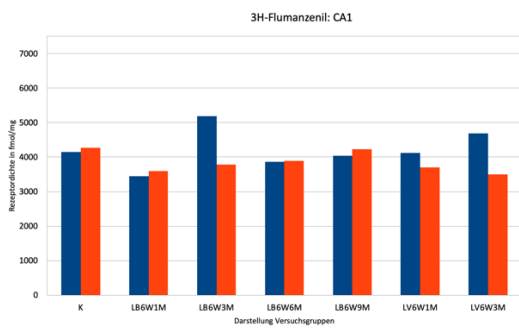




## Abbildung 6.5.2 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [<sup>3</sup>H]-Flumazenil des GABA A – Rezeptors mit Benzodiazepin – Bindungsstelle

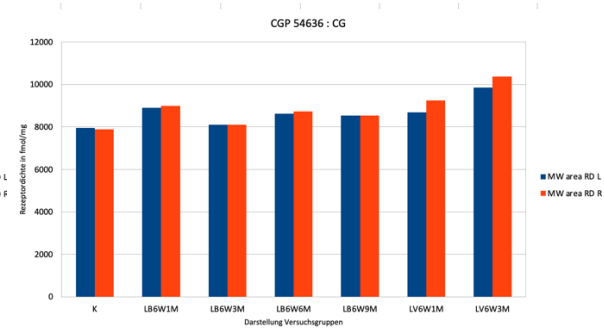
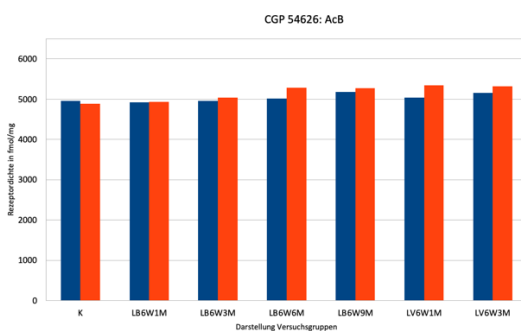
Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangenen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.

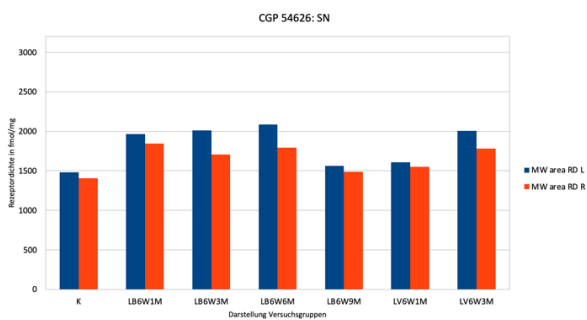
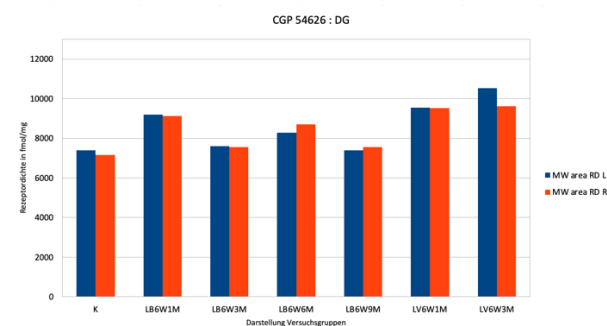
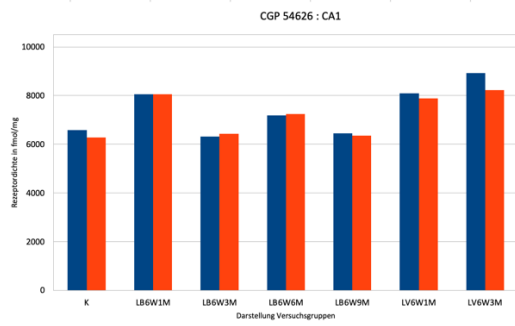
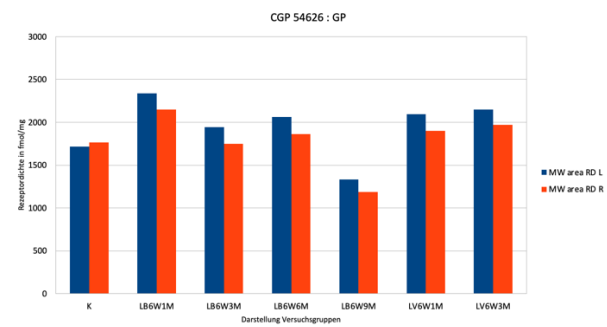
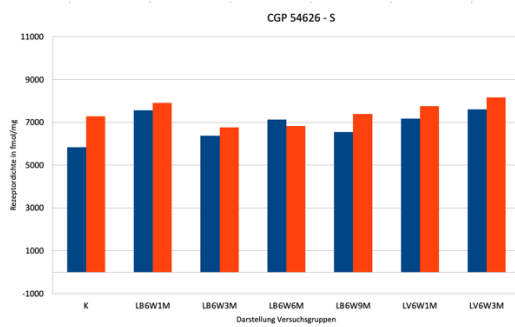
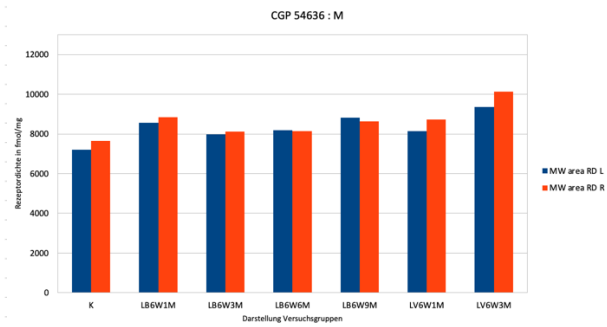
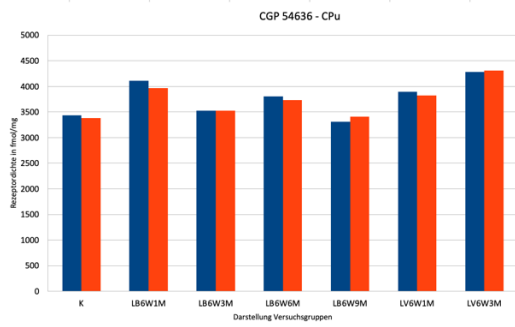




**Abbildung 6.5.3 Darstellung der zeitlichen Veränderung der mittleren RD für den Ligand [ $^3\text{H}$ ]-CGP52626 des GABA B – Rezeptors**

Zeitraum über 6-9 Monate für die Versuchsgruppen LB und LV an Hemi-PD-Ratten für alle Hirnregion mit RD > 200 fmol/ mg. Die orangen Balken repräsentieren den MW der RD der rechten (läsionierten) Hemisphäre pro Fläche und die blauen Balken stellen den MW pro Fläche für die RD der linken Hemisphäre dar.





## 6.2 Tabellenanhang

**Tabelle 6.1:** Zusammenfassung der mittleren RD (MW) pro Fläche der einzelnen Hirnareale für alle analysierten Rezeptoren in fmol/mg Protein  $\pm$  SD (Standardabweichung) für die Versuchsgruppen: Kontrollgruppe (K), Hemi-PD-Ratte mit BoNT-A (LB) und Hemi-PD-Ratte mit Vehikel (LV) jeweils für die rechte und linke Hemisphäre.

| Rezeptor                                              | Hirn-areal | K links           | K rechts          | LB links          | LB rechts         | LV links          | LV rechts         |
|-------------------------------------------------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>5HT2A<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>Ketanserin</b>      | AcB        | 1188<br>$\pm$ 125 | 1212 $\pm$ 99     | 1048<br>$\pm$ 100 | 657 $\pm$ 97      | 1087 $\pm$ 92     | 664 $\pm$ 50      |
|                                                       | CG         | 888 $\pm$ 90      | 857 $\pm$ 53      | 834 $\pm$ 67      | 835 $\pm$ 91      | 790 $\pm$ 62      | 810 $\pm$ 79      |
|                                                       | CPu        | 1049 $\pm$ 63     | 1065 $\pm$ 54     | 1042 $\pm$ 65     | 497 $\pm$ 48      | 1014 $\pm$ 43     | 513 $\pm$ 33      |
|                                                       | M          | 1021 $\pm$ 97     | 1103 $\pm$ 75     | 985 $\pm$ 72      | 1045<br>$\pm$ 104 | 890 $\pm$ 92      | 959 $\pm$ 66      |
|                                                       | S          | 777 $\pm$ 86      | 818 $\pm$ 24      | 739 $\pm$ 44      | 711 $\pm$ 79      | 742 $\pm$ 48      | 654 $\pm$ 52      |
|                                                       | GP         | 226 $\pm$ 24      | 240 $\pm$ 20      | 221 $\pm$ 34      | 185 $\pm$ 34      | 201 $\pm$ 27      | 187 $\pm$ 29      |
|                                                       | CA1        | 357 $\pm$ 23      | 366 $\pm$ 29      | 363 $\pm$ 29      | 357 $\pm$ 30      | 349 $\pm$ 19      | 344 $\pm$ 20      |
|                                                       | DG         | 436 $\pm$ 36      | 446 $\pm$ 43      | 395 $\pm$ 30      | 383 $\pm$ 30      | 406 $\pm$ 22      | 403 $\pm$ 25      |
|                                                       | SN         | 460 $\pm$ 61      | 462 $\pm$ 56      | 385 $\pm$ 74      | 302 $\pm$ 42      | 375 $\pm$ 53      | 202 $\pm$ 35      |
| <b>Adenosin-A1<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>DPCPX+Gpp</b> | AcB        | 2005<br>$\pm$ 326 | 1943<br>$\pm$ 246 | 2407<br>$\pm$ 379 | 2336<br>$\pm$ 403 | 2621<br>$\pm$ 469 | 2522<br>$\pm$ 296 |
|                                                       | CG         | 3608<br>$\pm$ 246 | 3744<br>$\pm$ 302 | 3599<br>$\pm$ 303 | 3436<br>$\pm$ 324 | 3435<br>$\pm$ 223 | 3366<br>$\pm$ 242 |
|                                                       | CPu        | 2682<br>$\pm$ 274 | 2639<br>$\pm$ 166 | 2807<br>$\pm$ 172 | 2901<br>$\pm$ 179 | 2846<br>$\pm$ 216 | 3033<br>$\pm$ 228 |
|                                                       | M          | 3452<br>$\pm$ 282 | 3497<br>$\pm$ 301 | 3400<br>$\pm$ 287 | 3341<br>$\pm$ 331 | 3455<br>$\pm$ 186 | 3366<br>$\pm$ 182 |
|                                                       | S          | 4492<br>$\pm$ 202 | 4451<br>$\pm$ 246 | 4520<br>$\pm$ 267 | 4395<br>$\pm$ 365 | 4362<br>$\pm$ 194 | 4409<br>$\pm$ 227 |
|                                                       | GP         | 1768<br>$\pm$ 166 | 1796<br>$\pm$ 138 | 1869<br>$\pm$ 208 | 1956<br>$\pm$ 301 | 1759<br>$\pm$ 119 | 1949<br>$\pm$ 401 |
|                                                       | CA1        | 6770<br>$\pm$ 552 | 6489<br>$\pm$ 728 | 6889<br>$\pm$ 574 | 7034<br>$\pm$ 677 | 5973<br>$\pm$ 468 | 6183<br>$\pm$ 579 |
|                                                       | DG         | 5360<br>$\pm$ 560 | 5359<br>$\pm$ 618 | 5284<br>$\pm$ 373 | 5248<br>$\pm$ 348 | 4862<br>$\pm$ 213 | 4963<br>$\pm$ 294 |
|                                                       | SN         | 1350<br>$\pm$ 191 | 1182<br>$\pm$ 162 | 1234<br>$\pm$ 142 | 1252<br>$\pm$ 163 | 1077<br>$\pm$ 112 | 1034<br>$\pm$ 136 |

|                                                                      |     |         |         |         |         |         |          |
|----------------------------------------------------------------------|-----|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
|                                                                      | AcB | 297 ±27 | 293 ±30 | 328 ±35 | 377 ±40 | 287 ±24 | 315 ±16  |
| <b>Adreno-<br/>rezeptor<br/>α1<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>Prazosin</b> | CG  | 621 ±40 | 605 ±37 | 557 ±79 | 627 ±69 | 558 ±79 | 636 ±105 |
|                                                                      | CPu | 204 ±15 | 200 ±12 | 217 ±18 | 227 ±21 | 197 ±16 | 203 ±19  |
|                                                                      | M   | 627 ±58 | 668 ±51 | 600 ±66 | 690 ±76 | 612 ±91 | 722 ±75  |
|                                                                      | S   | 455 ±30 | 487 ±22 | 465 ±33 | 511 ±55 | 440 ±36 | 524 ±41  |
|                                                                      | GP  | 129 ±8  | 122 ±7  | 133 ±33 | 129 ±47 | 106 ±17 | 108 ±20  |
|                                                                      | CA1 | 374 ±17 | 377 ±15 | 372 ±34 | 419 ±29 | 362 ±28 | 405 ±11  |
|                                                                      | DG  | 426 ±23 | 437 ±29 | 421 ±34 | 453 ±37 | 416 ±33 | 446 ±25  |
|                                                                      | SN  | 195 ±42 | 204 ±39 | 177 ±30 | 155 ±30 | 140 ±21 | 104 ±25  |

|                                                                      |     |              |              |              |              |              |              |
|----------------------------------------------------------------------|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Adreno-<br/>rezeptor<br/>α2<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>UK14,304</b> | AcB | 1107<br>±214 | 1148<br>±177 | 1154<br>±151 | 1339<br>±156 | 1231<br>±112 | 1370<br>±133 |
|                                                                      | CG  | 725 ±82      | 718 ±77      | 741 ±88      | 886 ±94      | 822 ±46      | 946 ±68      |
|                                                                      | CPu | 538 ±86      | 556 ±77      | 512 ±79      | 645 ±99      | 551 ±46      | 670 ±45      |
|                                                                      | M   | 722 ±71      | 734 ±58      | 701 ±89      | 883 ±96      | 747 ±53      | 925 ±58      |
|                                                                      | S   | 697 ±76      | 757 ±75      | 647 ±81      | 728 ±90      | 663 ±44      | 787 ±42      |
|                                                                      | GP  | 311 ±65      | 330 ±71      | 228 ±52      | 229 ±60      | 257 ±27      | 283 ±48      |
|                                                                      | CA1 | 573 ±73      | 583 ±83      | 709 ±98      | 739 ±111     | 651 ±58      | 663 ±64      |
|                                                                      | DG  | 511 ±60      | 519 ±65      | 577 ±81      | 590 ±79      | 540 ±41      | 549 ± 30     |
|                                                                      | SN  | 472 ±119     | 444 ±178     | 465 ±85      | 425 ±60      | 441 ±62      | 346 ±36      |

|                                                                |     |              |              |              |              |              |              |
|----------------------------------------------------------------|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Dopamin-D<sub>1</sub><br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>SCH23390</b> | AcB | 1729<br>±170 | 1690<br>±188 | 2514<br>±511 | 2758<br>±503 | 3482<br>±460 | 3916<br>±512 |
|                                                                | CPu | 2031<br>±139 | 2062<br>±162 | 2849<br>±208 | 3085<br>±202 | 3631<br>±180 | 3908<br>±188 |
|                                                                | GP  | 380 ±30      | 394 ±19      | 523 ±76      | 523 ±88      | 792 ±90      | 819 ±104     |
|                                                                | SN  | 1196<br>±143 | 1113<br>±281 | 2112<br>±212 | 2498<br>±306 | 2288<br>±231 | 2338<br>±333 |

|                                                 |     |              |              |              |              |              |              |
|-------------------------------------------------|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>GABA A<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>Muscimol</b> | AcB | 1346<br>±196 | 1259<br>±193 | 1005 ±85     | 947 ±113     | 1029<br>±106 | 986 ±84      |
|                                                 | CG  | 2680<br>±304 | 2697<br>±340 | 2000<br>±457 | 1972<br>±432 | 2226<br>±371 | 2284<br>±368 |
|                                                 | CPu | 1197 ±77     | 1150 ±86     | 896 ±106     | 798 ±99      | 974 ±91      | 856 ±86      |
|                                                 | M   | 2414<br>±318 | 2583<br>±374 | 1939<br>±419 | 1928<br>±371 | 1949<br>±314 | 2107<br>±327 |
|                                                 | S   | 2326<br>±296 | 2453<br>±344 | 1744<br>±379 | 1772<br>±372 | 1883<br>±341 | 2028<br>±385 |
|                                                 | GP  | 571 ±152     | 558 ±151     | 439 ±80      | 357 ±70      | 448 ±82      | 272 ±71      |

|  |     |              |              |              |              |              |              |
|--|-----|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|  | CA1 | 2297<br>±254 | 2077<br>±263 | 1665<br>±233 | 1731<br>±244 | 1859<br>±185 | 1765<br>±175 |
|  | DG  | 2266<br>±177 | 2139<br>±174 | 1771<br>±190 | 1774<br>±156 | 2016 ±88     | 1966<br>±133 |

|                                                       |     |              |              |               |               |               |               |
|-------------------------------------------------------|-----|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>GABA A-Bz<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>Flumanzenil</b> | AcB | 2637<br>±324 | 2679<br>±312 | 2389<br>±450  | 2363<br>±505  | 2590<br>±408  | 2377<br>±272  |
|                                                       | CG  | 5418<br>±789 | 5424<br>±706 | 5039<br>±999  | 4905<br>±898  | 5511±114<br>6 | 5477±116<br>5 |
|                                                       | CPu | 1640<br>±113 | 1563<br>±100 | 1440<br>±308  | 1389<br>±323  | 1578<br>±452  | 1582<br>±445  |
|                                                       | M   | 5106<br>±757 | 4999<br>±599 | 5028±101<br>1 | 4949±987      | 5484±110<br>7 | 5581±121<br>1 |
|                                                       | S   | 4330<br>±606 | 4594<br>±867 | 4476±947      | 4261<br>±903  | 4632±131<br>1 | 4911±140<br>5 |
|                                                       | GP  | 1963<br>±246 | 1974<br>±244 | 1697<br>±652  | 1619<br>±693  | 1817<br>±783  | 1572<br>±640  |
|                                                       | CA1 | 4155<br>±736 | 4263<br>±885 | 4117±124<br>1 | 3874<br>±340  | 4411±140<br>0 | 3601<br>±355  |
|                                                       | DG  | 3912<br>±591 | 3941<br>±620 | 4411±120<br>1 | 4306±118<br>9 | 4411±130<br>2 | 4511±135<br>1 |
|                                                       | SN  | 1142<br>±175 | 1113<br>±211 | 1106<br>±443  | 1100<br>±462  | 1135<br>±477  | 1076<br>±516  |

|                                                 |     |              |              |               |               |                |               |
|-------------------------------------------------|-----|--------------|--------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
| <b>GABA B<br/>[<sup>3</sup>H]-<br/>CGP52626</b> | AcB | 4955<br>±125 | 4886<br>±166 | 5016<br>±584  | 5133<br>±723  | 5096<br>±540   | 5333<br>±622  |
|                                                 | CG  | 7958<br>±728 | 7884<br>±651 | 8511±161<br>8 | 8587±161<br>1 | 9274±131<br>1  | 9811±131<br>5 |
|                                                 | CPu | 3437<br>±143 | 3383<br>±163 | 3688<br>±535  | 3656<br>±494  | 4087<br>±507   | 4068<br>±450  |
|                                                 | M   | 7213<br>±577 | 7656<br>±758 | 8391±161<br>1 | 8411±161<br>8 | 8741±171<br>1  | 9411±178<br>1 |
|                                                 | S   | 5833<br>±592 | 7280<br>±645 | 6819±111<br>6 | 7114±140<br>9 | 7111±131<br>7  | 7959±110<br>8 |
|                                                 | GP  | 1715<br>±140 | 1767 ±90     | 1920<br>±380  | 1736<br>±380  | 2123<br>±255   | 1959<br>±263  |
|                                                 | CA1 | 6580<br>±767 | 6271<br>±635 | 7110±151<br>6 | 7115±156<br>5 | 8511±160<br>3  | 8051±131<br>1 |
|                                                 | DG  | 7393<br>±962 | 7157<br>±925 | 8120<br>±1903 | 8234<br>±1792 | 10042<br>±2024 | 9567<br>±1667 |
|                                                 | SN  | 1484<br>±287 | 1407<br>±137 | 1855<br>±665  | 1657<br>±432  | 1808<br>±506   | 1680<br>±228  |

## Thesen

1. Der idiopathische Morbus Parkinson ist eine der häufigsten neurodegenerativen Erkrankungen im Zentralnervensystem.
2. Pathophysiologisch lassen sich die beschriebenen motorischen und nicht-motorischen Störungen durch den ausgeprägten Verlust dopaminerger Neuronen in der Substantia nigra pars compacta und einem funktionellen Hypercholinismus im Striatum begründen.
3. Das 6-OHDA-Hemiparkinson-Modell der Ratte stellt ein etabliertes Tiermodell dar zur beispielhaften Veranschaulichung der Pathologie beim Morbus Parkinson. Es wurde bereits zur Untersuchung mehrerer aktueller Behandlungsverfahren genutzt, sowie in der Grundlagenforschung. Veränderungen auf Rezeptorebene in verschiedenen Hirnarealen sind noch nicht vollständig geklärt.
4. Die Bestimmung von selektierten Serotonin-, GABA-, Dopamin-, Adreno- und Adenosin-Rezeptoren in unterschiedlichen Regionen der Basalganglienschleife und auch damit eng verbundenen Hirnarealen mittels der in vitro Rezeptorautoradiographie sind Gegenstand dieser Studie.
5. Über eine mögliche therapeutische Wirkung von Botulinum-Neurotoxin-A nach intrastriataler Injektion und dessen Auswirkung auf die Rezeptordichten in verschiedenen Hirnarealen im 6-OHDA-Hemiparkinson-Modell ist noch wenig bekannt.
6. Für die Dichte des Adenosin-A<sub>1</sub>, GABA-B und GABA-A mit Benzodiazepin-Bindungsstelle wurden keine signifikanten Veränderungen sowohl für die Sham-BoNT (LV), als auch für die BoNT-A (LB) behandelten Hemiparkinson-Ratten gefunden.
7. Für den 5HT<sub>2A</sub>-Rezeptor wurde eine signifikante Reduktion der Rezeptordichte sowohl für die Sham-BoNT, als auch für die BoNT-A behandelten Hemiparkinson-Ratten auf der läsionierten Seite gefunden. Im CPu lag dies bei -49,4% (LV) und -52,3% (LB), im AcB bei -38,9% (LV) und -37,3% (LB). In der SN zeigte sich eine signifikante Gegenregulation bei einer RD-Differenz in der Gruppe LV von -46,2% und in der Gruppe LB von -21.5%.
8. Für den D<sub>1</sub>-Rezeptor wurde eine signifikante Hochregulation in der SN bei den BoNT-A behandelten Hemiparkinson-Ratten festgestellt von 18,2% auf der läsionierten Seite.

Ebenso war dies signifikant erhöht im Vergleich zur Rezeptordichte von 2,1% in der SN der Sham-BoNT behandelten Ratten.

9. Für den  $\alpha 1$ -Rezeptor wurden signifikant erhöhte Rezeptordichten in den Hirnarealen AcB, CG, M, S, CA1 und DG von 10% - 20% gemessen, sowohl für die BoNT-A (LB) als auch für die Sham-BoNT (LV) behandelten Hemiparkinson-Ratten. Zusätzlich zeigte sich im Hemiparkinson-Modell der Ratte nach BoNT-A (LB) Injektion in der SN ein signifikanter Ausgleich der RD Differenz von -12%, im Vergleich zu der RD Differenz in der SN von -25% in der Gruppe LV.

10. Für den  $\alpha 2$ -Rezeptor wurden signifikant erhöhte Rezeptordichten in den Hirnarealen AcB, CG, M, CPu und S von 15% - 25% gemessen, sowohl für die BoNT-A (LB) als auch für die Sham-BoNT (LV) behandelten Hemiparkinson-Ratten. Zusätzlich zeigte sich im Hemiparkinson-Modell der Ratte nach BoNT-A (LB) Injektion in der SN ein signifikanter Ausgleich der RD Differenz von -11%, im Vergleich zu der RD Differenz in der SN von -22% in der Gruppe LV.

11. Für den GABA-A Rezeptor wurde im CPu eine signifikante Differenz der RD sowohl für die Sham behandelten (-12%), als auch für die BoNT-A behandelten (-11%) Hemiparkinson-Ratten gemessen. Im GP wurde zusätzlich ein signifikanter Ausgleich der RD Differenz im Hemiparkinson-Modell der Ratte nach BoNT-A Injektion (-18%) festgestellt, im Vergleich zu der Sham-BoNT injizierten Versuchsgruppe (-39%).

## Erklärung

Ich gebe folgende Erklärung ab:

1. Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig gefertigt und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Dazu habe ich keine außer den von mir angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verwendet, und die den benutzten Werken inhaltlich und wörtlich entnommenen Stellen habe ich als solche kenntlich gemacht.

2. Die Gelegenheit zum vorliegenden Promotionsvorhaben ist mir nicht kommerziell vermittelt worden. Insbesondere habe ich keine Organisation eingeschaltet, die gegen Entgelt Betreuerinnen/Betreuer für die Anfertigung von Dissertationen sucht oder die mir obliegenden Pflichten hinsichtlich der Prüfungsleistung für mich ganz oder teilweise erledigt.

Rostock, den 23.01.2023

Samer Sabarini

## Danksagung

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. med. Andreas Wree, der mir dieses Promotionsthema bereitgestellt und mich in die Thematik und in die Arbeitsgruppe eingearbeitet hat. Ebenfalls möchte ich meinen Dank aussprechen für die regelmäßige und geduldige Unterstützung in der Anfertigung dieser wissenschaftlichen Arbeit und für die Durchführung aller Tieroperationen.

Mein weiterer Dank gilt dem bedauerlicherweise mittlerweile verstorbenen Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Karl Zilles, der dieses Forschungsprojekt gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. med. Wree entwickelt und die Durchführung der Rezeptorautoradiographie ermöglicht hat.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Oliver Schmitt für die Strategieentwicklung bezüglich der Messungen und technischen Datenauswertung, sowie die Schulungen für Excel und SPSS.

Für die sorgfältige Erstellung und Bereitstellung sämtlicher Materialien und Vorarbeiten möchte ich mich bei den Kollegen und Kolleginnen der Arbeitsgruppe Neuroregeneration des anatomischen Instituts der Universität Rostock, sowie bei den Labormitarbeitern des Forschungszentrum Jülich bedanken.

Außerdem möchte ich mich herzlichst bei meiner Leitenden Oberärztin Frau Dr. med. Stefanie Hammersen bedanken. Sie hat mir während meiner Assistenzarztzeit in der Neurochirurgie im Vivantes Friedrichshain auf Grund ihrer Dienstplanung die Möglichkeiten erschaffen, ausreichend Zeit für diese Arbeit zu haben. Außerdem hat sie mich zusätzlich in der Umsetzung unterstützt.

Zum Schluss möchte ich mich noch bei meiner Familie bedanken, insbesondere meiner Schwester Sofia, bei Sarah, sowie meiner Partnerin Nina. Sie alle haben mir durch ihre uneingeschränkte und liebevoll Unterstützung das Studium und somit auch die Anfertigung dieser Arbeit ermöglicht.

## Lebenslauf

---

### Persönliche Angaben

---

**Name:** Samer Sabarini

**Geburtsdatum:** 11.09.1993 in Kassel

**Nationalität:** Deutsch

**Adresse:** Altensteinstr. 13, 14195 Berlin

**Email:** ssabarini@gmx.de

**Tel.:**



---

### Schulausbildung

---

**Berlin International School, Berlin**

1999 - 2011

Schulabschluss 2011: International Baccalaureate (IB)  
mit 41 Punkte von insgesamt 42 (entspricht deutschem Abitur)

**Rensselaer Medal, Troy (New York)**

Ausgezeichnet vom Rensselaer Polytechnic Institute (USA), Stipendium für ein wissenschaftliches Arbeitspapier.

---

### Studium

---

**Universitätsmedizin Rostock**

2011 - 2018

Medizinstudium an der Universität Rostock  
PJ-Wahlfach: Neurochirurgie

**Dissertation**

Seit Nov 2019

Experimentelle Studie in der Anatomie der Universität Rostock mit Schwerpunkt Neuroregeneration unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. A. Wree, ehem. Direktor des Instituts für Anatomie an der Universität Rostock

---

### Berufserfahrung

---

**Ernst von Bergmann, Potsdam**

Jun 2019 – Sep 2021

Assistenzarzt für Neurochirurgie

- Selbstständige Erledigung und Führung sämtlicher stationärer Aufgaben im Rahmen des prä- und post-operativen Patientenmanagement.
- Durchführung mehrerer chirurgischer Eingriffe z.B. bei Bandscheibenvorfällen, Spinalkanalstenosen, zerebralen Blutungen, Lumbalpunktionen, EVD Anlage.
- Assistenz bei verschiedenen komplexen Eingriffen wie bei spinalen und kranialen Tumoren, Spondylodesen, Wirbelkörperersatz oder Rückenmarkstimulation bei Schmerzsyndromen.
- Teilnahme und Organisation von interdisziplinäre neuroonkologische Tumorboard oder neuroradiologische Demonstrationen.

Assistenzarzt für Neurochirurgie

- Ausbildung mit Schwerpunkt neurochirurgische akut Traumatologie und interdisziplinäre Intensivmedizin
- Durchführung mehrerer chirurgischer Eingriffe wie bei Bandscheibenvorfällen, Spinalkanalstenosen, zerebrale Blutungen, Lumbalpunktion, EVD Anlage.

---

### **Fortbildung**

---

#### **Februar 2015: 6. Kurs 'Anatomische Grundlagen für die Neurochirurgie'**

Universitätsklinik für Neurochirurgie, Salzburg, Österreich

- Präparation an Leichen mit Übungen zur Darstellung und Darstellung verschiedener Leitstrukturen und Zugänge.
- Breites Spektrum an Referaten zu neuroanatomischen Themen.

#### **April 2016: 6<sup>th</sup> Annual EANS Young Neurosurgeons'**

Meeting Royal College of Surgeons, London, England

- Schwerpunkt posteriore Fossa und kraniozervikaler Übergang.
- Versierte Vorträge gehalten von Internationalen Professoren mit praktischen Übungen und Beispiele.

#### **Oktorber 2017: 4<sup>th</sup> Thoracolumbar Spine Course**

Vivantes Klinium Spandau, Berlin, Deutschland

- Schwerpunkt endoskopisch und minimal invasive Verfahren der Brust- und Lendenwirbelsäule
- Praktische Übungen an Leichen

---

### **Freizeit**

---

#### **Sprachen**

Deutsch (Muttersprache) | Englisch (Muttersprache) | Bulgarisch (Muttersprache) |  
Französisch (gute Kenntnisse) | Arabisch (gute Kenntnisse)

#### **Interessen**

Reisen | Klavier | Rennsport