

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Standort Großhadern
Direktor: Prof. Dr. med. Peter Bartenstein

Erfassung der Tariquidar-bedingten Modulation des P-Glykoprotein Substrates [^{18}F]-MPPF in vivo mittels Positronenemissionstomographie im Rattenmodell

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

vorgelegt von
Theresa Just
aus
Wiesbaden

2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Peter Bartenstein

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Michael K. Stehling

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Christian la Fougère

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

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2014

INHALTSVERZEICHNIS

Erfassung der Tariquidar-bedingten Modulation des P-Glykoprotein Substrates [¹⁸F]-MPPF in vivo mittels Positronenemissionstomographie im Rattenmodell..... I

1 EINLEITUNG..... 1

2 PHYSIOLOGISCHE UND BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN..... 3

2.1 Grundlagen zur Blut-Hirn-Schranke..... 3

2.2 ABC-Transporter..... 4

2.3 P-Glykoprotein..... 6

2.3.1 Aufbau und Lokalisation von P-Glykoprotein..... 8

2.3.2 Hemmstoffe und Induktoren von P-Glykoprotein..... 9

2.3.3 Methoden der Darstellung von P-Glykoprotein..... 10

2.3.4 P-Glykoprotein und Epilepsie..... 11

3 DAS KRANKHEITSBILD DER EPILEPSIE..... 14

3.1 Definition..... 14

3.2 Pathogenese..... 14

3.3 Klassifikation..... 15

3.4 Diagnostik und Therapie der Epilepsie..... 16

3.4.1 Bildgebende Verfahren..... 16

3.4.2 EEG..... 17

3.4.4 Die Pharmakotherapie der Epilepsie..... 18

3.5 Tiermodelle der Temporallappenepilepsie..... 19

4 POSITRONENEMISSIONSTOMOGRAPHIE..... 21

4.1 Grundlagen der Bildgebung in der Nuklearmedizin..... 21

4.2 Prinzip der Positronen-Emissionstomographie..... 21

4.2.1 Radionuklide..... 23

4.2.2 Aufnahme-, Korrektur- und Rekonstruktionsverfahren..... 24

4.2.2.1	Verfahren der Datenaufnahme	25
4.2.2.2	Prinzip der Messdatenkorrektur	26
4.2.2.3	Prinzip der Bildrekonstruktion	26
4.2.3	MikroPET am Kleintiermodell	27
4.2.4	[¹⁸ F]-MPPF	29
4.2.5	[¹⁸ F]-FDG	30
5	MATERIAL UND METHODIK	33
5.1	Pharmazeutica und Radiomarkierung	33
5.1.1	Tariquidar	33
5.1.2	[¹⁸ F]-MPPF	34
5.1.3	[¹⁸ F]-FDG	34
5.2	Bildakquisition und -verarbeitung	34
5.2.1	Tiere	34
5.2.2	Induktion der Epilepsie bei den Tieren der Gruppe III sowie das Vorgehen bei der Auswahl der Responder und Non-Responder	35
5.2.2.1	Induktion eines Status epilepticus	36
5.2.2.2	kontinuierliche Video- und EEG-Überwachung zur Erkennung spontaner Anfälle	37
5.2.2.3	Auswahlverfahren der Responder und Non-Responder	37
5.2.3	PET-Scanning	39
5.2.4	Bildrekonstruktion und -analyse	40
5.2.4.1	K ₁ -gewichteter Influx	41
5.2.4.2	Bindungspotenzial BP _{ND} und Effluxkonstante k ₂	43
5.2.4.3	VOI-Analyse	45
5.2.4.4	Glukosestoffwechsel	45
5.3	statistische Analyse	45
5.3.1	Statistik der Gruppen I und II	45
5.3.2	Statistik der Responder/Non-Responder der Gruppe III	46
6	ERGEBNISSE	47
6.1	Gruppe I	47
6.1.1	Nachweis der Test-Retest-Stabilität unter nativen Bedingungen	47

6.1.1.1 Test-Retest - K_1	47
6.1.1.2 Test-Retest - BP_{ND}	48
6.1.1.3 Test-Retest - [^{18}F]-FDG.....	49
6.1.2 Vehikel.....	49
6.1.3 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar in einer Dosierung von 15 mg/kg.....	49
6.1.3.1 Tariquidar 15 mg/kg - K_1	49
6.1.3.2 Tariquidar 15 mg/kg - BP_{ND}	50
6.1.3.3 Tariquidar 15 mg/kg - k_2	50
6.1.3.4 Tariquidar 15 mg/kg - [^{18}F]-FDG.....	50
6.2 Gruppe II - erweiterte Dosis-Antwortstudie.....	51
6.2.1 Vehikel.....	51
6.2.2 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar in einer Dosierung von 5 und 30 mg/kg - Dosis-Wirkungsbeziehung.....	51
6.2.2.1 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - K_1	51
6.2.2.2 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - BP_{ND}	52
6.2.2.3 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - k_2	52
6.2.2.4 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - [^{18}F]-FDG.....	52
6.3 Gruppe III - [^{18}F]-MPPF-Kinetik unter Tariquidar-Applikation im Modell der pharmakoresistenten Epilepsie, Vergleich der Phenobarbital-Responder und Non-Responder.....	60
6.3.1 Selektion der Phenobarbital-Responder und -Non-Responder.....	60
6.3.2 Vehikel.....	62
6.3.3 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar (15 mg/kg).....	62
6.3.3.1 Tariquidar 15 mg/kg - K_1	62
6.3.3.2 Tariquidar 15 mg/kg - BP_{ND}	63
6.3.3.3 Tariquidar 15 mg/kg - k_2	63
6.3.3.4 Tariquidar 15 mg/kg - [^{18}F]-FDG.....	63
7 DISKUSSION.....	69
7.1 Modulation der Aufnahme und Bindung des 5-HT _{1A} Antagonisten [^{18}F]- MPPF durch P-Glykoprotein in Ratten.....	69

7.1.1 K_1 -gewichteter [^{18}F]-MPPF-Influx als Surrogatmarker für die unidirektionelle Blood-Brain-Clearance	70
7.1.2 Gunn SRTM als Vergleichsverfahren zur BP_{ND} -Kalkulation nach der Logan-Methode	73
7.1.3 Effekte der Tariquidar-induzierten P-Gp-Blockade auf das Uptake des möglichen P-Gp-Substrats [^{18}F]-FDG	74
7.2 Prinzip eines neuen Bildgebungskonzepts zur Darstellung einer P-Glykoprotein-vermittelten Pharmakoresistenz bei Patienten mit Epilepsie	76
7.2.1 MikroPET-Imaging als Evaluationsmethode der P-Gp- Funktion bei Phenobarbital-resistenten und -sensiblen epileptischen Ratten	76
7.2.2 Möglichkeiten im klinischen Alltag	77
8 ZUSAMMENFASSUNG	80
9 LITERATURVERZEICHNIS	82
10 DANKSAGUNG	97
11 CURRICULUM VITAE	98

1. Einleitung

In den letzten Jahren ist zunehmend deutlich geworden, dass die cerebrale Aufnahme vieler Substanzen wie beispielsweise Medikamente jedoch auch Radiotracer durch die Aktivität des P-Glykoproteins (P-Gp) an der Blut-Hirn-Schranke beeinflusst wird (1).

Endothelzellen der Kapillaren, die die Blut-Hirn-Schranke bilden, exprimieren dieses Protein (2,3,4). Als Mitglied der ABC-Transporter (ATP-binding-cassette) stellt P-Gp eines der vielen Carrier-Systeme dar, die den Export von Metaboliten und Fremdstoffen aus der Zelle vermitteln (5,6).

Die sogenannte Transporter-Hypothese sieht die Erklärung für die Antiepileptikaresistenz mancher Patienten mit Epilepsie in der Überexpression von P-Gp. Tatsächlich haben Experimente an Tieren und den Zellen therapieresistenter Patienten mit Epilepsie gezeigt, dass eine Korrelation zwischen einer anfallsinduzierten P-Gp-Überexpression und einer Resistenz besteht (7).

Eine P-Gp-Überexpression wird nicht nur bei der Epilepsie postuliert, sondern kann auch bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielen, indem die intracerebrale Verfügbarkeit von P-Gp-Substraten vermindert wird. Aufgrund seiner recht breit gefächerten Substratspezifität verhindert es die cerebrale Aufnahme diverser Medikamente. Einige Beispiele: Zytostatika wie Doxorubicin (8), Antiepileptika wie Phenytoin (9,10), Calciumkanalblocker wie Verapamil (11), atypische Neuroleptika wie Olanzapin (12) und verschiedene Opioide. Die Aktivität von P-Gp kann verhindern, dass intracerebral effektive therapeutische Konzentrationen dieser Pharmazeutika erreicht werden. Als Folge kann vom Plasmaspiegel eines Medikaments nicht länger auf die Konzentration im Gehirn des Patienten geschlossen werden. Dies liegt

vermutlich in der interindividuell variablen, sowie im Gehirn selbst inhomogenen Expression von P-Gp begründet (13,14).

Lässt sich der Nachweis für die Transporter-Hypothese erbringen, ist nun die exakte Darstellung der P-Gp-Überexpression bzw. des P-Gp-bedingten Efflux durch nicht-invasive Bildgebung in vivo wünschenswert, damit eine individuell angepasste Therapie des Patienten erfolgen kann.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der funktionellen Darstellung cerebraler Transportersysteme im ZNS von Ratten mit Fokus auf das ABC-Transporter-Protein P-Gp durch Positronen-Emissionstomographie (PET) als bildgebendes Verfahren.

Im ersten Teil wurde eine Methode zur Darstellung der P-Gp-Modulation mittels dedizierter Klein-Tier PET (MikroPET)-Bildgebung mit dem Serotonin 5-HT_{1A}-Antagonisten [¹⁸F]-MPPF bei naiven Ratten entwickelt und validiert.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die entwickelte Methode für die Detektion der P-Gp-Überexpression im Rattenepilepsiemodell bei Phenobarbital-Respondern und Non-Respondern angewendet.

In dieser Arbeit werden also zwei Studien zusammengefasst. Die Autorin hat sich mit der Analyse und Auswertung des Bildmaterials befasst.

2. PHYSIOLOGISCHE UND BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN

2.1 Grundlagen zur Blut-Hirn-Schranke

Die Blut-Hirn-Schranke bildet eine physiologische cerebrale Barriere zwischen dem Blutkreislauf und dem Zentralnervensystem (15). Sie dient dazu, die Homöostase im Gehirn aufrecht zu erhalten und sie vom intravasalen Milieu abzugrenzen. Ein wichtiger Bestandteil dieser Barriere sind die Endothelzellen, die über Tight Junctions eng miteinander verknüpft sind und das Lumen der kapillaren Blutgefäße auskleiden (16,17). Sie werden zusätzlich von einer Basalmembran, Perizyten und perivaskuläre Astrozyten umgeben (16,18).

Die Blut-Hirn-Schranke ähnelt im Aufbau einer Phospholipidmembran und ist daher für wasserlösliche Moleküle nur wenig durchlässig. Sie stellt einen hochselektiven Filter dar, über den die vom Gehirn benötigten Nährstoffe zugeführt bzw. die entstehenden Stoffwechselprodukte abgeführt werden und schränkt den Zugang zum Gehirn stark ein (19). Die Ver- und Entsorgung wird durch eine Reihe spezieller Transportprozesse gewährleistet.

Es existieren drei Hauptwege für den Stoffaustausch:

1. Gase und lipidlösliche Substanzen können passiv entlang ihres Gradienten passieren.
2. Verschiedene Substanzen wie zum Beispiel D-Glukose nutzen einen Carrier-vermittelten Transport mit speziellen Carriersystemen an den Membranen.
3. Die Na^+/K^+ -ATPase vermittelt den aktiven Transport.

Weil die Schutzfunktion der Blut-Hirn-Schranke die medikamentöse Therapie einer Vielzahl neurologischer Erkrankungen erschwert, ist ihre Überwindung ein aktuelles Forschungsgebiet.

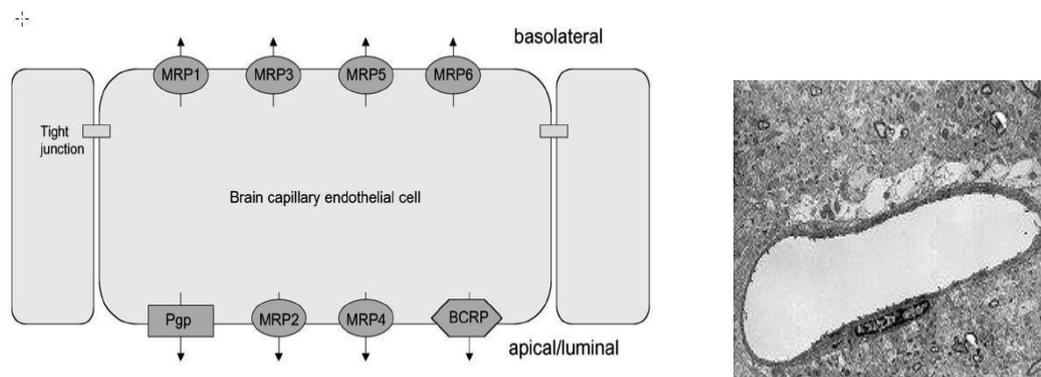


Abb. 1: schematische und elektronenmikroskopische Darstellung der Blut-Hirn-Schranke, nur apikale Transporter können die Medikamentenaufnahme ins Gehirn beschränken (20)

2.2 ABC-Transporter

Die Gruppe der ABC-Transporter stellt eine der größten Proteinfamilien dar. Sie dient dem Export bzw. Import eines beträchtlichen Spektrums von Substanzen wie beispielsweise Peptiden, Lipiden, Sacchariden, Ionen, Medikamenten und Xenobiotika (21). Mitglieder dieser Proteinfamilie finden sich in allen Zellen des menschlichen Körpers (22).

Ihnen gemein ist ihre strukturelle Organisation. Ein typischer funktionell aktiver eukaryontischer ABC-Transporter liegt für gewöhnlich als Dimer aus zwei hydrophoben Transmembrandomänen (TMD, 6-11 α -Helizes) und zwei hydrophilen, zytoplasmatischen Nukleotid-Bindungsdomänen (NBD, ATP-Bindungskassette) vor (23). Während die ATP-Bindungskassette die

Grundlage für einen energiegekoppelten Substrattransport entgegen eines Konzentrationsgradienten bietet, erfolgen Erkennung, Bindung und Transport des Substrats über Bereiche innerhalb der Transmembrandomäne (Permeasedomäne), welche somit auch die Spezifität festlegt. Ein wesentlicher Unterschied zwischen Eukaryonten und Prokaryonten ist, dass letztere sowohl exportierende als auch importierende ABC-Transporter besitzen, während erstere nur die exportierende Variante exprimieren.

Humane ABC-Transporter liegen, anders als sonst bei Eukaryonten üblich, hauptsächlich als Monomere vor. Hier unterscheidet man „komplette“ Transporter, die aus zwei TMDs und zwei NBFs bestehen, und Halbtransporter, welche durch Homo- bzw. Heterodimerisierung vervollständigt werden können. Das menschliche Genom beinhaltet 48 ABC-Gene, welche entsprechend ihrer Sequenz- und Strukturhomologien in sieben Unterfamilien (ABCA bis ABCG) unterteilt werden. Die Funktion von 16 ABC-Genen ist bereits bekannt, 14 sind mit bestimmten Krankheitsbildern assoziiert (21). Eine Mitbeteiligung der ABC-Transporter wird unter anderem auch bei Epilepsie angenommen (24,25).

Bei über 30% der Patienten mit Epilepsien kann ungeachtet einer Vielzahl neuer Antiepileptika durch Pharmakotherapie keine ausreichende Kontrolle der Anfälle herbeigeführt werden. Eine der im Zusammenhang mit dieser Pharmakoresistenz am häufigsten erwähnten Thesen ist die Multidrug-Transporter-Hypothese. Laut dieser Hypothese kommt es durch an der Blut-Hirn-Schranke überexprimierte Efflux-Transporter nicht zu einer ausreichend hohen Konzentration eines Antiepileptikums im neuronalen Gewebe. Dem Multidrug-Transporter P-Glykoprotein (P-Gp), einem ABCB-Protein, wird dabei eine besondere Bedeutung zugeschrieben.

2.3 P-Glykoprotein

1976 entdeckte Juliano in der Arbeitsgruppe von Ling in Colchizin-resistenten Tumorzellen (Ovarien des chinesischen Hamsters) ein Protein, welches, auch in humanem Gewebe mit protektiver sowie exkretorischer Funktion vorkommend, die Tumorthherapie maßgeblich erschwerte. Es war in der Lage Zytostatika aus der Zelle zu exportieren, bevor sie Wirkung zeigen konnten (26). Man nannte dieses Protein nach seiner Wirkweise Multi-Drug-Resistenzprotein oder auch nach seiner Struktur Phospho-Glykoprotein. Zellen aus Lungen-, Magen-, Darm-, Brust- und Schilddrüsentumoren sowie Neuroblastomen und Leukämien weisen oft eine erhöhte P-Gp-Expression auf (27,28,29,30,31,32,33).

Dieses 1280 Aminosäuren lange, 170kDa schwere integrale Plasmamembranprotein, welches zur Familie der ATP-binding-cassettes zählt, ist das Genprodukt des humanen auf dem Chromosom 7q21.1 gelegenen MDR-1-Gens (Multidrug-Resistance-Gen) und zeichnet sich durch eine sehr breite Substratspezifität aus. P-Gp transportiert hauptsächlich unkonjugierte kationische Substanzen (34). Substrate sind also meist lipophile und basische bis neutrale organische Arzneistoffe, die oft aromatische Gruppen und ein Molekulargewicht <200 Da bis 1900 Da besitzen. Schwach saure Substanzen wie Phenytoin und Methotrexat werden jedoch ebenfalls von P-Gp exportiert. Alle Substrate gleichen sich in ihrem amphipathischen Charakter.

Zytostatika	Vinca-Alkaloide, Anthrazykline, Taxol, Epipodophyllotoxine, Methotrexat
Immunsuppressiva	Cyclosporin, Tacrolimus
Antiarrhythmika	Amiodaron, Propafenon, Digoxin
Statine	Simvastatin
Kalziumantagonisten	Verapamil, Mibefradil
Diuretika	Furosemid
Säureblocker	Cimetidin, Ranitidin
Makrolidantibiotika	Erythromycin, Clarithromycin
Azol-Fungizide	Ketoconazol
Antiepileptika	Phenytoin
Antituberkulostatika	Rifampicin
HIV-Protease-Inhibitoren	Saquinavir, Indinavir, Ritonavir
Antihelminthika	Ivermectin
Antiemetika	Odansetron
Dopaminantagonisten	Domperidon
Antihistaminika	Terfenadin
Steroidhormone	Östrogene, Aldosteron, Kortikosteroide
Gichtmittel	Colchicin
Antidiarrhoika	Loperamid
Analgetika	einige Opioide
Sedativa, Antidepressiva	Midazolam

Tabelle 1: Beispiele für Substanzen, die durch das P-Glykoprotein transportiert werden
(35)

2.3.1 Aufbau und Lokalisation von P-Glykoprotein

P-Gp besteht aus zwei Anteilen mit hoher Sequenzhomologie. Jede dieser Hälften enthält eine hydrophobe Domäne, die wiederum aus sechs für den Transport von Substanzen entscheidenden Transmembran- α -Helices besteht und einen zytosolischen, hydrophilen Teil mit der Nukleotidbindenden Domäne 1 und 2 (*NBD 1 und NBD 2*). Beide Anteile des Proteins sind über eine flexible Polypeptidkette, eine sogenannte „*linker region*“, verbunden (36).

Das Protein mit insgesamt 12 helikalen Transmembrandomänen und 2 Nukleotidbindungsdomänen ist vor allem als Effluxpumpe der Blut-Hirnschranke bekannt, wo es seine Substrate schon während ihrer Passage der Lipidschicht der Membran bindet und wieder entsorgt. Einer holländischen Studie aus dem Jahr 2002 zufolge inserieren die amphipathischen Substrate zunächst in der inneren Hälfte der Zytoplasmamembran, wo sie von P-Gp zurück in die äußere Hemimembran oder bis in den Extrazellularraum exportiert werden (21). Somit reduziert P-Gp die unidirektionale Clearance dieser Substanzen und verhindert eine Anreicherung im Gehirn (5,6).

Das Vorkommen von P-Glykoprotein ist allerdings nicht auf die Blut-Hirnschranke beschränkt. Es findet sich apikal in der Bürstensaummembran der Niere, luminal in Epithelien des Darms, in der Gallenkapillarmembran von Hepatozyten sowie in den Throphoblasten der Plazenta und trägt zur schützenden und sekretorischen Funktion dieser Zellen bei. Eine Hemmung führt also nicht nur zu einer ungehinderten Aufnahme ins ZNS sondern auch zu einer erhöhten Resorption aus dem Darm und zu einer verminderten renalen bzw. hepatischen Eliminierung (37). Ebenso bedeutsam ist die Tatsache, dass das P-Glykoprotein interindividuell verschieden stark und im Gehirn selbst inhomogen exprimiert wird (13,14).

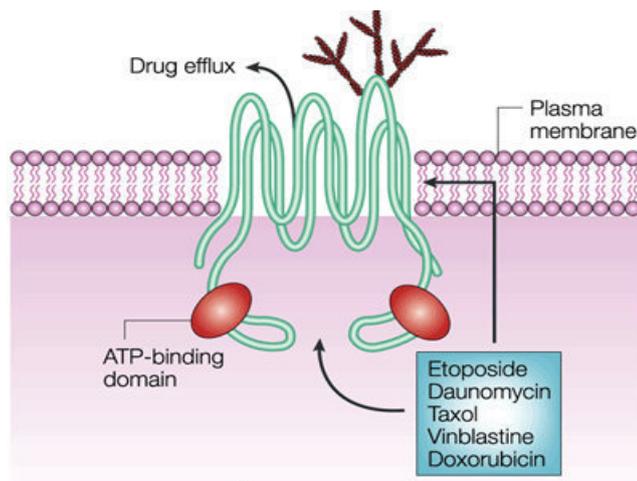


Abb. 2: Schema der Effluxpumpe P-Glykoprotein (38)

2.3.2 Hemmstoffe und Induktoren von P-Glykoprotein

P-Glykoprotein kann sowohl induziert als auch gehemmt werden. Bei gleichzeitiger Gabe eines P-Gp-Substrates und eines Inhibitors ist mit einer erhöhten Bioverfügbarkeit des Substrates zu rechnen. Die Gabe eines P-Gp-Inhibitors stellt also einen wichtigen Schritt zur Überwindung P-Gp-vermittelter Pharmakoresistenz dar. Beispiele für P-Gp-Inhibitoren sind Cyclosporin A, Verapamil, Quinidin, Doxorubicin sowie spezielle Substanzen wie PSC833 (6,37,39,40,41,42,43). Leider wiesen diese Medikamente der ersten Generation bei verstärkter Exposition der Patienten erhebliche toxisch bedingte Nebenwirkungen auf - Ausschlusskriterium für den weiteren klinischen Gebrauch (37). Eine der vielversprechenden Substanzen der dritten Generation ist Tariquidar (TQD), ein potenter, spezifischer und nicht-kompetitiver P-Gp-Inhibitor (44). Dieser wurde in klinischen Versuchsreihen gut vertragen und zeigte auch keine signifikante pharmakokinetische Interaktion mit Chemotherapeutika (45,46).

In einer früheren MikroPET-Studie wiesen mit 15 mg Tariquidar vorbehandelte Ratten eine Reduktion des P-Gp vermittelten cerebralen Verapamil-Efflux auf. Die Tariquidar-Gabe steigerte die Konzentration des Verapamil im Gehirn um den Faktor 12 im Verhältnis zur Baseline (47). Verapamil fand auch in einer Pilotstudie mit fünf an Epilepsie leidenden Patienten Verwendung, wo sich eine asymmetrische cerebrale Aufnahme zeigte (48).

Inhibitoren	Induktoren
Antiarrhythmika: Amiodaron, Chinidin, Lidocain Calciumantagonisten: Diltiazem, Felodipin, Nicardipin, Nifedipin, Nitrendipin, Verapamil Antimykotika: Itraconazol, Ketoconazol HIV-Protease-Hemmer: Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir Steroide: Ethinylestradiol, Norgestrel, Progesteron, Testosteon Immunsuppressiva: Ciclosporin, Tacrolimus Makrolid-Antibiotika: Clarithromycin, Erythromycin Sonstige: Mifepriston, Paroxetin, Talinolol, Tamoxifen, Terfenadin, Trifluoperazin, Vincristin	Dexamethason, Doxorubicin, Flavonoide, Johanniskraut, Phenobarbital, Phenytoin, Rifampicin, Vinblastin

Tabelle 2: Induktoren und Inhibitoren (49)

2.3.3 Methoden der Darstellung von P-Glykoprotein

Der Nachweis des P-Glykoprotein erfolgt in vitro mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers, dem *anti-Human P-Glycoprotein Antikörper*

(IgG2a). Die Methoden der Immunfluoreszenz (50), Immunhistochemie (51) und Durchflusszytometrie (52,53) können unter Verwendung dieses Antikörpers durchgeführt werden.

2.3.4 P-Glykoprotein und Epilepsie

Mechanismen der Pharmakoresistenz erschweren die Behandlung von Patienten mit Epilepsie, da die zur Verfügung stehenden Medikamente gar nicht oder nur unzureichend wirken. Zum jetzigen Zeitpunkt nimmt man an, dass Antiepileptikaresistenz durch ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren ausgelöst wird (9,54). Man geht von drei verschiedenen Erklärungsmodellen aus (20).

- 1) Zum einen können die verwendeten Pharmaka selbst Veränderungen verursachen, welche im Laufe der Therapie eine Toleranzentwicklung nach sich ziehen (19).
- 2) Ein weiterer Grund wäre die direkte Genomvariation des betroffenen Patienten, welche schwer therapierbare Epilepsieformen mit genetischem Background erklärt (9).
- 3) Als letzter Mechanismus kommt infrage, dass die Erkrankung selbst zu strukturellen cerebralen Veränderungen führt (20).

Unter diese Kategorie fallen abnorme neuronale Verknüpfungen (55), Modifikation der pharmakologische Angriffspunkte (Targetstruktur-Hypothese, 9,54,56), sowie Neurodegeneration im epileptischen Fokus (Multidrug-Transporter-Hypothese, 7,25,57,58,59,60).

Die Multidrug-Transporter-Hypothese beschreibt eine anfallsinduzierten P-Gp-Überexpression in epileptischen Foci als ursächlich für Medikamentenresistenz.

Ergebnisse verschiedener Studien stützen diese Hypothese. So führte beispielsweise eine Inhibition von P-Glykoprotein durch Tariquidar in Kombination mit dem Antikonvulsivum Phenobarbital im Rattenmodell zu einer deutlichen Reduktion der Anfallsfrequenz bis hin zur kompletten Anfallsfreiheit (25, 61).

Der Arbeitsgruppe um Heidrun Potschka an der LMU untersuchte in Zusammenarbeit mit den zwei amerikanischen Arbeitsgruppen B. Bauer (UMD, MN, USA) und D. Miller (NIEHS, NIH, NC, USA) den Pathomechanismus, welcher im epileptischen Anfall zur P-Gp-Überexpression führt. Es gelang der Nachweis einer Glutamat/NMDA-Rezeptor/COX-2/PGE₂-Kaskade in Endothelzellen des Gehirns, welche an der anfallsinduzierten Überexpression von P-Gp beteiligt ist (62). COX-2 scheint P-Gp Prostaglandin E₂-abhängig über EP-1-Rezeptoren zu induzieren.

Glutamat → NMDA-Rezeptoren → Arachidonsäure → COX 2 → PGE ₂ → P-Gp ↑ + Neurodegeneration

Abb. 3: vereinfachte schematische Darstellung der anfallsinduzierten Kaskade in Neuronen und Endothelzellen (20)

Die Ausschüttung von Glutamat ist maßgeblich an neurodegenerativen Veränderungen im Zusammenhang mit einem Status epilepticus oder epileptischen Anfällen beteiligt (63). Resultate verschiedener Untersuchungen stützen diese These. So führte in vivo eine Glutamat-injektion in den rechten Hippokampus der Ratte zu einer deutlichen Zunahme der P-Gp-Expression im Vergleich zur kontralateralen Seite (62). Nach Inkubation kultivierter Gehirnzellen mit Glutamat ließ sich eine vermehrte P-Gp-Expression und Aktivität nachweisen (62,64).

Höchstwahrscheinlich wird die Glutamatwirkung über sogenannte N-Methyl-D-Aspartat (NDMA-) Rezeptoren vermittelt, Glutamat-gesteuerte Ionenka-

näle im gesamten Gehirn, konnte doch die Gabe des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK-81 eine vermehrte P-Gp-Expression in den kultivierten Gehirnzellen verhindern (62). Des Weiteren führt die Aktivierung des NMDA-Rezeptors zu einem vermehrten Calcium-Einstrom in die Zellen, was die Freisetzung von Sauerstoffradikalen zu Folge hat (65). Der Einsatz des Radikalneutralisators N-Acetylcystein im Anschluss an die Gabe von Glutamat verhinderte die Bildung der Radikale und verminderte die Glutamat-bedingte P-Gp-Überexpression in kultivierten Gehirnzellen (64). Der erhöhte intrazelluläre Calciumspiegel stimuliert darüber hinaus die Phospholipase A₂, welche Arachidonsäure abspaltet und somit der COX vermehrt Substrate zur Verfügung stellt.

2008 gelang der Arbeitsgruppe um Bauer der Beweis eines Zusammenhangs zwischen COX- und P-Gp-Expression in Kapillarendothelien des Gehirns. Der COX-1/2-Antagonist Indomethacin wie der spezifische COX-2-Antagonist Celecoxib hemmten die Glutamat-induzierte P-Gp-Überexpression und -aktivität (62).

Anhand immunhistochemischer Färbungen von Gehirnschnitten der Ratte gelang es Potschka et al die Wirkung des EP-1-Rezeptor-Antagonisten SC-51089 darzustellen, welcher die Prostaglandin E₂-vermittelte P-Gp-Überexpression signifikant hemmt. Zudem konnten eine signifikante anfallsinduzierte neuronale COX-2-Überexpression und eine signifikante anfallsinduzierte P-Gp-Überexpression in den drei Gehirnregionen Hilus, Cortex und Gyrus dentatus gezeigt werden (66).

3 DAS KRANKHEITSBILD DER EPILEPSIE

Epilepsien stellen mit einer Prävalenz von 1-2% die häufigste neurologische Erkrankung des zentralen Nervensystems dar (9). Weltweit sind ca. 50 Mio. Menschen betroffen (67,68). Von Pharmakoresistenz spricht man bei fehlendem Ansprechen auf mindestens zwei verschiedenen wirksame Medikamente erster Wahl (9). Bei über 30% der an Epilepsie erkrankten Patienten wird trotz Therapieversuchen mit drei verschiedenen wirksamen Medikamenten keine Anfallsfreiheit erreicht (69). Umso wichtiger ist es, die Ursachen für das fehlende Ansprechen zu finden und, wenn möglich, zu beheben. Im Folgenden werden Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie der Epilepsie beschrieben.

3.1 Definition

Definitionsgemäß handelt es sich um eine episodische cerebrale Funktionsstörung aufgrund spontaner exzessiver neuronaler Entladungen, die sich in Form epileptischer Anfälle manifestiert (70,71). In der klinischen Praxis wird spätestens nach dem zweiten unprovzierten Anfall von Epilepsie gesprochen.

3.2 Pathogenese

Man geht davon aus, dass für das Entstehen epileptischer Anfälle Spannungsänderungen in Neuronen, sowie Veränderungen an Liganden-bindenden Ionenkanälen ursächlich sind, die zu einer Imbalance zwischen exzi-

tatorischer und inhibitorischer neuronaler Erregung führen, wenn auch der genaue Pathomechanismus noch nicht vollständig geklärt ist (68).

Bei einigen erblichen Formen der Epilepsie war es möglich den Genlokus zu entschlüsseln. Beispiele dafür sind die autosomal-dominant vererbte nächtliche Frontallappen-Epilepsie (CHRNA4 auf Chromosom 20q), die periventriculäre Heterotopie (Filamin auf Chromosom Xq28) und die gutartigen Neugeborenenkrämpfe (KCNQ2 auf Chromosom 20q, KCNQ3 auf Chromosom 8q) (72,73,74,75).

3.3 Klassifikation

Epilepsien können sich durch eine Vielzahl verschiedener Krankheitsbilder manifestieren (76). Sie werden nach ihrem Lokus in generalisiert, fokal (und nicht klassifizierbar) eingeteilt (68). Folgende Tabelle bietet einen Überblick.

generalisiert	fokal
- idiopathisch	- eruierbare Läsion
- gestörte thalamokortikale Interaktion beider Hemisphären als vermutete Ursache	- gestörte kortikale Aktivität in einer Hemisphäre
- Bewusstseinsverlust und bilaterale motorische Entäußerungen von Beginn an	- zu Beginn unilaterale motorische Entäußerungen, Bewusstseinsverlust möglich, kann sekundär generalisiert verlaufen
Formen: - „ <i>Grand Mal</i> “ = generalisierter tonisch-klonischer Anfall - „ <i>Petit Mal</i> “ = Absence - „ <i>Impulsiv Petit Mal</i> “ = Myoklonischer Anfall	Formen: - <i>einfacher fokaler Anfall</i> ohne Bewusstseinsverlust - <i>komplexer fokaler Anfall</i> mit Bewusstseinsverlust - <i>sekundäre Generalisierung</i>

Tabelle 3: Merkmale fokaler und generalisierter Epilepsien (77,78)

3.4 Diagnostik und Therapie der Epilepsie

3.4.1 Bildgebende Verfahren

Die Durchführung einer Magnetresonanztomographie dient dem Ausschluss einer strukturellen Veränderung intracerebral.

Eine hippocampale Sklerose, die häufigste Ursache einer Temporallappenepilepsie im Erwachsenenalter, lässt sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 90% durch eine MRT nachweisen. Auch wirkt sich eine Läsion durch Schädelhirntrauma, Infektion oder Tumor begünstigend auf die Epilepsieentstehung aus (79). Der Nachweis erfolgt mittels bildgebender Verfahren. PET und Single-Photon-Emissions-Computertomographie (SPECT) sind den komplizierteren Fällen sowie der Operationsplanung vorbehalten. Die Messung der intracerebralen Durchblutung mittels SPECT gilt beispielsweise mittlerweile als zusatzdiagnostisches Standardverfahren bei Temporal-

lappenepilepsie (80). Im Idealfall stellen sich epileptische Herde interiktal als hypoperfundierte, interiktal als hyperperfundierte Zonen dar.

3.4.2 EEG

Das EEG ist die einzige Methode, um eine Epilepsie direkt und zweifelsfrei nachzuweisen. Dies gelingt nur, wenn die Ableitung während eines Anfalls erfolgt. Pathologische Potentiale im interiktalen EEG können die Diagnose unterstützen, sind aber nicht beweisend. So sind nur bei 50% der Patienten mit fokalen Epilepsieformen epilepsietypischer Potentiale im dreißigminütigen Routine-EEG zu sehen. Bei generalisierten, idiopathischen Epilepsien lassen sich dagegen häufig bilaterale, synchrone 3-4/s Spike-Wave-Komplexe nachweisen. Besteht bei einem Patienten der Verdacht auf eine Epilepsie, wird zunächst über 30 Minuten ein Standard-EEG mit Provokationen wie Flackerlicht und Hyperventilationen durchgeführt. Bleibt dieses unauffällig, folgt ein Schlaf-EEG nach Schlafentzug oder ein 24-48-stündiges Langzeit-EEG (81).

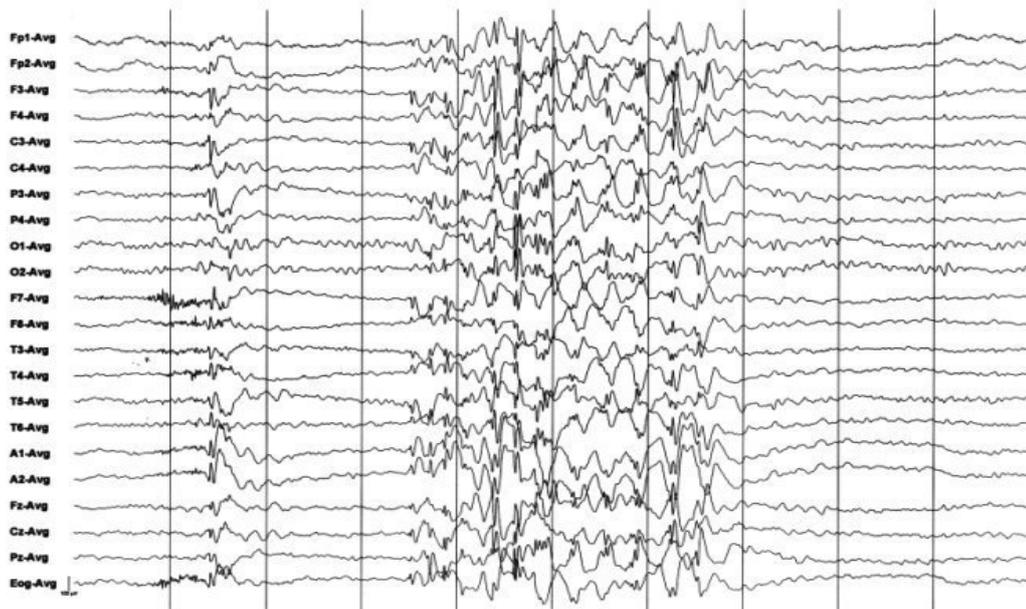


Abb.4: EEG eines Patienten mit generalisierter Epilepsie: Hinweise auf gesteigerte cerebrale Erregbarkeit (82)

3.4.3 Die Pharmakotherapie der Epilepsie

Die Pharmakotherapie besteht im Wesentlichen in der Unterdrückung der Anfälle bzw. Kontrolle der Symptome durch Antikonvulsiva (9).

Über 20 verschieden wirksame Medikamente stehen dafür derzeit zur Verfügung; je nach Epilepsieform wird das passende Arzneimittel ausgewählt. So ist beispielsweise Valproat das Mittel der Wahl bei primär generalisierten Anfällen und Absencen, während Lamotrigin bei fokalen Epilepsieformen indiziert ist (83). Zu den Antiepileptika der ersten Generation zählen auch Carbamazepin, Phenobarbital und Phenytoin. Als neueres Pharmakon wäre neben vielen anderen Levetiracetam zu nennen. Die meisten Antiepileptika sind entweder Hemmstoffe der Na^+ und T-Typ Ca^{2+} -Kanäle oder unterstützen die GABAerge Inhibition (68). Ein Patient gilt als pharmakoresistent, wenn zwei verschiedene Medikamente erster Wahl in

maximaler Dosierung nicht mindestens zu einer 50%igen Reduktion der Anfälle geführt haben (9,54). Trotz Therapieversuchen mit drei verschiedenen Medikamenten wird bei über 30% der epileptischen Patienten keine Anfallsfreiheit erreicht. Eine Kombinationstherapie ist der Monotherapie um nur <5% überlegen (69).

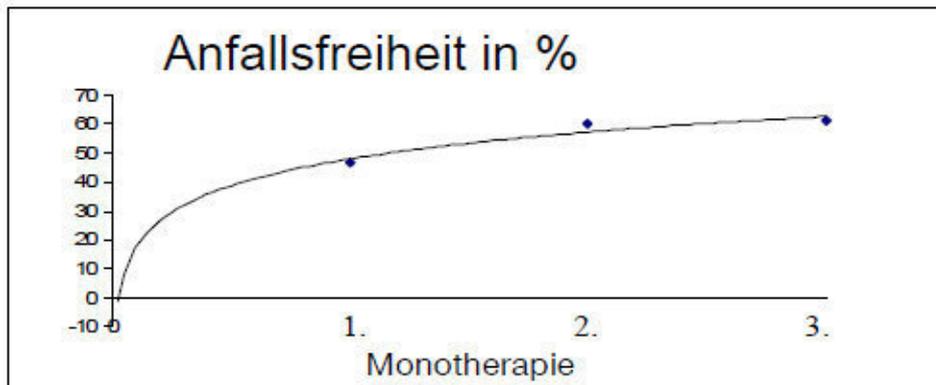


Abb.5: Grafik zur Anfallsfreiheit bei Epilepsitherapie (84)

3.5 Tiermodelle der Temporallappenepilepsie

Für das Tiermodell einer Erkrankung gelten bestimmte Voraussetzungen. Das Modell sollte Symptome und Pathogenese der Krankheit imitieren und zur Testung neuer Medikamente geeignet sein. Verschiedene chemisch oder elektrisch induzierte Anfallsmodelle stehen zur Verfügung (85). Eine Möglichkeit ist die Induktion eines Status epilepticus durch Injektion des Parasympatomimetikums Pilocarpin, dessen Wirkung durch die vorausgehende Applikation von Lithium potenziert wird (86,87,88). Eine elektrische Methode stellt die stereotaktische Implantation einer Teflon-isolierten bipolaren Edelstahlelektrode in den rechten basolateralen vorderen Kern der Amygdala dar. Sechs Wochen nach der Operation wird

über eine 25-minütige Elektrodenstimulation ein Status epilepticus indiziert. Vor und während des Status erfolgt die Ableitung eines EEG. Endet der Status nach vier Stunden nicht von selbst, wird er mittels Diazepam terminiert. Acht Wochen später werden die Ratten sechs Wochen lang mit Hilfe von Kameraaufnahmen und EEG auf spontan auftretende Anfälle überwacht. Tiere, die solche zeigen, sind für weitere Tests geeignet. Ihnen wird das Antiepileptikum Phenobarbital appliziert, um sie hinsichtlich ihres Ansprechens auf das Medikament in Responder und Non-Responder einzuteilen (89).

4 POSITRONENEMISSIONSTOMOGRAPHIE

4.1 Grundlagen der Bildgebung in der Nuklearmedizin

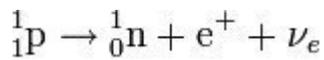
Nuklearmedizin ist definiert als Fachbereich, welcher die Anwendung kernphysikalischer Verfahren und radioaktiver Substanzen zur Funktions- und Lokalisationsdiagnostik sowie offener Radionuklide in der Therapie und den Strahlenschutz umfasst. Um Stoffwechselforgänge in vivo zu visualisieren, werden geeignete Radionuklide nach dem Modell des Tracerprinzips nach Hevesy verwendet. Hierbei werden geringste Mengen einer Substanz mit einem radioaktiven Isotop markiert und in den Stoffwechsel eingeschleust. Somit kann von der von den Isotopen emittierten Strahlung auf ihre Verteilung im Körper geschlossen werden.

Nuklearmedizinische Diagnostik ist vorwiegend Funktionsdiagnostik und liefert wenige Informationen über anatomische Details. Bildgebende Verfahren, die auf diesem Prinzip basieren, sind die planare Szintigrafie, die SPECT und die PET.

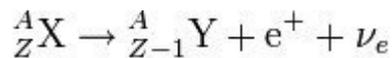
4.2 Prinzip der Positronen-Emissionstomographie

Die PET ist ein funktionelles bildgebendes Verfahren, bei welchem sogenannte Positronenstrahler verwendet werden. Die ionisierende Strahlung entsteht durch β^+ -Zerfall. Ein Proton des Atomkerns wird in ein Neutron umgewandelt. Es entstehen ein Positron und ein Elektron-Neutrino. Während die Massenzahl unverändert bleibt, verringert sich die Kernla-

dungszahl um 1. Die zwei folgenden Formeln dienen der Veranschaulichung.



Umwandlung eines Protons in ein Neutron (90).



Allgemeines Prinzip des β^+ -Zerfalls (90).

Durch die Wechselwirkung eines Positrons mit einem Elektron im Gewebe (Annihilation) werden zwei hochenergetische Photonen mit einer Energie von 511 keV in genau entgegengesetzte Richtungen, also mit dem Winkel 180 Grad zueinander, ausgesandt (Vernichtungsstrahlung). Diese Photonen können mit einem PET-Scanner gemessen werden. Ein PET-Scanner enthält viele ringförmig um den Patienten angeordnete kleine Detektoren um die eintreffende Gammastrahlung zu messen. PET-Detektoren bestehen aus einer Kombination aus Szintillationskristall und Photomultiplier zur Lichtverstärkung (91).

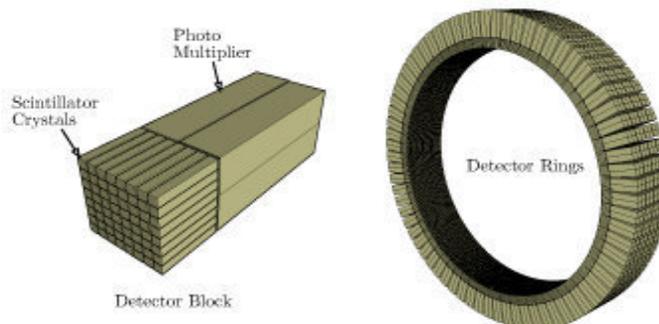


Abb. 6: Schema eines PET-Detektorsystems (92)

Das Prinzip der PET-Untersuchung besteht nun darin, Koinzidenzen zwischen je zwei gegenüberliegenden Punkten auf den Detektorblöcken zu erkennen. Werden zwei Photonen mit einem maximalen zeitlichen Abstand von ca. 4,5-15 ns registriert, liegen sie auf einer gedachten Linie (Koinzidenzlinie, „Line Of Response“ = LOR). Aus der zeitlichen und räumlichen Verteilung dieser aufgezeichneten Zerfallsereignisse wird auf die räumliche Verteilung des Radiopharmakons im Organismus geschlossen und eine Serie von Schnittbildern errechnet (91). Die dedizierten Kleintier PET-Scanner haben eine räumliche Auflösung von ca. bis 1.5 mm und eine zeitliche Auflösung von 5 s-1 min.

4.2.1 Radionuklide

Bei über 90% aller PET-Untersuchungen wird das radioaktive Isotop des Fluor (^{18}F), das am meisten verwendete Nuklid in der PET, eingesetzt.

Neben ^{18}F werden hauptsächlich die radioaktiven Isotope von Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Iod und Gallium eingesetzt: ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{124}I , ^{68}Ga , ^{82}Rb . Als Bestandteile sämtlichen organischen und biologischen Materials bieten sich diese Elemente für die Umsetzung des Tracer-Prinzips an. Durch Beschuss stabiler Kerne mit schweren geladenen Teilchen werden die radioaktiven Isotope, für gewöhnlich β^+ -Strahler, im Zyklotron generiert. Nachteilig wirkt sich die kurze Halbwertszeit der meisten Positronenstrahler aus, welche ihren Gebrauch an einen nahegelegenen Teilchenbeschleuniger koppelt und so auf wenige nuklearmedizinische Zentren beschränkt. Speziell für die Radionuklidproduktion für die PET wurden Zyklotronbeschleuniger im Kleinformat, sogenannte Baby-Zyklotrons konstruiert, die sich in einem Klinikum installieren lassen (93).

Radionuklid	HWZ in Minuten
^{11}C	20,4
^{13}N	9,96
^{15}O	2,0 ⁹
^{18}F	109,7
^{68}Ga	68

Tabelle 4: Übersicht über die Halbwertszeiten einiger Radionuklide (93)

^{18}F weist eine etwas längere Halbwertszeit auf als seine Alternativen, wodurch ein Transport in periphere Zentren ohne Zyklotron möglich wird. Zusätzlich wird durch seine niedrige mittlere Energie von 633 keV die Annihilationswahrscheinlichkeit größer und damit die Auflösung höher.

4.2.2 Aufnahme-, Korrektur- und Rekonstruktionsverfahren

Auf dem Weg in die Detektoren unterliegt die Koinzidenzstrahlung den Störmechanismen der Streuung und der Absorption. Ziel der PET ist es ausschließlich wahre Koinzidenzen, sogenannte „Trues“, zu messen. Ein True liegt vor, wenn die zwei nach einer Annihilation entstandenen Photonen das Untersuchungsvolumen ohne signifikante Wechselwirkung durchqueren und ihre Energie auf den Detektor übertragen, die dann von der Messelektronik registriert wird. Zu den unerwünschten Ereignissen zählen Singles, welche durch den Verlust eines Photons entstehen, sowie Zufallskoinzidenzen, sogenannte „Randoms“, die „Trues“ imitieren können. Zwei innerhalb des Koinzidenzzeitfensters registrierte Singles werden fälschlicherweise als Photonenpaar erkannt. Auch kann ein Photon durch den

Compton-Effekt auf seinem Weg zum Detektor gestreut werden. Dann ändert es seine Richtung, was zu einer Fehllokalisation führt (94).

4.2.2.1 Verfahren der Datenaufnahme

Bei der statischen Datenaufnahme werden alle Ereignisse während einer bestimmten Zeitspanne an derselben Aufnahme-Position für die Bildrekonstruktion verwendet. So kann eine Aussage über die im Untersuchungsvolumen vorhandene Tracermenge, aber nicht die Dynamik der Traceranreicherung getroffen werden (92).

Bei den gängigen Messverfahren werden die Einzelereignisse schon während der Messung weiterverarbeitet und in Sinogramm-Matrizen einsortiert. Hierbei handelt es sich um dreidimensionale Felder, deren Indizes die Position des Ereignisses beschreiben. Eine Sinogramm-Matrix beinhaltet also die Anzahl der erfassten Ereignisse (95).

Zur Beurteilung von dynamischen Stoffwechselprozessen kann bei modernen PET-Scannern jedoch auch die Datenaufnahme im sogenannten List-Mode akquiriert werden. Die List-Mode Daten enthalten die Position der Einzelereignisse in Koinzidenzdatenwörtern, sowie Zeit- und Triggerinformationen in Zeitwörtern. Das Verfahren ermöglicht auch im Nachhinein die Definition und Modifikation von unterschiedlichen Zeitfenstern, sodass die gesamte Untersuchung als Multiframe-Datensatz vorliegt. Ein Multiframe-Datensatz zeigt verschiedene Zeitfenster derselben Aufnahme-Position. Zudem kann man mittels List Mode dynamische und gleichzeitig getriggerte Aufnahmen erstellen, sowie eine zeitaufgelöste Bewegungskorrektur durchführen (95). Auch ein Rebinning der Daten, die Addition geeigneter Zeitfenster, ist möglich, wodurch die Berechnungszeit der 3D-Daten-Rekonstruktion verkürzt wird. Das Prinzip des Rebinnings besteht darin, den

3D-Datensatz in seinen äquivalenten 2D-Datensatz umzurechnen. Dieser kann dann mit geringem Zeitaufwand unter Verwendung einer etablierten 2D-Rekonstruktion rekonstruiert werden (96).

4.2.2.2 Prinzip der Messdatenkorrektur

Da die emittierten Photonen im Gewebe teilweise absorbiert und so um ein bis zwei Größenordnungen abgeschwächt werden, ist eine *Absorbtionskorrektur* der Emissionsdaten notwendig. Die Absorbtionskorrektur ist die betragsmäßig größte aller Korrekturen und erfolgt mit Hilfe einer sogenannten Transmissionsmessung mit Hilfe von im System integrierten, radioaktiven Punktquellen z.B. [^{57}Co]. Durch die von den rotierenden Punktquellen emittierten Photonen lässt sich ein Tomogramm erstellen, welches anschließend für die Datenkorrektur verwendet werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, quantitativ für jeden Detektorzweig den absoluten Abschwächungsfaktor zu bestimmen (97).

4.2.2.3 Prinzip der Bildrekonstruktion

Aus den mehrfach korrigierten Messdaten entsteht nun Bildmaterial zur weiteren Analyse und Bildgebung. Das Verfahren der iterativen 2D Rekonstruktion (MLEM, OSEM, AW-OSEM) ist charakterisiert durch das wiederholte Anwenden des gleichen Algorithmus, bis die bestmögliche Annäherung an eine perfekte Lösung erreicht wurde.

Zunächst findet eine Rückprojektion der angenommenen Tracerverteilung unter Berücksichtigung der Eigenschaften des Abbildungssystems statt. Dann wird die Differenz zwischen rückprojizierten und gemessenen Daten bestimmt. Aus dieser Differenz wird ein Korrekturfaktor errechnet und angewendet. Diese Schritte werden bis zum Erreichen eines Abbruchkriteriums wiederholt.

Prinzipiell lässt sich durch eine genügende Anzahl an Iterationen jede beliebige Auflösung erreichen. Allerdings wird auch das Bildrauschen verstärkt und Rundungsfehler wirken sich zunehmend aus, sodass dann weitere Iterationen zu einer Verschlechterung der Bildqualität führen. Die iterative 2D Rekonstruktion kann auch bei einem 3D-Aufnahmemodus angewendet werden, nachdem die Daten durch Fourier Rebinning umgerechnet wurden (98).

4.2.3 MikroPET am Kleintiermodell

Tierexperimente stellen einen wichtigen Aspekt der modernen Medizin dar, ersetzen sie doch ethisch nicht vertretbare Experimente mit Menschen. Die Erforschung pathophysiologische Zusammenhänge, sowie die Bildgebung verschiedener Krankheiten wäre ohne diese Alternative nicht möglich.

Unter all den technischen Verfahren, die auf diesem Gebiet Anwendung finden, sticht die hochauflösende PET am Kleintier hervor, da sie sich zur Abbildung von Stoffwechselfvorgängen in vivo besonders eignet. Ihre im Vergleich zur SPECT höhere Auflösung ist besonders von Vorteil, wenn man den wenige Zentimeter betragenden Durchmesser eines Rattenhirns bedenkt. Eine neu entwickelte Generation von Scannern zeichnet sich durch Ortsauflösungen von ca. $< 1,6$ mm (humane Positronen-

Emissionstomographen: 5-7 mm) aus und machen die Anwendung für kleine Tiergehirne (Ratten und Mäuse) möglich. Dank der an so kleine Strukturen angepassten Bildgebungsverfahren wird die Sektion eines Tieres direkt im Anschluss an ein Experiment oft unnötig. Des Weiteren können an denselben Tieren wiederholte Versuche vorgenommen werden, Spontanverlauf und Therapiebeeinflussung im einzelnen Tier beobachtet werden. Dies reduziert deutlich die Anzahl der zu verwendenden Tiere. Nachteilhaft wirkt sich aus, dass das MikroPET relativ kostenintensiv ist. Auch die kurze Halbwertszeit der Tracer hat eine limitierende Wirkung (99).

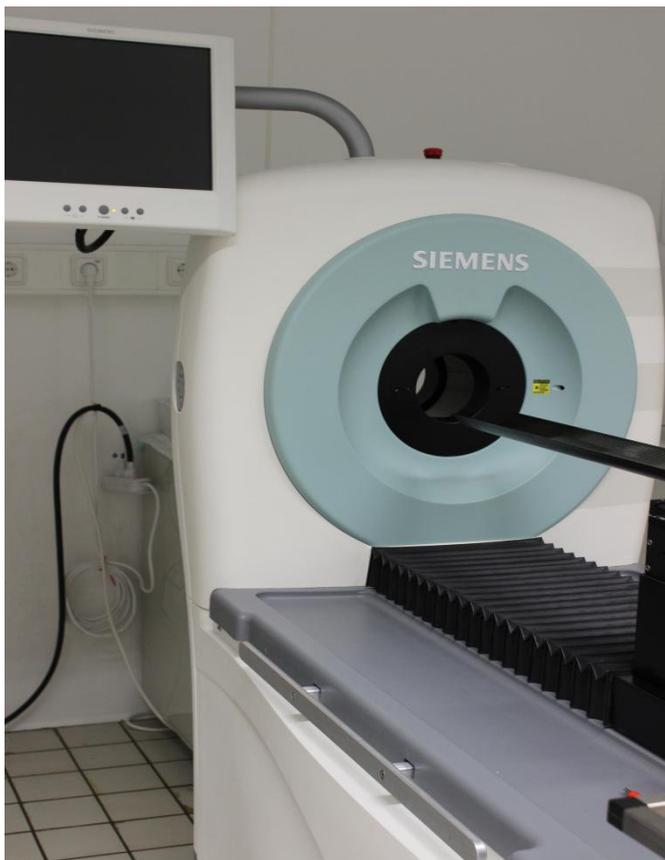


Abb. 7: TierPET-Scanner der LMU München im Klinikum Großhadern

4.2.4 [¹⁸F]-MPPF

Bei [¹⁸F]-MPPF (4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2''-pyridinyl)-p-[¹⁸F]-fluorobenzamido]-ethylpiperazin) mit der Summenformel C₂₅H₂₇FN₄O₂ handelt es sich um einen Serotonin 5-HT_{1A} Antagonisten, welcher mit hoher Affinität und Selektivität an die Serotonin 5-HT_{1A} -Rezeptoren im Gehirn von Katzen und Ratten (100,101,102,103) sowie die humane Variante (104, 105) bindet. In einer PET-Studie an gesunden Probanden erwies sich [¹⁸F]-MPPF als reliabel bei guter Test-Retest-Reproduzierbarkeit (106). Passchier *et al* wiesen zudem anhand von PET-Aufnahmen fünf gesunder Probanden nach, dass zur Berechnung des [¹⁸F]-MPPF-Bindungspotentials die Logan-Analyse mit dem Cerebellum als Referenzregion ausreicht und keine seriellen arteriellen Blutproben entnommen werden müssen (105).

[¹⁸F]-MPPF wurde als Alternative zu den kurzlebigen ¹¹C-markierten Tracern für PET-Studien der Serotonin 5-HT_{1A} -Rezeptoren entwickelt und ist auch für die Darstellung der Serotonin 5-HT_{1A} -Rezeptorfunktion mittels MikroPET im Rattengehirn geeignet. Ergebnisse in den Regionen Hippocampus, entorhinaler Cortex, Septum, medialer präfrontaler Cortex, Amygdala, Raphekerne, paraventriculärer Hypothalamus und Raphe obscurus entsprachen den Resultaten vorheriger Untersuchungen an Katzen, Affen und Menschen (107).

Verschiedene Studien haben [¹⁸F]-MPPF als P-Gp-Substrat validiert (14, 104). So zeigten MikroPET-Aufnahmen nach Applikation des P-Gp-Inhibitors Cyclosporin A eine signifikante Steigerung des [¹⁸F]-MPPF-Influx ins Gehirn der Ratte (14). In einer autoradiographischen Studie führte die P-Gp-Blockade mit Cyclosporin A zu einem fünf- bis zehnfach erhöhten cerebralen [¹⁸F]-MPPF-Uptake (104).

4.2.5 [¹⁸F]-FDG

Beim radioaktiven [¹⁸F]-FDG ersetzt ein radioaktives ¹⁸F-Isotop das natürliche Fluor-Atom im 2-Fluor-2-desoxy-D-glucose-Molekül. Es ist ein Glukoseanalogon und das am häufigsten verwendete Radiopharmakon bei der Positronen-Emissionstomographie. Nach Injektion findet sein Transport nach Intrazellulär durch erleichterte Diffusion über die passiven Glukosetransporter statt.

Transporter-Typ	Insulinabhängigkeit	Lokalisation
GLUT-1	insulinunabhängig	ZNS, Erythrozyten
GLUT-2	insulinunabhängig	Hepatozyten, β -Zellen, Darmmukosa, Nierenepithel
GLUT-3	insulinunabhängig	Cerebrale Neurone
GLUT-4	insulinabhängig	Fett-, Skelettmuskel-, Herzmuskelzellen
GLUT-5	Insulinunabhängiger Glukose- und Fruktose- Transporter	Spermatozoen, Intestinaltrakt, Nierenepithel

Tabelle 5: humane Glukosetransporter (108)

$[^{18}\text{F}]$ -FDG dient als universeller Marker der Glykolyse. Durch das Enzym Hexokinase wird $[^{18}\text{F}]$ -FDG intrazellulär zu $[^{18}\text{F}]$ -FDG-6-Phosphat phosphoryliert, kann aber aufgrund der fehlenden OH-Gruppe in Position 1 nicht mehr durch Ringverengung zum entsprechenden Fructosederivat umgesetzt werden und akkumuliert in den Zellen. Diesen Vorgang nennt man Trapping. Als kleines Molekül überwindet es problemlos die Blut-Hirn-Schranke. Der Abbau durch Dephosphorylierung erfolgt in allen Organen außer der Leber sehr langsam (109).

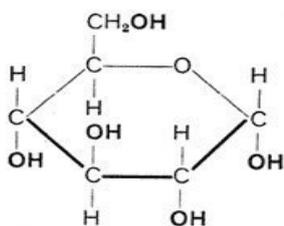


Abb.8: Strukturformel der FDG (FDG-Summenformel: $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{FO}_5$) (110)

Die Herstellung des radioaktiven ^{18}F und des FDG-Moleküls erfolgen getrennt. ^{18}F entsteht im Zyklotron aus H_2^{18}O , welches mit hochenergetischen Protonen beschossen wird (111). Die Zielsubstanz [^{18}F]-FDG wird anschließend durch das Verfahren der elektrophilen Addition (112) oder der nukleophilen Substitution synthetisiert (113).

5 MATERIAL UND METHODIK

5.1 Pharmazeutika und Radiomarkierung

5.1.1 Tariquidar

Tariquidar (XR9576) ist ein potenter und effektiver P-Gp-Inhibitor der dritten Generation. Es handelt sich um *N*-[2-[[4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isoquinolin-2-yl)ethyl]phenyl]carbamoyl]-4,5-dimethoxyphenyl]-quinoline-3-carboxamide, kurz $C_{38}H_{38}N_4O_6$ mit einer molaren Masse von 646.73 g/mol. Tariquidar hemmt die ATPase-Aktivität von P-Gp durch Inhibition der Substratbindung, Inhibition der ATP-Hydrolyse oder beide Mechanismen zugleich (45).

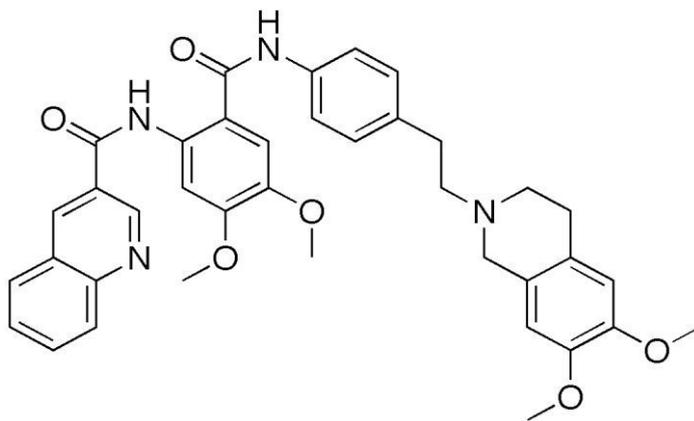


Abb.9: Strukturformel von Tariquidar (114)

Es wurde von der Firma Avaant Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Mumbai, Indien) hergestellt und vor der Injektion in 0,5 ml 5% Glukose aufgelöst.

5.1.2 [¹⁸F]-MPPF

Die Herstellung von [¹⁸F]-MPPF erfolgte durch nukleophile aromatische Substitution unter Modifikation der in der Literatur beschriebenen Prozedur (101) in der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin. Eine spezifische Aktivität von 1-3Ci/μmol und RCY von 17±5% bei Auslieferung wurden erreicht. Die radiochemische Reinheit betrug > 98%.

5.1.3 [¹⁸F]-FDG

[¹⁸F]-FDG ist der am häufigsten verwendete Tracer bei der Positronen-Emissionstomographie. Für unsere Untersuchungen wurde es gebrauchsfertig vom Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München erworben.

5.2 Bildakquisition und -verarbeitung

5.2.1 Tiere

Um den Effekt des neuen P-Gp-Inhibitors Tariquidar auf die Aufnahme und Bindung des Serotonin 5-HT_{1A}-Antagonisten [¹⁸F]-MPPF im Gehirn der Ratte zu untersuchen, wurden zwei Gruppen à sechs Tieren gebildet (Gruppe I und II). Dabei handelte es sich um junge ausgewachsene weibliche Sprague Dawley Ratten mit einem mittleren Gewicht von 253±18 g, die von Harlan-Winkelmann (Lelystad, Niederlande) erworben wurden.

Die Versuche erfolgten unter Beachtung der deutschen Gesetze für Tierexperimente.

Für die Studie zur Bildgebung einer P-Gp vermittelten Pharmakoresistenz an Ratten mit Epilepsie (Gruppe III) wurden Tiere derselben Rasse und desselben Geschlechts und Alters mit einem mittleren Gewicht von 200-224g genutzt (Harlan/Horst, Niederlande). Alle Tierprotokolle wurden durch Komitees der Regierung von Oberbayern geprüft und in Zusammenarbeit mit dem European Communities Council Directive, 86/609/EEC und dem Deutschen Animal Welfare Act erstellt. Alle Tiere konnten sich eine Woche an die neue Umgebung gewöhnen.

Alle Tiere beider Studien wurden unter Kontrolle von Luftfeuchtigkeit (50-60%) und Temperatur (24-25°C) und einem zwölf Stunden-Tag/Nacht-Rhythmus gehalten. Sie hatten freien Zugang zu Wasser und Standardfutter.

5.2.2 Induktion der Epilepsie bei den Tieren der Gruppe III sowie das Vorgehen bei der Auswahl der Responder und Non-Responder

Die Induktion der Epilepsie sowie die Selektion der epileptischen Tiere erfolgte durch Mitarbeiter des Instituts für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie an der LMU München (Leiterin Frau Prof. Potschka). Die selbige Arbeitsgruppe war auch für die klinische Einteilung in Responder, die auf Antiepileptika ansprechen und Non-Responder, die Antiepileptikaresistenz zeigen, verantwortlich. Im Folgenden werden die dazu notwendigen Schritte beschrieben, welche im Detail aus der Publikation von Bartmann *et al* zu entnehmen sind (115).

5.2.2.1 Induktion eines Status epilepticus

Epilepsien können auf verschiedene chemische und elektrische Wege am Tiermodell induziert werden (85). Bei unseren Tieren wurde unter Anästhesie eine Teflon-isolierte bipolare Edelstahlelektrode in den rechten basolateralen vorderen Kern der Amygdala (BLA) implantiert. Die stereotaktischen Koordinaten mit Bezugspunkt Bregma betragen AP +2,2; L +4,8; DV +8,6 (89). Sechs Wochen später induzierte man durch eine Elektrodenstimulation über 25 min einen Status epilepticus, der durch die neuronale Eigenaktivität der Tiere aufrechterhalten wurde. Bei allen Ratten diente die Elektrode ebenfalls zur Ableitung eines EEGs vor, während und nach dem Status epilepticus. 30 Tiere entwickelten einen generalisierten Status epilepticus, 18 einen fokalen Status epilepticus mit einzelnen sich wiederholenden generalisierten Anfällen. Nach maximal vier Stunden wurde der Status epilepticus durch die parenterale Injektion von 10mg/kg Diazepam aufgehoben. War diese Menge nicht ausreichend, fanden weitere Gaben bis zur kompletten Unterdrückung der Anfallsaktivität und einer Normalisierung des EEGs statt. Acht Wochen später wurden die 48 Ratten während der Prä-Screening-Periode sechs Wochen lang mit Hilfe von EEG und Videoaufnahmen rund um die Uhr überwacht, bis die ersten spontanen Anfälle auftraten (116). Zwölf Ratten mit spontanen rezidivierenden Anfällen wurden für den nächsten Schritt ausgewählt. Ihre Einteilung in Responder und Non-Responder sollte nun durch längere Behandlung mit Phenobarbital erfolgen. Die übrigen 36 Ratten wurden von der Studie ausgeschlossen.

5.2.2.2 Kontinuierliche Video- und EEG-Überwachung zur Erkennung spontaner Anfälle

Während der gesamten Studie wurden alle spontan aufgetretenen Anfälle der Tiere registriert. Eine kontinuierliche Überwachung 24 Stunden sieben Tage die Woche war mit Hilfe eines kombinierten digitalen Video- und EEG-Überwachungssystems möglich. Zur Optimierung der Überwachung wurden die Tiere in standardisierten Glaskäfigen (40×40×40cm) unter kontrollierten Bedingungen gehalten. Um spontane Anfälle zu entdecken fand eine visuelle Analyse der Elektroenzephalogramme statt. Die Einschätzung des Schweregrades eines Anfalls erfolgte durch eine Sichtung der zugehörigen Videoaufzeichnung und orientierte sich an der Skala nach Racine.

Stufe 1	Immobilität, faziale Automatismen
Stufe 2	Kopfnicken, faziale und orale Cloni (Kauen)
Stufe 3	Clonus eines Vorderbeins
Stufe 4	Clonus beider Vorderbeine, Aufbäumen
Stufe 5	Aufbäumen und Fallen, vergesellschaftet mit generalisierten tonisch-klonischen Krämpfen

Tabelle 6: Skala nach Racine 1972 (117)

5.2.2.3 Auswahlverfahren der Responder und Non-Responder

Ungefähr drei Monate nach der Induktion des Status epilepticus wurde vor dem Start der Phenobarbitaltherapie über einen Zeitraum von sechzehn Tagen die Ausgangsanfallsfrequenz der zwölf Ratten mit spontanen rezidivierenden Anfällen festgelegt (pre-drug control period). In dieser Phase wurde zweimal täglich 3 ml/kg 0,9% NaCl injiziert. Zu Beginn der

Therapie erhielten die zwölf Tiere einen parenteralen Bolus von 25 mg/kg Phenobarbital am Morgen des ersten Tages gefolgt von einer zweiten Injektion von 10 mg/kg zehn Stunden später. Für sechzehn folgende Tage wurde zweimal täglich intravenös 15 mg/kg in NaCl gelöstes Phenobarbital mit einem Volumen von 3 ml/kg statt der 3 ml/kg reinen Natriumchlorids verabreicht. Nach Ende der Therapie schloss sich eine dreiwöchige Kontrollphase an (post-drug control period). So diente jedes Tier als seine eigene Kontrolle. Nebenwirkungen des Phenobarbital wie Ataxie oder Sedierung wurden in die Beobachtung eingeschlossen, aber nicht weiter ausgewertet (116, 118).

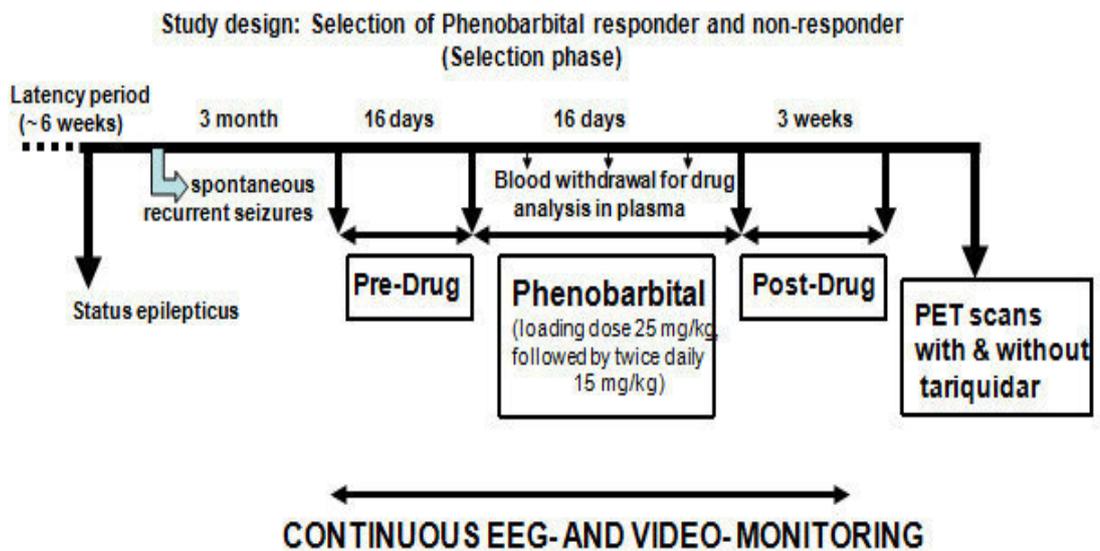


Abb.10: Schema der Vorgehensweise von der Induktion des SE bis zum PET-Scanning (115)

5.2.3 PET-Scanning

Die sechs Tiere der Gruppe I durchliefen insgesamt vier PET-Scans. Scan 1 und 2 dienten der Testung auf Test-Retest-Reliabilität und wurden ohne jede Vorbehandlung durchgeführt (Baseline). Scan 3 erfolgte 60 min nach intravenöser Gabe von 15 mg/kg Tariquidar und Scan vier 60 min nach Applikation eines Tariquidar-Vehikels (Glukose) um mögliche störende Effekte einer alleinigen Vehikelgabe auszuschließen.

Die sechs Tiere der Gruppe II wurden je einmal 60 min nach Injektion des Vehikels, 30 mg/kg Tariquidar und 5 mg/kg Tariquidar untersucht. Ein Tier aus dieser Gruppe musste ausgeschlossen werden.

Die zwölf Responder/Non-Responder der Gruppe III durchliefen einen Scan 60 min nach Gabe eines Vehikels (5% Glukose) und einen Scan 60 min nach Gabe von 15 mg/kg Tariquidar.

Der Ablauf der einzelnen Messungen war identisch. Er wird im Folgenden geschildert.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit 2,5% Isofluran. Während des dreistündigen Experiments wurde die Anästhesie mittels 1,5% Isofluran 1,2 l/min über eine Maske aufrechterhalten. Nach dem Legen eines intravenösen Zugangs am Schwanz wurden die Tiere im Siemens Inveon P120 PET Scanner positioniert und der Kopf in einer spezialangefertigten Halterung fixiert, um Bewegungen desselben zu minimieren. Ein Heizkissen verhinderte ein Auskühlen der Ratten. Eine 60 min lange dynamische Emissionsmessung wurde während der 10 s dauernden intravenösen Bolusinjektion von ca. 50 MBq [¹⁸F]-MPPF in 1 ml NaCl gestartet. Diese dynamische Messung bestand aus 25 Frames mit systematischer Längenzunahme von 20 s auf 10 min. Im Anschluss daran fand eine Transmissionsmessung mit einer rotierenden

[⁵⁷Co]Punktquelle statt. Nach Abschluss der [¹⁸F]-MPPF-Messung wurde ca. 50 MBq [¹⁸F]-FDG als Bolus in die Schwanzvene injiziert und eine 45-minütige dynamische Emissionsmessung, gefolgt von einer zweiten Transmissionsmessung durchgeführt. Diese zweite PET-Untersuchung erfolgte vorwiegend für die anatomische Orientierung, da mittels [¹⁸F]-MPPF-PET nur bedingt eine sichere anatomische Information erhalten werden kann. Hierbei wurde speziell darauf geachtet, dass die Tiere für beide sich direkt anschließenden Messungen nicht bewegt wurden. Kurz vor und gegen Ende der [¹⁸F]-FDG-Messung gewann man kleine venöse Blutproben und bestimmte die Konzentration der Blutglukose. Dann wurden die Ratten aus dem Tomographen in ihre Käfige verbracht, wo sie sich von der Narkose erholen konnten. Zwischen den einzelnen Messungen lagen sieben bis zehn Tage um die Auswirkungen von Stress und Anästhetikum auf die PET-Untersuchung zu minimieren.

Nach Beendigung der Scanreihen wurden alle Tiere mit einer Isofluran-überdosis getötet und ihre Gehirne für weitere Analysen entnommen.

5.2.4 Bildrekonstruktion und -analyse

Für die Rekonstruktion der dynamischen Messungen wurde das iterative 2D Verfahren mit dem OSEM („Ordered Subsets Expectation Maximization“) - 2D-Algorithmus angewendet, welcher eine Streustrahlungs- und eine Absorptionskorrektur enthält. Für die Absorptionskorrektur nutzte man das Ergebnis der zugehörigen Transmissionsmessung, die nach jedem [¹⁸F]-MPPF- bzw. [¹⁸F]-FDG-Scan stattgefunden hatte. Die resultierende Matrix betrug 128×128×159, die Voxel-Maße der rekonstruierten Bilder betragen 0,59× 0,59×0,79 mm³.

Nach Transformation der MikroPET-Files mit Hilfe der PMOD-Software (PMOD Technologies Ltd, Zürich, Schweiz) zum NifTi-Datenformat, erfolgte

die Erstellung von statischen Summenbildern für jede dynamische [^{18}F]-MPPF und [^{18}F]-FDG-Messung und anschließend die Konversion dieser Bilder in das Montreal Neurological Institute-Format (MNI).

Durch visuelle Überprüfung der [^{18}F]-MPPF- und [^{18}F]-FDG -Summenbilder nach dem Resampling konnte eine Kopfbewegung zwischen den beiden Messungen ausgeschlossen werden.

Für die weitere Gruppenauswertung erfolgte eine manuelle Koregistrierung auf einen hochauflösenden, digitalen, auf Kryosektion basierenden Atlas des Rattengehirns (119) unter Zuhilfenahme des Programms Register (Register-1.3.6 und Minc-2.0.9 MNI-BIC Software, Montreal, Kanada). Für die stereotaktische Normalisierung (9 Freiheitsgrade) (120) wurden jeweils die [^{18}F]-FDG PET Datensätze verwendet und anschließend die hieraus entstandene Transformation gespeichert um diese an den [^{18}F]-MPPF Daten anzuwenden. Dieser Schritt ermöglicht eine möglichst genaue Normalisierung der Einzeluntersuchungen, damit dann eine akkurate Gruppenanalyse erfolgen kann.

Anschließend wurden die stereotaktisch normalisierten [^{18}F]-MPPF-Datensätze verwendet um die Zeit-Radioaktivitätskurven mittels festgelegtem Volume-Of-Interest (VOI) zu erhalten: nämlich dem Hippokampus (ventral, dorsal, total, beide Seiten), dem Kleinhirn, den Raphekernen, dem Septum und dem vorderen Gyrus cinguli (121). Als Grundlage für diese VOI-Vorlagen diente der vorher genannte anatomische Atlas.

5.2.4.1 K_1 -gewichteter Influx

Als Index für die unidirektionale [^{18}F]-MPPF-Clearance an der Blut-Hirn-Schranke wurde eine Summation der ersten 100 Sekunden einer jeden Messung erstellt und die Clearance in Prozent der totalen injizierten Dosis pro Gramm mit einer gewichtsbezogenen Normalisierung angegeben. Diese K_1 -

gewichtete Summierung diente als Surrogatmarker für die unidirektionelle Blut-Hirn-Clearance (K_1), von welcher wir eine Modifikation durch die Aktivität des P-Gp erwarteten.

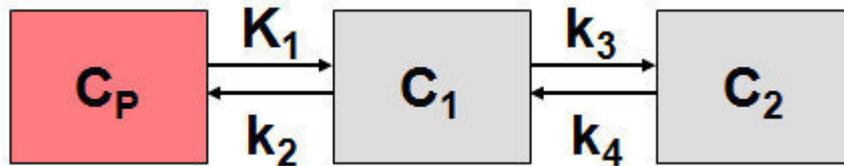


Abb. 11: Grafik eines 2-Kompartiment-Modells mit C_p =Plasmakonzentration des $[^{18}\text{F}]$ -MPPF, C_1 = $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Konzentration im Gewebe/ unspezifisch gebundenes $[^{18}\text{F}]$ -MPPF, C_2 = Rezeptor-gebundenes $[^{18}\text{F}]$ -MPPF (122)

Für jede Gruppe von Ratten wurde für Baseline, Vehikel und die verschiedenen Tariquidar-Dosen ein mittleres K_1 -gewichtetes Bild der bekannten VOIs (bei Gruppe 3 Cerebellum, rechter/ linker Hippokampus) erstellt. Die Definition des Messzeitraums von 100 Sekunden basierte auf durchgeführte Voruntersuchungen und der Annahme, dass bis zur 100. Sekunde p.i. der Tracerefflux noch keinen signifikanten Einfluss haben sollte, während die Verwendung eines kürzeren Zeitraums in manchen Fällen den cerebralen Radioaktivitätspeak nicht beinhalten würde.

Die Bestimmung des physiologischen K_1 -wertes (K_1 ; $\text{ml g}^{-1} \text{min}^{-1}$) hätte die serielle Entnahme von arteriellen Blutproben erfordert. Da die Studien jedoch wiederholte Messungen an denselben Tieren voraussetzten, musste das oben beschriebene, nicht invasive Näherungsverfahren angewandt werden. Um die Nutzung der K_1 -gewichteten Summenbilder zu validieren, wurde der physiologischen K_1 -wert durch lineare graphische Analyse mittels auf Bildmaterial basierender Schätzungen des arteriellen Input berechnet.

Dieses Vorgehen wurde durch die Tatsache ermöglicht, dass das axiale FOV des MikroPET-Scanners (12,7cm) gleichzeitige Datenakquisition von Gehirn und Herz erlaubt. Hierfür wurden aus den dynamischen $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-

Datensätzen, welche im List-Mode akquiriert wurden, Frames à 10 Sekunden erstellt, so dass hundertsekündige Zeit-Radioaktivitätskurven des Kleinhirns sowie des linken Ventrikels, welcher in den ersten Frames sehr gut sichtbar war, berechnet werden konnten. Zu diesem Zweck wurde eine kugelförmige VOI von einem zwei und drei Millimeter Durchmesser in der linken Herzkammer platziert. Jeder der 10 Frames wurde auf eine korrekte VOI-Lage geprüft.

Das $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Verteilungsvolumen als eine Funktion der Kreislaufzeit ($V_d(T)$; ml g^{-1}) wurde als Quotient aus der Radioaktivitätskonzentration im Kleinhirn und im Herzen (Hirn-/Herzaktivität) berechnet und dann als Funktion des normalisierten $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Inputs ins Herz (θ (min)); das Integral des $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Inputs ins Herz zur Zeit T / $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Konzentration im Herzen zum Zeitpunkt T) dargestellt. Der K_1 -Wert im Cerebellum ließ sich daraufhin nach der Methode der linearen Regression errechnen.

5.2.4.2 Bindungspotential BP_{ND} und Effluxkonstante k_2

Für die Berechnung des Bindungspotentials ($BP_{ND}=K_3/K_4$) des Radiotracers $[^{18}\text{F}]$ -MPPF zu den 5-HT_{1A}-Rezeptoren wurde die nicht invasive Methode nach Logan verwendet (123), wobei das Cerebellum als Hintergrundregion definiert wurde. Hieraus konnten voxelweise parametrische Abbildungen des $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Bindungspotentials erstellt werden. Die Logan-Analyse mit Cerebellum-Input wurde bereits für die Berechnung des $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Bindungspotentials im menschlichen Gehirn validiert (106).

Zur Einschätzung des Bindungspotentials der Gruppe 1 mit Vehikel- bzw. 15 mg TQD-Vorbehandlung sowie der Responder/Non-Responder nach Vehikel- und TQD-Gabe bedienten wir uns auch der ebenfalls validen SRTM-Methode nach Gunn (106,124). Das Simplified Reference Tissue Model (125) stellt eine Weiterentwicklung des 4 Parameter Reference Tissue Model mit nur

drei Parametern dar. Es erlaubt die Bestimmung der Rezeptorkinetik ohne Messung des arteriellen Input, wodurch ein arterieller Zugang und zeitaufwändige metabolische Messungen vermieden werden können. Zwei Voraussetzungen müssen für die Anwendung des SRTM erfüllt sein:

1. Das Verteilungsvolumen der Referenzregion entspricht dem der zu untersuchenden Region $K_1/k_2 = K_1'/k_2'$.
2. Die Region mit hoher Rezeptordichte weist eine Kinetik auf, welche es schwierig macht zwischen dem spezifischen und dem nicht-spezifischen Kompartiment zu differenzieren; die Zeit-Radioaktivitätskurve kann an ein 1-Tissue Compartment Model angepasst werden.

Neben BP_{ND} (k_3/k_4) werden mit dieser Methode zwei weitere Parameter berechnet:

- K_2 , die Konstante für den Tracer-Efflux
- R_1 , Quotient aus Influx ins Zielgebiet und Influx in die Referenzregion

Für die Zeit-Radioaktivitätskurve gilt dann folgende Gleichung:

$$C(t) = R_1 C'(t) + R_1 [k_2' - k_{2a}] C'(t) \otimes e^{-k_{2a}t}$$

(122)

Für die Berechnung sämtlicher beschriebener Parameter wurde die PMOD Software 2.9 (PMOD Technologies Ltd, Zürich, Schweiz) angewendet.

5.2.4.3 VOI-Analyse

Die VOI-Analyse zur Ermittlung des Bindungspotentials BP_{ND} kann wie folgt beschrieben werden:

1. Verwendung der stereotaktisch normalisierten, parametrischen Bilder, welche voxelweise das Bindungspotential zu den 5-HT_{1a} Rezeptoren widerspiegeln.
2. Berechnung des Mittelwertes einer jeden definierten VOI (z.B. des gesamten linken Hippokampus) einer jeden Ratte pro PET-Scan.
3. Bildung des BP_{ND} -Mittelwertes einer jeden definierten VOI (z.B. des gesamten linken Hippokampus) aller Ratten einer Gruppe mit einer bestimmten Vorbehandlung (n=6).

5.2.4.4 Glukosestoffwechsel

Zur Evaluation der [¹⁸F]-FDG-Aufnahme wurden die Frames zwischen 30-45 Minuten nach Tracer-Injektion summiert. Die Traceraufnahme wurde als Prozentsatz der injizierten Gesamtdosis pro Gramm des Gehirns (% ID/g) ausgedrückt und in Bezug auf Körpergewicht und Blutglukosespiegel normalisiert. Den Blutglukosespiegel ergab die Mittelung der Prä- und Post-Scan-Glukoselevel.

5.3 Statistische Analyse

5.3.1 Statistik der Gruppen I und II

Als Ergebnisse wurden Mittelwerte und ihre jeweilige Standardabweichung angegeben. Die Hypothesentestung innerhalb jeder Gruppe wurde mit dem

T-Test für verbundene Stichproben durchgeführt, während der T-Test für unverbundene Stichproben für den Vergleich unterschiedlicher Gruppen genutzt wurde. Eine Varianzanalyse (ANOVA) diente dem Vergleich aller Gruppen. Die Test-Retest-Variabilität wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{TRV} = [\text{scan1} - \text{scan2}] * 100 / (\text{scan1} + \text{scan2}) / 2$$

5.3.2 Statistik der Responder/Non-Responder der Gruppe III

Als Ergebnisse der Responder/Non-Responder-Gruppe wurden Mittelwerte und der jeweilige Standardfehler angegeben ($\mu \pm \text{SEM}$). Mit dem Kolmorov-Smirnov-Test wurden die Daten auf Gauss'sche Normalverteilung getestet. Der Vergleich der Phenobarbitalplasmakonzentration innerhalb einer Gruppe erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Die Tests, die dem Vergleich der Wirkung von Tariquidar und Vehikel dienten, wurden einseitig genutzt, da der Inhibitor die Daten nur in eine Richtung beeinflussen sollte. Alle anderen statistischen Tests erfolgten zweiseitig.

6 ERGEBNISSE

6.1 Gruppe I

6.1.1 Nachweis der Test-Retest-Stabilität unter nativen Bedingungen

Test und Retest zeigten weder bezüglich der gemessenen Parameter noch der Gehirnregionen signifikante Unterschiede (Tabelle 7-9). Der mittlere Blutglukosespiegel der Ratten betrug 115 ± 24 mg/dl vor und 116 ± 16 mg/dl nach den [^{18}F]-FDG-Messungen. Ein Effekt des Tariquidar bzw. des Glukose-haltigen Vehikels auf die Glukosekonzentration im Blut der Tiere ließ sich nicht nachweisen.

6.1.1.1 Test-Retest - K_1

Im Test-Retest-Vergleich fiel keine signifikante Seitenasymmetrie des K_1 - gewichteten [^{18}F]-MPPF-Uptake (Tabelle 7, Abbildung 13) auf. Der K_1 -gewichtete Einstrom erwies sich als weitgehend homogen bei einer relativen Standardabweichung von 18-21% und einer Test-Retest-Variabilität von 14-28% (Tabelle 7).

Im Cerebellum korrelierten die K_1 -gewichtete Summation und das „physiologische“, relativ zum Herz-Input berechnete K_1 signifikant ($r=0.78$, $P<0.001$) (Abbildung 12). Die relative Standardabweichung der K_1 -gewichteten Summation im Cerebellum war geringgradig größer als die des „physiologischen“ K_1 (Tabelle 7).

Serielle arterielle Blutproben hätten eine bessere Einschätzung des initialen [^{18}F]-MPPF-Input ermöglicht (47). Die Entnahme war allerdings technisch nicht durchführbar, da unser Studiendesign wiederholte Scans derselben Tiere erforderte. Das „physiologische“ [^{18}F]-MPPF- K_1 im Cerebellum war

jedoch mit den Resultaten einer [^{18}F]-MPPF-MikroPET-Studie mit Entnahme serieller arterieller Blutproben vergleichbar (126).

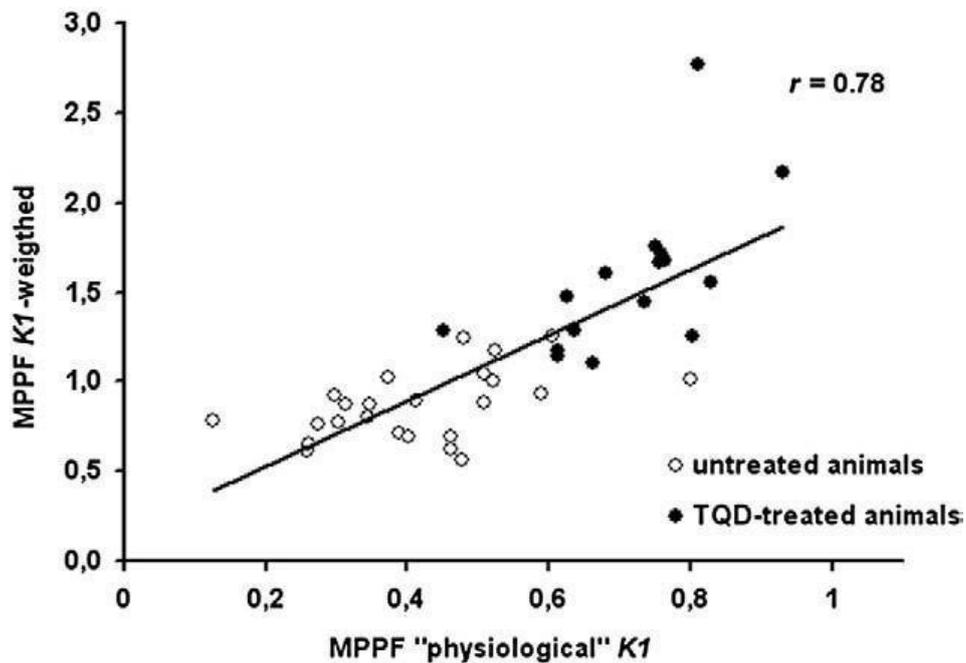


Abb. 12: Korrelierte Werte der [^{18}F]-MPPF- K_1 -gewichteten Summation und der “physiologischen” unidirektionalen Blut-Hirn-Clearance (K_1 ; $\text{ml g}^{-1} \text{min}^{-1}$) im Cerebellum für Gruppe I und II unter allen Bedingungen (127)

6.1.1.2 Test-Retest - BP_{ND}

Im Test-Retest-Vergleich zeigte sich keine signifikante Seitenasymmetrie des [^{18}F]-MPPF-Bindungspotentials BP_{ND} (Tabelle 8, Abbildung 14). Wie erwartet, fand man in Gehirnregionen, von denen eine hohe Konzentration an $5\text{-HT}_{1\text{A}}$ -Rezeptoren bekannt ist - beispielsweise Septum, Hippocampus und vorderer Gyrus cinguli- ein signifikant gesteigertes Bindungspotential BP_{ND} (Tabelle 8). Die relative Standardabweichung des BP_{ND} reichte von 24% im

Hippocampus zu 47% im Raphekern, was möglicherweise in der geringen Größe dieser Struktur begründet liegt.

6.1.1.3 Test-Retest - [¹⁸F]-FDG

Der Test-Retest-Vergleich ergab keine signifikante Seitenasymmetrie der [¹⁸F]-FDG-Aufnahme (Tabelle 9, Abbildung 13). Die [¹⁸F]-FDG-Aufnahme zeigte sich ziemlich homogen (Tabelle 9, Abbildung 13) mit einer relativen Standardabweichung von 34-41% (Test) bzw. 12-16% (Retest), sowie einer Test-Retest-Variabilität von 31-39% (Tabelle 9).

6.1.2 Vehikel

Weder das K_1 -gewichtete [¹⁸F]-MPPF-Uptake (Tabelle 7, Abbildung 13), noch das [¹⁸F]-MPPF-Bindungspotentials BP_{ND} (Tabelle 8, Abbildung 14) oder das [¹⁸F]-FDG-Uptake (Tabelle 9, Abbildung 13) wurden durch die intravenöse Applikation des Glukose-haltigen Vehikels beeinflusst. Auch der während des [¹⁸F]-FDG-Scans gemessene Plasmaglukosespiegel wies keine signifikanten Veränderungen auf. Die Messungen unter Vehikel-Gabe dienten als Vergleichsgruppe um die spezifischen Effekte von Tariquidar zu ermitteln.

6.1.3 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar in einer Dosierung von 15 mg/kg

6.1.3.1 Tariquidar 15 mg/kg - K_1

Nach Applikation einer Dosis von 15 mg/kg Tariquidar kam es in allen untersuchten Gehirnregionen zu einer Verdoppelung des K_1 -gewichteten

Einstroms ($P < 0.05$) (Tabelle 7 und 10, Abbildung 13). Die Vorbehandlung der Tiere mit 15 mg/kg TQD bewirkte auch eine Verdoppelung des „physiologischen“ K_1 im Cerebellum (Tabelle 7).

6.1.3.2 Tariquidar 15 mg/kg - BP_{ND}

In den Gehirnregionen mit hoher 5-HT_{1A}-Rezeptordichte steigerte die Prämedikation mit Tariquidar 15 mg/kg das Bindungspotential zu den 5-HT_{1A}-Rezeptoren BP_{ND} um 40% (Tabelle 10, Abbildung 14). Um ein auswertetechnisches Bias in der Logan-Analyse auszuschließen, welches durch eine erhöhte freie Tracerkonzentration nach Tariquidar-Gabe verursacht worden wäre, wurde BP_{ND} auch mit Hilfe der nicht-invasiven Methode nach Gunn SRTM für das Vehikel sowie Tariquidar 15 mg/kg erneut berechnet. Wir erhielten BP_{ND} -Werte für die Tiere nach Vehikelgabe, die bezogen auf die Resultate der Logan-Methode im Hippokampus 12% und in den Regionen geringerer Rezeptordichte 30% höher waren, während sich der BP_{ND} -Wert für Tariquidar 15 mg/kg nicht änderte. (Tabelle 8).

Als interessanter Nebeneffekt senkte Tariquidar das Bindungspotential in den Harderschen Drüsen (Abbildung 14 und 15).

6.1.3.3 Tariquidar 15 mg/kg - k_2

Im Zuge der Berechnung parametrischer BP_{ND} -Werte erhielten wir einen Schätzwert für den hippokampalen [¹⁸F]-MPPF-Efflux (k_2 /min). Tariquidar 15 mg/kg reduzierte den Efflux k_2 um ca. 20%.

6.1.3.4 Tariquidar 15 mg/kg - [¹⁸F]-FDG

Die Gabe von 15 mg/kg Tariquidar steigerte den FDG-Stoffwechsel in allen Hirnregionen um 45% (Tabelle 9).

6.2 Gruppe II- erweiterte Dosis-Antwort-Studie

6.2.1 Vehikel

Wie bereits beschrieben (s. Gruppe I), hatte die Applikation des Glukosehaltigen Vehikels weder einen Effekt auf das K_1 -gewichtete Uptake noch auf die Aufnahme von BP_{ND} oder FDG und ließ auch den Plasmaglukosespiegel unbeeinflusst. Die Vehikelscans wurden auch in Gruppe II als Grundlage für die Berechnung verschiedener Tariquidareffekte durchgeführt (Tabelle 10, Abbildung 15).

6.2.2 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar in einer Dosierung von 5 mg/kg und 30 mg/kg - Dosis-Wirkungsbeziehung

Die Darstellung einer möglichen Dosis-Wirkungsbeziehung des Medikaments Tariquidar zählte zu den Zielen unserer Studie. In Tabelle 10 werden die sechs Tiere der Gruppe I (TQD 15 mg/kg) den sechs Tieren der Gruppe II (TQD 5 mg/kg / TQD 30 mg/kg) gegenübergestellt.

6.2.2.1 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - K_1

Aufgrund eines einzigen Tieres, welches nach Vorbehandlung mit 5 mg/kg Tariquidar eine Steigerung des K_1 -gewichteten Influx um 175% aufwies, war eine Dosis-Wirkungsbeziehung anfänglich schwer zu eruieren. Da das einzelne Tier sich von den anderen Mitgliedern seiner Gruppe um mehr als drei Standardabweichungen unterschied, wurde es aus der Statistik ausgeschlossen und wird in Tabelle 10 nicht dargestellt.

Durch die Erweiterung der Tiergruppen konnte ein dosisabhängiger Anstieg vom K_1 -gewichteten Einstrom im Hippocampus nachgewiesen werden

(Tabelle 10). Unter Zuhilfenahme eines einseitigen Inhibitionsmodells lag die Inhibitionskonstante IC_{50} bei ungefähr 5 mg/kg Tariquidar.

6.2.2.2 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - BP_{ND}

In den Regionen mit hoher Rezeptordichte steigerte Tariquidar in einer Dosierung von 15 mg/kg das BP_{ND} im Mittel um 40%. Die Applikation von 5 mg/kg und 30 mg/kg Tariquidar führte zu ähnlichen Resultaten ohne Hinweis für eine Dosisabhängigkeit.

6.2.2.3 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - k_2

Auch hier erfolgte kein Nachweis einer Dosisabhängigkeit, da die Applikation von Tariquidar in jeder Dosierung den Efflux k_2 um 10-20% reduzierte (Tabelle 10).

6.2.2.4 Tariquidar 5 mg/kg und 30 mg/kg - $[^{18}F]$ -FDG

Die Gabe von 5 mg/kg Tariquidar hatte keinen Effekt auf die $[^{18}F]$ -FDG-Aufnahme und 30 mg/kg Tariquidar bewirkte eine Steigerung von nur 14 % (Tabelle 10, Abbildung 15), während 15 mg/kg Tariquidar die $[^{18}F]$ -FDG-Aufnahme in allen Gehirnregionen um 45% steigerte (s. Gruppe I, Tabelle 9). Eine Dosis-Wirkungsbeziehung konnte somit nicht nachgewiesen werden. Die $[^{18}F]$ -FDG-Aufnahme der Harderschen Drüsen stieg unter Tariquidar dosisunabhängig um 25%.

	Test	Retest	Vehikel (Glucose 5%)	TQD (15 mg/kg)
Hippokampus gesamt	1.09 ± 0.36	1.08 ± 0.25 (24%)	1.01 ± 0.27	2.05 ± 0.55 **
Hippokampus links ventral	1.12 ± 0.34	1.10 ± 0.26 (24%)	1.08 ± 0.30	2.03 ± 0.51 **
Hippokampus links dorsal	1.06 ± 0.35	1.08 ± 0.25 (22%)	0.96 ± 0.26	2.04 ± 0.59 **
Hippokampus rechts ventral	1.08 ± 0.37	1.07 ± 0.24 (25%)	1.08 ± 0.28	2.09 ± 0.53 **
Hippokampus rechts dorsal	1.12 ± 0.39	1.08 ± 0.28 (28%)	0.98 ± 0.26	2.05 ± 0.57 **
Septum	1.04 ± 0.36	1.07 ± 0.25 (22%)	0.99 ± 0.27	1.96 ± 0.52 **
Gyrus cinguli anterior	1.09 ± 0.31	1.17 ± 0.28 (24%)	0.98 ± 0.29	2.05 ± 0.52 **
Raphekerne	1.20 ± 0.38	1.23 ± 0.19 (14%)	1.23 ± 0.32	2.39 ± 0.75 **
Cerebellum	0.90 ± 0.26	0.86 ± 0.16 (20%)	0.91 ± 0.26	1.86 ± 0.53 **
“Physiologisches” K_1 (ml g ⁻¹ min ⁻¹) im Cerebellum	0.47 ± 0.06	0.49 ± 0.18 (19±13%)	0.43 ± 0.11	0.74 ± 0.17**
k_2 (min ⁻¹) im Hippokampus	0.81 ± 0.19	0.80 ± 0.18 (16%)	0.72 ± 0.08	0.57 ± 0.14 *
R_1 im Hippokampus	0.89 ± 0.1	0.88±0.13 (13±11%)	0.82 ± 0.12	0.89 ± 0.04

Tabelle 7: Mittlere K_1 -Werte und Standardabweichung in % der injizierten Dosis pro Gramm nach gewichtsbezogener Normalisierung, statistische Signifikanz * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, Test-Retest-Variabilität TRV in % der K_1 -Werte in Klammern

	Test	Retest	Vehikel (Glucose 5%)	TQD (15 mg/kg)
Hippokampus gesamt	1.05 ± 0.15	1.06 ± 0.36 <i>(22%)</i>	1.06 ± 0.19 <i>1.19 ± 0.25</i>	1.35 ± 0.24 <i>1.34 ± 0.27</i>
Hippokampus links ventral	1.15 ± 0.20	1.24 ± 0.43 <i>(26%)</i>	1.30 ± 0.30 <i>1.43 ± 0.42</i>	1.56 ± 0.29 <i>1.55 ± 0.35</i>
Hippokampus links dorsal	1.02 ± 0.13	0.92 ± 0.32 <i>(24%)</i>	0.94 ± 0.16 <i>1.06 ± 0.19</i>	1.25 ± 0.20 * <i>1.24 ± 0.24</i>
Hippokampus rechts ventral	1.20 ± 0.26	1.18 ± 0.44 <i>(25%)</i>	1.21 ± 0.20 <i>1.36 ± 0.28</i>	1.39 ± 0.33 <i>1.37 ± 0.33</i>
Hippokampus rechts dorsal	0.92 ± 0.11	0.98 ± 0.31 <i>(18%)</i>	0.91 ± 0.15 <i>1.02 ± 0.19</i>	1.28 ± 0.22 <i>1.25 ± 0.23</i>
Septum	0.68 ± 0.15	0.72 ± 0.25 <i>(20%)</i>	0.64 ± 0.11 <i>0.77 ± 0.15</i>	0.93 ± 0.21 <i>0.92 ± 0.22</i>
Gyrus cinguli anterior	0.53 ± 0.13	0.68 ± 0.24 <i>(24%)</i>	0.54 ± 0.19 <i>0.72 ± 0.28</i>	0.76 ± 0.17 * <i>0.81 ± 0.21</i>
Raphekerne	0.42 ± 0.14	0.39 ± 0.20 <i>(40%)</i>	0.41 ± 0.13 <i>0.65 ± 0.21</i>	0.60 ± 0.10 * <i>0.84 ± 0.20</i>

Tabelle 8: mittlere [¹⁸F]-MPPF-BP_{ND}-Werte nach Logan und Gunn (Vehikel/TQD, kursiv) mit Standardabweichung, statistische Signifikanz * P<0.05, ** P<0.01, Test-Retest-Variabilität TRV in % der K₁-Werte in Klammer

	Test	Retest	Vehikel (Glucose 5%)	TQD (15 mg/kg)
Hippokampus gesamt	0.089 ± 0.037	0.082 ± 0.012 (36%)	0.075 ± 0.019	0.105 ± 0.016 *
Hippokampus links ventral	0.091 ± 0.038	0.085 ± 0.015 (39%)	0.074 ± 0.017	0.106 ± 0.018 *
Hippokampus links dorsal	0.088 ± 0.036	0.081 ± 0.010 (34%)	0.075 ± 0.018	0.104 ± 0.017 *
Hippokampus rechts ventral	0.090 ± 0.037	0.084 ± 0.013 (36%)	0.076 ± 0.020	0.107 ± 0.016 *
Hippokampus rechts dorsal	0.091 ± 0.037	0.081 ± 0.012 (37%)	0.076 ± 0.020	0.104 ± 0.016 *
Septum	0.084 ± 0.034	0.081 ± 0.012 (31%)	0.072 ± 0.018	0.097 ± 0.016
Gyrus cinguli anterior	0.091 ± 0.038	0.085 ± 0.014 (39%)	0.075 ± 0.021	0.104 ± 0.017
Raphekerne	0.094 ± 0.037	0.089 ± 0.011 (32%)	0.081 ± 0.017	0.108 ± 0.013 **
Cerebellum	0.068 ± 0.023	0.068 ± 0.011 (33%)	0.064 ± 0.014	0.089 ± 0.014 **

Tabelle 9: Mittlere [¹⁸F]-FDG-Werte in Prozent der injizierten Dosis pro Gramm, Normalisierung bezogen auf Gewicht und Glukosespiegel CMR_{GLC} statistische Signifikanz * P<0.05, ** P<0.01, Test-Retest-Variabilität TRV in % der K₁-Werte in Klammer

	TQD (5 mg/kg)	TQD (15 mg/kg)	TQD (30 mg/kg)
Prozentuale Änderung der K_1-gewichteten Bilder			
Hippokampus gesamt	57 ± 31	105 ± 30 **	138 ± 50 **
Hippokampus links ventral	39 ± 37	95 ± 37 **	117 ± 61 **
Hippokampus links dorsal	67 ± 30 *	114 ± 29 **	145 ± 50 **
Hippokampus rechts ventral	48 ± 27	97 ± 29 **	127 ± 55 **
Hippokampus rechts dorsal	69 ± 30 *	112 ± 32 **	157 ± 54 **
Septum	60 ± 20 *	103 ± 31 **	160 ± 63 **
Gyrus cinguli anterior	56 ± 29	117 ± 38 **	144 ± 75 **
Raphekerne	71 ± 23 *	95 ± 37 **	163 ± 66 **
Cerebellum	70 ± 49	109 ± 41 **	137 ± 25 **
Prozentuale Änderung der k_2-Werte	-28 ± 12 *	-21 ± 17 *	-17 ± 18
Prozentuale Änderung des BP_{ND}			
Hippokampus gesamt	33 ± 30	34 ± 44	40 ± 25 **
Hippokampus links ventral	24 ± 24	31 ± 57	25 ± 26
Hippokampus links dorsal	48 ± 28 *	39 ± 42 *	52 ± 34 **
Hippokampus rechts ventral	11 ± 32	21 ± 44	23 ± 26
Hippokampus rechts dorsal	55 ± 48	46 ± 41	65 ± 18 **
Septum	63 ± 56	50 ± 46	60 ± 49 *
Gyrus cinguli anterior	52 ± 27 *	71 ± 110 *	68 ± 36 **
Raphekerne	52 ± 48	59 ± 53 *	35 ± 42
Prozentuale Änderung der [18F]-FDG-Aufnahme			
Hippokampus gesamt	0 ± 12	46 ± 43 *	14 ± 33
Septum	0 ± 12	43 ± 47	15 ± 46
Gyrus cinguli anterior	1 ± 19	47 ± 45	14 ± 40
Raphekerne	7 ± 11	38 ± 36 *	7 ± 40
Cerebellum	3 ± 6	46 ± 37 *	7 ± 33

Tabelle 10: Mittel der prozentualen Änderungen von K_1 , k_2 , BP_{ND} , [18 F]-FDG in Gruppe I (TQD 15 mg/kg) und Gruppe II (TQD 5 mg/kg / TQD 30 mg/kg) verglichen mit dem Vehikel, statistische Signifikanz * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

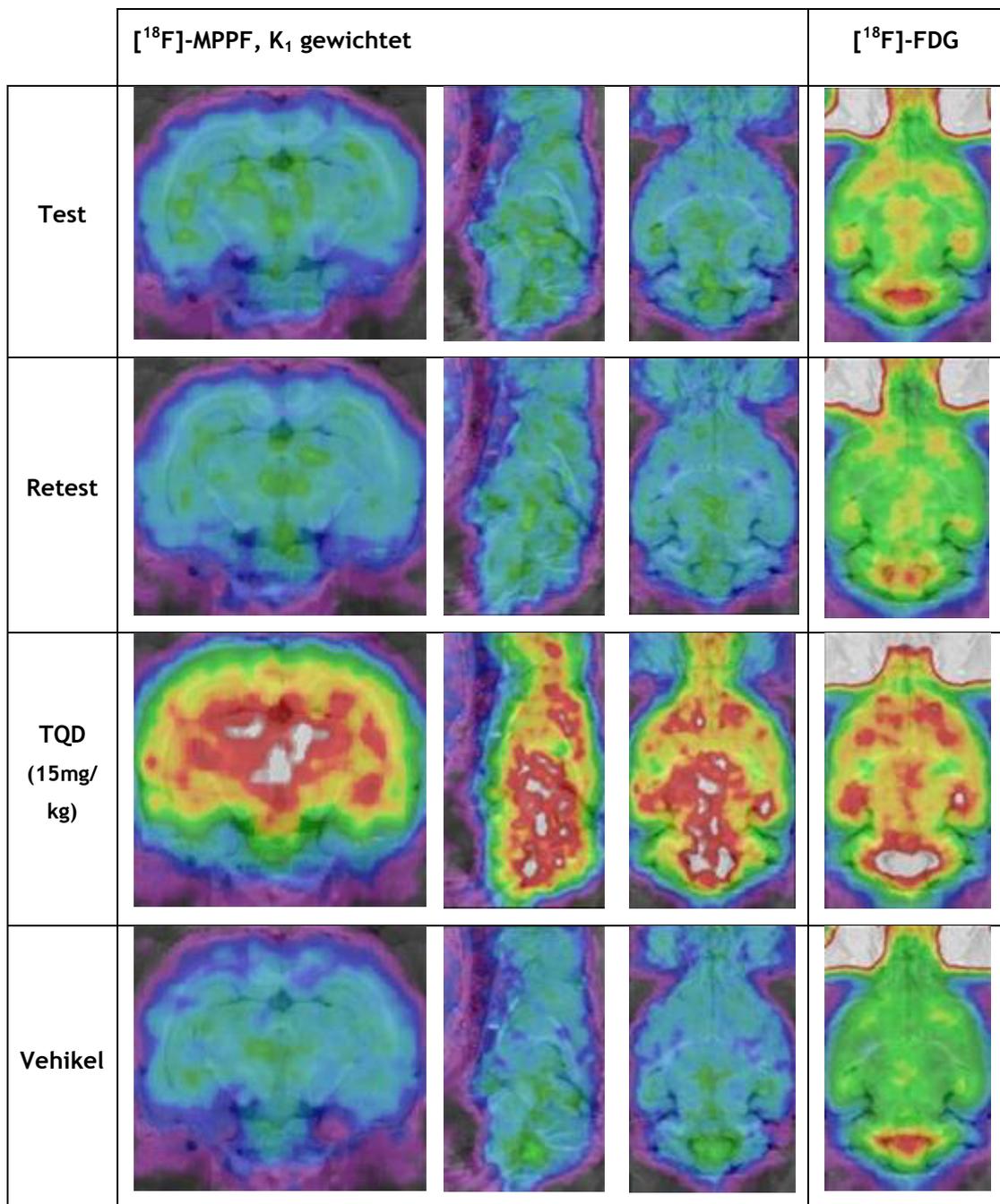


Abb. 13: Gemittelte K_1 -gewichtete $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ - und $[^{18}\text{F}]\text{-MPPF}$ -Bilder der Gruppe I; die Bilder wurden mit Hilfe eines histologischen Atlas des Rattengehirns normalisiert und mit identischen coronalen ($Z=13$), sagittalen ($X=7.4$) und transversalen ($Y=8.9$) Achsen skaliert.

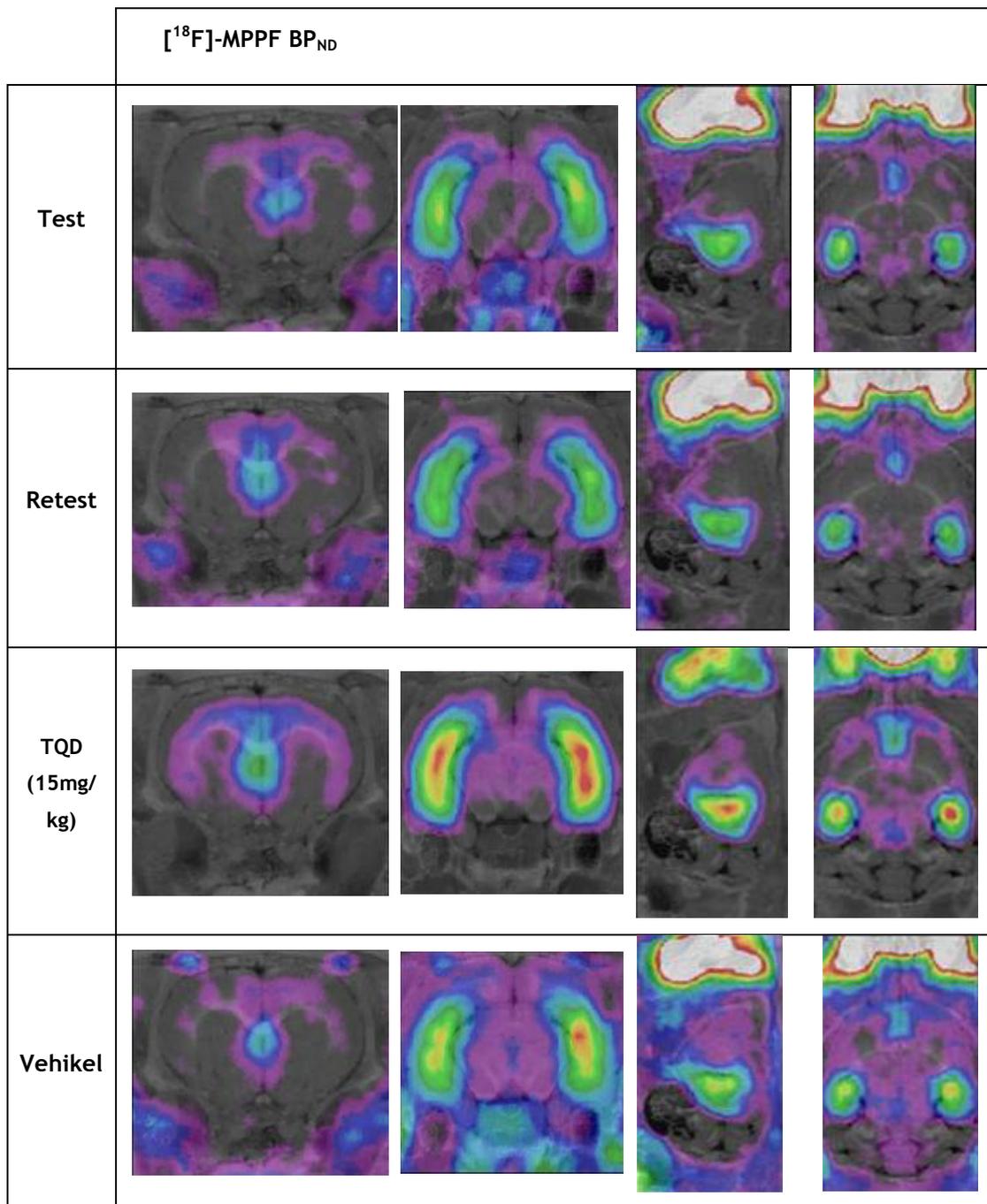


Abb. 14: Gemittelte parametrische Abbildungen des $[^{18}\text{F}]\text{-MPPF-BP}_{\text{ND}}$ der Gruppe I, berechnet nach der Methode nach Logan; die Bilder wurden mit Hilfe eines histologischen Atlas des Rattengehirns normalisiert und mit identischen coronalen ($Z=19.3$ $X=-7.5$ $Y=9.2$), coronalen ($Z=12.2$), sagittalen ($X=-13$) und transversalen ($Y=8.9$) Achsen skaliert.

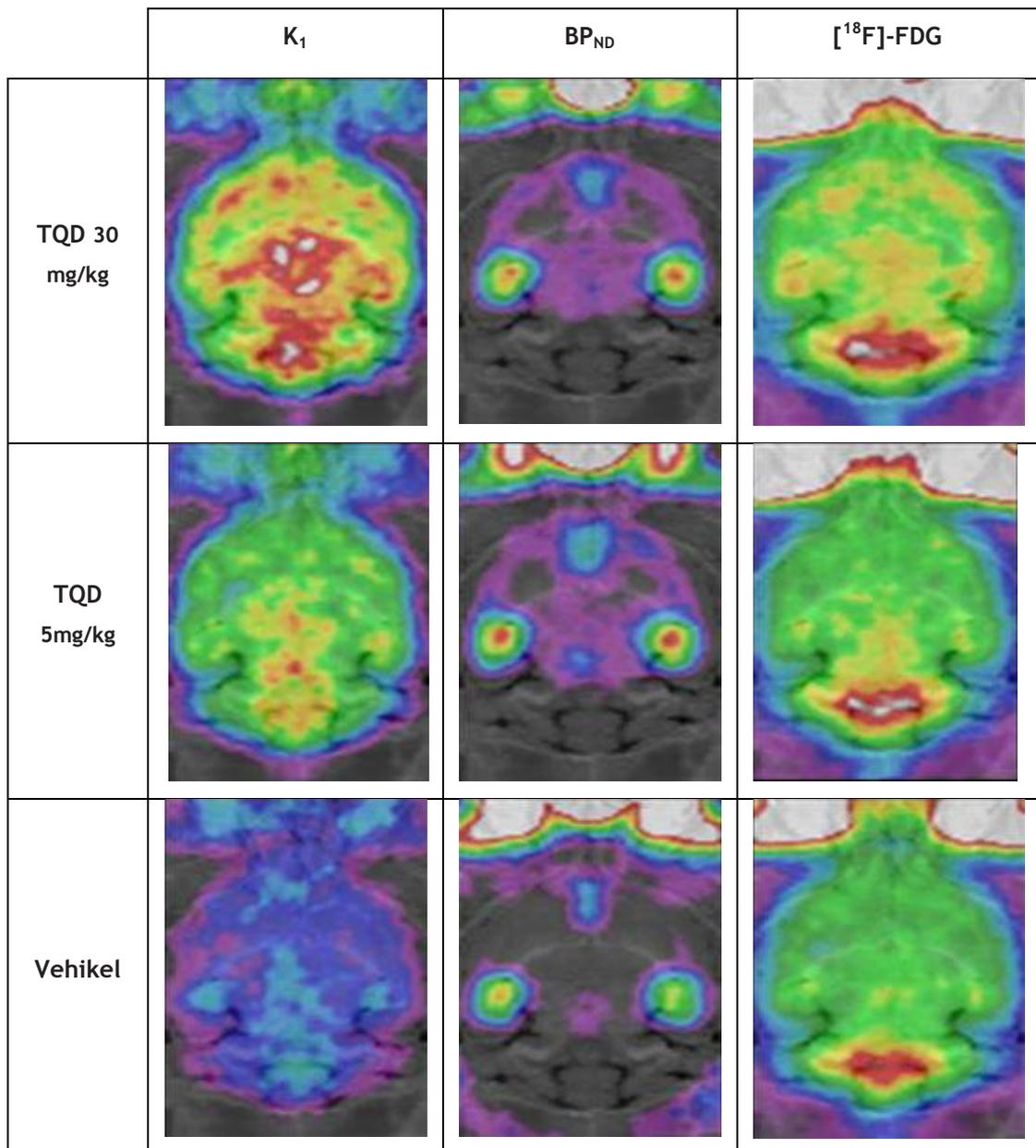


Abb. 15: Gemittelte K_1 -gewichtete $[^{18}F]$ -MPPF und $[^{18}F]$ -FDG-Abbildungen der Gruppe II (Vehikel / TQD 5 mg/kg / 30 mg/kg); die Bilder wurden mit Hilfe eines histologischen Atlas des Rattengehirns normalisiert und mit identischen coronalen ($Z=13$), sagittalen ($X=7.4$) und transversalen ($Y=8.9$) Achsen skaliert.

6.3 Gruppe III - [¹⁸F]-MPPF-Kinetik unter Tariquidar-Applikation im Rattenmodell der pharmakoresistenten Epilepsie, Vergleich der Phenobarbital-Responder und -Non-Responder

6.3.1 Selektion der Phenobarbital-Responder und -Non-Responder

Durch die Behandlung mit Phenobarbital wurde bei drei Tieren komplette Anfallsfreiheit, sowie bei zwei weiteren eine signifikante Reduktion der Anfallsfrequenz um 65% bzw. 88% erreicht. Diese fünf Tiere bildeten die Gruppe der Responder. Die übrigen sieben Ratten erwiesen sich als weitgehend pharmakoresistent und somit Non-Responder. Ein Tier zeigte überhaupt keine Änderung in der Anfallsfrequenz; bei zwei Ratten wurde eine Zunahme der Anfälle um 8% bzw. 25% beobachtet. Bei den restlichen vier Non-Respondern führte Phenobarbital zu einer Abnahme der Anfälle um 17%, 53%, 57% und 61% (Abbildung 16 und 17).

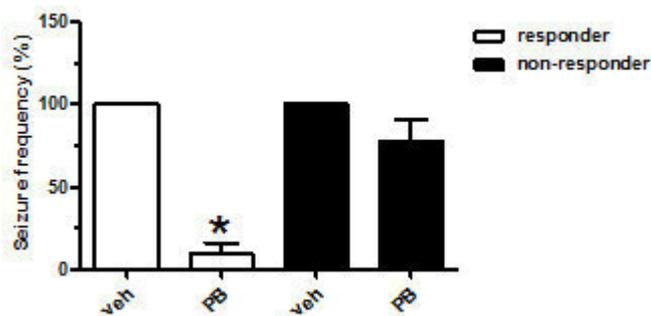


Abb. 16: Anfallshäufigkeit der Responder/Non-Responder unter Phenobarbitaltherapie (115)

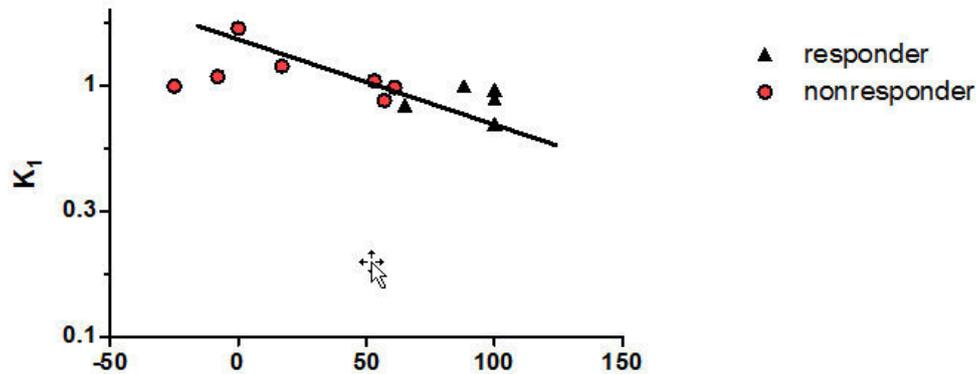


Abb. 17: Anfallsreduktion unter Phenobarbitaltherapie (115)

In der posttherapeutischen Kontrollphase glichen die Anfallsfrequenzen der Tiere in etwa den Frequenzen in der vorausgegangenen prätherapeutischen Kontrollphase.

Die Phenobarbital-Plasmakonzentration blieb während der Behandlungsphase bei allen Ratten innerhalb der therapeutischen Grenzwerte (10-60 µg/ml). Responder und Non-Responder wiesen hinsichtlich der Plasmaspiegel des Phenobarbital keine signifikanten Unterschiede auf; Nebenwirkungen des Medikaments wie Ataxie oder Sedierung traten in beiden Gruppen mit vergleichbarer Häufigkeit und Intensität auf (115).

Zwei Ratten der Non-Responder-Gruppe wiesen während der Vehikel-Kontrollphase eine stark erhöhte Anfallsfrequenz auf (mittlere Frequenz 6.3 und 12.0 pro Tag), während die Anfallsfrequenz der anderen Non-Responder in dieser Phase der Frequenz der Responder glich. Die Analyse der Video/EEG-Aufnahmen ergab zudem bezüglich der Schwere der Anfälle keinerlei Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Wie schon früher an demselben Modell beschrieben (118), entsprachen die spontan auftretenden Anfälle dem Typ vier oder fünf der Skala nach Racine

(117). Der Schweregrad des initialen, elektrisch-induzierten Status epilepticus war bei Respondern und Non-Respondern identisch.

6.3.2 Vehikel

Die Vehikelscans wurden auch in Gruppe III als Grundlage für die Berechnung verschiedener Tariquidareffekte durchgeführt.

Weder die gemittelten parametrischen Abbildungen des K_1 -gewichteten [^{18}F]-MPPF-Uptakes noch die VOI-Analysen zeigten nach Vehikelapplikation signifikante Unterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern (Abb. 20-23). Das „physiologische“ K_1 betrug 0.31 ± 0.06 ml/g*min im Cerebellum der Responder und 0.32 ± 0.05 ml/g*min im Cerebellum der Non-Responder (Tabelle 11).

Die Berechnung der [^{18}F]-MPPF-Effluxkonstante k_2 im Hippokampus beider Gruppen resultierte in vergleichbaren Ergebnissen (Tabelle 12, Abb. 19, 21).

Auch das hippokampale [^{18}F]-MPPF-Bindungspotential BP_{ND} , sowie das [^{18}F]-FDG-Uptake der Responder und Non-Responder waren vergleichbar.

6.3.3 Effekte des P-Gp-Inhibitors Tariquidar (15 mg/kg)

Im Hippokampus ergab der Vergleich der beiden Gruppen signifikante Unterschiede bezüglich der Wirkung des P-Gp-Modulators Tariquidar auf die [^{18}F]-MPPF-Kinetik.

6.3.3.1 Tariquidar 15 mg/kg - K_1

Tariquidar-Vorbehandlung steigerte das „physiologische“ K_1 bei Respondern um 77-103% und bei Non-Respondern um 103-178% im Hippocampus

(Tabelle 11, Abb. 18, 20), sodass der Tariquidar-assoziierte Anstieg des „physiologischen“ K_1 der Non-Responder den Anstieg im Hippokampus der Responder signifikant übertraf.

6.3.3.2 Tariquidar 15 mg/kg - BP_{ND}

Das [^{18}F]-MPPF-Bindungspotential BP_{ND} stieg im linken Hippokampus der Non-Responder nach Tariquidar-Applikation signifikant um 34%; in der Responder-Gruppe änderte sich der Wert nicht (Tabelle 13, Abb. 21).

6.3.3.3 Tariquidar 15 mg/kg - k_2

Tariquidar senkte den mittleren hippokampalen [^{18}F]-MPPF-Efflux k_2 der Non-Responder signifikant um 27% ohne eine vergleichbare Wirkung auf den Efflux k_2 der Responder auszuüben (Tabelle 12, Abb. 19, 21).

6.3.3.4 Tariquidar 15 mg/kg - [^{18}F]-FDG

Die Tariquidargabe hatte keinen Effekt auf das [^{18}F]-FDG-Uptake der Responder, führte jedoch zu einer statistisch nicht signifikanten Steigerung der [^{18}F]-FDG-Aufnahme um 30% in der Non-Responder-Gruppe (Tabelle 14).

		Vehikel	TQD
Hippokampus links	Responder	0.49±0.11	0.87±0.12* (+96%)
	Non-Responder	0.54±0.22	1.13±0.27* (+147%)
Hippokampus rechts	Responder	0.47±0.12	0.87±0.12* (+89%)
	Non-Responder	0.54±0.21	1.10±0.22* (+137%)
Cerebellum	Responder	0.31±0.06	0.63±0.08* (+106%)
	Non-Responder	0.32±0.10	0.89±0.39* (+211%)

Tabelle 11: K_1 (ml/ g * min) der Responder und Non-Responder nach TQD- bzw. Vehikelapplikation, statistische Signifikanz * $P < 0.05$

		Vehikel	TQD
Hippokampus links	Responder	0.73±0.27	0.69±0.11
	Non-Responder	0.75±0.21	0.57±0.06* (-24%)
Hippokampus rechts	Responder	0.72±0.25	0.66±0.09
	Non-Responder	0.78±0.18	0.54±0.06* (-31%)

Tabelle 12: k_2 (min⁻¹) der Responder und Non-Responder nach TQD- bzw. Vehikelapplikation, statistische Signifikanz * $P < 0.05$

		Vehikel	TQD
Hippokampus links	Responder	1.08±0.10	0.84±0.41
	Non-Responder	1.06±0.29	1.42±0.24* (+34%)
Hippokampus rechts	Responder	0.97±0.11	0.93±0.43
	Non-Responder	0.97±0.35	1.33±0.30

Tabelle 13: BP_{ND} der Responder und Non-Responder nach TQD- bzw. Vehikelapplikation, statistische Signifikanz * P<0.05

		Vehikel	TQD
Hippokampus links	Responder	0.084±0.012	0.082±0.012
	Non-Responder	0.099±0.030	0.115±0.028
Hippokampus rechts	Responder	0.083±0.012	0.081±0.014
	Non-Responder	0.098±0.028	0.113±0.027
Cerebellum	Responder	0.077±0.015	0.078±0.010
	Non-Responder	0.091±0.028	0.103±0.022

Tabelle 14: [¹⁸F]-FDG der Responder und Non-Responder nach TQD- bzw. Vehikelapplikation, statistische Signifikanz * P<0.05

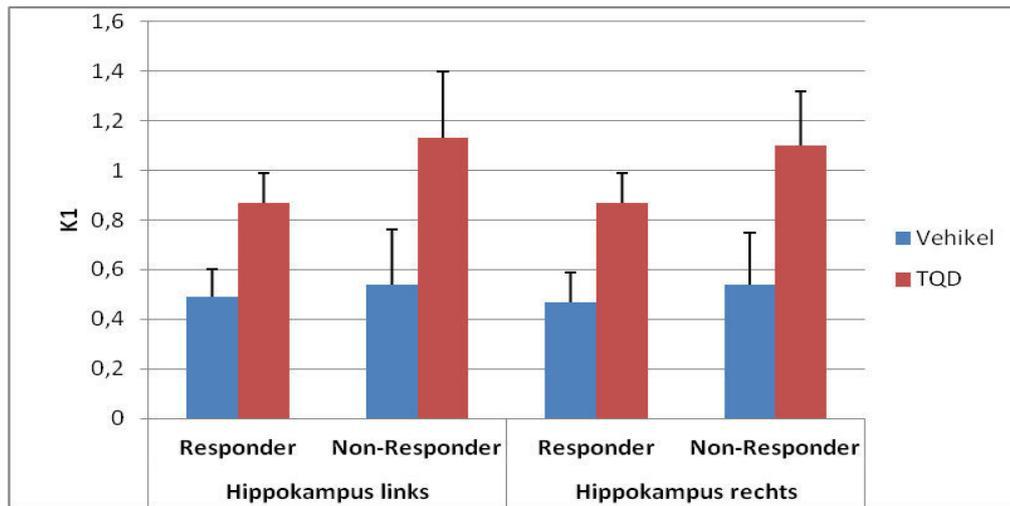


Abb. 18: K_1 -gewichteter $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Uptake der Responder ($n=5$) und Non-Responder ($n=7$) nach Vehikel- bzw. TQD-Applikation; Signifikante Unterschiede zwischen TQD und Vehikel, sowie signifikante Unterschiede zwischen Responder- und Non-Responder-Gruppe konnten nachgewiesen werden, statistische Signifikanz $P < 0.05$

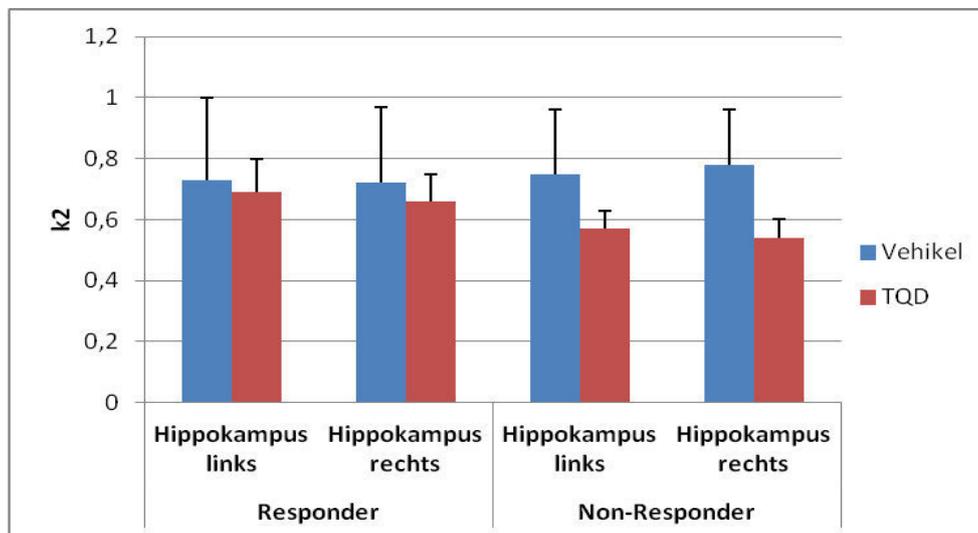


Abb. 19: $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Efflux k_2 der Responder ($n=5$) und Non-Responder ($n=7$) nach Vehikel- bzw. TQD-Applikation; Signifikante Unterschiede zwischen Responder- und Non-Responder-Gruppe bestanden, signifikante Unterschiede zwischen TQD und Vehikel konnten nur in der Non-Responder-Gruppe beobachtet werden, statistische Signifikanz $P < 0.05$

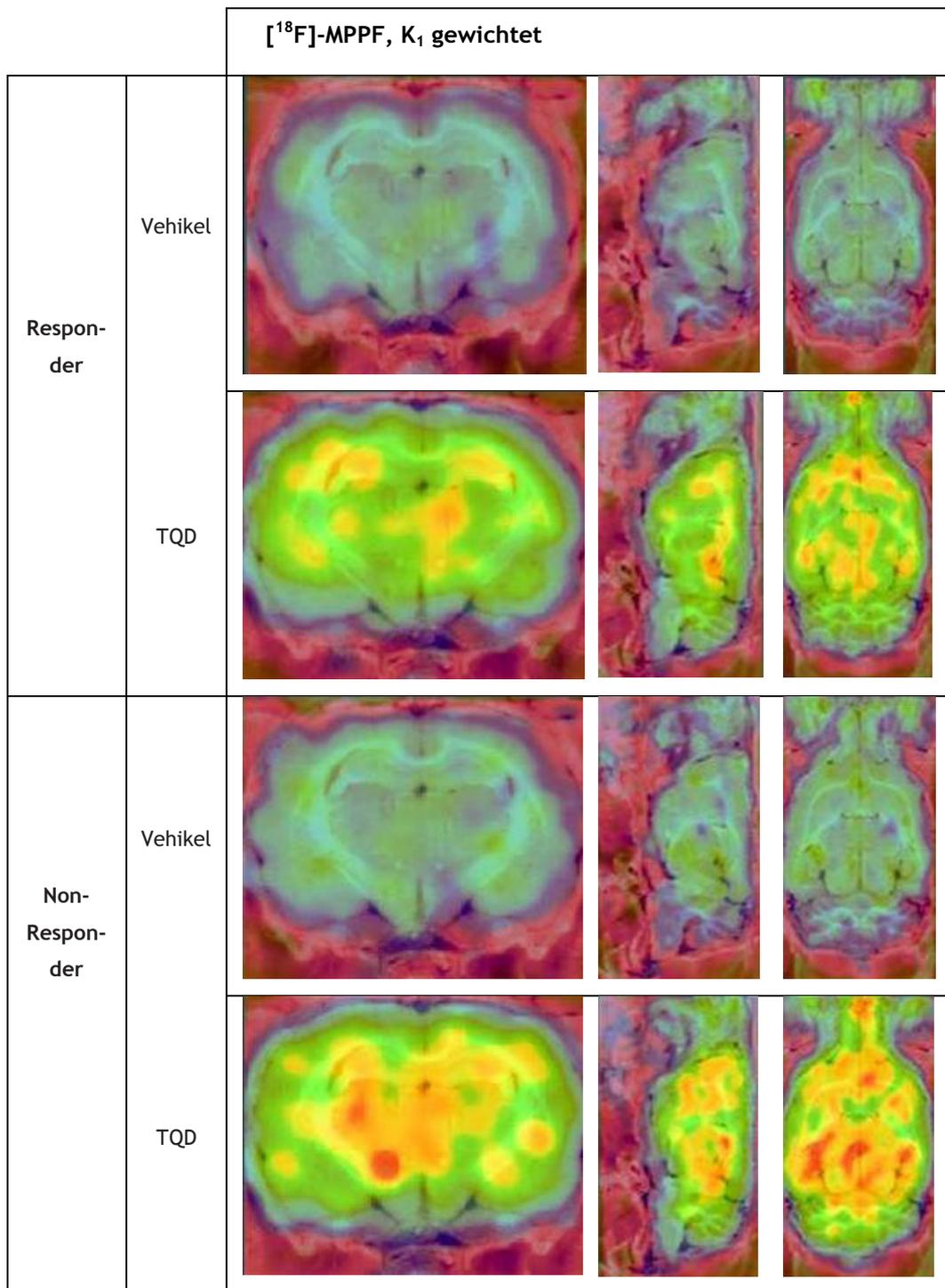


Abb. 20: Gemittelte K_1 -gewichtete $[^{18}\text{F}]\text{-MPPF}$ -Abbildungen der Responder und Non-Responder nach Vehikel- bzw. TQD-Applikation

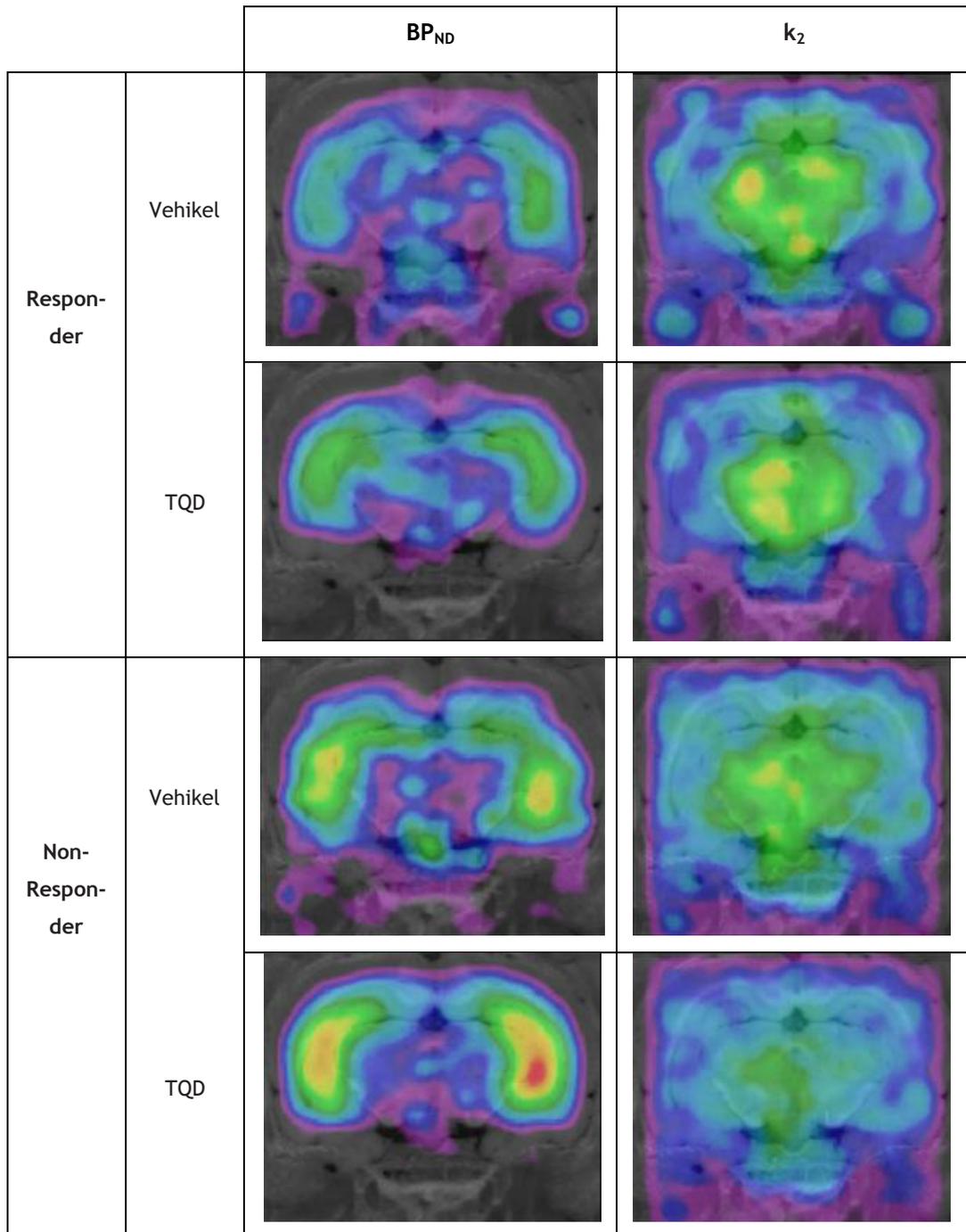


Abb. 21: Gemittelte Abbildungen des [^{18}F]-MPPF-Efflux k_2 , sowie des [^{18}F]-MPPF-Bindungspotentials BP_{ND} der Responder und Non-Responder nach Vehikel- bzw. TQD-Applikation; Normalisierung basierend auf histologischem Atlas des Rattengehirns, Skalierung mit identischen coronalen, sagittalen und transversalen Achsen

7 DISKUSSION

7.1 Modulation der Aufnahme und Bindung des 5-HT_{1A} Antagonisten [¹⁸F]-MPPF durch P-Glykoprotein in Ratten

Studien haben gezeigt, dass die Wirkung von P-Gp als Effluxpumpe bedeutende Medikamentenklassen wie beispielsweise Antiarrhythmika in ihrer klinischen Effizienz einschränkt (1,8,11,16). Neuere Studien weisen darauf hin, dass mittels PET P-Gp-Effekte nicht-invasiv dargestellt werden können und der Einfluss auf die cerebrale Aufnahme bestimmter Pharmaka eingeschätzt werden kann. Zu diesem Zweck wurden verschiedene P-Gp-Substrate und Antagonisten radioaktiv mit [¹¹C] und [¹⁸F] markiert.

Elsinga *et al* (1) verwendeten beispielsweise in ihrer Studie zur P-Gp-Funktion und Bindung zentralwirksamer Medikamente [¹¹C]-Carazolol, [¹⁸F]-Fluorocarazolol, [¹¹C]-WAY 100635 und [¹⁸F]-MPPF im Kleintiermodell. Colabufo *et al* (128) verglichen neuere mit vorbeschriebenen P-Gp-Modulatoren, darunter die Inhibitoren [¹¹C]-MC18 und [¹¹C]-Elacridar, die Substrate [¹¹C]-MC266 and [¹¹C]-Verapamil, den Induktor [¹¹C]-MC80 und den Modulator Cyclosporin A. Ginovart *et al* nutzten im Jahr 2000 den Serotonin 5-HT_{1A}-Antagonisten [¹⁸F]-MPPF, welcher in der vorliegenden Studie Verwendung fand. Der Gebrauch des [¹⁸F]-MPPF zur Visualisierung cerebraler 5HT_{1A}-Rezeptoren verschiedener Tierarten sowie humaner Rezeptoren wurde zuvor mehrfach validiert (14,100,101,102,104,105).

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde eine Methode entwickelt und validiert, mit welcher nicht-invasiv unter Verwendung des PET-Radiopharmakons [¹⁸F]-MPPF die P-Gp-Modulation im Rattenmodell

untersucht werden kann. Des Weiteren wurde der dosisabhängige Einfluss des hochspezifischen P-Gp-Inhibitors Tariquidar bei der Modulation der Tracer-Aufnahme untersucht.

Eine P-Gp-Überexpression soll bei verschiedenen Krankheitsentitäten eine relevante Rolle spielen. Im National Cancer Institute, Bethesda, Maryland applizierten Kelly *et al* 48 Patienten mit Lungen-, Ovarial und Zervixkarzinomen Tariquidar in Kombination mit Docetaxel. Wenn auch eine Wirkungssteigerung des Chemotherapeutikums ausblieb, erfolgte dennoch der Nachweis einer P-Gp-Inhibition im neoplastischen Gewebe (46). Eine österreichische Studie zeigte, dass Tariquidar Antibiotikakonzentrationen in multiresistenten Bakterien steigern und somit zur Überwindung von Resistenzen beitragen kann (129).

7.1.1 K_1 -gewichteter [^{18}F]-MPPF-Influx als Surrogatmarker für die unidirektionelle Blood-Brain-Clearance

Ziel dieser Studie war es, zukünftigen Untersuchungen auf dem Gebiet der durch P-Gp-Überexpression verursachten Medikamentenresistenz sowie der therapeutischen Anwendung von Tariquidar eine Basis zu bieten. Erstmals erfolgte die Entwicklung einer nicht-invasiven Messmethode des cerebralen [^{18}F]-MPPF-Influx und ihre Testung auf Test-Retest-Reproduzierbarkeit.

Wir wählten die cerebrale unidirektionelle [^{18}F]-MPPF-Clearance als Hauptmarker für die Wirkung des Tariquidar. Die Nutzung der K_1 -gewichteten Summation der ersten 100 Messsekunden als nicht-invasiver Surrogatmarker für die unidirektionelle Clearance der Blut-Hirn-Schranke basierte auf der Beobachtung, dass die cerebrale Gesamtradioaktivitätskonzentration im Intervall von 20-100 Sekunden linear ansteigt. Der

Surrogatmarker zeigte eine Test-Retest-Stabilität von 25% und erwies sich als ausreichend für die Detektion einer P-Gp-Blockade durch Tariquidar.

Die frühe K_1 -gewichtete Summation diente bereits in einer FDOPA-PET-Studie an Patienten mit Phenylketonurie als Surrogatwert für die unidirektionelle Clearance an der Blut-Hirn-Schranke (130).

Die Entnahme serieller arterieller Blutproben hätte eine bessere Einschätzung des initialen $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Input ermöglicht (47), war aber aufgrund unseres Studiendesigns nicht durchführbar. Mit Hilfe des kardialen $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-Input ließ sich jedoch das „physiologische“ K_1 im Cerebellum berechnen. Der Marker erwies sich als vergleichbar mit dem Ergebnis einer $[^{18}\text{F}]$ -MPPF-MikroPET-Studie an Ratten aus dem Jahre 2008, bei welcher die Entnahme der arteriellen Blutproben durchgeführt worden war (126). Unserer Meinung nach kompensieren die Vorteile der nicht-invasiven Näherungsmethode die nicht perfekte physiologische Definition des K_1 -gewichteten Influx.

Die Test-Retest-Variabilität unseres Surrogatmarkers für K_1 lässt darauf schließen, dass der Vergleich einer Gruppe von Tieren mit sich selbst es möglich macht, die Effekte einer Medikamentengabe darzustellen. Einer Power-Analyse zufolge sind sechs Tiere pro Gruppe ausreichend, um einen Behandlungseffekt von 30% nachzuweisen.

In einer früheren MikroPET-Studie steigerte die Applikation von 15 mg/kg Tariquidar das cerebrale Verteilungsvolumen des Tracers (R)- $[^{11}\text{C}]$ -Verapamil um den Faktor zwölf (47). Dieser Effekt lag hauptsächlich im achtfach gesteigerten initialen (R)- $[^{11}\text{C}]$ -Verapamil-Influx K_1 begründet, bei uns repräsentiert durch die initialen 100 Sekunden der dynamischen Datenaufnahme. Eine Dosis von 8 mg/kg Tariquidar steigerte die Aufnahme des P-Gp-Substrats $[^{11}\text{C}]$ -Loperamid im Affenhirn um den Faktor vier (131). Es mag

paradox erscheinen, dass gerade der Tracer-Einstrom den sensitivsten Marker für eine P-Gp-Blockade darstellt, handelt es sich dabei um eine Effluxpumpe. P-Gp exportiert jedoch seine Substrate während ihrer Passage durch die Lipidphase der Plasmamembran und reduziert somit die unidirektionelle Clearance dieser Substrate (132).

Anders als bei Bankstahl und Zoghbi steigerte die Tariquidarhöchstdosis in unserer Studie den [^{18}F]-MPPF-Input nur um das 2,5fache. Das einseitig gehemmte Modell gab eine IC_{50} von ungefähr 5 mg/kg TQD an und sagte einen maximalen Anstieg des K_1 -gewichteten [^{18}F]-MPPF-Influx um den Faktor 3 bei vollständiger P-Gp-Blockade voraus. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die Substrate [^{11}C]-Loperamid und [^{11}C]-Verapamil P-Gp mit höherer Affinität binden als [^{18}F]-MPPF, führte doch eine MikroPET-Studie 2008 mit Cyclosporin A als Inhibitor und [^{18}F]-MPPF als Tracer zu ähnlichen Ergebnissen (14).

Immunhistochemische Studien weisen auf eine inhomogene Verteilung von P-Gp im Rattengehirn hin, wobei die höchste P-Gp-Dichte im Kleinhirn postuliert wurde (13). Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte mittels PET kein signifikanter Unterschied der Tariquidar-induzierten Modulation des [^{18}F]-MPPF-Input im Kleinhirn verglichen zu anderen cerebralen Regionen nachgewiesen werden. Im dorsalen Hippokampus fand sich jedoch eine ausgeprägtere Modulation der Influxraten nach Tariquidar-Gabe als im ventralen Hippokampus (Tabelle 10). Dieses Ergebnis ist noch nicht als Beweis für eine heterogene P-Gp-Verteilung im Hippokampus der Ratte zu werten, bildet jedoch die Grundlage für weiterführende immunhistochemische Studien.

7.1.2 Gunn SRTM als Vergleichsverfahren zur BP_{ND} -Kalkulation nach der Logan-Methode

Wie schon in früheren Studien üblich, erfolgte die Berechnung des [^{18}F]-MPPF-Bindungspotential BP_{ND} zunächst nach der Logan-Methode mit dem Cerebellum als Referenzregion (105,106). Die Tariquidar-Applikation führte bei vorhandener Test-Retest-Stabilität zu einer Steigerung des BP_{ND} um 40% in allen untersuchten Gehirnregionen. Lacan et al waren in ihrer Studie zur P-Gp-Blockade mittels Cyclosporin A zu vergleichbaren Ergebnissen gelangt (14). Die BP_{ND} -Werte reichten von 0.4 im dorsalen Raphekern bis zu 1.2 im ventralen Hippokampus bei einer Test-Retest-Varianz von 25% und entsprachen den Resultaten einer früheren Studie an Sprague-Daley-Ratten unter Anwendung des SRTM-Verfahrens nach Gunn (107). Der Beweis einer Dosisabhängigkeit erfolgte nicht, wobei dennoch die größte Tariquidar-Dosis den größten Effekt erzielte.

Das voxelweise Logan-Verfahren tendiert jedoch bekanntermaßen dazu, das Bindungspotential BP_{ND} zu unterschätzen (133). Man könnte daher argumentieren, dass eine Tariquidarapplikation durch Verdoppelung oder Verdreifachung der freien cerebralen Tracerkonzentration die Genauigkeit der Methode nach Logan verbessert und eine Annäherung der berechneten BP_{ND} -Werte an ihre tatsächliche Höhe zur Folge hat, obwohl Tariquidar erwiesenermaßen nicht direkt mit dem Serotonin-5HT_{1A}-Rezeptor interagiert. Die erneute Berechnung des BP_{ND} mit dem nicht-invasiven SRTM nach Gunn zeigte, dass das Bindungspotential in der Vehikelgruppe mit der SRTM-Berechnung 10-30% höher lag, als die Resultate der Logan-Methode, während die BP_{ND} -Werte der Tariquidar-Gruppe nach Gunn SRTM den Werten nach Logan entsprachen. Folglich ist die SRTM-Methode zur Berechnung des BP_{ND} genauer und daher besser geeignet. Die Berechnung des BP_{ND} mit SRTM weist dennoch Sensitivität bezüglich Tariquidar auf, da

verglichen mit den mit Vehikel vorbehandelten Ratten ein globaler BP_{ND} -Anstieg nach Tariquidar-Gabe um 15% nachweisbar bleibt. Bei der Auswertung späterer $[^{18}F]$ -MPPF-Studien sollte also die limitierte Interpretierbarkeit von nach Logan berechneten Veränderungen der $[^{18}F]$ -MPPF-Bindung Beachtung finden.

Ähnlich wie Bankstahl *et al* 2008 fanden wir einen Abfall von k_2 um etwa 20% nach Tariquidar-Gabe. Dieser Effekt war jedoch geringer ausgeprägt als in einer anderen Studie, bei welcher der P-Gp-Modulator Cyclosporin A k_2 im Hippokampus um 50% senkte (14). Wir schlussfolgern, dass P-Glykoprotein an der Blut-Hirn-Schranke eine Gegenströmung für $[^{18}F]$ -MPPF aufrechterhält und dieser Effekt durch die Konstante des späten Efflux' k_2 gespiegelt wird, allerdings mit nur geringer Sensitivität für eine P-Gp-Blockade durch Tariquidar.

7.1.3 Effekte der Tariquidar-induzierten P-Gp-Blockade auf das Uptake des möglichen P-Gp-Substrats $[^{18}F]$ -FDG

Zum Zwecke der Registrierung und räumlichen Normalisierung der $[^{18}F]$ -MPPF-Summenbilder sah unser Studiendesign $[^{18}F]$ -FDG-Scans vor, welche im Anschluss an die $[^{18}F]$ -MPPF-Messungen vorgenommen wurden. Die Auswertung dieser $[^{18}F]$ -FDG-Scans führte zu einem unerwarteten Ergebnis: 15 mg/kg TQD steigerten das normalisierte $[^{18}F]$ -FDG-Uptake, einen Surrogatmarker für die cerebrale Glukosestoffwechselrate, global um 45%. Spuren residualer cerebraler Radioaktivität der vorhergehenden $[^{18}F]$ -MPPF-Messungen stellen keine Erklärung für diesen hohen, ebenfalls in den Harderschen Drüsen erkennbaren Anstieg dar.

Mehrere Studien an Nagetieren und Menschen haben eine negative Korrelation zwischen P-Gp-Aktivität und Glukoseaufnahme gezeigt. So führte die P-Gp-Überexpression in Zellen hepatozellulärer Karzinome in vivo wie in vitro zu einer im Vergleich zu HCC-Zellen geringerer P-Gp-Konzentration verminderten Akkumulation von [¹⁸F]-FDG, welche sich durch Applikation der P-Gp-Inhibitoren Verapamil und Cepharanthin steigern ließ (134). Eine Studie an MDR-Zelllinien wies ein vermindertes Glukose-Uptake in Zellen mit ausgeprägter P-Gp-Expression nach (135). Lorke et al führten PET-Studien an Neoplasien im Mausmodell durch, wobei P-Gp-positive Tumoren deutlich weniger [¹⁸F]-FDG aufnahmen als P-Gp-negative Tumoren (136). Einer schottischen Untersuchung zu Folge war durch P-Gp-Überexpression verursachte Chemoresistenz in Tumorzellen mit einem erniedrigten [¹⁸F]-FDG-Uptake assoziiert (137).

Unsere Studie thematisierte die Effekte einer P-Gp-Blockade auf das [¹⁸F]-FDG-Uptake im Gehirn in-vivo. Ergebnisse unserer Untersuchung lassen den möglichen Schluss zu, dass es sich bei [¹⁸F]-FDG um ein Substrat des P-Gp handelt. Die Effekte des applizierten Tariquidar auf die cerebrale [¹⁸F]-FDG-Aufnahme folgten einem umgekehrt-U-förmigen Dosis-Wirkungsverhältnis mit keiner erkennbaren Veränderung bei einer Dosis von 5 mg/kg Tariquidar und einem Anstieg von nur etwa 15% nach Gabe von 30 mg/kg Tariquidar. Vermutlich stimuliert die intermediäre Dosis Uptake und Verbrauch der Glukose, während die höhere, möglicherweise toxische Tariquidardosis zur Suppression führt. Die Erforschung der Effekte einer P-Gp-Blockade auf den cerebralen Glukosestoffwechsel war zwar nicht das direkte Ziel der Studie, doch unsere Erkenntnisse sind klinisch relevant und bilden eine Basis für nachfolgende Untersuchungen.

7.2 Prinzip eines neuen Bildgebungskonzepts zur Darstellung einer P-Glykoprotein-vermittelten Pharmakoresistenz bei Patienten mit Epilepsie

7.2.1 MikroPET-Imaging als Evaluationsmethode der P-Gp-Funktion bei Phenobarbital-resistenten und -sensiblen epileptischen Ratten

Ziel unserer Studie am Rattenmodell der Epilepsie war es, die Funktion des P-Gp in der Blut-Hirn-Schranke bei pharmakoresistenten sowie pharmakosensiblen epileptischen Tieren mittels MikroPET als Bildgebungsverfahren non-invasiv darzustellen. Bezüglich der Effekte des Tariquidar auf die [^{18}F]-MPPF-Kinetik (K_1 : $\text{ml g}^{-1} \text{min}^{-1}$; k_2 : min^{-1} ; BP_{ND}) traten deutliche Unterschiede zwischen Phenobarbital-resistenten und -sensiblen Ratten zu Tage.

Die Ergebnisse der [^{18}F]-MPPF-MikroPET-Scans der Responder und Non-Responder (Gruppe III) nach Vehikel-Applikation entsprachen den Resultaten der Gruppe I und II unserer vorherigen Studie.

Obwohl sich die Phenobarbital-Responder und -Non-Responder hinsichtlich ihrer cerebralen P-Gp-Expression unterscheiden, wies die [^{18}F]-MPPF-Verteilung im Bereich der Blut-Hirn-Schranke unter Baseline-Bedingungen nicht auf individuelle Unterschiede in der P-Gp-Funktion hin.

Die Ergebnisse der Scans nach P-Gp-Inhibition durch Tariquidar unterstützten jedoch unsere Theorie der P-Gp-Überexpression als Ursache für die Medikamentenresistenz bei Non-Respondern. Tariquidar-Applikation steigerte die [^{18}F]-MPPF-Aufnahme K_1 der Non-Responder deutlich mehr als das Uptake der Respondergruppe. Zudem führte die P-Gp-Blockade in der Non-Respondergruppe zu einem Anstieg des [^{18}F]-MPPF-Bindungspotentials BP_{ND} sowie einem verminderten Efflux k_2 als Reaktion auf höhere

Tracerkonzentrationen im Gehirn. Beide Effekte wurden bei den Respondern nicht beobachtet.

Schließt man von der größeren Tariquidarwirkung auf eine ausgeprägtere P-Gp-Expression, stützen unsere Resultate frühere Beobachtungen. So stellte Tariquidar in einer Dosierung von 15-20 mg/kg die Phenobarbitalsensitivität einer Gruppe von Non-Respondern vollständig wieder her (25). In einer weiteren Studie erfolgte, wie auch bei uns, nach elektrisch induzierten Status epilepticus die Selektion der Phenobarbital-Responder. Immunhistochemische Untersuchungen an Gehirnen der Phenobarbital-resistenten Tiere ergaben eine deutliche P-Gp-Überexpression im limbischen System inklusive des Hippokampus (118). Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass eine Pharmakoresistenz wirklich der P-Gp-Überexpression zugeschrieben werden kann.

7.2.2 Möglichkeiten im klinischen Alltag

P-Gp-Überexpression wurde nicht nur bei einem Rattenmodell der Epilepsie nachgewiesen, sondern auch in cerebralem Gewebe pharmakoresistenter, an Epilepsie erkrankter Patienten (138,139,140).

Experimentelle Studien legen aufgrund des Nachweises einer negativen Korrelation zwischen P-Gp-Expression und Antiepileptika-Effektivität eine funktionelle Relevanz dieser Überexpression nah (141). Zudem steigert eine P-Gp-Inhibition die Wirkung antiepileptischer Pharmaka (25,61). Dennoch muss die klinische Relevanz einer P-Gp-Überexpression im humanen Gehirn noch untersucht werden.

Die Resultate verschiedener Studien weisen darauf hin, dass Antiepileptika wie Phenobarbital, Phenytoin, Lamotrigin, Levetiracetam, Topiramamat sowie ein aktiver Metabolit des Oxcarbazepin durch die Aktivität des humanen P-Glykoprotein an der Passage der Blut-Hirn-Schranke gehindert werden (60, 142,143,144). Jedoch fehlt nach wie vor der Beweis für einen eindeutigen

ursächlichen Zusammenhang von P-Gp-Überexpression und Antiepileptikaresistenz.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie könnte die hier vorgestellte Methode für die Detektion von pharmakoresistenten epileptischen Patienten verwendet werden, welche eine cerebrale P-Gp-Überexpression aufweisen und somit von einer P-Gp-Inhibition, beispielsweise durch Tariquidar, profitieren. Folgendes Schema wäre denkbar:

1. Erster PET-Scan nach Applikation eines P-Gp-Substrats wie [^{18}F]-MPPF als Tracer
2. Zweiter PET-Scan nach Applikation eines P-Gp-Substrats wie [^{18}F]-MPPF als Tracer, sowie nach intravenöser Gabe eines gut verträglichen, hoch spezifischen P-Gp-Inhibitors wie Tariquidar

In einer Pilotstudie wurden bereits je zwei PET-Scans mit dem P-Gp-Substrat R- ^{11}C -Verapamil als Tracer an fünf gesunden Probanden durchgeführt. Die erste Messung erfolgte ohne Tariquidar-Applikation, die zweite nach Gabe von 2mg/kg Tariquidar. Schon diese geringe Dosis steigerte das cerebrale R- ^{11}C -Verapamil-Uptake erheblich (48). Auch haben Versuche an Ratten gezeigt, dass sich P-Gp-vermittelte Pharmakoresistenz durchaus durch Behandlung mit Tariquidar beheben lässt (25). Langer *et al* führten einzelne PET-Scans an einer kleinen Gruppe von fünf Patienten mit pharmakoresistenter Temporallappenepilepsie durch und erhielten Anhaltspunkte für eine asymmetrische R- ^{11}C -Verapamil-Kinetik in homologen Gehirnregionen ipsi- und contralateral des epileptischen Fokus, wenn auch, vermutlich aufgrund der zu kleinen Stichprobengröße, ohne statistische Signifikanz (145). Unserer Daten lassen darauf schließen, dass

zwei PET-Scans nach Injektion eines radioaktiv markierten P-Gp-Substrats wie [¹⁸F]-MPPF mit und ohne Gabe von Tariquidar eine bessere Einschätzung der P-Gp-Funktion zulassen, da sich die beiden Scans hinsichtlich der cerebralen Radiotracerkinetik unterscheiden.

Das Zwei-Scan-Schema mit [¹⁸F]-MPPF könnte dazu beitragen, zwei Schlüsselthesen klinisch zu validieren.

1. Die P-Gp-Überexpression ist bei einer Gruppe von epileptischen Patienten neben anderen Determinanten ursächlich für Pharmakoresistenz.
2. Die Zwei-Scan-PET-Untersuchung erlaubt eine Vorhersage von Resistenz gegen als P-Gp-Substrate bekannte Antiepileptika.

Die Überwindung einer Pharmakoresistenz bei epilepsie-kranken Patienten ist das Ziel weiterer Studien (19). Es ist nicht nur Ziel, Transporter wie P-Gp in ihrer Funktion als Effluxpumpen zu inhibieren. Auch soll die Aktivierung von P-Gp über Transkription und somit die Entstehung der Überexpression durch Cyclooxygenase-2-Hemmung verhindert werden (25, 146, 147, 148, 149). Daher ist es besonders wichtig, Patienten, die eine P-Gp-Überexpression zeigen, zu selektieren. [¹⁸F]-MPPF-PET-Scanning stellt ein entscheidendes Werkzeug zur Identifikation solcher Patienten dar.

ZUSAMMENFASSUNG

Mittels MikroPET ist es gelungen, sowohl die Wirkung des neuen P-Gp-Inhibitors Tariquidar auf den initialen Influx des P-Gp-Substrats [^{18}F]-MPPF ins Gehirn der Ratte darzustellen, als auch die Effekte der P-Gp-Inhibition auf die Bindung des [^{18}F]-MPPF an Serotonin 5-HT_{1A}-Rezeptoren zu eruieren. Zu diesem Zweck wurden Summenbilder des [^{18}F]-MPPF-Uptakes von Rattengruppen während der ersten 100 Sekunden nach Injektion von Vehikel (Glukose 5%), 5, 15 und 30mg/kg Tariquidar erstellt. Das K₁-gewichtete Summenbild wurde als Surrogatmarker für die physiologische Blood-Brain-Clearance (K₁; ml g⁻¹ min⁻¹) validiert. Gebräuchliche Analyseverfahren dienten dazu, an denselben Ratten voxelweise parametrische Abbildungen des [^{18}F]-MPPF-Bindungspotentials während der gesamten 60-minütigen Messung zu erstellen. Allen Messungen mit [^{18}F]-MPPF folgte eine [^{18}F]-FDG-Messung, um mit dem Bildmaterial die manuelle Koregistrierung auf einen hochauflösenden, digitalen, auf Kryosektion basierenden Atlas des Rattengehirns durchführen zu können. Die Tariquidarapplikation bewirkte einen globalen, dosis-abhängigen Anstieg des [^{18}F]-MPPF-Inputs K₁. Bei einer Dosierung von 30mg/kg Tariquidar stieg der Wert um das 2,5fache bei einem geschätzten IC₅₀ von 5mg/kg Tariquidar. Alle Tariquidar-Dosierungen steigerten das mit der Logan-Methode berechnete Bindungspotential BP_{ND} um 30-40%, ein Bias, welches wahrscheinlich der gesteigerten freien [^{18}F]-MPPF-Konzentration im Gehirn geschuldet war. Tariquidar bewirkte einen 45%igen Anstieg des [^{18}F]-FDG-Uptakes, vermutlich aufgrund des durch die P-Gp-Blockade gesteigerten cerebralen Metabolismus.

Als zweiten Schritt wurde das MikroPET genutzt, um den Effekt von Tariquidar auf die cerebrale Kinetik des P-Gp-Substrats [^{18}F]-MPPF bei Ratten mit spontan auftretenden rezidivierenden epileptischen Anfällen zu

evaluieren. Frühere Studien hatten gezeigt, dass Phenobarbital-Non-Responder höhere P-Gp-Konzentrationen zeigen.

Summenbilder der unidirektionellen [^{18}F]-MPPF-Clearance und der Effluxrate k_2 unbehandelter Tiere wiesen keine Unterschiede zwischen Respondern und Non-Respondern auf. Eine Tariquidar-Applikation steigerte jedoch den unidirektionellen [^{18}F]-MPPF-Input K_1 in den Hippokampus der Non-Responder um 142%, einen Wert, der den Anstieg der Responder um 92% signifikant übertrifft. Dieselbe Vorbehandlung reduzierte den hippocampalen Efflux k_2 der Non-Responder um 27% ohne einen vergleichbaren Effekt auf die Responder-Gruppe zu zeigen. Diese Ergebnisse begründen ein neues Bildgebungskonzept für die Darstellung der P-Glykoprotein-Funktion an der Blut-Hirn-Schranke.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Elsinga P.H., Hendrikse N.H., Bart J., Vaalburg W., van Waarde A.,
PET Studies on P-glycoprotein function in the blood-brain barrier: how it
affects uptake and binding of drugs within the CNS.
Curr. Pharm. Des. (2004) 10, 1493-1503
- [2] Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC.
Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein
in normal human tissues.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Nov;84(21), 7735-8
- [3] Ambudkar S.V., Dey S., Hrycyna C.A., Ramachandra M., Pastan I., Gottesman
M.M.,
Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug
transporter.
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. (1999) 39, 361-398
- [4] Schinkel A.H.,
The roles of P-glycoprotein and MRP1 in the blood-brain and blood-
cerebrospinal fluid barriers.
Exp Med Biol. (2001) 500, 365-72
- [5] Schinkel A.H., Mol C.A., Wagenaar E., van Deemter L., Smit J.J., Borst P.,
Multidrug resistance and the role of P-glycoprotein knockout mice.
Eur J Cancer. (1995) Jul-Aug;31A(7-8),1295-8
- [6] van Asperen J., Schinkel A.H., Beijnen J.H., Nuijten W.J., Borst P., van
Tellingen O.,
Altered pharmacokinetics of vinblastine in Mdr1a P-glycoprotein-deficient
mice.
J. Natl. Cancer Inst. (1996) 88, 994-999
- [7] Volk H., Potschka H., Löscher W.,
Immunohistochemical localization of P-glycoprotein in rat brain and detection
of its increased expression by seizures are sensitive to fixation and staining
variables.
J. Histochem. Cytochem. (2005) 53, 517-531
- [8] Abbaszadegan M.R., Cress A.E., Futscher W., Bellamy W.T., Dalton W.S.,
Evidence for cytoplasmic P-glycoprotein location associated with increased
multidrug resistance and resistance to chemosensitizers.
Cancer Res. 1996 Dec 1;56(23), 5435-42
- [9] Löscher W., Potschka H.,
Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs.
J Pharmacol Exp Ther (2002) 301, 7-14
- [10] Potschka H. Löscher W.,
In vivo evidence for P-glycoprotein-mediated transport of phenytoin at the

- blood-brain barrier of rats.
Epilepsia 42 (2001), 1231-1240
- [11] Hsiao P., Sasongko L., Link J.M., Mankoff D.A., Muzi M., Collier A.C., Unadkat J.D.,
 Verapamil P-glycoprotein Transport across the Rat Blood-Brain Barrier: Cyclosporine, a Concentration Inhibition Analysis, and Comparison with Human Data.
J Pharmacol Exp Ther (2006) 317, 704-710
- [12] Lin Y.C., Ellingrod V.L., Bishop J.R., Miller del D.,
 The relationship between P-glycoprotein (PGP) polymorphisms and response to olanzapine treatment in schizophrenia.
Ther. Drug Monit. (2006) 28, 668-672
- [13] Seegers U., Potschka H., Löscher W.,
 Expression of the multidrug transporter P-glycoprotein in brain capillary endothelial cells and brain parenchyma of amygdala-kindled rats.
Epilepsia (2002) 43, 675-684
- [14] Lacan G., Plenevaux A., Rubins D.J., Way B.M., Defraiteur C., Lemaire C., Aerts J., Luxen A., Cherry S.R., Melega W.P.,
 Cyclosporine, a P-glycoprotein modulator, increases [(18)F]MPPF uptake in rat brain and peripheral tissues: microPET and ex vivo studies.
Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging (2008) 35 (12), 2256-2266
- [15] Pardridge W. M.,
 Blood-brain barrier biology and methodology.
J Neurovirol (1999) 5, 556-569
- [16] Löscher W., Potschka H.,
 Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family.
NeuroRx (2005) 2, 86-98
- [17] Abbott N. J., Ronnback L., Hansson E. ,
 Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier.
Nat Rev Neurosci (2006) 7, 41-53
- [18] Pardridge W. M.,
 The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development.
NeuroRx (2005) 2, 3-14
- [19] Löscher W., Potschka H.,
 Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters.
Nat Rev Neurosci (2005a) 6, 591-602
- [20] Unkrüer B.,
 Regulation der P-Glykoprotein-Expression im epileptischen Gehirn.
 Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde, Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München 2008
- [21] Borst P., Elferink R.O.,
 Mammalian ABC transporters in health and disease,

- Annu Rev Biochem. (2002), 71, 537-92
- [22] Schinkel A. H., Jonker J. W.,
Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family:
an overview.
Drug Deliv Rev (2003) 55, 3-29
- [23] Litman T., Druleyt E. , Stein W.D., Bates S.E.,
From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance systems, their
properties and clinical significance.
Cell Mol Life Sci (2001) 58, 931-959
- [24] Van Vliet E.A., Aronica E. , Redeker S., Marchi N. , Rizzi M., Vezzani A.,
Gorter J.,
Selective and persistent upregulation of *mdr1b* mRNA and P-glycoprotein in
the parahippocampal cortex of chronic epileptic rats.
Epilepsy Res (2004) 60, 203-213
- [25] Brandt C., Bethmann K., Gastens A.M., Löscher W.,
The multidrug transporter hypothesis of drug resistance in epilepsy: Proof-of-
principle in a rat model of temporal lobe epilepsy.
Neurobiol Dis (2006) 24, 202-211
- [26] Juliano, R. L., Ling V.,
A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary
cell mutants.
Biochim Biophys Acta (1976) 455, 152-162
- [27] Takakuwa O., Oguri T., Ozasa H., Uemura T., Kasai D., Miyazaki M., Maeno
K., Sato S.,
Over-expression of MDR1 in amrubicinol-resistant lung cancer cells.
Cancer Chemother Pharmacol. (2011) Sep;68(3), 669-76
- [28] Shitara K., Matsuo K., Ito S., Sawaki A., Kawai H., Yokota T., Takahari D.,
Shibata T., Ura T., Ito H., Hosono S., Kawase T., Watanabe M., Tajima K.,
Yatabe Y., Tanaka H., Muro K.,
Effects of genetic polymorphisms in the ABCB1 gene on clinical outcomes in
patients with gastric cancer treated by second-line chemotherapy.
Asian Pac J Cancer Prev. (2010) 11(2), 447-52
- [29] Jeon Y.H., Bae S.A., Lee Y.J., Lee Y.L., Lee S.W., Yoon G.S., Ahn B.C., Ha
J.H., Lee J.,
Evaluation of the reversal of multidrug resistance by MDR1 ribonucleic acid
interference in a human colon cancer model using a Renilla luciferase
reporter gene and coelenterazine.
Mol Imaging. (2010) Dec;9(6), 343-50
- [30] Bao L., Haque A., Jackson K., Hazari S., Moroz K., Jetly R., Dash S.,
Increased expression of P-glycoprotein is associated with doxorubicin
chemoresistance in the metastatic 4T1 breast cancer model.
Am J Pathol. (2011) Feb;178(2), 838-52
- [31] Saggiorato E, Angusti T, Rosas R, Martinese M, Finessi M, Arecco F, Trevisiol E,

- Bergero N, Puligheddu B, Volante M, Podio V, Papotti M, Orlandi F.
99mTc-MIBI Imaging in the presurgical characterization of thyroid follicular neoplasms: relationship to multidrug resistance protein expression.
J Nucl Med. (2009) Nov;50(11), 1785-93
- [32] Pituch-Noworolska A., Zaremba M., Wieczorek A.,
Expression of proteins associated with therapy resistance in rhabdomyosarcoma and neuroblastoma tumour cells.
Pol J Pathol. (2009) Nov;60(4),168-73
- [33] Hu M., Liu Y., Deng C., Han R., Jia Y., Liu S., Jiang Z., Cao X., He L., Zhang Q.,
Enhanced invasiveness in multidrug resistant leukemic cells is associated with overexpression of P-glycoprotein and cellular inhibitor of apoptosis protein.
Leuk Lymphoma. (2011) Jul;52(7), 1302-11
- [34] Haimeur A., Conseil G., Deeley R.G., Cole S.P.,
The MRP-related and BCRP/ABCG2 multidrug resistance proteins: biology, substrate specificity and regulation.
Curr Drug Metab (2004) 5, 21-53
- [35] Gerloff T.
Die Bedeutung der ABC-Transportsysteme ABCB1 und Abcb11 in der Arzneimitteltherapie und bei cholestatischen Lebererkrankungen.
Habilitationsschrift zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach der Klinischen Pharmakologie, Medizinische Fakultät Charité Humboldt-Universität Berlin 2004
- [36] Sato T., Kodan A., Kimura Y., Ueda K., Nakatsu T., Kato H.,
Functional role of the linker region in purified human P-glycoprotein.
FEBS J. (2009) Jul, 276(13), 3504-16
- [37] Szakacs G., Paterson J.K., Ludwig J.A., Booth-Genthe C., Gottesman M.M.,
Targeting multidrug resistance in cancer.
Nat. Rev. Drug Discov. (2006) 5, 219-234.
- [38] Sorrentino B.P.,
Gene therapy to protect haematopoietic cells from cytotoxic cancer drugs.
Nature Reviews Cancer (2002) 2, 431-441
- [39] Begley D.J.,
The interaction of some centrally active drugs with the blood-brain-barrier and circumventricular organs.
Prog Brain Res. (1992), 91,163-9
- [40] Hendrikse N.H., Schinkel A.H., de Vries E.G., Fluks E., Van der Graaf W.T., Willemsen A.T., Vaalburg W., Franssen E.J.,
Complete in vivo reversal of P-glycoprotein pump function in the blood-brain barrier visualized with positron emission tomography.
Br. J. Pharmacol. (1998) 124, 1413-1418
- [41] Lee Y.J., Maeda J., Kusuhara H., Okauchi T., Inaji M., Nagai Y., Obayashi S.,

- Nakao R., Suzuki K., Sugiyama Y., Suhara T.,
In vivo evaluation of P-glycoprotein function at the blood-brain barrier in nonhuman primates using [¹¹C]verapamil.
J. Pharmacol. Exp. Ther. (2006) 316, 647-653
- [42] Schinkel A.H., Mol C.A., Wagenaar E., Van Deemter L., Mol C.A., Borst P.,
Absence of the *mdr1a* P-Glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A.
J Clin Invest. (1995) Oct;96(4),1698-705
- [43] Mayer U., Wagenaar E., Dorobek B., Beijnen J.H., Borst P., Schinkel A.H.,
Full blockade of intestinal P-glycoprotein and extensive inhibition of blood-brain barrier P-glycoprotein by oral treatment of mice with PSC833.
J Clin Invest. (1997) Nov 15;100(10), 2430-6
- [44] Roe M., Folkes A., Ashworth P., Brumwell J., Chima L., Hunjan S., Pretswell I., Dangerfield W., Ryder H., Charlton P.,
Reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by novel anthranilamide derivatives.
Bioorg. Med. Chem. Lett. (1999) 9, 595-600
- [45] Fox E., Bates S.E.,
Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor.
Expert Rev. Anticancer Ther. (2007) 7, 447-459
- [46] Kelly R.J., Draper D., Chen C.C., Robey R.W., Figg W.D., Piekarczyk R.L., Chen X., Gardner E.R., Balis F.M., Venkatesan A.M., Steinberg S.M., Fojo T., Bates S.E.,
A pharmacodynamic study of docetaxel in combination with the P-glycoprotein antagonist tariquidar (XR9576) in patients with lung, ovarian, and cervical cancer.
Clin Cancer Res. 2011 Feb 1;17(3), 569-80
- [47] Bankstahl J.P., Kuntner C., Abraham A., Karch R., Stanek J., Wanek T., Wadsak W., Kletter K., Muller M., Loscher W., Langer O.,
Tariquidar-induced Pglycoprotein inhibition at the rat blood-brain barrier studied with (R)-¹¹Cverapamil and PET.
J. Nucl. Med. (2008) 49, 1328-1335
- [48] Wagner C.C., Bauer M., Karch R., Feurstein T., Kopp S., Chiba P., Kletter K., Löscher W., Müller M., Zeitlinger M., Langer O.,
A pilot study to assess the efficacy of tariquidar to inhibit P-glycoprotein at the human blood-brain barrier with (R)-¹¹C-verapamil and PET.
J Nucl Med. (2009) Dec;50(12), 1954-61
- [49] Greiner C.
P-Glykoprotein - Bedeutung für den Arzneistoffmetabolismus
www.unimedizin/mainz.de, Serie Interaktionslexikon, Teil 7: NT 9/2010
- [50] Brown C.D., Sayer R., Windass A.S., Haslam I.S., De Broe M.E., D'Haese P.C. Verhulst A.,

- Characterisation of human tubular cell monolayers as a model of proximal tubular xenobiotic handling.
Toxicol Appl Pharmacol. (2008) Dec 15;233(3), 428-38
- [51] De Rosa M.F., Ackerley C., Wang B., Ito S., Clarke D.M., Lingwood C.,
Inhibition of Multidrug Resistance by AdamantylGb3, a Globotriaosylceramide Analog,
J. Biol. Chem., (2008) 283, Issue 8, 4501-4511
- [52] Camera A., Rinaldi C.R., Palmieri S., Cantore N., Mele G., Mettivier V.,
Miraglia E., Mastrullo L., Grimaldi F., Luciano L., Guerriero A., Rotoli B.,
Ferrara F.,
Sequential continuous infusion of fludarabine and cytarabine associated with liposomal daunorubicin (DaunoXome) (FLAD) in primary refractory or relapsed adult acute myeloid leukemia patients.
Ann Hematol. (2009) Feb;88(2), 151-8
- [53] Candoni A., Martinelli G., Toffoletti E., Chiarvesio A., Tiribelli M.,
Malagola M., Piccaluga P.P., Michelutti A., Simeone E., Damiani D.,
Russo D., Fanin R.,
Gemtuzumab-ozogamicin in combination with fludarabine, cytarabine, idarubicin (FLAI-GO) as induction therapy in CD33-positive AML patients younger than 65 years.
Leuk Res. (2008) Dec;32(12), 1800-8
- [54] Regesta G., Tanganelli P.,
Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies.
Epilepsy Res (1999) 34, 109-122
- [55] Coulter D.A.,
Epilepsy-associated plasticity in gamma-aminobutyric acid receptor expression, function, and inhibitory synaptic properties.
Int Rev Neurobiol. (2001);45, 237-52. Review
- [56] Remy S., Gabriel S., Urban B.W., Dietrich D., Lehmann T.N., Elger C.E.,
Heinemann U., Beck H.
A novel mechanism underlying drug resistance in chronic epilepsy.
Ann Neurol (2003) 53, 469-479
- [57] Remy S., Beck H.,
Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy.
Brain. (2006) Jan;129(Pt 1), 18-35
- [58] Sills G.J.,
The multidrug transporter hypothesis of refractory epilepsy: corroboration and contradiction in equal measure.
Epilepsy Curr. (2006) Mar-Apr;6(2), 51-4
- [59] Löscher W.,
Drug transporters in the epileptic brain.
Epilepsia. (2007), 48 Suppl 1, 8-13
- [60] Luna-Tortós C., Fedrowitz M., Löscher W.,

- Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein. *Neuropharmacology* (2008) Dec;55(8), 1364-75
- [61] van Vliet E.A., van Schaik R., Edelbroek P.M., Redeker S., Aronica E., Wadman W.J., Marchi N., Vezzani A., Gorter J.A., Inhibition of the multidrug transporter P-glycoprotein improves seizure control in phenytoin-treated chronic epileptic rats. *Epilepsia* (2006) Apr;47(4), 672-80
- [62] Bauer B., Hartz A.M., Pekcec A., Toellner K., Miller D.S., Potschka H., Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. *Mol Pharmacol* (2008) 73, 1444-1453
- [63] Cole-Edwards K.K., Bazan N.G., Lipid signaling in experimental epilepsy. *Neurochem Res* (2005) 30, 847-853
- [64] Zhu H.J., Liu G.Q., Glutamate up-regulates P-glycoprotein expression in rat brain microvessel endothelial cells by an NMDA receptor-mediated mechanism. *Life Sci* (2004) 75, 1313-1322
- [65] Sharp C.D., Hines I., Houghton J., Warren A., Jackson T.H.T., Jawahar A., Nanda A., Elrod J.W., Long A., Chi A., Minagar A., Alexander J.S., Glutamate causes a loss in human cerebral endothelial barrier integrity through activation of NMDA receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (2003) 285, H2592-2598
- [66] Pekcec A., Unkrüer B., Schlichtiger J., Soerensen J., Hartz A.M., Bauer B., van Vliet E.A., Gorter J.A., Potschka H., Targeting prostaglandin E2 EP1 receptors prevents seizure-associated P-glycoprotein up-regulation. *J Pharmacol Exp Ther.* (2009) Sep;330(3), 939-47
- [67] Hauser W.A., Annegers J.F., Kurland L.T., Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia* (1993) 34, 453-468
- [68] Kwan P., Brodie M.J., Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. *Expert Rev Neurother* (2006) 6, 397-406
- [69] Brodie M. J., Kwan P., Staged approach to epilepsy management. *Neurology* (2002) 58, S2-8
- [70] Fisher R.S., Van Emde Boas W., Blume W., Elger C., Genton P., Lee P., Engel J.R., Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE).

- Epilepsia (2005) 46, 470-472
- [71] Engel
Bericht der Klassifikations-Kerngruppe der Internationalen Liga gegen Epilepsie.
Z Epileptol (2007) 20, 15-30
- [72] Steinlein O.K., Mulley J.C., Propping P., Wallace R.H., Phillips H.A., Sutherland G.R., Scheffer I.E., Berkovic S.F.,
A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy.
Nat Genet. (1995) Oct;11(2), 201-3
- [73] Fox J.W., Lamperti E.D., Ekşioğlu Y.Z., Hong S.E., Feng Y., Graham D.A., Scheffer I.E., Dobyns W.B., Hirsch B.A., Radtke R.A., Berkovic S.F., Huttenlocher P.R., Walsh C.A.,
Mutations in filamin 1 prevent migration of cerebral cortical neurons in human periventricular heterotopia.
Neuron. (1998) Dec;21(6), 1315-25
- [74] Singh N.A., Charlier C., Stauffer D., DuPont B.R., Leach R.J., Melis R., Ronen G.M., Bjerre I., Quattlebaum T., Murphy J.V., McHarg M.L., Gagnon D., Rosales T.O., Peiffer A., Anderson V.E., Leppert M.,
A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns.
Nat Genet. (1998) Jan;18(1), 25-9
- [75] Charlier C., Singh N.A., Ryan S.G., Lewis T.B., Reus B.E., Leach R.J., Leppert M.,
A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family.
Nat Genet. (1998) Jan;18(1), 53-5.
- [76] Fröscher W, Vasella F, , Epilepsien und epileptische Syndrome S117-224
In Hufnagel A (Hrsg.): Die Epilepsien, Grundlagen, Klinik, Behandlung, 2. Aufl. Schattauer, Stuttgart (2004)
- [77] Mc Namara J.O.,
Cellular and molecular basis of epilepsy.
J Neurosci (1994) 14, 3413-3425
- [78] Browne T.R., Holmes G.L.,
Epilepsy.
N Engl J Med (2001) 344, 1145-1151
- [79] Chang, B. S., Lowenstein D.H.,
Epilepsy.
N Engl J Med (2003) 349, 1257-1266
- [80] Reiss J.,
New developments in neuroradiologic diagnosis. Indications for MRI

- and PET— advances in functional imaging.
 Fortschr Med. (1998) Apr 20;116(11), 40-3 Review. German.
- [81] URL: www.epilepsie-netz.de/63/EEG.htm (Abruf am 07.08.2013)
- [82] URL: www.klinikum.uni-muenchen.de/Klinik-und-Poliklinik-fuer-Psychiatrie-und-Psychotherapie/de/forschung/klneuroeegekg
 (Abruf am 25.05.2013)
- [83] Marson A.G., Appleton R., Baker G.A., Chadwick D.W., Doughty J., Eaton B., Gamble C., Jacoby A., Shackley P., Smith D.F., Tudur-Smith C., Vanoli A., Williamson P.R.,
 A randomised controlled trial examining the longer-term outcomes of standard versus new antiepileptic drugs. The SANAD trial.
 Health Technol Assess. (2007) Oct;11(37):iii-iv, ix-x, 1-134
- [84] Kwan P., Brodie M.J.
 Early identification of refractory epilepsy.
 N Engl J Med. (2000) Feb 3;342(5):314-9.
- [85] Löscher W.,
 Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and diseasemodifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy.
 Epilepsy Res (2002) 50, 105-123
- [86] Turski W.A., Cavalheiro E.A., Schwarz M., Czuczwar S.J., Kleinrok Z., Turski L.,
 Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study.
 Behav Brain Res (1983) 9, 315-335
- [87] Honchar M.P., Olney J.W., Sherman W.R.,
 Systemic cholinergic agents induce seizures and brain damage in lithium-treated rats.
 Science (1983) 220, 323-325
- [88] Clifford D.B., Olney J.W., Maniotis A., Collins R.C., Zorumski C.F.,
 The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures.
 Neuroscience (1987) 23, 953-968
- [89] Pekcec A., Fuest C., Muhlenhoff M., Gerardy-Schahn R., Potschka H.,
 Targeting epileptogenesis-associated induction of neurogenesis by enzymatic depolysialylation of NCAM counteracts spatial learning dysfunction but fails to impact epilepsy development.
 J Neurochem (2008) 105, 389-400
- [90] URL: <http://de.wikipedia.org/wiki/Betastrahlung> (Abruf am 25.05.2013)
- [91] Wienhard K.Wagner R., Heiss W.D., Physikalische Grundlagen, S. 2-11
 In PET- Grundlagen und Anwendungender Positronen-Emissions-Tomographie,
 Springer, Berlin Heidelberg (1989)
- [92] URL: http://de.wikipedia.org/wiki/Technik_der_Positronen-Emissions-

- Tomographie (Abruf am 25.05.2013)
- [93] Wienhard K., Wagner R., Heiss W.D., Physikalische Grundlagen, S. 2-4
In PET- Grundlagen und Anwendungender Positronen-Emissions-Tomographie,
Springer, Berlin Heidelberg (1989)
- [94] Wienhard K., Wagner R., Heiss W.D., Physikalische Grundlagen, S. 17-23
In PET- Grundlagen und Anwendungender Positronen-Emissions-Tomographie,
Springer, Berlin Heidelberg (1989)
- [95] Just U.,
Sammlung der Einzelereignisse einer PET-Kamera, Listmodemessung und
Sortieren nach beliebigen Kriterien.
Diplomarbeit, Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden, Institut für
Bioanorganische und Radiopharmazeutische Chemie, Forschungszentrum
Rossendorf (2001)
- [96] Labbé C., Wray F.
Determination of a Set of Existing Algorithms For Comparative Evaluation
Parapet 1997
- [97] Wienhard K., Wagner R., Heiss W.D., Physikalische Grundlagen, S. 18-20
In PET- Grundlagen und Anwendungender Positronen-Emissions-Tomographie,
Springer, Berlin Heidelberg (1989)
- [98] Ehrhardt J.,
Korrekturschemata für die PET-Bildgebung mit dem Radioisotop Yttrium-86.
Diplomarbeit zur Erlangung des Grades Diplom-Ingenieur (FH) der
Medizintechnik,
Fachhochschule Giessen-Friedberg (2003)
- [99] Schicha H., Schober O., Molekulare Bildgebung, S. 11
In Nuklearmedizin. Basiswissen und klinische Anwendung
6. Aufl., Schattauer, Stuttgart (2007)
- [100] Ginovart N., Hassoun W., Le Bars D., Weissmann D., Leviel V.,
In vivo characterization of p-[(18F)MPPF, a fluoro analog of WAY-100635 for
visualization of 5-HT(1a) receptors,
Synapse (2000) Mar 1;35(3), 192-200
- [101] Kung H.F., Stevenson D.A., Zhuang Z.P., Kung M.P., Frederick D., Hurt S.D.,
New 5-HT1A receptor antagonist: [3H]p-MPPF,
Synapse (1996) Aug;23(4), 344-6.
- [102] Le Bars D., Lemaire C., Ginovart N., Plenevaux A., Aerts J., Brihaye C.,
Hassoun W., Leviel V., Mekhsian P., Weissmann D., Pujol J.F., Luxen A.,
Comar D.,
Highyield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of P-[18F]MPPF,
a fluoro analog of WAY-100635,
Nucl. Med. Biol. (1998) 25, 343-350
- [103] Shiue C.Y., Shiue G.G., Mozley P.D., Kung M.P., Zhuang Z.P., Kim H.J., Kung
H.F.,
P-[18F]-MPPF: a potential radioligand for PET studies of 5-HT1A receptors in

- humans,
Synapse (1997) 25, 147-154
- [104] Passchier J., van Waarde A., Pieterman R.M., Elsinga P.H., Pruijm J., Hendrikse H.N., Willemsen A.T., Vaalburg W.,
In vivo delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with [¹⁸F]MPPF,
J. Nucl. Med. (2000b) 41, 1830-1835
- [105] Passchier J., van Waarde A., Vaalburg W., Willemsen A.T.,
On the quantification of [¹⁸F]MPPF binding to 5-HT_{1A} receptors in the human brain.
J. Nucl. Med. (2001) 42, 1025-1031
- [106] Costes N., Zimmer L., Reilhac A., Lavenne F., Ryvlin P., Le Bars D.,
Test-retest reproducibility of 18F-MPPF PET in healthy humans: a reliability study,
J. Nucl. Med. (2007) 48, 1279-1288
- [107] Aznavour N., Benkelfat C., Gravel P., Aliaga A., Rosa-Neto P., Bedel, B., Zimmer L., Descarries L.,
MicroPET imaging of 5-HT(1A) receptors in rat brain: a test- retest [(18)F]MPPF study.
Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging (2008) 36 (1), 53-62
- [108] Rassow R., Hauser K., Netzker R., Deutzmann R.,
Funktion biologischer Membranen S.353
In: Duale Reihe Biochemie
1. Aufl., Thieme, Stuttgart (2006)
- [109] Schicha H., Schober O., Radiopharmaka, S. 31-32
In Nuklearmedizin. Basiswissen und klinische Anwendung
4. Aufl., Schattauer, Stuttgart (2000)
- [110] URL: <http://www.sydora.de/gesundheit/leben/glukose.html>
(Abruf am 02.07.2013)
- [111] Nickles R.J., Gatley S.J., Votaw J.R., Kornguth M.L.,
Production of reactive fluorine-18,
Int J Rad Appl Instrum (1986) 37, 649-661
- [112] Bida G.T., Satyamurthy N., Barrio J.R.,
The synthesis of 2-[F-18]fluoro-2-deoxy-D-glucose using glycals: a reexamination,
J Nucl Med (1984) 25, 1327-1334
- [113] Hamacher K., Coenen H.H., Stocklin G.,
Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[¹⁸F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution,
J Nucl Med (1986) 27, 235-238
- [114] URL: <http://de.wikipedia.org/wiki/Tariquidar> (Abruf am 02.07.2013)
- [115] Bartmann H., Fuest C., la Fougere C., Xiong G., Just T., Schlichtiger J., Winter P., Böning G., Wängler B., Pekcec A., Soerensen J., Bartenstein P., Cumming P., Potschka H.,

- Imaging of P-glycoprotein-mediated pharmacoresistance in the hippocampus: proof-of-concept in a chronic rat model of temporal lobe epilepsy,
Epilepsia (2010) Sep;51(9), 1780-90
- [116] Brandt C., Volk H.A., Löscher W.,
 Striking differences in individual anticonvulsant response to phenobarbital in rats with spontaneous seizures after status epilepticus,
Epilepsia (2004) Dec;45(12), 1488-97
- [117] Racine R.J., Gartner J.G., Burnham W.M.,
 Epileptiform activity and neural plasticity in limbic structures.
Brain Res (1972) 47, 262-268
- [118] Volk H., Arabadzisz D., Fritschy J.M., Brandt C., Bethmann K., Löscher W.,
 Antiepileptic drug-resistant rats differ from drug-responsive rats in hippocampal neurodegeneration and GABA(A) receptor ligand binding in a model of temporal lobe epilepsy.
Neurobiol Dis. (2006) Mar;21(3), 633-46
- [119] Rubins D.J., Melega W.P., Lacan G., Way B., Plenevaux A., Luxen A., Cherry S.R.,
 Development and evaluation of an automated atlas-based image analysis method for microPET studies of the rat brain.
Neuroimage (2003) Dec;20(4), 2100-18.
- [120] Pedersen, K., Simonsen, M., Ostergaard, S.D., Munk, O.L., Rosa-Neto, P., Olsen, A.K., Jensen, S.B., Moller, A., Cumming, P.,
 Mapping the amphetamine-evoked changes in [11C]raclopride binding in living rat using small animal PET: modulation by MAO-inhibition.
Neuroimage (2007), 35, 38-46
- [121] Paxinos G., Watson C.R., Emson P.C.,
 AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates.
J Neurosci Methods. (1980) Dec;3(2), 129-49
- [122] URL: <http://www.pmod.com/technologies/pdf/doc/PKIN.pdf>
 (Abruf am 14.07.2013)
- [123] Logan J., Fowler J.S., Volkow N.D., Wang G.J., Ding Y.S., Alexoff D.L.,
 Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data.
J. Cereb. Blood Flow Metab. (1996) 16, 834-840
- [124] Gunn R.N., Lammertsma A.A., Hume S.P., Cunningham V.J.,
 Parametric imaging of ligand-receptor binding in PET using a simplified reference region model.
Neuroimage (1997) 6, 279-287
- [125] Lammertsma A.A., Hume S.P.,
 Simplified reference tissue model for PET receptor studies.
Neuroimage (1996) Dec;4(3 Pt 1), 153-8
- [126] Millet P., Moulin M., Bartoli A., Del Guerra A., Ginovart N., Lemoucheux L.,

- Buono S., Fagret D., Charnay Y., Ibanez V.,
In vivo quantification of 5-HT_{1A}-[18F]MPPF interactions in rats using the
YAP-(S)PET scanner and a beta-microprobe.
Neuroimage (2008) 41, 823-834
- [127] la Fougère C., Böning G., Bartmann H., Wängler B., Nowak S., Just T.,
Wagner E., Winter P., Rominger A., Förster S., Gildehaus F.J., Rosa-Neto
P., Minuzzi L., Bartenstein P., Potschka H., Cumming P.,
Uptake and binding of the serotonin 5-HT_{1A} antagonist [18F]-MPPF in brain
of rats: Effects of the novel P-glycoprotein inhibitor tariquidar.
Neuroimage (2010) Jan 15;49(2), 1406-15
- [128] Colabufo N.A., Berardi F., Perrone M.G., Capparelli E., Cantore M., Inglese
C., Perrone R.,
Substrates, inhibitors and activators of P-glycoprotein: candidates for
radiolabeling and imaging perspectives.
Curr Top Med Chem. (2010);10(17), 1703-14
- [129] Leitner I., Nemeth J., Feurstein T., Abraham A., Matzneller P., Lagler H.,
Erker T., Langer O., Zeitlinger M.,
The third-generation P-glycoprotein inhibitor tariquidar may overcome
bacterial multidrug resistance by increasing intracellular drug concentration.
J Antimicrob Chemother. (2011= Apr;66(4), 834-9
- [130] Landvogt C., Mengel E., Bartenstein P., Buchholz H.G., Schreckenberger M.,
Siessmeier T., Scheurich A., Feldmann R., Weglage J., Cumming P., Zepp F.,
Ullrich K.,
Reduced cerebral fluoro-L-dopamine uptake in adult patients suffering from
phenylketonuria.
J. Cereb. Blood Flow Metab. (2008) 28, 824-831
- [131] Zoghbi S.S., Liow J.S., Yasuno F., Hong J., Tuan E., Lazarova N., Gladding
R.L., Pike V.W., Innis R.B.,
11C-Loperamide and its N-desmethyl radiometabolite are avid substrates for
brain permeability-glycoprotein efflux,
J. Nucl. Med. (2008) 49, 649-656
- [132] Zhou S.F.,
Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance
in drug disposition,
Xenobiotica (2008) 38, 802-832
- [133] Cumming P., Rosa-Neto P., Watanabe H., Smith D., Bender D., Clarke P.B.,
Gjedde A.,
Effects of acute nicotine on hemodynamics and binding of [11C]raclopride to
dopamine D_{2,3} receptors in pig brain,
Neuroimage (2003) 19, 1127-1136
- [134] Seo S., Hatano E., Higashi T., Hara T., Tada M., Tamaki N., Iwaisako K., Ikai
I., Uemoto S.,
Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts tumor

- differentiation, P-glycoprotein expression, and outcome after resection in hepatocellular carcinoma,
Clin. Cancer Res. (2007) 13, 427-433
- [135] Bentley J., Quinn D.M., Pitman R.S., Warr J.R., Kellett G.L.,
The human KB multidrug-resistant cell line KB-C1 is hypersensitive to inhibitors of glycosylation,
Cancer Lett. (1997) 115, 221-227
- [136] Lorke D.E., Kruger M., Buchert R., Bohuslavizki K.H., Clausen M., Schumacher U.,
In vitro and in vivo tracer characteristics of an established multidrug-resistant colon cancer cell line,
J. Nucl. Med. (2001) 42, 646-654
- [137] Smith T.A.,
Influence of chemoresistance and p53 status on fluoro-2-deoxy-D-glucose incorporation in cancer,
Nucl Med Biol. (2010) Jan, 37(1), 51-5
- [138] Sisodiya S.M., Heffernan J., Squier M.V.,
Over-expression of P-glycoprotein in malformations of cortical development.
Neuroreport(1999)10, 3437-3441
- [139] Dombrowski S.M., Desai S.Y., Marroni M., Cucullo L., Goodrich K., Bingaman W., Mayberg M.R., Bengez L., Janigro D.,
Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy.
Epilepsia (2001) 42, 1501-1506
- [140] Aronica E., Gorter J.A., Jansen G.H. Van Veelen C.W., van Rijen P.C., Leenstra S., Ramkema M., Scheffer G.L., Scheper R.J., Troost D.,
Expression and cellular distribution of multidrug transporter proteins in two major causes of medically intractable epilepsy: focal cortical dysplasia and glioneuronal tumors.
Neuroscience (2003) 118, 417-429
- [141] Löscher W., Potschka H.,
Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases.
Prog Neurobiol (2005b) 76, 22-76
- [142] Cucullo L., Hossain M., Rapp E., Manders T., Marchi N., Janigro D.,
Development of a humanized in vitro blood-brain barrier model to screen for brain penetration of antiepileptic drugs.
Epilepsia (2007) 48, 505-516.
- [143] Marchi N., Guiso G., Rizzi M., Pirker S., Novak K., Czech T., Baumgartner C., Janigro D., Caccia S., Vezzani A.,
A pilot study on brain-to-plasma partition of 10,11-dihydro-10-hydroxy-5H-dibenzo(b,f)azepine-5-carboxamide and MDR1 brain expression in epilepsy patients not responding to oxcarbazepine.

- Epilepsia (2005) 46, 1613-1619
- [144] Luna-Tortos C., Rambeck B., Jurgens U.H., Loscher W.,
The Antiepileptic Drug Topiramate is a Substrate for Human P-glycoprotein
but Not Multidrug Resistance Proteins.
Pharm Res (2009) 26, 2464-2470
- [145] Langer O., Bauer M., Hammers A., Karch R., Patariaia E., Koepp M.J.,
Abraham A., Luurtsema G., Brunner M., Sunder-Plassmann R., Zimprich F.,
Joukhadar C., Gentzsch S., Dudczak R., Kletter K., Muller M., Baumgartner
C.,
Pharmacoresistance in epilepsy: a pilot PET study with the P-glycoprotein
substrate R-[(11)C]verapamil.
Epilepsia (2007) 48, 1774-1784
- [146] Summers M.A., Moore J.L., McAuley J.W.,
Use of verapamil as a potential P-glycoprotein inhibitor in a patient with
refractory epilepsy.
Ann Pharmacother (2004) 38, 1631-1634
- [147] Iannetti P., Spalice A., Parisi P.,
Calcium-channel blocker verapamil administration in prolonged and
refractory status epilepticus.
Epilepsia (2005) 46, 967-969
- [148] Iannetti P., Parisi P., Spalice A., Ruggieri M., Zara F.,
Addition of verapamil in the treatment of severe myoclonic epilepsy in
infancy.
Epilepsy Res (2009) 85, 89-95
- [149] Zibell G., Unkrueer B., Pekcec A., Hartz A.M., Bauer B., Miller D.S., Potschka
H.,
Prevention of seizure-induced up-regulation of endothelial P-glycoprotein by
COX-2-inhibition.
Neuropharmacology (2009) 56, 849-855

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei meinem Betreuer, PD Dr. Christian La Fougère, dafür bedanken, dass er mir geduldig während der ganzen Arbeit zur Seite stand, sich stets für Rückfragen Zeit genommen hat und mich fortdauernd unterstützt hat. Ich danke herzlich Herrn Prof. Dr. Peter Bartenstein für die freundliche Überlassung des Promotionsthemas. Zudem möchte ich mich bei Dr. Hero Bartmann für die ausgezeichnete Zusammenarbeit und die Einblicke in den experimentellen Teil der Studie bedanken.

Ferner gilt mein Dank allen ärztlichen und nicht-ärztlichen Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, sowie meinen Mitdoktoranden, welche mich bei technischen Problemen tatkräftig unterstützt haben.

Zuletzt danke ich meinen Eltern Enrico und Claudia Just, die mich stets ermutigten und förderten, mir das Medizinstudium ermöglicht haben und immer für mich da sind.

Eidesstattliche Versicherung

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

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

Unterschrift Doktorandin/Doktorand