

## 6. Zusammenfassung

Amygdala-Kindling bei der Ratte stellt zur Zeit das beste Tiermodell für komplex-fokale Anfälle des Menschen dar. Da 70 - 80 % der Patienten mit diesem Anfallstyp therapieresistent sind, ist die Entwicklung neuer Antiepileptika, die insbesondere gegen komplex-fokale Anfälle wirksam sind, ein wesentliches Ziel der pharmakologischen Forschung im Bereich der Epilepsie.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen frühere Untersuchungen, daß gekindelte Ratten bezüglich der wiederholten Applikation von Phenytoin, einem Standardantiepileptikum gegen komplex-fokale Anfälle, unterschiedlich reagieren. Ein Teil der gekindelten Ratten zeigte konstant einen starken Anstieg der Nachentladungsschwelle (Responder), während ein anderer Teil nie einen solchen Anstieg der Schwelle zeigte (Nonresponder). Die meisten Tiere zeigten jedoch ein variables Verhalten gegenüber diesem Kriterium, d.h. in einem Versuch führte Phenytoin zu einem starken Anstieg der Nachentladungsschwelle, im nächsten wieder nicht (variable Responder). Da auch die meisten anderen Standardantiepileptika bei Phenytoin-Nonrespondern eine schlechtere Wirksamkeit als bei Respondern zeigen, stellen Phenytoin-Nonresponder bisher die beste Möglichkeit dar, die Wirksamkeit neuer Substanzen in einem Modell für pharmakoresistente komplex-fokale Anfälle zu untersuchen. Neben der Suche nach neuen wirksameren Antiepileptika gegen diese Form der nur schwer zu behandelbaren Anfallstypen kann die vergleichende Untersuchung der Responder und Nonresponder die Möglichkeit zulassen, die pathologischen Mechanismen, die der Pharmakoresistenz zugrunde liegen, zu untersuchen.

Die Einteilung gekindelter Ratten in pharmakoresistente und pharmakosensitive Tiere erfolgt aufgrund der wiederholten Phenytoin-Selektion. Phenytoin ist bei physiologischem pH-Wert nicht wasserlöslich und wird deshalb als stark alkalische Lösung intraperitoneal appliziert. Aufgrund des hohen pH-Wertes wird Phenytoin bei bis zu 10 % der Ratten unzureichend resorbiert. Zudem zeigen die Ratten Schmerzsymptome. Durch pharmakokinetische und antikonvulsive Untersuchungen

konnte gezeigt werden, daß Fosphenytoin das Standardantiepileptikum Phenytoin im Amygdala-Kindling-Modell substituieren kann. Da die Applikation von Fosphenytoin zudem keine Schmerzen bei den Versuchstieren hervorzurufen scheint und bei intraperitonealer Injektion seltener eine ungenügende Resorption als nach Phenytoin auftritt, stellt Fosphenytoin im Kindling-Modell eine Verbesserung zu Phenytoin dar.

Weibliche Wistar-Ratten, die aufgrund des Selektionsprozesses als Responder bzw. Nonresponder eingeteilt wurden, zeigten vor und nach dem Kindlingsprozeß eine unterschiedliche Sensitivität gegenüber Phenytoin. Ratten, die vor Kindling einen deutlichen Anstieg der Nachentladungsschwelle zeigten, wurden aufgrund des Selektionsergebnisses nach dem Kindeln als Nonresponder eingestuft, während die späteren Responder und variablen Responder vor Kindling keinen oder nur einen geringen Anstieg der Nachentladungsschwelle zeigten. Die Empfindlichkeit gegenüber der Substanz war somit durch den Kindlingsprozeß grundlegend verändert worden. Der Grund für die sich entwickelnde Pharmakoresistenz ist im Augenblick noch unklar, beruht aber vermutlich auf physiologischen Veränderungen im epileptischen Fokus. Solche Kindling-induzierten Veränderungen können erst in weiteren elektrophysiologischen und neurochemischen Untersuchungen geklärt werden.

Zur weiteren Validierung des Kindling-Modells als Modell für therapieresistente komplex-fokale Anfälle sind die antikonvulsiven Effekte von neuen Antiepileptika, deren klinische Wirkung vor kurzem nachgewiesen wurde, untersucht worden. Zunächst wurde für Lamotrigin (10 und 20 mg/kg), Felbamat (50 und 100 mg/kg), Levetiracetam (50 und 100 mg/kg), Gabapentin (60 und 120 mg/kg) und Topiramamat (20 - 160 mg/kg) die antikonvulsive Wirkung in den genannten Dosierungen bei voll gekindelten Ratten (variablen Respondern) nachgewiesen bzw. bestätigt. Bei diesen Dosierungen erhöhten alle untersuchten neuen Antiepileptika die Nachentladungsschwelle in Phenytoin-Respondern signifikant. Auch bei Phenytoin-Nonrespondern wurde mit Ausnahme von Felbamat (50 mg/kg) und Topiramamat 40 mg/kg und 80 mg/kg (vier und eine Stunde Vorbehandlungszeit) die

Nachentladungsschwelle signifikant erhöht; der Effekt war aber bei Respondern deutlich stärker als bei Nonrespondern. Nach Lamotrigin, Felbamat und Topiramate zeigten die Ratten bei erhöhter Krampfschwelle generalisierte Anfälle, so daß die Substanzen die Krampfempfindlichkeit, nicht aber die Krampfausbreitung, zu beeinflussen scheinen. Nach Levetiracetam und Gabapentin wurden bei der Nachentladungsschwelle nur fokale Anfälle ausgelöst; beide Substanzen inhibieren vermutlich die Krampfausbreitung, haben aber nur geringen Einfluß auf die Krampfempfindlichkeit. Topiramate zeigte inkonsistente Ergebnisse bezüglich der Nachentladungsschwelle. Möglicherweise besteht wie für Phenytoin bei gekindeten Ratten eine individuell unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber diesem Antiepileptikum.

## Summary

### **Anticonvulsant effects of new antiepileptic drugs in a model of pharmacoresistant partial epilepsy.**

**Elke Reißmüller**

At present, amygdala kindling in the rat is the best animal model of human complex partial seizures. Since about 70 - 80% of the epileptic patients with this seizure type are resistant to drug therapy, the development of new antiepileptic drugs for treatment of complex partial seizures is one of the major goals of drug discovery in experimental epilepsy research.

The present experiments confirm previous studies that kindled rats exhibit an individually different anticonvulsant response to repeated application of the standard antiepileptic drug phenytoin. Some rats consistently respond to phenytoin with a strong increase of the afterdischarge threshold (responders), whereas others never show such an increase (nonresponders). Most animals exhibit a variable response, i.e., phenytoin application results in a strong increase of the afterdischarge threshold in one experiment, while no such increase was observed in the next experiment (variable responders). Since most standard antiepileptic drugs have a lower anticonvulsant efficacy in phenytoin-nonresponders compared to responders, nonresponders are a unique possibility to prove the anticonvulsant efficacy of new drugs in this model of complex partial seizures. Additionally, the comparison of responders and nonresponders can offer the opportunity to study the pathological mechanisms that lead to pharmacoresistance.

The selection of kindled rats in pharmacoresistant and pharmacosensitive animals results from repeated experiments with phenytoin. Phenytoin is almost not soluble in water at physiological pH and has to be intraperitoneally injected as a very basic solution. Due to the high pH, phenytoin is not sufficiently resorbed in up to 10% of rats. Moreover, the rats show signs of pain after injection. In pharmacokinetic and anticonvulsant studies, I showed that fosphenytoin can substitute the standard

antiepileptic drug phenytoin in amygdala kindling. Fosphenytoin injection caused no visible pain in the animals and led to fewer experiments with insufficient resorption compared to phenytoin injection. Thus, the use of fosphenytoin provides an advantage to phenytoin in the kindling model.

Female Wistar rats which had been selected as phenytoin responders and nonresponders exhibit a different response to phenytoin before and after kindling. Rats that showed a large increase of afterdischarge threshold before kindling were selected as nonresponders after kindling, while the fully kindled responders and variable responders showed little or no increase of the afterdischarge threshold before kindling. Therefore, the sensitivity for phenytoin was altered during the kindling acquisition. The reason for the development of pharmacoresistance is not clear at the moment, but may result from physiological changes in the epileptic focus. These kindling-induced changes have to be investigated in subsequent electrophysiological and neurochemical studies.

In order to further characterize amygdala kindling as a model of drug resistant complex partial seizures, the anticonvulsant effects of new antiepileptic drugs which proved successful in clinical trials were investigated. In a first set of experiments, the anticonvulsant efficacy of lamotrigine (10 and 20 mg/kg), felbamate (50 and 100 mg/kg), levetiracetam (50 and 100 mg/kg), gabapentin (60 and 120 mg/kg) and topiramate (20 - 160 mg/kg) was confirmed in fully kindled variable responders. At these doses, all drugs increased the afterdischarge threshold in phenytoin responders significantly. Except for felbamate at 50 mg/kg and topiramate at 40 and 80 mg/kg, all drugs increased the ADT in nonresponders, too. However, the efficacy of all drugs was higher in responders. After application of lamotrigine, felbamate and topiramate, all rats showed generalized seizures at increased seizure threshold suggesting that these drugs change the seizure susceptibility but not the spread of seizure activity. After application of levetiracetam and gabapentin, only focal seizures were elicited at threshold. Both of these drugs possibly inhibit the spread of seizure activity, but have only little effect on the seizure susceptibility. Topiramate had

inconsistent effects on the afterdischarge threshold. Kindled rats probably have an individually different sensitivity for this antiepileptic drug, like for phenytoin.