

Dirk Oesterle
Dr. med.

Vermittelt Physostigmin eine neuroprotektive Wirkung während chronischem Stress durch exogene Glucocorticoid-Applikation im Tiermodell?

Geboren am 01. Februar 1979 in Stuttgart-Bad Cannstatt
(Staats-)Examen am 08. Dezember an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anaesthesiologie
Doktormutter: Prof. Dr. sc. hum. K. Plaschke

Chronischer Stress ist ein weitverbreitetes Phänomen und gilt als Risikofaktor für kardiovaskuläre, metabolische und neurodegenerative, aber auch affektive Erkrankungen. Sowohl der stressbedingte Einfluss durch Glucocorticoide als auch Veränderungen in bestimmten, v. a. cholinergen Neuronensystemen spielen bei einigen dieser chronischen Erkrankungen wie z. B. dem Morbus Alzheimer eine wichtige Rolle.

Dem Cholinesterasehemmstoff Physostigmin kommt insbesondere in seiner Rolle als Antidot eine wichtige klinische Bedeutung zu: Die Substanz wird hauptsächlich in der Anästhesie zur Therapie des zentralen anticholinergen Syndroms eingesetzt. Des Weiteren spielt Physostigmin bei Überdosierungen bzw. Vergiftungen mit verschiedensten anticholinergen Pharmaka und Substanzen eine wichtige Rolle.

Aktuell wird Physostigmin experimentell in der Therapie der Sepsis eingesetzt. In verschiedenen tierexperimentellen Studien waren durch exogene Schädigung cholinergischer Neuronensysteme herbeigeführte kognitive Defizite durch Physostigmin reversibel. Einige dieser Neuronensysteme werden auch durch chronischen Stress bzw. hohe Glucocorticoidspiegel geschädigt.

Aus diesen Zusammenhängen entstand die Frage nach einer möglichen, durch Physostigmin vermittelten neuroprotektiven Wirkung während chronisch Glucocorticoid-induziertem Stress im Tiermodell, was Gegenstand der Untersuchungen in der vorliegenden Studie war.

Dreißig adulte männliche Ratten wurden auf vier Versuchsgruppen aufgeteilt und über einen Zeitraum von 22 Tagen unterschiedlich behandelt: Eine Gruppe erhielt jeden Morgen 15 mg in Sesamöl gelöstes Corticosteron (CST) subcutan injiziert, die zweite Gruppe bekam zusätzlich zur gleichen Dosis an Corticosteron täglich 13 µg Physostigmin (CST/Phy.) in 0,9 %-NaCl-Lösung intraperitoneal verabreicht. Die dritte Gruppe erhielt als Placebo täglich Sesamöl subcutan. An den Tieren der vierten Gruppe (Kontrolle) wurden keine Manipulationen vorgenommen. Vor und nach der Injektionsperiode wurden die Tiere psychometrischen Tests im Morris Water-Maze unterzogen, um anhand der so ermittelten

Parameter mögliche Corticosteron-induzierte, räumlich-kognitive Einbußen zu zeigen und zu objektivieren.

Für verschiedene Parameter wurde Longitudinal-Vergleiche angestellt:

1. Körpergewicht der Versuchstiere
2. Corticosteron-Konzentrationen im Plasma
3. psychometrische Verhaltenstests.

Zudem wurden am Ende der Injektionsperiode folgende Bestimmungen durchgeführt:

- Corticosteron-Konzentrationen im Plasma und im Hirngewebe
- Acetylcholin-Konzentration und Acetylcholinesteraseaktivität im Hirngewebe
- Acetylcholinrezeptordichte im Hirngewebe
- TNF- α -Konzentrationen in Plasma und Hirngewebe
- Blutgasanalysen
- cerebrale histopathologische Untersuchungen.

Das Körpergewicht der mit Corticosteron behandelten Tiere (CST und CST/Phy.) und auch deren Gewichtszunahme im Verlauf waren gegenüber den anderen beiden Gruppen (Placebo und Kontrolle) signifikant erniedrigt. In der Psychometrie zeigte sich der Effekt des Corticosterons in einer deutlichen kognitiven Leistungsminderung der injizierten Tiere. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass mit dem exogen zugeführten Corticosteron die Glucocorticoid-Komponente des chronischen Stresses effektiv imitiert werden konnte. Hinsichtlich einer möglichen neuroprotektiven Wirkung des applizierten Physostigmins zeigte sich, dass die Tiere der CST/Phy.-Gruppe in der Psychometrie bessere Ergebnisse erzielten als die Tiere der CST-Gruppe, auch wenn dieser Effekt nicht signifikant war.

In den Analysen der Corticosteron-Plasmakonzentrationen wurden nur zur Mitte der Injektionsperiode signifikante Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen deutlich. Allerdings wiesen hierbei die Tiere der Kontrollgruppe wider Erwarten signifikant höhere Plasmaspiegel auf als die Tiere der injizierten Gruppen (CST bzw. CST/Phy.). Auch die Placebogruppe zeigte höhere Werte als die CST- bzw. CST/Phy.-Gruppe, allerdings ohne Signifikanz. Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens könnte in einem negativen Rückkopplungsmechanismus mit Downregulation der endogenen Glucocorticoidsynthese der Tiere und einem zwar deutlichen, aber noch nicht vollständigen Funktionsverlust der

Nebennierenrinde durch die chronische Corticosteron-Applikation liegen.

Weiterhin ist hier auch eine manipulations- bzw. injektionsbedingte physiologische Stressreaktion ursächlich in Erwägung zu ziehen, welche zu einer Hyposuppression der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse mit erhöhter basaler Corticosteronsekretion geführt haben könnte. Auswirkungen unspezifischer, sich wiederholender akuter Stressereignisse durch tägliche Injektionen sind nicht unbedeutend für tierexperimentelle Arbeiten und passen zur aktuellen Studienlage.

Am Ende der Injektionsperiode waren die Plasma-Corticosteronspiegel aller vier Versuchsgruppen deutlich, aber nicht signifikant höher als vor Beginn des Injektionszeitraumes, allerdings ohne nennenswerte Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Analysen zur Corticosteronkonzentration im Hirngewebe ergaben allein in den Proben der Corticosterongruppe eine signifikante Konzentrationserhöhung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Untersuchungen zum Acetylcholinmetabolismus ergaben für AcetylcholinKonzentration und Acetylcholinesteraseaktivität im Hirngewebe keine signifikanten Ergebnisse. Bezüglich der Acetylcholinrezeptordichte im Hirngewebe zeigten jedoch die zusätzlich zum Corticosteron mit Physostigmin behandelten Tiere, verglichen mit den anderen drei Versuchsgruppen, eine Verminderung der Rezeptordichte.

In der Analyse der TNF- α -Konzentrationen zeigten sich im Plasma in keiner der vier Versuchsgruppen signifikante Veränderungen, wogegen im Hirngewebe sowohl die CST- als auch die CST/Phy.-Gruppe signifikant erniedrigte Werte für TNF- α im Vergleich zu Placebo- und Kontroll-Gruppe aufwiesen.

Die histopathologische Aufarbeitung der Gehirnschnitte aller Versuchsgruppen zeigte keine deutlichen morphologischen Veränderungen der Gehirne. Im für Apoptosevorgänge spezifischen TUNEL-Test konnten vereinzelte apoptotische Zellen in verschiedenen Hirnregionen der CST-, der CST/Phy.- und der Kontrollgruppe nachgewiesen werden, wobei die Veränderungen nicht signifikant waren.

Abschließend bleibt festzustellen, dass diese Studie bezüglich des Einsatzes von Physostigmin bei chronisch Glucocorticoid-induziertem Stress im Tiermodell erste Hinweise auf eine mögliche neuroprotektive Wirkung der Substanz in diesem Zusammenhang liefern konnte.

Eine weitere Analyse der genauen zugrunde liegenden Mechanismen bleibt Gegenstand weiterer Forschungsvorhaben, auch im Vergleich zu akuten Veränderungen.