

5 ZUSAMMENFASSUNG

Vergleiche der Untersuchungsergebnisse von Versuchen, die mit Tiermodellen zur Epilepsieforschung am hiesigen Institut vorgenommen wurden, ergaben unterschiedliche Resultate in den einzelnen Monaten des Jahres. Daher wurde die Vermutung geäußert, daß es sich hierbei um jahreszeitlich bedingte Schwankungen handeln könnte. Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es nun, festzustellen, ob es saisonale Einflüsse auf die Krampferregbarkeit und die Wirkung von Standardantiepileptika gibt.

Die Krampferregbarkeit wurde in zwei etablierten Tiermodellen, dem MES-Schwellentest und dem i.v. PTZ-Schwellentest mit adulten, männlichen NMRI-Mäusen getestet. Außerdem wurde die antikonvulsive Wirkung von Phenobarbital und Carbamazepin im MES-Schwellentest sowie die von Phenobarbital und Valproat im i.v. PTZ-Schwellentest mit folgenden Dosierungen untersucht:

Phenobarbital: 20, 15, 10 mg/kg (i.v. PTZ-Schwellentest)

15, 10, 5 mg/kg (MES-Schwellentest)

Carbamazepin: 10, 6, 3 mg/kg

Valproat: 150, 100, 70 mg/kg

Wegen ungenügender Wirksamkeit wurde für Phenobarbital im PTZ-Schwellentest im März noch eine vierte Dosierung (30 mg/kg) und für Valproat im März und April (400 mg/kg) hinzugenommen. Die Versuche fanden jeden Monat zur gleichen Zeit statt. Für jeden Tierversuch und in jedem Monat wurden neue Mäuse verwendet, die immer dasselbe Alter hatten.

In einem zweiten Versuchsabschnitt erfolgte die Testung der Krampferregbarkeit von adulten, weiblichen Wistarratten im Amygdala-Kindlingmodell. Außerdem wurde monatlich die antikonvulsive Wirkung von Phenobarbital, Carbamazepin und Valproat bei einer mittleren Dosierung untersucht:

Phenobarbital: 30 mg/kg

Carbamazepin: 20 mg/kg

Valproat: 200 mg/kg

Zusätzlich wurden die Nebenwirkungen dieser Antiepileptika bestimmt. Die Versuche fanden, zeitlich versetzt, in zwei Gruppen statt, um den Alterseinfluß der Tiere zu minimieren. Für die Kindlingversuche wurden für jeden Versuch und in jedem Monat dieselben Tiere verwendet.

Um Rückschlüsse auf die Ursachen (Metabolismus, Verteilung) von jahreszeitlich unterschiedlicher antikonvulsiver Wirkung der Antiepileptika ziehen zu können, wurden

monatlich Plasma- und Gehirnkonzentration (Schwellenversuche) bzw. Plasmakonzentration (Kindlingversuche) gaschromatographisch bestimmt.

Die Versuchsdauer für die Schwellenversuche betrug 13 Monate, mit einer Wiederholung der Septembermonate. Die Versuchsdauer für die Kindlingversuche betrug für Gruppe 1 neun Monate (Oktober 1991 bis Juni 1992), für Gruppe 2 sechs Monate (April 1992 bis September 1992).

Zur Minimierung exogener Zeitgeberfunktionen wurden die Tierraum- und Versuchslaborbedingungen weitestgehend standardisiert, ebenso der Versuchsablauf.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen auf eine saisonale Beeinflussung der Krampferregbarkeit in den i.v. PTZ-Schwellenversuchen hin, mit minimaler Krampferregbarkeit von Februar bis April. Für die MES-Schwelle wurden kaum Schwankungen beobachtet, möglicherweise ist dieses Modell zu unempfindlich für die Wirkung saisonaler Einflüsse. Die antikonvulsive Wirkung war in beiden Tiermodellen und bei allen getesteten Antikonvulsiva minimal im März und April. Der deutlichere Wirkungsverlust war bei den PTZ-Schwellenversuchen und dabei besonders für Valproat erkennbar.

Metabolische Ursachen für die Wirkungsabschwächung lassen sich nur für Carbamazepin vermuten. Für Phenobarbital (PTZ-Schwelle) und Valproat wird eine saisonale Beeinflussung der Verteilung und damit jahreszeitlich unterschiedliche Anreicherung des Antikonvulsivums im Gehirn diskutiert. Als zweite Möglichkeit wurde die mögliche saisonale Beeinflussung der GABA-Konzentration und damit saisonal unterschiedliche Wirkung von Phenobarbital und Valproat erörtert. Insgesamt könnten die vorliegenden Ergebnisse ein Hinweis auf ablaufende endogene saisonale Rhythmen sein, sollten aber nur als Pilotprojekt gewertet werden, dem sich weitere, längerfristige Untersuchungen anschließen müssen. Es scheint jedoch schon jetzt ratsam, daß Experimentatoren, die mit diesen Tiermodellen arbeiten, auf Grund der Ergebnisse die Monate März und April für Tierversuche meiden.

Die Kindlingversuche erbrachten das interessante Ergebnis, daß offenbar Kindlingeinflüsse auf die Versuchsergebnisse so stark wirken, daß saisonale Einflüsse überdeckt werden und daß Veränderungen, die bisher nur nach chronischer Applikation von Antikonvulsiva beobachtet wurden, auch schon nach akuter Stoffapplikation auftreten.

So wurde mit zunehmender Anzahl der Stimulationen (3 Kontrollstimulationen, 3 Stimulationen unter Behandlung alternierend im Abstand von 48 Stunden pro Monat, dann eine ca. zweiwöchige Stimations- und Applikationspause und Wiederholung der Prozedur im folgenden Monat) eine Verbesserung der antikonvulsiven Wirkung (Erhöhung der ADT) der drei Antiepileptika festgestellt, am stärksten für Carbamazepin. Parallel dazu erniedrigte

sich stetig die Kontrollkrampfschwelle. Es gab eine deutliche negative Korrelation zwischen Versuchs-ADT und Kontroll-ADT.

Gegenüber den Nebenwirkungen Ataxie und Hypermotilität entwickelte sich eine Toleranz. Als Ursache wurden Sensibilisierungsprozesse durch Konditionierung (GOUDIE u. DEMELLWEEK 1986) bzw. Aktivierung inhibitorischer Prozesse im gekindelten Focus und damit verbundene erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Antikonvulsiva (MACE u. BURNHAM 1987) verantwortlich gemacht. Die stetige Abnahme der Kontroll-ADT wurde als Overkindlingphänomen gewertet. Die Toleranzentwicklung gegenüber den Nebenwirkungen könnte Ausdruck einer Gegensteuerung der Tiere im Rahmen der Konditionierung sein. Einen Hinweis auf saisonale Einflüsse gibt der Verlauf der Plasmakonzentration von Phenobarbital und Carbamazepin. Der Jahresverlauf war ähnlich dem Jahresverlauf der Plasmakonzentration bei den Schwellenversuchen. Ein Einfluß auf die Ergebnisse des Tierversuches wurde nicht beobachtet, da offensichtlich die Kindlingeinflüsse stärker waren.

Auch die Ergebnisse der Kindlingversuche können nur erste Hinweise liefern und müßten durch weitergehende Untersuchungen konkretisiert werden. Jedoch sollten Experimentatoren damit rechnen, daß sich im Kindlingmodell bereits nach wenigen Stimulationen (6) und ohne chronische Verabreichung von Antiepileptika Phänomene wie Toleranz, Sensibilisierung, und Overkindling entwickeln können.

SUMMARY

Mia Fiedler

Seasonal influences on seizure induction and the efficacy of standard antiepileptics

Previous studies with animal models in our institute led to differences in experimental results with respect to different months of the year. Therefore we presumed seasonal fluctuations.

The intention of the present study was to examine if there exist seasonal influences on seizure susceptibility of the animals and the efficacy of standard antiepileptics. Seizure susceptibility was studied in two established animal models, the MES-threshold test and the i.v. PTZ-threshold test in adult male NMRI mice.

Moreover, the anticonvulsant activity of phenobarbital and carbamazepine was tested in the MES-threshold test and the anticonvulsive efficacy of phenobarbital and valproate in the i.v. PTZ-threshold test in the following doses:

Phenobarbital:	20, 15, 10 mg/kg (i.v. PTZ-threshold test)
	15, 10, 5 mg/kg (MES-threshold test)
Carbamazepine:	10, 6, 3 mg/kg
Valproate	150, 100, 70 mg/kg

Because of insufficient efficacy we added a fourth dose (30 mg/kg) of phenobarbital in the PTZ-threshold test in march, and a fourth dose of valproate (400 mg/kg) in march and april. The experiments took place every month of the same time. New age-matched animals were used for each experiment and in each month.

In a second experimental section, the seizure susceptibility of adult female Wistar rats was tested in the amygdala kindling model. Moreover, the anticonvulsant activity of phenobarbital, carbamazepine and valproate was determined each month in these rats by one effective dosis:

Phenobarbital:	30 mg/kg
Carbamazepine:	20 mg/kg
Valproate:	100 mg/kg

Additionally, we studied the side effects of these antiepileptic drugs in the same rats. These experiments were undertaken in two groups with a temporal delay to minimize the influence of the age of the animals. In these kindling experiments the same rats were used for each experiment and in each month.

Plasma and brain concentrations (threshold tests) respectively plasma concentrations (kindling experiments) were determined by gas chromatography each month to draw conclusions with respect to the eventual causes of seasonally different anticonvulsant activities of antiepileptics.

The threshold tests were undertaken during 13 months, repeating September. The kindling experiments lasted nine months for group 1 (October 1991 till June 1992) and six months for group 2 (April 1992 till September 1992). To minimize exogenous "Zeitgebers" the environmental conditions (animal room and laboratory) and the experimental conditions were extensively standardized.

The results of the present study point towards a seasonal influence on the seizure susceptibility in the i.v. PTZ-threshold test with a minimum seizure susceptibility in

February and April. Fluctuations of the MES-threshold were not observed. Possibly, this model is not sensitive enough with respect to seasonal influences.

In both animal models and with all tested anticonvulsant drugs the anticonvulsive activity was lowest in march and april.

The more obvious loss of efficacy was recognizable in the PTZ-threshold tests and there particularly with valproate.

Metabolic causes for the attenuation of efficacy can only be presumed in the case of carbamazepine.

In the case of phenobarbital (PTZ-threshold) and valproate, a seasonal influence on their distribution and therefore a seasonally different brain concentration of the anticonvulsant is discussed. As a second possibility, seasonal influence of the GABA concentration and therefore a seasonally different efficacy of phenobarbital and valproate is debated. All together, the present results might indicate endogenous seasonal rhythms, but they should be considered as results from a pilot study, which must be followed by longer lasting examinations. With respect to the results it seems to be useful, that persons who work with these animal models should avoid the months march and april for their experiments.

The kindling experiments lead to the interesting result that obviously the kindling itself exerts so strong influences on the experimental results that seasonal influences are overlapped. Changes which were observed only after chronical application of anticonvulsants occurred already after acute administration. With increasing number of stimulations (3 control stimulations, 3 stimulations after treatment bidaily each month, then an interruption of approximately two weeks, and a repetition of the procedure in the following month) an improvement of the anticonvulsant efficacy (increase of ADT) of the three antiepileptics was determined, particularly with carbamazepine.

Simultaneously, the control threshold declined continuously. There existed an obvious negative correlation between experimental ADT and control ADT. Tolerance developed to the side-effects ataxia and hypermotility. The reasons might be sensitization processes due to conditioning of the animals (GOUDIE u. DEMELLWEEK 1986) or activation of inhibitory processes in the kindled focus and therewith an increased sensitivity to anticonvulsants (MACE and BURNHAM 1987).

The continuous decline of the control threshold was estimated as a phenomenon of overkindling. The development of tolerance might express a compensatory response of the animals due to the conditioning process. Seasonal influences are indicated by the progress of the plasmaconcentrations of phenobarbital and carbamazepine. The development of the plasmaconcentrations during the year ressumbled the course of the plasmaconcentrations of

the threshold experiments. A seasonal influence on the results of the experiments was not observed, because the influences of the kindling itself were obviously stronger.

Even the kindling experiments supply only preliminary results and must be followed by further examinations. However, one should take into account that in the kindling model already after a few stimulations (6) and without chronic administration of antiepileptics phenomena like tolerance, sensitization, and overkindling can occur.