

JOURNAL FÜR MENOPAUSE

DIAZ BRINTON R, CHEN S

Konjugierte Östrogene: werden Integrität und Funktion neuronaler Zellen erhalten?

Journal für Menopause 2001; 8 (Sonderheft 1) (Ausgabe für Schweiz), 16-23

Journal für Menopause 2000; 7 (Sonderheft 1) (Ausgabe für Deutschland), 16-24

Homepage:

www.kup.at/menopause

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR DIAGNOSTISCHE, THERAPEUTISCHE UND PROPHYLAKTISCHE ASPEKTE IM KLIMAKTERIUM

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



KONJUGIERTE ÖSTROGENE: WERDEN INTEGRITÄT UND FUNKTION NEURONALER ZELLEN ERHALTEN?

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel: In der vorliegenden Studie wurde die neurotrophe und neuroprotektive Wirkung der komplexen Zusammensetzung der konjugierten equinen Östrogene (CEE) untersucht, die am häufigsten verschriebene Östrogenersatztherapie in den USA und die Östrogensubstitutionstherapie der ‚Women’s Health Initiative‘.

Methoden: Durchführung video-mikroskopischer, morphologischer und biochemischer Analysen an Primärkulturen von Neuronen aus dem Hippokampus zur Ermittlung der neurotrophen und neuroprotektiven Eigenschaften von CEE.

Ergebnisse: Die Ergebnisse erbrachten den Nachweis, daß CEE den hippokampalen Neuronen auswuchs, einen zellulären Marker der Gedächtnisbildung, steigern. Dosis-Wirkungsanalysen deuten darauf hin, daß die niedrigste noch wirksame CEE-Konzentration die maximale neurotrophe Wirkung ausübt. Ergebnisse von Neuroprotektionsstudien zeigen, daß CEE eine hochsignifikante Neuroprotektion gegen β -Amyloid₂₅₋₃₅-, wasserstoffperoxid- und glutamat-induzierte Toxizität auslösten.

Schlußfolgerungen: CEE induzierten zelluläre Marker der Gedächtnisfunktion in Neuronen, die für das Gedächtnis wichtig und negativen Effekten des Alterns und der Alzheimerschen Krankheit ausgesetzt sind. Außerdem vermochten CEE Neuronen signifikant und potent gegen die mit Morbus Alzheimer einhergehenden toxi-

schen Insulte zu schützen. Da CEE die Östrogenersatztherapie der ‚Women’s Health Initiative‘ sind, könnten die Ergebnisse der vorliegenden Studie die zellulären Mechanismen für die Effekte von CEE auf die kognitive Funktion und das Risiko für die Alzheimer-sche Krankheit aufdecken, die sich aus dieser prospektiven klinischen Studie ableiten lassen.

EINLEITUNG

Die vorteilhaften Wirkungen der Östrogenersatztherapie (ERT) auf die kurz- und langfristigen Folgen des mit der Menopause einhergehenden Östrogendefizits sind gut dokumentiert. Die Östrogenersatztherapie ist wirksam bei der Verhütung von Hitzewallungen, Osteoporose und potentiell bei primären kardiovaskulären Erkrankungen [1]. Außerdem gibt es Hinweise darauf, daß die kognitive Funktion nach Östrogenverlust infolge natürlich, chemisch oder chirurgisch ausgelöster Menopause nachteilig beeinflusst werden kann. Die mit einem Östrogenverlust zusammenhängenden Gedächtnisstörungen lassen sich mit Östrogenersatz umkehren und wieder auf den Stand der prämenopausalen Leistungsfähigkeit bringen [2–5]. Zusätzlich zu diesen kontrollierten Laborstudien an Frauen deuten epidemiologische Daten von retrospektiven und Fallkontroll-Studien darauf hin, daß Frauen, die zu irgendeinem Zeitpunkt eine ERT angewendet haben, ein vermindertes Risiko aufwiesen, an Morbus Alzheimer zu erkranken [6–9].

Obgleich der epidemiologische Hinweis ermutigend ist, daß die

CEE bei der Reduktion des Risikos, an Morbus Alzheimer zu erkranken, vorteilhaft wirken, sind zur Dokumentation eines eindeutigen Vorteils prospektive, placebokontrollierte, randomisierte Studien notwendig. Eine prospektive Studie dieser Art läuft zur Zeit. In einem Arm der ‚Women’s Health Initiative‘ der National Institutes of Health (NIH), einer großangelegten (Teilnahme von über 8.000 Frauen), langzeitigen (Verlaufskontrolle über mindestens 6 Jahre) Studie, wird die Rolle CEE sowohl auf das Einsetzen der Symptome als auch auf die Progression von Morbus Alzheimer untersucht [10].

CEE sind die in den USA am häufigsten verschriebene Östrogenersatztherapie [11], daher basiert der Großteil der Hinweise auf günstige Effekte bei der Reduktion des Alzheimer-Risikos auf dieser Substanz. Bei CEE, die unter dem Handelsnamen Premarin® angeboten werden, handelt es sich um ein natürliches Ausgangsprodukt, das sich aus einer komplexen Mischung zusammensetzt, die aus Östrogenen, Gestagenen, Androgenen und einem großen Anteil nicht näher charakterisierter Moleküle besteht [1,12].

In der vorliegenden Studie haben wir versucht, die Auswirkung dieser komplex zusammengesetzten ERT auf die mit der Gedächtnisfunktion und dem Überleben von Neuronen assoziierten neuronalen Merkmale zu ermitteln. Die Ergebnisse dieser Analysen deuten darauf hin, daß CEE für die an der kognitiven Funktion beteiligten

* In Deutschland als Presomen® und Climopax® verfügbar.

Neuronenpopulationen neurotroph sind. Die erfaßten Daten zeigen zudem auch, daß CEE eine hochsignifikante neuroprotektive Wirkung gegen toxische Insulte ausüben, von denen bekannt ist, daß sie bei der Alzheimerschen Krankheit auftreten und die sich auch im alternden Gehirn nachweisen lassen.

MATERIAL UND METHODEN

Neuronenkultur

Primärkulturen von dissoziierten, aus dem Hippokampus stammenden Neuronen wurden wie von Brinton [13] beschrieben angelegt. CEE wurden in lyophilisierter Form von der USC Health Science Pharmacy in 5 ml-Ampullen Premarin mit 25 mg östrogenen Anteilen, 200 mg Laktose, 12,5 mg Natriumcitrat und 0,2 mg Simethicon, gelöst in sterilem H_2O_2 , erworben. Die inerten Bestandteile, 200 mg Laktose, 12,5 mg Natriumcitrat und 0,2 mg Simethicon, wurden von den Wyeth-Ayerst Laboratorien bezogen.

Morphologische Analyse

An polylysinbeschichteten Deckgläsern haftende Nervenzellen wurden aus der Kuturschale entfernt und rasch in einer Registrierkammer fixiert. Die Registrierkammerparameter, die morphologischen Kriterien des Verfahrens und der videomikroskopische Aufbau sind in Brinton et al. [13], beschrieben.

Neuroprotektionsanalysen

Für die Analysen des Überlebens von Neuronen wurden zwischen

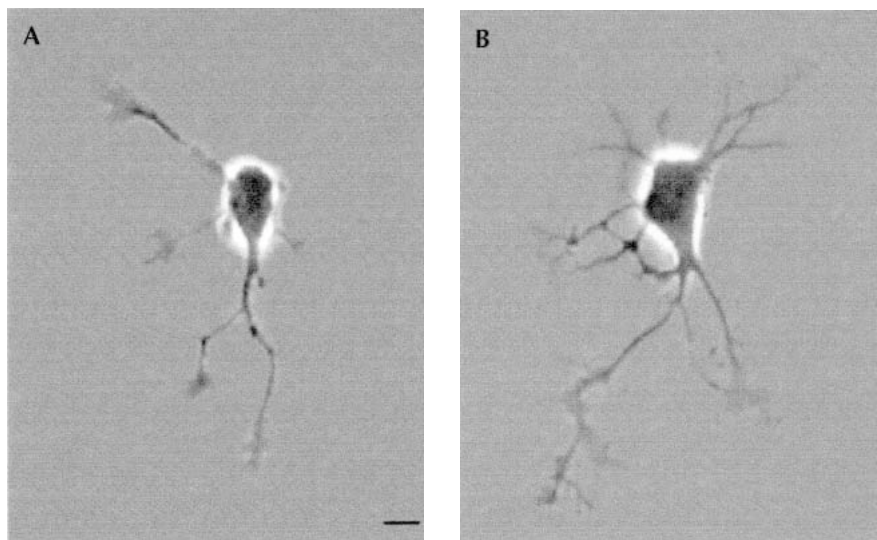
40.000 und 60.000 Zellen auf Deckgläser mit Poly-D-Lysin-Beschichtung und einer Gittergröße von circa $600 \mu m^2$ geimpft, die sich aus jeweils 520 alphanumerischen Gittern zusammensetzen. Hippokampale Neuronenkulturen wurden drei Toxinen ausgesetzt: Der toxischen Komponente der β -Amyloid-Plaques, β -Amyloid₂₅₋₃₅ ($A\beta_{25-35}$), dem Generator freier Radikale, Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und dem Exzitotoxin Glutamat (0,2 mM). Nähere Einzelheiten zur Toxinexposition werden in Brinton et al. [13] beschrieben. Die Kriterien für das Überleben von Neuronen, Beschreibungen der biochemischen LDH- und ATP-Assays sind ebenfalls in Brinton et al. [13] einzusehen.

ERGEBNISSE

Neurotrophe Wirkungen von CEE und Zellselektivität

In hippokampalen Neuronen steigerten CEE signifikant den Neuronenauswuchs in Pikogramm-Mengen (Abb. 1, 2). Für ein einzelnes Experiment wurden 540 Neuronen individuell analysiert. Die nach Abschluß von drei Wiederholungen der Dosis-Wirkungsanalyse untersuchte Neuronenzahl betrug insgesamt 1.620. In Abbildung 1 werden ein Kontrollneuron und ein mit CEE behandeltes Neuron gezeigt. Das mit CEE behandelte Neuron wies im Vergleich zum unbehandelten

Abbildung 1: Photomikroskopische Aufnahmen von Kontrollneuronen und mit konjugierten equinen Östrogenen behandelten hippokampalen Neuronen. Vom Hippokampus von jungen E18-Ratten stammende Neuronen wurden einem serumfreien Medium bei An- oder Abwesenheit von 10 ng/ml CEE ausgesetzt. Bild A zeigt ein repräsentatives Kontrollneuron nach 24-Stunden-Kultur. Bild B zeigt ein repräsentatives mit CEE behandeltes Neuron nach 24-Stunden-Kultur. Zu beachten ist die höhere Anzahl an Verzweigungen und die morphologische Komplexität bei den mit CEE behandelten Neuronen. Balken = $15 \mu m$.



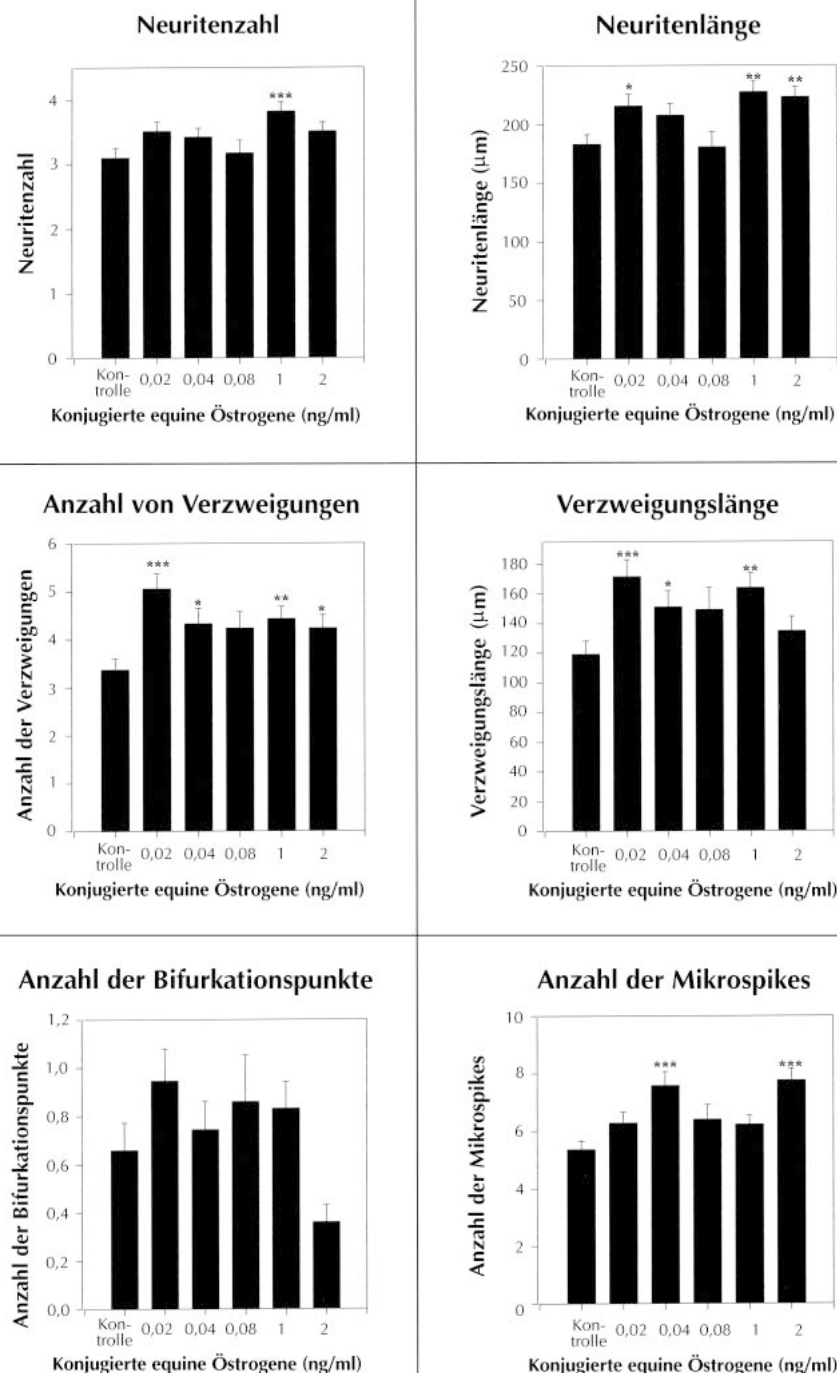
Kontrollneuron (Abbildung 1A) eine verbesserte morphologische Komplexität auf (Abbildung 1B). Sowohl die makroskopischen Merkmale der neuronalen Morphologie als auch die Anzahl der Neuriten ($F = 2,89$; Df 5.496; $p < 0,0138$) und die Neuritenlänge ($F = 3,87$; Df 5.496; $p < 0,0019$) waren signifikant gesteigert. Die mikroskopischen Merkmale der Neuronenmorphologie waren mit der Gesamtzahl der Verzweigungen ($F = 3,65$; Df 5.496; $p < 0,0030$), Verzweigungslänge ($F = 3,23$; Df 5.496; $p < 0,0070$) und der Anzahl von Mikros pikes ($F = 5,31$; Df 5.496; $p < 0,0001$) ebenso signifikant erhöht (Abbildung 2). Eine Analyse des Dosis-Wirkungsprofils deutet darauf hin, daß der Auswuchs der Neuronenfortsätze meist bei den getesteten niedrigeren oder niedrigsten Konzentrationen auftrat (0,2 ng/mg) und daß höhere Konzentrationen nicht wirksamer waren. Die Ausnahme bildete die Anzahl an Neuriten, für die 10 ng/ml erforderlich waren, damit eine signifikante Zunahme auftrat. Ein derartiges Profil läßt erkennen, daß der Mechanismus, der dem durch ein östrogenes Steroid induzierten Wachsen der neuronalen Fortsätze zugrunde liegt, bei den niedrigeren Konzentrationen gesättigt ist, oder daß ein sekundärer Regulationsmechanismus aktiviert wird, der die Größenordnung des Neurotrophismus limitiert und kontrolliert.

Neuroprotektion gegen neurotoxische Insulte

β -Amyloid₂₅₋₃₅-Peptid-induzierte Neurotoxizität

Die erste Reihe von Experimenten zur Neuroprotektion untersuchte

Abbildung 2: Von konjugierten equinen Östrogenen induzierter Neurotrophismus in hippocampalen Neuronen. Von jungen E18-Ratten stammende hippocampale Neuronen wurden 24 Stunden lang verschiedenen CEE-Konzentrationen ausgesetzt. Nach 24 Stunden wurden die Neuronen aus dem Hippokampus videomikroskopisch aufgezeichnet und später morphologisch analysiert (jeweils gegenüber den Versuchsbedingungen verblindet). Die Daten stammen von einem von drei Experimenten (75 Neuronen/Versuchsbedingung) und werden als Mittelwert $\pm$ SEM ausgedrückt, (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, signifikant unterschiedlich im Vergleich zu der Kontrollbedingung).



die Auswirkung von CEE auf die durch β -Amyloid₂₅₋₃₅ ($A\beta_{25-35}$) induzierte Toxizität. Nach 24stündiger $A\beta_{25-35}$ -Exposition waren die Degeneration der kultivierten hippokampalen Neuronenfortsätze und die Toxizität offensichtlich [13]. Neuronen, die vier Tage lang mit 1 oder 100 ng/ml CEE vorbehandelt wurden, wiesen keine $A\beta_{25-35}$ -induzierte Degeneration der hippokampalen Neuronenfortsätze auf [13].

Anhand von Analysen der LDH-Freisetzung konnte nachgewiesen werden, daß die Exposition gegenüber Pikogramm-Mengen von CEE (100 pg/ml) das freigesetzte LDH nach einer Exposition gegenüber 8 μ g/ml $A\beta_{25-35}$ signifikant reduzierte (siehe Abbildung 3). Die neuroprotektive Wirksamkeit und Potenz waren in kultivierten hippokampalen Neuronen, die eine mehr als 50%ige Reduktion der LDH-Freisetzung

als Response auf 100 ng/ml CEE aufwiesen, offensichtlich (siehe Abbildung 3).

Analysen der intrazellulären ATP-Spiegel im Anschluß an die $A\beta_{25-35}$ -Exposition wiesen darauf hin, daß $A\beta_{25-35}$ die intrazellulären ATP-Spiegel signifikant zu reduzieren vermochte (siehe Abbildung 4). Exposition gegenüber 10 und 100 ng/ml CEE führte zu einer signifikanten Erhöhung der intrazellulären ATP-Spiegel, die über denen der mit $A\beta_{25-35}$ behandelten hippokampalen Neuronen lagen. Darüber hinaus unterschieden sich die ATP-Spiegel der Neuronen aus dem Hippokampus, die $A\beta_{25-35}$ ausgesetzt und mit CEE vorbehandelt wurden, nicht signifikant von den Kontrollspiegeln. Das läßt darauf schließen, daß die neuronale Lebensfähigkeit in CEE-behandelten Neuronen mit der von Neuronen vergleichbar war, die nicht $A\beta_{25-35}$ ausgesetzt waren.

Wasserstoffperoxidinduzierte Neurotoxizität

Mit 20 μ M H_2O_2 behandelte hippokampale Neuronen zeigten eine ausgeprägte morphologische Degeneration und Zelltod [13]. In auffallendem Gegensatz dazu überlebten die mit 1 ng/ml CEE vorbehandelten hippokampalen Neuronen weiterhin und wiesen morphologische Merkmale auf, die lebensfähigen Neuronen entsprechen [13].

Anhand einer quantitativen Analyse zum Überleben von Neuronen konnte der Nachweis erbracht werden, daß H_2O_2 -Exposition bei zirka 80 % der Neuronen Zelltod auslöste, was eine Überlebensrate von 20 % ergibt (siehe Abbildung 5). Im

Abbildung 3: Wirkung konjugierter equiner Östrogene auf die $A\beta_{25-35}$ -induzierte LDH-Freisetzung. Für die Dauer von vier Tagen in An- oder Abwesenheit von CEE gezüchtete hippokampale Neuronen in Primärkulturen (7–9 Tage *in vitro*) wurden 24 Stunden 8 mg/ml $A\beta_{25-35}$ ausgesetzt. Am folgenden Tag wurden die Medien von allen Kulturen geerntet und auf ihren LDH-Gehalt untersucht. Die Ergebnisse werden als $A\beta_{25-35}$ -induzierte LDH-Freisetzung in Prozent ausgedrückt. Die Daten werden als Mittelwert $\pm$ SEM angegeben und wurden von drei separaten Experimenten kombiniert, n = 12 pro Bedingung. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ im Vergleich zu $A\beta_{25-35}$ -behandelten Kulturen.

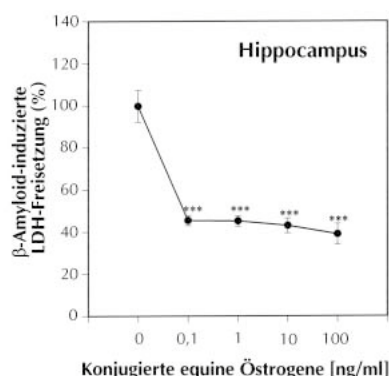
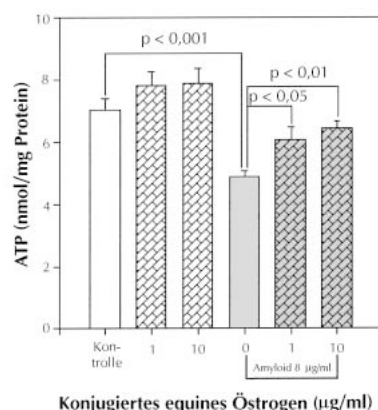


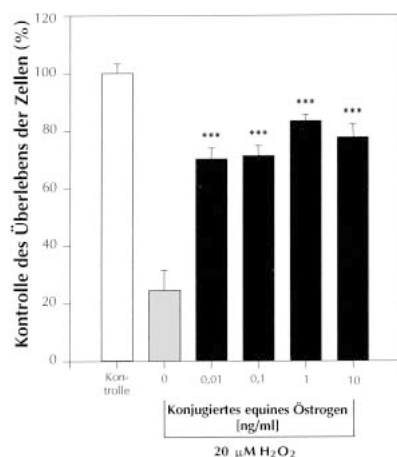
Abbildung 4: Wirkung von konjugierten equinen Östrogenen auf die $A\beta_{25-35}$ -induzierte ATP-Depletion hippokampaler Neuronen. Hippokampale Neuronen (7–9 Tage *in vitro*) wurden in An- oder Abwesenheit der angegebenen CEE-Konzentrationen vor der 24stündigen $A\beta_{25-35}$ -Exposition für die Dauer von 4 Tagen gezüchtet. Die am Tag nach der $A\beta_{25-35}$ -Exposition bestimmten intrazellulären ATP-Spiegel werden als Mittelwert $\pm$ SEM ausgedrückt. Die Daten werden als Mittelwert $\pm$ SEM angegeben und wurden von drei separaten Experimenten kombiniert, n = 9 pro Bedingung. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,0001$.



Gegensatz dazu überlebten 70–80 % der CEE-vorbehandelten hippocampalen Neuronen vier Tage lang die Exposition gegenüber H_2O_2 (Abbildung 5).

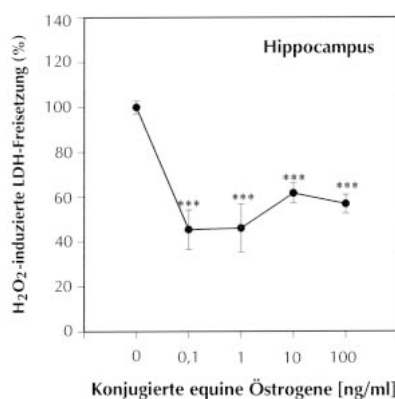
Anhand der biochemischen Analyse zur Auswirkung von CEE auf die LDH-Freisetzung nach H_2O_2 -Exposition konnte nachgewiesen werden, daß die Vorbehandlung

Abbildung 5: Wirkung von konjugierten equinen Östrogenen auf das Überleben von H_2O_2 -behandelten hippocampalen Neuronen. Hippokampale Neuronen wurden vor der Exposition gegenüber $20 \mu M$ H_2O_2 für die Dauer von 4 Tagen mit der angezeigten Konzentration von konjugierten equinen Östrogenen behandelt. Lebensfähige Neuronen wurden kurz vor der H_2O_2 -Exposition und 24 Stunden nach der H_2O_2 -Exposition gezählt. Die Daten werden als Kontrolle des Überlebens von Neuronen in Prozent angegeben (Mittelwert $\pm$ SEM von 3 separaten Experimenten, es wurden 100 Neuronen pro Neuronenkultur ausgezählt, 7–8 Kulturen/Bedingung/Experiment wurden analysiert). *** $p < 0,001$ im Vergleich zu H_2O_2 -behandelten Kulturen.



mit CEE eine hochpotente und signifikante Reduktion der H_2O_2 -induzierten LDH-Freisetzung auslöste (siehe Abbildung 6). Die größte Response, eine 50%ige Senkung der H_2O_2 -induzierten LDH-Freisetzung, trat bei 0,1 ng/ml auf (siehe Abbildung 6). Der neuroprotektive Effekt von CEE war bei der niedrigsten getesteten Konzentration (0,1 ng/ml) bei hippocampalen Neuronen asymptotisch.

Abbildung 6: Wirkung konjugierter equiner Östrogene auf die wasserstoffperoxidinduzierte LDH-Freisetzung. Für die Dauer von 4 Tagen in An- oder Abwesenheit von CEE gezüchtete hippocampale Neuronen in Primärkulturen (7–9 Tage *in vivo*) wurden für die Dauer von 15 Minuten bei $37^\circ C$ $20 \mu M$ H_2O_2 ausgesetzt. Am folgenden Tag wurden die Medien von allen Kulturen geerntet und auf ihren LDH-Gehalt untersucht. Die Ergebnisse werden als H_2O_2 -induzierte LDH-Freisetzung in Prozent ausgedrückt. Die Daten werden als Mittelwert $\pm$ SEM angegeben und werden von drei separaten Experimenten kombiniert, $n = 18$ pro Bedingung. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ im Vergleich zu H_2O_2 -behandelten Kulturen.

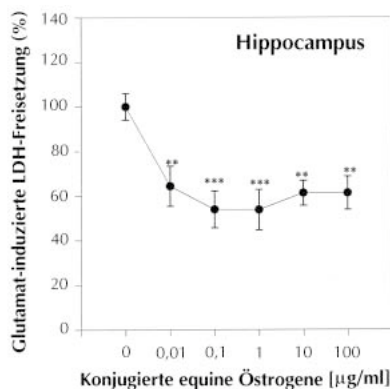


Die Ergebnisse weisen nach, daß die komplexe CEE-Zusammensetzung einen deutlich sichtbaren und hochsignifikanten Schutz gegen die H_2O_2 -induzierte Letalität bewirkt. Die Dosis-Wirkungsbeziehung für die CEE-induzierte Neuroprotektion vor H_2O_2 -induzierter Toxizität zeigte ein lineares Profil, das dem von β -Amyloid₂₅₋₃₅ ähnlich ist.

Glutamatinduzierte Neurotoxizität

Es konnte nachgewiesen werden, daß $200 \mu M$ Glutamat eine sichtbare und ausgeprägte Neuronentoxizität induzierten [13]. Die Vorbehandlung von kultivierten hippocampalen Neuronen mit 1 ng/ml CEE für die Dauer von vier Tagen übte einen deutlichen neuroprotektiven Effekt auf die neurotoxischen Glutamat-Wirkungen aus. Exposition hippocampaler Neuronenkulturen gegenüber 100 ng/ml CEE für die Dauer von vier Tagen schien einen größeren neuroprotektiven Effekt zu bewirken, wie die visuelle Kontrolle ergab [13]. Die quantitative biochemische Beurteilung der Plasmamembranschädigung ließ erkennen, daß CEE eine hochsignifikante Reduktion der glutamatinduzierten LDH-Freisetzung ausübten, die potent und wirksam war. In den hippocampalen Neuronen trat eine signifikante Reduktion der glutamatinduzierten LDH-Freisetzung bei 10 pg/ml CEE auf, die bei 100 pg/ml asymptotisch war (siehe Abbildung 7). Die Größenordnung der durch CEE hervorgerufenen Reduktion der glutamatinduzierten Toxizität bewegte sich zwischen 40 und 50 %.

Abbildung 7: Wirkung konjugierter equiner Östrogene auf die glutamatinduzierte LDH-Freisetzung. Für die Dauer von vier Tagen in An- oder Abwesenheit von CEE gezüchtete hippocampale Neuronen in Primärkulturen (7–9 Tage *in vitro*) wurden 5 Minuten bei Raumtemperatur 0,2 mM Glutamat ausgesetzt. Am folgenden Tag wurden die Medien von allen Kulturen geerntet und auf ihren LDH-Gehalt untersucht. Die Ergebnisse werden als Glutamat-induzierte LDH-Freisetzung in Prozent ausgedrückt. Die Daten werden als Mittelwert $\pm$ SEM angegeben und werden von drei separaten Experimenten kombiniert, $n = 18$ pro Bedingung. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ im Vergleich zu glutamatbehandelten Kulturen.



DISKUSSION

Neurotrophe Wirkungen konjugierter equiner Östrogene

Drei deutliche Merkmale des durch CEE induzierten Neurotrophismus gingen aus den Dosis-Wirkungsanalysen hervor:

1. CEE bewirkten eine hoch-

signifikante Zunahme des Auswuchses der Neuronenfortsätze, der erste obligatorische Schritt zur Bildung neuer Neuronenverbindungen, die für die Gedächtnisfunktion wichtig sind.

2. Die Größenordnungen der signifikanten Zunahmen der morphologischen Parameter reichte von 20–50 %, bezogen auf die Kontrollwerte.

3. Die niedrigste wirksame Konzentration übte die maximale neurotrophe Wirkung aus. Bei höheren Konzentrationen wurde kein zusätzlicher neurotropher Vorteil erreicht. Die maximale neurotrophe Wirkung war bei der niedrigsten wirksamen Konzentration asymptotisch. Dieser Befund kann in therapeutischer Hinsicht von Wichtigkeit sein. Das würde bedeuten, daß höhere Konzentrationen von CEE bei der Förderung der zellulären Lern- und Gedächtnismerkmale nicht wirksamer sind als die niedrigste wirksame Dosis.

Potentielle funktionelle Signifikanz CEE-induzierter Veränderungen der neuronalen Morphologie

Es stellt sich mehr und mehr heraus, daß das Wachstum der neuronalen Ausläufer und deren synaptischen Verbindungen zwischen Neuronen die fundamentalen zellulären Mechanismen ausmachen, die an der Lern- und Gedächtnisleistung beteiligt sind. Durch *In-vitro*- und *In-vivo*-Tierstudien wurde gezeigt, daß 17- β -Östradiol, das von den Ovarien sezernierte wichtigste neuroaktive Östrogen, einen direkten Effekt auf die Neuronen des ZNS ausübt. Anhand von *In-vitro*-Studien wurde ein neuro-

tropher Effekt von 17- β -Östradiol sowohl in kultivierten hippocampalen Neuronen [14, 15] als auch in kultivierten kortikalen Neuronen dokumentiert [16, 17]. Noch wichtiger: Der gleiche mit 17- β -Östradiol *in vitro* beobachtete neurotrophe Effekt tritt auch *in vivo* auf. Wooley et al. zeigten, daß 17- β -Östradiol *in vivo* die Anzahl an Dendritenspitzen auf apikalen Dendriten von CA1-Pyramidenzellen erhöht [18] und daß das Auftreten von Dendritenspitzen den gesamten Estruszyklus der Ratte über ein östrogenabhängiger Vorgang ist [19].

Anhand von Modellen und von Experimenten wurde gezeigt, daß es sich bei den Erhöhungen der Dendriten-Verzweigungskomplexität, wie zum Beispiel jener nach CEE-Exposition, um einen wichtigen Faktor bei der Ermittlung des Amplituden-Zeitverlaufs des exzitatorischen postsynaptischen Potentials (EPSP) handelt [20, 21]. Eine Vergrößerung der Dendritenoberfläche allein würde eine strukturelle Grundlage für die anschließende Entwicklung von synaptischem Input von anderen Neuronen bilden. Analysen an Simulationsmodellen haben darauf hingewiesen, daß eine größere morphologische neuronale Komplexität mit einer größeren Verarbeitungs- und Speichereffizienz von Informationen einhergeht [22].

Wenn sich die Komplexität der Neuronenmorphologie auf die kognitive Funktion auswirkt, müßte eine Beziehung zwischen der ERT und der kognitiven Funktion bestehen. In Studien mit neurologisch unauffälligen menopausalen Frauen haben Sherwin et al. nachgewiesen, daß ein Ab-

fall der Östrogene mit einem Verlust ausgewählter Gedächtnisfunktionen einhergeht, die mit der ERT rückgängig gemacht wurden [2–5]. In Tierstudien haben Simpkins et al. festgestellt, daß ovariectomierte Ratten nicht so gut lernen wie nichtovariectomierte [23]. Sie fanden darüber hinaus, daß der E2-Ersatz nicht nur die Lernfähigkeitsbeeinträchtigung umkehrte, sondern auch die Lernfähigkeit beschleunigte. Kürzlich bekannt gewordene Daten deuten darauf hin, daß CEE die Hirnaktivierungsmuster postmenopausaler Frauen in spezifischen Hirnregionen während der für das tägliche Leben relevanten Leistung der Gedächtnisfunktionen veränderten [24]. Bei Menschen und Tieren erhobene Daten dokumentieren, daß Östrogene eine positive Wirkung auf spezifische Formen der Gedächtnisfunktion ausüben und daß der Östrogenverlust in einer Abnahme der Gedächtnisfunktion resultiert. Ein Vorbehalt gegenüber diesen Wirkungen bei Menschen kann jedoch in einer dosisabhängigen Wirkung der östrogenen Steroide auf die kognitive Funktion bestehen. Die sich von den neurotrophen Experimenten herleitenden Dosis-Wirkungsdaten würden voraussagen, daß optimale Konzentrationen vorliegen, die positive Wirkungen auf die Kognition ausüben, während andere Konzentrationen wirkungslos wären. Bisher wurden keine klinischen Studien durchgeführt, die sich spezifisch mit dieser Frage befassen haben.

Durch konjugierte equine Östrogene induzierte Neuroprotektion

Es wurden drei verschiedene neurotoxische Substanzen,

β -Amyloid-Peptid₂₄₋₃₅, H₂O₂ und Glutamat, aufgrund ihrer vermuteten Rolle bei der mit Alzheimer einhergehenden Degeneration untersucht [25]. Die Ergebnisse dieser Experimente zeigen, daß CEE hochneuroprotektiv gegen jedes der untersuchten Neurotoxine ist.

Schutz gegen β -Amyloid₂₅₋₃₅-Peptid-induzierte Neurotoxizität

Die CEE bewirkten einen hochsignifikanten, morphologisch und biochemisch zu Tage tretenden Schutz gegen β -Amyloid₂₅₋₃₅-induzierte Toxizität. Die für die Dauer von vier Tagen mit 1 oder 100 ng/ml CEE vorbehandelten Neuronen wiesen keine A β ₂₅₋₃₅-induzierte Degeneration der hippokampalen neuronalen Fortsätze auf. Biochemische Analysen deuten darauf hin, daß mit CEE vorbehandelte Neuronen signifikant weniger Marker der Plasmamembranschädigung und signifikant mehr Marker der neuronalen Lebensfähigkeit aufweisen. Das Konzentrations-Wirkungsprofil für die CEE-induzierte Neuroprotektion gegen die A β ₂₅₋₃₅-induzierte Toxizität unterschied sich sehr wesentlich von der des CEE-induzierten Neurotrophismus. Das Konzentrations-Wirkungsprofil für die CEE-induzierte Neuroprotektion gegen jedes der drei Neurotoxine war im wesentlichen linear. Das unterschiedliche Profil der Dosis-Wirkungsanalysen zwischen den neurotrophen und den neuroprotektiven Wirkungen von CEE, sowohl hinsichtlich der Potenz als auch des Musters, deutet stark auf unterschiedliche Wirkungsmechanismen hin, die zur Zeit in Studien untersucht werden.

Schutz gegen wasserstoffperoxid- ausgelöste Neurotoxizität

Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß die CEE einen deutlich sichtbaren und hochsignifikanten Schutz gegen die H₂O₂-induzierte Letalität bieten. Die Dosis-Wirkungsbeziehung für die Neuroprotektion gegen H₂O₂-ausgelöste Toxizität wies ein lineares Profil auf, das den β -Amyloid₂₅₋₃₅-Daten ähnlich war.

Schutz gegen glutamatausgelöste Neurotoxizität

Die Exposition der hippokampalen Neuronen gegenüber CEE führte zu einer signifikanten Reduktion der glutamatinduzierten Exzitotoxizität. Die Dosis-Wirkungsanalyse ergab sowohl einen potenten als auch ziemlich linearen neuroprotektiven Effekt von CEE gegen die glutamatinduzierte Toxizität. Die neuroprotektive Wirkung war bei 0,01 ng/ml asymptotisch. Die Größenordnung der CEE-induzierten Neuroprotektion führte zu einer 40%igen Reduktion der LDH-Spiegel.

Potentielle funktionelle Signifikanz CEE-induzierter Neuroprotektion

Die Fähigkeit von CEE, einen hochsignifikanten neuroprotektiven Effekt gegen drei mit dem degenerativen Prozeß der Alzheimerschen Krankheit assoziierten toxischen Substanzen zu bieten, könnte eine Erklärung für das verminderte Risiko von Frauen unter ERT, an Morbus Alzheimer zu erkranken, liefern.

Die anhand der vorliegenden Studie erfaßten kollektiven Daten

Roberta Diaz Brinton, Ph.D.

Geboren 1951. Bakkalaureatsstudium der Psychologie und Biologie von 1977 bis 1979; von 1979 bis 1981 Studium der Neuropsychologie (Master's Degree), danach Doktoratsstudium mit Schwerpunkt Neuopharmakologie und Psychobiologie von 1981 bis 1984 (jeweils an der Universität von Arizona). Von 1984 bis 1987 weiterführende Studien an der Rockefeller University, New York, NY.



Gegenwärtig ist Dr. Brinton u. a. Associate Professor für Molekularpharmakologie und Toxikologie an der Univ. of Southern California. Außerdem ist sie Direktorin des USC Science, Technology And Research (STAR) Program.

Forschungsschwerpunkte: Untersuchung der fundamentalen zellulären Mechanismen der Lern- und Gedächtnisfunktionen, Morbus Alzheimer, Lernschwäche, Neurochip-Technologie (Verbindungen von lebenden Nervenzellen und Elektroden).

Korrespondenzadresse:

Roberta Diaz Brinton, Ph.D.
USC STAR Science Education Program
Univ. of South California
1985 Zonal Avenue
Los Angeles, CA 90033
E-mail: rbrinton@hsc.usc.edu

erbrachten den Nachweis, daß CEE eine hochsignifikante Erhöhung der morphologischen Komplexität von der mit Lern- und Gedächtnisfähigkeit assoziierten Neuronen bewirkt. Eine Erhöhung der neuronalen Morphologie wurde für eines der zellulären Korrelate der Gedächtnisfunktion gehalten. Es wurde postuliert, daß sie einer der Mechanismen ist, mit dessen Hilfe Informationen zur Langzeitspeicherung kodiert werden. CEE-induzierte Steigerungen der neuronalen Morphologie können einen zellulären Mechanismus bereitstellen, durch den die ERT die kognitive Funkti-

on bei postmenopausalen Frauen wieder auf prämenopausales Niveau herstellen kann. Letztlich kann die hochsignifikante neuroprotektive Wirkung von CEE einen zellulären Mechanismus bereitstellen, über den die ERT das Risiko für die Entstehung von Morbus Alzheimer reduzieren könnte und außerdem das Überleben der Neuronen bei Frauen mit bestehender Alzheimerscher Krankheit sichern kann. Da die CEE die ERT der 'Women's Health Initiative' sind, würden die Ergebnisse der vorliegenden Studie einen zellulären Mechanismus für Wirkungen der CEE auf die kogni-

tive Funktion und das sich aus dieser prospektiven klinischen Studie herleitende Risiko für Morbus Alzheimer nahelegen.

Literatur:

1. Klein R, Berlin L. Benefits and risks of hormone replacement therapy. In: Pavlik EJ (ed). Estrogens, progestins and their antagonists. Birkhäuser, Boston, 1996, 3–50.
2. Phillips SM, Sherwin BB. Effects of estrogen on memory function in surgically menopausal women. Psychoneuroendocrinology 1992; 17: 485–95.
3. Sherwin BB, Tulandi T. "Add-back" estrogen reverses cognitive deficits induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist in women with leiomyomata uteri [see comments]. J Clin Endocrinol Metabol 1996; 81: 2545–9.
4. Kampen DL, Sherwin BB. Estrogen use and verbal memory in healthy postmenopausal women. Obst Gynecol 1994; 83: 979–83.
5. Phillips SM, Sherwin BB. Variations in memory function and sex steroid hormones across the menstrual cycle. Psychoneuroendocrinology 1992; 17: 497–506.
6. Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen replacement therapy and risk of Alzheimer disease. Arch Intern Med 1996; 156: 2213–7.
7. Birge SJ. Is there a role for estrogen replacement therapy in the prevention and treatment of dementia? J Am Geriatr Soc 1996; 44: 865–70.
8. Tang MX, Jacobs D, Stern Y, et al. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. Lancet 1996; 348: 429–32.
9. Kawas C, Resnick S, Morrison A, et al. A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. Neurology 1997; 48: 1517–21.
10. Shumaker S. Hormone replacement therapy in dementia prevention: The Women's Health Initiative Memory Study. Neurobiol of Aging 1996; 17.
11. Wysowski DK, Golden L, Burke L. Use of menopausal estrogens and medroxyprogesterone in the United States,

1982–1992. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 6–10.

12. United States Pharmacy Convention
1. United States Pharmacopeia 1995, Reference Text, Conjugated Estrogens. In Anonymous United States Pharmacopeia 1995. Rand McNally, MA, United States Pharmacy Convention, Inc., 1995; 627–9.

13. Brinton RD, Chen S, Montoya M, et al. The Women's Health Initiative estrogen replacement therapy is neurotrophic and neuroprotective. *Neurobiology of Aging* 2000.

14. Brinton RD. 17 β -estradiol induction of filopodial growth in cultured hippocampal neurons within minutes of exposure. *Mol Cell Neurosci* 1993; 4: 36–46.

15. Murphy DD, Segal M. Regulation of dendritic spine density in cultured rat hippocampal neurons by steroid hormones. *J Neurosci* 1996; 16: 4059–68.

16. Toran-Allerand CD. Organotypic culture of the developing cerebral cortex

and hypothalamus: relevance to sexual differentiation. *Psychoneuroendocrinology* 1991; 16: 724.

17. Brinton RD, Tran J, Profitt P, et al. 17 β -estradiol increases the growth and survival of cultured cortical neurons. *Neurochem Res* 1997; 22: 1339–51.

18. Woolley CS, McEwen BS. Estradiol mediates fluctuation in hippocampal synapse density during the estrous cycle in the adult rat [published erratum appears in *J Neurosci* 1992 Oct; 12 (10): following table of contents]. *J Neurosci* 1992; 12: 2549–54.

19. Woolley CS, McEwen BS. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 336: 293–306.

20. Horwitz B. Neuronal plasticity. how changes in dendritic architecture can affect the spread of postsynaptic potentials. *Brain Res* 1981; 224: 412–18.

21. Spruston N, Jaffe DB, Johnston D. Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties. *Trends in Neurosci* 1994; 17: 161–6.

22. Mainen ZF, Sejnowski TJ. Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons. *Nature* 1996; 382: 363–6.

23. Singh M, Meyer EM, Millard WJ, et al. Ovarian steroid deprivation results in a reversible learning impairment and compromised cholinergic function in female Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 1994; 644: 305–12.

24. Shaywitz SE, Shaywitz BA, Pugh KR, et al. Effect of estrogen on brain activation patterns in postmenopausal women during working memory tasks. *JAMA* 1999; 281: 1197–202.

25. Behl C, Davis JB, Lesley R, et al. Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell* 1994; 77: 817–27.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)