

**Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Ludwig-Maximilian-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. P. Bartenstein**

**Evaluierung neuer nephroprotektiver Strategien in einem
Mausmodell der strahleninduzierten Nephropathie
durch den β -Emitter [Lu-177-DOTA⁰,TYR³]-octreotate
mittels in-vivo Tc-99m-MAG3 Nierenfunktionsszintigraphie**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Harun Ilhan
aus Mannheim**



München 2013

**Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Marcus Hacker

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Christoph
Auernhammer

Prof. Dr. med. Anno Graser

**Mitbetreuung durch den
Promovierten Mitarbeiter:** Priv.-Doz. Dr. med.
Alexander Haug

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c.
Maximilian Reiser
FACR, FRCR

Tag der Mündlichen Prüfung: 14.11.2013

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	9
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	10
1. Einleitung	11
1.1. Die Nuklearmedizin als therapeutisches Fach	11
1.2. Neuroendokrine Tumoren	13
1.3. Die Peptid-Rezeptor Radionuklid-Therapie bei neuroendokrinen Tumoren	13
1.4. Maßnahmen zur Reduktion der Nephrotoxizität im Rahmen der PRRT	14
1.5. Pathophysiologie der strahleninduzierten Nephrotoxizität.....	14
1.6. Fragestellung und Ablauf der Studie	16
2. Methodik	19
2.1. Versuchstiere	19
2.2. Pharmaka und Radiopharmaka.....	19
2.3. Nierenfunktionsszintigraphie mit Tc-99m-MAG3	20
2.4. Auswertung der szintigraphischen Datensätze	20
2.5. Erstellung und Beurteilung der Renogramm-Kurven.....	22
2.6. Bestimmung der „fractional uptake rate“ (FUR).....	22
2.7. Gliederung und Ablauf der Studie	23
2.7.1. Identifikation der nephrotoxischen Minimaldosis.....	23
2.7.2. Evaluation neuer nephroprotektiver Pharmaka nach PRRT	24
2.7.3. Identifikation PRRT-unabhängiger Nierenfunktionsveränderungen im zeitlichen Verlauf.....	26
2.8. Beurteilung histopathologischer Veränderungen.....	26
2.9. Statistische Auswertung	27
3. Ergebnisse	29

3.1.	Erster Studienabschnitt – Identifikation der nephrotoxischen Dosis für Lu-177-DOTA-TATE.....	29
3.1.1.	Renogramm-Kurven – 1. Studienabschnitt	29
3.1.2.	FUR-Werte – 1. Studienabschnitt	30
3.1.3.	Histologische Veränderungen – 1. Studienabschnitt.....	32
3.2.	Zweiter Studienabschnitt – Evaluation neuer nephroprotektiver Pharmaka im Rahmen der PRRT	33
3.2.1.	Renogramm-Kurven – 2. Studienabschnitt	33
3.2.2.	FUR-Werte – 2. Studienabschnitt	34
3.2.3.	Histologische Veränderungen – 2. Studienabschnitt.....	36
3.3.	Nicht-therapierte Kontrollgruppe (keine PRRT).....	37
4.	Diskussion	39
4.1.	Die strahleninduzierte Nephropathie nach PRRT.....	39
4.2.	Relevanz der Tc-99m-MAG3 Szintigraphie mit Bestimmung der FUR.	40
4.3.	Pharmakologische Nephroprotektion	42
4.4.	Einschränkungen dieser Studie.....	45
4.4.1.	Lu-177 versus Y-90.....	45
4.4.2.	Radionuklide der Nierenfunktionsszintigraphie	46
4.4.3.	Der Einsatz einer planaren Gammakamera	46
4.4.4.	Dosierungen der nephroprotektiven Medikamente	47
5.	Schlussfolgerung und Ausblick	47
6.	Zusammenfassung	51
7.	Literaturverzeichnis	55
8.	Danksagung	61
9.	Lebenslauf	63
10.	Eidesstaatliche Versicherung	65

Abkürzungsverzeichnis

NET	- Neuroendokriner Tumor
GEP-NET	- Neuroendokriner Tumor des gastro-entero-pankreatischen Systems
PRRT	- Peptid-Rezeptor-Radionuklid-Therapie
Y-90	- Yttrium-90
Lu-177	- Lutetium-177
Y-90-DOTATOC	- [Y-90-DOTA ⁰ ,TYR ³]-octreotide
Lu-177-DOTA-TATE	- [Lu-177-DOTA ⁰ ,TYR ³]-octreotate
RAAS	- Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ACE-Hemmer	- Angiotensin-Converting-Enzyme Hemmer
TMA	- Thrombotische Mikroangiopathie
HMG-CoA-Reduktase	- 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A Reduktase
MAG3	- Mercaptoacetyltriglycyl
FUR	- fractional uptake rate
g	- gramm
n.c.a.	- no carrier added
i.p.	- intraperitoneal
mg	- milligram
kg	- kilogram
KG	- Körpergewicht
Bq	- Becquerel
MBq	- Mega Becquerel
µl	- Mikroliter
LEHR	- low energy – high resolution
ROI	- region of interest
%ID	- percentage of injected dose
Tween20	- Polysorbat 20 (Tween 20®)
PAS	- Periodic acid-Schiff Reagenz
H. E.	- Haematoxylin-Eosin

S.E.M	- standard error of the mean
Gy	- Gray
keV	- kilo Elektronvolt
DMSA	- Meso-2,3, Dimercapto-Succinylsäure
DTPA	- Diethylentriaminpentaessigsäure
VOI	- voxel of Interest
SPECT	- Single Photon Emission Computed Tomography

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Histologische Beurteilungskriterien
Abbildung 1:	Szintigraphische Summationsaufnahme nach 12 Minuten Messzeit
Abbildung 2:	Studienprotokoll und experimentelles Design
Abbildung 3:	Renogramm-Kurven an Tag 65
Abbildung 4:	FUR-Werte für den ersten Studienabschnitt im Beobach- tungszeitraum ab der Baseline-Messung bis Tag 65
Abbildung 5:	Histologische Schnitte an Tag 65 im ersten Studienabschnitt (PAS-Färbung, Vergrößerung 20x)
Abbildung 6:	Renogramm-Kurven an Tag 86 im zweiten Studienabschnitt
Abbildung 7:	FUR-Werte zur Baseline und an Tag 9, 23, 44, 65 und 86 im zweiten Studienabschnitt
Abbildung 8:	Histologische Schnitte an Tag 86 im zweiten Studienabschnitt (PAS-Färbung, Vergrößerung 20x)

1. Einleitung

1.1. Die Nuklearmedizin als therapeutisches Fach

Die Nuklearmedizin zählt insgesamt zu den „jüngeren“ Disziplinen der Medizin. Gerade einmal gut 100 Jahre ist es her, dass der französische Physiker und Chemiker Henri Becquerel im Jahre 1896 eine bis dahin unbekannte Strahlenart entdeckte. Diese sollte ein Jahr später von der berühmten Physikerin Marie Curie als Radioaktivität bezeichnet werden. Für Ihre Arbeiten und Forschungen auf dem Gebiet der Radioaktivität erhielten Henri Becquerel und Marie Curie zusammen mit Curies Ehemann Pierre Curie im Jahre 1903 den Nobelpreis für Physik. Mit Hilfe dieser Entdeckungen wurde der Grundstein für die Nuklearmedizin gelegt, wie sich bereits aus dem Namen dieses Faches ableiten lässt. Die Entdeckung und Beschreibung radioaktiver Strahlen führte jedoch nicht direkt zur Übersetzung der Erkenntnisse in die Medizin.

Als „Vater“ der Nuklearmedizin gilt der ungarische Chemiker George de Hevesy, der für die Entdeckung der sogenannten Tracer-Methode verantwortlich ist. Für diese Entdeckung wurde er im Jahre 1943 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet. Der Legende nach kam dem jungen George de Hevesy die Grundidee zur Tracer-Methode während seines Aufenthaltes in London. Ihm wurde jeden Sonntag von seiner Vermieterin die englische Spezialität Meatpudding serviert. Eines Tages kam bei de Hevesy jedoch der Verdacht auf, dass seine Vermieterin die Reste der letzten Woche in den Meatpudding der Folgewoche beimischte. Um seine Vermieterin zu überführen fügte er daher eine geringe Menge eines radioaktiven Isotops in die Essenreste. Seinen Verdacht bestätigend konnte er schließlich die Strahlung im Meatpudding der nächsten Woche nachweisen und seiner Vermieterin das Ergebnis demonstrieren. Diese Erkenntnis hatte jedoch nicht etwa die Honorierung einer innovativen Methode zur Folge, sondern führte zur Kündigung des Mietverhältnisses seitens der Vermieterin.

Diese Anekdote hat für George de Hevesy somit ein ungutes Ende genommen. Und ob sich alles genau so zugetragen hat oder ob es sich nur um eine amüsante Erzählung unter Nuklearmedizinern und Radiochemikern handelt, ist

leider nicht belegt. Nichtsdestotrotz wird anhand dieser kleinen Geschichte jedoch die Grundlage der modernen Nuklearmedizin veranschaulicht. Die Entdeckung der Tracer-Methode durch George de Hevesy zählt insgesamt zu den Meilensteinen der Nuklearmedizin und veranschaulicht das Prinzip dieses Faches:

Der Einbau beziehungsweise die Einschleusung radioaktiv markierter Isotope in Stoffwechselfvorgänge ermöglicht diagnostische und therapeutische Untersuchungen und Behandlungen.

Die Nuklearmedizin gilt primär als diagnostisches Fach und wird von den meisten Patienten mit der Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen assoziiert. Die Schilddrüse verdeutlicht jedoch nicht nur den Stellenwert dieses Faches im Rahmen diagnostischer Untersuchungen, sondern auch den Stellenwert der Nuklearmedizin als therapeutisches Fach.

In Europa erfolgte die erste Radiojodtherapie von Schilddrüsenkarzinomen im Jahre 1948 in Aachen durch den Internisten Cuno Winkler. Zwei Jahre später stellte dieser seine Erfahrungen in Wiesbaden im Rahmen eines Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin vor [1]. Bis heute ist die Radiojodtherapie ein fester Bestandteil in der Therapie von Schilddrüsenkarzinomen und wird in Abhängigkeit der Stadieneinteilung in aktuellen, internationalen Leitlinien zur Vervollständigung der chirurgischen Therapie empfohlen [2].

Die Nuklearmedizin gewinnt heutzutage zunehmende Bedeutung als therapeutisches Fach, insbesondere in der Therapie maligner Erkrankungen. Zwar mag die Schilddrüse für die meisten Patienten „das Organ“ der Nuklearmedizin darstellen, aber in der Therapie maligner Erkrankungen weist die Nuklearmedizin ein breites Indikationsspektrum aus.

Hier sind neben palliativen Therapieansätzen bei Patienten mit hepatisch metastasierten Karzinomen, wie beispielsweise Mamma-Karzinomen oder kolorektalen Karzinomen, mittels transarterieller Mikroembolisation durch β -Strahler beladene, radioaktive Mikrosphären insbesondere neuroendokrine Tumoren (NET) zu erwähnen.

In der interdisziplinären, multimodalen Behandlung dieser seltenen Tumorerkrankung hat die Nuklearmedizin sowohl in der Diagnostik als auch in der Therapie einen wichtigen Stellenwert und ist Gegenstand aktueller Leitlinienempfehlungen [3].

1.2. Neuroendokrine Tumoren

NETs stellen insgesamt eher seltene Tumorerkrankungen dar und wurden auch oft als Karzinoide bezeichnet. Dieser, heutzutage veraltete Name, wurde durch den Erstbeschreiber der Erkrankung, den deutschen Pathologen Siegfried Oberndorfer, geprägt [4]. Der Begriff Karzinoid bedeutet in diesem Zusammenhang „Karzinom-ähnlich“ und beruht auf der Tatsache, dass NETs eine sehr heterogene Gruppe von Tumoren darstellen und sowohl benigne als auch maligne entartet sein können. NETs entstammen überwiegend neuroendokrinen Zellen des gastro-entero-pancreatischen Systems (GEP-NET) und des Bronchialsystems.

Die Inzidenz neuroendokriner Tumoren in den USA beträgt aktuell ca. 5 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner und Jahr und zeigt eine deutlich steigende Tendenz im Laufe der letzten 40 Jahre [5].

1.3. Die Peptid-Rezeptor-Radionuklid-Therapie bei neuroendokrinen Tumoren

Die Peptid-Rezeptor-Radionuklid-Therapie (PRRT) mittels der radioaktiv markierten Somatostatinanaloga $[Y-90-DOTA^0, TYR^3]-octreotide$ (Y-90-DOTATOC) und $[Lu-177-DOTA^0, TYR^3]-octreotate$ (Lu-177-DOTA-TATE) stellt mittlerweile eine etablierte Therapieoption in der Behandlung Somatostatinrezeptor-exprimierender, inoperabler oder metastasierter NETs dar [6, 7]. Der Therapieeffekt basiert auf der endogenen Bestrahlung nach Anbindung der Somatostatinanaloga-beladenen β -Strahler auf den

Somatostatinrezeptoren an der Zelloberfläche der NETs. Die Therapieansprechraten und das progressionsfreie Überleben nach erfolgter PRRT sind vielversprechend, was bereits durch mehrere Studien bestätigt wurde [6-13]. Ein entscheidender und Therapie-limitierender Faktor ist jedoch neben der Hämatotoxizität die strahleninduzierte Nephropathie. Die β -emittierenden Somatostatinrezeptor-Analoga Y-90-DOTATOC und Lu-177-DOTA-TATE werden überwiegend renal ausgeschieden und im proximalen Nierentubulus Megalinrezeptor-vermittelt rückresorbiert. Dies kann im schlimmsten Fall zur übermäßigen Bestrahlung der Nieren und folglich radiogenen Nierenschädigung führen [14, 15].

1.4. Maßnahmen zur Reduktion der Nephrotoxizität im Rahmen der PRRT

Eine signifikante Reduktion der Nierenfunktion nach PRRT wurde bereits sowohl in klinischen als auch präklinischen Studien beschrieben [16-22]. Pharmakologische Therapien zur Minimierung des Strahlenschadens, wie beispielsweise eine Verringerung der tubulären Rückresorption, sind bereits bekannt. Die intravenöse Verabreichung positiv geladener Aminosäuren, in der Regel Arginin und Lysin, im Rahmen einer PRRT führte sowohl in präklinischen [21, 23] als auch klinischen Studien [24, 25] zu einer signifikant reduzierten Rückresorption der radioaktiv markierten Somatostatin-Analoga. Daher stellt die Co-Infusion von Aminosäure-Lösungen im Rahmen der PRRT im klinischen Setting eine etablierte Maßnahme dar [6], repräsentiert jedoch nur eine Möglichkeit zur Reduktion der strahleninduzierten Nephropathie.

1.5. Pathophysiologie der strahleninduzierten Nephrotoxizität

Die Pathophysiologie der Nierenschädigung nach PRRT ist nur unzureichend geklärt. Histopathologisch zeigen sich nach PRRT sowohl tubuläre als auch glomeruläre Organschäden. Die histologische Aufarbeitung von Nierenpräparaten nach PRRT führte zu der Erkenntnis, dass die pathologischen Muster mit denen nach exogener Radiatio vergleichbar sind [26]. Diese Tatsache wiederum, führt zu der Vermutung, dass die pathomechanischen Vorgänge der Nierenschädigung im Rahmen der endogenen Radiatio durch die PRRT und der exogenen Radiatio vergleichbar sein könnten.

Die bereits erwähnte Reduktion des möglichen Strahlenschadens durch Aminosäurelösungen basiert auf einem kompetitiven Antagonismus des Megalin-Rezeptors. Allerdings wird auch dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) eine Beteiligung im Rahmen des Pathomechanismus der strahleninduzierten Nierenschädigung zugesprochen [26, 27]. Pharmakologische Begleittherapien, die das RAAS beeinflussen, konnten im Tiermodell Nierenschäden nach exogener Bestrahlung erfolgreich reduzieren. Ein Beispiel hierfür stellen Hemmer des Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) dar. Die Arbeitsgruppe um Cohen konnte 1992 nephroprotektive Eigenschaften für eine Begleittherapie mit ACE-Hemmern nach exogener Ganzkörperbestrahlung von Ratten nachweisen [28]. Der erfolgreiche Einsatz von ACE-Hemmern zur Reduktion strahleninduzierter Nierenschäden konnte in Folgeexperimenten durch dieselbe und auch andere Arbeitsgruppen sowohl im Rahmen weiterer Tierversuche [29, 30], als auch in einer klinischen Studie am Menschen durch Moll und Mitarbeiter verifiziert werden [17].

Die Arbeitsgruppe um Moll zeigte zudem in der histologischen Aufarbeitung von Nierenbiopsien von drei Patienten nach vorausgegangener PRRT, dass die thrombotische Mikroangiopathie (TMA), welche sich sowohl in den Glomeruli als auch in den kleinen Arterien und Arteriolen manifestiert, ein histopathologisches Nierenschädigungsmuster nach PRRT darstellt.

In einer kürzlich publizierten Studie von Sheshan und Mitarbeitern wurde wiederum erfolgreich demonstriert, dass die TMA in einem Mausmodell der

anti-Phospholipid-Antikörper induzierten Nephropathie durch den 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A (HMG-CoA) Reduktase-Inhibitor Pravastatin verhindert beziehungsweise minimiert werden kann [31].

Nephroprotektive Eigenschaften einer Begleittherapie mit Pravastatin wurden zudem in einem Mausmodell der Carboplatin-induzierten Nephrotoxizität dargestellt [32].

Eine weitere Beeinflussung des RAAS durch den Aldosteron-Rezeptor Antagonisten Spironolacton zeigte in Mäusen ebenfalls nephroprotektive Eigenschaften nach Therapie mit endogenen alpha-Strahlern [33].

Zusammenfassend konnten somit nephroprotektive Eigenschaften sowohl für RAAS-modifizierende Medikamente (ACE-Hemmer und Spironolacton) als auch für Statine (Pravastatin) im Rahmen nephrotoxischer Therapien nachgewiesen werden.

1.6. Fragestellung und Ablauf der Studie

Der Einsatz dieser Medikamente zur Minimierung des nephrogenen Strahlenschadens wurde bisher abgesehen von einer kleinen Fallzahl durch die bereits erwähnte Arbeitsgruppe um Moll im Rahmen der PRRT nicht überprüft. Betrachtet man jedoch die vergleichbaren histopathologischen Veränderungen und Schädigungsmechanismen und -muster, ist der erfolgreiche Einsatz dieser Medikamente im Rahmen einer PRRT mit Lu-177-DOTA-TATE ebenfalls wahrscheinlich. Dies wurde bisher jedoch nicht untersucht. Zur Klärung dieser Hypothese, wurden in dieser Studie die nephroprotektiven Eigenschaften des ACE-Hemmers Enalapril, des HMG-CoA Reduktase Inhibitors Pravastatin und des Aldosteron-Antagonisten Spironolacton im Rahmen eines Mausmodells der endogenen Nieren-Bestrahlung durch den β -Emitter Lu-177-DOTA-TATE getestet.

Zu Beginn der Studie waren die nephrotoxischen Eigenschaften von Lu-177-DOTA-TATE im Mausmodell nicht geklärt. Somit war die nierentoxische Schwellendosis für Lu-177-DOTA-TATE im Mausmodell zunächst unbekannt. Aus diesem Grund wurde die Studie in zwei Abschnitte gegliedert. Im ersten

Abschnitt erfolgte eine Dosis-Wirkbeziehungsstudie zur Identifikation der nierenschädigenden Schwellendosis für Lu-177-DOTA-TATE in Mäusen.

Im zweiten Studienabschnitt erfolgte schließlich die Evaluation der erwähnten Medikamente hinsichtlich protektiver Eigenschaften im Rahmen der PRRT-induzierten Nephrotoxizität. Die Nierenfunktion wurde in beiden Studienabschnitten durch in-vivo Nierenfunktionsszintigraphien mit dem γ -Strahler Tc-99m-Mercaptoacetyltriglycyl (Tc-99m-MAG3) [34, 35] dokumentiert. Diese, nicht-invasive Untersuchung ermöglicht eine Kontrolle der Nierenfunktion im Verlauf. Anhand der szintigraphischen Daten wurde die „fractional uptake rate“ (FUR) bestimmt. Die FUR beschreibt die Aufnahme eines radioaktiven Tracers in ein Organ pro Zeiteinheit und dient in diesem Fall als Korrelat für die Nierenfunktion. Die Berechnung der FUR wurde bereits erfolgreich im Rahmen präklinischen Studien zur Diagnostik und Verlaufskontrolle von Ischämie-Reperfusionsschäden der Nieren aufgezeigt [36].

In Rattenstudien wurde demonstriert, dass Nierenschäden erst im späteren Verlauf nach Lu-177-DOTA-TATE Therapie in Erscheinung treten [21, 37]. Aus diesem Grund wurde die Nierenfunktion in einem Beobachtungszeitraum von 2 bis 3 Monaten im Anschluss an die Therapie bestimmt.

2. Methodik

2.1. Versuchstiere

Für die vorliegende Studie wurden 10 Wochen alte Balb C Mäuse mit einem Gewicht zwischen 20 und 24 g (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) verwendet. Alle Tierexperimente erfolgten unter Berücksichtigung und Einhaltung der Vorschriften der Tierschutzverordnung und wurden im Vorfeld durch die Regierung von Oberbayern genehmigt. Die Tierhaltung erfolgte im Tierlabor der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität München, Campus Großhadern. Den Mäusen wurde freier Zugang zu Wasser und pelletierter Nahrung gewährt.

2.2. Pharmaka und Radiopharmaka

Der β -Strahler Lutetium-177 (n.c.a.; no carrier added) wurde von der Isotope Technologies Garching GmbH (Garching, Deutschland) bezogen. Das Somatostatin-Analogon DOTA⁰,TYR³-octreotate wurde bei ABX advanced biochemical compounds (Dresden, Deutschland) bestellt. Die radioaktive Markierung des β -Strahlers und des Somatostatin-Analogons erfolgte durch einen Radiochemiker der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin und wurde entsprechend bereits publizierter Protokolle durchgeführt [38, 39].

Technetium-99m-Mercaptoacetyltriglycyl (Tc-99m-MAG3) wurde von Covidien, Neustadt/Donau, Deutschland bezogen.

Die Pharmaka zur medikamentösen Begleittherapie (Pravastatin, Enalapril, Spironolacton, Tween 20[®]) und alle Anästhetika wurden bei Sigma Aldrich (Taufkirchen, Deutschland) bestellt.

2.3. Nierenfunktionsszintigraphie mit Tc-99m-MAG3

Die dynamische Nierenfunktionsszintigraphie erfolgte unter Verwendung des Hippuran-Analogons Mercaptoacetyltriglycyl welches mit dem γ -Strahler Technetium-99m markiert wurde (Tc-99m-MAG3). Der Ablauf der Szintigraphie erfolgte in Analogie zu bereits publizierten tierexperimentellen Studien, in denen primär Ischämie-Reperfusionsschäden der Nieren untersucht wurden [34-36]. Nach Einleitung einer intraperitonealen (i.p.) Narkose mit einer Kombination von Ketamin (75 mg/kg KG) und Medetomidin (1 mg/kg KG) wurden die Mäuse auf einer beheizbaren Matte gelagert um ein Abkühlen zu verhindern und die Körpertemperatur konstant unter physiologischen Bedingungen bei ca. 37° Celsius zu halten.

Im Anschluss an die Lagerung an der Kamera erfolgte über die Schwanzvene eine Bolus-Injektion mit Tc-99m-MAG3. Hierfür wurde eine Standard-Dosis von $2,5 \times 10^7$ Becquerel (Bq) Tc-99m-MAG3 verwendet, welches in 150 μ l 0,9% Kochsalzlösung gelöst wurde.

Mit Injektion des Radionuklids erfolgte die Akquisition der dynamischen Szintigraphie. Hierzu wurden Ganzkörper-Aufnahmen der Mäuse unter Verwendung eines Kopfes einer 3-Kopf-Gamma-Kamera (Philips – davor Picker – Prism 3000 XP, Cleveland, USA) akquiriert, der mit einem LEHR Kollimator (low energy – high resolution Kollimator) ausgestattet war.

Die dynamische, planare Messung wurde in 144 einzelne Bildframes von je 5 Sekunden Dauer unterteilt, was zu einer Gesamtmesszeit von 12 Minuten führte. Die Bildvergrößerung wurde auf den Faktor 4 eingestellt.

2.4. Auswertung der szintigraphischen Datensätze

Die Auswertung erfolgte unter Verwendung der Software Hermes Dynamic Study Display in der Version 4.0 (Hermes Gold V2.10, Hermes Medical Solutions, Stockholm/London) und orientierte sich an der bereits erwähnten Studie von Herrler et al. aus unserer Arbeitsgruppe. In dieser Studie wurde mittels Nierenszintigraphie ein Kompartment-Syndrom der Nieren nach

Ischämie-Reperfusion untersucht [35]. Unter Verwendung der Hermes Dynamik Study Display Software konnte anhand eines standardisierten „region of interest“ (ROI) Verfahrens die Anzahl der radioaktiven Countraten in den jeweiligen relevanten Organstrukturen bestimmt werden. Hierzu wurden manuell ROIs über den Ganzkörper, beide Nieren, jeweilige peri-renale Hintergrund-Referenzregionen, Blutpool im Herzen sowie die Injektionsstelle gezogen.

Abbildung Nummer 1 zeigt die schematische Darstellung der jeweiligen ROIs.

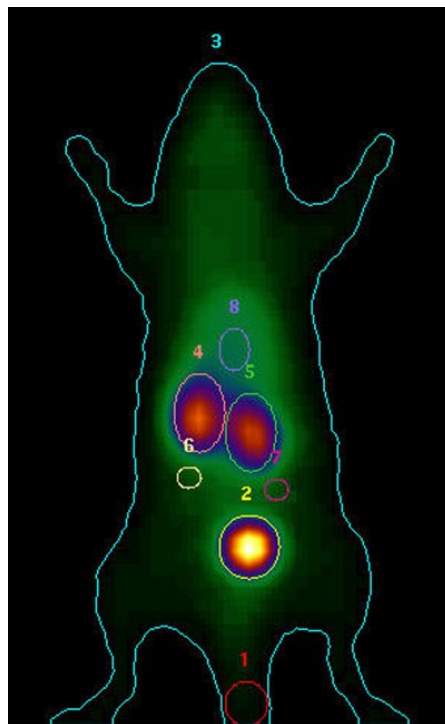


Abbildung 1: Szintigraphische Summationsaufnahme nach 12 Minuten Messzeit.

Zeit-Aktivitätskurven wurden an Hand einer standardisierten, manuellen "region of interest" (ROI) Auswertung generiert. Die ROIs umfassen die Injektionsstelle (1), die Blase (2), den Ganzkörper (3), beide Nieren (4 & 5), Nieren-Hintergründe (6 & 7) und den Blutpool (8).

2.5. Erstellung und Beurteilung der Renogramm-Kurven

Die akquirierten, dynamischen Aktivitäts- bzw. Count-Daten innerhalb der Messzeit wurden zur Generierung von Zeit-Aktivitätskurven in Microsoft Excel (Microsoft Office 2010, Microsoft Corporation, USA) exportiert. Die Nierenfunktion wurde mittels Excel somit als Nephrogramm- bzw. Renogramm-Kurve dargestellt.

Diese Kurven stellen die „percentage of injected dose“ (%ID), den prozentualen Anteil der injizierten Aktivität, im zeitlichen Verlauf dar. Die Berechnung der %ID erfolgte für beide Nieren durch Division der Count-Raten in Hintergrund-korrigierten Nieren-ROI durch die Ganzkörper-ROI, welche wiederum um die residuelle Aktivität beziehungsweise die Count-Raten in der Injektionsstelle korrigiert wurde.

Die Beurteilung der Renogramm-Kurven folgte primär visuellen Kriterien und orientiert sich an der Beurteilung der Zeit-Aktivitätskurven in Patienten-Untersuchung aus der klinischen Praxis.

Als Maß für die Ausscheidungsfähigkeit der Nieren dient in den Zeit-Aktivitäts-Kurven die Steigung. Ein hoher Abfall in den Kurven geht mit einer guten bzw. erhaltenen Ausscheidungsfunktion einher. Des Weiteren liefern die maximalen Countraten in den Nieren („peak %ID“) und die Zeit bis zum Erreichen des Maximums („time-to-peak“) relevante Informationen über die Nierenfunktion. Ein höherer „peak“ bei kurzer „time-to-peak“ ist mit einer besseren Nierenfunktion gleichzusetzen.

2.6. Bestimmung der „fractional uptake rate“ (FUR)

Die fractional uptake rate (FUR) beschreibt die prozentuale Aufnahme eines radioaktiven Tracers in ein Organ pro Zeiteinheit und dient somit in dieser Studie als Surrogat für die Nierenfunktion. Die Berechnung der FUR konnte bereits in mehreren Studien erfolgreich eingesetzt werden. In einem Mausmodell von Ischämie-Reperfusion-Nierenschäden konnten Herrler et al.

zudem nachweisen, dass die Berechnung der FUR erfolgreich im Rahmen der Langzeit-Verlaufskontrolle geeignet ist [36].

Die mathematische Grundlage und Berechnung der FUR basiert auf der Formel $FUR = P(0) \cdot (k_i + k_r) / (ID)$, die mehrmals von Patlak et al. beschrieben wurde [40]. Der Wert $P(0)$ stellt die Plasma-Clearance Kurve $[P(t)]$ zum Zeitpunkt "Null" dar und wird in Counts pro Sekunde [c/s] angegeben. $P(0)$ kann durch Rückrechnung mittels eines mono-exponentiellen fittings der Daten zum Zeitpunkt $P(t)$ bestimmt werden. Die Werte k_i and k_r stellen die Steigung der linearen Uptake-Segmente des Patlak-Rutland Plots für die linke und die rechte Niere dar. „ID“ steht für die injizierte Aktivität.

Eine Software zur Berechnung der FUR wurde von Hermes Medical Solutions bereitgestellt (Renalcurve V3.0 B1). Die Einheit der FUR wird in %ID pro Zeiteinheit (Minuten) angegeben.

2.7. Gliederung und Ablauf der Studie

Die Studie gliederte sich in zwei Abschnitte. Im ersten Studienabschnitt wurde eine minimale, szintigraphisch messbare Therapiedosis für Lu-177-DOTA-TATE im Mausmodell bestimmt. Im zweiten Studienabschnitt erfolgte die Evaluierung der genannten pharmakologischen Begleittherapien hinsichtlich einer Reduktion der strahleninduzierten Nephropathie nach PRRT.

2.7.1. Identifikation der nephrotoxischen Minimaldosis

Im ersten Abschnitt wurden dosis-abhängige Wechselwirkungen zwischen der applizierten Therapiedosis im Rahmen der Lu-177-DOTA-TATE Therapie und der Nierenfunktion untersucht. Zur Bestimmung der normwertigen, prä-therapeutischen Nierenfunktion (Baseline) wurde in einer Gruppe von 12 Mäusen eine Tc-99m-MAG3-Szintigraphie an Tag 0 durchgeführt. Diese Gruppe wurde aus jeweils drei zufällig ausgewählten Mäusen der jeweiligen Therapiegruppen zusammengestellt. In den Therapiegruppen erfolgte eine Zuordnung zur Radionuklid-Therapie in folgender Dosierung:

Gruppe 1:	n=6, 10 MBq Lu-177-DOTA-TATE
Gruppe 2:	n=8, 20 MBq Lu-177-DOTA-TATE
Gruppe 3:	n=7, 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE
Gruppe 4:	n=7, 65 MBq Lu-177-DOTA-TATE

Die PRRT erfolgte an Tag 2. Nach Einleitung einer i.p.-Narkose mit Ketamin (75 mg/kg KG) und Medetomidin (1mg/kg KG) wurden die Tiere auf einer beheizbaren Matte gelagert. Lu-177-DOTA-TATE wurde über einen Katheter in die Schwanzvene injiziert.

Zur Bestimmung der Nierenfunktion erfolgten an den Tagen 9, 23, 44 und 65 Tc-99m-MAG3 Nierenfunktionsszintigraphien. An Tag 65 wurden die Mäuse durch zervikale Dislokation euthanasiert und die Nieren zur histologischen Beurteilung entnommen.

2.7.2. Evaluation neuer nephroprotektiver Pharmaka nach PRRT

Im zweiten Abschnitt der Studie wurde das nephroprotektive Potential pharmakologischer Begleittherapien im Rahmen einer PRRT untersucht.

Nachdem im ersten Studienabschnitt die minimale, nierenschädigende und zudem szintigraphisch messbare Therapiedosis für Lu-177-DOTA-TATE identifiziert wurde, wurde in diesem Studienabschnitt mit eben dieser Dosis ebenfalls eine PRRT an Tag 2 durchgeführt.

Ab Tag 2 erfolgte zudem eine medikamentöse, täglich per Magensonde applizierte Begleittherapie mit entweder dem HMG-CoA Reduktase Inhibitor Pravastatin, dem ACE-Hemmer Enalapril und dem Aldosteron-Antagonisten Spironolacton bis zur Beendigung der Studie. Die Kontrollgruppen erhielten eine ebenfalls tägliche und per Magensonde verabreichte Gabe der jeweiligen Vehikel-Substanzen (steriles Wasser und Polysorbat 20 (Tween 20[®]), das zur Lösung von Spironolacton verwendet wurde). Die jeweilige Dosis der applizierten Medikamente orientierte sich an den in der Literatur bereits

vorbeschriebenen und verwendeten Werten in vorausgegangenen Mausmodellen [41-43]. Eine Zuordnung zu den jeweiligen Medikamenten-Gruppen und Dosen erfolgte wie folgt:

- Gruppe A: n=7, Pravastatin (5 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser
- Gruppe B: n=7, Enalapril (10 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser
- Gruppe C: n=8, Spironolacton (6 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser und 0,1% Tween 20
- Gruppe D: n=8, steriles Wasser mit 0,1% Tween 20
- Gruppe E: n=6, steriles Wasser

Die Durchführung der PRRT erfolgte wie oben beschrieben an Tag 2. Als Therapiedosis wurden im zweiten Studienabschnitt 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE verwendet. Die Nierenfunktion wurde mittels Tc-99m-MAG3 Szintigraphien an den Tagen 9, 23, 44 und 65 und 86 ermittelt. An Tag 86 wurden die Mäuse durch zervikale Dislokation euthanasiert und die Nieren zur histologischen Beurteilung entnommen.

Abbildung 2 gibt einen Überblick über den Aufbau und Verlauf der Studie.

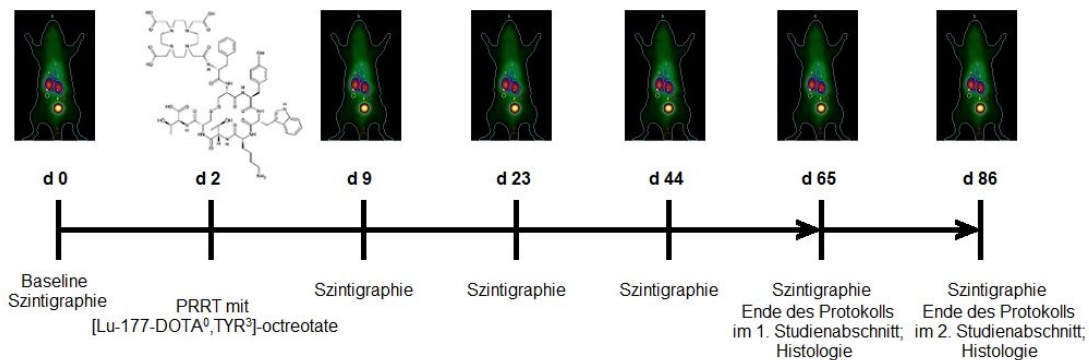


Abbildung 2: Studienprotokoll und experimentelles Design.

Im ersten Studienabschnitt erfolgte die Nierenfunktionsszintigraphie mit Tc-99m-MAG3 an den Tagen 0 (Baseline-Messung), 9, 23, 44, und 65 zudem an Tag 86 im zweiten Studienabschnitt. Die Therapie mit $[Lu-177-DOTA^0, TYR^3]-octreotate$ erfolgte in beiden Studienteilen an Tag 2.

2.7.3. Identifikation PRRT-unabhängiger Nierenfunktionsveränderungen im zeitlichen Verlauf

Die durchschnittliche Lebenserwartung einer Maus beträgt ca. 2-3 Jahre. Somit stellt der im Rahmen dieser Studie aufgestellte Beobachtungszeitraum von 65 bzw. 86 Tagen eine relativ lange Zeitspanne dar. Zur Erkennung einer möglichen Verzerrung der Ergebnisse durch Lu-177-DOTA-TATE-unabhängiger Nierenfunktionsveränderungen wurde eine zusätzliche Gruppe von n=7 Mäusen kreiert. Diese Gruppe erhielt keine PRRT. Die Nierenfunktion wurde in Analogie zu den Therapiegruppen bis zum Tag 86 durch wiederholte Tc-99m-MAG3 Szintigraphien bestimmt.

2.8. Beurteilung histopathologischer Veränderungen

Am Ende des jeweiligen Studienabschnittes wurden die Mäuse durch zervikale Dislokation euthanasiert. Die Nieren wurden nach Entfernung in 4% Formalin fixiert und im Anschluss in Paraffin eingebettet. Mittels eines Mikrotoms wurden histologische Schnitte in 2-4 µm Schichtdicke angefertigt und im Anschluss mit Perjodsäure-Schiffscher Reagenz (periodic acid-Schiff reagent, PAS) und Haematoxylin-Eosin (H.E.) gefärbt. Die histopathologische Beurteilung erfolgte in Analogie zu bereits publizierten Arbeiten in Ratten, in denen die Auswirkung einer PRRT im Rattenmodell untersucht wurde [21, 22].

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die histologischen Beurteilungskriterien.

Grad	Überblick	Glomeruli	Tubuli
mild	Weitgehend unauffälliges Erscheinungsmuster; hohe glomeruläre Zelldichte	Endothel-Apoptose; Entzündliche Zellinfiltrate	Tubuläre Apoptose; Geringe Dilatation; Basalmembran unauffällig Keine Proteinzyylinder
moderat	Tubuläre Dilatation; Tubulärer Zellschaden	Endothel-Apoptose; Entzündliche Infiltrate	Zunehmende Apoptose; Betontere Dilatation; Basalmembran verdickt Kleine Proteinzyylinder; Zellregeneration (Mitose)
betont	Zunehmende tubuläre Dilatation; Zellreiche Infiltrate	Vaskuläre Lumina vermindert; Wenige Erythrozyten	Epithelverflachung; Verlust des Epithels; Zunehmende Dilatation; Entzündliche Zellinfiltrate; Zellregeneration; Zunehmende Basalmembranverdickung
schwer	Ausgeprägte tubuläre Dilatation	Wie Grad 3; Glomeruläre Schrumpfung	Wie Grad 3; Leere Zylinder; Fibrose

Tabelle 1:

Histologische Beurteilungskriterien (adaptiert von Rolleman et. al, EJMNI 2007 [21])

2.9. Statistische Auswertung

Zahlenwerte wurden als Mittelwert \pm S.E.M (standard error of the mean) angegeben.

Die Normalverteilung der Daten wurde mittels Shapiro-Wilk-Test überprüft. Der abhängige und unabhängige T-Test (Zweistichproben) wurde angewandt um statistisch signifikante Unterschiede zwischen normalverteilten Ergebnissen zu ermitteln. Der Mann-Whitney-U-Test wurde verwendet falls die Ergebnisse nicht normalverteilt waren. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant eingestuft.

3. Ergebnisse

3.1. Erster Studienabschnitt – Identifikation der nephrotoxischen Dosis für Lu-177-DOTA-TATE

3.1.1. Renogramm-Kurven – 1. Studienabschnitt

Die „peak %ID“ stellt sich im Vergleich zur Baseline-Messung in Gruppe 1 weitgehend unverändert, in den Gruppen 2 und 3 erhöht und in Gruppe 4, welche mit der höchsten Dosis Lu-177-DOTA-TATE therapiert wurde, vermindert dar. Eine ähnliche Tendenz spiegelt sich für die „time-to-peak“ wieder: weitgehend unverändert in Gruppe 1, verlängert in den Gruppen 2 und 3 und vermindert in Gruppe 4. Eine Reduktion der Steigung, welche eine verminderte Ausscheidungsfunktion der Nieren widerspiegelt, zeigt sich insbesondere in Gruppe 3.

Eine Übersicht die Renogramm-Kurven in den unterschiedlichen Gruppen zum Ende des Beobachtungszeitraumes ist in Abbildung 3 zu sehen.

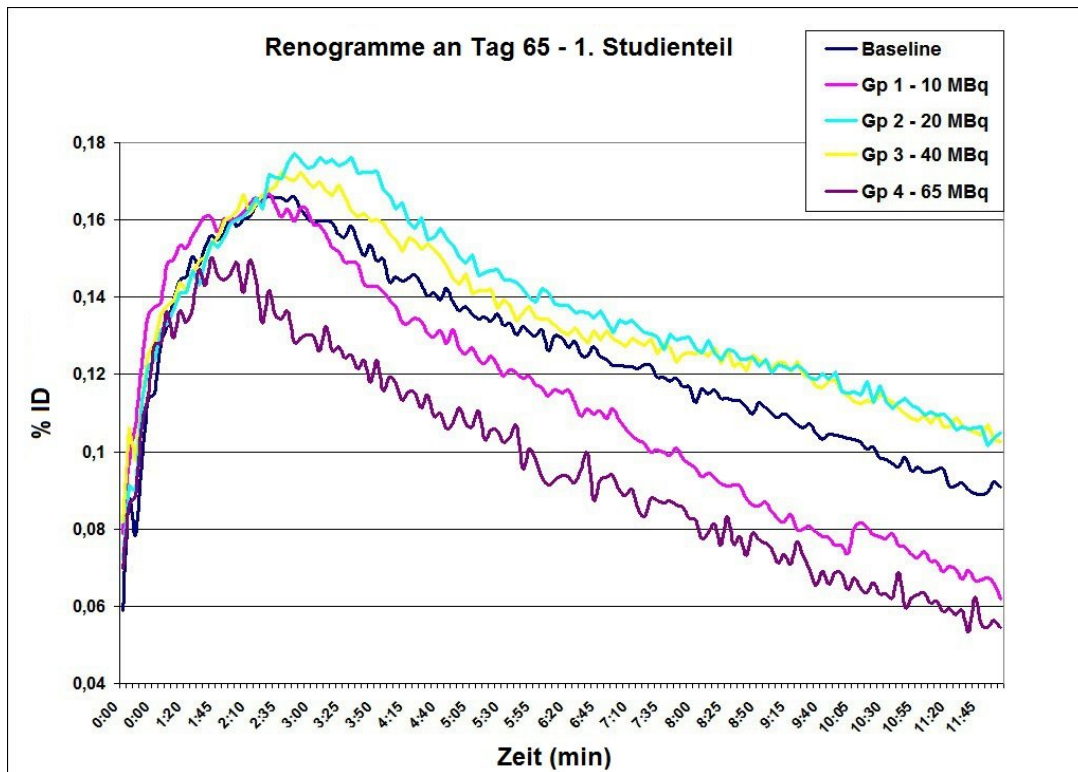


Abbildung 3: Renogramm-Kurven an Tag 65.

Eine reduzierte Nierenfunktion spiegelt sich in vermindertem Aktivitäts-Uptake und reduzierter Steigung der Kurven wieder. Standardabweichung zur besseren Übersicht nicht abgebildet.

3.1.2. FUR-Werte – 1. Studienabschnitt

Im Vergleich zur Baseline-Messung zeigt sich in allen Therapiegruppen eine signifikante Reduktion der FUR-Werte an Tag 9 ($p < 0,01$) (Abbildung 4). Während des Beobachtungszeitraumes erholt sich die FUR jedoch in Gruppe 1 nahezu vollständig. Diese, mit der niedrigsten Dosis von 10 MBq Lu-177-DOTA-TATE therapierte Gruppe zeigt an Tag 65 keine signifikanten Unterschiede zur Baseline-Messung ($11,2 \pm 0,5$ %ID/min versus $11,0 \pm 0,4$ %ID/min). Ähnliche Ergebnisse präsentieren sich in Gruppe 2, die mit der nächst höheren Therapiedosis von 20 MBq therapiert wurde ($10,4 \pm 0,5$ %ID/min an Tag 65). Die FUR-Werte in den Gruppen mit den beiden höchsten Therapiedosen (Gruppe 3: 40 MBq; Gruppe 4: 65 MBq) weisen zwar ebenfalls eine zunächst ansteigende Tendenz bezüglich der FUR-Werte auf, am letzten Tag des

Beobachtungszeitraumes jedoch ist eine dosis-abhängige, im Vergleich zur Baseline signifikante Reduktion der FUR-Werte nachweisbar (Gruppe 3: 8.9 ± 0.6 %ID/min ($p < 0.05$); Gruppe 4: 6.0 ± 0.8 %ID/min ($p < 0.01$)).

In Abbildung 4 sind zudem die entsprechenden FUR-Werte der Kontroll-Gruppe ohne PRRT (gelbe Kurven) abgebildet.

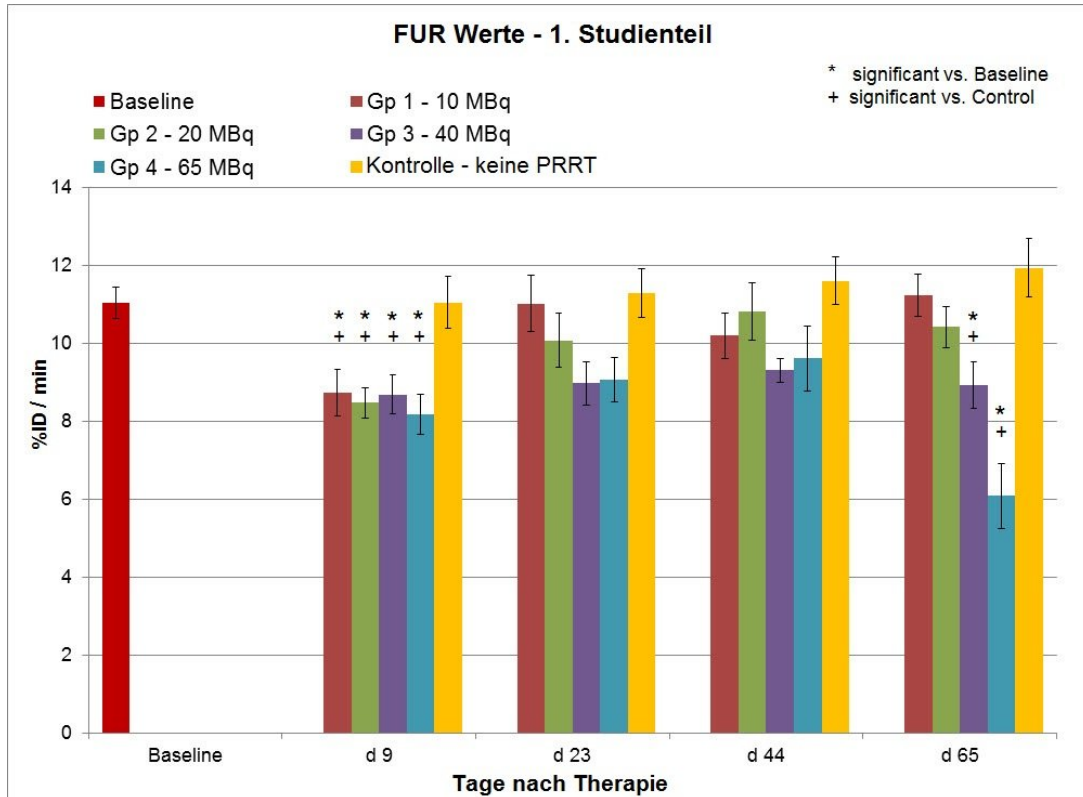
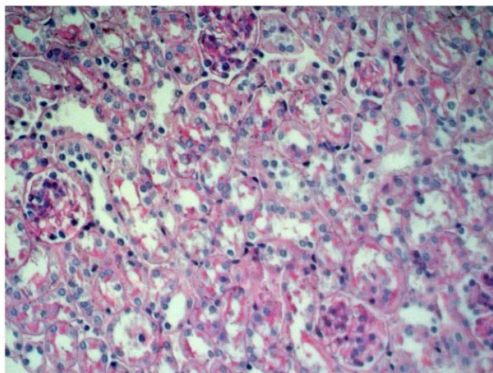


Abbildung 4: FUR-Werte für den 1. Studienabschnitt im Beobachtungszeitraum ab der Baseline-Messung bis Tag 65.

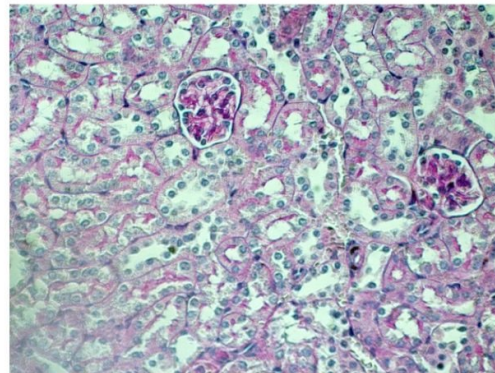
Alle Therapiegruppen zeigen eine signifikante Reduktion an Tag 9. Steigende FUR-Werte bis Tag 65 ergeben sich in den Gruppen mit 10 MBq und 20 MBq, wohingegen die FUR-Werte in den 40 MBq und 65 MBq Gruppen weiterhin signifikant reduziert bleiben. Des Weiteren sind die Werte der nicht therapierten Kontrollgruppe angegeben (gelbe Spalte).

3.1.3. Histologische Veränderungen – 1. Studienabschnitt

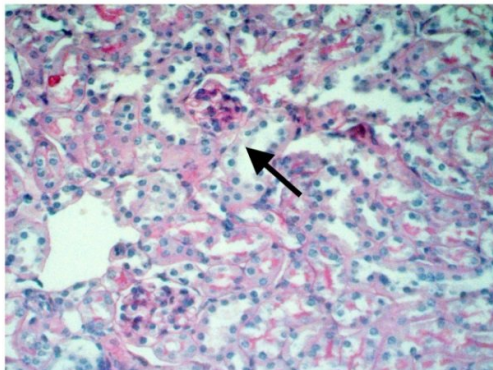
Die histologischen Schnitte an Tag 65 deuten auf zunehmende Nierenschäden (tubuläre Dilatation und Verdickung der Basalmembran) mit zunehmender Therapiedosis hin (Abbildung 5). Insbesondere in den Gruppen mit 40 und 65 MBq Therapiedosis zeigen sich geschrumpfte Glomeruli und tubuläre Schäden. Nekrotische Veränderungen im Sinne einer direkten Strahlennekrose sind jedoch in keiner der Therapiegruppen nachweisbar.



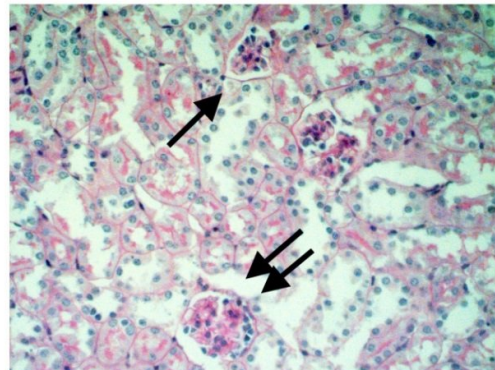
Gruppe 1 (10 MBq)



Gruppe 2 (20 MBq)



Gruppe 3 (40 MBq)



Gruppe 4 (65 MBq)

Abbildung 5: Histologische Schnitte (PAS-Färbung) an Tag 65 im ersten Studienabschnitt.

Mit zunehmender Therapiedosis zeigt sich eine zunehmende Nierenschädigung im Sinne glomerulärer Schrumpfung (Pfeil), Verdickung der Basalmembran und tubulärer Dilatation (Doppel-Pfeil).

3.2. Zweiter Studienabschnitt – Evaluation neuer nephroprotektiver Pharmaka im Rahmen der PRRT

In Zusammenschau deuten die Renogramm-Kurven, Auswertung der FUR-Werte und die histologische Beurteilung im ersten Abschnitt der Studie auf einen szintigraphisch messbaren und histologisch verifizierbaren Nierenschaden in den beiden Therapiegruppen mit höherer Dosis hin (Gruppe 3 mit 40 MBq Therapiedosis und Gruppe 4 mit 65 MBq Therapiedosis). Um einen Kompromiss zwischen einem noch messbaren und zu exzessiven Nierenschaden zu finden, wurde für den zweiten Abschnitt dieser Studie eine Therapiedosis von 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE ausgewählt.

3.2.1. Renogramm-Kurven – 2. Studienabschnitt

Alle Gruppen zeigen eine im Vergleich zur Baseline-Messung reduzierte „peak %ID“ auf. Die niedrigsten „peak %ID“ Werte zeigen sich jedoch in den beiden Kontroll-Gruppen und weisen somit auf einen ausgeprägten Nierenschaden hin. Die mit Pravastatin therapierte Gruppe zeigt zwar ebenfalls eine reduzierte „peak %ID“, hat jedoch Vergleich zu den Kontrollgruppen eine stärkeren Abfall im Kurvenverlauf, was wiederum auf eine im Vergleich erhaltenere Exkretionskapazität beziehungsweise Ausscheidungsfunktion und somit bessere Nierenfunktion hinweist.

In den mit dem ACE-Hemmer Enalapril und dem Aldosteron-Antagonisten Spironolacton therapierten Gruppen zeigt sich die höchste „peak %ID“ bei guter Exkretionskapazität der Nieren, was ebenfalls auf eine erhaltene Nierenfunktion hinweist (Abbildung 6).

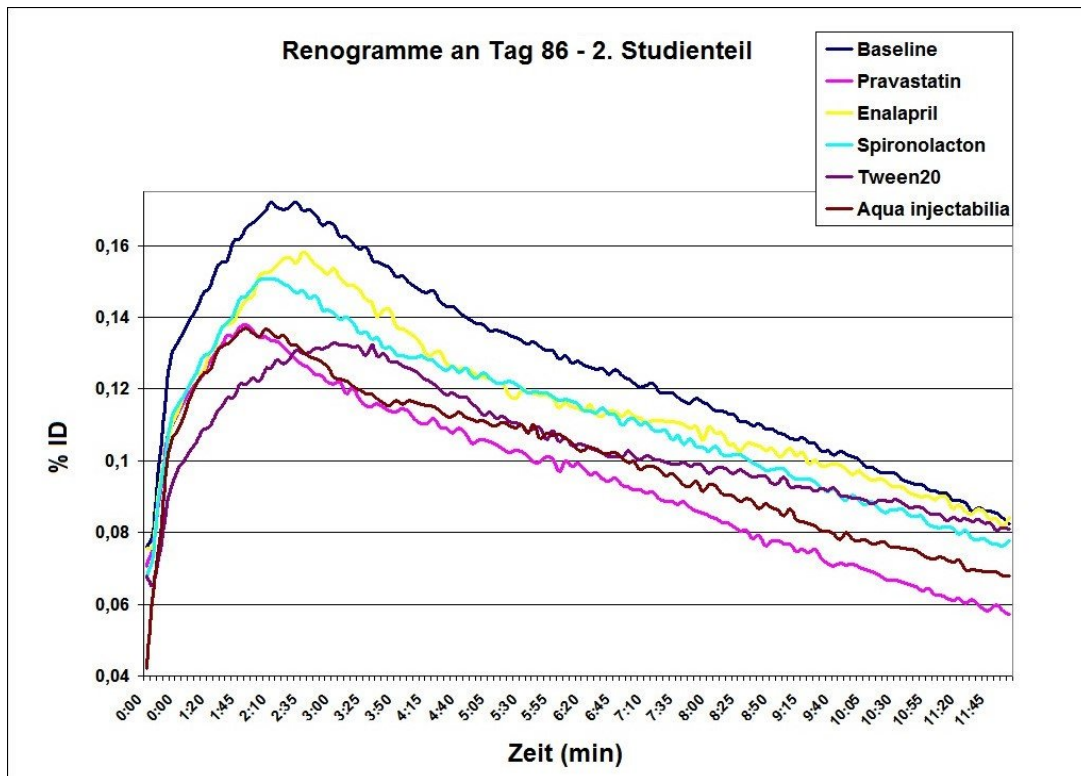


Abbildung 6: Renogramm-Kurven an Tag 86 im zweiten Studienabschnitt.

Alle Gruppen zeigen eine reduzierte „peak %ID“ im Vergleich zur Baseline-Messung. Ein flacher Kurvenverlauf und verlängerte „time-to-peak“ deuten auf Nierenfunktionseinschränkung in den beiden Kontroll-Gruppen hin, wohingegen der vergleichsweise höhere Abfall in den Renogrammen der pharmakologisch behandelten Gruppen auf eine normwertige renale, Exkretionskapazität hinweist.

3.2.2. FUR-Werte – 2. Studienabschnitt

Wie bereits im ersten Studienabschnitt zeigen sich an Tag 9 signifikant reduzierte FUR-Werte in allen Therapiegruppen ($p < 0.01$). Im Rahmen der Verlaufskontrolle können sich jedoch in den pharmakologisch therapierten Gruppen die FUR-Werte erholen, so dass sich im Vergleich zur Baseline-Messung in der Pravastatin-Gruppe bereits ab Tag 44 und in der Enalapril- und Spironolacton-Gruppe an Tag 86 keine statistisch relevanten Unterschiede mehr zeigen. In den mit den Vehikel-Substanzen therapierten Kontrollgruppen ergeben sich jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg

signifikant reduzierte FUR-Werte im Vergleich zur Baseline-Messung ($9,3 \pm 0,6$ %ID/min in beiden Kontrollgruppen versus $12,5 \pm 0,3$ %ID/min zur Baseline; $p < 0,01$). An Tag 86 ergaben sich in den Gruppen mit medikamentöser Begleittherapie keine signifikanten Unterschiede zur Baseline-Messung (Pravastatin: $11,6 \pm 0,8$ %ID/min; Enalapril: $11,8 \pm 0,5$ %ID/min; Spironolacton: $11,8 \pm 0,6$ %ID/min), was auf eine erhaltene Nierenfunktion hinweist.

Ein Vergleich der FUR-Werte der pharmakologisch behandelten Gruppen zu den beiden Vehikelgruppen untermauert die nephroprotektiven Eigenschaften anhand statistisch relevanter Unterschiede im Vergleich (Pravastatine: $p < 0,05$ versus Wasser und Tween; Enalapril: $p < 0,05$ versus Tween und $p < 0,01$ versus Wasser; Spironolactone: $p < 0,01$ versus Tween und Wasser).

Abbildung 7 gibt einen graphischen Überblick über die FUR-Werte in den verschiedenen Gruppen; zudem ist erneut die Kontrollgruppe ohne PRRT an den entsprechenden Messtagen aufgeführt (gelbe Kurve).

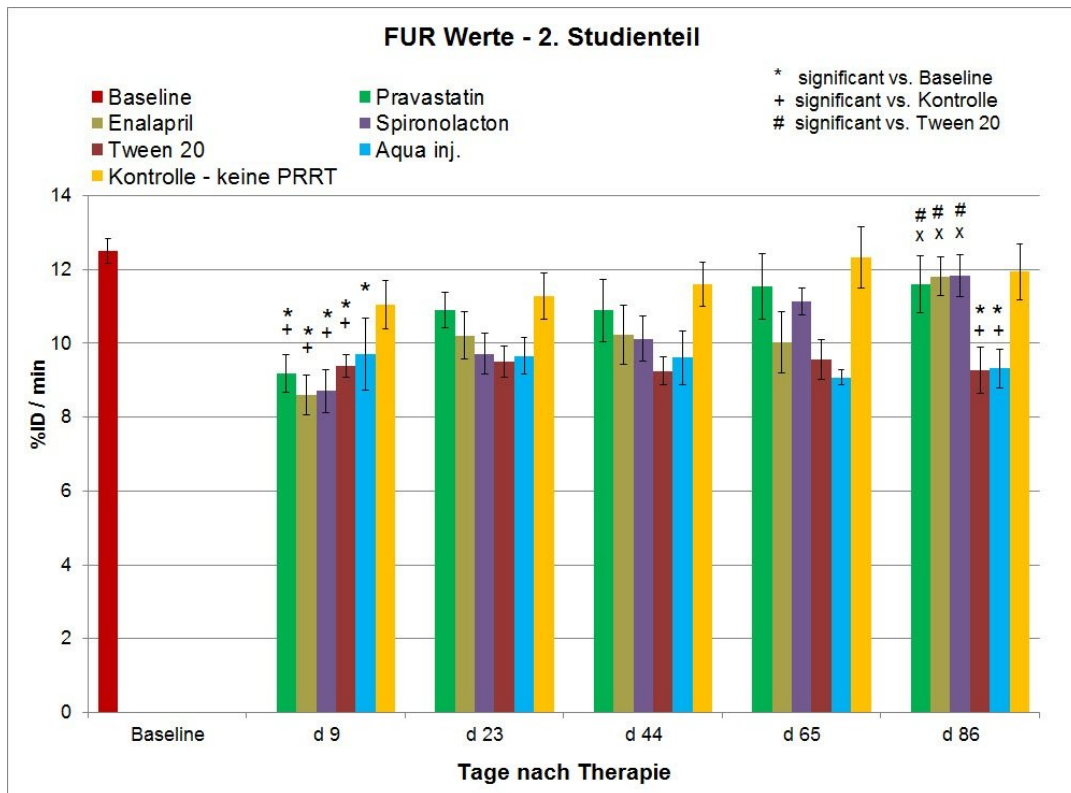
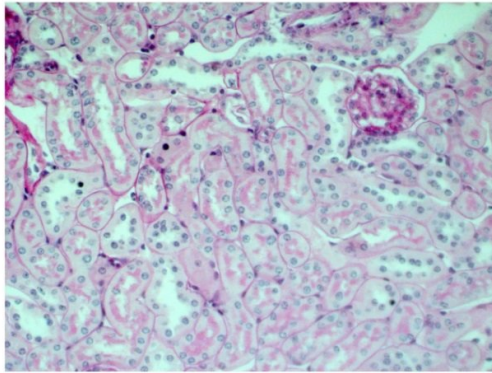


Abbildung 7: FUR-Werte zur Baseline und an Tag 9, 23, 44, 65 und 86 im zweiten Studienabschnitt.

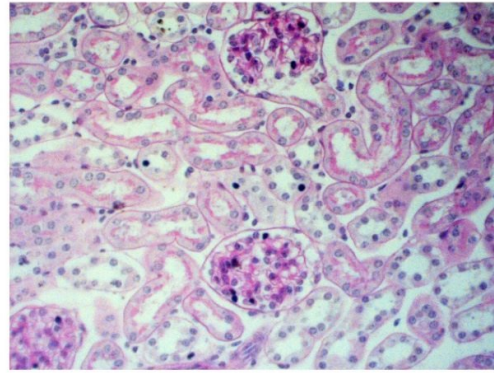
Erniedrigte FUR-Werte sind in allen Therapie-Gruppen an Tag 9 zu sehen. In den medikamentös behandelten Gruppen steigt die FUR bis Tag 86 an, wohingegen sie in den beiden Vehikel-Gruppen im Vergleich zur Baseline und nicht therapierten Kontrollgruppe vermindert bleibt.

3.2.3. Histologische Veränderungen – 2. Studienabschnitt

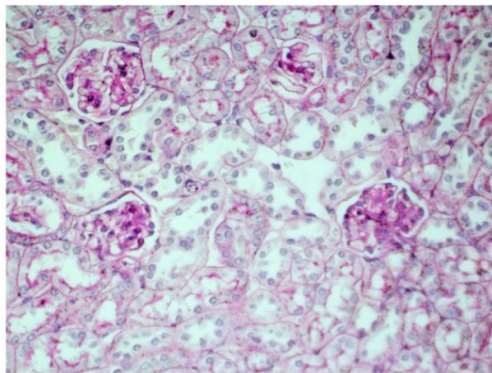
Wie in Abbildung 8 erkennbar ist in den Vehikel-Kontrollgruppen ein Nierenschaden im Sinne tubulärer Dilatation, Verdickung der Basalmembran und glomerulärer Schrumpfung zu sehen (betont bis schwer). Tubuläre Dilatation zeigt sich auch in der Spironolacton-Gruppe (moderat). In der Pravastatin- und Enalapril-Gruppe ergibt sich kein Hinweis auf Nierenparenchym-Schäden.



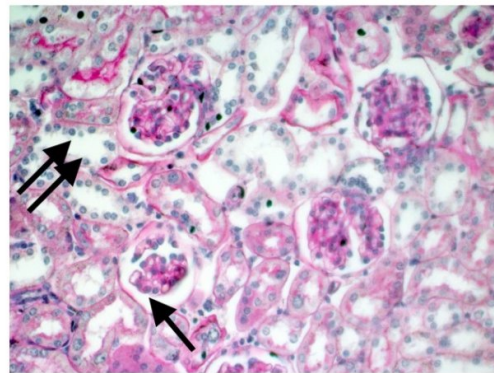
Gruppe A (Pravastatin)



Gruppe B (Enalapril)



Gruppe C (Spironolacton)



Kontrolle (Gruppe D - Tween 20)

Abb. 8: Histologische Schnitte (PAS-Färbung) an Tag 86 im zweiten Abschnitt der Studie. Schäden im Nierenparenchym in Form von geschrumpften Glomeruli (Pfeil), Verdickung der Basalmembran und tubulärer Dilatation (Doppelpfeil) zeigen sich in den beiden Kontrollgruppe (im Bild: Kontroll-Tier aus der Tween-Gruppe) und weisen insgesamt auf einen betontem bis ausgeprägtem Nierenschaden hin. Tubuläre Dilatation zeigt sich zudem in den Spironolacton-Gruppe (moderater Nierenschaden). In der Pravastatin- und Enalapril-Gruppe zeigen sich keine Nierenparenchym-Schäden.

3.3. Nicht-therapierte Kontrollgruppe (keine PRRT)

Während des Beobachtungszeitraumes bis zu Tag 88 ergaben sich in dieser Kontrollgruppe, in der keine PRRT erfolgte, keine relevanten Veränderungen der Nierenfunktion. Alle Parameter der Renogramme stellten sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes im Wesentlichen konstant dar. Die Auswertung der FUR-Werte am letzten Tag der Verlaufskontrolle zeigten signifikante

Unterschiede im Vergleich zu den beiden Vehikel-Gruppen des Therapie-Armes auf, wohingegen sich die Werte im Vergleich zu den pharmakologisch therapierten Gruppen nicht statistisch relevant unterschieden haben (FUR an Tag 88: $11,9 \pm 0,8$ %ID/min; $p < 0,05$ versus Tween und Wasser). Die FUR-Kurven sind in die Abbildungen der beiden Studienabschnitte an den relevanten Messtagen angefügt (Abbildung 4 und 7). Histopathologisch ergaben sich in dieser Gruppe keine Nierenparenchymschäden.

4. Diskussion

4.1. Die strahleninduzierte Nephropathie nach PRRT

Die strahleninduzierte Nephropathie stellt neben der Hämatoxizität den therapie-limitierenden Faktor im Rahmen einer PRRT dar. Auf Grund der renalen Elimination und teilweisen Rückresorption der radioaktiv markierten Somatostatin-Analoga kommt es zu einer übermäßigen Bestrahlung des tubulären Systems mit den verwendeten β -Strahlern [14, 15]. Ein in der Literatur angegebener, allerdings kontrovers diskutierter Schwellenwert für eine kumulative Strahlendosis der Nieren bis 23 Gy gilt als unbedenklich im Rahmen der PRRT. Diese Daten wurden jedoch anhand von Erfahrung mit exogenen Strahlenquellen abgeleitet und beruhen nicht auf dosimetrischen Erfahrungen aus der PRRT [44].

Dieser – theoretische – Grenzwert ist zudem in Anbetracht der niedrigeren Energiedosis, kürzeren Reichweite im Gewebe und der spezifischen Verteilungsmuster der in der PRRT verwendeten Radionuklide im Vergleich zu exogenen Strahlenquellen nur eingeschränkt gültig. Andere Ergebnisse deuten auf einen unbedenklichen Nieren-Grenzwert von 40 Gray (Gy) hin, sofern keine Risikofaktoren für eventuelle Nierenschäden wie beispielsweise Diabetes mellitus oder Arterieller Hypertonus, vorliegen [45, 46].

Insgesamt jedoch sind Berichte über PRRT-induzierte Nierenschäden erfreulicherweise selten. Ein Vergleich der beiden gängigsten, in der PRRT verwendeten Radiopeptide, Lu-177-DOTA-TATE und Y-90-DOTA-TOC, deutet auf ein deutlich vermindertes nephrotoxisches Risikoprofil für Lu-177-DOTA-TATE hin [46, 47]. Diese Tatsache beruht vermutlich auf den verschiedenen physikalischen Eigenschaften der beiden β -Strahler. Y-90 hat ein im Vergleich höheres β -Energie-Spektrum und die höhere Reichweite im Gewebe im Vergleich zu Lu-177 (Y-90: 935 keV und ca. 12 mm; Lu-177: 130 keV und ca. 2 mm).

Höhere Dosen Lu-177-DOTA-TATE führten jedoch im Tiermodell zu messbaren Nierenschäden [22]. Eine Reduktion der nephrotoxischen Nebenwirkungen könnte somit die Möglichkeit bieten die verabreichte Dosis pro PRRT-Zyklus

und / oder die Anzahl der PRRT-Zyklen zu steigern. Dies wiederum hätte erwartungsgemäß ein höheres Therapieansprechen von NET-Patienten zur Folge.

Diese Überlegungen führten zur Grundidee dieser Studie. In einem Mausmodell der mittels Lu-177-DOTA-TATE Therapie induzierten Nephropathie sollten pharmakologische Begleittherapien hinsichtlich ihrer nephroprotektiven Eigenschaften untersucht werden. Hierfür wurden Pharmaka ausgewählt, die bereits im Rahmen der strahleninduzierten Nephropathie durch sowohl exogene Bestrahlung (ACE-Hemmer) [17, 29, 30], als auch durch interne α -Bestrahlung (Aldosteron-Antagonisten) [33] erfolgreich eingesetzt werden konnten. Des Weiteren wurde eines der verwendeten Pharmaka (HMG-Co-A Reduktase Inhibitor Pravastatin) erfolgreich zur Prävention Carboplatin-Therapie assoziierter Nierenschäden eingesetzt [32]. Die Ausbildung einer für die PRRT typischen mikroangiopathischen Veränderung, die sogenannte thrombotische Mikroangiopathie (TMA) konnte ebenfalls erfolgreich durch Pravastatin-Therapie verhindert werden [31].

4.2. Relevanz der Tc-99m-MAG3 Szintigraphie mit Bestimmung der FUR

Bei histologisch bereits verifizierbaren Nierenschäden zeigten renale Retentionsparameter wie beispielsweise Harnstoff oder Kreatinin im Rattenmodell erst bis zu sechs Wochen im Anschluss an eine PRRT ansteigende Werte [37]. Aus diesem Grund wurde die Tc-99m-MAG3 Szintigraphie zur Verlaufskontrolle der Nierenfunktion nach PRRT verwendet. Die MAG3-Szintigraphie ermöglicht eine non-invasive, individuelle Bestimmung der Nierenfunktion im Rahmen der strahleninduzierten Nephropathie, wohingegen Laborparameter wie beispielsweise das Serum-Kreatinin auch Zeit-abhängige Wechselwirkungen zeigen können [36].

Da zum Zeitpunkt der tierexperimentellen Studie die Daten bezüglich nierenschädigender Schwellenwerte für Mausstudien mit Lu-177-DOTA-TATE fehlten, ging der Evaluation nephroprotektiver Pharmaka eine

Dosisfindungsstudie voraus. Die Etablierung eines Mausmodells der Lu-177-DOTA-TATE Therapie ist insbesondere in Anbetracht der Verfügbarkeit verschiedener immunsupprimierter Mausmodelle von großer Bedeutung. Der Einsatz unterschiedlicher Mausmodelle könnte einen tieferen Einblick in die Pathophysiologie der bisher relativ unbekannteren, PRRT-assoziierten strahleninduzierten Nephropathie gewähren.

Aus der klinischen Praxis wurden die Renogramm-Kurven übernommen. Die verschiedenen Charakteristika der verschiedenen Renogramme („peak %ID“, „time-to-peak“, Kurvenverlauf) ermöglichten es, im ersten Studienabschnitt an Tag 65 einen szintigraphisch messbaren Schwellenwert für eine nierenschädigende Minimaldosis von Lu-177-DOTA-TATE zu bestimmen. Die Renogramm-Analyse ergab jedoch eine hohe Variabilität, so dass zusätzlich die FUR-Methode eingesetzt wurde. Die FUR-Analyse stellte im Vergleich zur eher qualitativen Beurteilung der Renogramm-Kurven einen quantitativen und wesentlich sensitiveren Index für die Bestimmung eines nephrotoxischen Grenzwertes dar.

Darüber hinaus ermöglichte die FUR-Analyse eine deutlich besser quantifizierbare Verlaufskontrolle und zeigte an Tag 9 unabhängig von der applizierten Therapiedosis verminderte Werte. Die Erholung der Nierenfunktion im Verlauf bzw. die deutlich dosis-abhängige, im zeitlichen Verlauf zunehmende Einschränkung der Nierenfunktion konnten ebenfalls mithilfe der FUR-Methode dargestellt werden. Die Tatsache, dass sogar in der Minimaldosis-Gruppe mit 10 MBq Lu-177-DOTA-TATE an Tag 9 vermutlich akut-toxische und nicht chronifizierende Nierenveränderungen messbar werden, unterstreicht nochmals die Bedeutung der FUR-Bestimmung.

Die Überlegenheit der FUR-Berechnung im Vergleich zur alleinigen Renogramm-Analyse ist zudem in einem Mausmodell des Ischämie-Reperfusionsschadens beschrieben worden [36]. Hier stellte die FUR-Analyse die insgesamt sensitivere Methode dar, was sich in der vorliegenden Studie bestätigt.

In Zusammenschau der FUR-Ergebnisse, der Renogramm-Kurven und den histologischen Veränderungen, wurde für den zweiten Studienabschnitt eine Therapiedosis von 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE gewählt. Dieser Schwellenwert ermöglicht eine Beurteilung der nephroprotektiven Eigenschaften

pharmakologischer Begleittherapien ohne das Risiko einer irreversiblen Nierenschädigung durch zu hohe Lu-177-DOTA-TATE Dosis.

4.3. Pharmakologische Nephroprotektion

Wie bereits erwähnt stellt die antagonistische Blockade des Megalin-Transporters im tubulären System eine etablierte Methode zur Minimierung des PRRT-induzierten Strahlenschadens dar. Durch Co-Infusion basischer Aminosäuren wird die Rückresorption radioaktiv markierter Somatostatin Analoga im proximalen Nierentubulus signifikant reduziert [6].

Eine andere Möglichkeit zur Reduktion des Strahlenschadens stellt jedoch die Möglichkeit dar, strahleninduzierte pathophysiologische Veränderungen – wie beispielsweise Fibrose und Apoptose – zu minimieren. Das Anti-Oxidant Amifostine führte beispielsweise im Rattenmodell nach Lu-177-DOTA-TATE Therapie zu einer Reduktion des oxidativen Stress [48].

Eine zweizeitige Therapie mit Aminosäuren und Anti-Oxidantien könnte somit einen synergistischen Effekt bedeuten. Dies wiederum könnte den strahleninduzierten Nierenschaden weiter minimieren. Studien hierzu stehen jedoch aktuell aus.

Wie bereits erwähnt sind eine Beteiligung des RAAS sowie spezifische histopathologische Veränderungen, wie beispielsweise Nierenfibrose und TMA, entscheidend in der Pathophysiologie der strahleninduzierten Nephropathie [26].

Daher ist es wahrscheinlich, dass eine medikamentöse Beeinflussung des RAAS oder die Ausbildung der TMA einen weiteren Angriffspunkt zur Minimierung des Nierenschadens im Rahmen der PRRT darstellen könnten. Für alle drei, in dieser Studie verwendeten Pharmaka konnte ein nephroprotektives Potential im Rahmen von pathologischen Veränderungen, die denen der PRRT-induzierten Nephropathie ähneln, demonstriert werden.

Der ACE-Hemmer Enalapril konnte im Rahmen von Tierexperimenten erfolgreich zur Verhinderung einer strahleninduzierten Nephritis und Fibrose

eingesetzt werden [29, 49]. Der zu Grunde liegende Mechanismus ist ungewiss. Diskutiert werden jedoch Veränderungen des glomerulären Kapillardrucks und eine Reduktion des zirkulierenden Angiotensin II, was insgesamt zu einer besseren Durchblutung des Glomerulums führt [29].

In dieser Studie konnte eine Enalapril-Therapie ebenfalls erfolgreich zur Prävention PRRT-induzierter Nierenschäden eingesetzt werden, wie durch die FUR- und Renogramm-Analyse demonstriert werden konnte. Die histologische Beurteilung ergab eine nicht geschädigte Parenchymstruktur.

Die Forschungsgruppe um Jaggi et al. hingegen zeigte eher enttäuschende Ergebnisse mit einem anderen ACE-Inhibitor (Captopril), der zur Verringerung des Nierenschadens nach endogener Applikation Actinium-225 markierter Antikörper, also α -Strahlern, verwendet wurde [33]. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten aber auch von verschiedenen physikalischen und biologischen Grundlagen herrühren. Die unterschiedliche renale Ausscheidung von Antikörpern und von Somatostatin-Analoga könnte einen Einfluss auf die Bestrahlung der Nieren haben. Zudem sind die Toxizitätsprofile für α -Strahler und β -Strahler unterschiedlich und nur schwer vergleichbar. Darüber hinaus wurde Captopril in der Studie von Jaggi et al. über das Trinkwasser verabreicht (500 mg/l), was wiederum auf Grund der unterschiedlichen Trinkmenge zu einer nicht messbaren und reproduzierbaren ACE-Hemmung führen kann. Der wichtigste Punkt jedoch ist, dass die Überprüfung der Nierenfunktion auf Laborparametern beruhte, wohingegen die MAG3 basierte Nierenfunktionsszintigraphie und die FUR-Bestimmung Teil dieser Studie waren.

Jaggi et al. konnten jedoch Erfolge mit dem Aldosteron-Antagonisten Spironolacton und dem Angiotensin II Rezeptor-1 Blocker L-158,809 erzielen [33]. Nach Jaggi et al. beruhen die positiven Effekte des Aldosteron-Antagonismus aus einer verminderten Bildung nephrotoxischer Proteine, wie beispielsweise Endothelin-1, das wiederum Nierenzellen in Apoptose überführen kann [50]. Auch in der vorliegenden Studie konnte der Aldosteron-Antagonist Spironolacton die Nierenfunktion signifikant verbessern. Die histologische Beurteilung ergab jedoch einen moderaten Nierenschaden. Das wiederum legt den Verdacht nahe, dass histologische Nierenschäden nicht

unbedingt zu szintigraphisch messbaren Funktionseinschränkungen führen müssen. Die Frage, ob die morphologischen Veränderungen an Tag 86 zu einem späteren Zeitpunkt auch zu funktionellen Einbußen geführt hätten, lässt sich aktuell nicht beantworten. Die Zusammenschau der FUR-Werte im Verlauf und der Renogramm-Kurven deutet jedoch auf eine kontinuierlich verbesserte Nierenfunktion hin, so dass ein histopathologischer Befundprogress mit zunehmenden pathologischen Veränderungen insgesamt unwahrscheinlich erscheint. Eine histologische Auswertung zu einem späteren Zeitpunkt würde hier jedoch zur weiteren Beurteilung weiterhelfen.

Wie bereits erwähnt stellt die TMA einen typischen histopathologischen Befund sowohl nach externer Strahlentherapie [26] als auch nach PRRT dar [17]. Die Antiphospholipid-Antikörper induzierte TMA konnte im Mausmodell durch den HMG-CoA Reduktase-Inhibitor Pravastatin verhindert werden [31]. Der Mechanismus dieser Eigenschaft ist unklar. Zudem ist Pravastatin nicht nur ein Hemmer der Cholesterin-Synthese. Auch im Rahmen der Reduktion von oxidativem Stress konnte Pravastatin erfolgreich verwendet werden [32]. Die exakte Pathophysiologie der TMA nach PRRT bleibt jedoch weiterhin unbekannt.

Nichtsdestotrotz erschien der Einsatz von Pravastatin zur Nephroprotektion im Rahmen der PRRT sehr vielversprechend. Nephroprotektive Eigenschaften wurden des Weiteren im Rahmen der Carboplatin-Therapie assoziierten Nephropathie im Mausmodell beschrieben [32].

In der vorliegenden Studie konnte eine Begleittherapie mit Pravastatin Nierenschäden nach Lu-177-DOTA-TATE Therapie verringern. FUR-Werte an Tag 86 zeigten keine signifikanten Unterschiede zu denen der Baseline-Messung vor Durchführung der Therapie sowie denen der Kontrollgruppe ohne PRRT. In den Renogramm-Kurven zeigte sich zwar im Vergleich zur Enalapril- oder Spironolacton-Gruppe eine reduzierte „peak %ID“, die Exkretionskapazität war jedoch erhalten. Dies wiederum spricht für eine erhaltene Nierenfunktion, was durch die unauffällige Histologie bestätigt werden konnte.

Des Weiteren konnten in allen Gruppen unabhängig von Therapiedosis und erfolgter Begleittherapie in der Akutphase von einer Woche nach Lu-177-

DOTA-TATE Therapie signifikant reduzierte FUR-Werte nachgewiesen werden. Da jedoch zugunsten der longitudinalen Verlaufskontrolle keine histologischen Schnitte an Tag 9 angefertigt wurden, können etwaige strukturelle Veränderungen nicht mit funktionellen Veränderungen korreliert werden. Dies liefert jedoch insbesondere relevante Aspekte für Folgestudien, da ja zudem wie bereits erwähnt morphologische Veränderungen in der funktionell unauffälligen Spironolacton-Gruppe beobachtet werden konnten.

4.4. Einschränkungen dieser Studie

4.4.1. Lu-177 versus Y-90

In dieser Studie wurde zur Ausbildung einer strahleninduzierten Nephropathie im Rahmen einer PRRT der β -Emitter Lu-177-DOTA-TATE verwendet. Wie bereits erwähnt werden im klinischen Alltag im Rahmen der Radionuklid-Therapie bevorzugt zwei Radiopharmaka verwendet: Lu-177-DOTA-TATE und Y-90-DOTATOC. Relevante Nierenfunktionseinschränkungen wurden insbesondere für Y-90-DOTATOC beschrieben, das eine im Vergleich zu Lu-177 höhere Energiedosis sowie tiefere Reichweite im Gewebe aufweist [46, 47]. In der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität München wird die PRRT ausschließlich mit Lu-177-DOTA-TATE durchgeführt. Bei mindestens vergleichbaren Ansprechraten im Vergleich zur Y-90-DOTATOC Therapie ist das Risiko einer strahleninduzierten Nephropathie deutlich geringer [6]. Insgesamt wäre somit eine Y-90-DOTATOC Therapie im Mausmodell dieser Studie wahrscheinlicher für die Entwicklung strahleninduzierter Nierenschäden gewesen. Höhere Therapiedosen bei Patienten mit NET könnten jedoch mit höheren Ansprechraten assoziiert sein. Höhere Therapiedosen steigern jedoch auch das Risiko strahleninduzierter Nierenschäden. Aus diesem Grunde wurde in dieser Studie die PRRT ebenfalls mit Lu-177-DOTA-TATE durchgeführt. Zur Identifikation der nephrotoxischen Schwellendosis erfolgte zunächst eine Dosis-Identifikations-Studie.

4.4.2. Radionuklide der Nierenfunktionsszintigraphie

Die Bestimmung der Nierenfunktion basierte auf Ergebnissen der planaren MAG3-Szintigraphie über einen Zeitraum bis zu drei Monaten nach erfolgter PRRT.

In Ratten konnte demonstriert werden, dass MAG3 einen hoch-sensitiven Marker zur Identifikation funktioneller Nierenschäden in einem Beobachtungszeitraum von 4 Monaten nach Lu-177-DOTA-TATE Therapie darstellt [51].

Weitere szintigraphische Untersuchungen mit beispielsweise Meso-2,3, Dimercapto-Succinylsäure (DMSA) zur Identifikation parenchymatöser Schäden oder Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) zur Identifikation von strahlenabhängiger Veränderungen der glomerulären Filtrationsrate könnten einen weiteren Einblick in die Pathomechanismen der strahleninduzierten Nephropathie liefern. Da sich in den FUR-Auswertung beispielsweise in der Spironolacton-Gruppe normwertige Funktionsparameter bei histologisch verifizierbarem – wenn auch geringem – Parenchymschaden ergaben, könnte ein längerer Beobachtungszeitraum mit konsekutiver histologischer Mit-Beurteilung ebenfalls zur genaueren Beurteilung der pathophysiologischen Veränderungen beitragen.

Unterschiedliche Untersuchungsmethoden im längeren zeitlichen Verlauf gehen jedoch auch mit höheren Tierzahlen einher.

4.4.3. Der Einsatz einer planaren Gammakamera

Der Einsatz eines Kopfes einer drei-köpfigen Gammakamera zur szintigraphischen Identifikation strahleninduzierter Nierenfunktionsveränderungen konnte durch unsere Arbeitsgruppe erfolgreich demonstriert werden. Es gibt jedoch diverse Arbeitsgruppen, die den Einsatz dedizierter Kleintier-SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) Kameras demonstriert haben [51, 52]. Vergleichsstudien zur Ausarbeitung einer wahrscheinlichen Überlegenheit der SPECT-Bildgebung versus planarer

Szintigraphie stehen jedoch aktuell aus. Allerdings ist beispielsweise eine „voxel of interest“ (VOI) basierte Auswertung der dynamischen Datensätze aller Voraussicht nach akkurater als die ROI-basierte, bei der es zu ungewollten Überlagerungen durch andere Organe (beispielsweise Leber und Milz) kommen kann. Dies wiederum könnte zur genaueren Bestimmung der Nierenfunktion führen, konnte jedoch auf Grund der fehlenden Ausrüstung nicht erprobt werden.

4.4.4. Dosierungen der nephroprotektiven Medikamente

Zum Zeitpunkt des Studienbeginns war die Lu-177-DOTA-TATE Therapie im Mausmodell in der Literatur nur unzureichend vorbeschrieben. In dieser Studie wurde zudem erstmals eine pharmakologische Nephroprotektion nach PRRT im Mausmodell erforscht. Aus diesem Grunde erfolgte die Dosisbestimmung anhand bereits publizierter präklinischer Studien, die den Einsatz der verwendeten Medikamente beispielsweise im Rahmen der Nephropathie anderer Genese erprobt hatten. Eine Dosis-Wirkbeziehung wäre jedoch mit Sicherheit akkurater gewesen. Nichtsdestotrotz zeigten alle verwendeten Pharmaka in der applizierten Dosis protektive Eigenschaften.

5. Schlussfolgerung und Ausblick

Eine szintigraphisch messbare Nierenfunktionseinschränkung konnte in der vorliegenden Mausstudie nach Lu-177-DOTA-TATE Therapie in einer Dosierung von mindestens 40 MBq nachgewiesen und mittels Histologie verifiziert werden. Pharmakologische Begleittherapien mit dem HMG-CoA-Reduktase Inhibitor Pravastatin, dem ACE-Hemmer Enalapril und dem Aldosteron-Antagonisten Spironolacton konnten diesen messbaren Nierenschaden innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von drei Monaten im Anschluss an die PRRT erfolgreich verhindern.

Diese Medikamente könnten somit eine erfolversprechende Therapie-Option zur Verringerung der dosis-limitierenden, strahleninduzierten Nierenschädigung sein. Dies geht folglich mit höheren Therapiedosen und / oder zusätzlich durchführbaren Therapiezyklen einher, was ein höheres Therapie-Ansprechen für Patienten mit NET bedeuten könnte.

Unter klinischen Bedingungen könnte der ACE-Hemmer Enalapril auf Grund des geringen Nebenwirkungsspektrums und des erfolgreichen Einsatzes bei Patienten mit renalen Risikofaktoren, wie beispielsweise arterieller Hypertonus oder Diabetes mellitus, eine gute Option sein. Die verwendeten Medikamente werden jedoch insbesondere bei Patienten mit eben jenen Risikofaktoren eingesetzt. Diese wiederum gehen wie bereits erwähnt mit einem erhöhten Risiko der PRRT-induzierten Nephrotoxizität einher [46]. Eine patientenbezogene Dosimetrie nach PRRT in Zusammenschau mit den klinischen Diagnosen und der Medikamentenanamnese könnte wertvolle Informationen zur Klärung dieses Sachverhaltes liefern und wird aktuell von der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Insgesamt bestätigt sich anhand dieser Mausstudie jedoch die klinische Relevanz der longitudinalen Nierenfunktionsbeurteilung an Hand der Nierenfunktionsszintigraphie im Anschluss an die PRRT.

6. Zusammenfassung

Die strahleninduzierte Nephropathie stellt neben der Hämatoxizität den Dosis- und Therapie-limitierenden Faktor im Rahmen der Peptid-Rezeptor-Radionuklid-Therapie (PRRT) dar. Die PRRT ist eine nuklearmedizinische Therapieoption in der multimodalen Therapie Neuroendokriner Tumore (NET). NETs stellen eine seltene, heterogene Tumorentität mit überwiegendem Ursprung in neuroendokrinen Zellen des gastro-entero-pankreatischen Systems und des Bronchialsystems dar. Die überwiegende Mehrzahl gut differenzierter NETs exprimiert beziehungsweise überexprimiert an der Zelloberfläche Somatostatin-Rezeptoren. Diese Eigenschaft macht man sich in der Nuklearmedizin zu diagnostischen und auch therapeutischen Zwecken zu Nutze. Im Rahmen der PRRT mit [Lu-177-DOTA⁰,TYR³]-octreotate (Lu-177-DOTA-TATE) werden radioaktiv markierte Somatostatin-Analoga intravenös verabreicht. Das Prinzip der Therapie beruht auf einer endogenen Bestrahlung der Tumorzellen nach Anbindung an die auf der Zelloberfläche der NET exprimierten Somatostatin-Rezeptoren. Die Ansprechraten nach PRRT sind insgesamt vielversprechend. Allerdings stellt die bereits erwähnte, strahleninduzierte Nephropathie auf Grund der renalen Elimination und partiellen Rückresorption der radioaktiv markierten Somatostatin-Analoga einen Therapie-limitierenden Faktor dar. Maßnahmen zur Verringerung beziehungsweise Verhinderung des Strahlenschadens sind bereits bekannt. So führt beispielsweise die Co-Infusion von Aminosäuren während der PRRT zu einer signifikant reduzierten Rückresorption des Radiopharmakons, was wiederum einen nephroprotektiven Effekt bedeutet. Zusätzliche nephroprotektive Maßnahmen könnten das Risiko der strahleninduzierten Nierenschädigung weiter reduzieren, was wiederum eine potentielle Erhöhung der Therapiedosis und Steigerung der Therapiezyklen bedeuten könnte.

In strahlenexponierten Nierenpräparaten zeigt sich sowohl nach exogener Radiatio als auch nach endogener Bestrahlung im Rahmen der PRRT ein ähnliches histopathologisches Bild. Pharmakologische Begleittherapien mit Angiotensin-Converting-Enzyme Hemmern (ACE-Hemmern) zeigten bereits im

Rahmen der exogenen Radiatio nephroprotektive Eigenschaften. Ähnliche Eigenschaften konnten zudem für weitere, das Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS-System) beeinflussende Medikamente, wie beispielsweise für den Aldosteron-Antagonisten Spironolacton nachgewiesen werden. In einem Mausmodell der endogenen Bestrahlung durch α -Strahler markierte Antikörper konnte eine Begleittherapie mit Spironolacton strahleninduzierte Nierenschäden verringern. Der 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym-A Reduktase Inhibitor (HMG-CoA Reduktase Inhibitor) Pravastatin ist ebenfalls nephroprotektiv wirksam. Für Pravastatin wurde beispielsweise die Fähigkeit zur Verhinderung einer Thrombotischen Mikroangiopathie (TMA), einem typischen histopathologischen Befundmuster nach erfolgter PRRT, demonstriert. Ziel dieser Studie war es den Einsatz dieser Medikamente im Hinblick auf eine mögliche Reduktion der strahleninduzierten Nephropathie im Rahmen einer PRRT im Mausmodell zu untersuchen.

In diesem Mausmodell sollte die Nierenfunktion mittels non-invasiver, dynamischer Technetium-99m-Mercaptoacetyltriglycyl (Tc-99m-MAG3) Nierenfunktionsszintigraphie im Verlauf dargestellt werden. Die szintigraphischen Datensätze wurden zur Generierung von Zeit-Aktivitätskurven (Renogramme) und Berechnung der „fractional uptake rate“ (FUR) verwendet. Die FUR beschreibt die Aufnahme eines Tracers pro Zeiteinheit in ein Organ und dient in diesem Zusammenhang als Korrelat für die Nierenfunktion. Die szintigraphischen Messungen erfolgten dynamisch über 12 Minuten an einem Kopf einer dreiköpfigen Gamma-Kamera nach Injektion des Radiopharmakons über die Schwanzvene.

Da die nephrotoxischen Eigenschaften für Lu-177-DOTA-TATE zum Zeitpunkt der Studie im Mausmodell unbekannt waren, gliederte sich der Versuchsablauf in zwei Abschnitte:

Im ersten Abschnitt wurde die minimale, nierenschädigende Therapiedosis für Lu-177-DOTA-TATE im Mausmodell identifiziert. Hierzu erfolgte eine Gruppeneinordnung in vier aufsteigende Therapiedosen von 10 bis 65 Megabecquerel (MBq) Lu-177-DOTA-TATE:

- Gruppe 1: n=6, 10 MBq Lu-177-DOTA-TATE
- Gruppe 2: n=8, 20 MBq Lu-177-DOTA-TATE
- Gruppe 3: n=7, 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE
- Gruppe 4: n=7, 65 MBq Lu-177-DOTA-TATE

An Tag 0 erfolgte eine Baseline-Nierenszintigraphie zur Bestimmung der Nierenfunktion im Gesunden. An Tag 2 wurde die PRRT über intravenöse Injektion in die Schwanzvene durchgeführt. Im Anschluss an die PRRT wurde die Nierenfunktion szintigraphisch an den Tagen 9, 23, 44 und 65 bestimmt. An Tag 65 wurden die Tiere euthanasiert und die Nieren zur histopathologischen Beurteilung mittels PAS- und H.E.-Färbung entnommen.

Im zweiten Studienabschnitt erfolgte nach erneuter Baseline-Nierenszintigraphie an Tag 0 in allen Gruppen eine PRRT mit der im ersten Abschnitt identifizierten, nierenschädigenden Minimaldosis, welche ebenfalls an Tag 2 durchgeführt wurde.

Zur Evaluation nephroprotektiver Eigenschaften der erwähnten, pharmakologischen Begleittherapien erfolgte eine Zuordnung der Versuchstiere in folgende Gruppen:

- Gruppe A: n=7, Pravastatin (5 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser
- Gruppe B: n=7, Enalapril (10 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser
- Gruppe C: n=8, Spironolacton (6 mg/kg KG) gelöst in sterilem Wasser und 0,1% Polysorbat 20 zur Lösung
- Gruppe D: n=8, steriles Wasser mit 0,1% Polysorbat 20
- Gruppe E: n=6, steriles Wasser

Die Begleittherapien wurden den Versuchstieren täglich über eine Magensonde verabreicht. Die Nierenfunktionsszintigraphien zur Verlaufskontrolle der Nierenfunktion erfolgten an den Tagen 9, 23, 44, 65 und 88. An Tag 88 wurden die Tiere euthanasiert und die Nieren zur histopathologischen Beurteilung mittels PAS- und H.E.-Färbung entnommen.

Zur Beurteilung möglicher Nierenfunktionsveränderungen im zeitlichen Verlauf, die sich in Unabhängigkeit einer vorausgegangenen PRRT entwickeln, wurde eine weitere Kontrollgruppe generiert. In dieser Gruppe wurde daher keine PRRT durchgeführt.

Im ersten Studienabschnitt ergab sich in Zusammenschau der aus den szintigraphischen Zeit-Aktivitätskurven generierten Nierenfunktionskurven (den sogenannten Renogramm-Kurven), der FUR-Bestimmungen und der Histopathologie ein szintigraphisch messbarer und histologisch verifizierbarer Schaden ab einer Therapiedosis von 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE.

Aus diesem Grunde wurde im zweiten Studienabschnitt an Tag 2 eine PRRT mit 40 MBq Lu-177-DOTA-TATE durchgeführt. Diese Dosis spiegelt einen Kompromiss aus szintigraphisch messbarem Schaden und irreversibler Nierenschädigung auf Grund zu hoher Therapiesdosis wieder.

Im zweiten Studienabschnitt konnten für die Gruppen mit nephroprotektiver Begleittherapie unauffällige Nierenfunktionsparameter in Form regelrechter Renogramm-Kurven, im Verlauf normwertigen FUR-Werten und unauffälliger Histologie nachgewiesen werden. In der Spironolacton-Gruppe zeigte sich zwar an Tag 88 ein histopathologisch moderater Nierenschaden, dieser hatte jedoch keinen Einfluss auf die szintigraphisch bestimmten Nierenfunktionsparameter. Die Vehikel-Gruppen, die mit den Trägersubstanzen (steriles Wasser und Polysorbat 20) behandelt wurden, wiesen im Vergleich deutlich reduzierte Nierenfunktionsparameter und histopathologische Veränderungen auf.

Die Kontrollgruppe, bei der keine PRRT erfolgte, zeigte im Verlauf keine Nierenfunktionseinschränkungen beziehungsweise histologischen Veränderungen.

Zusammenfassend konnten somit für den ACE-Hemmer Enalapril, den HMG-CoA-Reduktase Inhibitor Pravastatin und für den Aldosteron-Antagonisten Spironolacton nephroprotektive Eigenschaften im Rahmen einer PRRT nachgewiesen werden. Somit könnten diese Begleittherapien weitere mögliche Maßnahmen zur Reduktion der strahleninduzierten Nephropathie darstellen.

7. Literaturverzeichnis

1. Winkler C. Radioaktives Jod zur Behandlung bösartiger Schilddrüsengeschwülste. *Verh Dtsch Ges Inn Med.* 1950;180.
2. American Thyroid Association Guidelines Taskforce on Thyroid N, Differentiated Thyroid C, Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association.* 2009;19:1167-214. doi:10.1089/thy.2009.0110.
3. Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, Komminoth P, Kos-Kudla B, de Herder WW, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. *Neuroendocrinology.* 2009;90:220-6. doi:10.1159/000225951.
4. Oberndorfer S. Karzinoide Tumoren des Dünndarms. *Frankf Z Pathol.* 1907;1:425-9.
5. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26:3063-72. doi:10.1200/JCO.2007.15.4377.
6. Haug AR, Bartenstein P. [Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors : Diagnosis and therapy in nuclear medicine.]. *Internist (Berl).* 2012. doi:10.1007/s00108-011-2918-0.
7. Kwekkeboom DJ, Mueller-Brand J, Paganelli G, Anthony LB, Pauwels S, Kvols LK, et al. Overview of results of peptide receptor radionuclide therapy with 3 radiolabeled somatostatin analogs. *J Nucl Med.* 2005;46 Suppl 1:62S-6S. doi:46/1_suppl/62S [pii].
8. Bushnell DL, Jr., O'Dorisio TM, O'Dorisio MS, Menda Y, Hicks RJ, Van Cutsem E, et al. 90Y-edotreotide for metastatic carcinoid refractory to octreotide. *J Clin Oncol.* 2010;28:1652-9. doi:JCO.2009.22.8585 [pii] 10.1200/JCO.2009.22.8585.
9. Imhof A, Brunner P, Marincek N, Briel M, Schindler C, Rasch H, et al. Response, survival, and long-term toxicity after therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [90Y-DOTA]-TOC in metastasized neuroendocrine cancers. *J Clin Oncol.* 2011;29:2416-23. doi:JCO.2010.33.7873 [pii] 10.1200/JCO.2010.33.7873.
10. Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Haldemann A, Mueller-Brand J. The clinical value of [90Y-DOTA]-D-Phe1-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumours: a clinical phase II study. *Ann Oncol.* 2001;12:941-5.
11. Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, van Eijck CH, van Essen M, Kooij PP, et al. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [177 Lu-DOTA 0,Tyr3]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol.* 2008;26:2124-30. doi:26/13/2124 [pii] 10.1200/JCO.2007.15.2553.

12. Claringbold PG, Brayshaw PA, Price RA, Turner JH. Phase II study of radiolabeled peptide 177Lu-octreotate and capecitabine therapy of progressive disseminated neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38:302-11. doi:10.1007/s00259-010-1631-x.
13. Bodei L, Cremonesi M, Grana C, Rocca P, Bartolomei M, Chinol M, et al. Receptor radionuclide therapy with 90Y-[DOTA]0-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31:1038-46. doi:10.1007/s00259-004-1571-4.
14. Duncan JR, Stephenson MT, Wu HP, Anderson CJ. Indium-111-diethylenetriaminepentaacetic acid-octreotide is delivered in vivo to pancreatic, tumor cell, renal, and hepatocyte lysosomes. *Cancer Res*. 1997;57:659-71.
15. de Jong M, Barone R, Krenning E, Bernard B, Melis M, Visser T, et al. Megalin is essential for renal proximal tubule reabsorption of (111)In-DTPA-octreotide. *J Nucl Med*. 2005;46:1696-700. doi:46/10/1696 [pii].
16. Cybulla M, Weiner SM, Otte A. End-stage renal disease after treatment with 90Y-DOTATOC. *Eur J Nucl Med*. 2001;28:1552-4. doi:10.1007/s002590100599.
17. Moll S, Nickeleit V, Mueller-Brand J, Brunner FP, Maecke HR, Mihatsch MJ. A new cause of renal thrombotic microangiopathy: yttrium 90-DOTATOC internal radiotherapy. *Am J Kidney Dis*. 2001;37:847-51. doi:S0272-6386(01)80135-9 [pii].
18. Stoffel MP, Pollok M, Fries J, Baldamus CA. Radiation nephropathy after radiotherapy in metastatic medullary thyroid carcinoma. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16:1082-3.
19. Barone R, Borson-Chazot F, Valkema R, Walrand S, Chauvin F, Gogou L, et al. Patient-specific dosimetry in predicting renal toxicity with (90)Y-DOTATOC: relevance of kidney volume and dose rate in finding a dose-effect relationship. *J Nucl Med*. 2005;46 Suppl 1:99S-106S. doi:46/1_suppl/99S [pii].
20. Otte A, Herrmann R, Heppeler A, Behe M, Jermann E, Powell P, et al. Yttrium-90 DOTATOC: first clinical results. *Eur J Nucl Med*. 1999;26:1439-47. doi:90261439.259 [pii].
21. Rolleman EJ, Krenning EP, Bernard BF, de Visser M, Bijster M, Visser TJ, et al. Long-term toxicity of [(177)Lu-DOTA (0),Tyr (3)]octreotate in rats. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34:219-27. doi:10.1007/s00259-006-0232-1.
22. Forrer F, Rolleman E, Bijster M, Melis M, Bernard B, Krenning EP, et al. From outside to inside? Dose-dependent renal tubular damage after high-dose peptide receptor radionuclide therapy in rats measured with in vivo (99m)Tc-DMSA-SPECT and molecular imaging. *Cancer Biother Radiopharm*. 2007;22:40-9. doi:10.1089/cbr.2006.353.
23. de Jong M, Rolleman EJ, Bernard BF, Visser TJ, Bakker WH, Breeman WA, et al. Inhibition of renal uptake of indium-111-DTPA-octreotide in vivo. *J Nucl Med*. 1996;37:1388-92.
24. Bodei L, Cremonesi M, Zoboli S, Grana C, Bartolomei M, Rocca P, et al. Receptor-mediated radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC in association with amino acid infusion: a phase I study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:207-16. doi:10.1007/s00259-002-1023-y.
25. Rolleman EJ, Valkema R, de Jong M, Kooij PP, Krenning EP. Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:9-15. doi:10.1007/s00259-002-0982-3.

26. Cohen EP, Robbins ME. Radiation nephropathy. *Seminars in nephrology*. 2003;23:486-99.
27. Cohen EP, Fish BL, Moulder JE. The renin-angiotensin system in experimental radiation nephropathy. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 2002;139:251-7.
28. Cohen EP, Fish BL, Moulder JE. Treatment of radiation nephropathy with captopril. *Radiation research*. 1992;132:346-50.
29. Moulder JE, Fish BL, Cohen EP. Treatment of radiation nephropathy with ACE inhibitors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993;27:93-9.
30. Juncos LI, Carrasco Duenas S, Cornejo JC, Broglia CA, Cejas H. Long-term enalapril and hydrochlorothiazide in radiation nephritis. *Nephron*. 1993;64:249-55.
31. Seshan SV, Franzke CW, Redecha P, Monestier M, Mackman N, Girardi G. Role of tissue factor in a mouse model of thrombotic microangiopathy induced by antiphospholipid antibodies. *Blood*. 2009;114:1675-83. doi:10.1182/blood-2009-01-199117.
32. Chen HH, Chen TW, Lin H. Pravastatin attenuates carboplatin-induced nephrotoxicity in rodents via peroxisome proliferator-activated receptor alpha-regulated heme oxygenase-1. *Molecular pharmacology*. 2010;78:36-45. doi:10.1124/mol.109.061101.
33. Jaggi JS, Seshan SV, McDevitt MR, Sgouros G, Hyjek E, Scheinberg DA. Mitigation of radiation nephropathy after internal alpha-particle irradiation of kidneys. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;64:1503-12. doi:10.1016/j.ijrobp.2005.11.036.
34. Roberts J, Chen B, Curtis LM, Agarwal A, Sanders PW, Zinn KR. Detection of early changes in renal function using ^{99m}Tc-MAG3 imaging in a murine model of ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293:F1408-12. doi:00083.2007 [pii] 10.1152/ajprenal.00083.2007.
35. Herrler T, Tischer A, Meyer A, Feiler S, Guba M, Nowak S, et al. The intrinsic renal compartment syndrome: new perspectives in kidney transplantation. *Transplantation*. 2010;89:40-6. doi:10.1097/TP.0b013e3181c40aba 00007890-201001150-00005 [pii].
36. Herrler T, Wang H, Tischer A, Bartenstein P, Jauch KW, Guba M, et al. [^{99m}Tc]MAG3 scintigraphy for the longitudinal follow-up of kidney function in a mouse model of renal ischemia-reperfusion injury. *EJNMMI Res*. 2012;2:2. doi:2191-219X-2-2 [pii] 10.1186/2191-219X-2-2.
37. Lewis JS, Wang M, Laforest R, Wang F, Erion JL, Bugaj JE, et al. Toxicity and dosimetry of (¹⁷⁷)Lu-DOTA-Y3-octreotate in a rat model. *Int J Cancer*. 2001;94:873-7.
38. Breeman WA, De Jong M, Visser TJ, Erion JL, Krenning EP. Optimising conditions for radiolabelling of DOTA-peptides with ⁹⁰Y, ¹¹¹In and ¹⁷⁷Lu at high specific activities. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:917-20. doi:10.1007/s00259-003-1142-0.

39. Kwekkeboom DJ, Bakker WH, Kooij PP, Konijnenberg MW, Srinivasan A, Erion JL, et al. [177Lu-DOTAOTyr3]octreotate: comparison with [111In-DTPA0]octreotide in patients. *Eur J Nucl Med*. 2001;28:1319-25.
40. Rutland M, Que L, Hassan IM. "FUR"--one size suits all. *Eur J Nucl Med*. 2000;27:1708-13.
41. Gross ND, Kempton JB, Trune DR. Spironolactone blocks glucocorticoid-mediated hearing preservation in autoimmune mice. *The Laryngoscope*. 2002;112:298-303. doi:10.1097/00005537-200202000-00018.
42. Fox KA, Longo M, Tamayo E, Kechichian T, Bytautiene E, Hankins GD, et al. Effects of pravastatin on mediators of vascular function in a mouse model of soluble Fms-like tyrosine kinase-1-induced preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2011;205:366 e1-5. doi:10.1016/j.ajog.2011.06.083.
43. Zheng F, Zeng YJ, Plati AR, Elliot SJ, Berho M, Potier M, et al. Combined AGE inhibition and ACEi decreases the progression of established diabetic nephropathy in B6 db/db mice. *Kidney Int*. 2006;70:507-14. doi:10.1038/sj.ki.5001578.
44. Emami B, Lyman J, Brown A, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1991;21:109-22.
45. Rolleman EJ, Melis M, Valkema R, Boerman OC, Krenning EP, de Jong M. Kidney protection during peptide receptor radionuclide therapy with somatostatin analogues. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37:1018-31. doi:10.1007/s00259-009-1282-y.
46. Bodei L, Cremonesi M, Ferrari M, Pacifici M, Grana CM, Bartolomei M, et al. Long-term evaluation of renal toxicity after peptide receptor radionuclide therapy with 90Y-DOTATOC and 177Lu-DOTATATE: the role of associated risk factors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35:1847-56. doi:10.1007/s00259-008-0778-1.
47. Valkema R, Pauwels SA, Kvols LK, Kwekkeboom DJ, Jamar F, de Jong M, et al. Long-term follow-up of renal function after peptide receptor radiation therapy with (90)Y-DOTA(0),Tyr(3)-octreotide and (177)Lu-DOTA(0), Tyr(3)-octreotate. *J Nucl Med*. 2005;46 Suppl 1:83S-91S.
48. Rolleman EJ, Forrer F, Bernard B, Bijster M, Vermeij M, Valkema R, et al. Amifostine protects rat kidneys during peptide receptor radionuclide therapy with [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34:763-71. doi:10.1007/s00259-006-0291-3.
49. Molteni A, Moulder JE, Cohen EP, Fish BL, Taylor JM, Veno PA, et al. Prevention of radiation-induced nephropathy and fibrosis in a model of bone marrow transplant by an angiotensin II receptor blocker. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2001;226:1016-23.
50. Hocher B, Rohmeiss P, Thone-Reineke C, Schwarz A, Burst V, van der Woude F, et al. Apoptosis in kidneys of endothelin-1 transgenic mice. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31 Suppl 1:S554-6.
51. Melis M, de Swart J, de Visser M, Berndszen SC, Koelewijn S, Valkema R, et al. Dynamic and static small-animal SPECT in rats for monitoring renal function after 177Lu-labeled Tyr3-octreotate radionuclide therapy. *J Nucl Med*. 2010;51:1962-8. doi:10.2967/jnumed.110.080143.

52. Jouret F, Walrand S, Parreira KS, Courtoy PJ, Pauwels S, Devuyst O, et al. Single photon emission-computed tomography (SPECT) for functional investigation of the proximal tubule in conscious mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;298:F454-60. doi:10.1152/ajprenal.00413.2009.

8. Danksagung

Mein größter Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Marcus Hacker und meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Alexander Haug. An dieser Stelle möchte ich mich für die hervorragende Betreuung im Rahmen dieser Doktorarbeit bedanken. Die fachliche Kompetenz, die zahlreichen Anregungen und die ansteckende Begeisterung für die Nuklearmedizin haben nicht nur wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen sondern vielmehr meine Begeisterung für dieses Fach geweckt und meine Berufswahl im Positiven eingeschränkt. Vielen Dank dafür.

Ein weiterer, großer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. med. Peter Bartenstein, dem Direktor der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin. Die Durchführung dieser Arbeit wäre ohne die einzigartige Infrastruktur und die Bereitschaft aller Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin zu klinischen und präklinischen Forschungsprojekten nicht möglich gewesen.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen ehemaligen Mit-Doktoranden beziehungsweise derzeitigen und zukünftigen Arbeitskollegen Dr. med. Andrei Todica, Dr. med. Sebastian Lehner, Dr. med. Erik Mille sowie Matthias Zacherl und Cajetan Lang bedanken. Die zahlreichen fachspezifischen aber auch gerade die nicht-fachspezifischen Diskussionen und Gespräche im Doktorandenraum der Nuklearmedizin haben die teilweise langen Abende sehr kurzweilig wirken lassen.

Mein weiterer Dank gilt Frau Dr. med. vet. Juli Schlichtiger und Heidrun Zankl sowie dem gesamten Team der präklinischen Forschung, ohne deren Hilfe und zeitlichem Engagement die szintigraphischen Messungen nicht durchführbar gewesen wären.

Zuletzt möchte ich an dieser Stelle meine Familie erwähnen. Diese Worte reichen eigentlich nicht aus, um auszudrücken wie sehr ihr mich nicht nur bei der Durchführung dieser Arbeit sondern vielmehr bei der Ermöglichung und Vollendung meines Studiums unterstützt habt. Herzlichen Dank.

9. Lebenslauf

10. Eidesstaatliche Versicherung

Ich, Harun ILHAN, versichere hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Evaluierung neuer nephroprotektiver Strategien in einem Mausmodell der strahleninduzierten Nephropathie durch den β -Emitter [Lu-177-DOTA⁰,TYR³]-octreotate mittels in-vivo Tc-99m-MAG3 Nierenfunktionsszintigraphie“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Harun ILHAN