

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die dt^{sz} -Hamstermutante ist heute das einzige genetische Tiermodell für eine primäre paroxysmale Dystonie, der sog. primären non-kinesiogenen dystonen Choreoathetose (PDC), bei der dystone Attacken durch Stress induziert werden können. Wie bei anderen primären Dystonieformen, bei denen sich bisher keine pathomorphologischen Veränderungen im ZNS nachweisen ließen, ist die Pathophysiologie weitgehend unbekannt. Rationale und effektive Therapiemöglichkeiten gibt es für primäre Dystonien in der Regel nicht, so daß diese schweren Bewegungsstörungen beim Menschen oft zur Invalidität führen.

Entsprechend der Hypothese, daß dystone und choreoathetotische Bewegungen beim Menschen auf Fehlfunktionen der Basalganglien beruhen könnten, lieferten viele Untersuchungen der letzten Jahre Hinweise auf eine pathogenetische Bedeutung striataler Dysfunktionen insbesondere des GABAergen und dopaminergen Systems bei der dt^{sz} -Hamstermutante. In der vorliegenden Arbeit wurde mittels pharmakologischer striataler Manipulationen des GABAergen Systems und immunhistochemischer Untersuchungen striataler GABAerger Interneurone der pathophysiologischen Bedeutung einer gestörten GABAergen Inhibition im Striatum dystoner Hamster weiter nachgegangen.

Spezifische immunhistochemische Markierungen von Parvalbumin erlaubten eine Identifizierung striataler GABAerger Interneurone bei dt^{sz} - und Kontrollhamster. Die Auszählung der Parvalbumin-immunreaktiven GABAergen Interneurone an kodierten Gehirnschnitten mittels Bildanalyzesystem ergaben hochsignifikante Verminderungen in der Anzahl (41%) und Dichte (26%) im Gesamtstriatum dystoner Hamster im Vergleich zu Kontrollhamster. Die Reduktion der Anzahl und Dichte Parvalbumin-immunreaktiver GABAerger Interneurone bei dt^{sz} -Hamster zeigte sich in allen untersuchten Subregionen des Striatums, war aber im anterioren und posterioren Bereich sowie im ventrolateralen Anteil des mittleren Bereiches des Striatums am stärksten ausgeprägt. Diese Befunde stellen den ersten neuropathologischen Befund bei einer primären Dystonieform dar und liefern Erklärungen für viele Ergebnisse früherer Untersuchungen, u.a. einen moderat verminderten GABA-Gehalt sowie eine moderat verminderte Expression des GABA-synthetisierenden Enzyms GAD im Striatum von dt^{sz} -Hamster.

Andererseits wurden in früheren Untersuchungen Veränderungen, wie eine erhöhte neuronale Aktivität, v.a. im dorsomedialen Striatum gefunden, was bei den striatalen Mikroinjektionen berücksichtigt wurde. Die Wirkungen selektiver Agonisten und Antagonisten an verschiedenen Bindungsstellen des GABA_A-Chlorid-Ionophor-Komplexes nach bilateraler striataler Applikation auf den Schweregrad der Dystonie wurden mit den Effekten nach systemischer Verabreichung verglichen. Hierbei zeigte sich, daß durch den GABA-Agonisten Muscimol und das Benzodiazepin Flurazepam sowohl nach systemischer als auch nach striataler Applikation deutliche antidystone Effekte hervorgerufen wurden, während hingegen der GABA-Antagonist Bicucullin und der Benzodiazepin-Antagonist Flumazenil weniger überzeugende prodystone Effekte nach systemischen und/oder striatalen Applikationen hervorriefen. Phenobarbital, das an der Barbiturat-Bindungsstelle des GABA_A-Rezeptors agiert, rief nur moderate antidystone Effekte hervor, die bei den systemischen Applikationen stärker ausgeprägt waren als bei den striatalen. Pentylentetrazol, das an der Pikrotoxin-Bindungsstelle des GABA_A-Rezeptors bindet, verursachte nach systemischer Applikation deutliche prodystone Effekte, nach striataler Applikation kam es aber nicht zur signifikanten Zunahme des Schweregrades der dystonen Bewegungsstörungen. Nach striataler Applikation von GABA selbst konnten schließlich auch nur moderate antidystone Effekte im Sinne einer Verlängerung der Latenzzeit bis zum Einsetzen der dystonen Bewegungsstörungen beobachtet werden. Die zum Teil nur geringen Wirkungen der Substanzen nach striataler Applikation können u.a. dadurch bedingt sein, daß nur die dorsalen Anteile im mittleren Bereich des Striatums erfaßt wurden, Veränderungen in den immunhistochemischen Untersuchungen aber im gesamten Striatum vorlagen. Insgesamt zeigen insbesondere die immunhistochemischen Befunde, aber auch die pharmakologischen Ergebnisse eine kritische pathogenetische Beteiligung einer verminderten striatalen GABAergen Inhibition bei der paroxysmalen Dystonie beim *dt^{sz}*-Hamster. Um entscheiden zu können, ob die Reduktion striataler GABAerger Interneurone tatsächlich als primärer Defekt anzusehen ist, müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

7. SUMMARY

Melanie Hamann

Pharmacological and immunohistological investigations of the involvement of striatal alterations in the GABAergic system in a genetic animal model of primary paroxysmal dystonia

The *dt^{sz}* mutant hamster represents the only animal model of one subtype of primary dystonia, the paroxysmal non-kinesigenic dystonic choreoathetosis (PDC), in which dystonic attacks can be induced by stress. Similar to other types of primary dystonia, which seem to occur in the absence of pathomorphological alterations in the central nervous system, the pathophysiology is still unknown. Usually, rational and effective therapies of primary dystonias are not available, so that the severe movement disturbances often lead to disability.

In line with the hypothesis, that dystonic and choreoathetotic movements in humans are based on dysfunctions in the basal ganglia, several previous examinations of *dt^{sz}* hamsters pointed to a pathophysiological importance of striatal dysfunctions especially of the GABAergic and the dopaminergic system. In the present study, pharmacological striatal manipulations of the GABAergic system and immunohistological investigations of striatal GABAergic interneurons should clarify whether a reduced GABAergic inhibition in the striatum of mutant hamsters plays a critical role in the pathogenesis of paroxysmal dystonia.

The specific immunohistochemical marking of parvalbumin allowed the identification of GABAergic interneurons in *dt^{sz}* and control hamsters. The counting of parvalbumin-immunoreactive GABAergic interneurons in encoded brain sections revealed a dramatically reduced number (41%) and density (26%) in the striatum of dystonic hamsters compared to control hamsters. Significant reduction of number and density of GABAergic interneurons in *dt^{sz}* hamsters was found in all investigated subregions of the striatum, but was mostly marked in the anterior and posterior part as well as in the ventrolateral region of the middle part of the striatum. These results represent the first neuropathological finding in a type of primary dystonia. Actually, the deficit of striatal GABAergic interneurons provides explanations for various previous findings, such as moderate reduced GABA contents and a moderate

reduced expression of the GABA-synthetising enzyme GAD in the striatum of dystonic hamsters.

On the other hand, previous examinations indicated that changes, such as enhanced neuronal activity, are prominent in the dorsomedial subregion of the striatum. This has been considered in the present pharmacological investigations, i.e., microinjections were done into the dorsal part of the striatum. The effects of selective agonists and antagonists of different binding sites of the GABA_A chlorid-ionophor-complex after bilateral striatal injections on the severity of dystonia were compared with those after systemic administrations. The GABA-agonist muscimol and the benzodiazepine flurazepam exerted marked antidystonic effects both after systemic and after striatal injections, whereas the GABA-antagonist bicuculline and the benzodiazepine-antagonist flumazenil caused only moderate prodystonic effects after systemic and/or striatal injections. Phenobarbital, which acts at the barbiturat binding-site of the GABA_A receptor, exerted only moderate antidystonic effects, particularly after striatal administrations. Pentylentetrazole, which binds to the picrotoxinine binding site of the GABA_A receptor, caused prodystonic effects after systemic administrations, while striatal injections accelerated the progression but failed to increase the severity of dystonia. After striatal injections of GABA, moderate antidystonic effects, i.e., a delay of the onset of dystonia could be observed. One reason for the, in part, only moderate effects of the substances after striatal administrations is that the compound reached only the dorsal part of the striatum, while the immunohistochemical examinations demonstrated a reduced density of GABAergic interneurons within the whole striatum.

In conclusion, the immunohistochemical data, supported by pharmacological results, demonstrate a critical role of a reduced striatal GABAergic inhibition in the pathogenesis of dystonia in the *df⁰²* hamster. Further studies have to clarify whether the deficit of GABAergic interneurons in the striatum represents the primary defect of this movement disorder.