

Zusammenfassung

Paul Vincent Naser

Dr.med.

Cortical modulation of Acute and Chronic Pain States

Fach: Pharmakologie

Doktormutter: Prof. Dr. Rohini Kuner

Chronische Schmerzen stellen ein großes medizinisches wie auch gesamtgesellschaftliches ökonomisches Problem dar. Die wirksame Behandlung dieser Zustände ist noch immer nicht in allen Fällen möglich, was auch darauf beruht, dass dieses Krankheitsbild unzureichend verstanden wird. Die mechanistischen Hintergründe insbesondere der kortikalen Schmerzverarbeitung sind, obgleich die vergangenen Jahre große Fortschritte auf diesem Gebiet erbracht haben, noch immer wenig verstanden. Neben exzitatorischen sensorischen Bahnen sind sowohl neuromodulatorische cholinerge als auch inhibitorische GABA-erge Mechanismen Gegenstand der aktuellen Forschung. Im Mausmodell wurde im Rahmen dieser Arbeit einerseits ein Modell für die chemogenetische Modulation des größten cholinergen Kerns im basalen Vorderhirn, dem Nucleus basalis Meynert entwickelt. Zudem sollte die Veränderung inhibitorischer Netzwerke im prälimbischen Kortex untersucht werden.

Teil 1: Mittels stereotaktischer Gehirninjektion genetisch modifizierter Retroviren und nachfolgender immunhistochemischer und mikroskopischer Auswertung wurde in Mäusen ein Modell für die effektive Modulation cholinergischer Zellen im Nucleus basalis entwickelt. Zudem wurden Mäusen akute Schmerzstimuli präsentiert und die Aktivitätsmuster cholinergischer Neurone untersucht.

Die wichtigsten Befunde waren:

1. Cholinerge Zellen im Nucleus basalis werden in akuten Schmerzsituationen bilateral stark aktiviert, wobei die dem Schmerzreiz kontralaterale Seite eine stärkere Aktivierung zeigte
2. Die stereotaktische Injektion von Retroviren stellt eine effektive Methodik dar, um cholinerge Zellen im Nucleus basalis anzusprechen
3. Die chemogenetische Aktivierung bzw. Inhibition cholinergischer Zellen hat im Mausmodell keinen direkten Einfluss auf das akute Schmerzverhalten

Der zweite und dritte Teil der Arbeit befasste sich mit GABAergen Netzwerken in chronischen Schmerzen.

Teil 2: Mittels immunhistochemischer Untersuchung und anschließender Auswertung konfokalmikroskopisch aufgenommenen Bildmaterials wurden Subgruppen GABAerger Neurone in verschiedenen kortikalen Arealen untersucht. Hierbei wurden insgesamt über 60000 genetisch markierte Zellen in sieben Kortexregionen von Tieren der GAD1:tdTomato Mauslinie ausgezählt.

Die wichtigsten Befunde waren:

1. Die prozentuale wie auch absolute Verteilung GABAerger Zellen im prälimbischen Kortex ist im Vergleich zu den untersuchten anderen schmerzrelevanten Kortexarealen einzigartig. Insbesondere ein erniedrigter Anteil an Parvalbuminzellen, sowie ein deutlich erhöhter Anteil an PROX1 exprimierenden Zellen trat hier hervor.
2. Durch die gleichzeitige Anfärbung von ChAT mit GAD:tdTomato wurden die jüngsten Erkenntnisse über eine einzigartige Gruppe von magnozellularer cholinergischer Neurone, die ausschließlich im präfrontalen Kortex vorkommen, bestätigt.
3. Außerdem wurde eine kleine Anzahl von GAD1 exprimierenden Astrozyten entdeckt, deren funktionelle Rolle noch untersucht werden muss.

Teil 3: Die Aktivitätsmuster im prälimbischen Kortex wurden im Verlauf der Schmerzchronifizierung untersucht. Hierzu wurde eine Methodik basierend auf GRIN-Linsen unterstützter Zweiphotonenmikroskopie von Kalziumsignalen, sowie der postmortalen Zuordnung der neurochemischen Identität der untersuchten Zellen entwickelt. Insgesamt über 50 Tiere wurden diesbezüglich mit GRIN Linsen implantiert, woraus letztendlich Aufnahmen von über 1200 Zellen resultierten. Die Aktivität dieser Zellen wurde sowohl im Ruhezustand als auch nach sensorischer Stimulation untersucht.

Die wichtigsten Befunde waren:

1. Diese Studie zeigt, dass es möglich ist, die gesamte GABAerge Population in diesem tiefen Hirnareal aufzuzeichnen und einzelnen Zellen post-hoc ihre neurochemische Identität zuzuordnen. Aufbauend auf dieser Methodik sind eine Reihe interessanter Studien denkbar, die diese bisher wenig untersuchte Gruppe divergenter inhibitorischer Zellen weiter untersuchen.
2. Weder Parvalbumin noch Somatostatin exprimierende Zellen zeigten die größten Veränderungen in Bezug auf die Aktivität nach der Induktion chronischer Schmerzen. Diese bis dato wenig beleuchtete Gruppe stellt jedoch, wie o.g. eine signifikant höhere Anzahl der GABAergen Neurone im prälimbischen Kortex dar.
3. Die Veränderungen in Bezug auf den prälimbischen Kortex traten überwiegend bei männlichen Tieren auf, wobei der Schmerzphänotyp bei Männchen und Weibchen gleich stark ausgeprägt ist. Dies deutet auf unterschiedliche kortikale Mechanismen der Schmerzchronifizierung hin.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen daher die Relevanz inhibitorischer Plastizität im prälimbischen Kortex unter Entwicklung einer neuen Methodik zur Erfassung gesamter Zellpopulationen und postmortalen Zuordnung ihrer neurochemischen Identität. Die Ergebnisse werden in Zusammenschau mit der aktuellen Literatur diskutiert.