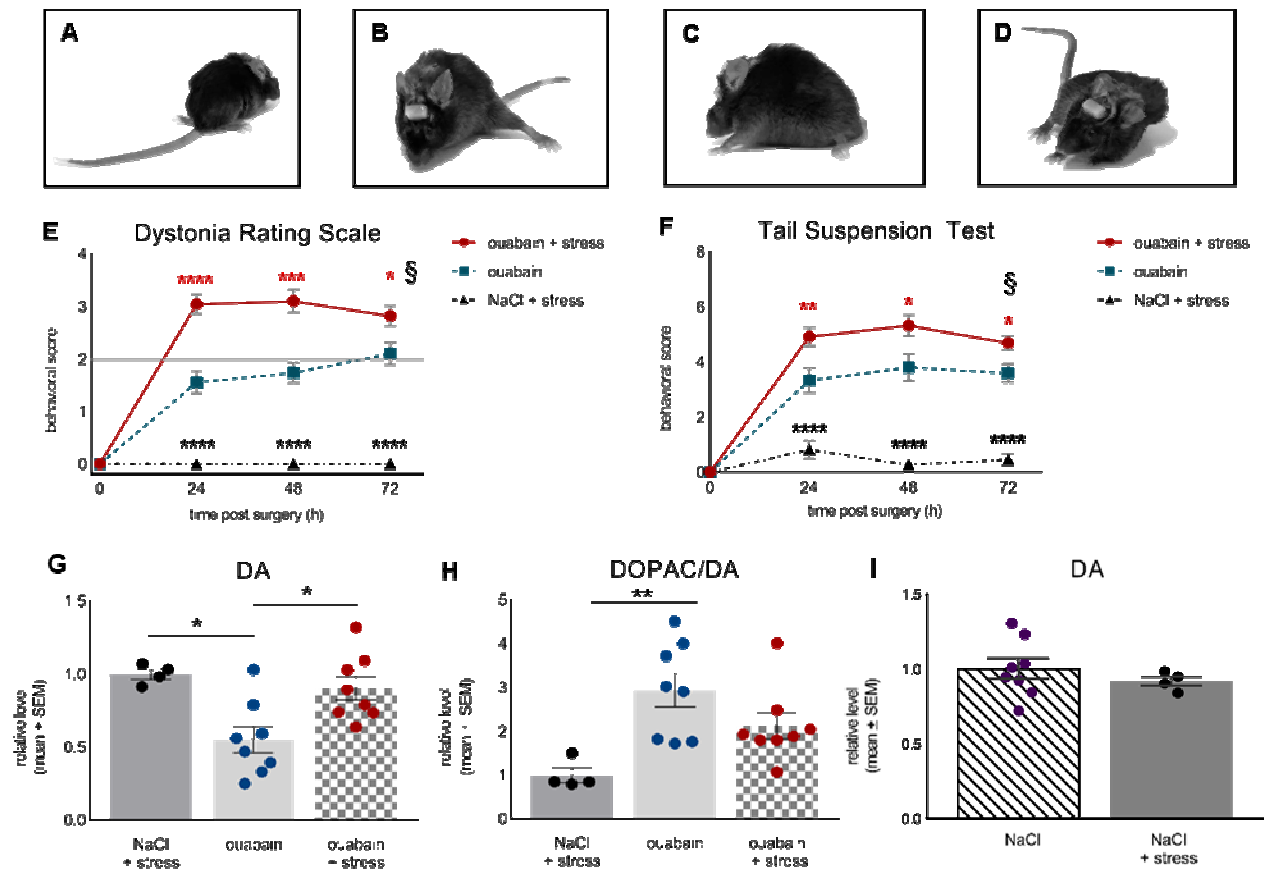


Stress causes striatal dopamine dysregulation and dystonia in DYT12-ATP1A3 mice



Darstellung Dystonie-ähnlicher Bewegungen im Bereich der Hinterbeine (A, B), einer dystonen Rumpftorsion (C) sowie einer posturalen Instabilität (D) nach Ouabain-Perfusion und mildem motorischen Stress. (E) Mittels modifiziertem *Dystonia Rating Scale* (Calderon et al., 2011) wurden Dystonie-ähnliche Bewegungen hinsichtlich Verteilung und Dauer bewertet, verglichen wurden NaCl-perfundierte, gestresste Kontrolltiere (gepunktete, schwarze Linie, $n=11$ für alle Zeitpunkte), Ouabain-perfundierte, nicht-gestresste Mäuse (gestrichelte, blaue Linie, $n=18$ für 24 h post OP, $n=15$ für 48 h und 72 h post OP) und Ouabain-perfundierte, gestresste Mäuse (rote Linie, $n=23$ nach 24 h post-OP, $n=19$ für 48 h und 72 h post OP). (F) Im *Tail Suspension Test* wurden anhand eines neuen Bewertungssystems von 0-8 Punkten Dauer und Schweregrad Dystonie-ähnlicher Bewegungen von Vorder-, Hinterpfoten und Rumpf bewertet, verglichen wurden NaCl-perfundierte, gestresste Kontrolltiere (gepunktete, schwarze Linie, $n=11$ für alle Zeitpunkte), Ouabain-perfundierte, nicht-gestresste Mäuse (gestrichelte, blaue Linie, $n=18$ für 24 h post OP, $n=15$ für 48 h und 72 h post OP) und Ouabain-perfundierte, gestresste Mäuse (rote Linie, $n=23$ nach 24 h post-OP, $n=19$ für 48 h und 72 h post OP). (G, H) HPLC-Analyse der striatalen Dopamin (DA) Menge sowie des 3,4-Dihydroxyphenylethylamin (DOPAC)/DA Umsatzes in NaCl-perfundierten, gestressten Mäusen (dunkelgrau, $n=4$), Ouabain-perfundierten, nicht-gestressten Tieren (hellgrau, $n=8$) und Ouabain-perfundierten, gestressten Tieren (grauweiß kariert, $n=8$). In NaCl-perfundierten, Mäusen ließ sich durch Stress keine Veränderung der DA-Menge im Striatum nachweisen (NaCl ohne Stress: gestreift, $n=8$; NaCl mit Stress: dunkelgrau, $n=4$). Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardfehler, Statistik erfolgte mittels Mann-Whitney Test (E, F, I) und einfaktorieller Varianzanalyse (G,H).

Hintergrund:

Die autosomal-dominant vererbte Dystonie 12 (DYT12) wird durch eine Funktionsverlustmutation im ATP1A3-Gen, welches für einen Na^+/K^+ -Kanal kodiert, verursacht. Im jungen Erwachsenenalter kommt es zur plötzlichen Entwicklung einer generalisierten Dystonie und eines Parkinson-Syndroms. Dabei ist die Penetranz unvollständig, dem Krankheitsbeginn geht meist ein physisches oder psychisches Stressereignis voraus. In Wildtyp-Mäusen kann durch Perfusion des Na^+/K^+ -Kanal-Blockers Ouabain in Striatum und Kleinhirn sowie zusätzlicher Stressapplikation ein Dystonie-ähnlicher Phänotyp hervorgerufen werden. Ein Nachweis abnormaler Aktivität im Kleinhirn wird in diesem Nagermodell nach Hitzeexposition in der Literatur vorbeschrieben, die Beteiligung der Basalganglien wurde bisher nicht untersucht. Ziel dieser Arbeit war es, ein symptomatisches DYT12-Mausmodell durch physischen Stress zu entwickeln

und pathophysiologische Veränderungen im motorischen Netzwerk zur Erweiterung des Krankheitsverständnisses zu untersuchen.

Methoden / Versuchsablauf:

11,2 ng/h Ouabain und NaCl als Kontrolle wurden in Striatum und Kleinhirn von Wildtyp-Mäusen über 72 h infundiert, eine Gruppe wurde dabei wiederholt einem milden motorischen Stressfaktor in Form von *Pole Test* und *Rotarod Performance Test* unterzogen. Zur Untersuchung des Phänotyps wurden Dystonie-ähnliche Bewegungen mit einem modifiziertem *Dystonia Rating Scale* (DRS) von 0-4 Punkten bewertet. Für die Bewertung Dystonie-ähnlicher Bewegungen der Vorder- und Hinterpfoten sowie des Rumpfes im *Tail Suspension Test* (TST) wurde ein neues Bewertungssystem von 0-8 Punkten entwickelt. Die striatalen Projektionsneurone wurden mittels Golgi Cox Färbung dargestellt, die Cholin-Acetyltransferase (ChAT)-, Stickstoff-Monoxid-Synthase (nNOS)- und Parvalbumin (PV)-positiven Interneurone wurden immunhistochemisch angefärbt. Mittels Hochflüssigkeitschromatographie (HPLC) und qPCR wurden Veränderungen der Neurotransmittersysteme im Striatum untersucht.

Ergebnisse / Diskussion:

Bei gestressten, Ouabain-perfundierten Tieren ließ sich ein signifikant erhöhter Anteil Dystonie-ähnlicher Symptome sowohl im DRS als auch im TST im Vergleich zu nicht-gestressten Mäusen nachweisen. Mittels Golgi-Cox Färbung und Sholl-Analyse konnte eine Reduktion der Dornfortsatzanzahl und -dichte der striatalen Projektionsneurone bei Ouabain-behandelten Tieren unabhängig von Stressexposition im Vergleich zur NaCl-Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Ebenfalls konnte eine reduzierte Anzahl striataler ChAT-, nNOS- und PV-positiver Interneurone bei den Ouabain-perfundierten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden, zusätzliche Stressexposition hatte keine weiteren strukturellen Veränderungen zur Folge. HPLC-Analysen zeigten eine deutliche striatale Dopamin-Reduktion sowie einen signifikanten Anstieg des dopaminergen und serotonergen Umsatzes durch Infusion von Ouabain im Vergleich zur Kontrollgruppe. Motorischer Stress führte zum erneuten Anstieg der Dopamin-Menge, ähnliche stressabhängige Veränderungen konnten in NaCl-Kontrollgruppen mit und ohne Stress nicht nachgewiesen werden. In der qPCR-Analyse zeigte sich eine signifikante Runterregulation der glutamatergen Rezeptoren in der Ouabain-behandelten, nicht-gestressten Gruppe.

Durch milden motorischen Stress gelang die Entwicklung eines Dystonie-ähnlichen Phänotypen im Ouabain-perfundierten Mausmodell, was die Schlüsselrolle von Umweltfaktoren in der Entwicklung der DYT12 Dystonie hervorhebt. Die unabhängig von Stress nachgewiesenen, mikrostrukturellen Veränderungen des Striatums mit Affektion der Projektionsneurone und Interneurone sind ein Hinweis auf eine gestörte Integrität der Basalganglien und stellen einen möglichen Anfälligkeitsfaktor im Sinne eines Endophänotypen bei DYT12 Mutationsträger dar. Darüber hinaus konnte bei den Ouabain-behandelten Tieren eine mit Stress und Dystonie-ähnlichen Bewegungen korrelierende dopaminerge Dysfunktion nachgewiesen werden, welche möglicherweise an der Entwicklung der dystonen Symptomatik bei DYT12-Patienten beteiligt ist. Zusammenfassend weisen unsere Ergebnisse auf eine Ouabain-induzierte Störung des motorischen Netzwerkes durch strukturelle und neurochemische Veränderungen des dopaminergen, cholinergen und glutamatergen Systems hin und unterstreichen die Bedeutung der Gen-Umwelt Interaktion in der Symptomentwicklung.

Rauschenberger, L., Knorr, S., Al-Zuraiqi, Y., Tovote, P., Volkman, J., Ip, C.W. (2019), *Striatal dopaminergic dysregulation and dystonia-like movements induced by sensorimotor stress in a pharmacological mouse model of rapid-onset dystonia-parkinsonism*. *Exp Neurol.*, doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113109.

Dr. med. Lisa Rauschenberger, Neurologische Klinik und Poliklinik, Universitätsklinikum Würzburg, Josef-Schneider-Straße 11, 97080 Würzburg, rauschenb_L1@ukw.de