

Verteilung von Kokain in Zebrafischlarven

Denise Häschke, Ralf Stahlmann
Masterstudiengang Toxikologie,
Charité - Universitätsmedizin Berlin

Der Zebrafisch (*Danio rerio*) wird unter anderem als alternative Spezies für die Untersuchung von Fremdstoffen auf ihre neurotoxischen Wirkungen empfohlen. Angesichts der großen Zahl neuer Wirkstoffe, die als ZNS-wirksame Stoffe entwickelt werden, erscheint es attraktiv, durch Einsatz des Zebrafisches Experimente an Säugetieren zu vermeiden. Insbesondere die Larven des Fisches bieten im Vergleich zu Nagetieren einige Vorteile: sie lassen sich in Multiwell-Platten halten und es werden nur geringe Mengen des zu untersuchenden Stoffes benötigt. Damit bestehen gute Voraussetzungen für Screening-Untersuchungen mit einer hohen Anzahl von Testsubstanzen. Auch für Verhaltensuntersuchungen wird dieses System von einigen Wissenschaftlern empfohlen. Unter Verwendung des Assays konnten neue Hemmstoffe der Acetylcholinesterase oder der Monoaminoxidase identifiziert werden.¹

Kokain bewirkt Hypoaktivität beim Zebrafisch

Andererseits gibt es durchaus Hinweise darauf, dass sich die Reaktionen der Fischlarven und die eines Säugetierorganismus wesentlich unterscheiden können. Ein Beispiel sind die Wirkungen des Kokains. Es ruft bei den Larven eine Hypoaktivität hervor, stimulierende Wirkungen können nicht beobachtet werden. Kokain besitzt bekanntlich diverse Wirkungen auf das Nervensystem: die Erhöhung der Monoamine Dopamin und Serotonin im Gehirn durch Hemmung der Wiederaufnahme führt zur Stimulation. Durch Blockade von Natriumkanälen wirkt es jedoch auch lokalanästhetisch auf periphere Nerven (vgl. TOXIKOLOGIE AKTUELL 02/2016).

Ein Grund für die Diskrepanz zwischen den beim Menschen auftretenden Wirkungen, könnte in der unterschiedlichen Verteilung aufgrund des anderen Expositionswegs liegen. Während Kokain missbräuchlich geschnupft, inhaliert oder injiziert wird, werden die Testsubstanzen bei dem Fischtest direkt in das Wasser gegeben. Es gibt nur wenige Daten über die Verteilung von Fremdstoffen in den Zebrafischlarven – aufgrund ihrer geringen Größe ist eine analytische Untersuchung

verschiedener Körperregionen schwierig. Angesichts der unterschiedlichen Angriffspunkte des Kokains im Nervensystem könnte jedoch die Art der Verteilung zu Unterschieden in der Wirkung führen.

Ein Team von Wissenschaftlern untersuchte in der Schweiz mit aufwändigen Methoden das kinetische Verhalten von Kokain bei Zebrafischlarven. Die Aufnahme aus dem Medium, sowie die Biotransformation und Elimination wurden mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie / Massenspektrometrie (LC-MS/MS) analysiert. Daten zur Verteilung wurden durch MALDI MSI (*matrix assisted laser desorption and ionization mass spectrometry imaging*) erarbeitet.²

Vier Tage alte Larven wurden für maximal 24 Stunden mit 5 bis 50 µM Kokain exponiert, anschließend wurden die Elimination und der Metabolismus zum Norkokain für 48 Stunden gemessen. Die Verteilung der beiden Substanzen war ähnlich. Auffällig und unerwartet war die Anreicherung in den Augen: während die mittleren Konzentrationen im Rumpf und im Gehirn nach acht Stunden bei etwa 250 und 400 mg/kg lagen, wurde in den Augen eine hohe, persistierende Konzentration von etwa 1500 mg/kg gemessen. Die Werte zeigen, dass in dieser Entwicklungsphase keine effektive Bluthirnschranke existiert. Die Autoren weisen darauf hin, dass beim Menschen und Säugetieren bereits hundertfach niedrigere Konzentrationen im ZNS zum Tod führen können. Eine Kokain-verursachte Hypoaktivität war nach 48 h nicht mehr nachweisbar: zu diesem Zeitpunkt waren jedoch die Konzentrationen in den Augen noch hoch.

Fazit

Nach der Aufnahme von Kokain in die Zebrafischlarven wirkt die Substanz wahrscheinlich vorwiegend als Anästhetikum und verursacht Hypoaktivität. Stimulatorische Effekte im Zentralnervensystem treten nicht auf. Diese detaillierte Studie zeigt, dass toxikokinetische Aspekte bei einer Interpretation von Befunden mit Zebrafischlarven berücksichtigt werden müssen.

1) Kokel D et al. Rapid behavior-based identification of neuroactive small molecules in the zebrafish. *Nat Chem Biol* 2010; 6: 231-237

2) Kirla KT et al. Zebrafish larvae are insensitive to stimulation by cocaine: importance of exposure route and toxicokinetics *Toxicol Sci* 2016 (advance access, August 11)