

4 DISKUSSION

4.1 Phenobarbital verursacht eine apoptotische Neurodegeneration im unreifen Gehirn der Ratte durch Verlust trophischer Unterstützung

In den vorangehenden Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Phenobarbital, über eine Aktivierung des inhibitorischen GABA-A-Rezeptors, Neurodegeneration im unreifen Gehirn verursacht. Die Neurotoxizität ist altersabhängig und findet während einer spezifischen Entwicklungsperiode statt, wobei viele Neurone in unterschiedlichen Regionen des Gehirns zerstört werden. Es wurde nach ultrastrukturellen Gesichtspunkten demonstriert, dass es sich bei der vorliegenden neurodegenerativen Antwort nach Phenobarbitalexposition um Vorgänge apoptotischer Natur handelt (Ikonomidou et al.; 2000).

Die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse geben Hinweise auf mögliche Mechanismen, die für die durch Phenobarbital hervorgerufenen apoptotischen Schäden im unreifen, sich entwickelnden Gehirn der Ratte verantwortlich sein können.

Eine einzelne intraperitoneale Injektion von 50 mg/kg Phenobarbital vermindert signifikant die Expression der neurotrophen Faktoren BDNF und NT-3 im Thalamus sieben Tage alter Ratten. Zeitabhängige Veränderungen der genspezifischen mRNA-Expression von BDNF und NT-3 nach Phenobarbital lassen sich darstellen. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass eine verminderte Expression neurotropher Faktoren und der daraus folgende Verlust trophischer Unterstützung einen möglichen zugrunde liegenden Mechanismus der proapoptischen Wirkung von Phenobarbital darstellt.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen ist auch in anderen Modellen der Neurodegeneration durch pharmakologische Substanzen eine verminderte Expression von Neurotrophen beschrieben. So zeigten Hansen et al., dass eine Verminderung der mRNA-Expression von BDNF eine Folge von NMDA-Rezeptorblockade im unreifen Rattengehirn darstellt und somit als ein möglicher Mechanismus für die ausgeprägte Neurodegeneration in Frage kommt (Hansen et al.; 2004). Auch postnatale Alkoholexposition führt zu verminderten BDNF Konzentrationen im unreifen Gehirn der Ratte (Climent et al.; 2002). Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit unseren Ergebnissen und stützen die Vermutung, dass der Verlust trophischer Unterstützung einen gemeinsamen Schadensmechanismus von Substanzen darstellt, die neuronale Erregung im unreifen Gehirn hemmen.

Neurotrophine spielen auch im Modell der neonatalen Hypoxämie/Ischämie der Ratte eine bedeutende Rolle. Dabei ist die Pathogenese des hirnischämischen Insults komplex; unter anderem trägt auch eine Initiierung der apoptotischen Stoffwechsellkaskade zum späteren Tod neuronaler Zellen entscheidend bei (Vanucci und Hagberg, 2004). Es konnte gezeigt werden, dass im Hypoxie-Ischämiemodell der neonatalen Ratte durch eine Therapie mit BDNF der Schaden deutlich vermindert werden konnte (Cheng et al.; 1997). Dabei blockiert BDNF Caspase-3-Aktivität und wirkt somit neuroprotektiv (Han et al.; 2000). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass BDNF nicht nur gegen neuronalen Substanzverlust schützt, sondern auch kognitive Defizite zu verhindern vermag (Almli et al.; 2000). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung trophischer Unterstützung bei der Vermeidung apoptotischer Neurodegeneration im unreifen Gehirn. Inwiefern die Expression neurotropher Faktoren nach Hypoxämie/Ischämie im neonatalen Gehirn beeinflusst wird, ist im Gegensatz zum Modell der adulten Ratte, wo es zu einem Ansteigen der BDNF mRNA-Konzentrationen im Gehirn kommt (Lindvall et al.; 1994; Tsukahara et al.; 1994), nicht geklärt. Wir konnten mit unseren Ergebnissen nun zeigen, dass es im Neurodegenerationsmodell der neonatalen Ratte durch Gabe von Phenobarbital zu einem Verlust trophischer Unterstützung kommt.

4.2 Phenobarbital verursacht ein Ungleichgewicht zwischen neuroprotektiven und neurodestruktiven Faktoren

Neurotrophe Faktoren gehören zu der Gruppe der Wachstumsfaktoren, die neuroprotektiv wirken können und vor Apoptose durch Aktivierung verschiedener Rezeptoren und Signaltransduktionskaskaden schützen können (Huang und Reichardt, 2001). Sie kontrollieren und beeinflussen die Entwicklung, Differenzierung und das Überleben von Zellen und Neuronen im zentralen und peripheren Nervensystem.

Neurotrophine vermitteln ihre überlebenswichtigen Eigenschaften nach Rezeptorbindung und Aktivierung über mehrere nachgeschaltete Transaktionswege. Hierzu gehören der Phosphoinositol-3-Kinase Signalweg und der RAS/MEK/MAPK-Signalweg und die daraus resultierende Transkription antiapoptotischer Gene, sowie die direkte Hemmung proapoptotischer Faktoren (Yuan und Yankner, 2000).

Unsere Ergebnisse demonstrieren, dass Phenobarbital in dieses endogene neuroprotektive System des Gehirns eingreift und es empfindlich stört. Phenobarbital bewirkt eine verminderte Synthese neurotropher Faktoren, die wiederum mit einer verminderten Expression der aktiven

phosphorylierten Formen von p-RAF, ERK1/2 und AKT einhergeht. Solche Veränderungen sind Ausdruck eines Ungleichgewichts zwischen neuroprotektiven und neurodestruktiven Mechanismen im Gehirn. Dieses Ungleichgewicht vermag während einer bestimmten Entwicklungsphase des Gehirns, in der physiologische Apoptose stattfindet, apoptotische Neurodegeneration fördern (Venters et al.; 2000).

In nachfolgenden Versuchen konnte die Vermutung bestätigt werden, dass verminderte Mengen der aktiven phosphorylierten Isoformen von ERK1/2 und AKT Neurodegeneration im sich entwickelnden Gehirn hervorrufen. Es konnte gezeigt werden, dass der Proteinkinaseinhibitor U0126, der in den mitogen-aktivierten Pfad eingreift, sowie der Phosphatidylinositol-3-kinase-Inhibitor Wortmannin ebenfalls über verminderte Konzentrationen der aktiven phosphorylierten Isoformen von ERK1/2 und AKT apoptotische Neurodegeneration hervorrufen. Diese beiden Substanzen erzeugten eine signifikante neurodegenerative Antwort z.B. im Septumgebiet und im Nucleus caudatus im Gehirn sieben Tage alter Ratten (Bittigau et al.; 2002; Han und Holtzman, 2000).

Beobachtungen an synRas-transgenen Mäusen, welche postnatal aktiviertes Ras in Neuronen überexprimieren und somit höhere Konzentrationen an phosphorylierter ERK1/2 aufweisen, unterstützen unsere Ergebnisse und unterstreichen den Zusammenhang zwischen verminderten Konzentrationen phosphorylierter ERK1/2 und Akt und der Pathogenese apoptotischer Neurodegeneration. So erwiesen sich synRas-transgene Mäuse weniger anfällig für proapoptotische Effekte verursacht durch NMDA-Antagonisten wie MK801, Phenobarbital sowie durch Hyperoxie (Felderhoff-Müser et al.; 2004, Heumann et al.; 2000; Dzierko et al.; 2004, Hansen et al.; 2004).

Obwohl sowohl der Phosphoinositol-3-Kinase Signalweg als auch der RAS/MEK/MAPK-Signalweg durch BDNF-Stimulation aktiviert werden können (Bonni et al.; 1999; Finkbeiner, 2000), scheint die Aktivierung des jeweiligen Weges abhängig von Stimulus und Zelltyp zu sein (Encinas et al.; 1999; Klöcker et al.; 2000). So zeigten Han und Holzman, dass im neonatalen Hypoxie/Ischämiemodell der Ratte, BDNF seine neuroprotektive Wirkung nur über den RAS/MEK/MAPK-Signalweg vermittelt (Han und Holzmann, 2000). Climent et al. beschreiben eine Stimulation beider Signaltransduktionswege durch BDNF im neonatalen Rattenmodell nach Alkoholexposition (Climent et al.; 2002). Wir konnten zeigen, dass bei der apoptotischen Neurodegeneration durch Phenobarbital beide Signalwege beeinträchtigt werden. Das Wissen um die beteiligten Signalkaskaden ist von großer Bedeutung für die Entwicklung neuroprotektiver Strategien, die in diese Kaskaden regulierend eingreifen.

4.3 Auch andere Antiepileptika verursachen den Verlust trophischer Unterstützung im unreifen Gehirn der Ratte und eine apoptotische Neurodegeneration

Neben Phenobarbital als Agonist am GABA-A-Rezeptor zeigt sich auch nach der Gabe weiterer etablierter antiepileptisch wirksamer Medikamenten eine ausgeprägte apoptotische Neurodegeneration im neugeborenen Rattengehirn.

Bei Phenytoin, einem Natriumkanalblocker, werden neurodegenerative Veränderungen ab einer Schwellendosis von 20 mg/kg KG sichtbar.

Als besonders toxisch im Tierversuch erwies sich Valproat. Es vermittelt seine proapoptotische Wirkung über zwei verschiedene Wirkmechanismen. Zum einen kommt es zu einer Aktivierung des GABA-A-Rezeptors durch eine Erhöhung der GABA-Konzentration, zum anderen hemmt Valproat spannungsabhängige Natriumkanäle. Die hierbei ermittelte Schwellendosis für das Auftreten neurodegenerativer Veränderungen war mit 50 mg/kg Valproat sogar um einiges niedriger als die Dosis (ED 50), die für das Eintreten der antikonvulsiven Wirkung in Tierversuchen an Nagetieren benötigt wird (Brodie und Dichter, 1996; Meldrum, 1996).

Phenytoin und Valproat bewirken ähnliche biochemische Veränderungen wie Phenobarbital. Auch bei diesen beiden Medikamenten konnte eine Verminderung neurotropher Faktoren und ihrer Effektorsignalproteine molekularbiologisch und biochemisch nachgewiesen werden (Bittigau et al.; 2002).

Diese drei Medikamente bewirken eine Hemmung des neuronalen Aktivitätszustandes, was in einer sensiblen Phase der Entwicklung zu einer ausgeprägten apoptotischen Neurodegeneration des unreifen Gehirns führen kann.

4.4 Die Kombination von Antiepileptika hat einen supraadditiven neurotoxischen Effekt

Die Kombination von Antiepileptika mit verschiedenen Wirkmechanismen führt zu ausgeprägten neurotoxischen Effekten. So kommt es bei der Verabreichung von primär nicht oder gering toxischen Dosierungen von 5 mg/kg Diazepam mit 20 mg/kg Phenobarbital oder 20 mg/kg Phenytoin zu einer ausgeprägten apoptotischen Neurodegeneration, wobei sich die Kombination von Diazepam und Phenobarbital als besonders toxisch erwies (Bittigau et al.; 2002).

Im klinischen Alltag sind derartige Kombinationen von mehreren Antiepileptika nichts Ungewöhnliches. Die experimentellen Daten unterstreichen jedoch das Ziel, Patienten einer antiepileptischen Monotherapie zu unterziehen, so es die Art der Anfälle erlaubt. Bei der Behandlung eines Status epilepticus gibt es Empfehlungen und Richtlinien, welche Medikamente in welcher Reihenfolge und in welchen Zeitabständen zu verabreichen sind. Diese Zeitangaben sollten eingehalten werden, um eine schädigende Polytherapie zu vermeiden.

4.5 Abhängigkeit des Ausmaßes der Schädigung von der erreichten Plasmakonzentration

In Voruntersuchungen testeten wir die Abhängigkeit des Ausmaßes der Schädigung von den erreichten Plasmakonzentrationen.

Plasmakonzentrationen von Phenobarbital zwischen 25 und 35 µl /ml über einen Zeitraum von mindestens 10 Stunden führen zu apoptotischer Neurodegeneration im neugeborenen Gehirn der Ratte.

Die Schwellendosis zur Auslösung einer apoptotischen Neurodegeneration bei Einmalgabe beträgt 40 mg/kg KG Phenobarbital. Diese Dosierungen befinden sich innerhalb des Bereiches der ED50-Dosierungen in verschiedenen Krampfmodellen bei Nagetieren.

Diese Ergebnisse sind insofern für den klinischen Alltag von Bedeutung, als dass solche Plasmakonzentrationen leicht bei der Behandlung von Krampfanfällen junger Kinder mit Phenobarbital erreicht werden, ebenso bei der Behandlung eines Status epilepticus, sowie bei antiepileptischer Dauertherapie.

4.6 Abhängigkeit der Neutrophinexpression von zirkadianer Rhythmik

Es konnte gezeigt werden, dass die Expression von BDNF mRNA in Dunkelperioden höher ist als in Zeiten längerer Lichteinwirkung (Bova et al; 1998). Lange Zeit war jedoch unklar, ob diese Schwankungen von der zirkadianen Rhythmik oder von anderen Faktoren abhängig sind. Cirelli und Tononi konnten nun an männlichen Wistar-Ratten nachweisen, dass die Expression von BDNF in verschiedenen Hirnregionen, auch im Hippocampus und im Thalamus weniger von der zirkadianen Rhythmik, als vielmehr vom Wachheitszustand des Gehirns abhängig ist (Cirelli und Tononi, 2000). Inwieweit dies auf unreife Gehirne neugeborener Ratten zu übertragen ist, ist unbekannt. Während der Versuche wurde der Wachheitszustand der Tiere

nicht berücksichtigt. Da sich bei den Versuchen keine signifikanten Unterschiede in der Expression neurotropher Faktoren innerhalb der einzelnen Tieren einer Zeitstufe zeigten, wohl aber zwischen den verschiedenen Zeitstufen, scheinen die unterschiedlichen Wachheitszustände der Tiere zum Zeitpunkt der Tötung keinen Einfluss auf die Expression neurotropher Faktoren gehabt zu haben.

4.7 Altersabhängigkeit der Phenobarbital-induzierten apoptotischen Neurodegeneration bei der Ratte und die vergleichbare Phase der Vulnerabilität beim Menschen

Die Neurotoxizität von Phenobarbital wird bei der Ratte nur in den ersten drei Lebenswochen beobachtet. Dieser Zeitraum entspricht der Periode des rapiden Hirnwachstums („brain growth spurt period“). Diese Phase ist gekennzeichnet durch eine erhöhte Hirnwachstumsgeschwindigkeit, Migration und Differenzierung von Neuronen sowie Synaptogenese. Zu diesem Zeitpunkt der Entwicklung gibt es eine vorübergehende Welle physiologischer apoptotischer Neurodegeneration, die ungefähr 1% der jeweiligen Neuronenpopulation umfaßt. Es wird vermutet, dass diese Neurone durch Apoptose zerstört werden, weil sie es nicht geschafft haben, entsprechende synaptische Verbindungen auszubilden. In dieser Entwicklungsphase physiologischerweise vorherrschender Apoptosevorgänge neigen Neurone dazu, Selbstmord zu begehen, wenn von außen kommende Kräfte mit dem Prozeß der Synaptogenese interferieren. Die Stimulation des GABA-A-Rezeptors durch Phenobarbital und die damit einhergehende Verstärkung der GABAergen Inhibition im ZNS bewirken eine abnorme Hemmung des neuronalen Aktivitätszustandes und demzufolge eine apoptotische Neurodegeneration. Das Ausmaß beläuft sich auf bis zu 30% der Neuronen in den betroffenen Hirnregionen (Ikonomidou et al.; 2000). Wenn nun mehrere Hirnregionen davon betroffen sind, führt dies zu einem merklichen Substanzverlust an Hirnmasse (Bittigau et al.; 1998).

Die vergleichbare Phase des Hirnwachstums beim Menschen beginnt in der 25.-26. Schwangerschaftswoche und erstreckt sich bis einige Jahre nach der Geburt (Dobbing und Sands, 1979). Falls sich die Annahme bestätigen sollte, dass Phenobarbital auch im menschlichen Gehirn über den Mechanismus der Apoptose neurotoxisch wirkt, ist diese Wirkung im letzten Trimenon der Schwangerschaft und in den ersten zwei Lebensjahren zu erwarten. Zur Zeit gibt es keine Hinweise aus tierexperimentellen Arbeiten am Säugerhirn, dass

auch im adulten Hirn neurotoxische Zellschäden über den Weg der Apoptoseinduktion zu erwarten sind. Wir vermuten also, dass diese tierexperimentellen Ergebnisse für Kinder, die älter sind als drei Jahre, keine klinische Relevanz mehr besitzen.

4.8 Effekte, die Phenobarbital und andere GABA-A- Rezeptorantagonisten auf das adulte Säugerhirn ausüben

Bisher konnte in Studien oder tierexperimentellen Versuchen kein Zusammenhang zwischen Phenobarbital oder anderen Agonisten, die am GABA-A-Rezeptor wirken und apoptotischem Zelltod im adulten Gehirn hergestellt werden. Des weiteren sind Studien an adulten männlichen Ratten durchgeführt worden, die gezeigt haben, dass Phenobarbital in antikonvulsiven Dosen keinen negativen Einfluß auf Lern- und Gedächtnisfunktion der Ratten hat (Sudha et al.; 1996). Interessanterweise werden GABA-A-Rezeptorantagonisten im erwachsenen Gehirn sogar neuroprotektive Fähigkeiten zugeschrieben, ganz im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen am neugeborenen Rattengehirn. So konnte gezeigt werden, dass die simultane Gabe von Medikamenten, die GABA-A-Rezeptoren aktivieren (Benzodiazepine und Barbiturate) die exzitotoxische neurotoxische Wirkung von NMDA-Antagonisten im erwachsenen Gehirn blockieren kann (Olney et al.; 1991). Im Neugeborenenhirn hingegen bewirkt die simultane Gabe von NMDA-Antagonisten und GABA-A-Mimetika eine additive apoptotische neurodegenerative Antwort (Ikonomidou et al.; 2000).

Diese unterschiedlichen Vorgänge im unreifen und reifen Gehirn haben vor allem große Bedeutung gewonnen bei der Pathogenese neurologischer Defizite im Rahmen des fetalen Alkohol Syndroms (FAS). Die ausgedehnte alkoholvermittelte Neurodegeneration im unreifen Gehirn ist dadurch zu erklären, dass Ethanol sowohl NMDA-antagonistische als auch GABA-mimetische Eigenschaften besitzt. Die oben dargestellte additive apoptotische neurodegenerative Antwort dieser beiden Wirkmechanismen im unreifen Gehirn ist eine wichtige Ursache für die Schäden, die Alkohol im unreifen Gehirn verursacht (Ikonomidou et al.; 2000).

4.9 Hinweise für toxische Nebenwirkungen von Phenobarbital und weiterer Antiepileptika im unreifen menschlichen Gehirn

Ob Phenobarbital das unreife menschliche Gehirn durch das Auslösen neuronaler Apoptose

schädigen kann, bleibt noch zu klären. Der dafür direkte Nachweis stattgefundener Apoptose menschlicher Neurone ist nicht erbracht. Dass dieses Phänomen jedoch auch für den Menschen von großer Relevanz ist, dafür sprechen viele Beispiele aus der klinischen Erfahrung. Es gibt eine Anzahl von klinischen Studien, in welchen die Neurotoxizität von Phenobarbital beschrieben wurde. Zum einen handelt es sich um Kinder, die in utero mit Phenobarbital in Kontakt kamen, zum anderen um Kinder, die aufgrund von Fieberkrämpfen einer Therapie mit Phenobarbital unterzogen wurden.

Reinisch et al. führten zwei Fall-Kontroll-Studien an 114 Männern durch, die während der Schwangerschaft durch die antihypertensive Behandlung der Mutter mit Phenobarbital, in utero exponiert wurden. Bei der Evaluation im jungen Erwachsenenalter zeigte sich, dass die pränatale Phenobarbitalexposition im Vergleich zur Kontrollgruppe bei der Beurteilung der verbalen Intelligenz zu signifikant niedrigeren Punkte-Scores führt (Reinisch et al.; 1995).

Dessens und Kollegen führten eine retrospektive Studie durch, die den Einfluß einer pränatalen Phenobarbital- und Phenytoingabe auf die Hirnentwicklung und die kognitive Funktion im Erwachsenenalter aufzeigt. Dabei stellte sich heraus, dass die Phenobarbital und Phenytoin exponierten Neugeborenen einen signifikant kleineren occipito-frontalen Kopfumfang (OFC) hatten als die Neugeborenen in der Kontrollgruppe. Der kleine OFC scheint im Erwachsenenalter keinen Einfluß auf die kognitiven Funktionen zu haben, jedoch wiesen die Exponierten öfter Lernprobleme und mentale Retardierung auf als die Kontrollgruppe (Dessens et al.; 2000). Diese Studien verdeutlichen, dass pränatale Phenobarbitalexposition zu einer Beeinträchtigung der kognitiven Fähigkeiten führt, die bis in das Erwachsenenalter hineinreicht.

Kleinkinder mit Fieberkrämpfen im Alter zwischen 8-36 Monaten, die einer Behandlung mit Phenobarbital oder Placebo unterzogen wurden, wurden in einer Studie von Farwell et al. untersucht. Nach zwei Jahren Behandlung war der IQ der mit Phenobarbital behandelten Kinder um 7.03 Punkte niedriger als der IQ in der Placebo Gruppe. Sechs Monate später nach Beendigung der Therapie lag der mittlere IQ der Phenobarbitalgruppe immer noch 5.2 Punkte niedriger (Farwell et al.; 1990). Einige der Kinder wurden, nachdem sie die erste Klasse beendet hatten, in einer zweiten Studie erneut untersucht. Dabei schnitten die Kinder aus der Phenobarbitalgruppe im Wide Range Achievement Test (WRAT-R) mit niedrigeren Scores ab als die Kinder der Kontrollgruppe. Die Unterschiede waren jedoch nicht mehr so gravierend, wie nach Beendigung der Therapie im Kleinkindesalter (Sulzbacher et al.; 1999).

Es ist anzunehmen, dass bei Kindern mit Fieberkrämpfen eine Auswirkung der

Grunderkrankung auf den Intellekt unwahrscheinlich ist. Die Ergebnisse aus diesen beiden Studien belegen, dass die Behandlung mit Phenobarbital im Säuglings- und Kleinkindesalter bleibende negative Auswirkungen auf die kognitive Entwicklung des Kindes haben kann. Die Vermutung liegt nahe, dass die neurotoxische Komponente von Phenobarbital ursächlich für die bleibenden Defizite bei der intellektuellen Entwicklung der Kinder ist.

4.10 Andere Mechanismen, die für die neurologischen Defizite verantwortlich sein können

Es bleibt offen, ob nicht auch andere Schadensmechanismen, außer einer apoptotischen Neurodegeneration, mitverantwortlich für die neurologischen Defizite sind, die nach prä- und postnataler Phenobarbitalexposition beobachtet werden.

Ein möglicher, naheliegender Mechanismus ist, dass neuronale Vorläuferzellen in ihrer Wanderung und Proliferation beeinträchtigt oder gehemmt werden. Die endogen produzierten Neurotrophine BDNF und NT-3 sind für das Überleben neuronaler Vorläuferzellen unentbehrlich. Sie vermitteln überlebenswichtige Signale über den PI3-Kinase- und über den MAP-Kinase-Pfad. Eine Inhibition der endogenen Expression von Neurotrophinen führt zu einer verminderten Proliferation von Vorläuferzellen und zu einer Hemmung der Neurogenese (Barnabe-Heider und Miller, 2003).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Phenobarbital die Expression der neurotrophen Faktoren BDNF und NT-3 im Thalamus sieben Tage alter Ratten signifikant vermindert. Durch eine verminderte Expression neurotropher Faktoren und dem daraus resultierenden Verlust trophischer Unterstützung könnte Phenobarbital das Überleben neuronaler Vorläuferzellen beeinträchtigen und somit den komplexen Prozeß der Differenzierung und Proliferation empfindlich stören.

Ausgehend von den Mechanismen, die bei hypoxisch-ischämischem Insult mitverantwortlich sind für apoptotischen Zelluntergang im unreifen Gehirn, bleibt die Rolle des proapoptotischen Zelloberflächenrezeptors Fas zu klären. Es konnte gezeigt werden, dass Fas in vivo und in vitro auf neuronalen Zellen exprimiert wird. Sowohl im Tiermodell der zerebralen Hypoxie-Ischämie der Ratte wie auch bei der hypoxisch-ischämischen Enzephalopathie (HIE) des Neugeborenen wird Fas hochreguliert und induziert somit verstärkt Apoptose (Felderhoff-Mueser et al.; 2000). Im Einklang mit den Ergebnissen der Studie am Hypoxiemodell konnte auch am Traumamodell der infantilen Ratte eine Hochregulation des proapoptotischen Fasrezeptors nachgewiesen

werden (Felderhoff-Mueser et al; 2002). Neben der Aktivierung des extrinsischen apoptotischen Systems gibt es bei der Pathogenese apoptotischer Neurodegeneration nach Hirntrauma auch Anzeichen für eine Beteiligung des intrinsischen apoptotischen Schenkels (Bittigau et al.; 2004). Hinweise für eine derartige Verzahnung extrinsischer und intrinsischer Apoptosemechanismen nach Phenobarbitalexposition im unreifen Gehirn gibt es nicht. Es ist bekannt, dass die Ausschüttung von Neurotrophinen und ihre Wirkung auf sich entwickelnde Neurone durch das Maß an neuronaler Aktivität geregelt wird (Liou et al.; 1997). Nach Phenobarbital ist der Aktivitätszustand des Gehirns vermindert, was eine Beeinträchtigung neurotrophin-abhängiger Überlebenssignale zur Folge hat und somit zu einer Aktivierung des intrinsischen apoptotischen Systems führt.

4.11 Neugeborenenkrämpfe - Aus Mangel an Alternativen ist Phenobarbital immer noch das Mittel der ersten Wahl

Für ein Kind, das in der Neugeborenenperiode einen Krampfanfall erleidet, bedeutet dies nicht zwangsläufig, dass es in seiner kognitiven Entwicklung beeinträchtigt sein wird. Am Rattenmodell konnte jedoch gezeigt werden, dass mehrere kurze neonatale Anfälle prädisponierend für Verhaltensauffälligkeiten sowie Lern- und Gedächtnisprobleme sind (Holmes und Gairsa; 1998). Im Gegensatz zu erwachsenen Tieren wurde bei neugeborenen Ratten nach einer Serie von mehreren Krämpfen ein signifikanter Rückgang der Neurogenese beobachtet, was eine gestörte neuronale Struktur, Funktion und Verbindung zur Folge hat (McCabe et al.; 2001). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass wiederholte Krämpfe im Neugeborenenalter das Gehirn für epileptische Anfälle im Erwachsenenalter prädisponieren und es für Schäden, die durch weitere Anfälle verursacht werden empfindlicher machen. Durch Energiedefizit und Neurotransmitterexzess drohen Hirnschäden, insbesondere bei lang andauernden und wiederkehrenden Anfällen (Rennie und Boylan, 2003; Yager et al.; 2002).

Diese Ergebnisse verdeutlichen die Notwendigkeit der Therapie von Neugeborenenkrämpfen.

Phenobarbital ist noch immer das Mittel der ersten Wahl der antiepileptischen Akuttherapie bei Neugeborenen. Nur ungefähr ein Drittel bis die Hälfte der behandelten Säuglinge sprechen auf die Therapie mit Phenobarbital an und es kommt zu einem Sistieren der Krämpfe (Rennie und Boylan, 2003).

Die Ergebnisse hinsichtlich der neurotoxischen Wirkung von Phenobarbital im unreifen Gehirn bei pränataler Exposition und die negativen Auswirkungen auf die kognitive Entwicklung bei

Kindern mit Fieberkrämpfen lassen die gängigen Therapieregimes in einem anderen Licht erscheinen. Zwar sind die Aussagen über eine potentielle Neurotoxizität von Phenobarbital bei postnataler Exposition durch das gleichzeitige Vorkommen einer Epilepsie und deren Ursachen kompliziert. Auch die Aussage darüber, ob kognitive Leistungsschwächen behandelter Säuglinge nun der Epilepsie, deren Ursachen oder der antiepileptischen Therapie zuzuschreiben sind, ist enorm erschwert. Jedoch verdeutlichen sowohl die hier veröffentlichten Ergebnisse aus dem Tierversuch als auch die Studien, die darlegen, welche Auswirkungen Phenobarbital auf das sich entwickelnde Gehirn hat, dass uns für die Therapie der Epilepsien bei Säuglingen und Kleinkindern keine optimalen Antiepileptika zur Verfügung stehen. Die Entwicklung neuer antikonvulsiver Medikamente ist bis jetzt leider nicht auf die Behandlung von Neugeborenenkrämpfen ausgerichtet, obwohl Anfallsleiden oft im Laufe des ersten Lebensjahres beginnen. Auf diesem Gebiet ist verstärkt klinische Forschung gefragt, um Neugeborenen mit Krampfanfällen gefahrlose Therapiemöglichkeiten anbieten zu können.

4.12 Topiramat - eine Alternative?

Topiramat ist ein strukturell neues Antiepileptikum, das Ende der 90er Jahre für die Behandlung von partiellen und primär generalisierten Epilepsien und das Lennox-Gastaut-Syndrom bei Kindern ab zwei Jahren zugelassen wurde. In klinischen Studien wurde Topiramat eine breite Wirksamkeit in verschiedenen Altersklassen bestätigt. Des weiteren zeigt es gute Ergebnisse bei der Behandlung von Kindern, die an infantilen Spasmen leiden. Erfahrungen bei der Behandlung von Säuglingen mit Neugeborenenkrämpfen fehlen bis jetzt noch.

Topiramat ist über mehrere Mechanismen antiepileptisch wirksam. Die Wirkmechanismen reichen von einer Blockade des exzitatorischen AMPA-Rezeptors, über die Hemmung spannungsabhängiger Natriumkanäle bis zu einer Verstärkung der GABAergen Transmission am GABA-A-Rezeptor.

Neueste Ergebnisse zeigen, dass auch Topiramat apoptotische Neurodegeneration im neugeborenen Rattenhirn hervorruft, allerdings erst ab einer Schwellendosis, die weit über der antikonvulsiv wirksamen Dosis liegt (Glier et al.; 2004). Ein Antiepileptikum zu finden, welches keinerlei neurotoxische Nebeneffekte aufweist, erscheint sehr unwahrscheinlich, da als gemeinsamer Nenner aller antiepileptisch wirksamen Substanzen die Hemmung des neuronalen Aktivitätszustandes zu Grunde liegt. Nichts desto trotz gibt es mit Topiramat ein potentes Mittel, bei dem Wirkung und neurotoxische Nebenwirkung in einem angemessenen Verhältnis

zueinander zu stehen scheinen, was gerade bei der Behandlung sehr junger pädiatrischer Patienten von enormer Bedeutung ist.

Auswirkungen einer chronischen Topiramatherapie auf das sich entwickelnde Gehirn und die Bedeutung für die kognitive Entwicklung des menschlichen Gehirns müssen noch untersucht werden. Ermutigende Ergebnisse demonstrieren Cha et al., die zeigen konnten, dass eine chronische Behandlung mit Topiramat nach einem Status epilepticus, die kognitiven Funktionen von jungen Ratten positiv beeinflusst (Cha et al.; 2002).

Diese Ergebnisse schaffen die Grundlage für weitere dringend benötigte Untersuchungen, die helfen sollen, Topiramat mit in die erste Reihe der Medikamente bei der Therapie epileptischer Anfälle von Säuglingen, Kleinkinder und Heranwachsenden zu stellen.

4.13 Prävention neurotoxischer Nebenwirkungen

Solange es noch keine besseren und nebenwirkungsärmeren Medikamente für die antikonvulsive Therapie von Säuglingen und Kleinkindern gibt, steht die Prävention neurotoxischer Nebenwirkungen im unreifen Gehirn an erster Stelle.

In der Klinik sind bereits Empfehlungen formuliert worden, die durch die experimentellen Daten noch bekräftigt werden.

Zum einen sollte als oberstes Ziel eine antiepileptische Monotherapie angestrebt werden. Insbesondere gilt es, eine Kombination von Antiepileptika zu vermeiden, die beide am GABA-A-Rezeptor wirken (Benzodiazepine und Barbiturate). Des weiteren ist es wichtig, die Plasmaspiegel der Antikonvulsiva möglichst niedrig im therapeutischen Bereich zu halten.

Die antiepileptische Therapie sollte so schnell wie möglich beendet werden, wobei vor allem in den ersten zwei Lebensjahren die Indikation für eine langfristige antikonvulsive Pharmakotherapie besonders streng gestellt werden sollte.

4.14 Östrogene - eine erfolgversprechende Möglichkeit der adjuvanten neuroprotektiven Therapie

Neben der Entwicklung neuer Medikamente für die antiepileptische Therapie Schwangerer, Säuglinge und kleiner Kinder steht die Suche nach adjuvanten neuroprotektiven Therapien im Vordergrund.

Das neuroprotektive Potential von Östrogenen hat in den letzten Jahren zunehmend Aufmerksamkeit gewonnen. Östrogen-Rezeptoren werden von Nervenzellen in zahlreichen Regionen des Gehirns wie dem Hypothalamus, der Area praeoptica, dem fronto-basalen Kortex, dem Hippocampus und der Amygdala exprimiert. Ihre Rolle bei der strukturellen und funktionellen Organisation des Nervensystems in den letzten Jahren wurde eingehend untersucht und man stieß auf eine Reihe von wechselseitigen Abhängigkeiten von Östrogenen mit Neurotrophinen und deren Rezeptoren (Singh et al.; 1999). Die neuroprotektiven Eigenschaften von Östrogen beruhen auf einer Aktivierung von Östrogen-Rezeptoren und der Interaktion von Östrogen mit intrazellulären Signalprozessen, die durch Neurotrophine aktiviert werden, wie zum Beispiel dem PI3-Kinase- und der MEK/MAP-Kinase-Pfad (Wlaz et al.; 1992). Da Phenobarbital neurotrophin-aktivierte-Signaltransduktionskaskaden beeinträchtigt, untersuchten Asimiadou et al., ob β -Östradiol durch Stimulation derselben Wege, der Phenobarbital induzierten apoptotischen Neurodegeneration entgegenwirken kann. Dabei zeigte sich, dass 17- β -Östradiol die durch Phenobarbital verursachte Neurotoxizität im Gehirn sieben Tage alter Ratten vermindert und zu höheren Konzentrationen phosphorylierter ERK1/2 und Akt führt (Asimiadou et al.; 2005).

Diese Ergebnisse sind sehr ermutigend. Gerade für Frühgeborene, die sich in der Periode des rapiden Hirnwachstums befinden, sind diese Ergebnisse von großer Bedeutung. Im Falle einer notwendigen Phenobarbitaltherapie entziehen sie sich durch ihre Frühgeburtlichkeit den schützenden mütterlichen Östrogenspiegeln. Für sie besteht also ein hohes Risiko für Phenobarbital vermittelte Neurotoxizität. In einigen Zentren wurde bereits eine β -Östradiolersatztherapie bei Frühgeborenen mit dem Ziel der besseren Knochenmineralisation eingeführt (Trotter und Pohlandt, 2000), wobei keine Nebenwirkungen beobachtet wurden. 15 Monate nach Durchführung der Studie wurden die Kinder noch einmal nachuntersucht, und es konnte bei den Frühgeborenen, die mit Östrogenen behandelt wurden eine normale psychomotorische Entwicklung beobachtet werden.

Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass die Aufrechterhaltung der in utero herrschenden Plasmaöstrogenspiegel eine möglicherweise effektive Maßnahme darstellt, Frühgeborene vor Antiepileptika induzierter Neurotoxizität zu schützen.