

Stressbedingte Veränderungen im glutamatergen System des limbischen Gehirns – eine präklinische *in vivo* MR-spektroskopische Studie bei 7 Tesla

Schubert MI^{1,3}, Spicer C², Latif L², Beckett S^{1,2}, Marsden CA², Kendall D², Auer DP³

¹Abteilung für diagnostische und interventionelle Neuroradiologie, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, ²School of Life Sciences, University of Nottingham, UK, ³Division of Clinical Neuroscience, University of Nottingham, UK.

Einführung

- Zunehmend mehr Studien mit depressiven Patienten bzw. mit Tiermodellen weisen darauf hin, dass das glutamaterge System an der Vermittlung Stress- und/oder erhöhter Glukokortikoidspiegel-induzierter neurotoxischer Effekte im limbischen System, insbesondere im Hippokampus (HC)^{1,2} und im präfrontalen Cortex (PFC)³, beteiligt ist.
- Unter Verwendung der *in vivo* Protonenspektroskopie und immunchemischer Verfahren wurde in dieser Studie zum einen die Effekte einer chronischen Gabe von hochdosierten Glukokortikoiden auf das glutamaterge System des limbischen Rattengehirns untersucht, und zum anderen der Frage nachgegangen, ob diese Effekte durch eine alterierte Aktivität der Glutaminsynthetase (GS)⁴ vermittelt werden.

Methoden

- Adulte, männliche Ratten erhielten über 5-8 Wochen Corticosteron im Trinkwasser (CORT; n=18; 400 µg/ml) oder Trinkwasser alleine (VEH; n=16), anschließend eine *in vivo* Protonenspektroskopie (7T, PRESS, TR/TE=5000/8 ms, NA=256, 12 bzw. 8 mm³) des präfrontalen Cortex (PFC; Abb. 1), des rechten (RHC) und linken Hippokampus (LHC; Abb. 1).
- Die Metabolitenkonzentrationen wurden mit LCModel (CRLB≤20; Abb. 2) bestimmt und in Relation zur Summe aller bestimmten Metaboliten (ml, NAA, tCr, tCho, Glu, Gln) gesetzt.
- In einer Subgruppe (CORT n=8; VEH n=8) wurden die GS-Konzentrationen in PFC und HC mittels Westernblot (Abb. 3) untersucht.
- In Abhängigkeit von der Normalverteilung der Daten wurde der einfache ANOVA oder der zweiseitige Mann-Whitney U Test (MWU) verwendet, um auf statistisch signifikante Gruppenunterschiede zu untersuchen. Der Signifikanzlevel wurde auf p<0,05 gesetzt.

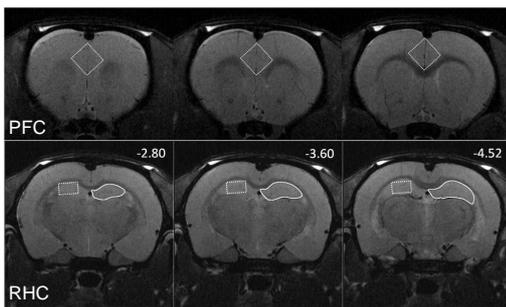


Abb. 1. Repräsentative Position des spektroskopischen Voxels (weisse punktierte Linie) im PFC (2 x 2 x 2 mm³; ca. 3,2 to 1,6 mm vom Bregma), unter Einschluss von Anteilen des anterioren cingulären Cortex (Cg1, Cg2), des prälimbischen (PrL) und infralimbischen (IL) Cortex, und im rechten anterioren Hippokampus (RHC; 3 x 2 x 2 mm³; ca. -2,80 bis -4,80 vom Bregma). Die Zahlen geben die ungefähre Distanz vom Bregma in mm, dem Rattengehirnatlas von Paxinos und Watson⁵ entsprechend, an.

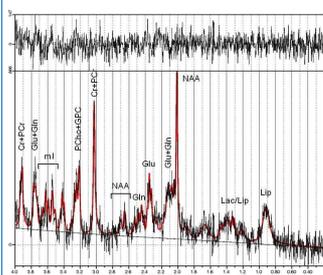


Abb. 2. Repräsentatives *in vivo* single-voxel, short-TE 7T Protonenspektrum des linken Hippokampus (12 mm³ voxel) einer VEH-Ratte, analysiert mit LCModel (LCModel fit rot markiert). Cr, Kreatin; Gln, Glutamin; GPC, Glycerophosphocholin; Glu, Glutamat; Lac, Laktat; Lip, Lipide und Makromoleküle; ml, *myo*-Inositol; NAA, *N*-Acetylaspartat, PCho, Phosphocholin; PCr, Phosphokreatin.



Abb. 3. Repräsentativer Westernblot der Glutaminsynthetase (GS; 45 kDa) im präfrontalen Cortex, rechten und linken Hippokampus in CORT- und VEH-behandelten Ratten. c, cytoplasmatische Fraktion; n, nukleäre Fraktion; MWt, molekularer Gewichtsmarker.

Ergebnisse

- Die chronische Gabe von CORT führte zu reduziertem Glutamin (Gln) im HC (RHC p=0,004; LHC p=0,002; MWU), zu reduziertem Gln (F(1,24)=4,707, p=0,040; ANOVA) und zu erhöhtem Glutamat (Glu) im PFC (F(1,24)=4,560, p=0,043; ANOVA; Abb. 4 und 5a) sowie zu erhöhtem Glu/Gln im HC (LHC p=0,004; RHC p=0,029; MWU) und PFC (F(1,24)=6,780, p=0,016; ANOVA; Abb. 5b).
- Es gab keinen Gruppenunterschied in der GS (Abb. 6).

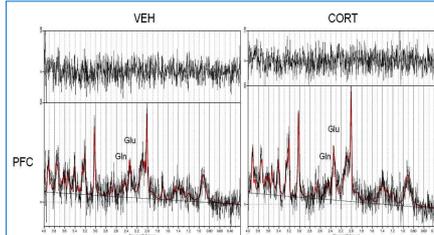


Abb. 4. Repräsentative Spektren des PFC in einer Vehikel (VEH) und einer Corticosteron (CORT) behandelten Ratte. Bitte beachten Sie den erhöhten Glutamatpeak (Glu) und reduzierten Glutaminpeak (Gln) im PFC der CORT im Vergleich zur VEH Ratte.

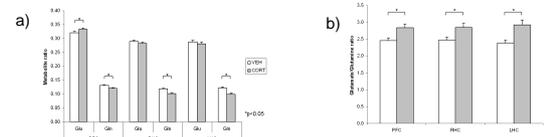


Abb. 5. (a) Metabolitenkonzentrationen von Glutamat (Glu) und Glutamin (Gln) bzw. (b) Glutamat/Glutamin-Verhältnis (Glu/Gln) im PFC, RHC und LHC in CORT- vs. VEH-behandelten Ratten. Die chronische Gabe von CORT führte (a) zu reduziertem Glutamin im RHC, LHC und PFC, zu erhöhtem Glutamat im PFC, sowie (b) zu einem erhöhten Glutamat/Glutamin-Verhältnis im RHC, LHC und PFC. Mittelwerte±SEM. *p<0,05. PFC: CORT, n=15; VEH, n=11; RHC: CORT, n=17; VEH, n=13; LHC: CORT, n=16; VEH, n=12.

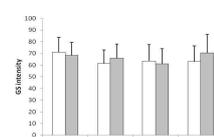
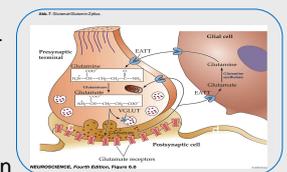


Abb. 6. Die chronische Gabe von CORT veränderte nicht die Aktivität der Glutaminsynthetase (GS) im PFC, RHC oder LHC der CORT- versus VEH-behandelten Ratten (CORT, n=8; VEH, n=8). Mittelwert±SEM, ANOVA.

Diskussion/Schlussfolgerungen

- Unsere Ergebnisse stützen die Hypothese, dass Alterationen des glutamatergen Systems die chronischen Stress-Effekte im limbischen Gehirn vermitteln.
- Die unveränderte Glutaminsynthetase-Aktivität deutet darauf hin, dass eine Dysfunktion und/oder ein Mangel an Glutamat-Transportern^{6,7} oder eine vermehrte Aktivität der Glutaminase (Abb. 7) zum Glukokortikoid-induzierten Ungleichgewicht des glutamatergen Systems führt.



Literatur

- ¹McEwen and Magarinos. AnnNYAcadSci1997;821:271-84. ²Sapolsky. BiolPsychiatry2000;48:755-65. ³Moghaddam. JNeurochem1993;60:1650-7. ⁴Bernstein et al. JChemNeuroanat2014;61-62:33-50. ⁵Paxinos and Watson, Academic Press, 1998. ⁶Suchak et al. JNeurochem2003;84:522-32. ⁷Zink et al. Neuropharmacology 2010;58:465-73.