

***In vivo* Quantification of Cerebral A₁ Adenosine Receptors
in Humans Using [¹⁸F]CPFPX and Positron Emission Tomography**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

Dr. nat. med.

der Medizinischen Fakultät

und

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Dr. med. Philipp Tobias Meyer

aus Haselünne

2007

Abstract (English)

Among the four cloned adenosine receptors (A_1 , A_{2A} , A_{2B} and A_3), the $G_{i/o}$ protein-coupled A_1 adenosine receptor (A_1AR) exhibits the highest density and widest distribution in the human brain. The A_1AR fulfils important homeostatic (e.g., inhibition of metabolism) and neuromodulatory (e.g., inhibition of excitatory neurotransmission) functions. Numerous studies suggest that the A_1AR plays a crucial role in various physiological functions and pathological conditions (e.g., in memory and cognition, regulation of sleep/wakefulness, anxiety, neuroprotection and epilepsy). *In vivo* imaging of cerebral A_1AR s in humans using positron emission tomography (PET) was recently enabled by development of positron-emitting A_1AR ligands. The present work was intended to validate various quantification methods to assess the cerebral A_1AR density using PET and the novel, highly-selective A_1AR antagonist 8-cyclopentyl-3-(3-[^{18}F]fluoropropyl)-1-propylxanthine ([^{18}F]CPFPX). Among the different methods that were evaluated in healthy male volunteers, the following appear to be particularly suited for [^{18}F]CPFPX PET: conventional 2-tissue compartment model kinetic analysis or graphical analysis (GA) of bolus injection PET data with arterial input function measurement (arterial analyses), GA of bolus injection PET data with venous blood sampling (venous GA), equilibrium analysis (EA) during tracer distribution equilibrium in bolus/infusion (B/I) PET studies with venous blood sampling and non-invasive GA of bolus injection PET data. These methods provide distinct advantages and disadvantages in regard of their applicability and outcome measures: While the applicability of arterial analyses is restricted by the invasiveness of arterial blood sampling, the validity of EA is essentially depending on attaining tracer distribution equilibrium, which may not be reached in all subjects. Application of a simplified analysis (i.e., venous or non-invasive GA) requires careful validation against a reference method (i.e., arterial analyses or EA). B/I PET scanning with EA is the only method that allows quantifying intervention-dependent changes of the maximum density of available receptors (B_{max}') in a single scanning session. The first three approaches provide an estimate of the equilibrium total distribution volume (DV_t') of [^{18}F]CPFPX in tissue, whereas non-invasive GA gives an estimate of the apparent binding potential (aBP_2). DV_t' and aBP_2 can

be used as sensitive parameters to assess B_{max}' changes. However, they are both affected by changes in free and non-specific bound tracer uptake and aBP_2 is also a function of B_{max}' of the reference region (cerebellum). The latter can considerably complicate the interpretation of aBP_2 changes. In turn, aBP_2 is independent of error-prone blood and metabolite analyses. Finally, methods are proposed to gain unbiased estimates of B_{max}' changes and of B_{max}' itself. Potential applications of A_1 AR PET in basic and applied neurosciences are discussed. In conclusion, the present work provides a comprehensive set of complementary A_1 AR PET quantification methods that form the armamentarium for future A_1 AR PET studies.

Kurzzusammenfassung (Deutsch)

Von den vier geklonten Adenosin-Rezeptoren (A_1 , A_{2A} , A_{2B} und A_3), besitzt der $G_{i/o}$ -Protein-gekoppelte A_1 Adenosin-Rezeptor (A_1 AR) die höchste Dichte und weiteste Verbreitung im menschlichen Gehirn. Der A_1 AR erfüllt wichtige homöostatische (z.B. Reduktion des Metabolismus) und neuromodulatorische (z.B. Inhibition exzitatorischer Neurotransmission) Funktionen. Zahlreiche Studien sprechen dafür, dass der A_1 AR eine zentrale Rolle bei diversen physiologischen Funktionen und pathologischen Zuständen spielt (z.B. Gedächtnis und Kognition, Regulation von Schlaf/Wachsein, Angst, Neuroprotektion und Epilepsie). Die *in vivo* Bildgebung von zerebralen A_1 AR am Menschen mittels der Positronenemissionstomographie (PET) wurde kürzlich durch die Entwicklung positronenemittierender A_1 AR-Liganden ermöglicht. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, verschiedene Quantifizierungsmethoden zur Ermittlung der zerebralen A_1 AR-Dichte mittels der PET und des neuen, hoch-selektiven A_1 AR-Antagonisten 8-Cyclopentyl-3-(3-[18 F]Fluoropropyl)-1-Propylxanthine ([18 F]CPFPX) zu validieren. Von den verschiedenen Methoden, die an gesunden männlichen Probanden evaluiert wurden, erscheinen die folgenden besonders geeignet für die [18 F]CPFPX-PET: Die konventionelle, kinetische 2-Gewebskompartimente-Modell-Analyse oder die graphische Analyse (GA) von Bolusinjektions-PET-Daten mit Messung der arteriellen Inputfunktion (arterielle Analysen), die GA von Bolusinjektions-PET-

Daten mit venöser Blutentnahme (venöse GA), die Äquilibriumanalyse (ÄA) während des Verteilungsäquilibriums des Tracers in Bolus/Infusions (B/I)-PET-Studien mit venöser Blutentnahme und die non-invasive GA von Bolusinjektions-PET-Daten. Jede dieser Methoden bringt spezifische Vor- und Nachteile mit sich im Hinblick auf die Anwendbarkeit und die ermittelbaren Messgrößen: Während die Anwendbarkeit von arteriellen Analysen durch die Invasivität der arteriellen Blutentnahme limitiert ist, ist für die Validität der ÄA das Erreichen des Verteilungsäquilibriums des Tracers unabdingbar, welches u.U. nicht bei allen Probanden erzielt werden kann. Die Anwendung der vereinfachten Analysen (d.h. venöse oder non-invasive GA) bedarf einer sorgfältigen Validierung gegen eine der Referenzmethoden (d.h. arterielle Analysen oder ÄA). Die B/I-PET-Messung mit ÄA ist die einzige Methode, die erlaubt, interventionsabhängige Veränderungen der maximalen Dichte der verfügbaren Rezeptoren (B_{max}') mittels einer einzigen PET-Messung zu quantifizieren. Die drei erstgenannten Verfahren ergeben einen Schätzwert des Äquilibriumgesamtverteilungsvolumens (DV_t') von [^{18}F]CPFPX im Hirngewebe, während die non-invasive GA einen Schätzwert des apparenten Bindungspotentials (aBP_2) liefert. DV_t' und aBP_2 können als sensitive Parameter zur Erfassung von B_{max}' -Änderungen verwendet werden. Sie werden aber beide auch durch Änderungen der Gewebsaufnahme an freien und non-spezifisch gebundenem Tracer beeinflusst. Zudem variiert aBP_2 als Funktion von B_{max}' der Referenzregion (Zerebellum). Letzteres kann die Interpretation von aBP_2 -Änderungen erheblich erschweren. Im Gegenzug ist aBP_2 aber unabhängig von fehlerlastigen Blut- und Metabolitenanalysen. Abschließend werden Methoden vorgeschlagen, um unverzerrte Schätzwerte von B_{max}' -Änderungen und von B_{max}' selbst zu ermitteln. Mögliche Anwendungen der A₁AR PET in grundlegenden und angewandten Neurowissenschaften werden diskutiert. Zusammenfassend liefert die vorliegende Arbeit eine umfassende Zusammenstellung von sich ergänzenden A₁AR-PET-Quantifizierungsmethoden, welche das grundlegende Rüstzeug für zukünftige A₁AR-PET-Studien bilden.