

Wolfgang Gehard Mühlhofer
Dr. med.

Transienter neuroprotektiver Effekt von B-Vitaminen bei experimenteller Epilepsie im Mausmodell

Geboren am 03.01.1984 in Nürnberg
Staatsexamen am 24.11.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. H. Marti

Die häufigste fokale Epilepsieform –die Temporallappenepilepsie– führt im längerfristigen Verlauf zu einem substanzialen Schaden im *Limbischen System* und, in den damit interferierenden, *kortikalen* Strukturen. Dies erhöht nicht nur die Wahrscheinlichkeit für ein chronisch rezidivierendes Anfallsleiden, sondern führt auch nachweislich zu neurologischen und kognitiven Defiziten der betroffenen Patienten. Dabei konnte auf mehreren Ebenen ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Epilepsie und der Apoptose neurodegenerativer Neurone im ZNS hergestellt werden. Da Epilepsie in den meisten Fällen nur symptomatisch und nicht kausal therapiert werden kann, sind neue Therapieoptionen zum Schutz des ZNS vor neuronaler Überstimulation und damit einhergehender Apoptose von entscheidender Bedeutung. B-Vitamine spielen eine wichtige Rolle in vielen biochemisch-physiologischen Prozessen und sind als Substitutionstherapie in der Behandlung akuter und chronischer neurodegenerativer Erkrankungen bereits erfolgreich im klinischen Alltag etabliert. Vereinzelt Studien an Zellkulturen und im Tierexperiment konnten für eine hochdosierte Vorbehandlung mit B-Vitaminen allein und/oder in Kombination einen neuroprotektiven Effekt nachweisen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der potentiell neuroprotektive Effekt einer einwöchigen Vorbehandlung mit der hochdosierten Vitamin-Kombination aus B₁, B₆ und B₁₂ anhand des gut etablierten Kainatmodells in der Maus auf mehreren Ebenen der Apoptosekaskade untersucht. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. Phänotypisch führte die Vitamin-B-Behandlung in der Frühphase des Kainat-induzierten *Status epilepticus* zu einer deutlichen Reduktion der Anfallsausprägung. In mehren Studien konnten v. a. Vitamin B₁ und B₆ modulierende Eigenschaften in der Expression von Kainatrezeptoren und Freisetzung exzitatorischer Neurotransmitter nachgewiesen werden, was die abgeschwächte Suzeptibilität der Vitamin-B-Tiere für das neurotoxische Kainat erklären würde.
2. Auf molekularbiologischer Ebene führte eine systemische Kainatapplikation *per se* zu einer biphasischen und konzentrationsabhängigen mRNA-Expressionssteigerung des anti-apoptotischen Bcl-2 bei unverändertem BAX-Expressionsniveau. Ein Effekt, der so auch in anderen Studien gefunden, jedoch noch nie –wie in dieser Arbeit– über einen Langzeitverlauf von 14 Tagen untersucht wurde. Am ehesten ist dieser Expressionsanstieg wohl als physiologische Schutzreaktion des ZNS auf den neurotoxischen Stimulus zu deuten.

3. Dieser Effekt fand ebenfalls in konzentrationsabhängiger Manier eine signifikante Verstärkung durch die hochdosierte Vitamin-B-Behandlung v. a. in der Frühphase nach Kainatapplikation. Allerdings führte eine alleinige Vitamin-Vorbehandlung auch unabhängig von Kainat zu einer signifikanten Bcl-2-Expressionssteigerung, was den Schluss nahe legt, dass die B-Vitamine auch eine eigenständige und nicht nur verstärkende Wirkung haben. In der Literatur konnte lediglich für Vitamin B₁₂ bisher eine direkte Induktion der Bcl-2-Expression nachgewiesen werden. Allerdings schaffen B₁ und B₆ durch ihre physiologische Rolle als Antioxidans im Kontext von oxidativem und chemischem Stress ein anti-apoptisches Milieu, das ebenfalls die Steigerung der Bcl-2- und Stabilisierung der BAX-Expression erklären könnte. Das Bcl-2-Protein konnte dabei in beiden Gruppen qualitativ im ZNS nachgewiesen werden.
4. Sowohl die Reduktion der phänotypischen Anfallsausprägung, als auch die signifikante Bcl-2-Expressionssteigerung in der Frühphase nach Kainatapplikation resultierte schließlich drei Tage *post injektionem* in einer reduzierten Zahl TUNEL-positiver Zellen in der CA3-Region des *Hippocampus*. Ein paralleler Anstieg der Caspase-3-Aktivität in deckungsgleichen Hirnregionen stellte dabei sicher, dass es sich um einen apoptotischen und nicht nekrotischen Prozess im ZNS handelte. Daten aus der Literatur deuten darauf hin, dass B-Vitamine nicht nur über die bereits beschriebenen Effekte, sondern auch durch die Induktion anti-inflammatorischer und neurotropher, sowie den vermehrten Abbau inflammatorischer und Apoptose-induzierender Zytokine, dem apoptotischen Reiz des neurotoxischen Kainats entgegenwirken können.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen also, dass eine hochdosierte Vorbehandlung mit B-Vitaminen in einem gewissen Rahmen zu einer verminderten Suzeptibilität vulnerabler Neurone, zu einer Induktion anti-apoptischer Schlüsselproteine und –daraus resultierend– zu einer Reduktion der apoptotischen Aktivität im *Hippocampus* als Folge einer systemischen Kainatapplikation führt.

B-Vitamine könnten sich vor diesem Hintergrund als eine kostengünstige, nebenwirkungsarme Langzeittherapie bei Epilepsiepatienten mit neuroprotektiven bzw. anfallsmindernden Effekten erweisen. Dabei obliegt es weiteren tierexperimentellen und klinischen Studien, den neuroprotektiven Effekt von B-Vitaminen weiter zu präzisieren und auch im Kontext anderer neurodegenerativer Erkrankungen zu untersuchen.