

5 Zusammenfassung

Epileptische Anfälle stellen die häufigste neurologische Störung des Kindesalters dar. Sie können rezidivierend im Rahmen einer Epilepsie oder als epileptische Einzelanfälle im Zuge anderer Erkrankungen auftreten. Auf zellulärer Ebene resultiert der epileptische Anfall in einer massiven Freisetzung von Glutamat und der Dauerstimulation von Neuronen, die über die Störung der zellulären Homöostase und den Anstieg intrazellulären Kalziums neurotoxisch wirken kann. Diese neurotoxische Wirkung kann eine passive exzitotoxische sowie eine aktive apoptotische Komponente aufweisen. Es gibt Hinweise dafür, dass die apoptotische Komponente im unreifen Gehirn eine wichtige Rolle spielt.

Während der epileptische Einzelanfall mit Ausnahme prolongierter Anfälle oder des Status epilepticus keine medikamentöse Intervention erfordert, erfolgt die Therapie der Epilepsie mit Antikonvulsiva. Diese modulieren die Aktivität exzitatorischer und inhibitorischer Neurotransmitter sowie Ionenkanäle, deren Dysfunktion als eine Ursache gesteigerter neuronaler Erregbarkeit angesehen wird. In der Phase des rapiden Hirnwachstums, die beim Menschen vom letzten Trimenon der Schwangerschaft über die ersten drei Lebensjahre reicht, besteht eine besondere Vulnerabilität des unreifen Gehirns gegenüber Veränderungen der physiologischen Transmitteraktivität. Sowohl die Unterstimulation von NMDA-Glutamatrezeptoren (durch NMDA-Antagonisten), als auch die Wirkungsverstärkung von GABA (durch GABA-Mimetika) kann während dieser Entwicklungsphase apoptotische Nervenzelluntergänge bewirken. Die Auswirkung zerebraler Krampfanfälle und die Wirkung von Antikonvulsiva auf das unreife Gehirn sind gut untersucht, über den Effekt einer kombinierten Wirkung beider Einflüsse ist dagegen wenig bekannt. Klinisch entspricht diese Situation der Anwendung von Antiepileptika zur Unterbrechung oder nach Sistieren eines Krampfanfalls.

Im Rahmen dieser Arbeit ist untersucht worden, ob ein Pilocarpin-induzierter Status epilepticus im unreifen Rattenhirn zu einer verstärkten Neurodegeneration führt, welchen morphologischen Charakter diese Degeneration trägt, und in welcher Weise sie durch die zusätzliche Gabe des Benzodiazepins Diazepam beeinflusst wird. Weiter wurde untersucht, ob die mit dem Status epilepticus assoziierten histologischen und morphologischen Veränderungen auf Proteinebene mit einer Regulation der antiapoptotischen PI3K- und ERK1/2-Kaskade einhergehen, und wie diese Regulation unter dem Einfluss von Diazepam modifiziert wird. Dazu wurde 7-Tage alten Wistar-Ratten intraperitoneal Pilocarpin (200mg/kg), Diazepam (5mg/kg), Pilocarpin (200mg/kg) und im Intervall von 2 Stunden nach Auslösung eines Status epilepticus Diazepam (5mg/kg) sowie der Kontrollgruppe Aqua-Injektionslösung appliziert. Die Tiere wurden 3, 4, 6,

12 and 24 Stunden nach Injektion der Testsubstanz getötet. Es erfolgte die histologische (DeOlmos Silberfärbung) und morphologische (Elektronenmikroskopie) Aufarbeitung von Hirnschnitten sowie die Untersuchung der Phosphorylierung der antiapoptotischen Proteinkinasen Raf-1, Akt und ERK1/2 mittels Western Blot.

Es konnte gezeigt werden, dass 24 Stunden nach Auslösung eines Status epilepticus die Anzahl degenerierter Neurone im Gehirn der neugeborenen Ratte erhöht ist, und die zelluläre Degeneration morphologische Merkmale sowohl des exzitotoxischen als auch des apoptotischen Zelltodes aufweist. Die zusätzliche Gabe von Diazepam im Anschluss an den Krampfanfall potenziert die apoptotische Neurodegeneration, während die gleiche Dosis Diazepam beim nicht krampfenden Tier keine Neurodegeneration auslöst. Auf Proteinebene findet sich 4 Stunden nach Beginn des Status epilepticus ein deutlicher Anstieg der aktivierten Formen der antiapoptotischen Kinasen Akt, Raf-1 und ERK1/2. Die alleinige Gabe von Diazepam bewirkt eine verminderte Aktivierung dieser Proteine im Vergleich zu den Kontrolltieren. Bei der Kombination von Status epilepticus und Diazepam zeigt sich zwar eine Aktivierung der Signalwege, diese fällt aber deutlich geringer aus als im Status epilepticus allein. Die Ergebnisse zeigen, dass der Status epilepticus im unreifen Rattenhirn zwar eine antiapoptotische Gegenregulation anstößt, diese aber nicht ausreicht, um eine apoptotische Neurodegeneration vollständig zu verhindern. Wird im Anschluss an den Status epilepticus Diazepam verabreicht, das die Konzentration aktivierter antiapoptotischer Faktoren reduziert, nimmt die Effizienz dieser antiapoptotischen Gegenregulation weiter ab, was sich in einer deutlichen Zunahme apoptotisch degenerierter Neurone manifestiert.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass GABA-Mimetika den neurotoxischen Effekt eines epileptischen Anfalls im unreifen Gehirn der Ratte potenzieren. Obwohl unklar bleibt, wie stark die beobachteten Effekte tatsächlich die Hirnentwicklung des Individuums beeinflussen und inwieweit die gewonnenen Erkenntnisse auf das menschliche Gehirn übertragbar sind, sollte die Anwendung von GABA-Mimetika beim Kleinkind unter strenger Beachtung der medizinischen Indikation erfolgen. Diese umfasst die Unterbrechung prolongierter Anfälle und des Status epilepticus aus vitaler Indikation, jedoch nicht die Anwendung bei kurz dauernden Einzelanfällen oder der Prophylaxe von z.B. Fieberkrämpfen. Kritisch ist auch die Anwendung von Diazepam im letzten Trimenon der Schwangerschaft zu betrachten. Erkenntnisse zu neuroprotektiv wirksamen Substanzen sollten aufmerksam verfolgt und gegebenenfalls in existierende Therapieschemata integriert werden. Grundsätzlich ist die Entwicklung neuer Antiepileptika mit günstigerem Nebenwirkungsprofil wünschenswert.