

6. Ergebnisse

6.1. Charakterisierung des Läsionserfolges

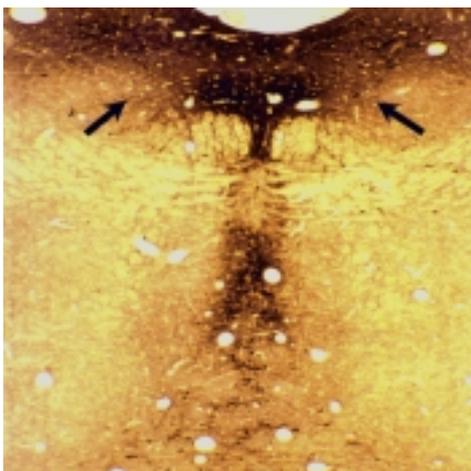
6.1.1. 5-HT-Immunhistochemie

Bei adulten Tieren mit Läsion des DRN konnte bei 62 % der Tiere (18 von 29) eine erfolgreiche Läsion nachgewiesen werden. Tiere mit MRN-Läsion zeigten einen 69 %-igen (20 von 29) Läsionserfolg. Die Läsion des DRN bei jungen Tieren war mit 80 % (28 von 35), die des MRN mit 86 % (31 von 36) erfolgreich. Der Läsionserfolg bei jungen Tieren im Alter von 7 Wochen ist somit höher als bei den adulten Tieren mit Alter von 10 Monaten. Weiterhin zeigt der Vergleich beider Rapheregionen eine erfolgreichere Läsion des MRN.

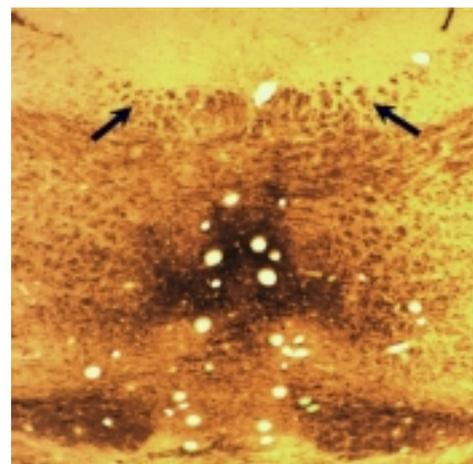
Abbildung 13 zeigt ein Beispiel der histologischen Befunde nach a) Scheinläsion/ Läsion des DRN und b) Scheinläsion/ Läsion des MRN.

Abbildung 13

a) Scheinläsion/ Läsion des DRN

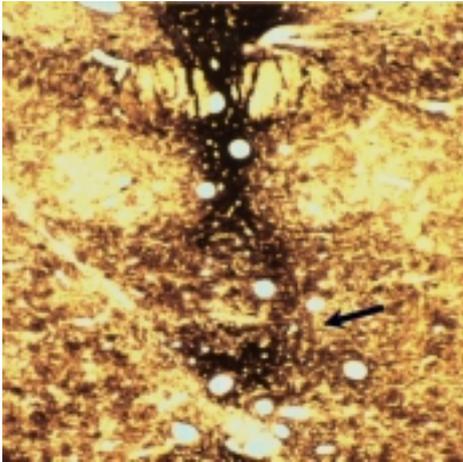


Scheinläsion

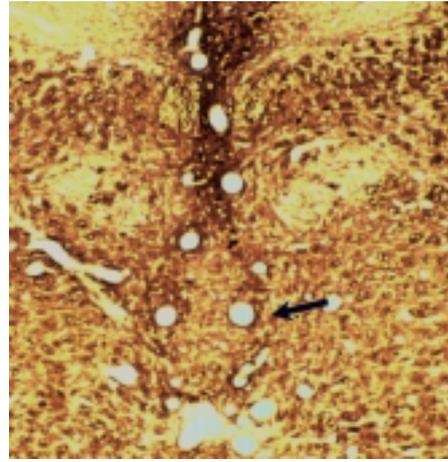


Läsion

b) Scheinläsion/ Läsion des MRN



Scheinläsion



Läsion

6.1.2. Gehaltsbestimmungen

Für diesen Versuch wurden 36 Tiere lädiert und weitere 36 scheinlädiert (Alter: 7 Wochen). Ein scheinlädiertes Tier verstarb während der Operation.

6.1.2.1. Gehaltsbestimmungen von DA und DOPAC im Striatum

Es ergaben sich in Abhängigkeit des Läsionszeitpunktes und der Läsionsstruktur signifikante Veränderungen im DOPAC-, nicht jedoch im DA-Gehalt.

- **Gehalte nach Läsion des MRN**

Der DA-Gehalt des STR ist eine, drei und neun Wochen nach Läsion nicht signifikant verändert. Der DOPAC-Gehalt hingegen hat sich eine Woche nach Läsion im Vergleich zu scheinlädierten Tieren um 54 % erhöht ($p < 0,01$), drei und neun Wochen nach Läsion zeigt sich keine Veränderung.

- **Gehalte nach Läsion des DRN**

Wie auch bei Läsion des MRN bleibt der DA-Gehalt nach Läsion des DRN für alle untersuchten Zeiträume unverändert. Der DOPAC-Gehalt lädierter Tiere zeigt nach drei Wochen eine signifikante Erhöhung um 47 % ($p < 0,01$), die Gehalte eine und neun Wochen nach Läsion unterscheiden sich nicht von scheinlädierten Tieren.

6.1.2.2. Gehaltsbestimmungen von 5-HT und 5-HIAA im Striatum

Nach serotonerger Läsion des MRN ist im STR eine und drei Wochen nach Läsion eine signifikante Erniedrigung der 5-HT- und 5-HIAA-Gehalte zu verzeichnen ($p < 0,5$). Die leicht erniedrigten Werte nach neunwöchiger Läsionswirkung sind statistisch nicht signifikant. Die Reduzierung der Gehalte ist nach 3 Wochen am deutlichsten ($p < 0,01$).

Nach Läsion des DRN ist eine über den gesamten Zeitraum von 9 Wochen anhaltende und sich noch verstärkende Gehaltserniedrigung zu verzeichnen ($p < 0,01$).

Ein Vergleich der Effekte hinsichtlich der Läsionsstruktur lässt erkennen, dass die Läsion des DRN zu einem weitaus drastischeren Mangel an 5-HT bzw. 5-HIAA im STR führt.

In Tabelle 6 werden die Gehalte lädierter Tiere in Bezug zu scheinläderten Tieren auf Basis der Medianwerte in Prozent dargestellt.

Tabelle 6 Gehalte von 5-HT und 5-HIAA im STR nach Läsion des MRN und DRN

Zeit nach Läsion	1 Woche		3 Wochen		9 Wochen	
	5-HIAA [%]	5-HT [%]	5-HIAA [%]	5-HT [%]	5-HIAA [%]	5-HT [%]
Gehalt nach Läsion des MRN	81,1	71,0	68,0	64,0	91,7	88,3
Gehalt nach Läsion des DRN	21,9	24,8	12,1	7,7	5,7	2,8

6.1.2.3. Gehaltsbestimmungen von 5-HT und 5-HIAA im Hippocampus

Nach allen drei Zeiträumen zeigen sich sowohl nach Läsion des MRN als auch nach Läsion des DRN drastisch erniedrigte Gehalte von 5-HT bzw. 5-HIAA ($p < 0,01$). Die Gehalte der lädierten Tiere im Vergleich zu Kontrollen sind in Tabelle 7 auf Basis der Medianwerte in Prozent ausgewiesen.

Tabelle 7 Gehalte von 5-HT und 5-HIAA im Hippocampus nach Läsion des MRN und DRN

Zeit nach Läsion	1 Woche		3 Wochen		9 Wochen	
Parameter	5-HIAA [%]	5-HT [%]	5-HIAA [%]	5-HT [%]	5-HIAA [%]	5-HT [%]
Gehalt nach Läsion des MRN	27,8	17,9	23,8	17,0	36,8	21,6
Gehalt nach Läsion des DRN	22,6	22,4	27,5	24,0	18,8	18,8

6.2. Kontinuierliche Amperometrie

6.2.1. Kontinuierliche Amperometrie unter Anwendung von GBR 12909

Die in die Auswertung einbezogenen lädierten Tiere der entsprechenden Altersgruppen umfassen jeweils nur erfolgreiche Läsionen. Von insgesamt 325 amperometrisch untersuchten Tieren sind 68,3 % in die Endauswertung eingegangen. 9,9 % der Versuche sind infolge ungenügender Läsion und 5,2 % durch nichtauswertbare Messungen (ungenügende Stimulierbarkeit der DA-Freisetzung) ausgeschlossen worden. Der Prozentsatz der Tiere, die während des mehrstündigen Versuches verstarben, betrug 16,6 %.

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse umfassen 1. Die Charakterisierung des DA-Uptakes von lädierten, scheinlädierten und unbehandelten Tieren jeweils vor und nach Behandlung mit GBR 12909, d.h. vor und nach Inhibition des DAT. Ziel dieser Betrachtung war zum einen die Darstellung der Zwischenschritte, die das Erfassen des hochaffinen Uptakes ermöglichten und zum anderen die Darstellung der Auswirkungen einer 5-HT-Läsion auf die Gesamt-DA-Clearance bzw. die verbleibenden Clearance-Mechanismen nach DAT-Blockade. Im Weiteren wird 2. die DAT-Blockade unter GBR-12909 genauer charakterisiert, indem der Grad der DA-Uptake-Verlangsamung nach DAT-Blockade bei den drei Behandlungsgruppen in Prozent ermittelt wurde und somit eine Aussage über den Anteil des hochaffinen DA-Uptakes an der Gesamt-Clearance möglich ist. Es folgt 3. die Darstellung des hochaffinen striatalen DA-Uptakes unter den

Bedingungen einer 5-HT-Läsion im Vergleich zu scheinlädierten und unbehandelten Tieren.

6.2.1.1. Bestimmung der DA-Clearance vor und nach Applikation von GBR 12909

a) Jungtiere (Alter: 7 Wo zum Zeitpunkt der L/ SL)

In Abhängigkeit des Zeitraumes der Messung nach L/ SL ergaben die Untersuchungen signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen, welche in Bezug zur Läsionsstruktur (MRN, DRN) zum Teil Übereinstimmung zeigen.

- **DA-Clearance nach Läsion/ Scheinläsion des MRN (Abbildung 14)**

Eine Woche nach L/ SL zeigt sich vor GBR 12909-Gabe eine hohe Übereinstimmung der DA-Clearance-Geschwindigkeiten bei allen untersuchten Tiergruppen ($p = 0,993$). Die DA-Clearance vor GBR-Gabe erfasst die die Gesamt-DA-Clearance, die sich aus den Teilprozessen des hochaffinen und unspezifischen DA-Uptakes, der Diffusion und der DA-Metabolisierung zusammensetzt. Nach Applikation von GBR 12909, d.h. nach DAT-Blockade bzw. Herausfiltern des hochaffinen DA-Uptakes, ist im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen die Clearancerate scheinlädiertes Tiere etwas, die lädiertes Tiere stärker erhöht. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant ($p = 0,0636$).

Drei Wochen nach L/ SL ist die Gesamt-Clearance lädiertes Tiere in Bezug zu unbehandelten Tieren signifikant verlangsamt ($p = 0,0366$). Nach DAT-Blockade ist kein Unterschied zwischen den Tiergruppen feststellbar.

Neun Wochen nach L/ SL zeigen die Abweichungen der Gruppen untereinander sowohl vor als auch nach GBR-Gabe keine statistisch gesicherten Unterschiede.

- **DA-Clearance nach Läsion/ Scheinläsion des DRN (Abbildung 15)**

Eine Woche nach L/ SL zeigen lädiertes Tiere eine herabgesetzte Gesamt-Clearance, nach DAT-Blockade ist die DA-Clearance-Geschwindigkeit dieser Tiergruppe erhöht. Statistisch ist keine Absicherung dieser Ergebnisse festzustellen.

Drei Wochen nach L/ SL zeigen, wie für die Läsion des MRN beschrieben, lädiertes Tiere eine signifikant verlangsamte DA-Clearance vor DAT-Blockade ($p = 0,024$). Dieser Unterschied besteht zu unbehandelten Kontrollen, scheinlädiertes Tiere zeigen ebenfalls eine statistisch gesicherte Verlangsamung ihrer Clearancerate. Unter DAT-Inhibition lässt

sich kein statistischer Unterschied der Gruppen feststellen; unbehandelte und lädierte Tiere verhalten sich ähnlich, die Clearance scheinlädierter Tiere ist leicht verlangsamt.

Neun Wochen nach L/ SL ist auch hier unter beiden Voraussetzungen (Unbehandelt, GBR 12909-Applikation) kein statistischer Unterschied zwischen den drei Gruppen zu ermitteln.

Abbildung 14: Striatale DA-Clearance vor und nach Gabe von GBR 12909 bei Ratten mit Läsion des MRN im Alter von 7 Wochen

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.
 * $p < 0,05$: einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test
 (Signifikanzen wurden untersucht innerhalb der drei Tiergruppen vor bzw. nach GBR 12909-Gabe; *: signifikanter Unterschied zu unbehandelten Kontrollen)

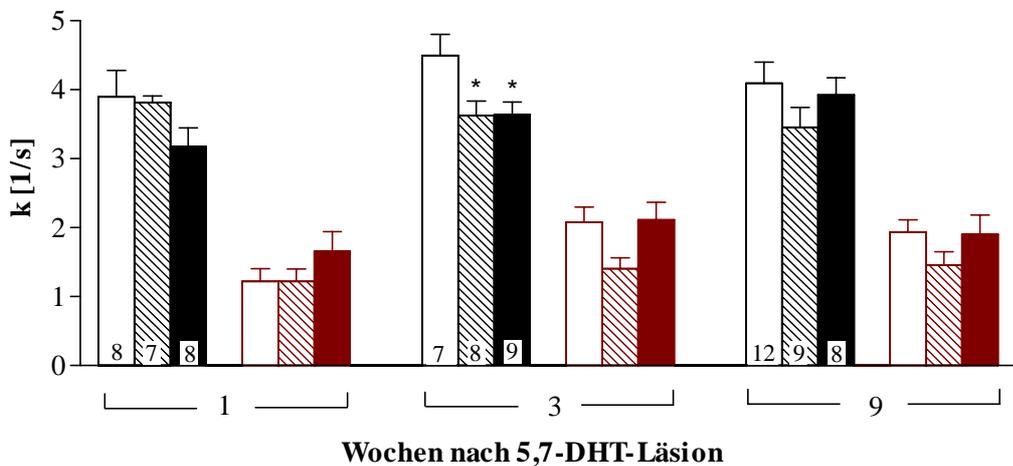
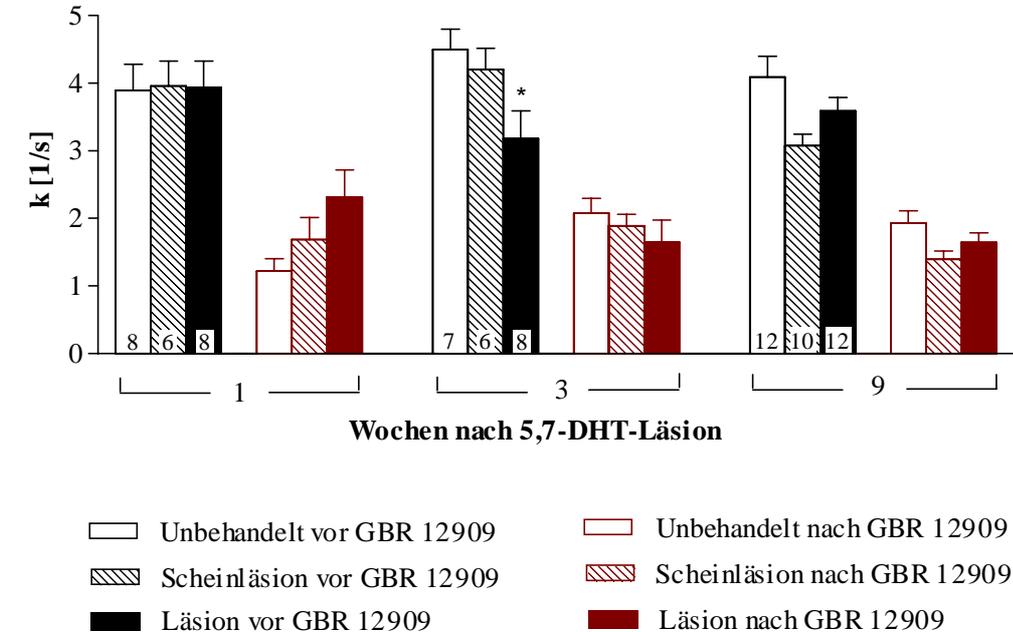


Abbildung 15: Striatale DA-Clearance vor und nach Gabe von GBR 12909 bei Ratten mit Läsion des DRN im Alter von 7 Wochen

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.
 * $p < 0,05$: einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test
 (Signifikanzen wurden untersucht innerhalb der drei Tiergruppen vor bzw. nach GBR 12909-Gabe; *: signifikanter Unterschied zu unbehandelten Kontrollen)

b) Adulte Tiere (Alter: 10 Monate zum Zeitpunkt der L/ SL)

Abhängig von der Läsionsstruktur zeigen sich auch bei adulten Tieren statistische Unterschiede zwischen den Tiergruppen.

- **DA-Clearance nach Läsion/ Scheinläsion des MRN (Abbildung 16)**

Eine Woche nach L/ SL ergibt sich nach DAT-Blockade eine signifikante Erhöhung der DA-Clearancerate bei der lädierten Tiergruppe im Vergleich zu unbehandelten und scheinlädierten Tieren ($p = 0,0132$). Unterschiede zwischen den Gruppen vor GBR-Gabe werden nicht signifikant.

Drei und neun Wochen nach L/ SL sind keine statistischen Unterschiede zwischen den Tiergruppen vor oder nach DAT-Blockade festzustellen.

- **DA-Clearance nach Läsion/ Scheinläsion des DRN (Abbildung 17)**

Die Läsion des DRN bei adulten Tieren hat nach allen untersuchten Zeiträumen keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Gesamt-Clearancerate sowie die unter DAT-Blockade ermittelte DA-Clearance der jeweils zu vergleichenden Tiergruppen.

6.2.1.2. Charakterisierung der DAT-Blockade unter Wirkung von GBR 12909

Die Behandlung mit dem DAT-Uptake-Blocker GBR 12909 führte bei allen Gruppen der Jungtiere sowie adulter Tiere zu einer signifikanten Verlangsamung der DA-Clearancerate. Um einen gruppenvergleichenden Eindruck zu gewinnen, in welchem Maß die Blockade der hochaffinen DA-Wiederaufnahme die DA-Clearance verändert, wurde auf Basis der Medianwerte die herabgesetzte DA-Clearancerate unter GBR 12909-Wirkung in Prozent ermittelt und in Tabelle 8 dargestellt.

Abbildung 16: Striatale DA-Clearance vor und nach Gabe von GBR 12909 bei Ratten mit Läsion des MRN im Alter von 10 Monaten

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.
 * $p < 0,05$: einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test
 (Signifikanzen wurden untersucht innerhalb der drei Tiergruppen vor bzw. nach GBR 12909-Gabe; signifikanter Unterschied lädierter Tiere: *: zu unbehandelten Kontrollen, °: zu scheinlädierten Tieren)

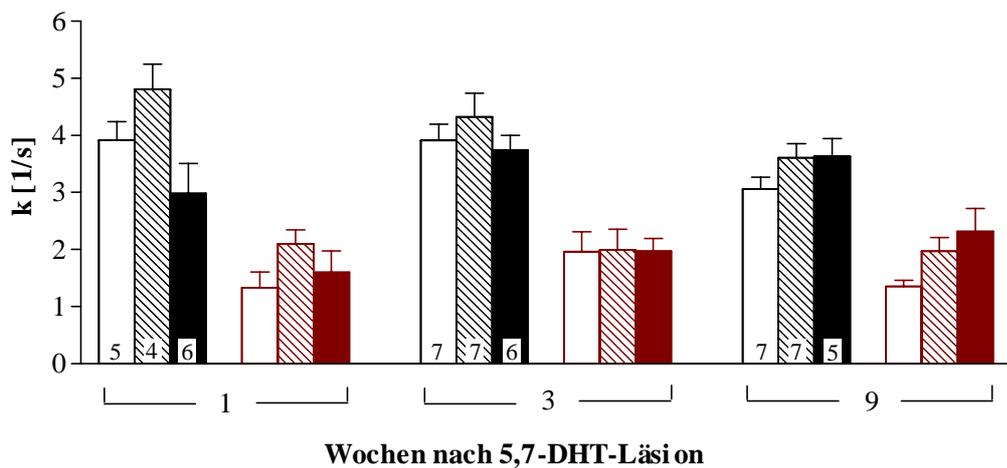
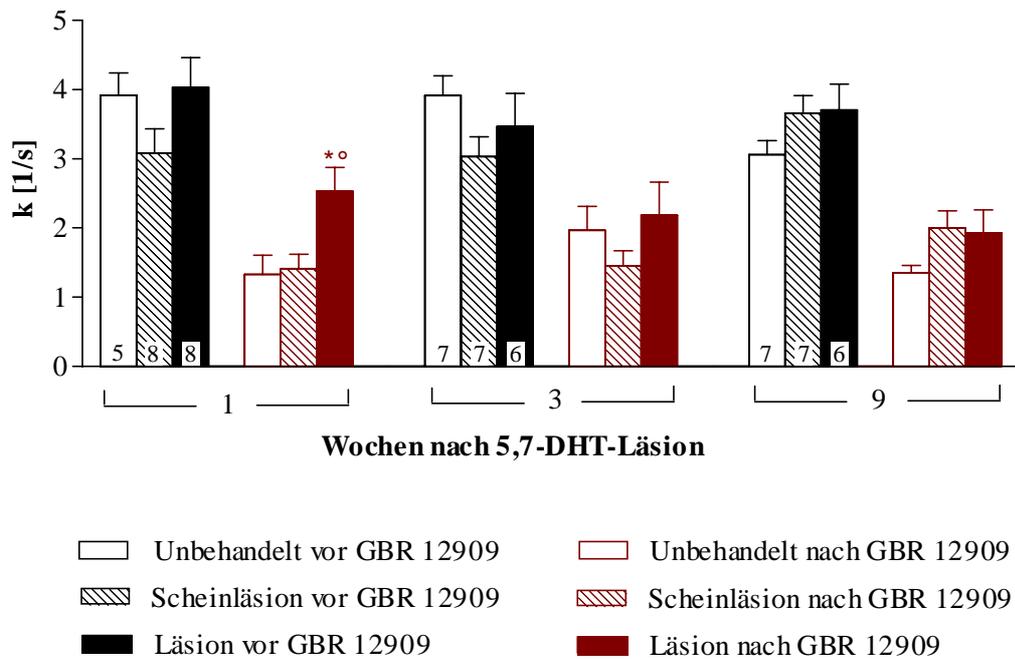


Abbildung 17: Striatale DA-Clearance vor und nach Gabe von GBR 12909 bei Ratten mit Läsion des DRN im Alter von 10 Monaten

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.

Tabelle 8: Charakterisierung der DAT-Blockade unter Wirkung von GBR 12909

Darstellung: 1. graphisch: Geschwindigkeitskonstante k der DA-Clearance vor und nach Behandlung der Tiere mit GBR 12909 (Medianwerte). 2. prozentual: die herabgesetzte DA-Clearancerate nach DAT-Blockade (nach GBR 12909) bei den einzelnen Tiergruppen (auf Basis der Medianwerte); * $p < 0,05$: Student-t-Test für gepaarte Daten bzw. Wilcoxon-Test

U: Unbehandelte Tiere, SL: scheinlädierte Tiere; L: lädierte Tiere

	1 Woche			3 Wochen			9 Wochen					
	U	SL	L	U	SL	L	U	SL	L			
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]			
MRN Jungtiere	32,1	34,1	54,5	39,6	44,6	50,5	48,7	44,5	43,9			
	vor GBR			nach GBR			vor GBR			nach GBR		
DRN Jungtiere	32,1	32,4	57,1	39,6	39,1	62,2	48,7	40,9	45,9			
	vor GBR			nach GBR			vor GBR			nach GBR		
MRN Adulte	31,8	47,5	58,8	44,5	41,4	70	40,1	62,4	50,4			
	vor GBR			nach GBR			vor GBR			nach GBR		
DRN Adulte	31,8	40,5	47,9	44,5	29,7	55,5	40,1	51,3	64,7			
	vor GBR			nach GBR			vor GBR			nach GBR		

6.2.1.3. Bestimmung des hochaffinen DA-Uptakes

a) Jungtiere (Alter: 7 Wo zum Zeitpunkt der L/ SL)

In Abhängigkeit des zeitlichen Abstandes der Messung nach L/ SL erbrachten die Untersuchungen für beide Läsionstrukturen signifikante Unterschiede zwischen den Tiergruppen. Die Läsion von jeweils DRN oder MRN führte dabei zu übereinstimmenden Veränderungen des hochaffinen DA-Uptakes im STR.

- **Hochaffiner DA-Uptake nach Läsion/ Scheinläsion des MRN (Abbildung 18)**

Eine Woche nach L/ SL zeigt sich bei lädierten Tieren eine signifikante Verringerung des hochaffinen DA-Uptakes gegenüber Scheinläsionen und unbehandelten Kontrollen ($p < 0,01$). Der Uptake scheinlädierter Tiere ist leicht verlangsamt, der Unterschied jedoch im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen nicht statistisch signifikant.

Drei Wochen nach L/ SL ergeben sich ähnliche statistische Verhältnisse. Lädierte Tiere unterscheiden sich signifikant von Scheinläsionen und unbehandelten Kontrollen ($p < 0,05$), der hochaffine DA-Uptake ist verlangsamt.

Neun Wochen nach L/ SL sind zwischen den Behandlungsgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar.

- **Hochaffiner DA-Uptake nach Läsion/ Scheinläsion des DRN (Abbildung 19)**

Sowohl eine als auch drei Wochen nach L/ SL zeigt sich eine signifikante Verlangsamung der hochaffinen DA-Clearance lädierter Tiere im Vergleich zu Kontrollen ($p < 0,01$) und Scheinläsionen ($p < 0,05$).

Wie auch nach MRN-Läsion kann neun Wochen nach L/ SL des DRN kein Einfluss der Behandlungen auf den hochaffinen DA-Uptake festgestellt werden.

Abbildung 18: Hochaffiner DA-Uptake im STR nach Läsion des MRN bei Ratten im Alter von 7 Wochen

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen * $^{\circ}$ $p < 0,05$, einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test signifikanter Unterschied lädierter Tiere: * $^{\circ}$: zu unbehandelten Kontrollen, $^{\circ}$: zu scheinlädierten Tieren

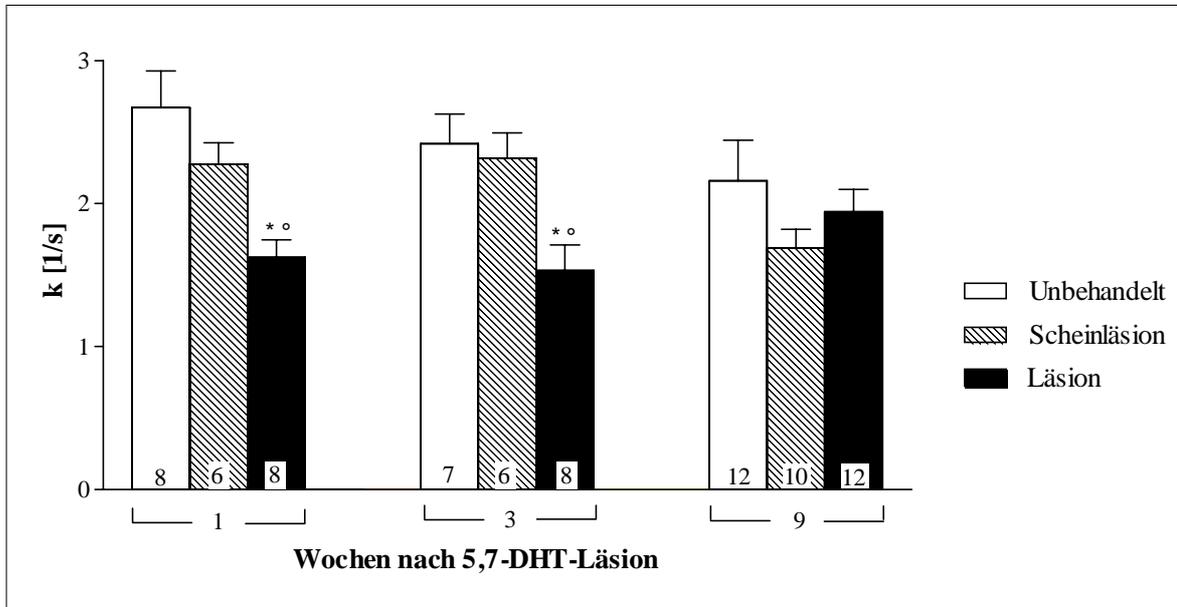
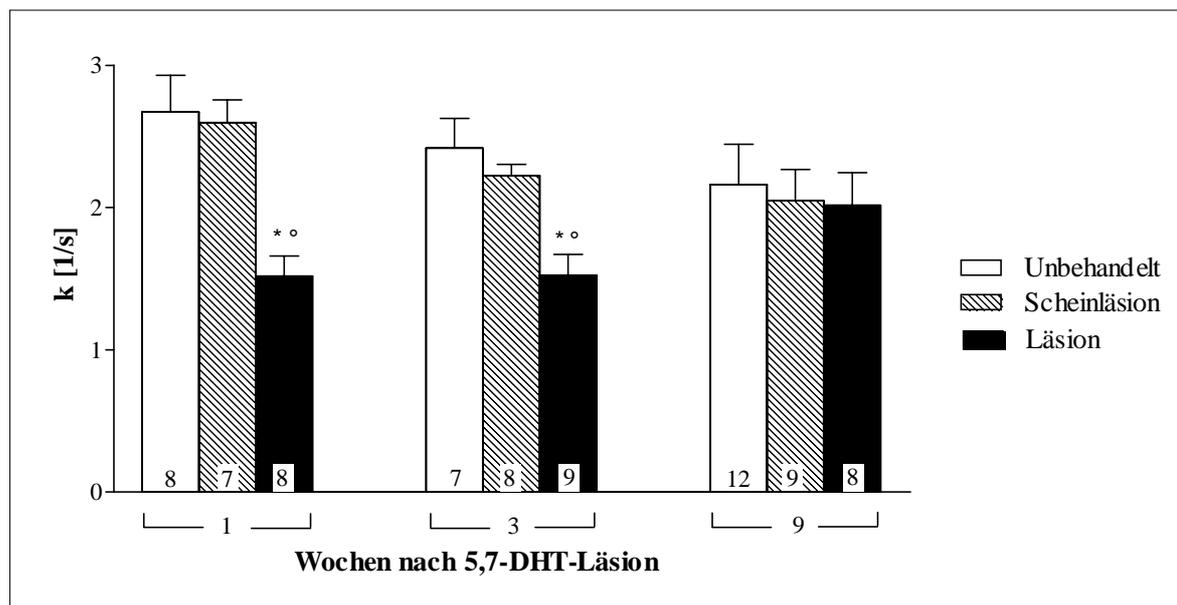


Abbildung 19: Hochaffiner DA-Uptake im STR nach Läsion des DRN bei Ratten im Alter von 7 Wochen

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen * $^{\circ}$ $p < 0,05$, einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test signifikanter Unterschied lädierter Tiere: * $^{\circ}$: zu unbehandelten Kontrollen, $^{\circ}$: zu scheinlädierten Tieren



b) Adulte Tiere (Alter: 10 Monate zum Zeitpunkt der L/ SL)

Bei adulten Tieren ergab sich ebenfalls eine Verringerung der hochaffinen DA-Uptake-Geschwindigkeit nach Läsion beider Raphekerne in zeitlicher Abhängigkeit vom Versuchszeitpunkt.

- **Hochaffiner DA-Uptake nach Läsion/ Scheinläsion des MRN (Abbildung 20)**

Eine Woche nach L/ SL sind die ermittelten Geschwindigkeitskonstanten des DA-Uptakes für lädierte Tiere im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen signifikant verringert ($p < 0,05$). Bei scheinlädierten Tieren zeigt sich in Bezug zu Kontrollen ebenfalls eine Verlangsamung der DA-Wiederaufnahme ($p < 0,05$). Die Aufnahmegeschwindigkeit scheinlädiertes und lädiertes Tiere ist statistisch nicht zu unterscheiden.

Drei und Neun Wochen nach L/ SL ist der DA-Uptake nach elektrisch stimulierter DA-Freisetzung im STR bei lädierten, scheinlädierten und unbehandelten Tieren statistisch nicht zu unterscheiden.

- **Hochaffiner DA-Uptake nach Läsion/ Scheinläsion des DRN (Abbildung 21)**

Eine Woche nach Läsion des DRN ist ebenfalls ein geschwindigkeitssenkender Effekt messbar. Der DA-Uptake lädiertes Tiere ist zu unbehandelten und scheinlädierten Kontrollen signifikant verringert ($p < 0,05$). Der DA-Uptake unbehandelter und scheinlädiertes Tiere unterscheidet sich nicht.

Nach drei und neun Wochen Läsionswirkung sind keine Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen feststellbar.

Abbildung 20: Hochaffiner DA-Uptake im STR nach Läsion des MRN bei Ratten im Alter von 10 Monaten

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.
 * $p < 0,05$, einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test
 signifikanter Unterschied lädiertes Tiere: *: zu unbehandelten Kontrollen

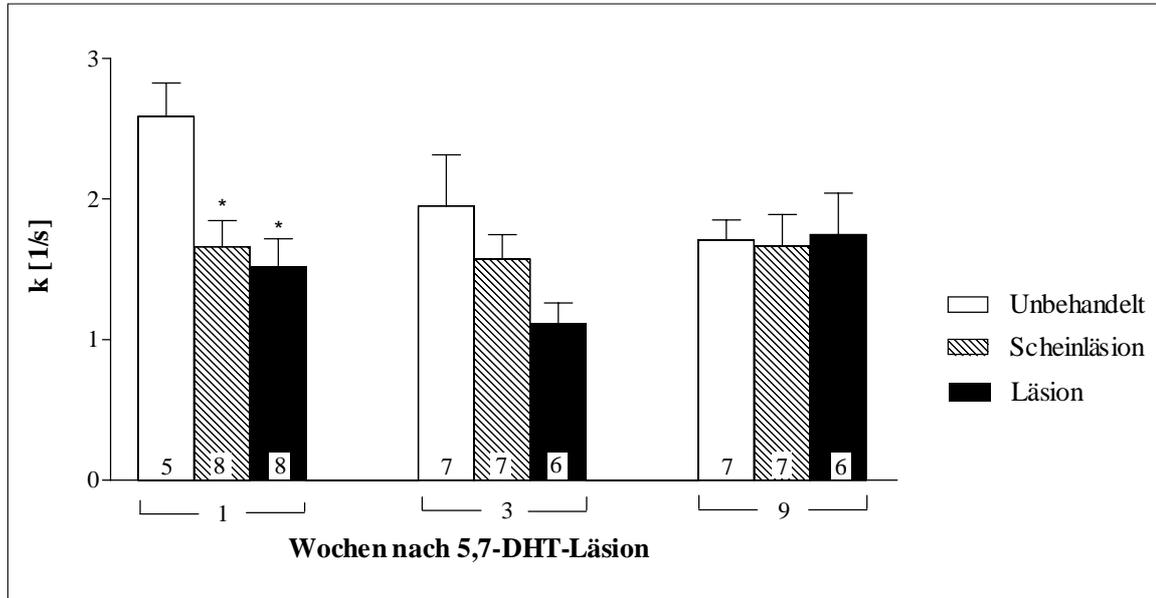
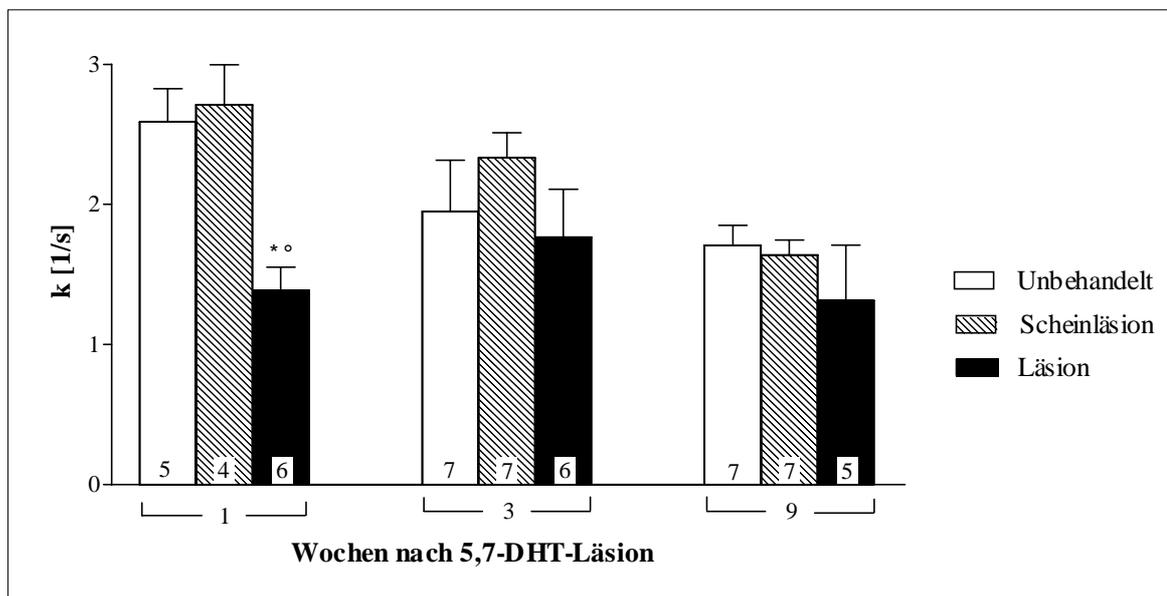


Abbildung 21: Hochaffiner DA-Uptake im STR nach Läsion des DRN bei Ratten im Alter von 10 Monaten

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k mit Angabe des Standardfehlers (SEM) und Kennzeichnung der Tierzahl der Gruppen.
 * $^{\circ}p < 0,05$, einfache Varianzanalyse, Student-Newman-Keuls-Test
 signifikanter Unterschied lädiertes Tiere: *: zu unbehandelten Kontrollen, $^{\circ}$: zu scheinlädierten Tieren



6.2.2. Kontinuierliche Amperometrie unter Anwendung von Fluoxetin

Von 7 für den Versuch vorgesehenen Tieren (Alter: 10 Wo) sind 2 Tiere während der Messung verstorben, so dass 5 Tiere für die Auswertung zur Verfügung standen.

In Abbildung 22 sind die Geschwindigkeitskonstanten des DA-Uptakes vor bzw. nach Verabreichung von Fluoxetin (Inhibitor des 5-HT-Transporters) dargestellt. Nach Substanzgabe wurde keine Veränderung der DA-Aufnahmegeschwindigkeit festgestellt

Abbildung 22: Hochaffiner DA-Uptake vor und nach Fluoxetinbehandlung bei Ratten im Alter von 10 Wochen

Vergleich des arithmetischen Mittels der Geschwindigkeitskonstanten k von nichtlädierten Tieren ($n = 5$); mit Angabe des Standardfehlers (SEM)

