

## **7. DISKUSSION**

Fragestellung vorliegender Studie war es, die Funktion des striatalen DAT, einer der Hauptregulatoren der DA-Transmission, in Abhängigkeit einer zentralen 5-HT-Verarmung zu untersuchen und sowohl eine mögliche zeitliche Dynamik als auch einen Alterseinfluss darzustellen. Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstützen bisherige Daten über Interaktionsabhängigkeiten von serotonerger und dopaminerger System. Die 5,7-DHT-Läsion von DRN und MRN führte zu einer Verlangsamung der hochaffinen DA-Wiederaufnahme im STR. Dieser Effekt zeigte Abhängigkeit sowohl vom Zeitpunkt der Messung nach Läsion, als auch vom Alter der Tiere zum Läsionszeitpunkt.

### **7.1. 5,7-DHT-Läsion von DRN und MRN**

Die unter Desipraminvorbehandlung vorgenommene direkte Kernläsion von DRN bzw. MRN durch Injektion des Neurotoxins 5,7-DHT führte a) zu einem mittels Immunhistochemie dargestellten Verlust serotonerger Neurone des entsprechenden Raphekerns und b) zu einer drastischen Depletion von 5-HT und dessen Metabolit 5-HIAA in den untersuchten Hirnregionen. Diese Ergebnisse bestätigen die von zahlreichen Autoren beschriebene effektive neurotoxische Wirkung von 5,7-DHT auf das serotonerge Transmissionssystem, verbunden mit Zelldegeneration und Gehaltserniedrigungen in Terminalgebieten (HÖLZEL et al., 1984; FILE et al., 1979).

Im Gegensatz zu der vielfach angewendeten intraventrikulären Applikationsweise des Neurotoxins bietet die direkte Kernläsion den Vorteil eines spezifischen, strikt lokalisierten Eingriffs sowie die Möglichkeit, Effekte, abhängig vom Kerngebiet (DRN oder MRN) zu unterscheiden. Die Läsion des MRN bei jungen Tieren wurde durch einseitige Toxinapplikation vorgenommen. Die Methodik der DRN-Läsion wurde aufgrund der besonderen anatomischen Struktur auf eine bilaterale Toxininjektion erweitert. Es hatte sich mittels Immunhistochemie nach einseitiger Applikation eine nur einseitige Kernläsion gezeigt. Der bei beiden Altersgruppen geringere Erfolg der DRN-Läsion ist wahrscheinlich auf die „flügelartige“ anatomische Struktur zurückzuführen und die damit verbundene verlängerte Diffusionsstrecke des Toxins in laterale Kernregionen.

Im Hinblick auf die Beurteilung des Läsionserfolges muss die Frage nach einer möglichen Regeneration serotonerger Zellen berücksichtigt werden. Das regenerative Potential des

5-HT-Systems ist in mehreren Studien belegt worden (AZMITIA u. WHITAKER-AZMITIA, 1997; UEDA u. KAWATA, 1994). Eine intrahypothalamische 5,7-DHT-Injektion beispielsweise führte nach einer graduellen Abnahme der 5-HT-Faserdichte zu einem Sprießen neuer Fasern nach 12-19 Tagen bis zu einer Hyperinnervation des Hypothalamus 30-50 Tage nach Läsion (FRANKFURT u. AZMITIA, 1984). Es ist somit nicht auszuschließen, dass es sich bei immunhistochemisch dargestellten Neuronen nach Läsion der Raphekerne zum Teil um eine Regeneration toxingeschädigter serotonerger Zellen handeln könnte.

Voraussetzung für den Einschluss lädierter Tiere in die Endauswertung zur Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten  $k$  [1/s] des hochaffinen DA-Uptakes war ein hoher Läsionsgrad der kranialen Raphekerne. Die immunhistochemische Darstellung serotonerger Neurone in DRN und MRN war daher eine sichere Methode zur Evaluierung des Läsionserfolges und damit für die Entscheidung, welche der behandelten Tiere für die Berechnung in Frage kommen. Ähnlich dem Vorgehen von COMPAN et al. (1996) wurde eine Auszählmethodik verwendet, nach welcher Tiere mit bis zu 92 %-iger Läsion in die Gruppe der lädierten Tiere aufgenommen wurden. Da bei einer Schnittdicke von 20  $\mu\text{m}$  nur jeder zweite Schnitt beurteilt wurde und die Zellgrößen in einer Spanne von 20 bis 34  $\mu\text{m}$  variieren, waren Mehrfachzählungen ein und derselben Zelle ausgeschlossen.

Die in dieser Arbeit erzielten Gehaltserniedrigungen von 5-HT und 5-HIAA in Terminalregionen nach Läsion von DRN bzw. MRN stimmen mit in der Literatur angegebenen Daten annähernd überein (AL-ZAHRANI et al., 1997; FILE et al., 1979; BAUMGARTEN et al., 1973). Ein direkter Vergleich ist aufgrund unterschiedlicher Methodik sowie nichtidentischer Zeitintervalle der Toxineinwirkung problematisch.

Anhand der 5-HT-Gehalte des STR nach Läsion lassen sich zum einen Unterschiede in Bezug auf die Läsionsstruktur und zum anderen eine zeitabhängige Variation erkennen. Die Läsion des DRN führte nach einem Zeitraum von einer Woche zu einem 5-HT-Verlust von fast 75 %, wobei im Gegensatz dazu die Gehaltserniedrigung nach MRN-Läsion gleicher Wirkzeit nur 29 % betrug. Somit scheint das Ausmaß der Läsion im STR die striatale Projektionsdominanz des DRN zu bestätigen. Noch deutlicher zeigt sich dieser Effekt drei Wochen nach 5,7-DHT-Einfluss. Die 5-HT-Gehalte verringerten sich um 36 % nach MRN- und um etwa 92 % nach DRN-Läsion. Hinsichtlich des zeitlichen Verlaufes

kann somit geschlussfolgert werden, dass eine einmalige Toxinexposition mittels hier verwandter Methodik eine über mehrere Wochen andauernde und fortschreitende Wirkung erzielt. Für den DRN ist dieser Effekt selbst nach neun Wochen noch deutlich feststellbar, mit einer Erniedrigung des 5-HT-Levels um 93 %. Neun Wochen nach MRN-Läsion hingegen sind die Gehalte von Transmitter und Metabolit zwar noch geringer als die der Kontrolltiere, erreichen aber keine statistische Signifikanz. Es liegt nahe anzunehmen, dass in dem Zeitraum von drei bis neun Wochen nach Läsion die Projektion des DRN kompensatorisch den Verlust der MRN-Neurone auf striataler Ebene ausgleichen konnte. Die Beobachtung einer erhöhten Tryptophanhydroxylaseaktivität in 5-HT-Terminalregionen (STACHOWIAK et al., 1986) sowie eine erhöhte Expression von Tryptophanhydroxylase-mRNA in verbliebenen serotonergen Rapheneuronen (BENDOTTI et al., 1990) nach intraventrikulärer 5,7-DHT-Läsion verweisen auf mögliche Kompensationsmechanismen. Die wechselseitige Innervation von DRN und MRN (BAUMGARTEN u. GROZDANOVIC, 1997) bietet in dieser Hinsicht eine direkte anatomische Basis für interaktive Regulationsmuster. Ähnlich der durch Kollaterale beeinflussbaren Neuronenaktivität im DRN (WANG u. AGHAJANIAN, 1978; STACHOWIAK et al., 1986) könnten Interrapheverknüpfungen inhibierenden Charakter besitzen, der mit Läsion aufgehoben wird und in einer erhöhten Feuerungsrate und Aktivitätssteigerung von Enzymen resultiert.

Die hier spekulativ angenommene kompensatorische Reaktion des DRN nach MRN-Läsion ließe sich mit der serotonergen Hauptprojektion dieses Kerns in striatale Regionen erklären. Umgekehrt ist dieser Effekt nicht feststellbar, was vermuten lässt, dass die striatale Innervation des MRN eine DRN-Läsion in dieser Region nicht ausgleichen kann. Es wäre denkbar, dass eine kompensatorische Reaktion von dem Grad einer Schädigung abhängig ist, die bei Überschreiten einer bestimmten Höhe gegenregulative Systeme einschränkt.

## 7.2. Kontinuierliche Amperometrie/ kinetisches Modell

Die voltammetrische Methodik der CA bietet eine zeitliche Auflösung die es erlaubt, Prozesse, wie den stimulierten DA-Release und die DA-Clearance in realer Kinetik zu erfassen. Das kontinuierliche Messverfahren ermöglicht im Millisekundenbereich die Aufzeichnung einer hohen Menge an Datenpunkten. Damit liegen die Vorteile in Bezug zu Datenerfassung und Zeitauflösung gegenüber anderen schnellen Verfahren, wie z.B. der FCV, eindeutig bei der CA. Die gewählte CFE mit Durchmesser von 7  $\mu\text{m}$  gewährleistet bei geringer Invasivität eine sehr hohe lokale Spezifität. Auf eine Vorbehandlung der Elektrode zur Selektivitätssteigerung wurde verzichtet. Zum einen hätte damit eine herabgesetzte Reaktionsgeschwindigkeit in Kauf genommen werden müssen (McCREERY, 1995), zum anderen ist der Charakter des Signals nach elektrischer Stimulation des MFB als eindeutig dopaminerg beschrieben worden (GONON, 1995; DUGAST et al., 1994). Somit fällt dem Nachteil der CA, eine geringe Selektivität, für das hier vorliegende Versuchsvorhaben keine herausragende Bedeutung zu. Eigene Untersuchungen bestätigen diesen Aspekt. Nach pharmakologischer Behandlung der Tiere mit dem spezifischen DAT-Inhibitor GBR 12909 war ein verstärktes Signal sowie eine verlangsamte DA-Clearance zu verzeichnen. Dahingegen führte die Verabreichung des hochspezifischen 5-HT-Uptake-Blockers Fluoxetin (STARK et al., 1985) zu keiner Veränderung des Messsignals. Ein Anteil der 5-HT-Transporter am DA-Wiederaufnahmeprozess, wie von IZENWASSER et al. (1990) beschrieben, konnte folglich für das hier verwendete Versuchsprotokoll ausgeschlossen werden. Zu gleichem Ergebnis unter Anwendung *in vivo* elektrochemischer Verfahren kommen HERBERT u. GERHARDT (1999) und CASS et al. (1993) für STR und Nacc sowie CASS u. GERHARDT (1995) für den mPFC: der 5-HT-Transporter ist am DA-Uptake nicht beteiligt.

Voraussetzung einer amperometrischen Messung der DA-Clearance ist ein evoziertes DA-Signal ausreichend hoher Amplitude, d.h. mit DA-Konzentrationen im mikromolaren Bereich. Die elektrisch stimulierte DA-Freisetzung infolge Stimulation des MFB ist ein verlässliches und vielfach angewendetes Verfahren, welches über die Wahl der Stimulationsparameter Einflussnahme auf die Höhe der DA-Freisetzung erlaubt (GONON u. BUDA, 1985). Es ist möglich, bestimmte Entladungsmuster dopaminerger Neurone zu erreichen, was insbesondere in STR und Nacc die DA-Ausschüttung maßgeblich bestimmt

(GONON, 1995). Neben einer regulären, langsamen Feuerrate bis 6 Spikes/s entladen nigrostriatale DA-Neurone in einem explosionsartigen Muster mit einer Frequenz bis zu 20 Hz, was mit einer erhöhten DA-Freisetzung verbunden ist. Dieser Effekt ist auch mit sich vergrößernder Frequenz der elektrischen Stimulation zu erreichen. Der DA-Release steigt dabei in exponentieller Weise (GONON u. BUDA, 1985). Nach WIGHTMAN u. ZIMMERMANN (1990) verläuft die DA-Wiederaufnahme bei Stimulationsbedingungen innerhalb der physiologischen Spanne (bis 20 Hz) ungesättigt. Die verfügbaren DAT sind somit nicht in ihrer Gesamtzahl von DA besetzt und der DA-Uptake folgt einer Kinetik erster Ordnung (die Clearance-Kurve entspricht einer einfach exponentiellen Funktion). Bei Hochfrequenzstimulationen (30 bis 100 Hz) hingegen erfolgt eine Sättigung, d.h. die freigesetzte DA-Menge übersteigt die Aufnahmekapazität der DAT, infolgedessen die DA-Konzentration während der Dauer der Stimulation weiter ansteigt, was sich an dem aufgezeichneten Signal in einer erhöhten Amplitude äußert (WIGHTMAN u. ZIMMERMANN, 1990).

In vorliegendem Versuch wurde mit einer Frequenz von 100 Hz deutlich oberhalb physiologischer Bereiche stimuliert und damit eine DA-Clearance in gesättigtem DAT-Zustand erreicht. Die Auswertung des Messsignals und die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten  $k$  [1/s] mit Hilfe eines mathematischen Modells wurde jedoch wiederum auf die Anpassung an eine Kurve erster Ordnung vereinfacht. Es wurde daher für die Berechnung nur eine Teilkurve, ab dem Punkt des Umschlags vom gesättigten zum ungesättigten Zustand, berücksichtigt. Das bedeutet, es ging nur der untere, einfach exponentielle Teil der gemessenen Kurve in die Berechnung ein (siehe Abbildung 12, S. 90). Somit stellt das hier verwendete Modell eine Vereinfachung dar und die ermittelte Geschwindigkeitskonstante  $k$  des hochaffinen DA-Uptakes eine Näherung. Der Grund der in vorliegendem Versuch verwendeten hochfrequenten Stimulation liegt in dem vorab beschriebenen Effekt, dass mit steigender Stimulationsfrequenz eine Erhöhung des evozierten DA-Peaks verbunden ist. Diese hochfrequente Stimulation ist somit zu Gunsten eines gut reproduzierbaren, ausreichend hohen und damit optimal auswertbaren Signals gewählt worden.

Nach dem für diese Studie zugrunde liegenden Modell errechnet sich die Geschwindigkeitskonstante  $k$  des hochaffinen DA-Uptakes aus der Differenz der Geschwindigkeitskonstanten von Gesamt-Clearance und DAT-geblockter Clearance.

Während vor DAT-Inhibition die Gesamtheit der Clearance-Prozesse (hochaffiner Uptake, Diffusion, Metabolisierung, unspezifischer Uptake) erfasst werden, ist mit DAT-Blockade der hochaffine Uptake herausgefiltert. Nach Modellvorstellungen wird von dem Idealzustand vollständig blockierter Transporterproteine ausgegangen. Das neurochemische Profil des DA-Uptake-Inhibitors GBR 12909 ist von ANDERSEN (1989) im Vergleich zu anderen Inhibitoren als herausragend und einzigartig selektiv charakterisiert worden, sowohl unter *in vitro* als auch *in vivo* Bedingungen.

### **7.3. Der hochaffine striatale DA-Uptake in Abhängigkeit von 5-HT**

Die vorliegende Studie zeigte, dass eine Manipulation am zentralen 5-HT-System den striatalen DAT in seiner Funktion verändert. In Folge einer 5,7-DHT-Kernläsion von DRN bzw. MRN zeigten die Tiere beider untersuchter Altersgruppen nach stimulierter DA-Freisetzung eine verlangsamte hochaffine DA-Rückaufnahme in präsynaptische Terminale. Während dieser Effekt bei jungen Tieren mit Läsionsalter von 7 Wochen sowohl eine als auch drei Wochen nach 5,7-DHT-Applikation deutlich wurde, war er bei adulten Tieren (Alter 10 Monate zum Zeitpunkt der Läsion) nur eine Woche nach Läsion feststellbar. Der hochaffine DA-Uptake reagierte demnach sensitiv auf eine 5-HT-Verarmung des ZNS in Abhängigkeit unterschiedlicher physiologischer Zustände, die hier durch die Untersuchung zweier Altersklassen erfasst wurden. Das komplexe Verhältnis beider aminergem Transmissionssysteme erhält mit Kenntnis der hier dargestellten Daten somit ein weiteres Detail mit Hinweis auf eine vom Alter beeinflusste interaktive Ebene zur direkten Transmissionsregulation.

Mehrere Überlegungen sind für die Diskussion dieses Ergebnisses angezeigt. Erstens stellt sich die Frage nach dem Mechanismus, der einer herabgesetzten DA-Uptake-Kinetik zugrunde liegt. Zweitens ist der Charakter des Effektes unter dem Aspekt einer Kompensationsreaktion zu beleuchten und drittens diese innerhalb des systeminteraktiven Verhältnisses von dopaminergem und serotonergem System einzuordnen. Weiterhin bleibt die Altersabhängigkeit der DAT-Funktionsänderung sowie die Konsequenz einer verlangsamten DA-Wiederaufnahme für das striatale Informationsprocessing zu diskutieren.

## 1. Mögliche Ursachen einer herabgesetzten DA-Uptake-Kinetik

Die unter *in vivo* voltammetrischer Methodik bestimmte Verlangsamung des hochaffinen DA-Uptakes im STR ist mit zwei Prozessen erklärbar. Zum einen könnte eine Reduktion der Transporterzahl vorliegen, andererseits ist mit gleicher Konsequenz eine Änderung des DAT-Funktionszustandes denkbar, so dass bei gleichbleibender Anzahl infolge veränderter Eigenschaften des Proteins der Transportprozess beeinflusst wurde.

Untersuchungen zu funktionellen Auswirkungen von Neurotransplantaten am Parkinsonmodell der Ratte zeigten, dass der Effekt einer reduzierten striatalen DA-Wiederaufnahme nach elektrisch stimulierter Freisetzung (REUM u. MORGENSTERN, 1994; REUM et al., 1995; MARBURGER, 1996) mit einer verringerten Anzahl funktionsfähiger DAT erklärbar ist (SCHÄFER et al., 1995b). Die zu diesen Ergebnissen konträre Verstärkung der DAT-Genexpression in der SN erscheint mit Betrachtung möglicher Regulationsebenen jedoch weniger widersprüchlich. Posttranskriptionale Prozesse molekularer sowie nichtmolekularer Ebene könnten eine erhöhte Transkription aufheben bzw. umkehren (DRANDAREVSKI, 2001).

Andererseits ist die Phosphorylierung des DAT-Proteins durch Proteinkinasen als aktivitätsregulierend beschrieben worden (ZHU et al., 1997) sowie eine Inhibition des DA-Uptakes durch O<sub>2</sub>-Radikale und NO (FLECKENSTEIN et al., 1997; POGUN et al., 1994). Es könnten demnach diese Faktoren für eine beeinträchtigte DA-Aufnahmefunktion des DAT, allein oder in Kombination mit weiteren Prozessen, verantwortlich sein. Untersuchungen im Hippocampus serotonerg lädierter Tiere zeigten eine Potenzierung der cAMP-Aktivität bzw. Reduktion von Inositolphosphat nach Phenylephrin-Stimulation. Die Phenylephrin-Ansprechbarkeit beider second messenger ist somit 5-HT-abhängig (CONSOLO et al., 1988). Da cAMP auch eine Aktivierung intrazellulärer Proteinkinasen bewirkt, wäre eine Steuerung von Phosphorylierungen auf diesem Wege möglich. Obwohl sich Verhältnisse im Hippocampus nicht direkt auf das STR übertragen lassen, könnte diese Studie doch einen Hinweis auf ähnliche 5-HT-modulierte Regulationsmuster im STR geben.

Interessant ist weiterhin die Bedeutung des D<sub>2</sub>-Rezeptors für die DAT-Funktion. Mehrere Studien verweisen auf eine direkte Steuerung der DAT-Aktivität durch den D<sub>2</sub>-Rezeptor (MEIERGERD et al., 1993; DICKINSON et al., 1999). Bei D<sub>2</sub>-Knockout-Mäusen z.B. war

bei gleichbleibender DAT-Dichte die DA-Clearance um 50 % verringert (DICKINSON et al., 1999). Demgegenüber ist umgekehrt eine DAT-Abhängigkeit der D<sub>2</sub>-Funktion festgestellt worden (FAUCHEY et al., 2000; JONES et al., 1999), was die interaktive Bedeutung beider Strukturen noch unterstützt. Es wäre durchaus vorstellbar, dass mit serotonerger Läsion die Expression bzw. die Funktion des D<sub>2</sub>-Rezeptors verändert ist. Hinweise dahingehend erbringt die Studie von KOSTRZEWA et al. (1999). Eine neonatale 5,7-DHT-Läsion an Ratten bzw. eine kombinierte Läsion mit 6-OHDA (neonatal) und 5,7-DHT (adult) führte zu einer Quinpirol- (D<sub>2</sub>-Agonist) vermittelten Verhaltensverstärkung. Die Autoren schlussfolgern, dass sowohl dopaminerge als auch serotonerge Neurone die Sensitivität von beiden Rezeptortypen, DA- und 5-HT-Rezeptoren, steuern und vermuten eine Relevanz dieser Interaktion für neurodegenerative und psychiatrische Erkrankungen. Weiterhin zeigen RINKEN et al. (1999) eine Ähnlichkeit von 5-HT-Agonisten zu partiellen D<sub>2</sub>-Agonisten mit möglichem Antiparkinsonpotential. In einer Studie von MENDLIN et al. (1999) führte eine D<sub>2</sub>-Rezeptor-Blockade zu veränderten striatalen 5-HT-Leveln und veränderter Aktivität innerhalb des Tag-Nacht-Rhythmus bei Ratten. MENDLIN et al. (1998) beschreiben ebenfalls eine 5-HT-D<sub>2</sub>-Beziehung in der Hinsicht, dass der verstärkte 5-HT-Efflux durch Apomorphin nicht 5-HT<sub>1A</sub>- sondern D<sub>2</sub>-vermittelt ist. Es scheint demnach möglich, dass 5-HT-läsionsbedingt Veränderungen am D<sub>2</sub>-Rezeptor auftreten und diese sekundär auf den DAT zurückwirken.

Aus den aufgeführten Beispielen wird ersichtlich, wie vielfältig die bisher bekannten Steuermechanismen des DAT sind und wie vielfältig demnach die Untersuchungen zu regulativen Mechanismen angelegt sein müssen. Eine mögliche serotonerge Involvierung in diese DAT-steuernden Prozesse erscheint mit Hintergrund der genannten Studien weniger spekulativ. Anhand der vorliegenden Untersuchungen kann jedoch nur die Verlangsamung der hochaffinen Wiederaufnahme von DA nach serotonerger Läsion mit Sicherheit festgestellt werden. Eine Interpretation in Hinblick auf veränderte Zahl und/oder Funktionszustand des striatalen DAT unter 5-HT-Läsion ist auf Grundlage der vorliegenden Daten nicht möglich.

## 2. Kompensation oder adaptive Reaktion?

Kann die reduzierte hochaffine Wiederaufnahme von DA im STR als Kompensation einer serotonergen Verarmung im ZNS aufgefasst werden? Oder ist andererseits die Wiederherstellung einer physiologischen DAT-Funktion nach neun (junge Tiere) bzw. drei Wochen (Adulte) im Sinne einer kompensatorischen Regulation zu bewerten?

Man könnte einerseits davon ausgehen, dass der herabgesetzte hochaffine DA-Uptake eine adaptive Reaktion auf die läsionsbedingten Veränderungen darstellt, demgegenüber die Normalisierung nach neun bzw. drei Wochen als Kompensationsleistung anzusehen ist. Die Diskrepanz der striatalen Gehaltdaten neun Wochen nach DRN-Läsion zum hochaffinen DA-Uptake nach diesem Zeitraum könnten für diese Hypothese sprechen. Trotz anhaltender, drastisch reduzierter striataler 5-HT-Gehalte nach neunwöchiger Läsionswirkung hat sich die vorherige Verlangsamung des hochaffinen DA-Uptakes den Kontrollen angeglichen. Adulte Tiere, bei welchen sowohl die DRN- als auch die MRN-Läsion bereits nach drei Wochen keine Beeinträchtigung des DA-Uptakes zeigten, würden demnach eine höhere Kompensationsfähigkeit besitzen. Diese Feststellung setzte allerdings voraus, dass sich die läsionsbedingten 5-HT-Gehaltsänderungen im STR bei dieser Alterklasse ähnlich denen der jüngeren Tiere verhalten; Daten dahingehend liegen nicht vor.

Da jedoch mit zunehmendem Alter Plastizität und Regenerationsfähigkeit des ZNS abnehmen, ist mit höherer Wahrscheinlichkeit bei jüngeren Tieren ein stärkeres Kompensationspotential zu vermuten. Ausgehend von der Annahme, dass einer Modulation der DAT-Aktivität eine besondere physiologische Rolle zukommt (MEIERGERD et al., 1993; DICKINSON et al., 1999) wäre es naheliegend, die Fähigkeit einer schnellen DAT-Funktionsänderung im Sinne einer kompensatorischen Wiederherstellung gestörter Gleichgewichte zu erwarten. Der verlangsamte hochaffine DA-Uptake nach 5-HT-Läsion in vorliegender Studie entspricht dieser Erwartung. Ein direkter Vergleich beider Altersklassen ist nur unter Vorbehalt möglich, da altersbedingte Veränderungen des DA-Systems sowie der gesamten ZNS-Homöostase unterschiedliche physiologische Ausgangssituationen bedeuten und eine vergleichende Interpretation von Effekten verschiedener Altersklassen erschwert.

Die Frage nach dem kompensatorischen Potential eines verlangsamten hochaffinen DA-Uptakes in Folge einer 5-HT-Läsion lässt sich aufgrund vorliegender Daten nur spekulativ diskutieren. Im Kontext der bisher bekannten Interaktion von serotonerger und dopaminerger System kann dieser Frage genauer nachgegangen werden.

### 3. DAT-Funktion im Kontext der 5-HT-DA-Interaktion

#### a) mesenzephalale Ebene

Die Funktion von 5-HT in den dopaminergen Kerngebieten des Mesenzephalon wird zum einen als inhibitorisch (MASICO u. ESPOSITO, 1997) zum anderen als exzitatorisch beschrieben (GUAN u. McBRIDE, 1989). Verschiedene 5-HT-Rezeptoren scheinen in die Vermittlung dieser Effekte involviert zu sein (KALIVAS, 1993; KELLAND et al., 1990b), obwohl nicht sicher geklärt ist, in welchem Maße eine direkte 5-HT-DA-Interaktion bzw. eine indirekte Steuerung über die Einbeziehung weiterer Transmissionssysteme stattfindet (IRAVANI u. KRUK, 1997). Die besondere Form der somatodendritischen DA-Transmission innerhalb der DA-Kernregionen erweitert mit ihrer 5-HT-Sensitivität das Spektrum möglicher 5-HT-abhängiger Mechanismen, sowohl auf dopaminerger Zell- als auch Terminalebene. Der Effekt einer herabgesetzten DAT-Funktion und damit verbundenen verstärkten striatalen DA-Transmission wäre als kompensatorischer Prozess denkbar, wenn mit 5-HT-Läsion ein exzitatorischer Einfluss auf DA-Neurone ausgeschaltet würde, mit der Konsequenz einer verminderten dopaminergen Aktivität im STR. Die Arbeit von NEDERGAARD et al. (1991) unterstützt diese Vermutung. Interessant ist jedoch die Tatsache, dass Läsionen des serotonergen Systems die basale Aktivität von DA-Neuronen kaum verändern (KELLAND et al., 1990a, b), was KELLAND u. CHIODO (1996) zu dem Schluss kommen lässt, dass DA-Neurone eher unter einem phasischen als tonischen 5-HT-Einfluss stehen. Ob es sich hierbei nun um einen primären Effekt handelt oder bereits Kompensationsprozesse regulatorisch gewirkt haben ändert nichts an dem Fakt, dass eine serotonerge Verarmung im ZNS ohne größere Folge für die mesenzephalale DA-Neuronenaktivität bleibt. Mit diesem Hintergrund ließe sich die Vermutung aufstellen, dass der Ausgangspunkt der in vorliegender Arbeit gezeigten Interaktion beider aminergere Systeme mit Vorrang auf Terminalebene zu suchen ist.

## b) striatale Ebene

Studien zu 5-HT-gesteuertem DA-Release unter Einbeziehung des DAT verweisen auf eine Abhängigkeit von serotonerger und dopaminerger System, welche die Funktion des Transportermoleküls unmittelbar mit einschließt. Mehrere Autoren zeigten eine Involvierung des DAT in den 5-HT-vermittelten DA-Release im STR (BENLOUCIF et al., 1993; INVERNIZZI et al., 1995; DEWEY et al., 1995). Wenn auch in Bezug zur DA-Freisetzung gegenteilige Effekte beschrieben werden, fassen KELLAND u. CHIODO (1996) zusammen, dass die Mehrheit der Untersuchungen eine DA-Release-unterstützende Rolle von 5-HT im STR feststellen. Nach DE DEURWAEDERE et al. (1996) ist dieser Mechanismus zum einen Carrier-abhängig, zum anderen ein exozytotischer Prozess. Verschiedene 5-HT-Rezeptoren sind dahingehend charakterisiert worden (SPAMPINATO et al., 1997; 1998). Da nach 5,7-DHT-Läsion die basalen DA- und DOPAC-Level nicht verändert waren, vermuten YADID et al. (1994), dass der basale DA-Release nicht unter tonischer 5-HT-Kontrolle steht. Mit diesem Hintergrund sowie den Ergebnissen von FISCHER (2001) nach denen bei genmanipulierten Ratten mit verminderter Verfügbarkeit der Tryptophanhydroxylase die  $K^+$ -stimulierte DA-Freisetzung an Synaptosomen herabgesetzt war, könnte angenommen werden, dass Manipulationen am 5-HT-System einen Einfluss auf den stimulierten DA-Release, nicht jedoch auf den basalen Release, ausüben. Diese Vermutung wird durch die Studie von MORROW u. ROTH (1996) unterstützt. Somit ließe sich mit Bezug auf die Ergebnisse vorliegender Arbeit der verlangsamte hochaffine DA-Uptake nach 5-HT-Läsion als Kompensation einer verminderten stimulierten DA-Freisetzung auffassen. Ausgehend von den Untersuchungen, nach denen 5-HT in einen Carrier-vermittelten DA-Release-Mechanismus involviert ist, scheint die Möglichkeit von direkten DAT-Funktionsänderungen infolge einer 5-HT-Verarmung des ZNS nicht unwahrscheinlich.

Die Studie von YEGHIAYAN et al. (1995) zu Interaktionen beider Systeme für die Ausprägung motorischen Verhaltens verweisen auf eine DAT-Abhängigkeit der 5-HT-vermittelten motorischen Aktivität. 5-HT verstärkte in einer Abhängigkeit von DA die Ausprägung orofazialer Motilität. Unter dem Gesichtspunkt der Interaktion von Transmissionssystemen könnte auch die Frage nach dem Mechanismus der interhemisphärischen Regulation der striatalen dopaminergen Transmission diskutiert werden, wie sie z.B. bei Studien zur funktionellen Integration dopaminergere Neurotransplantate am Parkinsonmodell der Ratte beschrieben wurden (MARBURGER,

1996; REUM et al., 1995; DRANDEREVSKI, 2001). Der Effekt eines kontralateral verlangsamten striatalen hochaffinen DA-Uptakes nach unilateraler 6-OHDA-Läsion und/oder Transplantation könnte durchaus interaktiv über andere Transmissionssysteme vermittelt werden. Das unilateral angelegte 5-HT-System wäre für diese Funktionsebene prädisponiert, mit dem Morbus Parkinson verbundene Veränderungen am 5-HT-System (MELAMED et al., 1996) unterstützen diese Überlegungen. Dysfunktionen beider aminergere Systeme auf striataler Ebene bei Erkrankungen wie Drogenabhängigkeit (HEINZ et al., 1999a, b; MASH et al., 1996) oder Schizophrenie (JOYCE, 1993) veranlassen weiterhin zu der Annahme, dass Wechselwirkungen der Systeme im STR zu erwarten sind bzw. die gezeigten Störungen interaktive Abhängigkeit oder möglicherweise Kompensationscharakter besitzen.

In Bezug zu Punkt 2., der Frage nach dem Charakter des Effektes einer herabgesetzten striatalen DAT-Funktion nach Läsion des 5-HT-Systems, kann anhand des interaktiven Verhältnisses von dopaminergem und serotonergem System zusammenfassend festgehalten werden:

1. Die Interaktionsebene beider aminergere Systeme für die veränderte DAT-Funktion liegt wahrscheinlich im striatalen Terminalgebiet, nicht in der mesenzephalen Ursprungsregion des dopaminergen Systems.
2. Der verlangsamte hochaffine DA-Uptake nach serotonerger Läsion könnte als kompensatorischer Effekt gewertet werden, der einer herabgesetzten stimulierten DA-Freisetzung entgegen wirkt.
3. Ein direkter Vergleich von Effekten verschiedener Altersklassen in Bezug auf die Bewertung kompensatorischer Leistungen ist aufgrund der altersbedingten Veränderungen der Transmissionssysteme erschwert.

#### 4. DAT-Funktionsänderung nach 5-HT-Läsion in Abhängigkeit vom Tieralter

Der hier beschriebene Effekt einer herabgesetzten DAT-Funktion nach serotonerger Verarmung des ZNS zeigt in seiner zeitlichen Darstellung Unterschiede abhängig vom Alter der untersuchten Tiere. Bei Jungtieren war der verlangsamte hochaffine Uptake bis zu drei Wochen, bei adulten Tieren nur eine Woche nach Läsion feststellbar. Das könnte wie vorab diskutiert mit einem unterschiedlichen Grad der Adaptations-/ bzw. Kompensationsfähigkeit beider Altersgruppen zusammenhängen, dessen Ursachen vielfältiger Natur sein können. Es muss jedoch bei dieser Betrachtung notwendigerweise

die unter physiologischen Bedingungen des Alterns beobachteten Veränderungen von dopaminergem und serotonergem System selbst berücksichtigt werden.

Mit zunehmendem Alter kommt es zu einer Abnahme von DAT-mRNA-Expression, DAT-Dichte, veränderten Bindungsaffinitäten sowie einer verlangsamten DA-Wiederaufnahme im ZNS (BANNON u. WHITTY, 1997; VAN DYCK et al., 1995; VOLKOV et al., 1994; HEBERT u. GERHARD, 1999). Es ist durchaus denkbar, dass die DA-Transmission der adulten Tiere in diesem Versuch mit Alter von zehn Monaten bereits altersbedingten Veränderungen unterlag und diese mit verantwortlich für die sich darstellenden Verhältnisse nach serotonerger Läsion waren. Eine 5-HT-läsionsbedingte Funktionsbeeinträchtigung des striatalen DAT könnte demnach durch fortschreitende Altersprozesse verdeckt werden. Falls, wie angenommen, diese altersabhängigen Veränderungen ein kompensatorisches Potential besitzen (HEBERT u. GERHARD, 1998), wäre zu vermuten, dass ein zentraler 5-HT-Verlust im adulten bzw. alternden Organismus die DA-Transmission aufgrund ihrer per se verringerten Funktion weniger stark beeinträchtigt.

Die altersabhängigen Dysfunktionen bzw. veränderte Funktionen des serotonergen Systems sind weitere Faktoren, die Auswirkungen einer 5-HT-Läsion in einem bestimmten Hirngebiet abschwächen, verstärken bzw. in ihrem Charakter völlig verändern könnten. Es ist von herabgesetzten 5-HT-Gehalten und 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorbindungen sowie eine verminderte 5-HT-Faserdichte im STR mit fortschreitendem Alter berichtet worden (VENERO et al., 1993; DILLON et al., 1991; VAN LUIJTELAAR, 1988, 1992). Es ist zu vermuten, dass sich mit veränderten Funktionszuständen von Transmissionssystemen im Alter neue Gleichgewichte und Abhängigkeiten entwickeln, die im Vergleich zu Jungtieren oder jüngeren Adulten auf identische Eingriffe unterschiedlich reagieren. Bei den adulten Tieren dieser Studie könnten daher Veränderungen beider Systeme zu einer herabgesetzten Empfindlichkeit des hochaffinen striatalen DA-Uptakes gegenüber 5-HT-Verlust geführt haben. Es besteht somit auch die Möglichkeit, dass die DA-Transmission bei älteren Tieren einer geringeren 5-HT-Abhängigkeit unterliegt.

## 5. DAT-Funktion und striatale Informationsfortleitung

Die Geschwindigkeit der Transmitter-Clearance innerhalb einer Synapse ist ein fundamentaler Prozess mit Beeinflussung vieler Aspekte synaptischer Funktion wie Rezeptorbesetzung und Zeitdauer der postsynaptischen Reaktion (CLEMENTS, 1996). Ausgehend von der bedeutenden Rolle dopaminergere Prozesse innerhalb der striatalen Informationsvermittlung und damit der BG-Funktion ergibt sich daher die Frage nach der Konsequenz einer 5-HT-läsionsbedingten Beeinträchtigung des hochaffinen DA-Uptakes.

Die herabgesetzte hochaffine Wiederaufnahme von DA und die damit verbundene Verlangsamung der DA-Clearancerate bewirkt eine längere Verweildauer des Transmitters im synaptischen Spalt bzw. im Extrazellulärraum und damit eine Verstärkung der dopaminergen Transmission, d.h. eine Verlängerung der Aktion an post- und präsynaptischen Effektoren. Aufgrund des unterschiedlichen Charakters der DA-Rezeptoren an striatonigralen und striatopallidalen PN des STR hat die verstärkte DA-Rezeptorstimulation eine gegensätzliche Wirkung an MSN des direkten und indirekten Projektionsweges. Dopamin verstärkt die Aktivität in der striatonigralen Projektion (direkter Weg) vermittelt durch D<sub>1</sub>, demgegenüber die Aktivität striatopallidal über D<sub>2</sub> inhibiert wird (STRANGE, 1993; GERFEN, 1995; 2000).

Hypothetisch betrachtet führt eine verstärkte postsynaptische D<sub>1</sub>-/ D<sub>2</sub>-Stimulation über beide Projektionswege zu einer herabgesetzten inhibitorischen Kontrolle des Thalamus durch die Ausgangsstrukturen der BG und damit zu einer erhöhten kortikalen Erregung. Die fremdsynaptische Aktion von D<sub>2</sub>-Rezeptoren an glutamatergen Terminalen würde durch die Senkung der Glutamatfreisetzung den exzitatorischen kortikalen Einfluss auf die striatalen PN herabsetzen und damit in synergistischer Weise wirken. Die forcierte präsynaptische D<sub>2</sub>-Stimulation wirkt über die autoregulative Senkung der DA-Freisetzung den genannten Effekten entgegen und könnte einen hyperdopaminergen Status im indirekten Projektionsweg abschwächen. Unterstützung finden diese Überlegungen durch die Studien an DAT-Knockout- und DAT-Knockdown-Mäusen (ZHUANG et al., 2001). Der hyperdopaminerge Status bei diesen Tieren führt zu einer ausgeprägten Hyperaktivität. Die Ausgangsinformation der BG ist demnach zu Gunsten einer verstärkten thalamokortikalen Aktivität verändert.

Beobachtungen, dass erstens eine D<sub>1</sub>-Rezeptorstimulation die Amplitude Glutamat-vermittelter synaptischer Ströme an MSN potenziert (FLOREZ-HERNANDEZ, et al., 2000) sowie GABA-vermittelte Ströme reduziert (PRICE et al., 1999) bzw. zweitens eine D<sub>2</sub>-Rezeptorstimulation an Enkephalin-enthaltenden MSN die Exzitationsfähigkeit der Zelle vermindert (HERNANDEZ-LOPEZ et al., 2000) sowie D<sub>2</sub>-defizitäre Mäuse eine verstärkte kortikostriatale Glutamat-Transmission zeigen (CEPEDA et al., 2001), untermauern die vorab postulierten Effekte, die mit einer verstärkten striatalen DA-Rezeptorstimulation verbunden sind.

Die Vielfältigkeit der möglichen Effekte nach herabgesetzter DAT-Funktion mit folgender verstärkter DA-Rezeptoraktivierung für striatale- und insgesamt BG-Prozesse zeigt sich unter anderem in der dopaminergen Vermittlung von synaptischer Plastizität, die sich in der Induktion von Langzeitpotenzierung und -depression äußert (CALABRESI et al., 2000a, b). Es wird vermutet, dass diese Langzeitveränderungen im STR die striatale Kontrolle motorischer Aktivität beeinflussen (CALABRESI et al., 2000a; 1992) sowie die zelluläre Ebene für motorisches Lernen darstellen könnten (CALABRESI et al., 2000b; SPENCER u. MURPHY, 2000). Der D<sub>2</sub>- und D<sub>1</sub>-Rezeptor sowie die synergistische Aktion von D<sub>1</sub> und D<sub>2</sub> sind in diese Mechanismen involviert (YAMAMOTO et al., 1999; CALABRESI et al., 2000b; 1992). BERKE et al. (1998) beschreiben ein umfangreiches genetisches Programm verbunden mit striataler D<sub>1</sub>-Stimulation. Die Autoren identifizierten mehr als 30 Gene, deren Expression innerhalb von 30 Minuten bis 2 Stunden nach Rezeptorstimulation erhöht ist und vermuten ebenfalls eine Bedeutung für zelluläre und synaptische Plastizität.

Langsame Oszillationen im Feuermuster der BG werden als Mechanismus zur Koordinierung neuronaler Aktivität für die Kontrolle motorischer Sequenzen, zeitliche Bewegungsabstimmung oder Aufmerksamkeitsprozesse diskutiert (RUSKIN et al., 1999). In synergistischer Weise modulieren D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-Rezeptoren diese Oszillationsfrequenz z.B. im GP (RUSKIN et al., 1999) und STN (ALLERS et al., 2000). Der STN spielt dabei eine Schlüsselrolle bei Vermittlung hyper- und hypoaktiven Verhaltens, verbunden mit erhöhter bzw. herabgesetzter nigrostriataler DA-Transmission (ALLERS et al., 2000). Ein anomales zeitliches Muster der BG-Aktivität nach erhöhter DA-Rezeptorstimulation könnte z.B. für die Ausprägung stereotypen Verhaltens mit verantwortlich sein. Diese

Ergebnisse lassen neuartige Mechanismen erkennen, durch die DA-Rezeptoren die BG-Physiologie beeinflussen (RUSKIN et al., 1999).

Es muss jedoch angemerkt werden, dass diese hypothetischen Betrachtungen innerhalb der Modellvorstellung von direkter und indirekter Projektion eine Vereinfachung darstellen mit Vernachlässigung interaktiver Abhängigkeiten von Informationsverarbeitung und -fortleitung auf striataler und nachgeschalteter BG-Ebene. Interessant in diesem Zusammenhang ist eine Studie von DUMARTIN et al. (2000) zur Steuerung des D<sub>1</sub>-Rezeptors unter dem chronisch hyperdopaminergen Status von DAT-Knockout- und DAT-Knockdown-Mäusen. Es zeigte sich bei diesen Tieren eine geringere Verfügbarkeit von D<sub>1</sub>-Rezeptoren an den Zellmembranen, verbunden mit einer Akkumulation in zytoplasmatischen Kompartimenten, was mit 6-OHDA-Läsion und folgender Senkung des DA-Tonus aufhebbar war. Dieser Prozess der Internalisation in Endosomen mit Folge einer herabgesetzten Rezeptorzahl an der Zelloberfläche war nach akuter Stimulation durch Agonisten innerhalb von Minuten erreichbar (DUMARTIN et al., 1998). Dies scheint eine effiziente Regulationsebene von Rezeptoren zu sein, abhängig vom Transmittertonus (DUMARTIN et al., 2000).

Da das Verständnis interaktiver Abhängigkeiten von Transmissionssystemen und deren Regulationsebenen zum heutigen Zeitpunkt noch sehr begrenzt ist und z.B. die Rolle von Kotransmittern erst in Ansätzen bekannt, ist anzunehmen, dass mit veränderter DAT-Funktion eine Vielzahl interaktiver Regulatoren in Aktion treten, die die veränderten Bedingungen der DA-Transmission modulieren. Es kann jedoch vermutet werden, dass es sich bei dem hier dargestellten Effekt einer herabgesetzten striatalen DAT-Funktion um einen kompensatorischen Ausgleich der 5-HT-Verarmung des ZNS handelt. 5-HT-Läsionsstudien mit Charakterisierung z.B. des motorischen Verhaltens könnten möglicherweise einen Hinweis darauf geben, inwieweit interaktive Mechanismen in der Lage sind, eine ungestörte Funktion auf dieser Ebene aufrecht zu erhalten.

Studien dahingehend belegen, dass die spontane lokomotorische Aktivität nach DRN- oder MRN-Läsion nicht verändert ist (DRESCHER et al., 1985) bzw. sich nur kurzzeitig erhöht (MORROW u. ROTH, 1996). Dahingegen ist die mit einer Stimulation des DA-Systems verbundene Hypermotilität, wie z.B. nach Apomorphingabe (DRESCHER et al., 1985) oder Kokainexposition (MORROW u. ROTH, 1996) bei 5-HT-lädierten Tieren potenziert.

Man könnte somit vermuten, dass sich eine Kompensation der 5-HT-Verarmung auf Ebene motorischen Verhaltens andeutet, erhöhte Stimulationen des DA-Systems jedoch, wie z.B. auch durch verschiedene Stressoren auslösbar (MORROW u. ROTH, 1996), mit Fehlsteuerungen in der Ausprägung motorischer Aktivität verbunden sein könnten.

In Bezug auf den Einfluss von 5-HT auf die Ausgangsinformation der BG belegt eine Studie von STANFORD u. LACEY (1996), dass der striatonigrale GABA-erge Input in die SNr unter einer hemmenden 5-HT-Kontrolle steht. Wenn man davon ausgeht, dass mit 5-HT-Läsion diese Hemmung der GABA-ergen Projektion des direkten Weges wegfällt, würde auf SN-Ebene noch eine Potenzierung der verstärkten Ausgangsinformation, vermittelt durch die eingeschränkte striatale DAT-Funktion, stattfinden und damit die Möglichkeit verstärkter kortikaler Erregung sowie eines Hypermotilitätsstatus erhöhen.

Aufgrund der herausragenden Bedeutung der striatalen dopaminergen Transmission für die Vermittlung der BG-Funktion sowie die Schlüsselstellung des DAT innerhalb der DA-Transmissionssteuerung ist anzunehmen, dass eine herabgesetzte DAT-Funktion das Informationsprozessing der BG beeinflusst und die Ausprägung dopaminerg gesteuerter Funktionen verändert. Inwiefern in Kombination mit einer 5-HT-Verarmung diese Veränderungen zu Funktionsdefiziten führen, könnte Aufschluss hinsichtlich eines kompensatorischen Potentials geben und das Verständnis von Erkrankungen mit Beteiligung beider Transmittersysteme vertiefen. Es sollte zudem bei Bewertung von DAT-Funktionsänderungen weiterhin in Betracht gezogen werden, dass mehrere Studien auf Basis elektrophysiologischer Untersuchungen auf eine über die DA-Uptake-Funktion hinausgehende Bedeutung des DAT hinweisen (siehe 2.1.3.8.3./ S. 31). Die Tragweite möglicher interregulativer Effekte, die mit veränderten DAT-Funktionen verbunden sein könnten, ist daher mit heutigem Kenntnisstand noch nicht abzuschätzen.

#### **7.4. Die striatale DA-Clearance in Abhängigkeit von 5-HT**

Unter hier verwendeter Methodik zeigt sich, dass der DAT zu ungefähr zwei Dritteln am DA-Clearance-Prozess beteiligt ist. Damit liegt der Hauptmechanismus der DA-Elimination, wie im allgemeinen angenommen (CASS et al, 1993) auch unseren Daten nach beim hochaffinen DA-Uptake durch den DAT. Bei einer Veränderung der DAT-Funktion ist demnach anzunehmen, dass in gleichem Zuge die Gesamt-Clearancerate verändert ist. Interessanterweise ergeben sich aus den Daten vor bzw. nach GBR 12909-Gabe, d.h. vor und nach DAT-geblocktem DA-Clearance, Hinweise auf ein systemeigenes Gegenregulationsmuster, welches den Auffassungen von GARRIS et al. (1994) bzw. GARRIS u. WIGHTMAN (1994) entgegenkommen könnte. Die Autoren vermuten eine besondere Rolle von Diffusionsvorgängen in Zusammenhang mit der DA-Transmission. Die Daten vorliegender Studie zeigen auch in dieser Hinsicht eine zeitliche Dynamik sowie eine Abhängigkeit von der Läsionsstruktur.

Bei jungen Tieren zeichnet sich eine Woche nach Läsion des DRN eine Verlangsamung der Gesamt-Clearancerate ab, die nach weiteren zwei Wochen zu einem signifikanten Unterschied der Gruppen führt. Wie erwartet ist somit die herabgesetzte DAT-Funktion mit einer Beeinträchtigung der DA-Gesamt-Clearance verbunden. Hervorzuheben ist jedoch, dass die Geschwindigkeit der nach Blockade des DAT verbleibenden Clearance-Mechanismen lädierter Tiere im Vergleich zu scheinlädierten und unbehandelten Tieren um etwa 20 bis 25 % (statistisch nicht signifikant) erhöht ist.

Die Läsion des MRN junger Tiere hat dagegen nach einer Woche keine Auswirkungen auf die Gesamt-Clearancerate; die Mechanismen unter DAT-Blockade zeigen auch hier eine um 10 bis 20 % erhöhte Geschwindigkeit (statistisch nicht signifikant). Der erniedrigte hochaffine DA-Uptake eine Woche nach MRN-Läsion konnte somit in einer Weise ausgeglichen werden, dass die DA-Gesamt-Clearance unbeeinträchtigt blieb. Drei Wochen nach MRN-Läsion hat sich dieser Aspekt verändert. Die DA-Clearancerate vor GBR-Gabe ist signifikant herabgesetzt, d.h. die Verlangsamung des hochaffinen DA-Uptakes kann nicht mehr maskiert bzw. ausgeglichen werden. Bei den adulten Tieren zeigen sich ähnliche Verhältnisse. Nach DAT-Inhibition sind die übrigen Clearance-Mechanismen lädierter Tiere in ihrer Geschwindigkeit erhöht. Entsprechend der Läsionsstruktur sind diese Mechanismen in Bezug zur Gesamt-Clearance auch hier unterschiedlich wirksam.

Es kann zusammenfassend vermutet werden, dass die Verlangsamung des hochaffinen DA-Uptakes von einer Hochregulation der weiteren (bzw. einer der weiteren) DA-Clearance-Mechanismen (Diffusion, Metabolisierung, unspezifischer Uptake) teilweise kompensiert wird, was bei lädiertem MRN zeitabhängig die defizitäre DAT-Funktion ausgleichen kann. Dieser Effekt gestaltet sich bei beiden Altersklassen ähnlich. Nach Läsion des DRN sind diese Prozesse weniger effizient, die DA-Clearance vor DAT-Blockade ist bei lädierten Tieren herabgesetzt. Daraus lässt sich ersehen, dass die Läsion des DRN, als serotonerges Hauptprojektionsgebiet des STR, einen stärkeren Einfluss auf das striatale DA-System erzielt. Die Frage, welche der Clearance-Mechanismen in ihrer Funktion verstärkt sein könnten, ist nur spekulativ zu diskutieren.

Einen Hinweis auf Veränderungen des DA-Metabolismus bei lädierten Tieren geben die Daten der Gehaltsbestimmungen von DA und DOPAC im STR. Bei unveränderten DA-Gehalten ist die Konzentration von DOPAC eine Woche nach MRN-Läsion bzw. drei und neun Wochen nach DRN-Läsion signifikant erhöht. Obwohl zum einen die Rolle metabolischer Prozesse für die striatale DA-Clearance als wenig bedeutsam charakterisiert wird (CASS et al., 1993), diskutieren CASS u. GERHARD (1995) die Möglichkeit eines stärkeren Einflusses von Metabolismus und Diffusion im mPFC, wo im Vergleich zu STR und Nacc eine langsamere DA-Clearance zu verzeichnen ist. Es ist nicht auszuschließen, dass der enzymatische Abbau von DA unter vorliegenden experimentellen Bedingungen in einem Maß forciert ist, welches Auswirkungen auf die DA-Clearancerate nach sich zieht.

Ähnliches kann auch für Diffusionsvorgänge angenommen werden. Die räumlich-zeitliche Verteilung eines Transmitters im extrazellulären Raum ist bestimmt durch dessen Volumen sowie Tortuosität und Uptake. Das extrazelluläre Volumen des humanen Gehirns wird mit 20 % angegeben. Unter Tortuosität versteht man, zu welchem Grad die Bewegungen von Substanzen durch zelluläre Hindernisse aufgehalten werden. Zusammensetzung und Fluss der Extrazellulärflüssigkeit sowie die mit den Membranen verbundenen langkettigen Glycosaminoglycane und Proteoglycane bestimmen dabei den Charakter des Extrazellulärtraumes (RICE u. NICHOLSON, 1995).

Die z.B. für die Acetylcholin-Diffusion innerhalb der neuromuskulären Endplatte hemmend wirkende Interaktion mit Hyaluronat-Gruppen (WATHEY et al., 1979) lässt in übertragenem Sinne vermuten, dass ähnliche Effekte für die DA-Diffusion in Frage

kommen (GARRIS et al., 1994). Es ist bekannt, dass die Diffusion eines Transmitters bzw. eines Metaboliten von dessen Ladung und der Wechselwirkung mit Glucosaminoglycanen und weiteren Molekülen im Hirngewebe abhängt (RICE et al., 1985; MARGOLIS u. MARGOLIS, 1993). Die serotonerge Denervierung könnte das Ladungsmilieu verändert und damit die Interaktion von Molekülen in diffusionserleichternder Weise moduliert haben. Es wäre denkbar, dass allein der Umstand einer verminderten Zahl an DAT bzw. einer Oberflächenveränderung des Proteins als Ausdruck eines veränderten Funktionszustandes nach Läsion Diffusionsvorgänge beeinflussen könnte.

Letztlich ist auch die DA-Aufnahme in Gliazellen ein Prozess, der Veränderungen unterliegen kann. Untersuchungen an Astrozyten-Zellkulturen zeigten, dass sowohl der  $\text{Na}^+$ -abhängige, als auch der  $\text{Na}^+$ -unabhängige astrogläre DA-Uptake-Mechanismus durch die Behandlung mit Wachstumsfaktoren (bFGF, EGF) beschleunigt war. Die Autoren vermuten eine Stimulation von Expression und Translokation des extraneuralen DAT durch bFGF und EGF (INAZU et al., 1999). Eine enge Beziehung zwischen 5-HT-Innervation und Konzentrationen von Wachstumsfaktoren ist beschrieben worden (AZMITIA u. WHITAKER-AZMITIA, 1997; HELLWEG et al., 2001) und daher eine funktionelle Auswirkung auf dopaminerge Mechanismen durchaus denkbar.

Der Aspekt einer Gegenregulation bzw. einer beschleunigten Clearance-Funktion von Metabolisierung, Diffusion und/ oder unspezifischem Uptake kann für vorliegende Daten nur unter Vorbehalt formuliert werden, da dieser Effekt nur in einem Fall statistisch gesichert ist. Basierend auf diesen sich andeutenden Prozessen ist jedoch zu vermuten, dass dem spezifischen Kompensationsprozess der verlangsamten DA-Uptake-Kinetik weitere Mechanismen der Adaptation an die neuen Funktionsbedingungen folgen.