

5. Zusammenfassung

Trotz großer Fortschritte in der Therapie epileptischer Anfälle des Menschen entwickelt sich bei ca. 70 % der Patienten mit komplex-fokalen Anfällen eine Therapieresistenz gegenüber der Wirkung von Standardantiepileptika. Eines der Antiepileptika der ersten Wahl zur Behandlung fokaler Anfälle ist Phenytoin. Das Kindling-Modell ist ein tierexperimentelles Modell für komplex-fokale Anfälle des Menschen, in dem durch tägliche elektrische Stimulationen der Amygdala oder anderer Strukturen des limbischen Systems zunächst fokale, später sekundär generalisierende epileptische Anfälle ausgelöst werden.

Durch die wiederholte Bestimmung der antikonvulsiven Wirkung von Phenytoin bei gekindelten Ratten lassen sich in diesem Modell Subgruppen von Ratten differenzieren, bei denen Phenytoin eine unterschiedliche Wirksamkeit auf die elektrische Krampfschwelle hat. Bei einer Gruppe von gekindelten Ratten, den Respondern, bewirkt Phenytoin wiederholt eine Erhöhung der Krampfschwelle um mind. ca. 70 % gegenüber der drei Tage zuvor bestimmten Kontrollschwelle, bei einer zweiten Gruppe, den Nonrespondern, bewirkt es wiederholt keine deutliche Schwellenerhöhung, und bei einer dritten Gruppe zeigt es variable Reaktionen. Auch andere häufig eingesetzte Antiepileptika weisen bei Phenytoin-Nonrespondern eine schlechtere Wirksamkeit auf als bei Respondern. Phenytoin-Nonresponder stellen eine seit langem benötigte Möglichkeit dar, die Pathogenese und pharmakologische Beeinflussbarkeit von pharmakotherapie-resistenten epileptischen Anfällen zu untersuchen.

Im Auszuchtstamm Wistar beträgt der Anteil an Respondern und Nonrespondern jeweils ca. 20 %, der Rest der Tiere zeigt variable Reaktionen auf Phenytoin. In der vorliegenden Arbeit wurden neben den Wistar-Ratten, zweite weit verbreitete Auszuchtstamm Sprague Dawley und die fünf Inzuchtstämme Lewis, Fischer 344, ACI, Wistar-Kyoto (WKY) und Brown Norway untersucht, um festzustellen, ob sich auch bei ihnen eine unterschiedliche Wirksamkeit von Phenytoin feststellen läßt. Außerdem bestand die Hoffnung, besonders unter den Inzuchtstämmen einen Rattenstamm zu finden, der aufgrund seiner größeren genetischen Homogenität zum überwiegenden Teil aus Nonrespondern besteht, um so den Einsatz von Phenytoin-resistenten Tieren für die Erprobung neuer Substanzen zu erleichtern. Dazu wurden die Tiere gekindelt und durch die drei- bis viermalige Bestimmung der antikonvulsiven Wirkung von Phenytoin auf ihre Krampfschwellen selektiert. Die einzelnen Rattenstämme unterschieden sich deutlich in

ihrer Empfindlichkeit gegenüber Phenytoin, was für die genetische Beeinflussung dieser Eigenschaft spricht. Tiere des Inzuchtstammes Fischer 344 sprachen am besten auf Phenytoin an, der Anteil der Responder betrug in diesem Inzuchtstamm 50 %. Lediglich im Inzuchtstamm Brown Norway ließ sich allerdings ein Nonresponderanteil ermitteln, er betrug 12 %. In den anderen untersuchten Rattenstämmen konnten keine Phenytoin-Nonresponder, aber einige Responder selektiert werden. In den Inzuchtstämmen WKY und ACI ließen sich nur variable Tiere feststellen.

Ferner zeigte der Vergleich der Kindling-Entwicklung der verschiedenen Rattenstämmen deutliche Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber den elektrischen Stimulationen, was auf eine genetische Beeinflussung der Epileptogenese hindeutet. Männliche Sprague Dawley-, Brown Norway-, und WKY-Ratten zeigten wesentlich schneller generalisierte Anfälle als Männchen der Rattenstämmen Wistar und Lewis.

Interessanterweise war die Dosis von 75 mg/kg Phenytoin vor dem Kindling-Prozess in der Lage, die Krampfschwelle männlicher Sprague Dawley-Ratten zu erhöhen. Sie beeinflusste die Anfallsschwere jedoch nicht signifikant und verlängerte die Nachentladungs- und Krampfdauer bei männlichen und weiblichen Sprague Dawley-Ratten. Bei voll-gekindelten Sprague Dawley-Ratten erhöhte dieselbe Dosis die Krampfschwelle nicht mehr und bei Sprague Dawley-Weibchen verringerte sie sich sogar im ersten Versuch mit 75 mg/kg nach dem Kindeln. Dies könnte dem vom Menschen und aus Experimenten bekannten prokonvulsiven Effekt hoher Phenytoindosen entsprechen. Eine Reduktion der Dosis auf 50 und 25 mg/kg führte zu deutlichen antikonvulsiven Effekten, was darauf schließen läßt, daß durch den Kindlingprozess die Empfindlichkeit der Ratten gegenüber Phenytoin gesteigert worden waren.

Von den in dieser Arbeit untersuchten Inzuchtstämmen eignen sich die Brown Norway-Ratten am besten zur Selektion Phenytoin-resistenter Tiere. Die deutlichen Unterschiede der Empfindlichkeit der verschiedenen Rattenstämmen gegenüber der antikonvulsiven Wirkung von Phenytoin könnten die weitere Untersuchung von Mechanismen ermöglichen, die der Entwicklung von Pharmakotherapieresistenz zu Grunde liegen.

Summary

The outbred strain Sprague Dawley and the inbred strains Lewis, Fischer 344, ACI, Wistar-Kyoto and Brown-Norway in the amygdala kindling model of the rat: characterization of kindling development and selection of phenytoin-resistant and non-resistant rats.

Sybille Maier

Despite considerable progress in the therapy of epileptic seizures about 70 percent of patients with complex partial seizures develop intractable epilepsy. Phenytoin is one of the drugs of first choice for treatment of human partial seizures. In the kindling model, an experimental animal model for human complex partial seizures, daily electrical stimulations of the amygdala or other limbic brain regions result in the development of focal, secondary generalizing seizures.

By repeated treatment with phenytoin, subgroups of rats with different response to the anticonvulsant effect of the drug can be selected. While some of the kindled rats show consistently increases of focal afterdischarge threshold (responder), others do never respond to the drug's effect and a third group shows variable effects in response to phenytoin. Interestingly the different drug response of phenytoin-responders and -nonresponders extends to other major antiepileptic drugs. Phenytoin nonresponders represent a unique resource for the investigation of mechanisms of drug resistance and for the development of new therapies.

About 20 % of rats of the outbred strain Wistar are responders and nonresponders, respectively, the remaining rats show variable responses to phenytoin. In the present study rats of the outbred strain Sprague Dawley and of five inbred strains, Lewis, Fischer 344, Wistar-Kyoto, ACI and Brown Norway, were selected for their response to phenytoin in order to look if also other strains show different susceptibility to the effects of phenytoin. Moreover there was the possibility to find a strain with increased frequency of drug resistance. For that purpose animals were kindled and the anticonvulsant effect of phenytoin was determined three to four times in each animal. The rat strains significantly differed in their susceptibility to phenytoin. These data suggest that the ability to respond to phenytoin is genetically influenced. Fischer 344 rats were most sensitive to the anticonvulsant effect of phenytoin. About 12 % of Brown Norway rats were phenytoin-nonresponders, while

none of the rats of the other examined rat strains consistently showed no response to phenytoin. All rats of the inbred strain Wistar-Kyoto and ACI showed variable effects in response to phenytoin.

Comparison of kindling acquisition of the different rat strains revealed significant differences of seizure susceptibility, indicating a genetical influence on epileptogenesis. Male Sprague Dawley, Brown Norway and Wistar-Kyoto rats kindled much faster than Wistar and Lewis rats.

Interestingly prior to the kindling procedure 75 mg/kg phenytoin increased the focal afterdischarge threshold (ADT) significantly in male Sprague Dawley rats, while seizure severity was not reduced and afterdischarge duration was prolonged in male and female Sprague Dawley rats. In fully kindled Sprague Dawley rats the same dose did not increase the ADT. In contrast, it was decreased in the first trial with female Sprague Dawley rats. This may be related to the convulsant effects of phenytoin in high dosages in experimental animal models and in humans. A reduction of phenytoin dosage (50 and 25 mg/kg) yielded better anticonvulsant effects, indicating that kindling possibly increases the sensitivity of the rats to phenytoin.

Of the examined inbred rat strains Brown Norway rats seemed to be best suited for obtaining nonresponders. The striking differences in susceptibility to the anticonvulsant effect of phenytoin between the different rat strains may be interesting for further examination of underlying mechanisms to the development of intractable epilepsy.