

INHALT

| | |
|---|-----------|
| I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | I |
| 1. EINLEITUNG..... | 1 |
| 2. LITERATURÜBERSICHT | 4 |
| 2.1. Die Basalganglien: Physiologische Funktionen und pathophysiologische Bedeutung für die Dystonie..... | 4 |
| 2.1.1. Neuroanatomie der Basalganglien und ihre Bedeutung für die Motorik..... | 4 |
| 2.1.2. Nervenzellen des Striatums..... | 7 |
| 2.1.2.1. Striatale Projektionsneurone (MSNs) | 7 |
| 2.1.2.2. Striatale Interneurone..... | 8 |
| 2.2. Das cholinerge Neurotransmittersystem | 10 |
| 2.2.1. Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Acetylcholin | 10 |
| 2.2.2. Das cholinerge System innerhalb der Basalganglien | 13 |
| 2.2.3. Acetylcholinrezeptoren | 15 |
| 2.2.3.1. Nikotinerge ACh-Rezeptoren..... | 15 |
| 2.2.3.2. Muskarinerge ACh-Rezeptoren | 16 |
| 2.2.4. Allosterische Modulation..... | 20 |
| 2.3. Dystonien..... | 22 |
| 2.3.1. Definition und Bedeutung | 22 |
| 2.3.2. Einteilung und Genetik der Dystonie..... | 23 |
| 2.3.2.1. Die Early-onset-Torsionsdystonie (TD)..... | 27 |
| 2.3.3. Pathophysiologie primärer Dystonien | 29 |
| 2.3.3.1. Bedeutung des TorsinA für die Early-onset-TD | 31 |
| 2.3.4. Therapie der primären Dystonien | 33 |
| 2.3.4.1. Medikamentöse Therapien | 33 |
| 2.3.4.2. Operative Therapien..... | 35 |
| 2.4. Tiermodelle für primäre Dystonien..... | 36 |
| 2.4.1. Phänotypische Tiermodelle | 37 |
| 2.4.1.1. Der <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 38 |
| 2.4.1.1.1. Klinisches Erscheinungsbild | 39 |
| 2.4.1.1.2. Befunde zur Neuropathologie sowie zur neuronalen Aktivität bei der <i>dt^{sz}</i> -Mutante | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4.1.1.3. Neurochemische und neuropharmakologische Befunde beim <i>dt^{sz}</i> -Hamster..... | 42 |
| 2.4.2. Ätiologische Tiermodelle: Das DYT1-Mausmodell | 44 |
| 2.5. Fragestellung der vorliegenden Arbeit | 50 |
| 2.5.1. Zielstellung und Arbeitshypothese | 50 |
| 2.5.2. Untersuchungen im <i>dt^{sz}</i> -Hamster..... | 51 |
| 2.5.2.1. Pharmakologische Manipulationen von mAChR..... | 51 |
| 2.5.2.2. Rezeptorautoradiographische Untersuchungen von mAChR..... | 55 |
| 2.5.3. Untersuchung in der DYT1-Maus | 55 |
| 2.5.3.1. Pharmakologische Manipulationen von mAChR..... | 56 |
| 2.5.3.2. Immunhistochemische Untersuchung von striatalen cholinergen Interneuronen und Westernblot-Analysen zur Expression der Cholinacetyltransferase in verschiedenen Gehirnstrukturen | 57 |
| 3. MATERIAL UND METHODEN | 60 |
| 3.1. Material..... | 60 |
| 3.1.1. Versuchstiere | 60 |
| 3.1.1.1. <i>dt^{sz}</i> -Hamstermutante | 60 |
| 3.1.1.2. DYT1-Mausmodell | 60 |
| 3.1.2. Haltung und Fütterung | 61 |
| 3.1.2.1. <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 61 |
| 3.1.2.2. DYT1-Maus | 61 |
| 3.1.2.3. Versuchstiere post operationem | 61 |
| 3.1.3. Verwendete Substanzen und Geräte | 62 |
| 3.2. Methoden | 64 |
| 3.2.1. <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 64 |
| 3.2.1.1. Induktion und Beurteilung der paroxysmalen Dystonie | 64 |
| 3.2.1.2. Systemische pharmakologische Manipulation von mAChR | 68 |
| 3.2.1.2.1. Einmalige systemische intraperitoneale Applikation..... | 68 |
| 3.2.1.2.2. Chronischer Versuch über einen Zeitraum von 21 Tagen | 68 |
| 3.2.1.3. Striatale Mikroinjektionen von Stoffen mit Wirkung auf mAChR..... | 69 |
| 3.2.1.3.1. Stereotaktische Implantation der Führungskanülen | 69 |
| 3.2.1.3.2. Mikroinjektionstechnik | 71 |
| 3.2.1.3.3. Perfusion und histologische Untersuchungen zur Bestimmung der Lokalisation der Führungskanülen | 72 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.1.4. Rezeptorautoradiographische Analyse der mAChR-Subtypen M1 und M2/M4 | 74 |
| 3.2.2. DYT1-Maus | 75 |
| 3.2.2.1. Genotypisierung | 75 |
| 3.2.2.2. Untersuchungen zur Vitalität und Motorik | 76 |
| 3.2.2.3. Pharmakologische Manipulation von mAChR im DYT1-Mausmodell | 81 |
| 3.2.2.3.1. Einmalige systemische intraperitoneale Applikation..... | 82 |
| 3.2.2.3.2. Chronischer Versuch über einen Zeitraum von 21 Tagen | 83 |
| 3.2.2.4. Striatale Mikroinjektionen | 84 |
| 3.2.2.4.1. Stereotaktische Implantation der Führungskanülen | 84 |
| 3.2.2.4.2. Mikroinjektionstechnik | 84 |
| 3.2.2.4.3. Perfusion und histologische Untersuchungen zur Bestimmung der Lokalisation der Führungskanülen | 84 |
| 3.2.2.5. Immunhistochemische Untersuchung striataler cholinriger Interneurone bei DYT1-Mäusen | 85 |
| 3.2.2.6. Westernblot-Analyse der Cholinacetyltransferase | 88 |
| 3.3. Statistische Versuchsauswertung..... | 92 |
| 3.3.1. Untersuchungen im <i>dt^{sz}</i> -Hamster..... | 92 |
| 3.3.1.1. Pharmakologische Manipulationen beim <i>dt^{sz}</i> -Hamster..... | 92 |
| 3.3.1.2. Rezeptorautoradiographische Untersuchungen im <i>dt^{sz}</i> -Hamstermodell | 93 |
| 3.3.2. Untersuchungen im DYT1-Mausmodell | 93 |
| 3.3.2.1. Pharmakologische Manipulationen im DYT1-Mausmodell | 93 |
| 3.3.2.2. Immunhistochemische Untersuchungen..... | 94 |
| 4. ERGEBNISSE..... | 95 |
| 4.1. <i>dt^{sz}</i>-Hamster | 95 |
| 4.1.1. Pharmakologische Manipulation von mAChR im <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 95 |
| 4.1.1.1. Systemisch akuter Versuch | 96 |
| 4.1.1.1.1. Einmalige systemische Applikation von Tropicamid in Kombination mit Trihexyphenidyl..... | 97 |
| 4.1.1.1.2. Einmalige systemische Applikation von Pirenzepin..... | 98 |
| 4.1.1.2. Systemisch chronischer Versuch über einen Zeitraum von 21 Tagen | 100 |
| 4.1.1.2.1. Tägliche systemische Applikation von Trihexyphenidyl..... | 100 |
| 4.1.1.2.2. Tägliche systemische Applikation von Tropicamid und Trihexyphenidyl | 102 |
| 4.1.1.2.3. Tägliche systemische Applikation von Pirenzepin..... | 105 |

| | |
|---|------------|
| 4.1.1.3. Striatale Mikroinjektionen | 107 |
| 4.1.1.3.1. Striatale Mikroinjektionen von Trihexyphenidyl | 107 |
| 4.1.1.3.2. Striatale Mikroinjektionen von Tropicamid und Trihexyphenidyl | 108 |
| 4.1.1.3.3. Striatale Mikroinjektionen von VU0152100 | 109 |
| 4.1.2. Rezeptorautoradiographische Untersuchungen | 112 |
| 4.2. DYT1-Maus | 115 |
| 4.2.1. Genotypisierung | 115 |
| 4.2.2. Pharmakologische Manipulation des cholinergen Systems | 115 |
| 4.2.2.1. Einmalige systemische Applikation von Pilocarpin | 116 |
| 4.2.2.2. Tägliche systemische Applikation von Pilocarpin über einen Zeitraum von 21 Tagen | 123 |
| 4.2.2.3. Striatale Mikroinjektionen von Pilocarpin | 129 |
| 4.2.2.3. Immunhistochemische Untersuchung striataler cholinriger Interneurone in DYT1-Mäusen | 132 |
| 4.2.2.4. Westernblot-Analyse der Cholinacetyltransferase | 139 |
| 5. DISKUSSION | 141 |
| 5.1. Aspekte zur Methodik | 141 |
| 5.1.1. Untersuchungen im <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 141 |
| 5.1.1.1. Induktion und Beurteilung der Bewegungsstörungen beim <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 141 |
| 5.1.1.2. Tägliche systemische Applikation über einen Zeitraum von 21 Tagen | 142 |
| 5.1.1.3. Striatale Mikroinjektionen beim <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 142 |
| 5.1.1.4. Rezeptorautoradiographische Untersuchungen | 144 |
| 5.1.2. Untersuchungen in der DYT1-Maus | 145 |
| 5.1.2.1. Genotypisierung | 145 |
| 5.1.2.2. Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Vitalität und Motorik von DYT1-Mäusen | 146 |
| 5.1.2.3. Pharmakologische Manipulationen | 149 |
| 5.1.2.4. Immunhistochemische Untersuchung striataler cholinriger Interneurone bei DYT1-Mäusen | 153 |
| 5.1.2.5. Westernblot-Analyse der Cholinacetyltranferase | 154 |
| 5.2. Ergebnisse | 156 |
| 5.2.1. <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 156 |
| 5.2.1.1. Pharmakologische Manipulation von mAChR im <i>dt^{sz}</i> -Hamster | 156 |
| 5.2.1.1.1. Einmalige systemische Applikation der mAChR-Antagonisten Tropicamid und Trihexyphenidyl | 156 |

| | |
|---|------------|
| 5.2.1.1.2. Systemische Applikationen von mAChR-Antagonisten über einen Zeitraum von 21 Tagen | 158 |
| 5.2.1.1.3. Striatale Mikroinjektionen von mAChR-Antagonisten..... | 160 |
| 5.2.1.1.4. Striatale Mikroinjektionen des positiven allosterischen Modulators VU0152100 | 162 |
| 5.2.1.1.5. Akute und chronische systemische Applikationen von Pirenzepin | 163 |
| 5.2.1.2. Rezeptorautoradiographische Untersuchungen..... | 164 |
| 5.2.2. DYT1-Maus | 166 |
| 5.2.2.1. Pharmakologische Manipulation des cholinergen Systems | 166 |
| 5.2.2.1.1. Einmalige systemische Applikation von Pilocarpin..... | 166 |
| 5.2.2.1.2. Tägliche systemische Applikation von Pilocarpin über einen Zeitraum von 21 Tagen | 168 |
| 5.2.2.1.3. Striatale Mikroinjektionen von Pilocarpin | 169 |
| 5.2.2.2. Immunhistochemische Untersuchungen striataler cholinerge Interneurone in DYT1-Mäusen | 172 |
| 5.2.2.3. Westernblot-Analyse der Cholinacetyltransferase | 174 |
| 5.3. Schlussbetrachtungen | 175 |
| 6. ZUSAMMENFASSUNG | 178 |
| 7. SUMMARY..... | 180 |
| 8. LITERATURVERZEICHNIS | 182 |
| 9. TABELLARISCHER ANHANG | 221 |
| PUBLIKATIONSLISTE | 267 |
| DANKSAGUNG | 268 |
| SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG..... | 270 |