

Markus Schomacher
Dr. med.

Die Rolle des Cannabinoid-Rezeptorsystems bei globaler und fokaler zerebraler Ischämie

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. C. Sommer

Ziel der angefertigten Arbeit war es, dass momentan vielfach kontrovers diskutierte neuroprotektive Potential des Cannabinoid-Rezeptorsystems in verschiedenen Ischämie-Modellen zu überprüfen und die neuroprotektiven Effekte sowie den möglichen Einfluss des Systems auf pathophysiologische Schlüsselstellen der zerebralen Ischämie genauer zu definieren.

Im ersten Versuchsansatz zeigten die verwendeten exogen applizierten Cannabinoid-Rezeptoragonisten Anandamid und Palmitoylethanolamid in einem standardisierten Modell der transienten fokalen zerebralen Ischämie eine in unterschiedlicher Ausprägung dosisabhängige Infarkt-reduktion, der nach bisherigem Kenntnisstand offensichtlich unterschiedliche neuroprotektive Wirkmechanismen zugrunde liegen. Bis dato erfolgte noch kein direkter Vergleich der neuroprotektiven Wirkung von AEA und PEA in einem Modell der transienten fokalen zerebralen Ischämie bei der Ratte. Nach Darstellung des Ischämieschadens mittels 2,3,5-Triphenyltetrazolium-Chlorid-Färbung an den Hirnschnittpräparaten zeigte sich bei der computergestützten Infarktvolumenberechnung, dass Palmitoylethanolamid in der Behandlungsgruppe PEA - high dose - (30mg/kg Körpergewicht) im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße um 35% führt. Anandamid erzielte mit einer Reduktion der Infarktgröße um 26% einen moderateren neuroprotektiven Effekt. Wesentlicher Bestandteil des neuroprotektiven Effektes von PEA scheint ein agonistischer, über den CB2-Rezeptor vermittelter, dosisabhängiger antiinflammatorischer Wirkmechanismus zu sein. Zusätzlich können aber auch nicht CB2-Rezeptor-vermittelte Interaktionen, wie zum Beispiel eine Verstärkung des neuroprotektiven Effektes von AEA an Vanilloid-Rezeptoren oder die Reduktion der Kalzium-Freisetzung aus intrazellulär gelegenen Ryanodin-Rezeptor-sensitiven Kalzium-Speichern und die Aktivierung der Mikroglia-Zellfunktion, nicht ausgeschlossen werden. Anandamid erzielt seinen neuroprotektiven Effekt vermutlich durch eine agonistische Wirkung an zerebralen CB1-Rezeptoren und peripheren CB2-Rezeptoren. Dies bewirkt über Zwischenschritte in der

intrazellulären Signalkaskade eine verminderte Adenylatzyklaseaktivität, was letztendlich zu einer reduzierten Bildung von potentiell neurotoxischen Metaboliten und Enzymen führt. Zusätzlich kommt es, über den CB1-Rezeptor gesteuert, zu Interaktionen mit spannungsabhängigen Ca^{2+} - und K^{+} -Ionenkanälen und zu einer über den Vanilloid-Rezeptor vermittelten Vasodilatation in Geweben.

Die oben genannten neuroprotektiven Wirkmechanismen und Enzyminduktionsschritte wurden in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht näher untersucht. Mit immunhistochemischen und autoradiografischen Methoden könnten hierbei sicherlich nach Blockade der jeweiligen Rezeptoren durch CB1- und CB2-Rezeptorantagonisten oder durch Verwendung von rezeptorspezifischen knock out Tiermodellen weitere Informationen generiert werden.

Der in der zweiten Versuchsreihe verwendete Cannabinoid-Rezeptorantagonist SR141716A konnte interessanterweise in einem Modell der permanenten fokalen Ischämie mit einer Infarktvolumenreduktion von 40 Prozent neuroprotektive Eigenschaften vorweisen. Unter Verwendung der Rezeptor-Autoradiografietechnik erfolgte die Bestimmung der modulatorischen Effekte des exogen applizierten Cannabinoid-Rezeptorantagonisten SR141716A auf das Ligandenbindungsverhalten von [^3H]CP55,940, [^3H]MK-801 und [^3H]AMPA an den CB1-, NMDA- und AMPA-Rezeptoren. Nach Analyse der rezeptorspezifischen Ligandenbindungen im Infarkt Kerngebiet, der kortikalen Penumbra und den korrespondierenden Arealen der Gegenseite war keine spezifisch regulierte [^3H]CP55,940-Ligandenbindung für den CB1-Rezeptor in der kortikalen Penumbra region und im kontralateralen Kortexbereich nachzuweisen. Überraschenderweise zeigte sich die [^3H]MK-801-Ligandenbindung an den exzitatorischen NMDA-Rezeptoren in der Penumbra der mit SR141716A behandelten Tiere aufrechterhalten, im Gegensatz zu einer signifikanten Reduktion in der jeweiligen Kontrollgruppe. Die Ligandenbindung von [^3H]AMPA an den spezifischen AMPA-Rezeptoren war bei den Kontrolltieren und den SR141716A behandelten Tieren im Infarktbereich und der Penumbra region reduziert.

Unter Berücksichtigung bisher erfolgter Studien zum CB1-Rezeptorantagonist SR141716A lässt sich folgern, dass der CB1-Rezeptorantagonist SR141716A sein neuroprotektives Potential über intrinsische neuroprotektive Mechanismen oder zumindest teilagonistische Eigenschaften vermittelt. Zur weiteren Beurteilung des vermutlich intrinsischen neuroprotektiven Potentials und der zumindest teilagonistischen Wirkung am Cannabinoid-Rezeptor sollten zusätzliche, differenziertere Nachweismethoden erfolgen. Dies könnte durch eine Analyse der Glutamatfreisetzung, einer Messung der Enzymaktivität bei der NO-

Synthese und bei der Zytokinfreisetzung sowie bei der Leukozytenadhäsion im Ischämiegebiet und in der Penumbra region geschehen.

In der dritten Versuchsstudie wurde die Funktionsweise des Cannabinoid-Rezeptorsystems in einem Modell der transienten globalen Ischämie am Gerbil unter den Bedingungen eines selektiven und verzögerten neuronalen Zelltods sowie nach ischämischer Präkonditionierung untersucht. Mittels Autoradiografieuntersuchungen am CB1-Rezeptor und der immunhistochemischen Auswertung im Bereich der Hippokampusregion konnte erstmalig gezeigt werden, dass eine 2,5-minütige Ischämie, wie sie bei einer Präkonditionierung verwendet wird, zu einer noch bis 48 Stunden nach Ischämieinduktion anhaltenden signifikant reduzierten Rezeptorproteinexpression für den CB1- Rezeptor und zu einer permanent signifikant reduzierten Ligandenbindungsdichte für den CB1-Rezeptor führt. Eine Veränderung in der CB1-Rezeptorproteinexpression und im Ligandenbindungsverhalten konnte bei der DND-Induktion mit 5-minütiger Ischämiezeit nicht beobachtet werden. Die aus den Versuchen gewonnenen Ergebnisse lassen die Annahme zu, dass die postischämische Herabregulation der CB1-Rezeptoren nach 2,5-minütiger Ischämiezeit Teil einer endogenen neuroprotektiv wirkenden CB1-Rezeptorsignalkaskade im Rahmen einer endogenen postischämischen Neuroprotektion an hippokampalen Neuronen ist. Auch hier wäre eine Ausweitung der Untersuchungen mit differenzierteren Nachweismethoden, wie die bereits erwähnte Bestimmung der Glutamatkonzentration, die Messung der Enzymaktivität bei der NO-Synthese und bei der Zytokinfreisetzung sowie bei der Leukozytenadhäsion im Ischämiegebiet, der Penumbra region und der Infarktgegenseite zur weiteren Informationsgewinnung wünschenswert.