



Doctoral Thesis

Prenatal Diazepam exposure central monoamine systems and sympathetic control of immune regulation

Author(s):

Bütikofer-Meier, Ernst Emil

Publication Date:

1993

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000897470> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

**PRENATAL DIAZEPAM EXPOSURE:
CENTRAL MONOAMINE SYSTEMS
AND SYMPATHETIC CONTROL OF
IMMUNE REGULATION**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZURICH

for the degree of
Doctor of natural sciences

presented by

Ernst Emil Bütikofer-Meier
eidg. dipl. Apotheker
born february 5th, 1961
citizen of Ersigen, BE

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. O. Sticher, examiner
Prof. Dr. W. Lichtensteiger, co-examiner

1993



CatE

SUMMARY

Benzodiazepines are worldwide the most important tranquilizers and they are consumed quite frequently in pregnancy. These compounds cross the placental barrier easily. The perinatal use of diazepam in obstetrics has been found to be accompanied by the so called "floppy infant syndrome" as well as by respiratory depression. In case of exposure to higher doses during pregnancy, teratogenic effects of benzodiazepines resembling the fetal alcohol syndrome, have been reported in humans. In the premature rat, deficits in olfactory and auditive integration and alterations of motor behavior and vocalization have been observed after prenatal BDZ exposure.

Time-pregnant Long Evans rats were injected daily with diazepam (1.25 mg/kg s.c.) or with vehicle (olive oil, 0.5 ml/kg s.c.) from gestational day (GD) 14 to 20. The treatment showed no effect on maternal body weight gain during pregnancy. Litter size, sex ratio and body weight of the offspring at 7 days of postnatal age were not affected either.

In view of a possible involvement of central monoaminergic (MA) systems in behavioral effects of benzodiazepines, the offspring were analyzed by HPLC-EC for changes in MA and metabolite levels in different brain regions at the age of one and three weeks, i.e., during a period when behavioral alterations were observed. Effects of prenatal diazepam treatment (as compared to vehicle treated and untreated controls) were seen at postnatal day (PN) 7 mainly, and seemed to disappear within the following two weeks. The most prominent effect was noted in cerebral cortex at PN 7, where noradrenaline (NA) was significantly reduced (-13.5%) in females, while male offspring showed a significant reduction of metabolites of both, NA and 5-HT, by 19 and 16 %, respectively.

Prenatal exposure to low doses of benzodiazepines has been found to affect immune functions as well. Since the immune system is controlled by the autonomic nervous system, we investigated the sympathetic activity in the

spleen for a possible contribution to impaired immune function. 28 day-old offspring of prenatally diazepam- or vehicle-treated rats were injected i.p. with sheep red blood cells (SRBC) in order to evoke an immune reaction.

Prenatal diazepam treatment resulted in a reduced capacity for antibody formation, as demonstrated by the plaque forming assay performed on splenic lymphocytes 5 days after the SRBC injection.

Baseline splenic NA turnover was higher in females than in males. Prenatal diazepam treatment resulted in reduced NA turnover in the spleen of SRBC-stimulated female, but not male, offspring. β -adrenergic binding sites in spleen membrane fractions, studied with ^3H -dihydroalprenolol, showed no differences, indicating that changes in NA turnover were not compensated by changes in receptor expression.

In conclusion, our investigation revealed sex-dependent changes in MA metabolism both, in the central and in the peripheral nervous system, after prenatal diazepam exposure. Sex-specific developmental effects of diazepam have been described for other parameters, e.g., in selective effects on perinatal corticosterone levels in female offspring. Although limited to female offspring, the alteration of sympathetic input to the spleen may contribute to the immune dysfunction seen in rats after prenatal benzodiazepine treatment. The data on the different adverse effects of prenatal diazepam exposure show that the use of benzodiazepines in pregnancy requires a careful risk-benefit analysis.

ZUSAMMENFASSUNG

Benzodiazepine sind weltweit die meist verwendeten Tranquilizer, und sie werden auch häufig während der Schwangerschaft eingesetzt. Benzodiazepine übertreten die Plazentarschranke leicht. Der Einsatz von Diazepam in der Perinatalperiode und der Geburtshilfe wird mit dem sogenannten "floppy infant syndrome" und Atemdepression beim Neugeborenen in Zusammenhang gebracht. Nach höheren Dosen während der Schwangerschaft wurden beim Menschen sogar teratogene Effekte, ähnlich dem fötalen Alkoholsyndrom, beobachtet. Bei jungen Ratten wurden nach pränataler Benzodiazepin-Exposition Beeinträchtigungen in der Verarbeitung olfaktorischer und auditiver Reize, sowie Veränderungen im motorischen Verhalten und der Vokalisierung gefunden.

Schwangeren Long-Evans Ratten wurde täglich, von Schwangerschaftstag 14 bis 20 Diazepam (1,25 mg/kg s.c.) oder Vehikel (Olivenöl, 0,5 ml/kg s.c.) injiziert. Die Behandlung hatte keinen Effekt auf die Entwicklung des mütterlichen Körpergewichts. Auch Wurfgrösse und Geschlechtsverteilung, sowie das Körpergewicht der Nachkommen im Alter von 7 Tagen wurden nicht beeinflusst.

Im Hinblick auf eine mögliche Beteiligung der zentralnervösen monoaminergen Systeme beim pränatalen Einfluss von Diazepam auf das Verhalten, wurden die Nachkommen im Alter von 1 und 3 Wochen, d.h. während der Zeit, in der die Verhaltensstörungen beobachtet worden sind, auf Veränderungen im Gehalt von Monoaminen und Metaboliten in verschiedenen Hirnregionen untersucht. Die meisten Veränderungen durch die pränatale Diazepamexposition (im Vergleich zu Kontroll- oder unbehandelten Tieren) wurden im Alter von 7 Tagen gesehen und verschwanden während der folgenden 2 Wochen. Die ausgeprägtesten Effekte fanden sich am Tag 7 im cerebralen Cortex, wo der Noradrenalin (NA)-Gehalt bei den Weibchen signifikant reduziert war, während die Männchen eine Reduktion bei den noradrenergen und serotonergen Metaboliten zeigten.

Es sind auch Beeinträchtigungen von Immunfunktionen durch pränatale Diazepamexposition beschrieben worden. Da das Immunsystem unter Kontrolle des autonomen Nervensystems steht, haben wir die sympathische Aktivität in der Milz auf eine mögliche Rolle bei der Beeinträchtigung der Immunfunktionen untersucht. Nachkommen von Diazepam- und Vehikel-behandelten Ratten wurden im Alter von 28 Tagen Schaf-Erythrozyten (SRBC) injiziert, um eine Immunreaktion auszulösen.

Im Plaque-Assay, 5 Tage nach der SRBC-Injektion, zeigte sich, dass die Fähigkeit zur Antikörperproduktion durch die pränatale Diazepamexposition reduziert wurde.

Ohne Immunstimulation war der NA Umsatz in der Milz bei Weibchen höher als bei Männchen. Nach SRBC-Injektion zeigten die pränatal Diazepamexponierten Weibchen einen stark reduzierten NA Umsatz im Vergleich zu pränatal Vehikel-exponierten Tieren; die Männchen zeigten diesen Effekt nicht. Die Anzahl β -adrenerger Bindungsstellen in Membranfraktionen der Milz, die anhand einer Bindungsstudie mit ^3H -Dihydroalprenolol bestimmt wurden, war unverändert, was zeigt, dass keine kompensatorische Regulation in der Rezeptorexpression stattgefunden hatte.

Die Untersuchungen zeigten geschlechtsabhängige Veränderungen im MA Umsatz, sowohl im zentralen, als auch im peripheren Nervensystem nach pränataler Diazepamexposition. Geschlechts-abhängige Entwicklungseffekte sind für andere Parameter auch beschrieben worden, z.B. selektive Effekte auf perinatale Kortikosteron Konzentration bei weiblichen Nachkommen. Die beobachtete Veränderung des sympathischen Einflusses auf die Milz könnte, obwohl nur in Weibchen, zu der Beeinträchtigung von Immunfunktionen beitragen, wie sie Ratten nach pränataler Diazepam-Exposition gefunden worden sind. Die verschiedenen Hinweise auf ungünstige Wirkungen der pränatalen Diazepamexposition zeigen, dass der Einsatz von Benzodiazepinen in der Schwangerschaft eine vorsichtige Risiko/Nutzen Abwägung bedingt.