

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin  
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität  
München, Standort Innenstadt  
Direktor: Prof. Dr. P. Bartenstein

[<sup>123</sup>I]ADAM: Etablierung eines Mikro-SPECT-Systems  
für die Darstellung eines innovativen Radioliganden zur  
Untersuchung des serotonergen Systems sowie dessen  
erste präklinische Evaluierung am Menschen

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

vorgelegt von  
Marcus Richard Makowski  
aus  
Basel

2007

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

**Berichterstatter:                      Priv. Doz. Dr. Stefan Dresel**

**Mitberichterstatter:                  Prof. Dr. R. Rupprecht  
   Priv. Doz. Dr. Th. Mayer**

**Dekan:                                      Prof. Dr. med. D. Reinhardt**

**Tag der mündlichen Prüfung:    26.04.2007**

# Inhaltsverzeichnis

---

1. EINLEITUNG	7
2. ÜBERBLICK ÜBER DAS SEROTONERGE SYSTEM	10
<b>2.1. Prä- und postsynaptisches serotonerges System</b>	<b>10</b>
2.1.1. Synthese, Abbau und Funktion des Neurotransmitters Serotonin	10
2.1.2. Lokalisation des serotonergen Systems	12
2.1.3. Projektionen des serotonergen Systems	13
2.1.4. Serotonerge Rezeptoren im ZNS	14
<b>2.2. Erkrankungen des serotonergen Systems</b>	<b>15</b>
2.2.1. Allgemeine Aspekte	15
2.2.2. Depressives Syndrom	15
2.2.2.1. Klinik des depressiven Syndroms	15
2.2.2.2. Serotonin und Depression	16
2.2.2.3. Post-mortem-Studien bei depressivem Syndrom	17
2.2.2.4. Liquor- und Blutuntersuchungen bei depressivem Syndrom	18
2.2.2.5. Therapie der Depression	19
2.2.3. Fibromyalgie	20
2.2.3.1. Klinik der Fibromyalgie	20
2.2.3.2. Endokrinologische Veränderungen bei Fibromyalgie	21
<b>2.3. Bildgebung des serotonergen Systems</b>	<b>22</b>
2.3.1. Monoaminerges System bei Kleintieren	22
2.3.2. Erkrankungen des Menschen	23
2.3.2.1. Depressives Syndrom	23
2.3.2.2. Fibromyalgie	26
3. DARSTELLUNG DES SEROTONERGEN SYSTEMS	27
<b>3.1. Grundlagen der tomographischen Gamma-Kamera-Bildgebung</b>	<b>27</b>
3.1.1. Prinzip der Szintigraphie	27
3.1.2. Gamma-Kamera	28
<b>3.2. Grundlagen der Mikro-SPECT-Bildgebung</b>	<b>29</b>
3.2.1. Prinzip der Pinhole-Kollimatoren	29
3.2.2. Bildgebung bei Kleintieren	30
<b>3.3. Grundlage der SPECT-Bildgebung am Menschen</b>	<b>31</b>
3.3.1. Prinzip der Single-Photon-Emissions-Computertomographie (SPECT)	31
3.3.2. Bildrekonstruktion	32
<b>3.4. Darstellung des serotonergen Systems</b>	<b>33</b>
3.4.1. Radiopharmaka für die Serotonintransporter-Darstellung	33
3.4.2. Entwicklung von [ <sup>123</sup> I]ADAM	35

<b>4. ZIELE DER VORLIEGENDEN ARBEIT</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Etablierung eines funktionsfähigen Mikro-SPECT-Systems</b>	<b>38</b>
4.1.1. Phantomexperimente	38
4.1.2. Tierstudien	38
<b>4.2. Darstellung des serotonergen Systems mit [<sup>123</sup>I]ADAM am Menschen</b>	<b>40</b>
4.2.1. Probanden und Patienten	40
4.2.1.1. Gesunde Probanden	40
4.2.1.2. Patienten mit depressivem Syndrom	40
4.2.1.3. Patienten mit Fibromyalgie	40
<b>5. MATERIAL UND METHODIK</b>	<b>41</b>
<b>5.1. Pharmazeutika und Radiomarkierung</b>	<b>41</b>
5.1.1. [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT und [ <sup>123</sup> I]IPT	41
5.1.2. [ <sup>123</sup> I]ADAM	42
5.1.3. Sonstige pharmakologisch wirksame Substanzen	43
<b>5.2. Mikro-SPECT</b>	<b>44</b>
5.2.1. Aufbau der Pinhole-Kollimatoren	44
5.2.2. Bildakquisition und Auswertung	45
5.2.3. Rekonstruktion	46
5.2.4. Phantomexperimente	48
5.2.4.1. Fünf-Punkt-Phantom	48
5.2.4.2. Kapillar-Phantom	48
5.2.4.3. Struktur-Phantom	49
5.2.5. Tierstudien	50
5.2.5.1. Durchführung der Tierexperimente	50
5.2.5.2. [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT und [ <sup>123</sup> I]IPT an Ratten	51
5.2.5.3. [ <sup>123</sup> I]ADAM an Ratten	51
<b>5.3. SPECT</b>	<b>52</b>
5.3.1. Bildakquisition und Auswertung	52
5.3.1.1. SPECT-Akquisition	52
5.3.1.2. Bildrekonstruktion und -nachbearbeitung	52
5.3.1.3. Regions of Interest	53
5.3.2. Probanden und Patienten	54
5.3.2.1. [ <sup>123</sup> I]ADAM bei gesunden Probanden	54
5.3.2.1.1. Untersuchungen zur Kinetik	54
5.3.2.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit	54
5.3.2.2. [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom	55
5.3.2.3. [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie	55
5.3.2.3.1. Unbehandelte Patienten	55
5.3.2.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropicsetron	55
<b>5.4. Auswertung der spezifischen Bindung der Radioliganden</b>	<b>56</b>
<b>5.5. Statistische Analyse</b>	<b>57</b>

6. ERGEBNISSE	58
<b>6.1. Mikro-SPECT</b>	<b>58</b>
6.1.1. Phantomexperimente	58
6.1.1.1. Fünf-Punkt-Phantom	58
6.1.1.2. Kapillar-Phantom	59
6.1.1.3. Struktur-Phantom	61
6.1.2. Tierstudien	64
6.1.2.1. Experimente mit [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT und [ <sup>123</sup> I]IPT an Ratten	64
6.1.2.1.1. Kinetikstudien	64
6.1.2.1.2. Darstellung des Dopamintransporters nach Methylphenidatgabe	66
6.1.2.2. [ <sup>123</sup> I]ADAM	68
6.1.2.2.1. Kinetikstudie	68
6.1.2.2.2. Darstellung des Serotonintransporters nach Fluoxetingabe	70
<b>6.2. SPECT</b>	<b>72</b>
6.2.1. Probanden und Patienten	72
6.2.1.1. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei gesunden Probanden	72
6.2.1.1.1. Untersuchungen zur Kinetik von [ <sup>123</sup> I]ADAM	72
6.2.1.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM	75
6.2.1.2. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom	76
6.2.1.3. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie	77
6.2.1.3.1. Unbehandelte Patienten	77
6.2.1.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropicsetron	78
7. DISKUSSION	79
<b>7.1. Mikro-SPECT</b>	<b>79</b>
7.1.1. Phantomexperimente	80
7.1.2. Tierstudien	83
<b>7.2. SPECT</b>	<b>87</b>
7.2.1. Probanden und Patienten	87
7.2.1.1. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei gesunden Probanden	87
7.2.1.1.1. Untersuchungen zur Kinetik von [ <sup>123</sup> I]ADAM	87
7.2.1.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM	89
7.2.1.2. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom	90
7.2.1.3. Darstellung des Serotonintransporters mittels [ <sup>123</sup> I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie	93
7.2.1.3.1. Unbehandelte Patienten	93
7.2.1.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropicsetron	94
8. ZUSAMMENFASSUNG	95

LITERATURVERZEICHNIS	99
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	109
TABELLENVERZEICHNIS	113
ABKÜRZUNGEN	114
DANKSAGUNG	116
LEBENS LAUF	117

# 1. Einleitung

Als Basis für die neurologische und psychiatrische Diagnostik dienen stets die intensive klinische Untersuchung und die vom behandelnden Arzt gesammelten klinischen Eindrücke. Zusätzlich kann jedoch der Einsatz von bildgebenden Verfahren und anderen diagnostischen Maßnahmen sinnvoll sein, sofern sich dadurch zusätzliche Informationen zur Entscheidungsfindung erarbeiten lassen.

Bildgebende Verfahren ergänzen die Diagnosefindung des klinisch tätigen Arztes und erhöhen die differentialdiagnostische Sicherheit. Des Weiteren kann der Erfolg einer medikamentösen Therapie noch vor den klinisch sichtbaren Veränderungen erkannt und objektiviert werden. Infolgedessen kann dem Patienten eine schnellere und effektivere Behandlung zuteil werden. Voraussetzung für die Anwendung solcher bildgebenden Verfahren sollte sowohl die geringe zeitliche als auch gesundheitliche Belastung des Untersuchten sein.

Gerade heutzutage wird der Faktor der Wirtschaftlichkeit immer mehr in den Vordergrund gerückt werden und auch in Zukunft eine wichtige Rolle spielen. Somit ist es elementar für die Durchsetzung einer solchen Methode, dass sie bei möglichst kleinem finanziellen Aufwand eine maximal sichere Diagnose liefert.

Nicht zu vernachlässigen ist auch die Tatsache, dass die Methode flächendeckend einer großen Zahl von Patienten zugänglich sein muss und nicht nur wenigen in universitären Zentren zugänglich gemacht wird.

In den letzten 20 Jahren hat sich im psychiatrischen und neurologischen Bereich das Spektrum der klinisch relevanten bildgebenden Verfahren kontinuierlich vergrößert. Wichtig zu erwähnen sind hierbei die Dopplersonographie, die Computertomographie (CT), die Magnetresonanztomographie (MRT), die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) (68) und die Single-Photon-Emissions-Computer-Tomographie (SPECT).

CT und MRT (abgesehen von der funktionellen MRT) werden heutzutage vor allem zur Abbildung von morphologischen Strukturen des Gehirns eingesetzt und stellen im Wesentlichen statische Verfahren dar, welche nur anatomische Bilder eines gewissen Zeitpunkts liefern.

Die PET und SPECT hingegen stellen in erster Linie funktionell bildgebende Verfahren dar, die pathophysiologische und pathobiochemische Stoffwechselveränderungen auch ohne morphologisches Korrelat darstellen können.

Die PET stellt ein sehr vielseitig verwendbares Verfahren dar, da prinzipiell fast alle Substanzen mit den natürlich Positronen emittierenden Radionukleotiden  $^{11}\text{C}$  und  $^{18}\text{F}$  markiert

werden können. Ein großer Nachteil ist jedoch die recht kurze Halbwertszeit dieser Radionuklide (20 min bzw. 118 min). Dadurch wird ein Zyklotron in der Nähe des PET-Scanners benötigt.

Den PET-fähigen Radiopharmazeutika kommt aus den genannten Gründen teilweise nur eine entwicklungsstechnische Vorreiterrolle zu, welche dann im alltäglichen Gebrauch durch SPECT Radiopharmazeutika ersetzt werden.

Die SPECT dagegen ist ein flächendeckend einsetzbares Verfahren, das in annähernd allen Krankenhäusern wie auch in vielen radiologischen und nuklearmedizinischen Praxen verfügbar ist. Ein entscheidender Nachteil der SPECT ist jedoch die dem PET unterlegene geringere Zählrate und die im Vergleich verminderte Auflösung.

$[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  ist ein innovatives an  $^{123}\text{I}$  gekoppeltes Radiopharmakon, welches zur selektiven Untersuchung des Serotonintransportes im ZNS mittels SPECT genutzt werden kann.

Serotonin ist ein essentieller Neurotransmitter im menschlichen Gehirn, welcher großen Einfluss auf die Regulation des Monoaminstoffwechsels hat. Der Serotonintransporter (SERT) reguliert den Rücktransport des Serotonins aus dem synaptischen Spalt in die Nervenendigung. Serotonin fungiert neben seiner Rolle als Neurotransmitter im Zentralnervensystem zusätzlich als Transmitter bei der Thermoregulation, der Blut-Glukose-Konzentrationssteuerung, den kardiovaskulären und neuroendokrinen Funktionen, der Nahrungsaufnahme und dem Sexualverhalten. Bei zahlreichen pathologischen Veränderungen des Gehirns, wie zum Beispiel der Depression oder der Manie, kommt es zu Veränderungen der Dichte des Serotonintransporters und des Serotoninspiegels im ZNS. Die exakten biologischen Mechanismen dieser serotonergen Störungen sind bislang jedoch nicht ausreichend untersucht und verstanden.

Aufgrund dieser Tatsache ergibt sich potentiell eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten für  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$ . Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Teil davon untersucht und entwickelt.

Ziel der hier vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung und Charakterisierung eines neuen und innovativen Radiopharmazeutikums ( $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$ ) zur Darstellung des präsynaptischen Teils des serotonergen Systems, dem so genannten Serotonintransporter (SERT). Dies sowohl tierexperimentell als auch in ersten klinischen Anwendungen.

Dabei waren die folgenden Punkte von besonderem Interesse:



- Etablierung eines Mikro-SPECT-Systems zur Darstellung des monoaminergen Systems bei Kleintieren mit Hilfe von
  - Phantommessungen zur Herausarbeitung der physikalischen Leistungsgrenzen
  - [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT und [<sup>123</sup>I]IPT, für die Darstellung des Dopamintransporters (DAT) in Ratten, zur Bestimmung der optimalen Aufnahmeparameter
- Charakterisierung der in vivo Bindung des innovativen Radioliganden [<sup>123</sup>I]ADAM an den Serotonintransporter (SERT) in Ratten mit Hilfe des Mikro-SPECT-Systems
- Untersuchung der Kinetik und Altersabhängigkeit bei gesunden Probanden
- In vivo Messung des SERT bei unbehandelten Patienten mit Depression
- Darstellung des SERT bei Patienten mit Fibromyalgie vor und nach Behandlung mit dem 5-HT<sub>3</sub> Rezeptorantagonisten Tropicsetron

## 2. Überblick über das serotonerge System

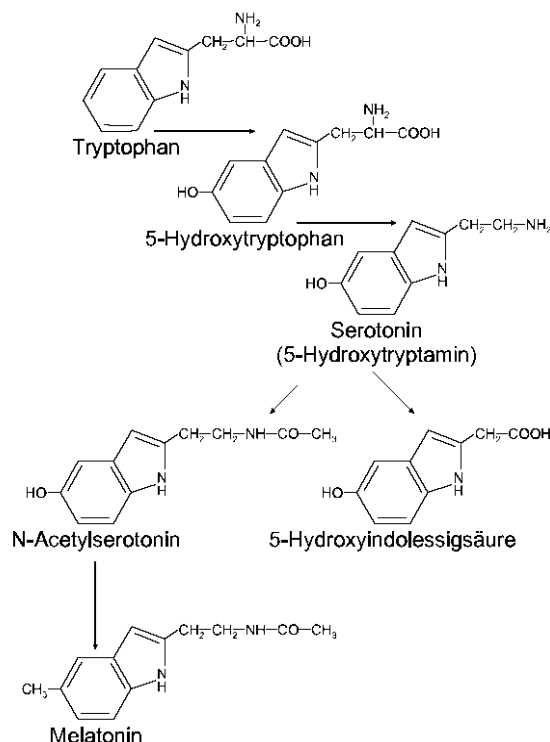
### 2.1. Prä- und postsynaptisches serotonerges System

#### 2.1.1. Synthese, Abbau und Funktion des Neurotransmitters Serotonin

Bereits Mitte des 19. Jahrhunderts war bekannt, dass das Blutserum eine Substanz enthält, welche konstriktorisch auf die glatte Muskulatur wirkt und somit den Blutdruck erhöht. Hierdurch lässt sich der Name Serotonin ableiten (lat.: Serum, tonisch). Erst 1948 jedoch konnte 5-Hydroxytryptamin (5-HT, Serotonin) als verantwortliche Substanz identifiziert werden (148).

98% des gesamten Serotonins befinden sich in Thrombozyten, Mastzellen und den enterochromaffinen Zellen des Magen-Darm-Trakts und nur 1 bis 2% im zentralen Nervensystem (125).

Die essentielle Aminosäure L-Tryptophan stellt die Ausgangssubstanz für die Serotoninsynthese dar. Die exakten Schritte sind in Abbildung 1 dargestellt.



**Abbildung 1:** Diese Abbildung stellt die Synthese von Serotonin im Körper dar. Ausgangsstoff ist Tryptophan. Über einen Zwischenschritt entsteht Serotonin. Abgebaut wird es zu 5-Hydroxyindoleessigsäure. Im Corpus Pineale stellt Serotonin die Ausgangssubstanz für die Synthese von Melatonin dar.

Nur circa 1% des mit der Nahrung in den Körper aufgenommenen Tryptophans wird vom Körper in 5-HT umgewandelt. Die plasmamembrangebundene Tryptophanhydroxylase ist hierfür verantwortlich. Der Abbau des übrigen Tryptophans findet in der Leber statt.

Unter physiologischen Bedingungen ist die Syntheseleistung des Körpers für Serotonin nicht gesättigt, so dass durch erhöhte Tryptophanzufuhr die zerebrale Serotoninsynthese kurzfristig gesteigert werden kann (125).

Mittels eines Carriers gelangt L-Tryptophan durch die Blut-Hirn-Schranke und die Plasmamembran des Neurons. Im ZNS wird es als 5-HT in Vesikeln der terminalen serotonergen Nervenzellen gespeichert. Abhängig von der Ionenkonzentration (Kalzium-, Natriumionen) wird Serotonin in den synaptischen Spalt freigesetzt.

Die Entfernung des freien Serotonins aus dem synaptischen Spalt durch Wiederaufnahme ist einer der wichtigsten Mechanismen für die Regulation des serotonergen Tonus. Diese Wiederaufnahme des Serotonins wird durch ein transmembranöses Transportersystem gewährleistet, dem Serotonintransporter (SERT). Diesem Transportersystem kommt durch die Regulation der Konzentration des Serotonins im synaptischen Spalt eine sehr wichtige Rolle zu. Es bestimmt, wie viel freies Serotonin zur Bindung an die postsynaptischen Serotoninrezeptoren zur Verfügung steht und somit, ab wann es zu einer Signaltransduktion kommt. Viele Medikamente und Erkrankungen induzieren kompensatorisch Veränderungen an diesem Transporter (77).

## 2.1.2. Lokalisation des serotonergen Systems

Hauptlokalisationsort der serotonergen Neurone im ZNS sind die im Hirnstamm gelegenen Raphekerne sowie die angrenzende Formatio reticularis, die circa 20% der serotonergen Neurone enthält.

Zwei Raphekernzentren mit insgesamt neun Gruppen von serotoninhaltigen Perikarya (B1-B9) werden unterschieden: Zum einen eine kraniale Zellgruppe, die sich im Pons und Mesencephalon befindet, und zum anderen eine kaudale Zellgruppe, die in der Medulla oblongata gelegen ist (42).

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die exakte Aufteilung der Zentren.

Raphekerne	Lokalisation
Kraniale Zellgruppe	
Nucleus raphe dorsalis	Mesencephalon, Pons
Hauptkern	Mesencephalon
medialer Anteil	dorsomedial des MLF, interfaszikular
lateraler Anteil	supratrochlear
Kaudale Portion	Pons, dorsal des MLF
Nucleus linearis caudalis	Mesencephalon
Nucleus raphe medianus	Mesencephalon
Hauptkern	Pons (rostral)
kaudale Portion	Pons (kaudal)
Kaudale Zellgruppe	
Nucleus raphe magnus	Pons (kaudal), Medulla oblongata (rostral)
Nucleus raphe obscures	Medulla oblongata
Nucleus raphe pallidus	Medulla oblongata

**Tabelle 1: Diese Tabelle zeigt die Klassifikation und Lage der Raphekerne bei Säugetieren (MLF: Mediolateraler Fasciculus).**

### 2.1.3. Projektionen des serotonergen Systems

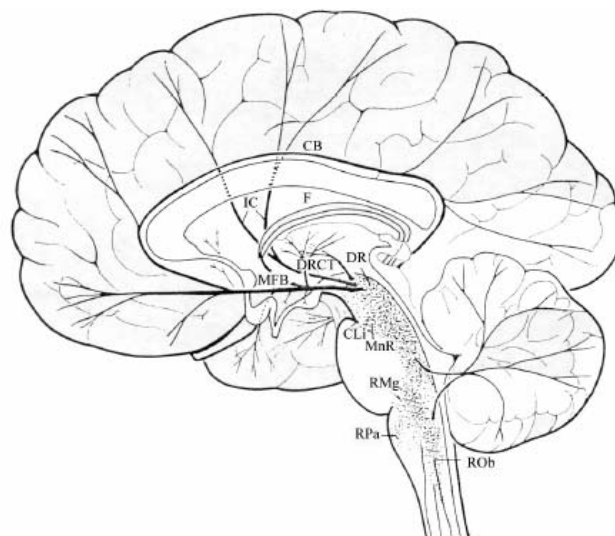
Es werden ein kraniales und ein kaudales Zentrum unterschieden. Von dort aus strahlen Axone in die verschiedenen Hirnregionen.

Die Axone der kranialen Zellgruppen ziehen in erster Linie in die telodiencephalen Regionen und in den Hirnstamm. Zum Hirnstamm werden vor allem die Formatio reticularis, das Zentrale Höhlengrau, das Tuberkulum und Bulbus olfaktorium, die Amygdala, der Hippocampus, der Thalamus und Hypothalamus, die Area präoptica, das Septum und der Neocortex gezählt. Diese Verknüpfungen spielen eine zentrale Rolle bei der Beeinflussung des Tonus der Rumpf- und Extremitätenmuskulatur und damit der Körperhaltung sowie bei wichtigen vegetativen Funktionen.

Die Axone, die von der kaudalen Raphekerne ausgehen, ziehen zum Rückenmark, zu den Hirnstammkernen und ins Kleinhirn (70). Dabei scheinen Kollateralprojektionen zu Rückenmark und Hirnstamm einen Einfluss auf kardiovaskuläre, respiratorische und skelettmotorische Funktionen auszuüben. Außerdem sind diese Kerne an der nozizeptiven Informationsverarbeitung, der Schmerzmodulation und der Thermoregulation beteiligt.

Die niedrigste Dichte serotonerger Neurone wird in den motorischen Regionen des Frontalhirns und im Cerebellum postuliert (58).

Die serotonergen Projektionen der Raphekerne sind so ausgeprägt, dass praktisch jede Zelle des ZNS in direkter Nachbarschaft zu einer serotonergen Faser liegt. In der folgenden Abbildung sind die Verläufe dargestellt.



**Abbildung 2:** Dargestellt ist die mediosagittale Ebene des humanen Gehirns mit Lage der serotonergen Raphekerne und den aufsteigenden Hauptbahnen der 5-HT Projektion (CB: Cingulum; Cli: Ncl. Linearis caudalis; DR: Nucl. Raphe dorsalis; DRCT: kortikaler Trakt des DRN; F: Fornix; IC: Capsula interna; MFB: mediales Vorderhirnbündel; MnR: Nucl. Raphe magnus; Rob: Ncl. Raphe obscurus; Rpa: Nucl. Raphe pallidus). Abbildung nach (17).

### 2.1.4. Serotonerge Rezeptoren im ZNS

Durch die Anwendung von DNA-Sequenzen und pharmakologischen Profilen wurden bis heute sieben Serotonin-Rezeptorklassen und -subklassen differenziert (24, 78).

Während bei den 5-HT<sub>1,2,4</sub> Rezeptoren die Signaltransduktion über ein G-Protein gesteuertes Second-Messenger-System mittels Adenylatcyclat oder Inositoltriphosphat vermittelt wird, erfolgt bei 5-HT<sub>3</sub> Rezeptoren die Reizweiterleitung über ligandengesteuerte Ionenkanäle. In der folgenden Tabelle werden die einzelnen Rezeptorsubklassen, deren Kopplungsmechanismen, Vorkommen und Wirkung kurz dargestellt (58).

Name	Kopplung	Vorkommen	Wirkung
<b>5-HT<sub>1A</sub></b>	G-Protein Adenylatcyclase	Raphekerne, Hirnstamm (somatodendritische Autorezeptoren)	Hemmung der Entladungsfrequenz der 5-HT Neurone --> Anxiolyse, Blutdrucksenkung
<b>5-HT<sub>1B</sub></b>	G-Protein Adenylatcyclase	gesamtes ZNS; Koronarien; Meningen  (präsynaptische Autorezeptoren)	Hemmung der 5-HT Freisetzung --> Beruhigung, Vasokonstriktion
<b>5-HT<sub>1D</sub></b>	G-Protein Adenylatcyclase	Sensorische Nervenendigung der Meningen  (präsynaptische Autorezeptoren)	Hemmung der Freisetzung von Neuropeptiden (SP, CRGP) --> Schmerzhemmung Senkung Sympatikustonus
<b>5-HT<sub>2A</sub></b>	G-Protein Phospholipase C	Gefäßmuskulatur; Thrombozyten	Psychotrope Wirkung; Vasokonstriktion
<b>5-HT<sub>2B</sub></b>	G-Protein Phospholipase C	Gefäßendothelien	Freisetzung NO --> Vasodilation
<b>5-HT<sub>3</sub></b>	Ligandengesteuerter Ionenkanal Natrium/Kalzium Ionen	Endigung afferenter Vagusfasern im Darm-->Brechzentrum	Depolarisierung Vagus; afferenter Schenkel Brechreflex
<b>5-HT<sub>4</sub></b>	G-Protein Adenylatcyclase	Endigung efferenter Vagusfasern im Darm	Acetylcholinfreisetzung --> Erhöhte Motilität, Propulsion

**Tabelle 2: Dargestellt sind die einzelnen 5-HT Rezeptorsubklassen mit Kopplung, Vorkommen und ihrer Wirkung.**

## **2.2. Erkrankungen des serotonergen Systems**

### **2.2.1. Allgemeine Aspekte**

Funktionelle Veränderungen oder Ausfälle des serotonergen Systems führen beim Menschen sowie beim Tier zu schwerwiegenden Störungen. Es wurde eine Beteiligung bei Schwankungen der Gemütslage (63), bei Angstzuständen (25) sowie bei Aggression (164) nachgewiesen.

Des Weiteren scheint das serotonerge System auch bei der neuronalen Entwicklung (105), bei der Thermoregulation (54), der motorischen Regulation (87) und dem Schmerzempfinden eine wichtige Rolle zu spielen (173).

Eine Dysregulation des serotonergen Systems konnte bei verschiedenen Erkrankungen wie schizophrenen Störungen (1), Essstörungen (88) und vor allem depressiven Störungen (36, 129, 167) nachgewiesen werden.

### **2.2.2. Depressives Syndrom**

#### **2.2.2.1. Klinik des depressiven Syndroms**

Im Rahmen der europäischen Depres-Studie (108) wurde mit einer Punkt-Prävalenz von 7% und einer 6-Monats-Prävalenz von 17% die große Bedeutung depressiver Erkrankungen in der europäischen Bevölkerung verdeutlicht.

Bezüglich ihres quantitativen Stellenwerts in der Bevölkerung ist sie mit den großen internistischen Erkrankungen, wie KHK, DM und Rheuma, zu vergleichen. Diese Ergebnisse sowie die dadurch entstehenden hohen Kosten für die Gesellschaft wurden von der international angelegten Global-Burden-of-Disease-Studie belegt (90, 136).

Die offizielle Lebenszeitsuizidmortalität bei dieser Erkrankung beträgt 15%. Bezieht man die nicht erfassten Suizide ein, würde sich wohl noch eine viel höhere Zahl ergeben (161).

Das Leitsymptom der Depression ist die depressive Verstimmung. Dieser Zustand wird als ein Gefühl der Gefühllosigkeit beschrieben. Die Patienten klagen über die Unfähigkeit, sich zu freuen oder Interesse an irgendetwas zu zeigen. Die Antriebslosigkeit ist das am zweithäufigsten beschriebene Symptom. Sie kann so weit führen, dass der Patient in einem Zustand der absoluten Passivität verharrt. Nicht nur die Psyche, sondern auch das Denken wird von der Depression beeinflusst. Patienten berichten von der so genannten

„Denkhemmung“. Da dieser Zustand oft mit einem geistigen Abbau verwechselt wird, ist er auch unter dem Begriff der depressiven Pseudodemenz bekannt.

Zu den vegetativen Symptomen der Depression zählen vor allem Schlafstörungen, Appetitlosigkeit und Verdauungsstörungen.

Des Weiteren wird die Depression noch mit einigen anderen Erkrankungen, wie Angst-, Panik-, Zwangserkrankungen (45, 134), Essstörungen (28) sowie Drogen-, Alkohol- und Medikamentenabhängigkeit (37, 39), in Verbindung gebracht.

#### **2.2.2.2. Serotonin und Depression**

Bereits Anfang der 60er Jahre stellte sich heraus, dass Medikamente, die den Monoaminhaushalt im Gehirn verändern, antidepressiv wirken können. Zum Beispiel hemmt das trizyklische Antidepressivum Imipramin die präsynaptische Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin und ist ein klinisch eingesetztes Antidepressivum (29). Aufgrund dieser Beobachtungen wurde die Katecholaminmangelhypothese (158) formuliert, welche einen Mangel an Katecholaminen im Hirnstoffwechsel als Ursache der Depression postuliert. Diese These wird bis heute weiterentwickelt und verfeinert (32, 38, 44).

Durch die Arbeiten von Maes und Meltzer, die die Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte zusammenfassten, wurde diese These konkretisiert (115). Hierbei formulierten die Autoren im Wesentlichen drei Möglichkeiten, die den Zusammenhang zwischen Serotonin und der Depression erklären könnten.

Die erste Hypothese besagt, dass eine Störung der serotonergen Aktivität im Gehirn die Ursache für die Depression sei.

Die zweite Theorie postuliert, dass die Vulnerabilität des serotonergen Systems im Laufe des Lebens zunimmt. Hiermit wäre in erster Linie das vermehrte Auftreten der depressiven Störung im höheren Alter zu erklären.

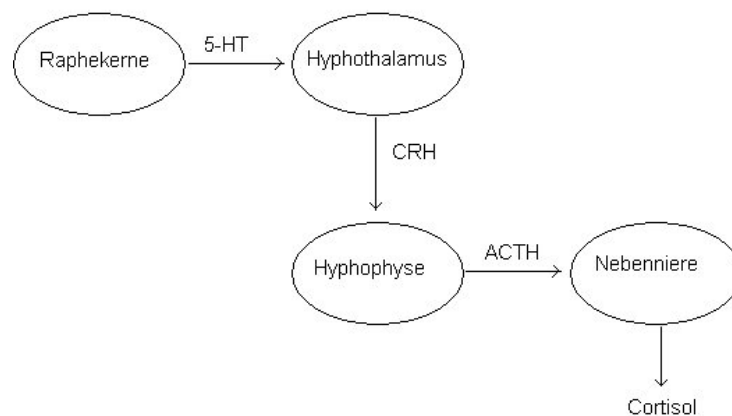
Die letzte historische und zum Teil schon widerlegte These beschreibt, dass eine erhöhte Aktivität des serotonergen Tonus die Vulnerabilität für das Entstehen einer Depression erhöht. Belegt haben Maes und Meltzer diese Thesen durch die folgenden Beobachtungen.

Zum einen führen Störungen der serotonergen Aktivität zu den klinischen Symptomen der Depression sowie zu Ess- und Schlafstörungen. Diese können zu erhöhter Suizidalität führen. Ferner führen pharmakologische und nutritive Veränderungen der Serotoninsynthese bei einem Teil von Individuen zu den klinischen Symptomen einer Depression.



Als letzten Beleg führten die Autoren an, dass die Wirkung von Antidepressiva zu einer Erhöhung des zentralen Serotoninspiegels führt und somit die Symptome der Depression mildert.

Da die genauen biologischen Mechanismen, die eine Depression verursachen, bislang nicht aufgezeigt werden konnten, ist anzunehmen, dass es sich nicht nur um eine einzelne Störung des serotonergen Systems handelt, sondern dass noch andere Ursachen hinzukommen. Zum Teil spiegelt sich das in der Tatsache wider, dass Serotonin einen Einfluss auf den hypothalamischen-hypophysären Regelkreis hat (46). Damit ist es nur Teil eines viel komplexeren Systems, auf welches viele verschiedene Faktoren, wie zum Beispiel Stress (112), Einfluss nehmen können. Diese Zusammenhänge sind in Abb. 3 dargestellt.



**Abbildung 3: Der serotonerge Einfluss auf den hypothalamischen-hypophysären Regelkreis. 5-HT stimuliert den Hypothalamus, was über verschiedene Zwischenschritte zu einer Erhöhung z.B. des Cortisolspiegels im Organismus führt.**

### **2.2.2.3. Post-mortem-Studien bei depressivem Syndrom**

Einen wesentlichen Teil der Untersuchungen von funktionellen Veränderungen bei Depression stellen die post-mortem-Studien dar. Diese Studien erlauben Untersuchungen des zerebralen Stoffwechsels zum einen mit Hilfe von Gewebshomogenaten und zum anderen mit Hilfe der quantitativen Rezeptorautoradiographie. Die Messungen richteten sich in erster Linie auf die Untersuchung der Dichte von Serotoninrezeptoren, Serotonintransportern sowie auf die regionalen Serotoninkonzentrationen.

Ein Hauptproblem dieser Untersuchungen ist, dass sie in erster Linie bei Gehirnen von Suizidopfern durchgeführt worden sind. Die Diagnose der Depression oder der depressiven Phase war nicht bei allen Untersuchten medizinisch gesichert. Somit können in erster Linie nur Aussagen zum Zusammenhang zwischen dem Suizid und den erhobenen Werten gemacht

werden. Ein weiteres Problem bei dieser Art von Untersuchung besteht darin, dass nicht bei allen durchgeführten Studien der genaue Zeitpunkt des Todes festgestellt werden konnte und somit das Ausmaß der postmortalen Veränderung auf den Hirnstoffwechsel schwer zu beurteilen ist.

Untersucht wurde zum einen die 5-HT<sub>2a</sub> Rezeptordichte im frontalen Kortex sowie die präsynaptische 5-HT<sub>1a</sub> Rezeptordichte in den dorsalen Raphekernen. Die Mehrzahl dieser Studien kam zu dem Ergebnis, dass Suizidopfer signifikant höhere Dichten der Rezeptoren aufwiesen (10, 11, 13, 122, 169). Dies konnte jedoch nicht durch alle Studien bestätigt werden (33, 113).

Verschiedene ex vivo Untersuchungen wurden mit Hilfe von tritiierten selektiven Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmern und trizyklischen Antidepressiva, wie [<sup>3</sup>H]Paroxetin und [<sup>3</sup>H]Imipramin, durchgeführt. Mit ihnen lässt sich der Serotonintransporter darstellen. Sie zeigten bei depressiven Patienten eine im Vergleich zu Gesunden erhöhte Bindung dieser Substanzen in den hippocampalen Regionen (64). Dies konnte durch andere Arbeitsgruppen, welche diesen Sachverhalt untersuchten, nicht bestätigt werden (57, 106, 107).

Studien, die die Serotoninkonzentration in Gehirnen von Suizidopfern untersuchten, kamen größtenteils zu dem Ergebnis, dass sich nach Korrektur des postmortalen Zeitverzuges keine signifikanten Unterschiede diagnostizieren ließen (18, 23, 111).

Zusammenfassend lässt sich somit feststellen, dass keine einheitlichen Ergebnisse, die die serotonergen Veränderungen bei depressiven Patienten in post-mortem-Studien erklären, veröffentlicht wurden.

#### **2.2.2.4. Liquor- und Blutuntersuchungen bei depressivem Syndrom**

Da 5-HIAA (5-HydroxyIndole Acetic Acid) ein Metabolit von 5-HT im Serum ist, ging man davon aus, dass man über seine Messung indirekt Rückschlüsse auf die Serotoninkonzentration ziehen könnte. Studien, die die Konzentration von 5-HIAA in vivo bei depressiven Patienten untersuchten, kamen zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. 15 Studien wiesen keine Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen nach, acht Studien fanden eine Verringerung und eine sogar eine Erhöhung (62). Somit wird angezweifelt, ob aufgrund der Messung von 5-HIAA überhaupt Rückschlüsse auf das serotonerge System gezogen werden können (115, 121).

Blutuntersuchungen mit anderen Schwerpunkten bei der Suche nach den Ursachen der Depression wurden ebenfalls durchgeführt. Dabei wurde davon ausgegangen, dass die

Serumkonzentration von Tryptophan bzw. der Quotient von Tryptophan zu den anderen Aminosäuren im Blut, die den gleichen Transporter zur Überwindung der Bluthirnschranke verwenden, einen Parameter für die Tryptophanverfügbarkeit und damit auch der Serotoninverfügbarkeit des Gehirns darstellt.

Dabei konnte zum einen gezeigt werden, dass sich nach Tryptophaninfusion bei depressiven Patienten ein niedrigerer Serumspiegel, eine erhöhte Clearance sowie eine Verringerung der Tryptophanverfügbarkeit nachweisen lässt (171). Wurde der Blutspiegel von Serotonin direkt untersucht, konnten Studien eine negative Korrelation zwischen dem Serotoninspiegel und dem Maß der Depression nachweisen (177).

Darüber hinaus wurden Studien durchgeführt, die davon ausgingen, dass Thrombozyten als Modell für das zentrale serotonerge System geeignet sind, da sie über viele Eigenschaften verfügen, die denen der zentralen Neuronen im ZNS sehr ähnlich sind (102). So besitzen sie ebenfalls einen Serotonintransporter und können Serotonin aufnehmen und speichern.

Die meisten durchgeführten Studien mit [<sup>3</sup>H]Imipramin an Thrombozyten konnten bei depressiven Patienten im Vergleich zu Kontrollen an gesunden Probanden eine deutliche Verringerung der Kinetik der Serotoninaufnahme in den Thrombozyten feststellen (52, 53, 71, 118). Dies konnte jedoch mittels [<sup>3</sup>H]Paroxetin nur zum Teil bestätigt werden (154).

#### **2.2.2.5. Therapie der Depression**

Die therapeutischen Effekte der Psychopharmaka beruhen auf direkter oder indirekter Interaktion mit den Monoamintransportern oder den Enzymen, die Serotonin abbauen (135).

Zu den ersten klinisch eingesetzten Psychopharmaka gehörten die trizyklischen Antidepressiva. Sie blockieren jedoch nicht nur den Serotonintransporter, sondern auch den Noradrenalintransporter (40). Sie lassen sich auf Grund der verschiedenen Affinitäten zu den einzelnen Transportern unterscheiden. Darüber hinaus haben sie noch ausgeprägte anticholinerge Nebenwirkungen (56).

Die neueren hochwirksamen Antidepressiva sind entweder selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer oder selektive Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer und wirken hochspezifisch auf nur einen Transporter. Sie weisen zusätzlich ein viel günstigeres Nebenwirkungsprofil auf (151). Die Einführung dieser selektiven SERT-Inhibitoren in die klinische Therapie der Depression hat die Relevanz des serotonergen Systems bei dieser Erkrankung nachdrücklich unterstrichen.

Nur 60 bis 70% der Patienten sprechen jedoch auf die Behandlung mit einem dieser Medikamente an. Selbst nach einem Behandlungszeitraum von bis zu zwei Jahren verbessert sich nur bei ca. 80% der Patienten der Zustand (116).

Zum jetzigen Zeitpunkt ist der Grund für das Nichtansprechen auf die gegebenen Antidepressiva nicht bekannt und lässt sich auch nicht voraussagen. Bei vielen Patienten, die nach einer Latenzzeit von zwei bis vier Wochen nicht auf das verordnete Antidepressivum ansprechen, ist es notwendig, weitere Antidepressiva einzusetzen, bis eine Therapieantwort erfolgt. Diese therapeutische Unsicherheit stellt eine starke Belastung für den Patienten dar, wenn seine depressiven Perioden trotz intensiver Behandlung weiter andauern.

### **2.2.3. Fibromyalgie**

#### **2.2.3.1. Klinik der Fibromyalgie**

Das Fibromyalgiesyndrom ist durch großflächige, dumpfe Schmerzen im gesamten Körper gekennzeichnet. Die genaue Ätiologie und Pathogenese sind bisher nicht aufgeklärt. Neben der Schmerzsymptomatik ist die Fibromyalgie mit vielen Begleitsymptomen, wie Kopfschmerzen, Schlafstörungen und gastrointestinalen Symptomen, assoziiert (183).

1990 wurden die Kriterien des Fibromyalgiesyndroms von dem American College of Rheumatology (ACR) definiert. Danach sind ein generalisiertes Schmerzsyndrom und eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit in elf von 18 definierten Tenderpoints bei Palpation mit einem Druck von 4 kg die beiden Hauptsymptome (147).

Die Prävalenz der Fibromyalgie liegt bei 2% in der Gesamtbevölkerung und bei 7,5% bei Patienten in Allgemeinkrankenhäusern (183). Beim Auftreten dieser Erkrankung konnten deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede nachgewiesen werden. So sind 79 bis 88% der betroffenen Patienten Frauen (182). Der durchschnittliche Krankheitsbeginn liegt zwischen 29 und 37 Jahren, die Diagnose wird jedoch meist erst zwischen dem 34. und 53. Lebensjahr gestellt (20).

Schon früh wurde das Fibromyalgiesyndrom in Verbindung mit der Depression gebracht. Die Lebenszeitprävalenz der Fibromyalgie ist bei depressiven Patienten wesentlich erhöht, wobei die Angaben in der Literatur sehr schwanken. Teilweise wurden Werte bis 90% angegeben, teilweise jedoch auch nur Werte von 20% (81, 93).

Es wird vermutet, dass bei der Depression und der Fibromyalgie überlappende pathophysiologische Mechanismen vorliegen.

### **2.2.3.2. Endokrinologische Veränderungen bei Fibromyalgie**

Bis jetzt konnten keine übereinstimmend pathophysiologischen Veränderungen als Ursache für das Fibromyalgiesyndrom festgestellt werden. Derzeit wird von einem multifaktoriellen Geschehen ausgegangen, bei dem sowohl psychosoziale als auch pathophysiologische Faktoren eine wichtige Rolle spielen. Unter anderem werden auch endokrinologische Veränderungen als Auslöser postuliert. Hierbei geht man von einer Störung des hypothalamischen-hypophysären Regelkreises aus, auf welchen, wie bereits beschrieben, Serotonin einen bedeutenden Einfluss besitzt.

Untersuchungen bei Fibromyalgie bezogen sich meist auf die Ermittlung des Cortisonniveaus, sowohl basal im CRF-Stimulationstest als auch im ACTH-Stimulationstest.

Für eine Dysregulation des hypothalamischen-hypophysären Regelkreises sprechen in erster Linie die veränderte ACTH-Ausschüttung im CRF-Test (152), die veränderten Cortison-Level im ACTH-Test (94) sowie Veränderungen der basalen Cortisonspiegel im Plasma (30). Zum Teil existieren hier jedoch sehr widersprüchliche Ergebnisse (153).

Einzelne Studien, welche direkte Messungen von Serotonin im Serum von Betroffenen durchführten, kamen zu dem Schluss, dass in Patienten mit Fibromyalgie ein signifikantes Absinken des Serotoninspiegels vorliegt (159). Des Weiteren konnte ein erhöhtes Vorkommen der Substanz P im Plasma der Erkrankten festgestellt werden, die durch eine Erhöhung des serotonergen Tonus bedingt sein könnte (94).

Aufgrund der Beobachtung, dass das Fibromyalgiesyndrom vermehrt familiär auftritt, wurden genetische Untersuchungen der Betroffenen durchgeführt. Dabei konzentrierte man sich in erster Linie auf die Rezeptoren und Transporter des serotonerge Systems.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde im Einzelnen das 5-HT<sub>2a</sub> Rezeptorgen untersucht, wobei sich herausstellte, dass gewisse Polymorphismen dieses Gens zu Fibromyalgie prädisponieren (67). Besonderes Augenmerk wurde auch auf das Serotonintransportergen gelegt. Hier ließ sich nachweisen, dass bestimmte Polymorphismen in der Promotorregion des Transportergens zur Fibromyalgie prädisponieren (36). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind jedoch recht uneinheitlich (66).

Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass die Veränderungen des hypothalamischen-hypophysären Regelkreises sowie der serotonergen Rezeptoren und Transporter nicht die alleinige Erklärung oder die Ursache der Fibromyalgie sind, sondern dass es sich um ein komplexes Wechselspiel verschiedener psychosozialer Faktoren und pathophysiologischer Veränderungen handelt.

## 2.3. Bildgebung des serotonergen Systems

### 2.3.1. Monoaminerges System bei Kleintieren

Bis heute beschäftigten sich nur wenige Arbeitsgruppen mit der in vivo Darstellung des monoaminergen Systems bei Kleintieren und verwendeten dabei im Aufbau sehr unterschiedliche Systeme.

Bevor es zu Untersuchungen mit Mikro-SPECT-Systemen kam, wurde das monoaminerge System an Kleintieren mit Mikro-PET-Scannern untersucht.

Ein wesentlicher Schwerpunkt dieser Untersuchungen stellte die Darstellung der Genproduktexpression im Rattenhirn dar. Dabei wurde in zwei Studien erfolgreich die HSV1-Thymidin-Kinase-Reporter-Gene-Expression mit radiomarkiertem Ganciclovir nachgewiesen (60, 61).

PET-Studien, die einen Schwerpunkt auf die Sättigungskinetik von Dopamintransportern (DAT) legten, konnten zeigen, dass [<sup>11</sup>C]CFT, ein Kokain-Analogon, ein nützlicher Radioligand für die Darstellung des dopaminergen Transporters (DAT) im Kleintiermodell ist (82). Eine weitere Studie, die sich mit der Darstellung des 5-HT<sub>1a</sub> Rezeptors beschäftigte, konnte demonstrieren, dass sich [<sup>11</sup>C]WAY-100635 für die Darstellung dieses Rezeptors eignet. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass Pindolol die Markierung des Rezeptors hemmt (75).

Nur wenige Untersuchungen des monoaminergen Systems wurden bei Kleintieren mit Mikro-SPECT-Systemen durchgeführt. Deren Ergebnisse sollen im Folgenden nun kurz erläutert werden. Eine Arbeitsgruppe, die das <sup>123</sup>I markierte β-CIT verwendete, konnte nachweisen, dass [<sup>123</sup>I]β-CIT ein geeigneter Marker für den DAT in kleinen Labortieren ist. Es wurde ein System verwendet, das aus nur einem Pinhole-Kollimator bestand, der auf eine Gamma-Kamera montiert war. Es rotierte jedoch nicht die Kamera, sondern das Versuchstier (69). Eine weitere Studiengruppe, die ebenfalls ein solches System verwendete, konnte mit [<sup>123</sup>I]β-CIT zeigen, dass die Test/Retest-Variabilität bei Untersuchungen des monoaminergen Systems bei Kleintieren unter 9% lag (22).

Eine folgende Studiengruppe, die ebenfalls [<sup>123</sup>I]β-CIT als Radiopharmakon verwendete, konnte sowohl die Bindung des Radiopharmakons an den DAT nachweisen, als auch die Minderanreicherung nach 6-Hydroxydopamin induziertem Verlust der striatalen Dopamintransporter. Es wurde jedoch nur eine Gamma-Kamera mit einem 2 mm Pinhole-Kollimator ausgestattet, die dann um das Versuchstier rotierte. Die transaxiale Auflösung nach Messung der radialen Halbwertsbreite betrug 3,5 mm. Das System hatte eine Sensitivität von 81 cps/MBq (157).

Weitere Versuche mit dem Radioliganden [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT konnten zeigen, dass es ein nützlicher Ligand für ultrahochauflösendes SPECT ist. Bei diesen Untersuchungen wurde erstmals ein aus drei rotierenden Pinhole-Kollimatoren bestehendes System verwendet (3).

Die in dieser Arbeit im Rahmen der Kleintierexperimente eingesetzten DAT-Liganden, wie [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT und [ $^{123}\text{I}$ ]IPT wurden a. G. ihrer bereits ausführlichen durchgeführten Charakterisierung in der Literatur zur Validierung des Systems verwendet. Nach erfolgreicher Validierung wurde dann der noch nicht charakterisierte SERT-Radioligand [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM untersucht.

## **2.3.2. Erkrankungen des Menschen**

### **2.3.2.1. *Depressives Syndrom***

Aufgrund der intensiven Forschungen, die sich mit der spezifischen Darstellung des serotonergen Systems befassen, sind in den letzten Jahren einige Liganden für PET und SPECT entwickelt worden. Die Ergebnisse dieser Studien können jedoch aufgrund der Verwendung verschiedener Liganden, die sich in Spezifität und Affinität zu den einzelnen Monoamintransportern stark unterscheiden, nur unter Vorbehalt miteinander verglichen werden.

Vorteile von in vivo Untersuchungen mit PET oder SPECT gegenüber den vorher beschriebenen post-mortem-Studien sind zum einen, dass der aktuelle klinisch-psychiatrische Status des Patienten parallel zur Untersuchung erhoben werden kann und zum anderen, dass mehrfach zeitlich versetzte Untersuchungen durchgeführt werden können.

Ferner sind bei in vivo Untersuchungen keine Veränderungen aufgrund von postmortalem Zellzerfall zu erwarten.

Als Nachteil ist jedoch zu nennen, dass die räumliche Auflösung von bildgebenden Verfahren der Autoradiographie, die eine bis in den  $\mu\text{m}$  Bereich liegenden Auflösung besitzt, unterlegen ist.

Ein Schwerpunkt der PET-Untersuchungen bei der Depression lag auf der Untersuchung des Glukosemetabolismus. Dabei wurde ein gesunkener Glukosemetabolismus in den dorsolateralen, ventralen, subgenualen, dorsomedialen sowie den präfrontalen kortikalen Regionen festgestellt. Eine erhöhte Glukoseaufnahme wurde in den venterolateralen, präfrontalen, kortikalen und paralimbischen Regionen bei depressiven

Patienten im Vergleich zu gesunden von verschiedenen Arbeitsgruppen ermittelt (50, 92, 120).

Spezifische und selektive PET-Liganden, die ausreichend lipophil waren, um die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und damit eine selektive Rezeptor- und Transporterdarstellung möglich machten, wurden erst in den 80er Jahren entwickelt.

Als erstes Neurotransmittersystem in der bildgebenden funktionellen Depressionsforschung wurde das dopaminerge System mit seinen Dopaminrezeptoren ( $D_2$ ) untersucht. Der wichtigste Radioligand für die PET war das mit  $^{11}\text{C}$  markierte Methylspiperon (185) und für die SPECT das mit  $^{123}\text{I}$  markierte IBZM (98).

Die PET-Untersuchungen, die die Unterschiede der  $D_2$ -Rezeptordichte im Nucleus caudatus zwischen gesunden und depressiven Patienten darstellten, kamen zu keinem signifikanten Ergebnis (185). Die Untersuchungen mit [ $^{123}\text{I}$ ]IBZM ergaben eine erhöhte Rezeptordichte im Striatum von depressiven Patienten (41).

Obwohl sich somit auch Hinweise auf eine Verbindung zwischen dem dopaminergen System und der Depression ergaben (137), wurde in den folgenden Studien das serotonerge System in den Mittelpunkt des Interesses gestellt.

Bei der Untersuchung des serotonergen Systems wurden sowohl ein Teil der serotonergen Rezeptoren als auch der Serotonintransporter selektiv untersucht.

5-HT<sub>1A</sub> Rezeptoren wurden mit dem spezifischen PET-Liganden [ $^{11}\text{C}$ ]WAY-100635 dargestellt. Dabei zeigte sich eine Reduktion der Rezeptordichte sowohl im medialen Temporalkortex als auch in den Raphekernen bei depressiven Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe (51). Eine weitere Studie stellte eine Verringerung der Rezeptordichte vor allem in den orbitofrontalen Gyri sowie im Gyrus Cinguli fest (155).

Ein anderer Rezeptor, der in diesem Zusammenhang ins Zentrum des Interesses gerückt wurde, war der 5-HT<sub>2a</sub> Rezeptor. Dieser wurde mit dem PET-Radioliganden [ $^{18}\text{F}$ ]Altanserin untersucht. Diese Studien fanden ebenfalls eine Verringerung der Rezeptordichte bei depressiven Patienten im rechten posterolateralen Orbitofrontalcortex sowie in der vorderen Inselregion (19). Eine andere Studie mit dem Radioliganden [ $^{18}\text{F}$ ]Setoperone stellte eine geringere Dichte des Rezeptors im Frontalkortex von depressiven Patienten fest (16).

Mehrere Arbeiten untersuchten zunächst unspezifisch den cerebralen Serotonintransporter (SERT) bei depressiven Patienten. Ein Teil dieser Studien verwendete das  $^{123}\text{I}$  markierte Beta-carbomethoxy-3-beta(4-iodophenyl)tropane ([ $^{123}\text{I}$ ]β-CIT).



Hierbei wurden zum einen 15 akut depressive Patienten mit 15 Kontrollpersonen verglichen. Dabei wurde eine 18%-ige Reduktion des SERT im Hirnstamm bei der Patientengruppe festgestellt (26, 97, 117).

Eine andere Studie untersuchte elf Patienten mit saisonaler Depression und elf Gesunde. Auch hier fand sich eine Verringerung der Serotonintransporterdichte, diesmal allerdings im Thalamus/Hypothalamus (180).

Zu den Untersuchungen mit [<sup>123</sup>I]β-CIT ist jedoch anzumerken, dass der Ligand eine hohe Kreuzaffinität ( $K_{(i)}=1,4$  nM) zu den Dopamintransportern (DAT) besitzt. Da sich eine Vielzahl von diesen Transportern jedoch auch in den untersuchten SERT-dichten Bereichen, vor allem in der Substantia Nigra im Hirnstamm, befindet, ist die Aussagemöglichkeit dadurch deutlich eingeschränkt. Ein weiterer Nachteil dieses Liganden ist die sehr langsame Bindungskinetik, die eine Bildgebung erst ca. 18 bis 24 Stunden nach Injektion möglich macht.

Da PET-Liganden häufig eine Vorreiterrolle bei der Entwicklung von SPECT-Liganden einnehmen, wurde für die hochspezifische Untersuchung des Serotonintransporters auch zunächst ein PET-Ligand entwickelt. Dabei handelte sich es um das mit [<sup>11</sup>C] markierte (+)McN5652 (170).

Die erste Studie mit diesem Liganden verglich dreizehn unbehandelte Depressive mit 21 Kontrollpersonen. Sie stellte eine signifikante Erhöhung der Bindung des Radiopharmazeutikums von 22 bis 23% im Thalamus der depressiven Patienten fest (85).

Die zweite Studie, die vier gesunde mit vier depressiven Patienten verglich, fand eine Erhöhung der Transporterdichte bei den Erkrankten im frontalen Kortex sowie im Gyrus Cinguli (150).

Somit kann angenommen werden, dass es zu einer Veränderung der Dichte des Serotonintransporters bei Patienten mit Depression kommt. Es wurden nun Versuche unternommen, einen SPECT-fähigen Liganden zu entwickeln, der die Untersuchung eines größeren Kollektivs zur Validierung dieser Daten erlaubt. Auf diese Liganden wird im Kapitel 3.4.2. noch ausführlich eingegangen.

### **2.3.2.2. Fibromyalgie**

Bei der funktionellen Bildgebung des ZNS bei Fibromyalgiepatienten konnten bisher lediglich folgende Beobachtungen gemacht werden.

Eine Studie verglich 17 Frauen mit Fibromyalgie mit 22 gesunden Probandinnen bezüglich des regionalen zerebralen Blutflusses. Dieser wurde durch [<sup>99m</sup>Tc]HMPAO dargestellt. Bei den Erkrankten war eine signifikante Verringerung des Blutflusses in Teilen des Thalamus sowie der Pons festzustellen (101). Diese Ergebnisse wurden von einer anderen Studie weitgehend bestätigt (65).

Untersuchungen mit [<sup>18</sup>F]FDG im PET fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden Kontrollen und Patientinnen mit Fibromyalgie (184).

Bildgebende Untersuchungen der Rezeptoren oder Transporter des serotonergen Systems wurden bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht durchgeführt oder veröffentlicht.

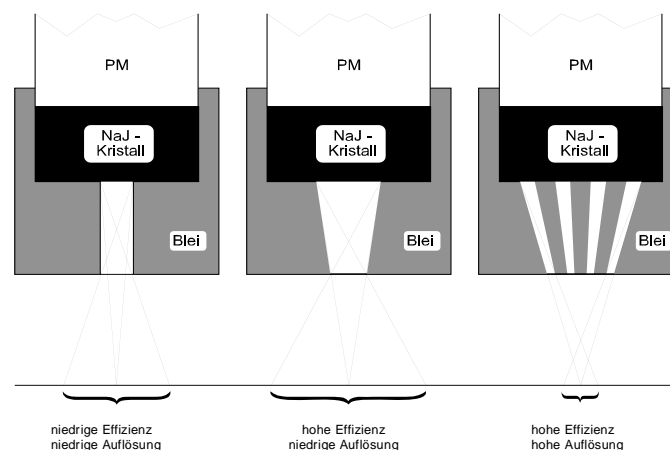
### 3. Darstellung des serotonergen Systems

#### 3.1. Grundlagen der tomographischen Gamma-Kamera-Bildgebung

##### 3.1.1. Prinzip der Szintigraphie

Die Szintigraphie ermöglicht es, die Verteilung eines gammastrahlenden Isotops bzw. einer Trägersubstanz, an die das Isotop gekoppelt ist, im Organismus durch Erfassung der Gamma-Strahlung darzustellen. Gamma-Strahlung entsteht durch den Zerfall von Isomeren. Isomere sind Isotope, bei denen durch Zerfall ein semistabiler Zustand entsteht. Aus diesem gehen sie mit kurzer Verzögerung durch Abstrahlung von Gamma-Quanten wieder in ihren Grundzustand über. Anfangs wurde zur Untersuchung der Gamma-Strahlung ein so genannter Scanner verwendet, mit dem das untersuchte Objekt abgefahren wurde. Zum Nachweis der Strahlung dient der Szintillationskristall im Scanner, der die Gamma-Strahlung in registrierbare Lichtblitze umwandelt und ihre Intensität feststellt (149).

Um die Ortsauflösung bei der Erfassung der Strahlung zu erhöhen, werden meist so genannte Kollimatoren verwendet. Diese sind im Wesentlichen Bleiblenen, welche den Raumwinkel, der von den einzelnen Bildpunkten emittierten Gamma-Strahlung, begrenzen. Je höher die Begrenzung ist, desto besser wird die Auflösung. Dies hat jedoch den Nachteil, dass dadurch die Strahlenintensität und die Nachweiswahrscheinlichkeit sinken. Dieser Sachverhalt ist in der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 4: Aufbau von Kollimatoren (PM: Photomultiplier). Die linke Abbildung zeigt einen Kollimator mit niedriger Auflösung und niedriger Nachweiswahrscheinlichkeit. Die rechte Abbildung zeigt einen anders konstruierten Kollimator mit hoher Auflösung und hoher Nachweiswahrscheinlichkeit für Gammastrahlung.**

### 3.1.2. Gamma-Kamera

Das heute am weitesten verbreitete Gerät zur Erfassung der Gamma-Strahlung ist die so genannte Gamma-Kamera (Anger-Kamera, (9)). Sie entspricht dem Prinzip der photographischen Lochkamera, deren Film durch einen Szintillationskristall ersetzt wird.

Verglichen mit dem oben beschriebenen Scanner ermöglicht der größere Kristalldurchmesser der Gamma-Kamera eine wesentlich kürzere Aufnahmezeit oder eine Reduzierung der Aktivität, da deutlich mehr Signale pro Zeiteinheit erfasst werden können. Sie erfasst den gesamten Bildbereich gleichzeitig und muss daher nicht wie der Scanner über das untersuchte Objekt bewegt werden.

Ihr Messkopf besteht aus einem Kollimator und einem großen Szintillationskristall, der aus NaI(Tl) aufgebaut ist. Normalerweise hat er einen Durchmesser von 25 bis 42 cm. Über ein Lichtsystem sind Photomultiplier (Sekundärelektronenervielfacher) mit dem Kristall verbunden (168). Da die von der Strahlungsquelle emittierten Gamma-Quanten zuerst die oben beschriebenen Kollimatoren passieren müssen, wird ein Teil von ihnen abgeschwächt. Dieser Prozess wird Richtungsanalyse genannt, da nur die Quanten, die in einer bestimmten Richtung emittiert werden, die Kollimatoren ungehindert passieren können. Durch Wechselwirkungen im Kristall werden dann Lichtblitze erzeugt, die durch die dahinter lokalisierten Photomultiplier in verstärkte elektrische Signale umgewandelt werden. Ihnen wird nun abhängig von der einfallenden Lichtintensität und dem Abstand zum Absorptionort im Kristall ein Z-Signal zugeordnet. Abhängig vom Auftreffpunkt wird den Gamma-Quanten mittels einer Ortsanalyse eine Ortsadresse zugeteilt. Diese setzt sich aus vier Ortsignalen zusammen ( $X_+, X_-, Y_+, Y_-$ ). Die Häufigkeitsverteilung kann als direktes Bild der örtlichen Verteilung des Quantenflusses, der im Kristall einfällt, angesehen werden. All diese gesammelten Daten liefern nun das zweidimensionale Szintigramm.

Die Ermittlung des Entstehungsortes des radioaktiven Zerfalls wird durch die schon oben beschriebenen Kollimatoren ermöglicht. Durch sie führt eine senkrechte Projektion der dreidimensionalen Aktivitätsverteilung zu einem zweidimensionalen Bild auf der Kristallebene (89). Abhängig von den zu untersuchenden Organen werden verschiedene Kollimatoren verwendet, die sich in Septendicke, Bohrungsdicke, Bohrungslänge, Bohrungswinkel und auch in Form der Bohrung unterscheiden (138). Zur speziellen Untersuchung des Gehirns haben sich die so genannten Fan-Beam-Kollimatoren bewährt. Diese konvergierenden Kollimatoren vergrößern und verzerren das Bild des untersuchten Objektes bei gleicher oder erhöhter Auflösung. Die Auflösung bleibt jedoch abhängig von der Verteilung und Strahlenintensität des Radiopharmazeutikums im zu untersuchenden Objekt.

## 3.2. Grundlagen der Mikro-SPECT-Bildgebung

### 3.2.1. Prinzip der Pinhole-Kollimatoren

Vereinfacht dargestellt handelt es sich bei Pinhole-Kollimatoren um Lochblenden, die eine spiegelverkehrte Projektion des untersuchten Objektes auf den Detektor liefern. Dabei ist der Vergrößerungsfaktor von dem Abstand des zu untersuchenden Objektes von der Pinhole-Öffnung abhängig. Je näher sich das Objekt an der Öffnung befindet oder je kleiner der Rotationsradius ist, desto größer wird das Objekt abgebildet (bessere Auflösung).

Zusätzlich ist die Vergrößerung von der fokalen Länge des Pinhole-Kollimators abhängig. Je größer diese ist, desto stärker wird das Bild vergrößert.

Diese Zusammenhänge sind im unteren Bild dargestellt und lassen sich durch den Strahlensatz  $z' = z \cdot D/d$  nachvollziehen.

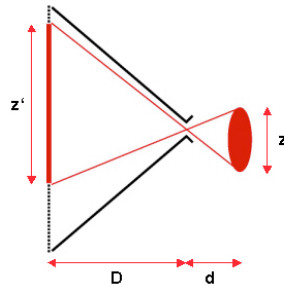


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Vergrößerungseffekts von Pinhole-Kollimatoren (D: fokale Länge des Kollimators, d: Abstand des Objekts vom Kollimator, z: reale Größe des Objekts; z': Abbildungsgröße des Objekts auf dem Detektor).

Das Rekonstruktionsvolumen eines Kollimators entspricht aufgrund seines Aufbaus dem einer Pyramide mit rechteckigem Grundriss. Da sich die Rückprojektionen im hier beschriebenen System jedoch aus den Aufnahmen der drei Gamma-Kameras mit den jeweiligen Kollimatoren zusammensetzen, ergibt sich als Rekonstruktionsvolumen ein Doppelkegel.

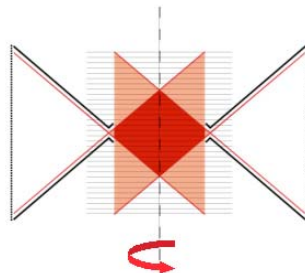


Abbildung 6: Darstellung des Rekonstruktionsvolumens, das sich aus den drei Rückprojektionen der Gamma-Kameras ergibt (rot: sich überschneidendes Rekonstruktionsvolumen im Zentrum des Aufnahmefeldes; orange: Rekonstruktionsvolumen der einzelnen Gamma-Kameras an den Rändern des Aufnahmefeldes).

### 3.2.2. Bildgebung bei Kleintieren

Funktionelle in vivo Untersuchungen an Kleintieren wurden zu Anfang mit Hilfe von PET durchgeführt. Dabei erwiesen sich diese Messungen als sehr nützliche Hilfsmittel bei der Erforschung der Pathophysiologie von Erkrankungen, der Wirkungsweise von Psychopharmaka, der Darstellung von Genexpressionsprodukten sowie dem Monitoring von Gentherapien. Speziell für solche Untersuchungen entwickelte Kleintier-PET-Scanner zeichnen sich durch die Verwendung von sehr dünnen Kristallen und durch kleine Detektorringe aus. Dabei können sie ex vivo Auflösungen von unter einem Millimeter erreichen. In vivo kann jedoch aufgrund von Streueffekten, die durch das Gewebe bedingt sind, nur eine Auflösung von ca. 2 mm erreicht werden. Wesentliche Nachteile dieser Systeme sind jedoch die extrem hohen Kosten der Anschaffung und der Unterhaltung, die aufgrund der benötigten Infrastruktur entstehen. Hinzu kommt noch, dass für eine PET-Untersuchung extrem kurzlebige PET-Radioliganden benötigt werden, was den Einsatz eines Zyklotrons unabdingbar macht.

Trotz der hohen Kosten wurden sowohl Eigenentwicklungen (12) als auch kommerziell entwickelte (128) Kleintier-SPECT-Systeme angefertigt.

Erstmals wurde 1990 von der Entwicklung eines solchen Kleintier-SPECTs berichtet. Dieses System bestand aus einer Gamma-Kamera mit einer Hybrid-Photodiode, einem NaI-Szintillator-Kristall und einem Parallelloch-Kollimator. Dieses System wies trotz einer hohen Auflösung eine zu geringe Effizienz auf und wurde deshalb nicht weiterentwickelt (143).

Die Entwicklung weiterer Gamma-Kameras für die Bildgebung von kleinen Tieren folgte. Diese bestanden zumeist aus einem Positronen-Lokalisations-Photomultiplier, einem NaI-Szintillator und einem Parallelloch-Kollimator. Dabei wurde meist eine gepixelte Kristallmatrix verwendet, um die Auflösung zu erhöhen. Es wurde eine Auflösung von bis zu 2 mm erreicht. Da die Kollimatoren jedoch nicht beweglich waren, waren sie nur für planare Aufnahmen geeignet. Schwerpunkte der Messungen lagen dabei auf der Untersuchung der Verteilung von Dopaminrezeptoren sowie der Darstellung von Genexpressionsprodukten in Ratten.

Mit diesem System konnte erstmals die erfolgreiche Anwendung solcher Mikro-SPECT-Systeme bestätigt werden (35).

Eine wesentlich kostengünstigere Möglichkeit für den Aufbau von Kleintier-SPECT-Systemen stellt die Umrüstung eines schon klinisch vorhandenen SPECT-Systems durch Pinhole-Kollimatoren dar (3, 22, 69, 86). Damit bleibt das SPECT-System auch für die

Patientenuntersuchung weiterhin einsetzbar und ist nicht, wie zum Beispiel die Mikro-PET-Systeme, auf Kleintierexperimente beschränkt. Diese doppelten Einsatzmöglichkeiten machen die Verwendung eines umrüstbaren Systems umso attraktiver.

Die intrinsische Auflösung einer für ein solches System verwendeten konventionellen Anger-Gamma-Kamera ist, im Vergleich zu Kleintiersystemen mit gepixelter Kristallmatrix, relativ gering. Jedoch erlaubt der viel größere Detektor einen durch die Pinhole-Kollimatoren vermittelten signifikanten Vergrößerungseffekt. Hierdurch kann die Auflösung stark gesteigert werden.

### **3.3. Grundlage der SPECT-Bildgebung am Menschen**

#### **3.3.1. Prinzip der Single-Photon-Emissions-Computertomographie (SPECT)**

Die SPECT stellt das nuklearmedizinische Analogon zum Röntgen-CT dar. Der Unterschied zur vorher beschriebenen einzelnen Gamma-Kamera, die nur zweidimensionale Bilder liefert, ist die nun dreidimensionale Darstellung von Objekten. Dies hat, neben der besseren Beurteilbarkeit von Strukturen, auch den Vorteil, dass es zu weitaus weniger Überlagerungen, die sich negativ auf die Bewertung eines Bildes auswirken, kommt.

Um räumliche Bilder liefern zu können, muss das zu untersuchende Objekt aus verschiedenen Positionen aufgenommen werden. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Systeme entwickelt. Außer an Systemen mit rotierenden Gamma-Kameramessköpfen wurde auch an Systemen mit ringförmiger Konfiguration und an alternativen Methoden intensiv geforscht. Obwohl ringförmige Systeme eine höhere Auflösung liefern (176), hat sich heute im klinischen Alltag das SPECT-System mit rotierenden Köpfen durchgesetzt, da diese kosteneffizienter sind.

Diese Systeme bestehen meist aus zwei oder drei Gamma-Kameraköpfen, die auf einem Kreisbogen montiert sind. Die Rotation um das zu untersuchende Objekt erfolgt in bestimmten Winkelschritten, die von einem Computer gesteuert werden. In jedem einzelnen Schritt werden die Einzelaufnahmen der Aktivitätsverteilung ermittelt. Je kleiner der Rotationsradius, desto höher ist die Auflösung der dargestellten Strukturen.

Diese Tomographie basiert im Prinzip auf der Messung eindimensionaler Projektionen einer Objektschicht. Deren Dicke ist sowohl von der Form als auch von der Breite des verwendeten Messstrahls, auch Line of Response genannt, abhängig. Die Strahlensumme in

$s^{-1}$  ergibt sich aus der gemessenen Aktivität entlang des Messstrahls. Wird die Messsonde nun linear verschoben und die gewonnenen Strahlensummen addiert, ergibt sich die so genannte Parallelprojektion. Durch die winkeltgerechte Projektion mehrerer aus unterschiedlichen Winkeln akquirierter eindimensionaler Parallelprojektionen erhält man die Rückprojektion.

Anhand mehrerer solcher Rückprojektionen ergibt sich ein zweidimensionales Bild der Objektschicht. Dies jedoch nur unter der Prämisse, dass es gelingt, die Objektschichten so dünn zu wählen, dass diese als zweidimensionales Bild akzeptabel sind (89). Die Rechneinheit speichert diese Aufnahmen und die dazugehörigen Daten, wie die Stellung des Kamerakopfes, um die Bilder mit bestmöglicher Auflösung zu rekonstruieren. Hierauf wird im nächsten Kapitel ausführlich eingegangen.

### **3.3.2. Bildrekonstruktion**

Analog zu den in CT-, PET- und MRT-Untersuchungen verwendeten Algorithmen lassen sich im SPECT aus den akquirierten Datenmengen die räumlichen Aktivitätsverteilungen errechnen und entsprechend als Schnittbilder wiedergeben.

Es lassen sich aus den Rotationen transversale Schichtsätze rekonstruieren, aus denen sich dann koronare, sagittale oder schräge Tomogramme errechnen lassen (181).

Die gefilterte Rückprojektion ist das am häufigsten verwendete Verfahren zur Rekonstruktion eines Objektes aus seinen Projektionen. Bei dieser Methode werden die einzelnen Projektionen gleichmäßig mit einem Filter gefaltet und anschließend auf die rekonstruierte Bildebene rückprojiziert. Die gemessene Impulszahl des Messpunktes ist direkt proportional zu der Intensität einer Rückprojektionslinie. Dies bedeutet, dass der gemessene Pixelinhalt gleichmäßig auf alle Pixel in der rekonstruierten Bildebene, welche in Richtung des Projektionsstrahls liegen, verteilt wird.

Die Einzelprojektionen werden nun additiv überlagert. Hieraus ergibt sich die Bildverteilung mit einem Maximum an dem Ort, an dem sich das zu untersuchende Objekt befindet. Durch die Rückprojektionslinien kommt es am Objektrand zu Artefakten, die dadurch entstehen, dass fälschlicherweise Pixel durch die Rückprojektionslinien in der rekonstruierten Matrix mit Impulsen belegt werden, die keinem Objekt entsprechen (138). Daher werden die Artefakte mit einem dafür entwickelten Filter korrigiert.

Ein Filter ist eine mathematische Funktion des Ortes, der auf die gemessenen Daten angewendet wird. Die durch angrenzende Strukturen und Rauchartefakte mit Compton- und Streustrahlung entstehenden Hintergrundsignale werden durch ihn deutlich verringert. Fehler,



die jedoch in den Projektionsdaten bereits existieren (z.B. Schwächungen des Gewebes), können bei der gefilterten Rückprojektion nicht behoben werden. Die SPECT-Untersuchungen des Menschen, die in dieser Arbeit beschrieben werden, wurden durch den so genannten Low-Pass-Filter nachbearbeitet. Hochfrequente Rauschanteile, die so gut wie keine Informationen enthalten, werden dadurch unterdrückt. Die Güte der Rauschunterdrückung wird durch die Einstellung einer so genannten Cut-Off-Frequenz bestimmt. Die Schärfe der Abbildung verhält sich umgekehrt proportional zu der Reduktion des Hintergrundrauschens. Dies heißt, dass durch einen sinkenden „Cut-Off“-Wert zwar eine bessere Unterdrückung des Rauschens gelingt, dass jedoch auch die Auflösung sinkt und gegebenenfalls sogar Bildinformationen verloren werden.

### **3.4. Darstellung des serotonergen Systems**

#### **3.4.1. Radiopharmaka für die Serotonintransporter-Darstellung**

Die bereits in den ersten Kapiteln dargestellte Beteiligung des SERT (Serotonintransporter) an pathologischen Prozessen wie der Depression führte zur vermehrten Entwicklung von diagnostisch verwendbaren Radiopharmaka.

Der SERT ist für die Entfernung des Serotonins aus dem synaptischen Spalt in das neuronale Zytoplasma verantwortlich. Dort wird es entweder wieder in Vesikel transportiert oder metabolisiert. Die Krankheiten und Medikamente, die das serotonerge System betreffen, induzieren kompensatorische Veränderungen in der Transporterfunktion, bevor sie die Konzentration der postsynaptischen Serotoninrezeptoren beeinflussen (73).

In den letzten Jahren haben einige Arbeitsgruppen den SERT in vivo mittels PET erforscht. Der bis heute viel versprechendste PET-Radioligand für SERT ist das schon angesprochene [ $^{11}\text{C}$ ](+)McN5652. Die spezifische Bindung von [ $^{11}\text{C}$ ](+)McN5652 im Gehirngewebe korreliert gut mit der durch Autoradiographie bekannten Dichte von SERT in diesem Bereich. Er zeigte im Tiermodell eine gute Bindung an den Serotonintransporter ( $K_{(i)}=0,40\text{nM}$ ) und kaum Kreuzaffinität zu dem Dopamintransporter ( $K_{(i)}=23,5\text{nM}$ ) oder Noradrenalintransporter ( $K_{(i)}=1,82\text{nM}$ ) (27, 80, 170).

Dennoch ist die Verwendung von [ $^{11}\text{C}$ ](+)McN5652 im klinischen Alltag sehr unbefriedigend. Dies liegt in erster Linie an seiner kurzen Halbwertszeit, der sehr schwierigen Präparation und den enorm hohen Kosten. Zusätzlich ist auch ein PET-Scanner für die

Darstellung dieses  $^{11}\text{C}$  Radioliganden notwendig. Diese Scanner sind jedoch nur in wenigen Zentren vorhanden und somit nicht flächendeckend verfügbar. An diesem Beispiel spiegelt sich jedoch die Vorreiterrolle der PET für die Entwicklung von rezeptorspezifischen Liganden wider.

Für die Durchführung von umfassenderen Untersuchungsstudien richteten sich viele Bemühungen jedoch aus Effizienzgründen auf die Entwicklung eines SPECT-fähigen Liganden für die selektive Darstellung des SERT.

Das  $^{123}\text{I}$ -markierte 2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-iodophenyl)tropan ( $[\text{}^{123}\text{I}]\beta\text{-CIT}$ ) wurde als erster SPECT-Marker für Serotonin- und Dopamintransporter benutzt (59, 97). Mit diesem Tracer konnten sehr erfolgreich sowohl Normalzustände als auch Veränderungen bei psychiatrischen Erkrankungen dargestellt werden. Ein erheblicher Nachteil dieses Tracers ist jedoch die Kreuzaffinität zum Dopamintransporter (DAT), wodurch keine spezifische Aussage über den SERT gemacht werden kann. Dieser Teilerfolg führte jedoch zur Weiterentwicklung dieses Liganden.

In der Entwicklung wurden Experimente mit  $[\text{}^{123}\text{I}]5\text{-iodo-6-nitroquipazine}$  durchgeführt (114). Dieser Ligand zeigte viel versprechende Ergebnisse bei der Darstellung des SERT im Affenhirn, kam jedoch beim Menschen nie zur Anwendung.

Daraufhin kam es zur Entwicklung von  $[\text{}^{123}\text{I}]\text{IDAM}$ . Diese Verbindung zeichnete sich durch eine exzellente Bindungsaffinität zum SERT und kaum Kreuzaffinität zu den anderen Monoamintransportern ( $K_{(i)} \text{SERT}=0,0013\text{nM}$ ;  $K_{(i)} \text{DAT}=840 \text{ nM}$ ;  $K_{(i)} \text{NET}=699 \text{ nM}$ ) aus. Die Anreicherung im Rattenhirn zeigte eine hohe direkte Aufnahme durch die Bluthirnschranke ins Hirngewebe (2,44% Dosis, 2 min nach intravenöser Applikation). Der Peak der Bindung fand 60 min nach der Injektion statt, die spezifische Bindung (Hypothalamus-Cerebellum/Cerebellum) entsprach jedoch noch keinem optimalen Wert (99).

Darauf aufbauend kam es zur Entwicklung von  $[\text{}^{123}\text{I}]\text{ODAM}$ . Diese Substanz zeichnete sich durch ein höheres Target to non Target Ratio von 0,86 aus (7).

Als neueste Entwicklung kam es zur Synthese von  $[\text{}^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  ( $[\text{}^{123}\text{I}][2\text{-}[[2\text{-Dimethylamino}]\text{methyl}]\text{phenyl}]\text{thio}]\text{-5-iodophenylamine}$ ). Diese wies eine niedrigere initiale Aufnahme durch die Bluthirnschranke ins Gehirn (nur 1,41%, 2 min nach intravenöser Applikation) auf. Die spezifische Bindung war aber mit Werten von bis zu 1,75 zwischen zwei und vier Stunden nach Injektion weitaus höher (145).

Diese Ergebnisse wurden an nichtmenschlichen Primaten bestätigt. Der Peak der spezifischen Bindung befand sich zwischen drei und vier Stunden (2).

Im Vergleich zum vorher schon erwähnten PET-Tracer [ $^{11}\text{C}$ ](+)McN5652 zeichnet sich [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM durch eine höhere totale Aufnahme ins Gehirn und eine höhere spezifische Bindung an den SERT aus (145). Diese Entwicklungen zeigen, dass minimale Veränderungen in der chemischen Struktur zwischen IDAM, ODAM und ADAM großen Einfluss auf die Verteilung der Substanz ins Gehirn und an den Transporter haben.

Im Weiteren durchlief [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM einige Testreihen bezüglich Verträglichkeit und Nebenwirkungen in verschiedenen Tiermodellen, wobei weder eine Gefährdung des Organismus noch eine Toxizität der Substanz nachgewiesen werden konnten (2, 109).

Schließlich wurden Ganzkörperuntersuchungen bezüglich der Verteilung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM am Menschen durchgeführt. Diese bestätigten die vorher tierexperimentell erhobenen Daten und bescheinigten der Substanz, dass sie ein sicherer und effektiver Radiotracer im Menschen für die Darstellung des Serotonintransporters ist (91).

### **3.4.2. Entwicklung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM**

Das Radionuklid  $^{123}\text{I}$ od ist ein im Zyklotron erzeugtes Nuklid, welches auch als neutronendefizientes Isotop beschrieben werden kann. Es wird in so genannten Kreisbeschleunigern (Zyklotron) durch den Beschuss von stabilen Targetnukliden mit hochenergetisch geladenen Teilchen (z.B. Protonen, Deuteronen, Heliumkernen) erzeugt.

Aufgrund der Defizienz an Neutronen zerfallen Zyklotronprodukte in der Regel unter Elektroneneinfang oder Positronenabgabe. Beide Zerfallsarten sind von besonderer Bedeutung für nuklearmedizinische Anwendungen. Beim Elektroneneinfang wird neben der begleitenden nieder- bis mittelenergetischen Gamma-Strahlung keine  $\beta$ -Strahlung frei, die das Gewebe beschädigen würde. Diese Nuklide erfüllen damit die Voraussetzung für diagnostische sichere Anwendungen in besonderer Weise.

$^{123}\text{I}$ od-markierte Radiopharmaka zeichnen sich durch ein für die Energieauflösung von Gamma-Kameras ideales mittleres Energiemaximum bei 159 KeV und einer Halbwertszeit von 13,2 Stunden aus (104).

Als Nachteil von mit Iod markierten Substanzen ist die Produktion in einem Zyklotron zu nennen, welches sich jedoch durch die recht lange Halbwertszeit von  $^{123}\text{I}$ od relativiert, da dadurch eine Anlieferung auch über relativ weite Strecken möglich gemacht wird.

Bei der Suche und Entwicklung eines SPECT-geeigneten mit  $^{123}\text{I}$ od markierten Derivates zur Darstellung des SERT stellte [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Vergleich zu anderen Substanzen, wie im vorherigen Kapitel beschrieben, den aussichtsreichsten Liganden dar (91). Alle

wichtigen und notwendigen Eigenschaften für die Darstellung von ZNS-Rezeptoren wurden eingehalten.

Mit einem Molekulargewicht von  $<750$  zeichnet sich diese Substanz durch seine geringe Größe, eine starke Lipophilie (Verteilungskoeffizient um 50 bis 1.000), hohe Bindungsaffinität ( $K_{(i)}=0,013\pm 0,003$ ) und Selektivität für den Serotonintransporter und durch eine gute Aufnahme ins Gehirn (im Tiermodell ca. 1,14%/Dose, 2 Minuten nach i.v. Injektion) aus (31).

In mehreren Studien wurde das ex vivo Bindungsverhalten von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Tierexperiment untersucht. Dabei bestätigte sich eine hoch selektive Anreicherung am SERT im Mittelhirn (31, 79, 110).

In weiteren Kleintierstudien wurde die veränderte Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT bei induzierten pathologischen Veränderungen gemessen. Dabei wurden zum einen Schäden an serotonergen Neuronen durch 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) induziert und zum anderen der endogene Serotonin-Level des Gehirns durch pCPA (ein Tryptophan Hydroxylase Inhibitor) gesenkt.

Bei den Kleintieren mit beschädigten serotonergen Neuronen wurde ex vivo eine ca. 50%-ige Reduktion der Aufnahme von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Hypothalamus und Hypokampus beobachtet, in anderen Gehirnregionen wie dem Frontalhirn und dem Striatum wurde nur eine Aufnahmeminderung von 15 bis 30% beobachtet. An Versuchstieren mit vermindertem Serotoninspiegel wurde eine erhöhte Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT beobachtet (31).

Es wurden Untersuchungen durchgeführt, bei welchen Tiere die Sättigungsdosis eines SSRIs (Selektive Serotonin Reuptake Inhibitor, Paroxetin) erhielten, welcher ebenfalls an den SERT bindet und diesen blockiert. Dies führte zu einem deutlichen Absinken der Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT (188). Diese Ergebnisse könnten auf eine in vivo Konkurrenz von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM und 5-HT um für die Bindung an den SERT hindeuten.

Messungen der Kinetik ergaben eine schnelle und selektive Bindung im Mittelhirn gesunder nichtmenschlicher Primaten bei kontrastreichen SPECT-Aufnahmen.

Verträglichkeitsuntersuchungen, die am Menschen bereits durchgeführt wurden, unterstützen das Ergebnis, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM ein spezifischer SPECT-Ligand für den Serotonintransporter ist. Dabei wurden keine Veränderungen an den Vitalparametern als Nebenwirkung des Radiopharmazeutikums festgestellt (139).

Diese Daten demonstrieren, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM ein spezifischer SERT-Radioligand ist, der für die in vivo Studien des zentralen serotonergen Systems geeignet ist. Dies untermauert die These, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM auch beim Menschen Störungen des serotonergen Neuro-

transmittersystems gut darstellen und somit maßgeblich zum weiteren Verständnis von Erkrankungen dieses Systems beitragen kann.

Die wichtigste und entscheidende Bedeutung könnte [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM bei der Vorhersage des Ansprechens von Therapien mit Antidepressiva sowie deren Therapieüberwachung zukommen. So gelang es bereits in einer Studie mit [ $^{123}\text{I}$ ]β-CIT, das teilspezifisch für den SERT ist, Vorhersagen über das Ansprechen von Therapien mit Antidepressiva zu treffen. Je höher die SERT-Dichte im Diencephalon der untersuchten depressiven Probanden war, desto besser sprachen sie auf die gegebenen SSRIs an (95).

Würden sich diese Ergebnisse mit [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM bestätigen, könnte das einen deutlichen Schritt in der Verbesserung der Vorhersagemöglichkeiten für das Ansprechen der Therapie mit Antidepressiva nach sich ziehen und somit auch von großem Nutzen für die Patienten sein.

## **4. Ziele der vorliegenden Arbeit**

### **4.1. Etablierung eines funktionsfähigen Mikro-SPECT-Systems**

#### **4.1.1. Phantomexperimente**

Das Ziel des ersten Teils der hier vorliegenden Arbeit war es, die physikalischen Leistungsgrenzen des verwendeten Pinhole-SPECT-Systems zu bestimmen. Die gewonnenen Erkenntnisse dienen dazu, das System für die folgenden Kleintierexperimente zu optimieren. Es wurden drei sich grundlegend voneinander unterscheidende Phantomtypen verwendet.

Da der durch die Pinhole-Kollimatoren erzeugte Vergrößerungseffekt bereits bei kleinsten Fehlstellungen einer der drei Kameraköpfe zu fehlerhaften Überlagerungen bei der Rekonstruktion der Aufnahmen führt, wurde in dieser Studie ein Fünfpunktphantom verwendet. Aufnahmen dieses Phantoms fanden vor allen anderen gemachten Untersuchungen statt. Sie sollen der Kalibrierung der drei Kameraköpfe in alle Translations- und Rotationsrichtungen dienen. Durch den Einsatz dieses Phantoms soll versucht werden, die Unregelmäßigkeiten bei der Rekonstruktion zu minimieren.

Bei einem weiteren verwendeten Phantom handelte es sich um das so genannte Kapillar-Phantom. Da es sich bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Pinhole-System um ein experimentelles System handelt, sollte mit Hilfe dieser Experimente aufgeklärt werden, wie hoch die maximale Auflösung des Systems unter Verwendung der verschiedenen Pinholeaufsätze ist. Des Weiteren sollte untersucht werden, wie sich die Auflösung an verschiedenen Orten des Aufnahmegebietes verhält.

Bei dem letzten in dieser Studie verwendeten Phantom handelte es sich um ein Struktur-Phantom. Da neben der Auflösung auch die Sensitivität des Systems von enormem Interesse war, sollte sie mit Hilfe dieses Phantoms für die einzelnen Systemkonfigurationen bestimmt werden. Zusätzlich erlaubte dieses Phantom eine direkte optische Auflösungsbeurteilung.

#### **4.1.2. Tierstudien**

Da es sich bei [<sup>123</sup>I]ADAM um ein innovatives und radiochemisch aufwendig zu markierendes Radiopharmazeutikum handelt, wurden die Untersuchungen zur Etablierung des Systems zunächst mit [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT durchgeführt. Dabei handelt es sich um einen Liganden mit hoher Affinität an den Dopamintransporter (DAT). Dieses Radiopharmakon wurde autoradiographisch sowie mit Hilfe von anderen Mikro-SPECT-Systemen bereits

verwendet (3) und eignet sich somit gut für Vorversuche zur Etablierung eines neuen Systems, da schon Vergleichsdaten vorliegen. Da es sich jedoch bei [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT um ein mit Technetium markiertes Radiopharmazeutikum handelt, wurden in einem weiteren Zwischenschritt Untersuchungen mit einem  $^{123}\text{I}$  markierten Radiopharmakon durchgeführt. Dabei handelt sich um [ $^{123}\text{I}$ ]IPT, einem Liganden ebenfalls für den Dopamintransporter (DAT). Damit sollte nachgewiesen werden, dass auch mit  $^{123}\text{I}$  markierten Substanzen Aufnahmen hoher Qualität erzielt werden können.

Ziel war es zu zeigen, dass das in dieser Studie etablierte und verwendete Mikro-SPECT-System in der Lage ist, Aufnahmen hoher Sensitivität und Auflösung bei der Untersuchung des monoaminergen Systems in Kleintieren zu liefern. Es sollen damit optimale Voraussetzungen für die in vivo Evaluierung des innovativen Radioliganden [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM geschaffen werden.

Nach Abschluss der Etablierungsversuche mit den vorher genannten Substanzen wurden Markierungsstudien mit [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM durchgeführt.

Im Rahmen der präklinischen Evaluierung eines neuen Radiopharmazeutikums zur in vivo Untersuchung ist es wichtig, an Kleintieren die hohe Spezifität und Selektivität eines Radioliganden an die neuronalen Transporterbindungsstellen demonstrieren zu können. Ziel dieses Teils der Arbeit war es, nach Etablierung eines dafür geeigneten Systems, die spezifische Bindung des Radioliganden an den SERT im Bereich des Mittelhirns in vivo nachzuweisen. Zusätzlich wurden in vivo Blockadestudien mit Fluoxetin durchgeführt, um die [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM-Bindungsstellen zu untersuchen. Die erfolgreiche Einführung der selektiven SERT-Inhibitoren in die klinische Therapie von in erster Linie depressiven Störungen macht die Bedeutung dieses Transportsystems deutlich.

Die Resultate dieser Studien liefern wichtige Erkenntnisse über die Spezifität der in vivo Bindung des Radiopharmazeutikums an den SERT. Sie erlauben ebenfalls Schlüsse über die möglichen Einsatzmöglichkeiten des Liganden an Patienten, die unter dieser Medikation stehen.

## **4.2. Darstellung des serotonergen Systems mit [<sup>123</sup>I]ADAM am Menschen**

### **4.2.1. Probanden und Patienten**

#### **4.2.1.1. Gesunde Probanden**

Im nächsten Schritt der präklinischen Evaluierung des innovativen Radiopharmazeutikums [<sup>123</sup>I]ADAM muss seine Bindung an den SERT bei gesunden Probanden untersucht werden. Zur Bestimmung der kinetischen Parameter kann mit Hilfe der dynamischen SPECT-Messung die Biodistribution des Radioliganden im Gehirn in sehr kurzen Zeitintervallen untersucht werden. Dabei soll die Anlagerung und das Auswaschen des Radiotracers in verschiedenen Gehirnregionen untersucht werden.

Die durch [<sup>123</sup>I]ADAM entstandene Möglichkeit, serotonerge Neurone im Menschen zu untersuchen, ist ein viel versprechendes Werkzeug, um dieses System zu erforschen und Veränderungen bei Erkrankungen, die dieses System betreffen, darzustellen.

#### **4.2.1.2. Patienten mit depressivem Syndrom**

Zur Evaluierung von [<sup>123</sup>I]ADAM als potentiell nützliches Radiopharmazeutikum zur Darstellung und Untersuchung des Serotonintransporters sollen in diesem Teil der Arbeit Ergebnisse an Patienten mit gesicherter Diagnose einer endogenen Depression vorgestellt werden. Ziel dieser Studie war es, einen potentiellen Unterschied in der Dichteverteilung des SERT bei gesunden Probanden im Vergleich zu unbehandelten Patienten mit einem depressiven Syndrom zu untersuchen.

Damit soll die Möglichkeit der potentiellen bildgebenden Diskriminierung zwischen gesunden Probanden und depressiven Patienten eruiert werden.

#### **4.2.1.3. Patienten mit Fibromyalgie**

Ziel dieses Teils der Studie war es, einen gegebenenfalls vorhandenen Unterschied zwischen einem Normalkollektiv und unbehandelten Patienten mit Fibromyalgie zu untersuchen. Des Weiteren sollte auch die Wirkung von Tropicsetron (Navoban<sup>®</sup>), ein 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonist, welcher erfolgreich bei der Behandlung des Fibromyalgiesyndroms eingesetzt wird, auf den SERT durch entsprechende Messungen vor Therapiebeginn und vier Wochen danach untersucht werden (165, 166).



## 5. Material und Methodik

### 5.1. Pharmazeutika und Radiomarkierung

#### 5.1.1. [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT und [<sup>123</sup>I]IPT

[<sup>99m</sup>Tc]TRODAT (99m-Technetium[2-[[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo-[3.2.1]oct-2-yl]-methyl] (2-mercaptoethyl) amino] ethyl] amino] ethane-thiolato(3-)-N<sub>2</sub>,N<sub>2</sub>',S<sub>2</sub>,S<sub>2</sub>']oxo-[1R-(exo-exo)]) ist ein zur Darstellung des präsynaptischen Dopamintransporters (DAT) verwendetes Radiopharmazeutikum.

Im Vergleich zu [<sup>123</sup>I]ADAM ist es kostengünstiger, da es mit 99m-Technetium zu markieren ist.

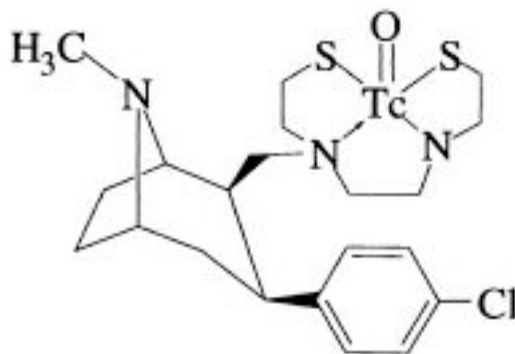


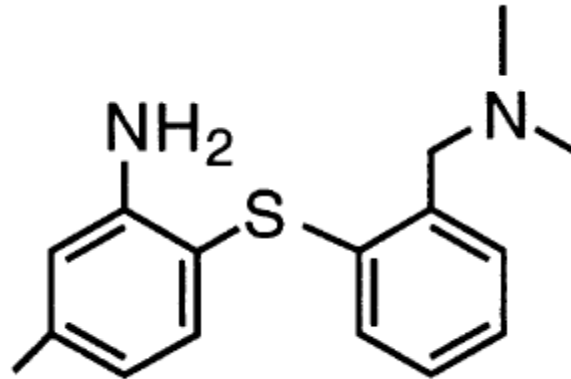
Abbildung 7: Strukturformel des Radioliganden [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT

IPT (N-(3-iodopropen-2-yl)-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-chlorophenyl)tropane) ist ein mit <sup>123</sup>Iod markiertes Kokain-Analogon, das ebenfalls selektiv an den präsynaptischen Dopamintransporter (DAT) bindet.

Die Synthese und Markierung dieser Substanzen erfolgte nach bereits veröffentlichten Methoden (100, 132).

### 5.1.2. [<sup>123</sup>I]ADAM

[<sup>123</sup>I]ADAM, Iod-123[2-[[2-<sup>22</sup>Dimethylamino]methyl]phenyl] thio] -5 iodophenylamine] wird durch eine Radiomarkierung mit <sup>123</sup>Iodid hergestellt. In dieser Arbeit soll nur auf die Radiomarkierung von [<sup>123</sup>I]ADAM eingegangen werden, da die genaue Synthese von ADAM zu weit führen würde und außerdem in der Literatur ausführlich beschrieben wurde (145).



**Abbildung 8:** Strukturformel von ADAM ([2-[[2-<sup>22</sup>Dimethylamino]methyl]phenyl]thio]-5-iodophenylamine].

Bei der Radiomarkierung von [<sup>123</sup>I]ADAM wird als Erstes der Vorläufer (Bu)<sub>3</sub>Sn-ADAM (50µg) in 96% EtOH aufgelöst. Simultan wird in einer anderen Lösung zu 1N HCL (100µl) die gewünschte Menge Na[<sup>123</sup>I]Iodid hinzugegeben. Die auf diesem Wege angesäuerte [<sup>123</sup>I]Iodid-Lösung wird in eine 1-ml-Spritze aufgezogen und zu der Salpetersäure-Lösung gegeben. Unverzüglich wird die 3%-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung (100µl) hinzugefügt. Diese beiden Gemische sollen nun zehn Minuten lang miteinander reagieren. Daraufhin werden 100µl gesättigte NaHSO<sub>4</sub>-Lösung langsam zugefügt. Zur Entfernung des reduzierten Iods wird das mit einem Aktivkohlefilter versehene Reaktionsgefäß mit 10 ml Luft gespült.

Als letzter Schritt der Markierung wird nun das Reaktionsgefäß geöffnet und Carbonat-Lösung (1,5ml) zur Neutralisation langsam hinzugefügt. Nach einer Abreaktionszeit von ca. vier Minuten wird das Reaktionsgemisch in eine Glasspritze aufgezogen.

Nun folgt noch die Aufarbeitung des Gemisches. Hierzu wird das Reaktionsgemisch auf eine SPE-Kartusche aufgegeben und nacheinander zur Reinigung mit folgenden Substanzen gespült.

Als Erstes folgt die Abtrennung der hydrophilen Verunreinigungen mit H<sub>2</sub>O. Daraufhin folgt die Entfernung von lipophileren Substanzen mit 40% EtOH. Als Letztes wird nochmals mit 96% EtOH eluiert, um das Produkt optimal zu isolieren. Nun wird die mit 5 ml Aqua ad

injection verdünnte Lösung durch einen Sterilfilter mit der Porenweite von 22 µm gefiltert und in sterile Fläschchen gegeben.

Das so synthetisierte [<sup>123</sup>I]ADAM muss anschließend eine Qualitätskontrolle durchlaufen. Diese geschieht mittels einer Reversed-Phase-HPLC-Analyse unter Verwendung einer Hamilton PRP-1 7µm, 4,1•250 mm Säule. Als Eluens wird CH<sub>3</sub>CN/5 mM DMGA (pH 7) 90:10 mit einer Fließrate von 1ml/min verwendet. Unter diesen Bedingungen beträgt die Retentionszeit ca. zehn bis 15 Minuten. Die chemische Reinheit des Endproduktes sollte bei korrekter Durchführung mehr als 90% betragen.

### **5.1.3. Sonstige pharmakologisch wirksame Substanzen**

Die in dieser Arbeit verwendeten Psychopharmaka, wie Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) und Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>), wurden von Sigma-Aldrich (Eschestraße 5, 582024 Taufkirchen) erworben.

Bei Fluoxetin handelt es sich um einen selektiven Inhibitor des Serotonintransporters (SERT) (74). Methylphenidat hingegen blockiert die Bindung von Dopamin an den Dopamintransporter (DAT) (140).

Sämtliche Substanzen wurden kurz vor den Versuchen in 50 µl frischer physiologischer Kochsalzlösungen aufgelöst und in Spritzen aufgezogen.

## 5.2. Mikro-SPECT

### 5.2.1. Aufbau der Pinhole-Kollimatoren

Alle Aufnahmen wurden von einer Prism 3000XP Dreikopfkamera, die bereits in einem vorausgegangenen Kapitel beschrieben wurde, gemacht. Ausgerüstet wurde diese Kamera mit eigens für dieses Gerät angefertigten Pinhole-Kollimatoren. Die Pinhole-Kollimatoren hatten eine fokale Länge von 16 cm. Sie waren 18 cm breit und 40 cm lang und entsprachen somit im Grundriss den Maßen der Gamma-Kamera.

Als Aufsätze für die Kollimatoren standen Ein-Loch- sowie Sechs-Loch-Adapter zur Verfügung. Die Durchmesser der Bohrlöcher betrugen 0,5; 1; 2 oder 3 mm. Zusätzlich war es möglich, bei Verwendung der Sechs-Loch-Adapter eine Trennwand in den Kollimator einzusetzen.

Der Körper der Pinhole-Kollimatoren wurde aus Blei angefertigt. Die einschiebbaren Adapter bestanden jedoch aus Wolfram, da dieses bessere Eigenschaften zur Schwächung von Gamma-Strahlen besitzt.

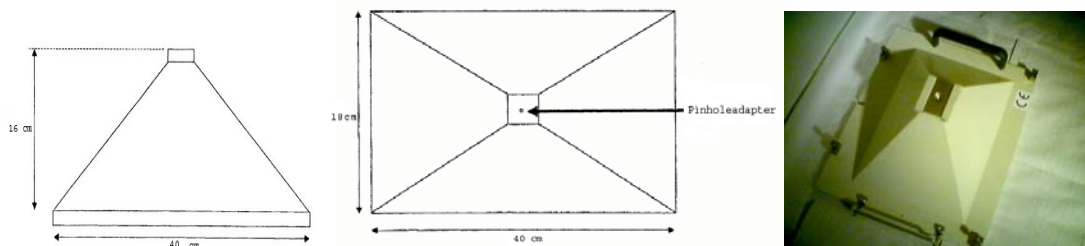


Abbildung 9: Schematische Zeichnung des Aufbaus der Pinhole-Kollimatoren sowie die Fotografie eines unmontierten Pinhole-Kollimators.

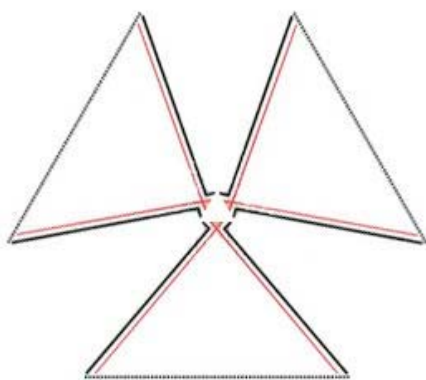


Abbildung 10: Links: Die Abbildung stellt die verwendeten Wolfram-Pinholeaufsätze dar. (Linkes Bild, links: Sechs-Loch-Pinholeaufsätze mit von oben nach unten 3, 2, 1 mm Öffnungsdurchmesser; linkes Bild, rechts: Ein-Loch-Pinholeaufsatz mit von oben nach unten 3, 2, 1mm Öffnungsdurchmesser. Rechtes Bild: Aufnahme des Pinhole-SPECT-Systems mit montierten Pinhole-Kollimatoren.)

### 5.2.2. Bildakquisition und Auswertung

Die zu untersuchenden Objekte, also entweder das Phantom oder das Versuchstier, wurden im Rotationszentrum der drei Kameraköpfe befestigt. In jeweils vorher bestimmten Winkelschritten wurde das Objekt erfasst. Dies geschah mit drei rotierenden Detektorköpfen, die jeweils  $120^\circ$  auseinander lagen. Die Köpfe rotierten um das zu untersuchende Objekt in einem Rotationsradius von 7 cm oder weniger, abhängig von der strukturellen oder anatomischen Beschaffenheit. In allen Aufnahmen betrug die Bildmatrix  $128 \cdot 128$  Pixel.

Sofern es sich bei den untersuchten Objekten um Versuchstiere handelte, wurden diese in Zylindern von einem Durchmesser von 3,5 cm sicher befestigt. Somit konnte ein kleinstmöglicher Rotationsradius von 4 cm und eine sichere Befestigung der Versuchstiere während der gesamten Untersuchung gewährleistet werden. Dies trug sowohl zu einer geringstmöglichen Belastung für das Versuchstier als auch zur hohen Bildqualität bei.



**Abbildung 11: Links: Schematische Darstellung der Anordnung der drei Pinhole-Kollimatoren um das untersuchte Objekt. Rechts: Photographie des experimentellen Aufbaus bei der Datenakquisition im Tierexperiment.**

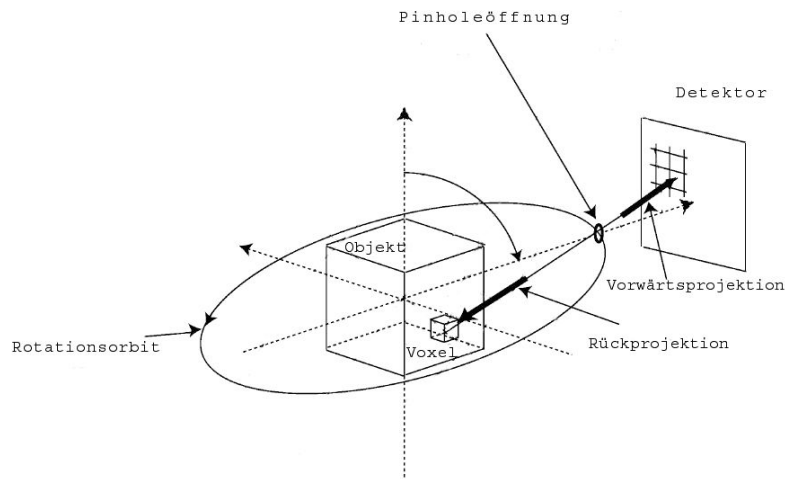
Das Energiefenster für die Messungen mit  $^{99m}\text{Tc}$  betrug 15% mit dem Photopeak bei 140 KeV. Für  $^{123}\text{I}$  wurde ein 20%-iges, asymmetrisches Energiefenster mit einer unteren Grenze bei 159 KeV verwendet. Die Sensitivität der Kollimatoren wurde stets in counts per second (cps)/MBq angegeben.

Sofern nicht anders aufgeführt, wurden alle Tierexperimente mit einem Rotationsradius von 4 cm durchgeführt. Dabei wurden mit 40 Winkelschritten zu jeweils  $3^\circ$  insgesamt  $120^\circ$  abgedeckt. Jeder Winkelschritt dauerte 45 Sekunden.

Aufgrund des so gewählten Aufnahmeprotokolls wurden von jedem der drei Gamma-Kameraköpfe  $120^\circ$  der Gesamttrotation abgedeckt. Damit war gewährleistet, dass jedem Messkopf eine maximal lange Messzeit zukam. Dies führte zu einer Verbesserung der Aufnahme-statistik.

### 5.2.3. Rekonstruktion

Aus den durch die Aufnahmen der Kameraköpfe gewonnenen zweidimensionalen Daten auf den Detektoren müssen mit Hilfe der Rekonstruktion wieder dreidimensionale Daten erzeugt werden. Dafür stehen verschiedene Rekonstruktionsmöglichkeiten zur Verfügung.



**Abbildung 12: Schematische Darstellung des Rotationsorbites, des untersuchten Objekts, eines Detektors sowie der Vorwärts- und Rückprojektionen.**

Für die Rekonstruktion der Daten wurde zum einen die von Acton et al. für diese Art von Kollimatoren bereits entwickelte Methode verwendet. Diese basiert auf der simultanen algebraischen Rekonstruktionstechnik (SART) mit einer Korrektur des Rotationszentrumsfehlers (Center of Rotation Errors) (5).

Diese iterative Methode basiert auf folgendem Prinzip: Auf Basis einiger gewonnener Daten macht der Computer zunächst eine grobe Schätzung, wie das zu rekonstruierende Objekt auszusehen hat. Nun wird mit Hilfe der errechneten Rückprojektionen verglichen, wie gut die gemessenen zu den geschätzten Daten passen. Daraufhin werden die Unterschiede bestimmt und die Werte additiv korrigiert. Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, bis ein zufrieden stellendes Ergebnis erreicht wird.

Der Rotationszentrumsfehler wird von Acton et al. jedoch nur für eine Translationsrichtung, die dem Abstand der Kameraköpfe vom Rotationszentrum entspricht, korrigiert. Die Strahlendivergenz wird vernachlässigt.

Vorteil dieser Rekonstruktionsmethode ist, dass nach sehr kurzer Rekonstruktionszeit Bilder in hoher Auflösung vorliegen.

Alternativ dazu wurde im Rahmen dieser Arbeit eine weiterentwickelte Methode verwendet. Diese basiert auf der RAMLA-Methode (Row Action Maximum Likelihood Algorithm). Dabei werden die bei der SART-Methode verwendeten Voxel durch kugelsymmetrische, überlappende Volumenelemente (Blobs) ersetzt.

Vorteil dieser Blobs ist es, dass sie größer sind als die sonst verwendeten Voxel und somit schon bei der Rekonstruktion als Glättungsfiler wirken.

Ein weiterer Vorteil ist, dass sie im Gegensatz zu den Voxel aufgrund ihrer kugelsymmetrischen Form aus allen Aufnahmewinkeln gleich aussehen und somit die Rekonstruktion wesentlich vereinfachen.

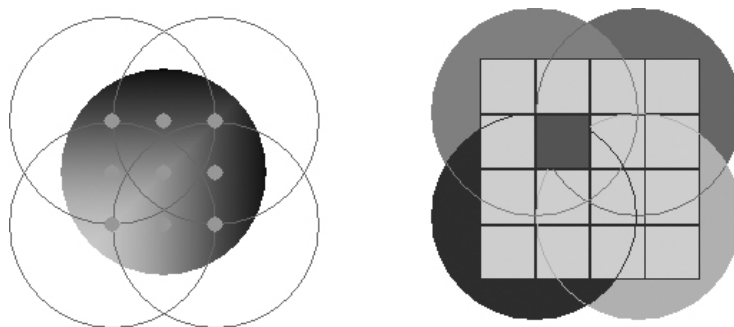
Ähnlich wie bei der SART-Methode wird auch bei der RAMLA-Methode zuerst vom Computer aufgrund einiger gemessener Daten eine Schätzung abgegeben, wie das Bild aussehen könnte und dann die Differenz zu den gemessenen Daten errechnet. Die Werte werden jedoch multiplikativ und nicht additiv korrigiert.

Des Weiteren wurde bei der Rekonstruktion der Daten in der vorliegenden Arbeit die Strahlendivergenz berücksichtigt.

Die in dieser Arbeit verwendeten Blobs hatten einen Radius von 0,78 mm und befanden sich in einem Abstand von 0,65 mm voneinander.

Der Rotationszentrumsfehler wurde mit Hilfe eines Fünf-Punkt-Phantoms vor allen Tieraufnahmen für alle sechs Translations- und Rotationsrichtungen korrigiert. Somit konnte eine ideale Abstimmung aller drei Kameraköpfe aufeinander gewährleistet werden. Die Folge war, dass jeder Kamera-Kopf während der Aufnahme nur noch  $120^\circ$  rotiert werden musste, und nicht  $360^\circ$ , was zu einer Verbesserung der Aufnahmestatistik führte.

Als Nachteil dieser weiterentwickelten Methode ist jedoch zum einen zu nennen, dass die Blobs, sobald sie zu groß gewählt werden oder zu weit auseinander liegen, das Bild zu stark filtern und somit relevante Informationen verloren gehen.



**Abbildung 13:** Links: Bildrekonstruktion (Projektion, Rückprojektion), welche den Raum der überlappenden und glatten Blobs benutzt; rechts: Bilddarstellung in Voxelform der Summen aller Blobs, die sich in diesem Voxel überschneiden. Abbildung nach (126).

Zum anderen führt dies dazu, dass sich die Rekonstruktionszeit der Bilder erheblich verlängert. Es wird jedoch eine bessere Abgrenzung des Bildes zu dem Hintergrundrauschen erzielt. Wenn nicht anders erwähnt, wurden alle Aufnahmen mit Hilfe der RAMLA-Methode rekonstruiert.

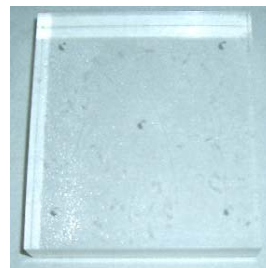
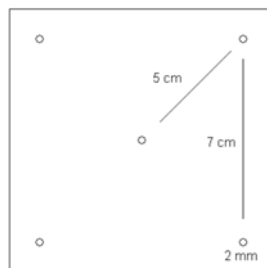
Genauer auf diese beiden Rekonstruktionsverfahren einzugehen, würde über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen und ist zudem in der Fachliteratur bereits beschrieben worden (8, 123).

## 5.2.4. Phantomexperimente

### 5.2.4.1. Fünf-Punkt-Phantom

Das bei den Versuchen verwendete, selbst angefertigte Fünf-Punkt-Phantom bestand aus quadratischem Plexiglas, in welchem sich im Abstand von 7 cm Bohrungen von 1,5 mm Tiefe befanden.

Der Rotationsradius betrug 8 cm. Das Aufnahmeprotokoll beinhaltete 40 Winkelschritte zu jeweils  $3^\circ$  über 8,9 min. Die Bohrungen waren mit jeweils einer vorher bestimmten Menge  $^{99m}\text{Tc}$ -Pertechnetat gefüllt.



**Abbildung 14:** Darstellung des in diesen Versuchen als Kalibrierungs-Phantom verwendeten Fünf-Punktphantoms, sowohl schematisch (li.) als auch als Foto (re.).

### 5.2.4.2. Kapillar-Phantom

Vier orthogonal zueinander angeordnete Kapillarröhren mit einer Länge von 3 cm und mit einem Innendurchmesser von 0,7 mm wurden verwendet. Diese waren mit ca. 1 MBq [ $^{99m}\text{Tc}$ ]pertechnetate gefüllt.

Es wurde die Auflösung für alle Pinholeaufsätze bestimmt. Der Rotationsradius betrug 4 cm. Sie wurden auf eine  $128 \times 128$  Pixel Matrix mit einer Pixelgröße von 0,62 mm projiziert. Die Bilder wurden mit Hilfe der BLOB-Methode rekonstruiert, was zu einer Bildpixelgröße von 0,78 mm führte.



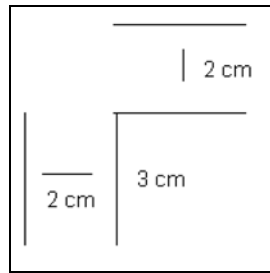


Abbildung 15: Links: Photographie der Kapillaren. Rechts: Schematische Darstellung der Anordnung der Kapillaren im Aufnahme- und Messfeld.

### 5.2.4.3. Struktur-Phantom

Das verwendete Strukturphantom bestand aus Plexiglas mit 121 Bohrungen, die in Gruppen mit jeweils verschiedenem Durchmesser angeordnet waren.

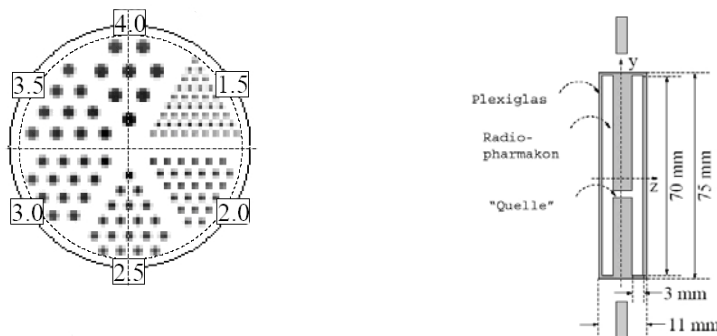


Abbildung 16: Links: Dies ist eine transaxiale Darstellung des zylindrischen Strukturphantoms. Die dargestellte Quellenverteilung dient als Schablone für den Aufbau des Strukturphantoms. Rechts: Axiale Sicht auf das Strukturphantom. Der Übersicht wegen ist nur eine der 121 Bohrungen eingezeichnet. Vor und hinter der abzubildenden Ebene waren Areale von ca. 3 mm axialer Tiefe, die zur besseren Verteilung des Radiopharmakons in die Löcher dienten.

Es wurden standardisierte Aufnahmen des Strukturphantoms angefertigt, um die Auflösung des Pinhole-Systems bei sowohl verschiedenen Pinhole-Durchmessern (0,5; 1; 2; 3 mm) als auch bei verschiedenen Pinhole-Anzahlen (1; 6) zu ermitteln.

Dabei wurden jeweils 250 MBq Tc-99m in das Phantom injiziert. Es wurde ein Gesamtradius von  $360^\circ$  abgedeckt. Dies geschah in 120 Winkelschritten zu jeweils  $3^\circ$ . Jeder einzelne Schritt dauerte 15 sek. Der Rotationsradius betrug 8 cm.

Die Aufnahmen wurden mit Hilfe der BLOB-Methode rekonstruiert, was zu hochauflösenden Aufnahmen mit einer Pixelgröße von 0,78 mm führte.

## 5.2.5. Tierstudien

### 5.2.5.1. Durchführung der Tierexperimente

Für alle Experimente wurden männliche Sprague-Dawley Ratten (200-250g) verwendet. Das Körpergewicht betrug im Mittel 230 g, die Körperlänge 35,6 cm. Die Tierexperimente wurden nach Zustimmung der Ethikkommission und der Regierung von Oberbayern durchgeführt. Durch Inzuchtstämme wurde genetische Uniformität gewährleistet (189).

Zur Stressvermeidung befanden sich die Tiere schon einige Tage vorher zur Beruhigung im Labor.



**Abbildung 17: Foto einer Sprague-Dawley Ratte nach Einleiten der Narkose und nach Anlegen der Narkosemaske.**

Narkose und Radiopharmazeutikum wurden ausnahmslos vom selben Untersucher appliziert. Die Narkoseeinleitung fand mit 5 Vol% Isofluran in Kombination mit 1,9 ml/min O<sub>2</sub> statt. Die Tiere befanden sich während der gesamten Versuchsdauer in einer 1 Vol% Isoflurannarkose mit einem O<sub>2</sub>-Flow von 1.0 l/min. Teilweise wurde die Narkosetiefe an die sich ändernde Atemfrequenz des Versuchstiers auf bis zu 2,0 Vol% Isofluran mit 1,6 l/min O<sub>2</sub> angepasst. Die Versuchstiere wurden während der laufenden Versuche mit Hilfe einer Wärmelampe gewärmt (131, 179).

In Abhängigkeit vom geplanten Experiment wurde den Ratten das verwendete Radiopharmakon sowie verschiedene pharmakologische Substanzen in die vorher freipräparierten V. femoralis injiziert.



**Abbildung 18: Foto der Injektion des Radiopharmazeutikums in die V. femoralis der Ratte.**

Alle Tierstudien wurden mit Pinhole-Kollimatoren mit einer Bohrung mit einem Öffnungsdurchmesser von 1 mm durchgeführt. Wenn nicht anders beschrieben, wurden bei Aufnahmen mit [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT Aktivitäten von 900-1000 MBq injiziert und bei Aufnahmen mit [<sup>123</sup>I]ADAM und [<sup>123</sup>I]IPT Aktivitäten von 400-500 MBq injiziert.

Die pharmakologisch wirksamen Substanzen wurden in folgenden Dosen injiziert: Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) jeweils in einer Dosis von 2 mg/kg (48) und Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) in einer Dosis von jeweils 5 mg/kg (124). Sämtliche pharmakologische Substanzen wurden 15 Minuten vor Injektion des Radiopharmakons injiziert.

Nach Beendigung der Versuche wurden die Ratten unter Anästhesie nach Eröffnung des Thorax durch Extraktion des Blutes aus dem linken Herzen sowie manueller Distraction des Rückenmarks getötet (131).

#### **5.2.5.2. [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT und [<sup>123</sup>I]IPT an Ratten**

Zur Etablierung des Systems wurden insgesamt sieben Ratten mit dem Radiopharmazeutikum [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT untersucht. Dabei wurden an vier unbehandelten Ratten Kinetikstudien durchgeführt.

Drei weitere Ratten wurden nach der Gabe von 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) untersucht. Mit Hilfe von solchen Blockadestudien kann die Spezifität eines Radioliganden für eine gewisse Struktur nachgewiesen werden. Die Untersuchungsdauer betrug jeweils vier Stunden.

Um die Aufnahmeparameter für mit <sup>123</sup>I-markierten Substanzen optimal einstellen zu können, wurde eine unbehandelte Ratte mit dem <sup>123</sup>I-markierten IPT untersucht. Eine weitere wurde nach Gabe von 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) untersucht. Die Untersuchungen dauerten jeweils vier Stunden.

#### **5.2.5.3. [<sup>123</sup>I]ADAM an Ratten**

Kinetikstudien zur in vivo Bindung des innovativen Radioliganden [<sup>123</sup>I]ADAM am SERT wurden an insgesamt vier unbehandelten Ratten durchgeführt. Drei weitere Versuchstiere wurden nach der Gabe von Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) in einer Dosis von jeweils 5 mg/kg untersucht. Die Dauer der Messungen betrug jeweils fünf bis sechs Stunden.

## **5.3. SPECT**

### **5.3.1. Bildakquisition und Auswertung**

#### **5.3.1.1. SPECT-Akquisition**

Alle Studien am Menschen wurden an einer Picker Prism 3000 XP 3-Kopf Gamma-Kamera durchgeführt. Hierbei wurden in 120 Winkelschritten à 3° insgesamt 360° erfasst. Der Winkel zwischen den drei Detektorköpfen betrug jeweils 120°. Abhängig von der anatomischen Beschaffenheit der untersuchten Personen betrug der Rotationsradius 13 cm oder weniger. In allen Aufnahmen betrug die Bildmatrix 128•128 Pixel. Dies lässt die Berechnung einer Pixelgröße von 2,11 mm in der Projektionsebene zu. Es wurden bei allen Aufnahmen konvergierende und fokussierende High-Resolution-Fan-Beam-Kollimatoren verwendet. Bei den Messungen von [<sup>123</sup>I]ADAM wurde ein asymmetrisches Energiefenster mit 20% und einem Photopeak bei 159 keV benutzt.

Bei der gesunden Kontrollgruppe zur Untersuchung der Kinetik von [<sup>123</sup>I]ADAM und dessen Bindung an den Serotonintransporter wurden 120 dynamische SPECT-Untersuchungen über 300 Minuten oder 0-5h p.i. angefertigt. Die durchschnittlich injizierte Menge Aktivität betrug ca.185 MBq. Sie wurde in die V. brachialis injiziert.

Sowohl für die Untersuchung der Patienten mit depressivem Syndrom als auch für die Untersuchung der Patienten mit Fibromyalgie, vor und nach Therapie, wurde das folgende Aufnahmeprotokoll verwendet.

Den Patienten wurden im Schnitt ebenfalls 185 MBq [<sup>123</sup>I]ADAM in die Vena brachialis injiziert, nach drei Stunden wurden jeweils 20 Scans á fünf Minuten durchgeführt.

#### **5.3.1.2. Bildrekonstruktion und -nachbearbeitung**

Nach Beendigung der Aufnahmen wurden alle gewonnenen Rohdaten auf eine Odyssee-Workstation transferiert und dort weiterverarbeitet. Hier erfolgte zunächst eine Addition der Rohdaten sowie eine Multiplikation mit dem Scale Faktor 5. Anschließend wurden die Daten mit Hilfe der gefilterten Rückprojektion rekonstruiert. Um das noch vorhandene störende Bildrauschen zu unterdrücken, wurde ein glättender Softwarefilter, ein so genannter Low Pass Filter, verwendet. Um ein optimales Verhältnis zwischen der Reduktion des Bildrauschens und guter Auflösung zu erhalten, wurde eine „Cut-Off-Frequenz“ von 0,26 benutzt. Daraufhin erfolgte eine Schwächungskorrektur nach Chang`s First Order Methode. Diese wird zur Berücksichtigung der Abschwächung der

Gammaquanten, welche sowohl von dem durchdrungenen Gewebe als auch von dem Gammaquant selbst abhängig sind, benutzt.

Als letzter Schritt wurden die Datensätze manuell reanguliert. Hierdurch wird gewährleistet, dass für die weitere Auswertung bei allen Untersuchungen gleiche Schnittschichten durch die jeweiligen Gehirne verwendet werden können.

### 5.3.1.3. *Regions of Interest*

Zur Bestimmung der Anreicherung des verwendeten Radiopharmakons [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM in den einzelnen Arealen des Gehirns wurde die Region of Interest Methode (ROI) verwendet. Die Regionen wurden bei jedem Untersuchten individuell angepasst, um alle individuellen anatomischen Eigenheiten bestmöglich berücksichtigen und die zu untersuchenden Strukturen so exakt wie möglich erfassen zu können. Die jeweils relevanten Regionen waren bei sagittalen Aufnahmen das Frontal-, Parietal-, Occipetalhirn, das Cerebellum und das Mittelhirn. Bei den transversalen Aufnahmen waren es Mittel-, Frontal-, Occipetalhirn und das Cerebellum.

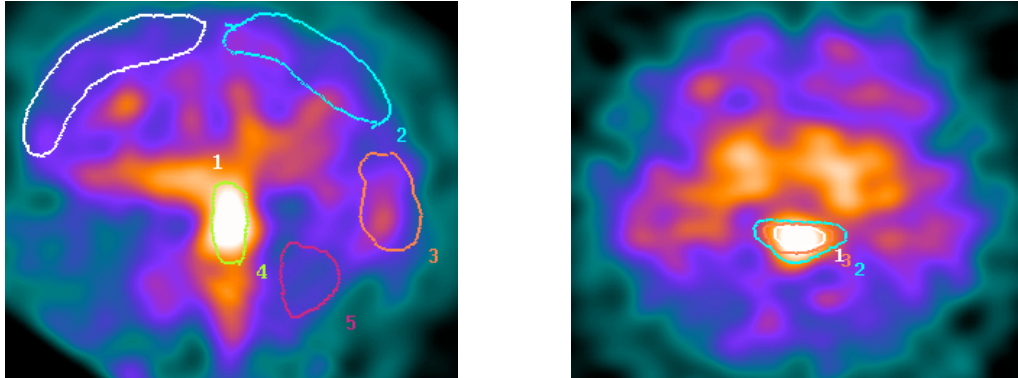


Abbildung 19: Sagittales und transversales SPECT-Bild des Gehirns mit eingezeichneten Regions of Interest. Die markierten Strukturen entsprechen dem frontalen Kortex (linkes Bild 1), dem parietalen Kortex (links, 2), dem occipitalen Kortex (links, 3), dem Cerebellum (links, 5) sowie dem Mesencephalon (links, 4; rechts, 1,2,3).

## **5.3.2. Probanden und Patienten**

### **5.3.2.1. [<sup>123</sup>I]ADAM bei gesunden Probanden**

Bei den gesunden Probanden waren keine akuten oder chronischen Krankheiten bekannt, welche die Aufnahme, Anreicherung, Metabolisierung und Ausscheidung des Radiopharmakons hätten verändern können. Die freiwilligen Probanden standen weder unter einer Medikation, noch wurden Drogen eingenommen. Es war keine neurologische oder psychiatrische Erkrankung bekannt.

Die Untersuchung wurde erst nach der Genehmigung der Studie durch die zuständige Aufsichtsbehörde und die Ethikkommission durchgeführt. Zusätzlich wurden die Probanden über die Studie aufgeklärt und mussten schriftlich zustimmen.

#### **5.3.2.1.1. Untersuchungen zur Kinetik**

Es wurden dynamische SPECT-Untersuchungen durchgeführt, um den idealen Untersuchungszeitpunkt nach intravenöser Injektion von [<sup>123</sup>I]ADAM zu bestimmen. Es erfolgte an zwölf gesunden Probanden eine Datenakquisition über 300 Minuten ab Injektionszeitpunkt.

Zehn Probanden waren männlich und zwei weiblich. Das mittlere Alter betrug 38 Jahre mit einer Standardabweichung von dreizehn Jahren. Das Alter variierte zwischen 22 und 61 Jahren.

Ziel dieses Studienteils ist die kontinuierliche Evaluierung der Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM an den Serotonintransporter im Gehirn gesunder Probanden über mehrere Stunden. Aus den Bindungskurven in verschiedenen cerebralen Regionen soll der ideale Untersuchungszeitpunkt ermittelt werden.

#### **5.3.2.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit**

Die Altersabhängigkeit der Dichte des SERT wurde an zwölf Probanden untersucht. Das mittlere Alter dieser Probanden betrug 38 Jahre mit einer Standardabweichung von dreizehn Jahren.

### **5.3.2.2. [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom**

An den Untersuchungen nahmen insgesamt acht unbehandelte Patienten mit gesichertem endogenem depressivem Syndrom teil. Das Alter variierte zwischen 23 und 64 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 47 Jahre mit einer Standardabweichung von vierzehn Jahren.

Diese Kapitel beschäftigt sich mit der ersten in vivo Untersuchung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM an Patienten mit klinisch diagnostiziertem depressivem Syndrom (DSM IV) (15).

Die Patientenrekrutierung erfolgte in enger Kooperation mit der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München.

### **5.3.2.3. [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie**

Bei allen an Fibromyalgie erkrankten Personen erfolgte die Diagnosefindung nach den Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology (184). Die Patientenrekrutierung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Friedrich-Bauer-Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München.

#### **5.3.2.3.1. Unbehandelte Patienten**

Es nahmen an der Untersuchung insgesamt fünf Patienten mit diagnostisch gesicherter Fibromyalgie teil (184). Das Patientenkollektiv setzte sich ausschließlich aus Frauen zusammen. Das Alter variierte zwischen 34 und 63 Jahren. Das mittlere Alter betrug 42 Jahre, die Standardabweichung acht Jahre.

#### **5.3.2.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropisetron**

Es wurden alle Patienten sowohl vor als auch vier Wochen nach der Therapie untersucht. Therapiert wurde mit dem 5-HT<sub>3</sub> Rezeptorantagonisten Tropisetron (Navoban®) in der Dosis von 5 mg pro Tag. Bei allen untersuchten Patienten verlief die Therapie erfolgreich.

## 5.4. Auswertung der spezifischen Bindung der Radioliganden

Um durch den radioaktiven Zerfall entstehende Effekte ausschließen zu können, wurden alle ermittelten Daten für das entsprechende Radiopharmakon korrigiert.

Zur besseren Objektivierung der selektiven Anreicherung eines Radiopharmakons in einer bestimmten Region wurde die spezifische Bindung bestimmt. Besonderes Interesse galt in dieser Studie Zielstrukturen wie dem Mesencephalon, der Medulla oblongata und der Pons.

Um die spezifische Bindung für diese Strukturen berechnen zu können, musste zuerst eine unspezifische Hintergrundaktivität bestimmt werden. Diese wurde gleichgesetzt mit der nicht selektiven Bindung des Radiopharmakons im Gehirn. Das Cerebellum (Cer) schien in allen durchgeführten Studien am besten geeignet. Hier wurde die geringste Dichte an SERT postuliert (2). Die Aktivität wurde immer in Zählereignisse Counts/Pixel gemessen.

Bei der Berechnung der spezifischen Bindung im Mittelhirn wurde die für den Hintergrund korrigierte Speicherung berücksichtigt. Dabei wurden die gemessenen Counts in der Hintergrundregion (Cerebellum) von den mittleren registrierten Ereignissen in der zu untersuchenden Region subtrahiert und das Ergebnis durch die mittlere Aktivität im Hintergrund (Cerebellum) dividiert  $((\text{Mes}-\text{Cer})/\text{Cer})$ . Die Daten wurden als prozentuale Bindung ausgedrückt, wobei der 100%-Wert sich auf das  $((\text{Mes}-\text{Cer})/\text{Cer})$  Verhältnis bei nicht therapierten Probanden bezog.

Zusätzlich wurde auch ein Target/Non-Target-Ratio kalkuliert. Es wurde das Verhältnis zwischen Aufnahme des Radiopharmakons in der interessierenden Region und dem Hintergrund direkt errechnet.

Unter Verwendung der spezifischen Bindung und des Target/Non-Target-Ratios konnten nun aussagekräftige Informationen über das Bindungsverhalten des Radiopharmakons in den untersuchten Hirnregionen gewonnen werden. Eine bessere Objektivierung und Vergleichbarkeit der Daten konnte durch diese Methoden der Auswertung gewährleistet werden.

Der Mittelwert und die Standardabweichung wurden für alle untersuchten Kollektive errechnet.



## 5.5. Statistische Analyse

Bei der Statistischen Auswertung der gewonnenen Daten wurde sowohl der Student's t-Test als auch ANOVA (Analysis of variance) verwendet. War der p-Wert kleiner als 0,05, wurden Unterschiede als statistisch signifikant beschrieben, war der p Wert kleiner als 0,01 wurden die Unterschiede als statistisch höchst signifikant beschrieben.

Für die Realibilität der Daten der Kontrollgruppe wurde der Pearsons's „r“ Korrelations-Koeffizient berechnet.

## 6. Ergebnisse

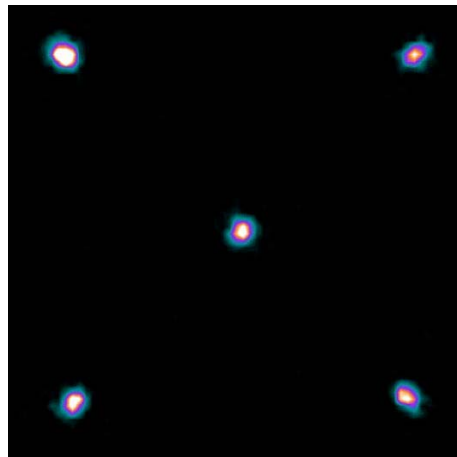
### 6.1. Mikro-SPECT

#### 6.1.1. Phantomexperimente

##### 6.1.1.1. Fünf-Punkt-Phantom

Die Verwendung eines solchen Fünf-Punkt-Phantoms war notwendig, um alle drei Gamma-Kameraköpfe vor den Aufnahmen, sowohl in allen drei Translationsrichtungen als auch in allen drei Rotationsrichtungen, zu kalibrieren. Damit wurde gewährleistet, dass die Positionen der drei Kameraköpfe optimal aufeinander abgestimmt waren. Bei den folgenden Tieraufnahmen musste, aufgrund dieser Kalibrierung, jeder Kamerakopf nur  $120^\circ$  rotiert werden. Dies führte zu einer höheren Sensitivität und besseren Aufnahmequalität, als wenn jeder Kamerakopf  $360^\circ$  rotieren müsste.

Fehlerhaften Überlagerungen aufgrund der Fehlstellung der Kameraköpfe zueinander wurde ebenfalls mit dieser Kalibrierung zuvorgekommen. In Abbildung 21 sind die Unterschiede vor und nach Verwendung des Fünf-Punkt-Phantoms dargestellt.



**Abbildung 20: Rekonstruktion der SPECT-Aufnahmen des untersuchten Fünf-Punkt-Phantoms.**

Zur Validierung der durch das Kapillar-Phantom gewonnenen Daten zur Auflösung wurden auch hier die radialen Halbwertsbreiten bei Aufnahmen mit verschiedenen Pinhole-Aufsätzen bestimmt. Diese stimmten mit den Werten der Aufnahmen des Kapillarphantoms überein.

### 6.1.1.2. Kapillar-Phantom

Mit Hilfe von Aufnahmen der vier orthogonal zueinander angeordneten Kapillarröhrchen wurde die räumliche Auflösung des Systems bestimmt. Die Kapillaren waren so angeordnet, dass zu allen relevanten Punkten des Sichtfeldes (FOV: Field of View) Aussagen bezüglich der Ortsauflösung getroffen werden konnten.

Die räumliche Auflösung des Systems wurde mit Hilfe der radialen Halbwertsbreite (FWHM, Full Width at Half Maximum) ermittelt.

Hierbei ergaben sich die folgenden rekonstruierten Aufnahmen und Werte.

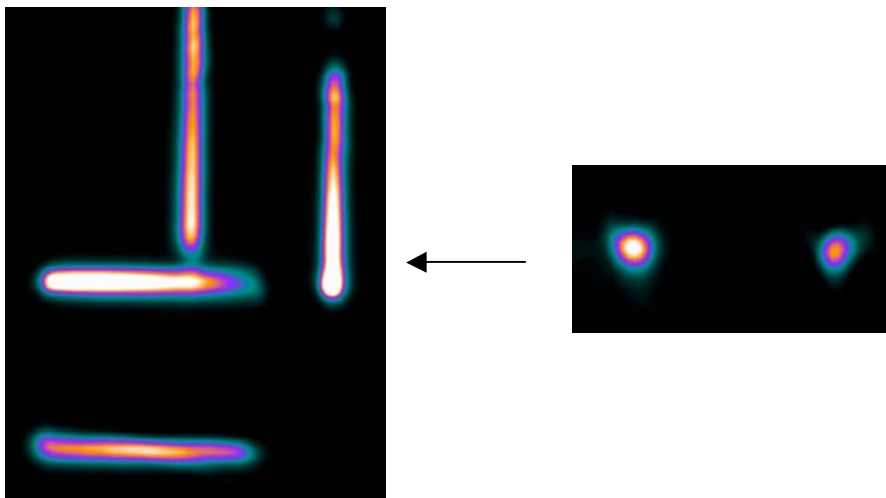


Abbildung 21: Transversale sowie koronare SPECT-Aufnahmen der untersuchten Kapillaren. Der Pfeil gibt die Schnittebene für die koronaren Aufnahmen wieder.

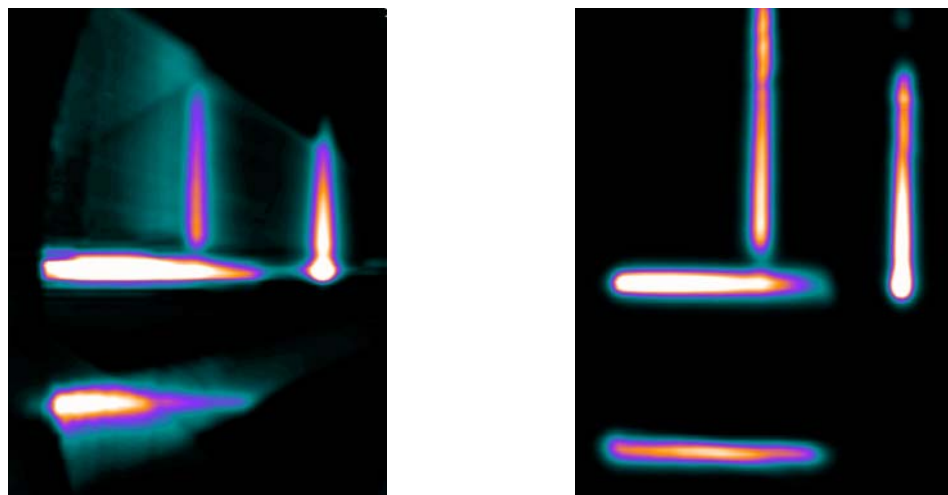


Abbildung 22: Links: Rekonstruktion des Kapillar-Phantoms mit Hilfe des SART-Algorithmus ohne Berücksichtigung der Strahlendivergenz und ohne Kalibrierung der Kameraköpfe mit Hilfe des Fünf-Punkt-Phantoms; Rechts: Rekonstruktion des Kapillar-Phantoms mit Hilfe der BLOB-Methode unter Berücksichtigung der Strahlendivergenz und unter Verwendung des Fünf-Punkt-Phantoms.

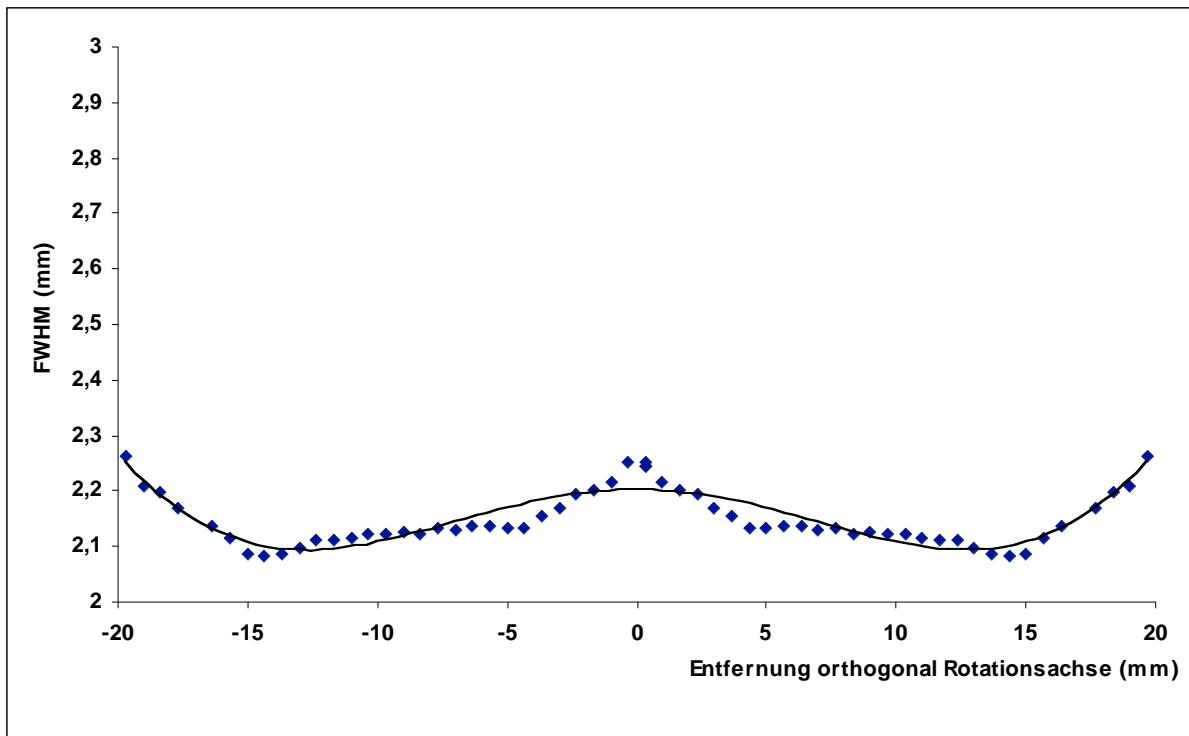


Abbildung 23: Darstellung der mittleren Auflösung (FWHM) des Pinhole-Systems im Aufnahme-feld in orthogonaler Richtung zu der Rotationsachse, unter Verwendung von 1-mm-Pin-hole-Aufsätzen mit einer Bohrung.

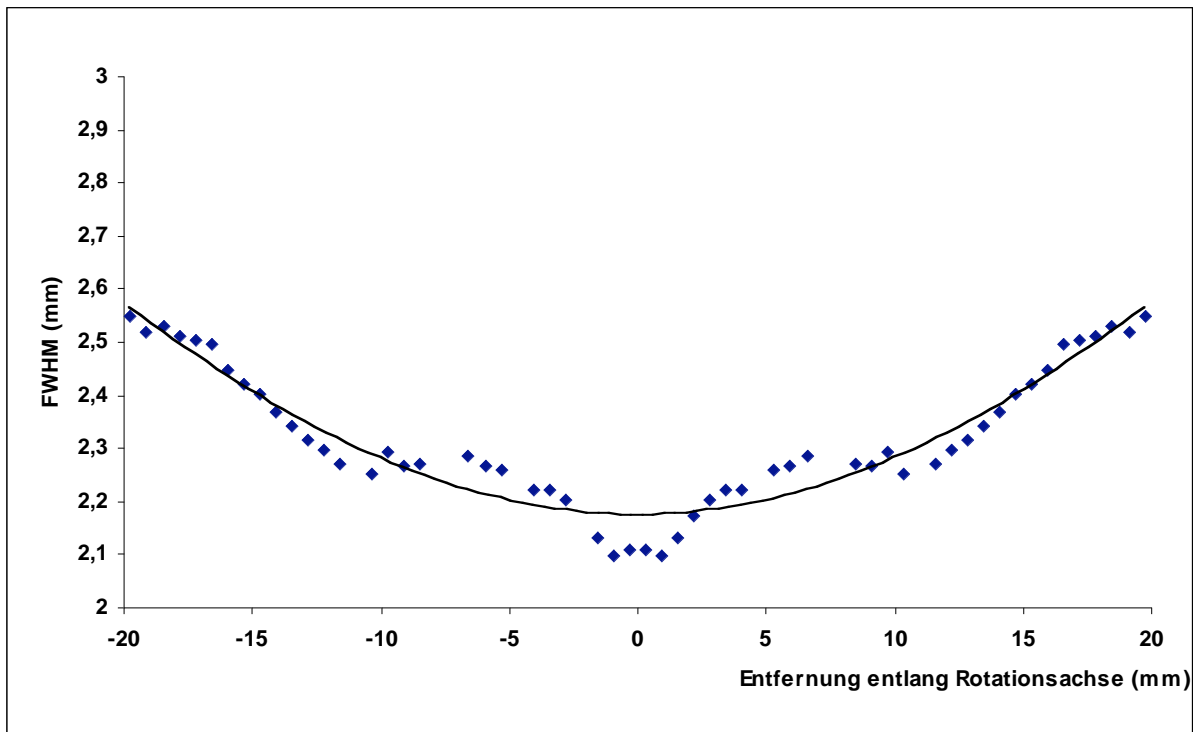


Abbildung 24: Darstellung der mittleren Auflösung (FWHM) des Systems vom Mittelpunkt des Aufnahme-feldes in Richtung der Rotationsachse unter Verwendung von 1-mm-Pin-hole-Aufsätzen mit einer Bohrung.

Die vorangehenden Graphiken stellen die Auflösung des Pinhole-SPECT-Systems exemplarisch unter Verwendung eines 1-mm-Pinhole-Adapters entlang der Rotationsachse und orthogonal zu ihr dar.

In der folgenden Tabelle sind die besten gemessenen Auflösungen für die verschiedenen Pinhole-Adapter dargestellt.

Öffnungsdurchmesser Pinhole-Bohrung (mm)	Beste gemessene Auflösung (FWHM, mm)
0,5	1,81
1	1,91
2	2,44
3	2,73

**Tabelle 3: Jeweils die am besten gemessenen radialen Halbwertsbreiten (FWHM) unter Verwendung der verschiedenen zur Verfügung stehenden Pinhole-Adapter mit einer Bohrung.**

Zu den gemessenen radialen Halbwertsbreiten des Pinhole-SPECT-Systems ist anzumerken, dass die Ergebnisse nicht rechnerisch für die Dicke des entsprechenden Kapillar-Phantoms korrigiert worden sind (Gauss'sche Korrektur).

Exemplarisch wurde auch die Aufnahme unter Verwendung des 1-mm-Pinhole-Adapters mit Hilfe der SART-Methode rekonstruiert. Da diese weder die Strahlenkonvergenz noch die Korrektur der Gamma-Kameraköpfe in alle sechs Translations- und Rotationsrichtungen berücksichtigt, wurde nur eine maximale Auflösung von 1.91 mm erreicht.

### **6.1.1.3. Struktur-Phantom**

Die Systemsensitivität wurde mit Hilfe des vorher beschriebenen Struktur-Phantoms bestimmt. Dieses Phantom ermöglichte aufgrund seiner unterschiedlichen Bohrungen auch einen optischen Auflösungstest. Mit ihm kann direkt beurteilt werden, welche Strukturen welcher Größe noch voneinander zu differenzieren sind. Dabei wurden Aufnahmen des Phantoms unter Veränderung der Systemkonfigurationen, wie zum Beispiel Anzahl und Durchmesser der einzelnen Bohrungen der Pinhole-Kollimatoraufsätze, durchgeführt.

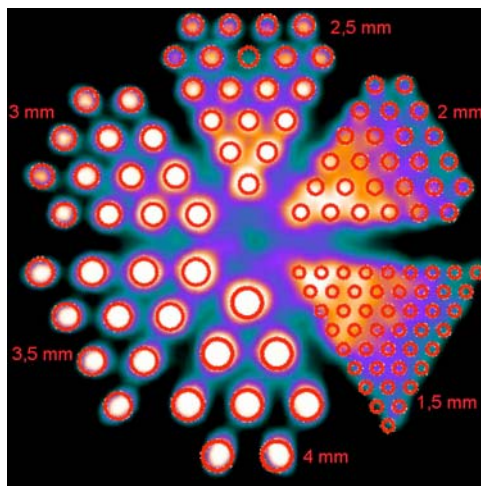
Beurteilt wurde an einigen relevanten Beispielen zum einen die Sensitivität des Systems in Counts/second/MBq, zum anderen die optische Differenzierbarkeit der einzelnen

Punkte mit verschiedenen Durchmessern. Bei diesen Untersuchungen konnte Folgendes festgestellt werden:

Bei einem Pinhole-Aufsatz mit einer einzigen Bohrung von 0,5 mm Durchmesser konnte eine Sensitivität von 35 cps/MBq erzielt werden. Bei Erhöhung der Lochzahl auf drei Bohrungen mit dem gleichen Durchmesser konnte eine Sensitivität von 140 cps/MBq erzielt werden. Bei einem Pinhole-Aufsatz mit sechs Bohrungen mit 1 mm wurde eine Sensitivität von 210 cps/MBq gemessen. Wurde ein Aufsatz mit einer einzigen Bohrung von 2 mm verwendet, wurde eine Sensitivität von 95 cps/MBq erreicht.

Bei einem Rotationsradius von 7 cm mit einem Pinhole-Durchmesser von 0,5 mm können Bildpunkte von unter 2 mm noch klar voneinander differenziert werden. Jedoch schon ab einem Pinhole-Durchmesser von 1 mm lassen sich diese Bildpunkte nur noch undeutlich voneinander differenzieren. Die Sensitivität des Systems steigt mit Anzahl und Durchmesser der Pinhole-Bohrungen an.

Bei der Verwendung von Multi-Pinhole-Aufsätzen, sowohl mit als auch ohne Trennwand, wird das Zentrum des Aufnahmegebietes unscharf. Ursache hierfür ist zum einen, dass sich die Aufnahmegebiete, welche auf den Detektorkopf projiziert werden, überlappen, und zum anderen, dass der Rekonstruktions-Algorithmus nicht für solche Aufnahmen optimiert wurde.



**Abbildung 9:** Eine Aufnahme des Struktur-Phantoms mit einem 0,5-mm-Pinhole-Adapter, mit darüber liegender Schablone zur Differenzierung der einzelnen Bohrungen voneinander.

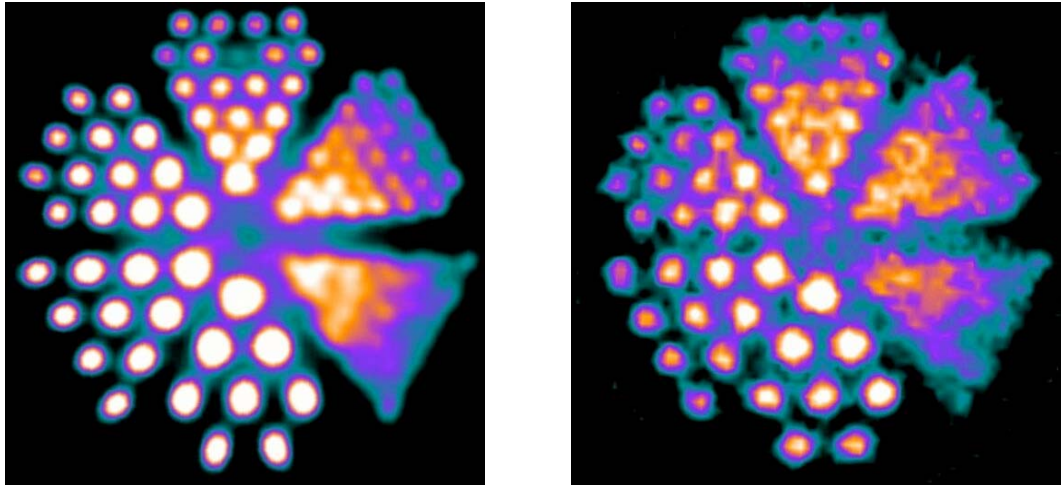


Abbildung 10: Links: Aufnahme des Struktur-Phantoms mit einem Pinhole-Durchmesser von 0,5 mm. Rechts: Aufnahme des Struktur-Phantoms mit einem Pinhole-Durchmesser von 2,0 mm.

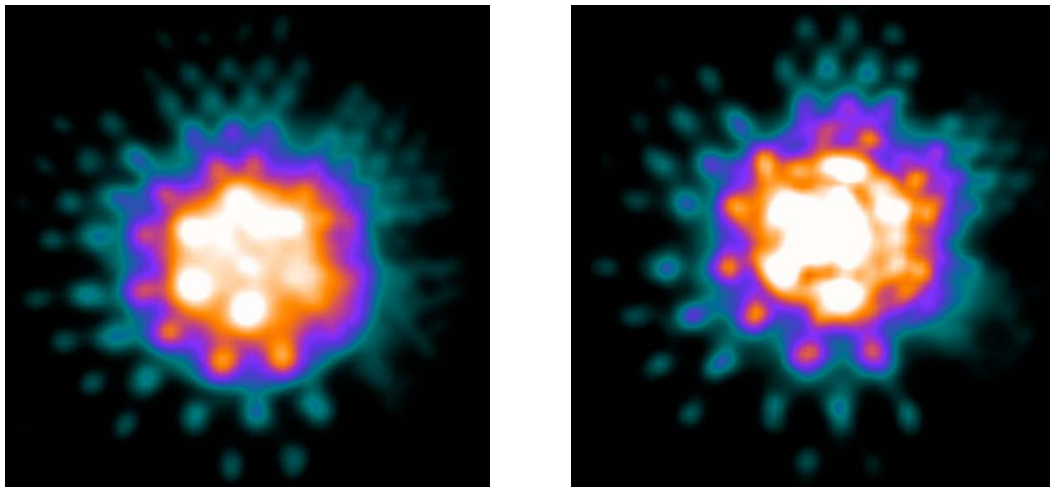


Abbildung 25: Links: Aufnahme des Struktur-Phantoms mit 6-Pinhole-Kollimatoren mit 1 mm Öffnungsdurchmesser unter Verwendung einer Trennwand. Rechts: Aufnahme des Sechs-Pinhole-Struktur-Phantoms mit Öffnungsdurchmesser von 1 mm ohne Trennwand.

Öffnungsdurchmesser Pinhole-Bohrung (mm)	Sensitivität (cps/MBq)
0,5	35
2	95

Tabelle 4: Sensitivität (cps/MBq) des verwendeten Pinhole-SPECT-Systems in Counts per Second per MBq bei verschiedenen Pinhole-Aufsätzen mit einer Bohrung.

## 6.1.2. Tierstudien

### 6.1.2.1. Experimente mit [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT und [ $^{123}\text{I}$ ]IPT an Ratten

#### 6.1.2.1.1. Kinetikstudien

Bei der kontinuierlichen Messung der Anreicherung von [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT in den einzelnen Kortextarealen der untersuchten Tiere zeigte sich in den ersten 30 Minuten nach der Injektion eine direkte stetige Zunahme der gemessenen Aktivität.

Relativ früh wurde im Striatum sowie im Cerebellum ein Bindungsmaximum erreicht. Darauf folgte dann eine schnelle Auswaschphase mit wieder konstant sinkenden Werten.

Im Bereich des Maximums blieben die Werte für ca. 30 Minuten, bevor dann ein langsames und stetiges Absinken registriert werden konnte. Im Vergleich zum Cerebellum unterscheidet sich das Striatum sowohl durch eine höhere Aktivität in Counts/Pixel als auch durch die Tatsache, dass die Werte nach Erreichen eines Maximums deutlich langsamer abfallen. Dies ist durch die langsamere Auswaschphase des Radiopharmakons in diesem Areal zu erklären. Diese Messungen sprechen dafür, dass sich [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT selektiv und spezifisch im Striatum von unbehandelten Versuchstieren anreichert.

Aufgrund dieser voneinander abweichenden Maximalwerte und der differierenden Geschwindigkeit des Auswaschens kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg der spezifischen Bindung ((Striatum zu Cerebellum)/Cerebellum) von 0 auf 0,91 bis 180 Minuten p.i. Die Kurve für das Ziel-/Hintergrundverhältnis (Striatum zu Cerebellum) steigt ebenfalls bis zu diesem Zeitpunkt an. Beide Verhältnisse fallen nach Erreichen dieses Maximums wieder ab. Es ergab sich keine statistisch signifikante Differenz zwischen der spezifischen Bindung oder dem Target/Non-Target-Ratio im linken und rechten Striatum.

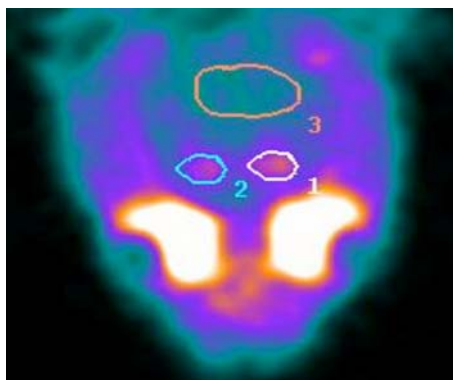


Abbildung 26: Darstellung des Rattenhirns nach SPECT-Scan. Die Region 3 zeigt die Lage des Cerebellums, die Regionen 1 und 2 die Lage der beiden Striatas.



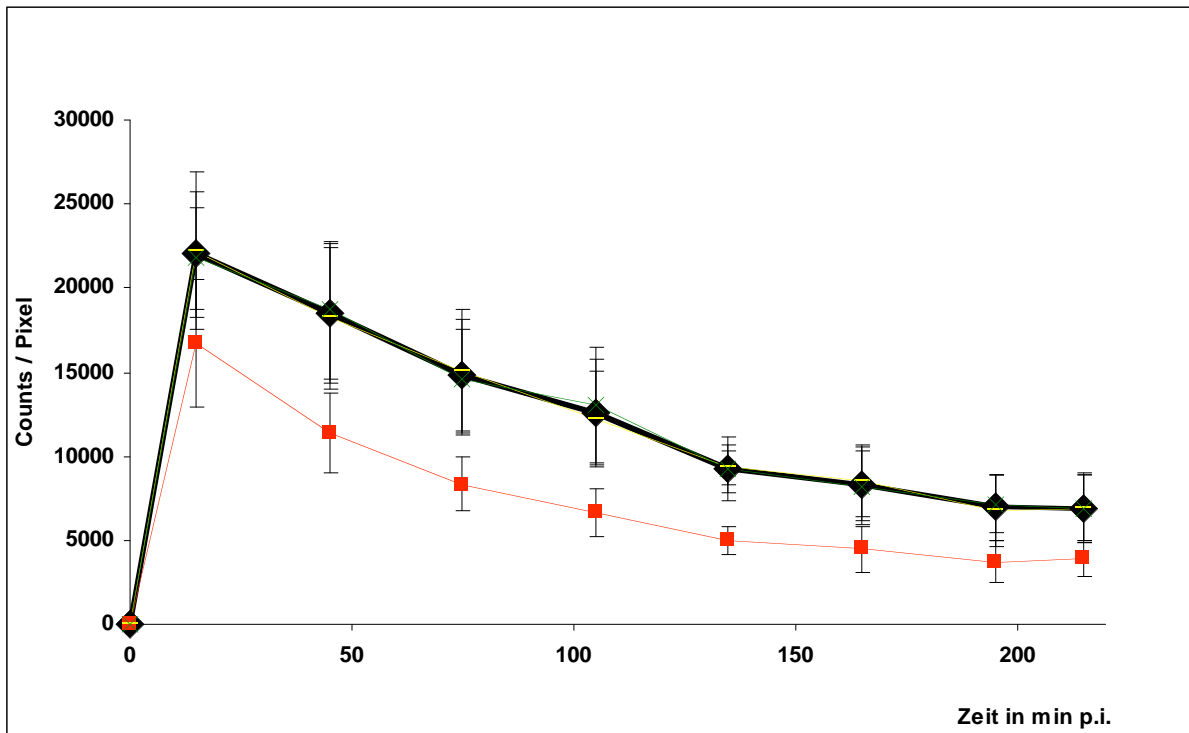


Abbildung 27: Darstellung der Kinetik der mittleren Anreicherung von [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT an den DAT im Striatum und Cerebellum (n=4). (Schwarze Kurve: Mittelwert Striatum; Grüne Kurve: Mittelwert rechtes Striatum; Gelbe Kurve: Mittelwert linkes Striatum; Rote Kurve: Mittelwert Cerebellum) mit jeweiliger Standardabweichung.

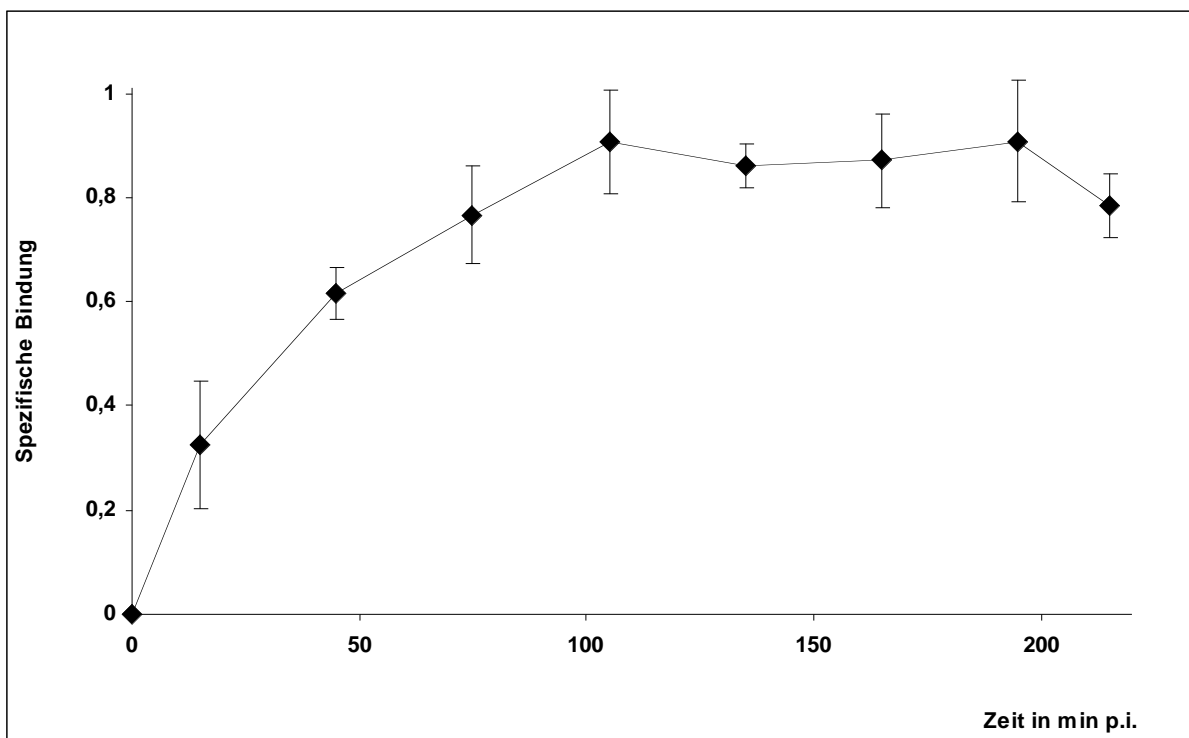


Abbildung 28: Darstellung der spezifischen Bindung (Str-Cer)/Cer von [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT an den DAT im Striatum von unbehandelten Ratten (n=4) mit entsprechender Standardabweichung. Der optimale Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase von 90 bis 180 Minuten.

### 6.1.2.1.2. Darstellung des Dopamintransporters nach Methylphenidatgabe

Der Vergleich der Bindung von [<sup>99</sup>Tc]TRODAT an den DAT bei mit 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin®) vorbehandelten Versuchstieren mit der Bindung der Kontrollgruppe ergab folgende Werte. Für die vier unbehandelten Versuchstiere errechnet sich ein Mittelwert von  $0,87 \pm 0,11$ , für die vorbehandelten Tiere ein Mittelwert von  $0,08 \pm 0,01$ , jeweils für die spezifische Bindung im Striatum ((Str-Cer)/Cer). Dies entspricht einer mittleren Abnahme der spezifischen Bindung um 89%. Die beschriebenen Unterschiede waren höchst signifikant ( $p < 0,01$ ). Die Aufnahmen wurden zum optimalen Untersuchungszeitpunkt nach 90 bis 120 Minuten durchgeführt.

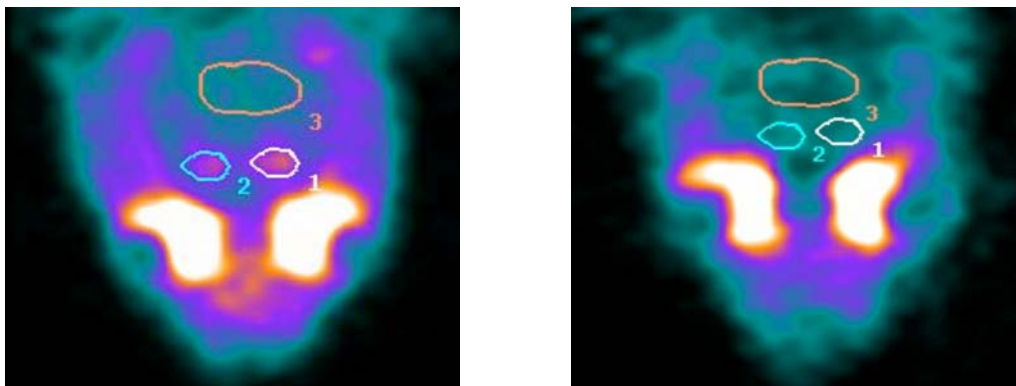


Abbildung 29: Koronare SPECT-Scans eines Versuchstiers vor (linkes Bild:  $(\text{Str-Cer})/\text{Cer} = 0,16$ ) und eines nach Gabe von 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin®) (rechtes Bild:  $(\text{Mes-Cer})/\text{Cer} = 0,87$ ).

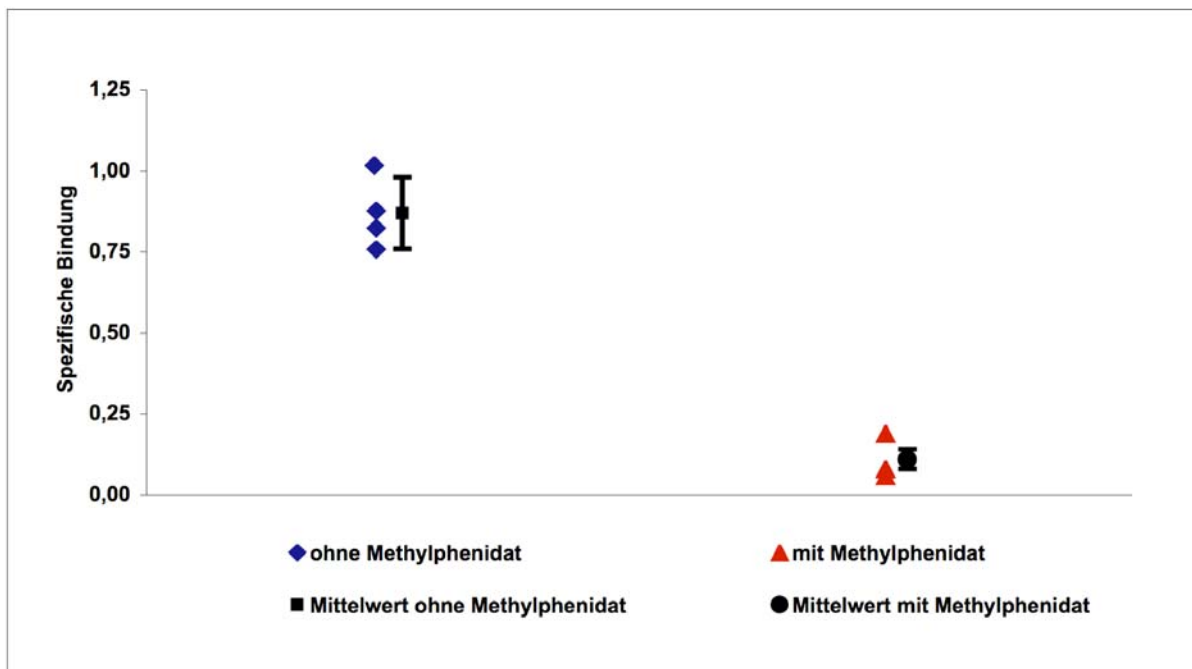
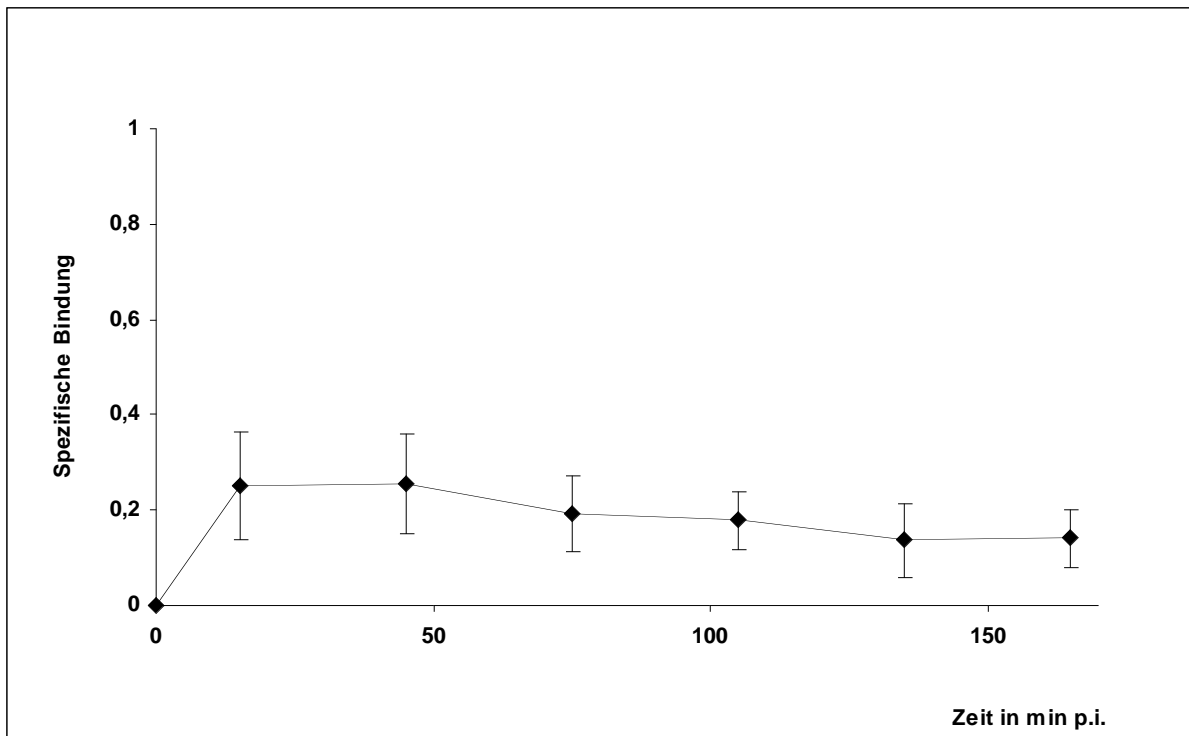
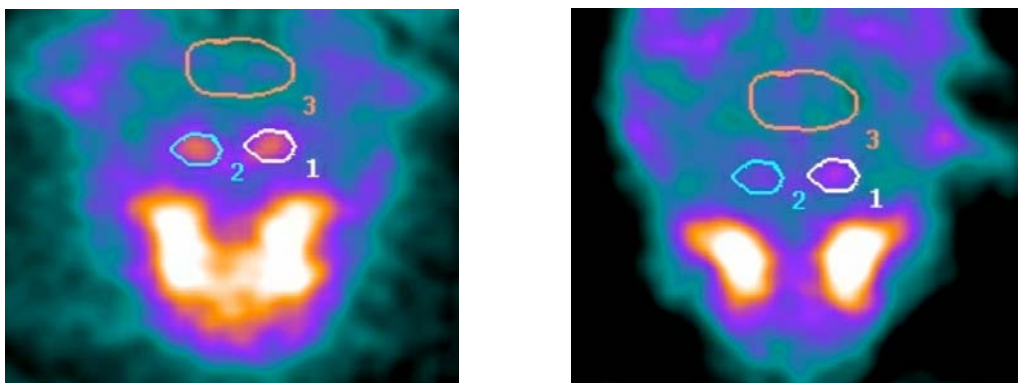


Abbildung 30: In dieser Darstellung werden vier unbehandelte Versuchstiere (li.) mit drei Versuchstieren nach der Gabe von Methylphenidat (Ritalin®) (re.), nach 90 bis 120 Minuten, verglichen. Der Mittelwert der unbehandelten Tiere betrug  $0,87 \pm 0,11$ , der Mittelwert der behandelten Tiere betrug  $0,09 \pm 0,05$ . Der t-Test ergab einen Wert von unter 0,01. Die Unterschiede sind somit von höchster Signifikanz.



**Abbildung 31:** Darstellung des Mittelwerts der spezifischen Bindung von [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT an den DAT im Striatum bei mit 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) vorbehandelten Ratten mit Standardabweichung.

Der Vergleich der Bindung von dem mit <sup>123</sup>I markierten IPT an den DAT bei einem ohne und einem mit Methylphenidat vorbehandelten Versuchstier ergab folgende Ergebnisse. Für das unbehandelte Versuchstier errechnet sich ein Wert von 1,37, für das vorbehandelte ein Wert von 0,14, jeweils für die spezifische Bindung im Mesencephalon ((Str-Cer)/Cer). Dies entspricht einer Abnahme der spezifischen Bindung um 90%.



**Abbildung 32:** Koronare [<sup>123</sup>I]IPT SPECT-Scans des Gehirns eines unbehandelten (linkes Bild; (Str-Cer)/Cer=1,37) und eines mit Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) behandelten Versuchstiers (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=0,14).

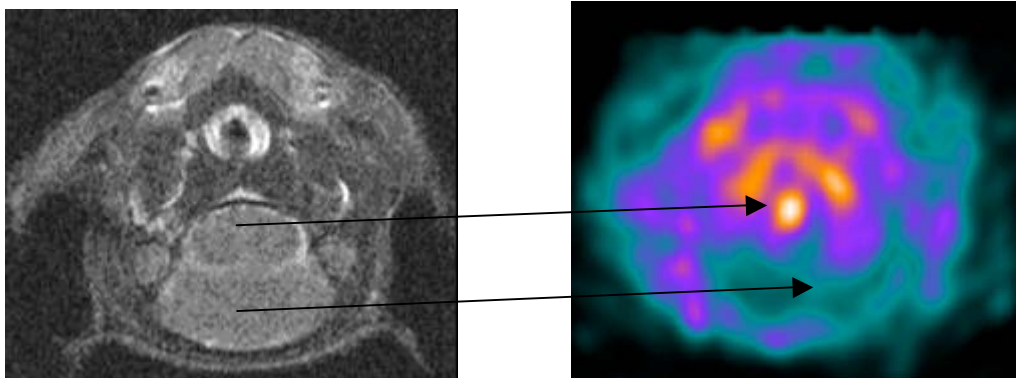
### 6.1.2.2. [<sup>123</sup>I]ADAM

#### 6.1.2.2.1. Kinetikstudie

Bei der Messung der Anreicherung von [<sup>123</sup>I]ADAM in unbehandelten Versuchstieren zeigte sich in den ersten 30 Minuten nach der Injektion ein stetiges Ansteigen der Aktivität mit einem Bindungsmaximum im Mittelhirn sowie im Cerebellum. Darauf folgte direkt eine schnelle Auswaschphase mit wieder fallenden Werten.

Ein langsames Absinken der Aktivität kann sowohl im Mittelhirn als auch im Cerebellum ca. ab der 30 Minute beobachtet werden. Dabei ist jedoch anzumerken, dass im Mittelhirn eine deutlich höhere Aktivität in Counts/Pixel im Vergleich zum Cerebellum gemessen wird. Zusätzlich fallen die Werte im Mittelhirn langsamer ab als im Cerebellum. Dies kann durch die höhere Bindung und die dadurch bedingte geringere Auswaschgeschwindigkeit des Radiopharmazeutikums im Mittelhirn erklärt werden.

Aufgrund der sich unterscheidenden Auswaschgeschwindigkeiten und der voneinander abweichenden Maximalwerte kommt es zu einem gleichmäßigen Anstieg der spezifischen Bindung ((Mittelhirn–Cerebellum)/Cerebellum) von 0 bis auf 1,18 nach ca. 180 bis 210 Minuten. Nach Erreichen dieses Maximums beginnt die spezifische Bindung wieder abzufallen.



**Abbildung 33: Darstellung des Mittelhirns der Ratte in transversalen Schnitten im MRT (li.) und nach einem SPECT-Scan. Der obere Pfeil weist auf die serotonergen Zentren im Mittelhirn hin, der untere auf das Cerebellum.**

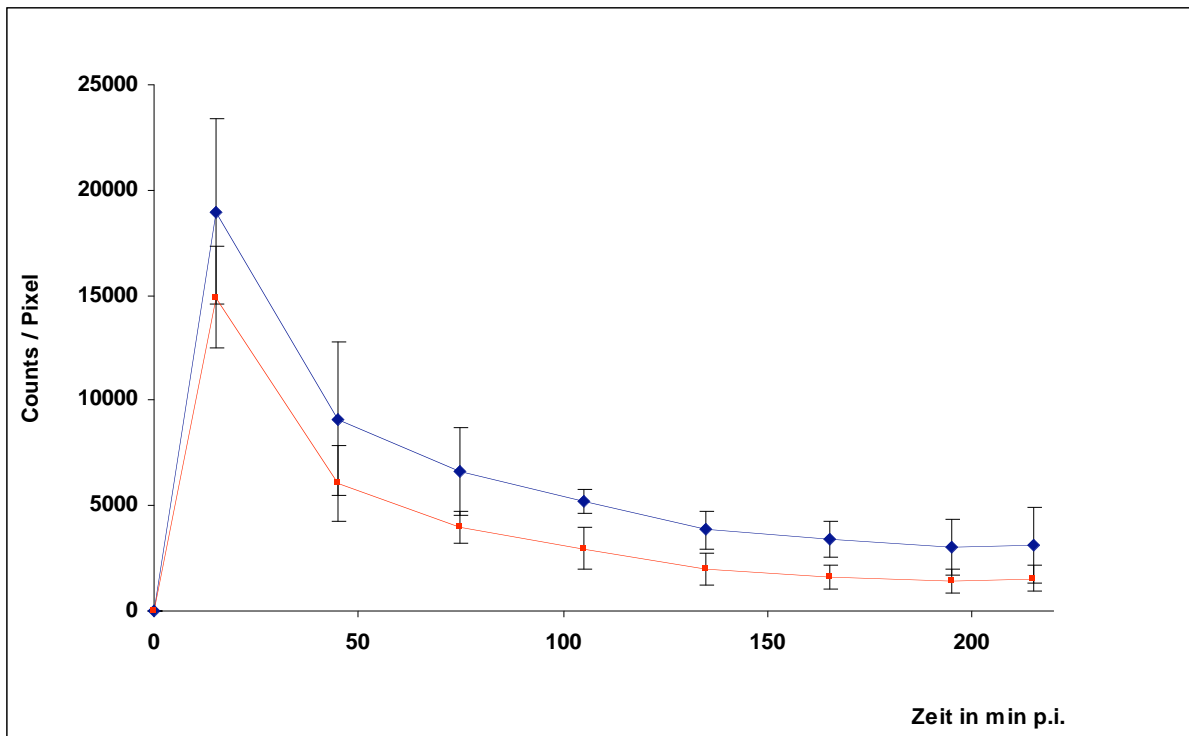


Abbildung 34: Kinetikdarstellung der mittleren Anreicherung von  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  an den SERT. Blau sind die Mittelwerte der Anreicherung im Mittelhirn und rot die Mittelwerte der Anreicherung im Cerebellum ( $n=4$ ) dargestellt, jeweils mit Standardabweichung.

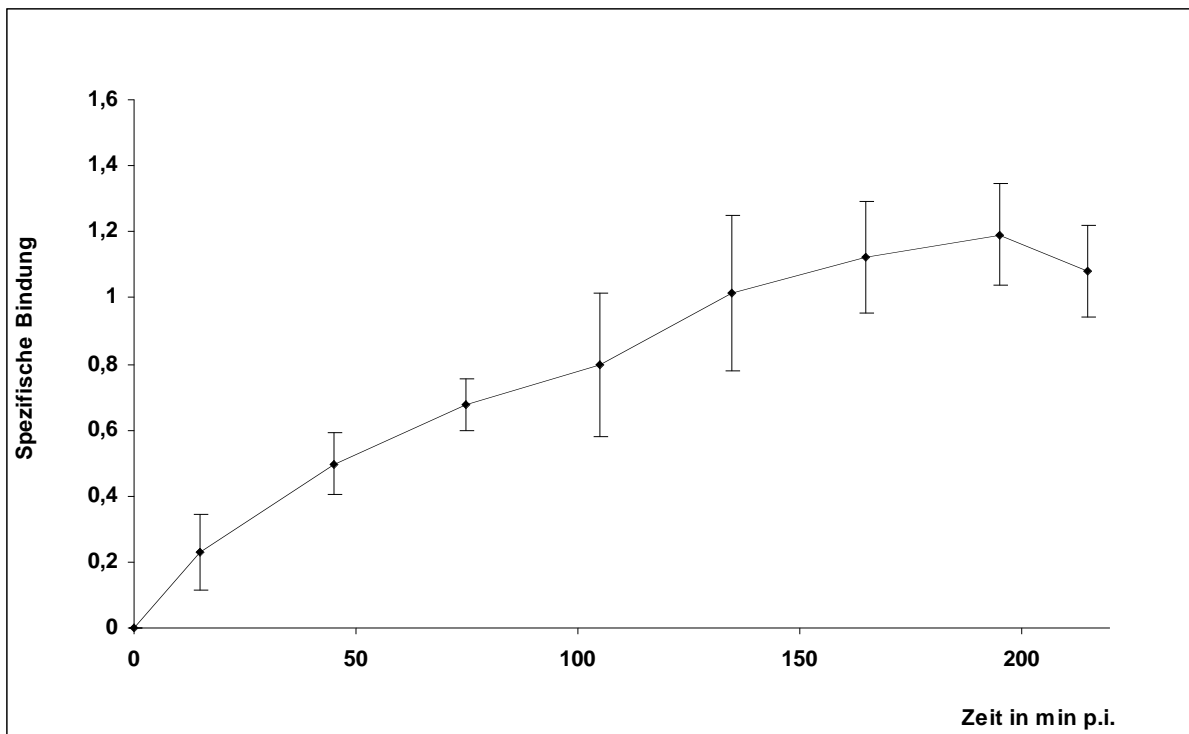


Abbildung 35: Darstellung der spezifischen Bindung von  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  im Mittelhirn bei unbehandelten Versuchstieren ( $n=4$ ) mit Standardabweichung. Der optimale Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase, welche ca. 180 bis 210 Minuten andauert.

### 6.1.2.2.2. Darstellung des Serotonintransporters nach Fluoxetingabe

Die spezifische Bindung von [ $^{123}$ I]ADAM an den SERT im Mittelhirn von unbehandelten Versuchstieren wurde verglichen mit der spezifischen Bindung an den SERT bei Versuchstieren, welche eine 5 mg/kg Fluoxetin-Sättigungsdosis 15 Minuten vor Injektion des Radiopharmakons erhielten. Hierbei ergab sich ein höchst signifikanter Unterschied ( $p < 0,01$ ) zwischen behandelten ( $1,19 \pm 0,19$ ) und unbehandelten ( $0,38 \pm 0,04$ ) Versuchstieren. Dies entspricht einer mittleren Abnahme der spezifischen Bindung von im Schnitt 68%. Die Aufnahmen fanden zum optimalen Untersuchungszeitpunkt, nach 180 bis 210 Minuten, statt.

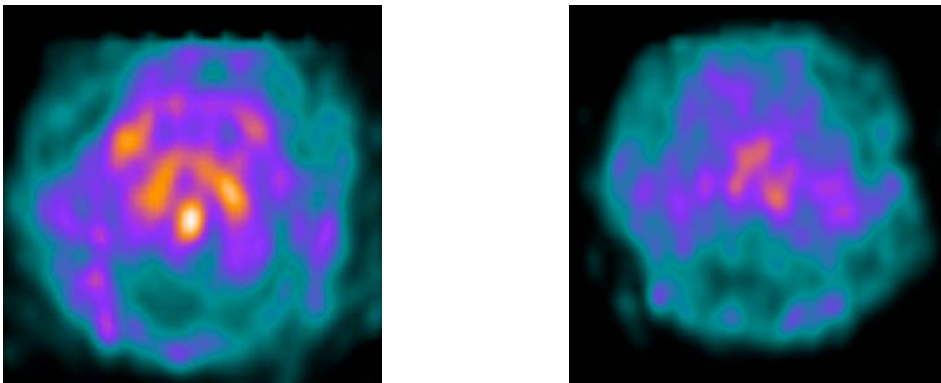


Abbildung 36: Transversale [ $^{123}$ I]ADAM-SPECT-Bilder eines unbehandelten Versuchstiers (links, (Mes-Cer)/Cer=1,27) und eines mit dem selektiven SERT-Inhibitor Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) behandelten Versuchstiers (rechts, (Mes-Cer)/Cer=0,33).

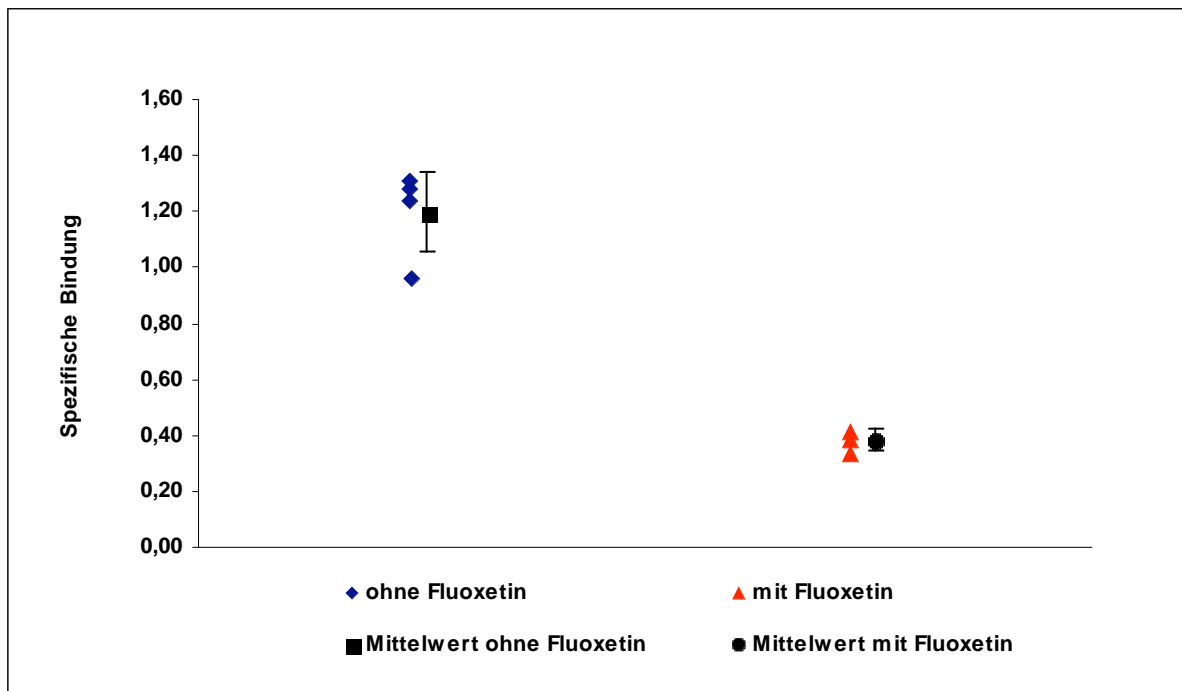
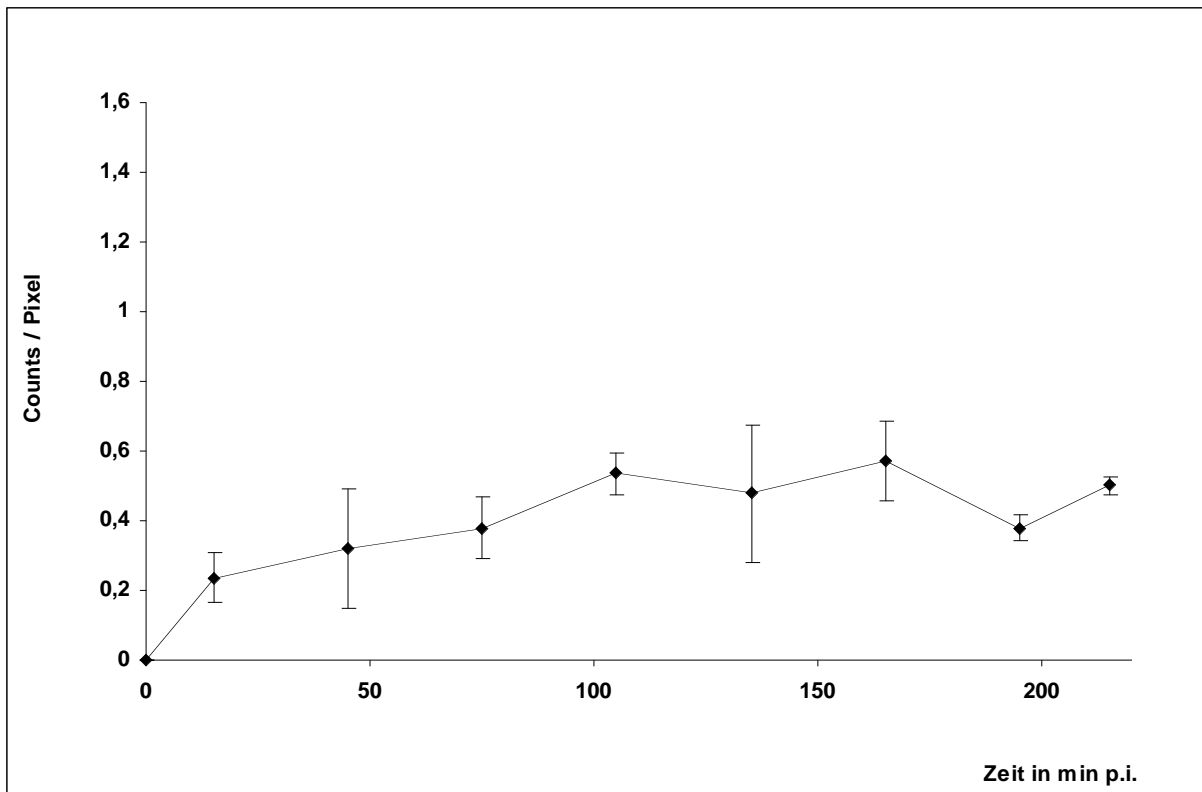


Abbildung 37: Vergleich der spezifischen Bindung von [ $^{123}$ I]ADAM an den SERT bei unbehandelten Versuchstieren ( $n=4$ ) sowie nach Gabe von 5 mg/kg des selektiven SERT-Inhibitors Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) ( $n=3$ ) nach 180 bis 210 Minuten.



**Abbildung 38:** Darstellung der spezifischen Bindung mit Standardabweichung von [ $^{123}$ I]ADAM an den SERT im Mittelhirn von Versuchstieren, welche mit dem selektiven SERT-Inhibitor Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>; 5 mg/kg) vorbehandelt wurden.

## 6.2. SPECT

### 6.2.1. Probanden und Patienten

#### 6.2.1.1. *Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei gesunden Probanden*

##### 6.2.1.1.1. *Untersuchungen zur Kinetik von [<sup>123</sup>I]ADAM*

Als Erstes ist anzumerken, dass keine subjektiven oder objektiven Effekte des Radiopharmazeutikums auf das Empfinden oder die Vitalparameter eines Probanden beobachtet werden konnten.

Bei der kontinuierlichen Messung der Anreicherung von [<sup>123</sup>I]ADAM in den einzelnen Kortextarealen bei gesunden Probanden zeigte sich eine in den ersten 30 Minuten nach der Injektion direkte stetige Zunahme der Aktivität.

Rasch wurde im frontalen, occipitalen Kortex sowie im Cerebellum ein Bindungsmaximum erreicht. Darauf folgte dann eine schnelle Auswaschphase mit wieder sinkenden Werten.

45 Minuten p.i. wurde im Mittelhirn ein Aktivitätsmaximum erreicht. In Bereich dieses Maximums blieben die Werte für ca. 150 Minuten konstant, bevor dann ein langsam stetiges Absinken registriert werden konnte. Im Vergleich zu den anderen Gehirnarealen (frontaler, occipitaler Kortex, Cerebellum) unterscheidet sich das Mittelhirn durch eine viel höhere Aktivität in Counts/Pixel. Die Werte fallen nach dem Erreichen eines Maximums deutlich langsamer ab. Dies ist durch die starke Bindung und die dadurch bedingte langsamere Auswaschphase des Radiopharmakons in diesem Areal zu erklären.

Aufgrund dieser voneinander abweichenden Maximalwerte und der differierenden Geschwindigkeit des Auswaschens kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des Ziel-/Hintergrundverhältnisses (Mittelhirn zu Cerebellum) von 0 auf 2,4 bis ca. 300 Minuten p.i. Die Kurve für die spezifische Bindung ((Mittelhirn-Cerebellum)/Cerebellum) steigt ebenfalls bis zu diesem Zeitpunkt an. Beide Kurven sinken nach Erreichen dieser Maximalwerte wieder ab.

Signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden. Diese Messungen demonstrieren, dass sich [<sup>123</sup>I]ADAM selektiv und spezifisch an den SERT im Mittelhirn von gesunden Probanden anreichert.



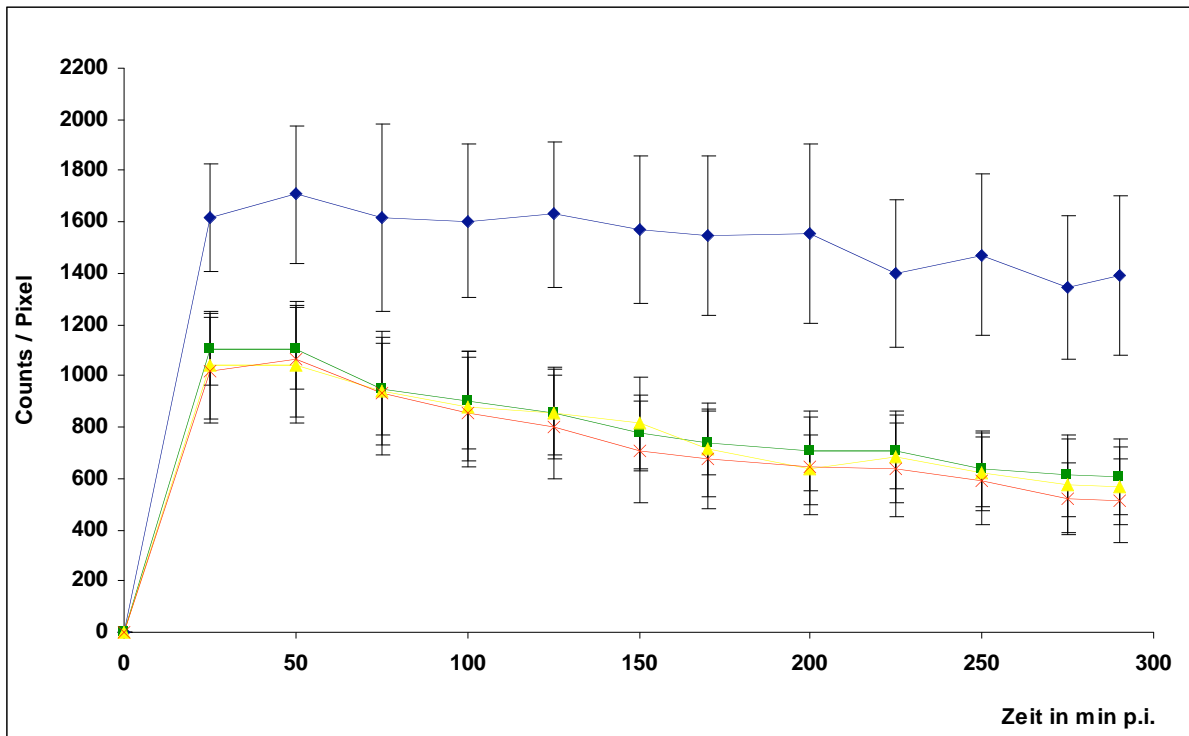


Abbildung 39: Darstellung der Kinetik der mittleren Anreicherung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT. Mittelwerte im Mesencephalon (blaue Kurve), Cerebellum (grüne Kurve), frontalen (gelbe Kurve) und occipitalen (rote Kurve) Cortex bei gesunden Probanden (n=12) in Counts/Pixel mit Standardabweichung.

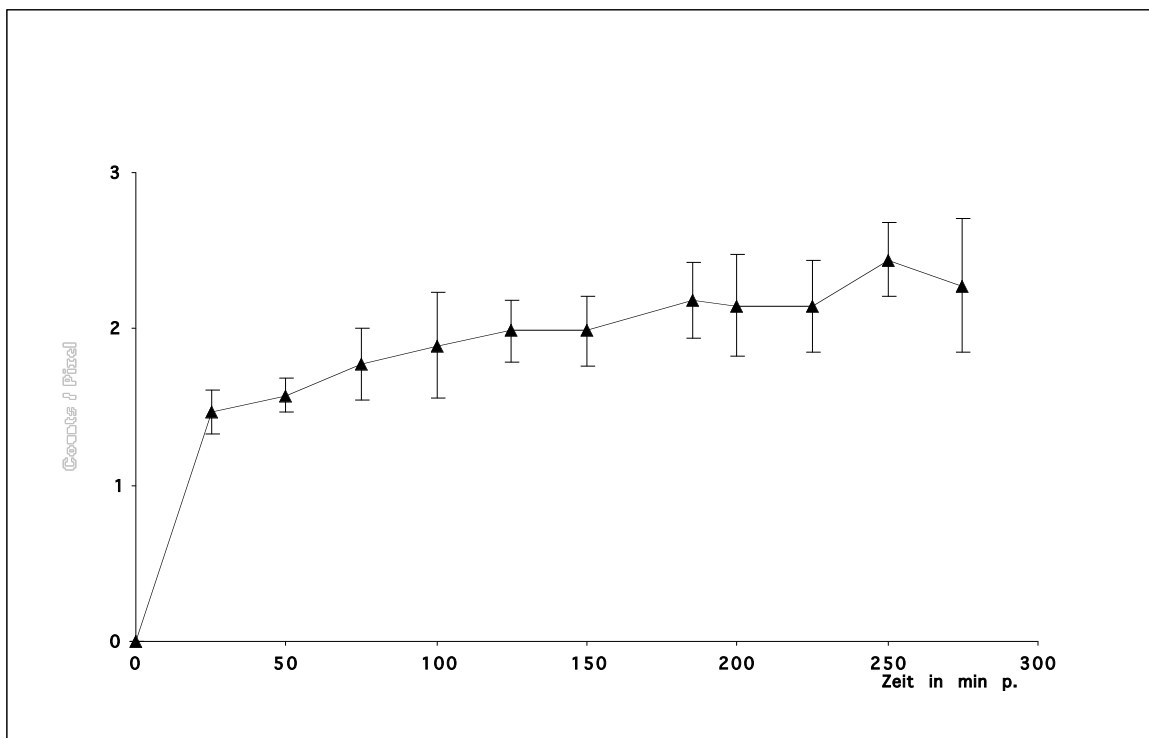


Abbildung 40: Zeitlicher Verlauf des mesencephalen Target/Non-Target-Verhältnisses. Mittelwerte bei gesunden Probanden (n=12) mit Standardabweichung.

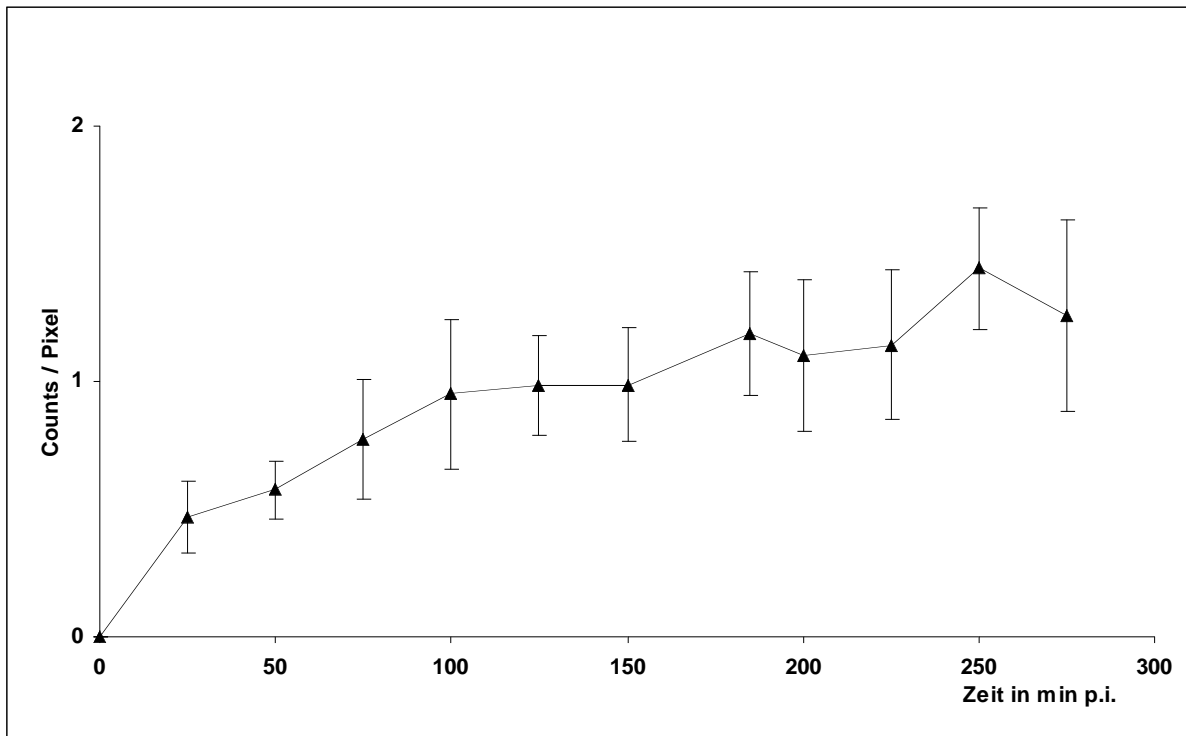


Abbildung 41: Darstellung der Mittelwerte der spezifischen Bindung ((Mes-Cer)/Cer) für  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  an den SERT des Mesencephalons bei gesunden Probanden ( $n=12$ ) mit Standardabweichung. Der günstigste Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase, welche von ca. 3 h p.i. bis 5 h p.i. andauert.

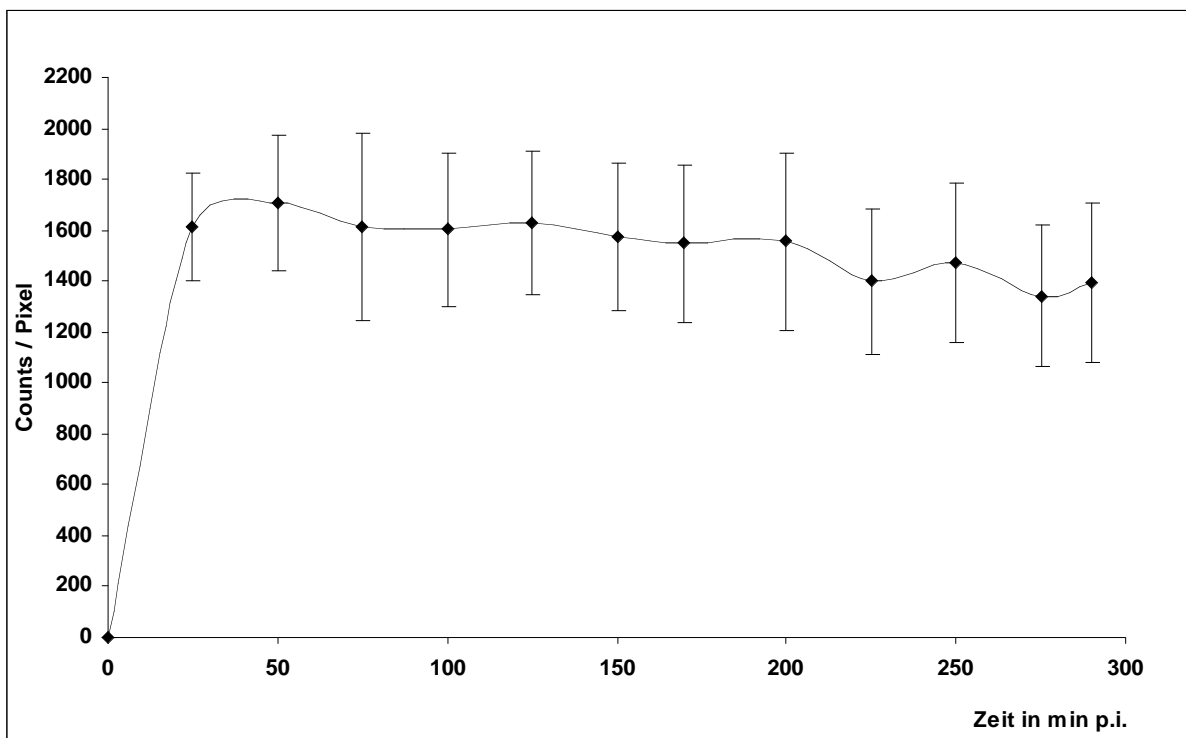


Abbildung 42: Zeitlicher Verlauf der Bindung von  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  an den SERT des Mesencephalons bei gesunden Probanden ( $n=12$ ) mit Standardabweichung.

### 6.2.1.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM

Die spezifische Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM bei der Kontrollgruppe im Mesencephalon zwischen drei und vier Stunden ergab im Mittel einen Wert von  $1,19 \pm 0,10$ . Bei genauerer Analyse der Daten zeigte sich zusätzlich eine tendenzielle, altersabhängige Verminderung der spezifischen Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM. Signifikante Unterschiede der Bindung im Mesencephalon ergaben sich, als die Probanden in zwei Gruppen aufgeteilt wurden. Für die Gruppe von 20 bis 40 Jahren betrug der Mittelwert 1,26, die Standardabweichung lag bei 0,08. Für die Gruppe über 40 Jahre betrug er  $1,12 \pm 0,06$ .

Der Pearson's „r“ Korrelationskoeffizient ergab für die gesunden Probanden einen Wert von -0,62. Dies legt eine mittelstarke Korrelation der SERT-Bindung mit dem Alter nahe.

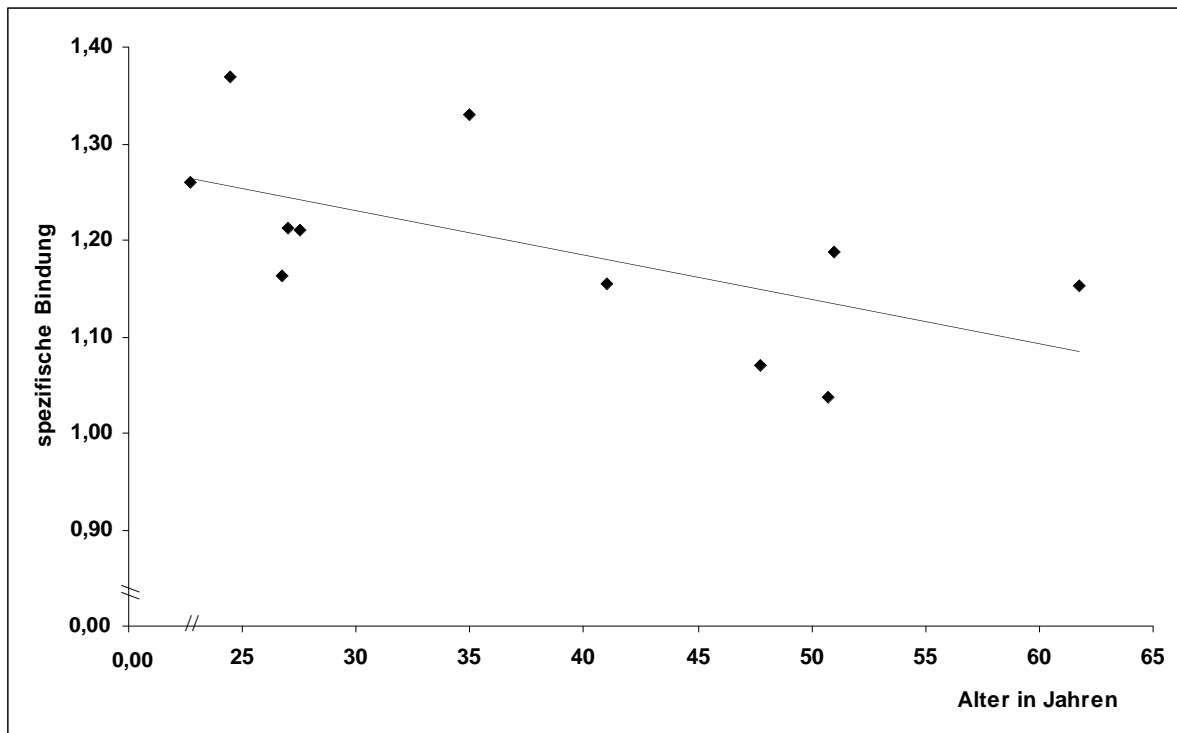


Abbildung 43: Altersabhängigkeit der spezifischen Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM im Mesencephalon von gesunden Probanden (n=12).

### 6.2.1.2. Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom

Die spezifische Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM an den SERT im Mesencephalon von unbehandelten, klinisch diagnostiziert depressiven Patienten wurde mit der von gesunden Probanden verglichen.

Hierbei ergab sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen den depressiven Patienten ohne Behandlung ( $1,40 \pm 0,15$ ) und den gesunden Probanden ( $1,19 \pm 0,20$ ).

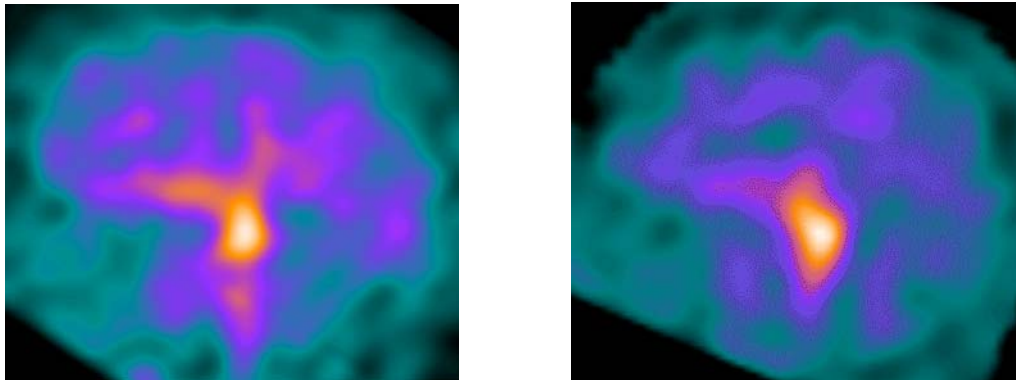


Abbildung 44: Sagittale [<sup>123</sup>I]ADAM SPECT Bilder eines gesunden Probanden (linkes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,34) und eines depressiven Patienten (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,55).

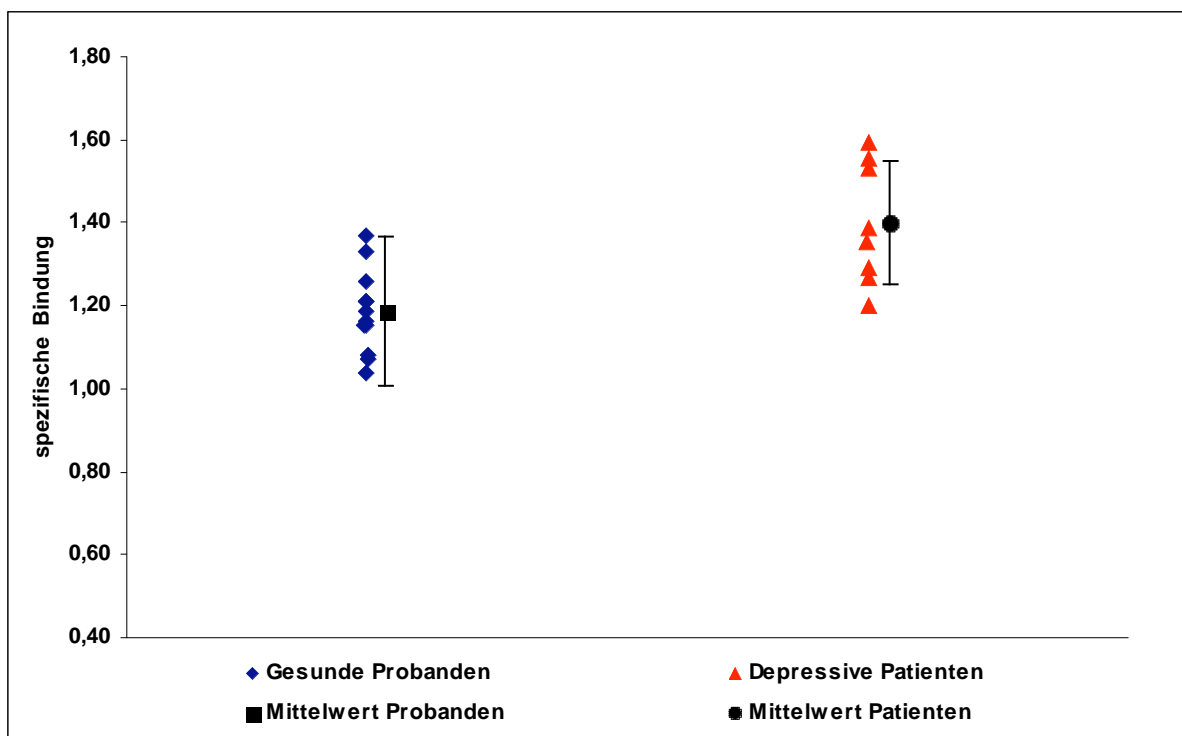


Abbildung 45: Vergleich der spezifischen Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM an den SERT bei gesunden Kontrollpersonen (n=12) und bei Patienten mit Depression (n=8) mit Mittelwert und Standardabweichung.

### 6.2.1.3. Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie

#### 6.2.1.3.1. Unbehandelte Patienten

Vergleicht man die Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM bei Fibromyalgiepatienten mit der gesunden Kontrollgruppe, so ergaben sich folgende Werte.

Für die Patienten errechnet sich ein Wert von  $1,11 \pm 0,04$ , für die Gesunden ein Wert von  $1,19 \pm 0,10$  für die spezifische Bindung im Mesencephalon (Mes-Cer)/Cer.

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Probanden und Patienten festgestellt werden.

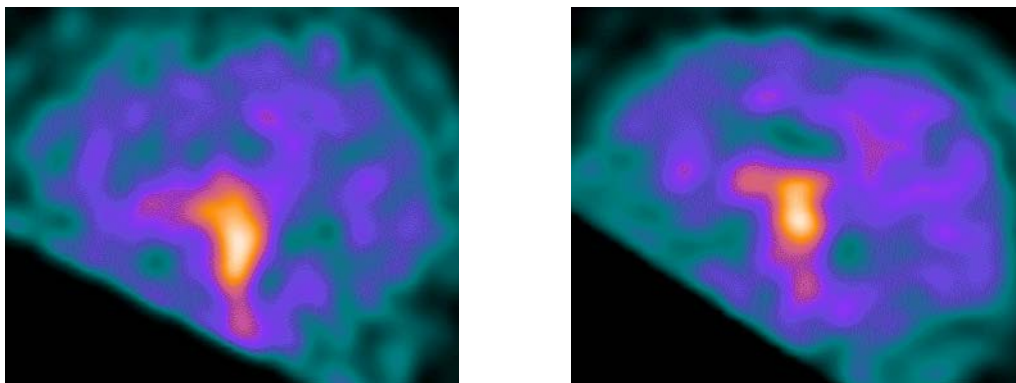


Abbildung 46: Sagittale SPECT-Scans eines gesunden Probanden (linkes Bild: (Mes-Cer)/Cer=1,33) und eines unbehandelten Patienten mit Fibromyalgie (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,22).

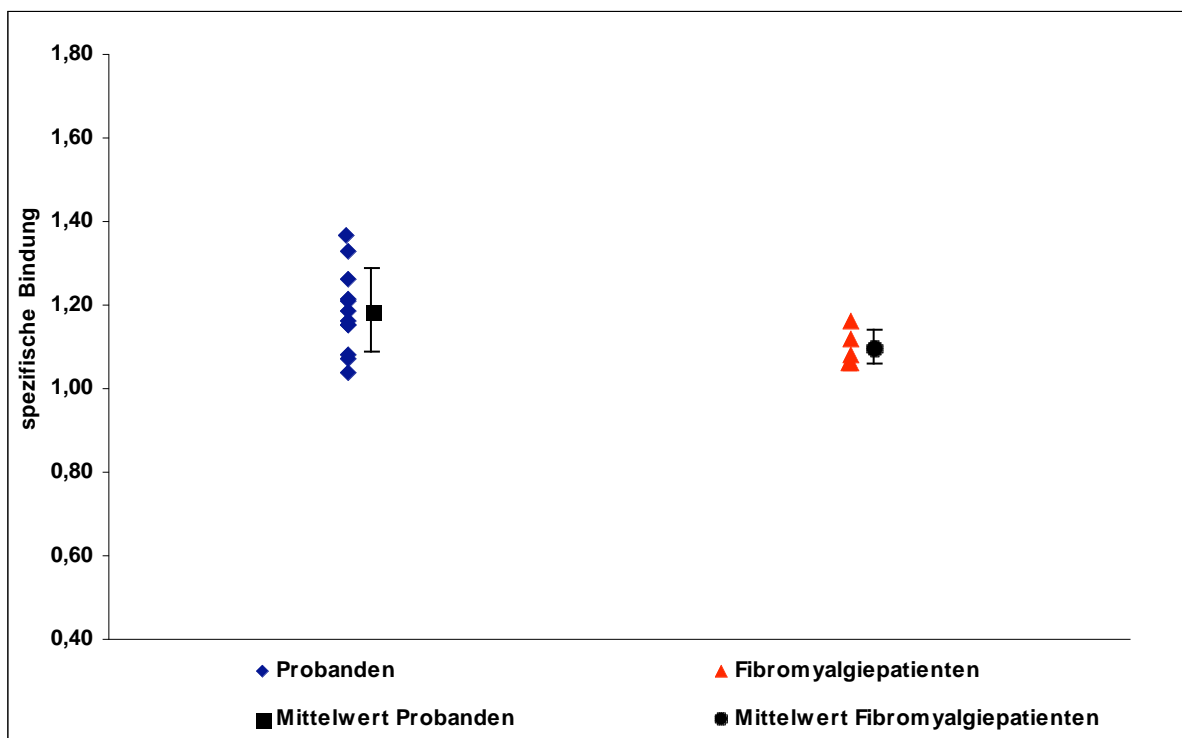


Abbildung 47: Vergleich der spezifischen Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM zwischen Normalkollektiv (n=12) und Patienten mit Fibromyalgie (n=5) mit Mittelwert und Standardabweichung.

### 6.2.1.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropisetron

Nach vierwöchiger Therapie mit 5 mg/d Tropisetron (Navoban®) verringerte sich die spezifische Bindung ((Mes-Cer)/Cer) im Mesencephalon von  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  von  $1,10 \pm 0,04$  auf  $0,97 \pm 0,04$ . Dies entspricht einer Verringerung von im Durchschnitt 12%. Der t-Test ergab dabei einen Wert von  $<0,001$ .

Dies weist auf einen höchst signifikanten Unterschied der Anreicherung vor und nach der Therapie hin.

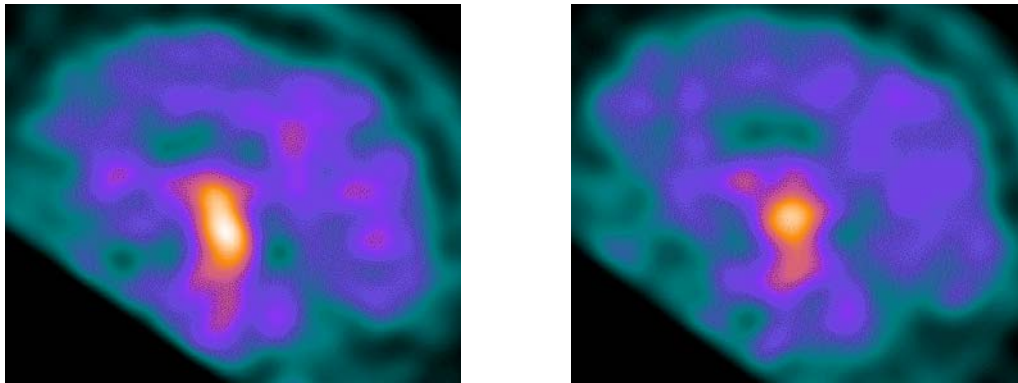


Abbildung 8: Sagittale  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$ -SPECT-Scans des Gehirns einer Patientin mit Fibromyalgia vor (linkes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,12) und nach Behandlung (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,02) mit Tropisetron (Navoban®).

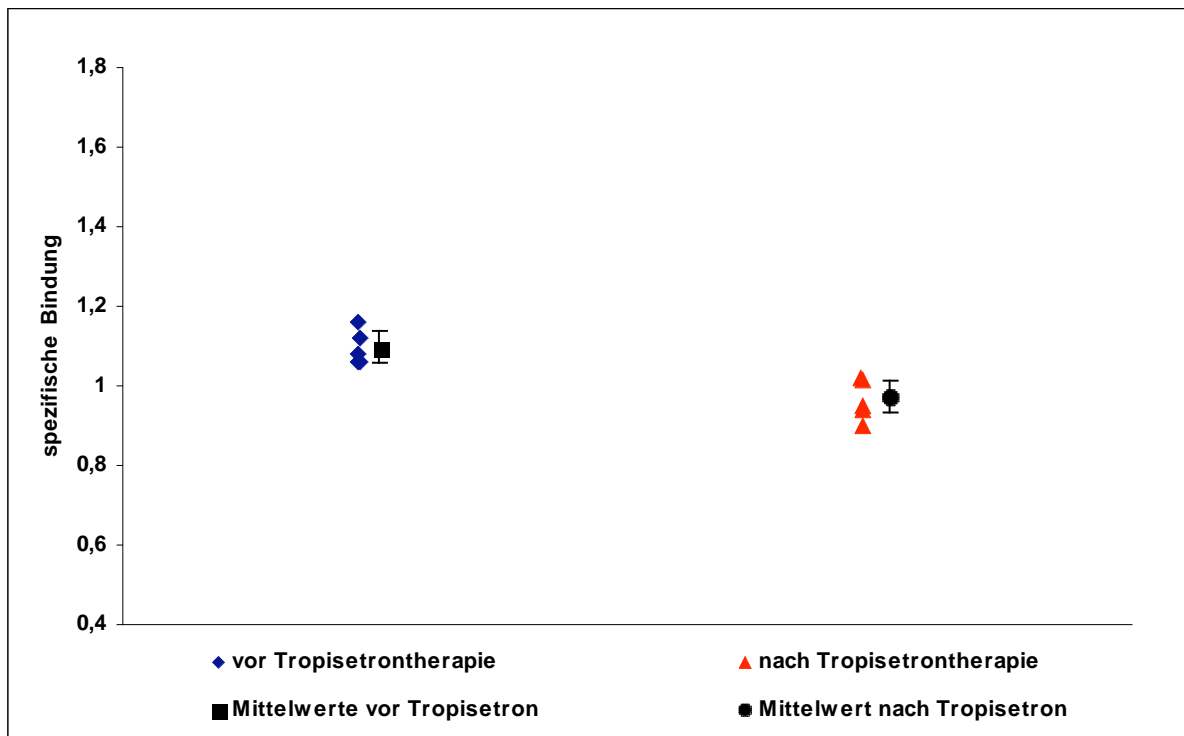


Abbildung 9: Vergleich der spezifischen Bindung von  $[^{123}\text{I}]\text{ADAM}$  zwischen fünf Fibromyalgiepatienten vor und nach Behandlung mit Tropisetron (Navoban®) mit Mittelwert und Standardabweichung.

## 7. Diskussion

### 7.1. Mikro-SPECT

Werkzeuge für die *in vivo* Darstellung des monoaminergen Systems im Tiermodell sind bis heute nur wenige vorhanden. Um *in vivo* Veränderungen an diesem System feststellen zu können, werden meist Verhaltensbeobachtungen an Tieren durchgeführt. Die Resultate dieser Tests sind jedoch nur bedingt reproduzierbar, da sie zum Beispiel von Umweltfaktoren abhängig sind.

Eine andere Möglichkeit für die Evaluation solcher Daten ist die *ex vivo* Untersuchung der interessanten Strukturen, die eine große Anzahl von Versuchstieren voraussetzt sowie extrem kostenträchtig ist.

In den meisten präklinischen Studien neuerer Radiopharmazeutika in Kleintieren war die Sektion mit dann folgender Autoradiographie oder Gamma-Counter notwendig. Viele Laboratorien haben daher an der Entwicklung von bildgebenden Systemen für Kleintiere gearbeitet.

Ziel dieser Arbeit war es, zum einen zu zeigen, dass das von dieser Arbeitsgruppe verwendete Kleintier-SPECT-System in der Lage ist, vergleichbare Darstellungsmöglichkeiten des monoaminergen Systems bei einem viel geringeren Kostenaufwand als Mikro-PET-Systeme zu liefern.

Zum anderen sollte gezeigt werden, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Kleintier zur *in vivo* Darstellung und Erforschung des monoaminergen und speziell des serotonergen Systems und seiner pathophysiologischen Veränderungen geeignet ist.

Da es sich bei [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM um ein innovatives und daher teures Radiopharmakon handelt, wurden die Etablierungsversuche mit dem schon erprobten und günstig herzustellenden Radiopharmakon [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]TRODAT durchgeführt.

Das monoaminerge System ist vor allem in der neurologischen und psychiatrischen Forschung von enormem Interesse. Bis heute sind die Pathomechanismen von den weit verbreiteten Erkrankungen wie Depression, Schizophrenie und anderen Störungen aus diesem Formenkreis nicht aufgeklärt und verstanden.

Wie bereits in Kapitel 2.2.2. dargestellt, führen Veränderungen der Dichte des SERT vor allen zu affektiven Störungen, wie zum Beispiel der Depression.

Da die Grundlagenforschung in der Medizin in erster Linie am Kleintiermodell erfolgt, haben sich viele Forschungseinrichtungen auf die Entwicklung von bildgebenden Verfahren zur Darstellung pathobiochemischer Veränderungen dieses Systems konzentriert (14, 178). Die meisten bis heute veröffentlichten Forschungsergebnisse wurden entweder mit dem MRT oder dem PET durchgeführt (14, 84, 156). Die Verwendung von Kleintier-PET-Scannern ist jedoch aufgrund des finanziellen und organisatorischen Aufwands sehr eingeschränkt. Hinzu kommt noch, dass die extrem kurzlebigen PET-Liganden in einem Zyklotron, welches direkt an ein radiochemisches Labor angeschlossen ist, produziert werden müssen. Solche Einrichtungen sind nur einem sehr kleinen Teil der wissenschaftlichen Gemeinschaft zugänglich.

Der im Rahmen dieser Arbeit vorgestellte Kleintier-SPECT-Scanner ermöglicht es, mit viel geringerem finanziellen und planerischen Aufwand funktionelle Aufnahmen hoher Qualität bei Kleintieren anzufertigen.

Es eröffnen sich somit neue Möglichkeiten zur Erforschung der pathophysiologischen Veränderungen des monoaminergen Systems bei Kleintieren. Durch die Umrüstbarkeit wird die Verwendung eines solchen Scanners umso interessanter, da er sowohl für die Patienten- als auch für Kleintieruntersuchungen zur Verfügung steht.

### **7.1.1. Phantomexperimente**

Mit Hilfe der durchgeführten Phantomexperimente ließen sich die physikalischen Leistungsgrenzen bezüglich Sensitivität und räumlicher Auflösung des im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Pinhole-SPECT-Systems ermitteln.

Die Aufnahmen des Kapillar-Phantoms gaben Aufschluss über die räumliche Auflösung des Systems. Hierbei zeigte sich zum einen, dass die Auflösung vom Öffnungsdurchmesser des Pinhole-Adapters abhängig ist, also je größer der Durchmesser, desto schlechter wird die Auflösung. Es konnten mittlere Auflösungen von 1,81 bei einem Pinhole-Durchmesser von 0,5 mm sowie von 2,73 mm bei einem Pinhole-Durchmesser von 2 mm gemessen werden.

Zum anderen zeigte sich aber auch, dass die Auflösung innerhalb des Aufnahmefeldes nicht konstant, sondern je nach Richtung im Aufnahmefeld gering variabel war.



Dabei wurde Folgendes bei Betrachtung der Veränderung der Auflösung orthogonal zur Rotationsachse auffällig. 10 bis 15 mm seitlich des Aufnahmezentrums war die Auflösung am besten, um zum Zentrum hin wieder schlechter zu werden. Zu den Rändern des Aufnahmefeldes stieg die Auflösung dann wieder kontinuierlich an.

Diese Beobachtung lässt sich durch den Aufbau des Systems und die damit verbundene Rotation der Kameraköpfe erklären. Die Entfernung der Aufnahmepunkte zu den Kameraköpfen verändert sich orthogonal der Rotationsachse mit der Rotation, im Gegensatz zu den Punkten entlang der Rotationsachse, wo die Entfernung immer gleich bleibt.

Die Ränder des Aufnahmefeldes wurden nur von jeweils einem Kamerakopf wahrgenommen, da sich hier kein überschneidendes Rekonstruktionsvolumen mehr ergab (vergleiche Kapitel 6.1.1.2). Aufgrund der zunehmenden geometrischen Entfernung der Ränder des Aufnahmefeldes zum Kamerakopf wurde die Auflösung in diesem Bereich kontinuierlich schlechter.

Die beste Auflösung des Systems neben dem Zentrum und die etwas schlechtere Auflösung im Zentrum der Messung lassen sich wie folgt erklären. Innerhalb dieses Bereiches kommt es zu einer Überschneidung der Aufnahmefelder der drei Kameraköpfe. Die Punkte an den Rändern des Aufnahmefeldes befinden sich am nächsten zu dem jeweiligen Kamerakopf, die Auflösung ist dementsprechend hier am höchsten. Das Zentrum des Aufnahmefeldes ist konstant von allen drei Kameraköpfen relativ weit entfernt, die Auflösung ist folglich in diesem Bereich etwas schlechter.

Die Auflösung entlang der Rotationsachse verhält sich anders. Sie ist ebenfalls mit dem Aufbau des Systems und der Rotation der Kameraköpfe zu erklären. In dieser Aufnahmefeldrichtung sind stets alle Punkte, unabhängig von der Rotation der Kameraköpfe, gleich weit von diesen entfernt. Das bedeutet, dass die Auflösung im Zentrum des Systems am besten ist, da die Aufnahmepunkte dort dem Kamerakopf am nächsten sind. Je weiter man sich vom Zentrum jedoch entfernt, umso größer wird die Entfernung der Aufnahmepunkte von der Kamera und die Auflösung somit kontinuierlich schlechter.

Diese beschriebenen Veränderungen der Auflösung des Systems über das Aufnahmefeld ließen sich bei Verwendung aller Pinhole-Aufsätze beobachten.

Die Ergebnisse der Aufnahmen des Struktur-Phantoms zur Bestimmung der Sensitivität zeigten, dass je größer die Bohrungsdurchmesser der Pinhole-Adapter und je höher die Anzahl der Bohrungen pro Aufsatz sind, desto höher wird die Sensitivität. Bei der Verwendung eines Pinhole-Aufsatzes mit nur einer Bohrung von nur 0,5 mm Durchmesser

liegt die Sensitivität bei nur 35 cps/MBq. Verwendet man Pinhole-Aufsätze mit zum Beispiel sechs Bohrungen mit jeweils 1 mm Durchmesser, kann eine Sensitivität von 210 cps/MBq erreicht werden.

Wurden hingegen Pinhole-Adapter mit mehreren Bohrungen, sowohl mit als auch ohne Trennwand verwendet, kam es zu Überlagerungen. Diese wurden vor allem im Zentrum des Aufnahmefeldes besonders deutlich. Die Überlagerungen kamen durch die Überschneidungen der Aufnahmefelder der verschiedenen Pinhole-Öffnungen zustande. Es konnten somit mit diesen Aufsätzen zwar Aufnahmen mit sehr hoher Sensitivität gemacht werden, jedoch war die Auflösung nicht ausreichend.

Im Vergleich dazu besitzt ein in der Diagnostik bei Menschen eingesetzter Parallellloch-Kollimator (Low Energy High Resolution Kollimator) eine Sensitivität von 50 cps/MBq.

Zu diesen Ergebnissen ist anzumerken, dass es bei der Erhöhung der Sensitivität gleichzeitig zu einem Verlust der Auflösung kommt. So lassen sich bei einem Pinhole-Durchmesser von 0,5 mm noch Bildpunkte von 2 mm Durchmesser klar voneinander differenzieren. Dies gelingt bei einem Pinhole-Durchmesser von 1 mm schon nicht mehr.

Als optimaler Kompromiss zwischen räumlicher Auflösung und Sensitivität für die Untersuchung des monoaminergen Systems stellte sich der Pinhole-Aufsatz mit einer Bohrung von 1 mm Durchmesser heraus. Wie die Aufnahmen mit dieser Systemkonfiguration zeigen, lassen sich so Bilder mit guter Auflösung und Sensitivität erreichen. Aus diesen Gründen wurde diese Systemkonfiguration bei allen Tieraufnahmen verwendet.

Trotzdem ist die Verwendung eines Kollimators auch mit einigen Problemen verbunden, die sich negativ auf die Auflösung auswirken können.

Zum Beispiel durchdringt die Gamma-Strahlung die inneren Ränder der Pinhole-Bohrung, da diese zum Rand hin immer dünner wird. Dies führt zu einer Vergrößerung des effektiven Durchmessers des Pinholes und einer damit verbundenen Verschlechterung der Auflösung (162, 163).

Zusätzlich werden Gamma-Strahlen, die den Pinhole passiert haben und schräg auf den Szintillationskristall der Gamma-Kamera treffen, aufgrund der Anger-Logik zu einem geringen Teil fehlerhaft zugewiesen. Die Ursache hierfür ist die Tiefe der Interaktion des Photons im Kristall (4).

Bei der Rekonstruktion der Bilder zeigte sich die von der Arbeitsgruppe verwendete RAMLA-Rekonstruktionsmethode der von Acton verwendeten SART-Methode überlegen. Dies machte das Abgrenzen von Strukturen erheblich einfacher. Es ist jedoch anzumerken, dass sich die Rekonstruktionszeit durch dieses Verfahren erheblich verlängert. Da jedoch keine Notwendigkeit besteht, die Ergebnisse direkt nach den Aufnahmen zu beurteilen, ist dies eine absolut hinnehmbare Einschränkung.

### **7.1.2. Tierstudien**

Im Rahmen dieser Untersuchungen ist zum einen gezeigt worden, dass das von dieser Arbeitsgruppe etablierte SPECT-System hoch spezifisch und sensitiv für die selektive in vivo Darstellung von Transportern des monoaminergen Systems geeignet ist.

Zum anderen wurde demonstriert, dass sich [<sup>123</sup>I]ADAM hervorragend für die selektive Darstellung der SERT-reichen Zentren eignet.

Zuerst sollen an dieser Stelle die allgemeinen Probleme, die sich bei der nuklearmedizinischen Darstellung des monoaminergen Systems ergeben, diskutiert werden.

Zunächst soll auf folgendes Phänomen hingewiesen werden. Neben der hohen spezifischen Bindung im Striatum oder Mittelhirn wurde auch eine hohe unspezifische Bindung in den Augen des Versuchstiers beobachtet. Die genaue Ursache dieser Bindung ist noch nicht geklärt (3). Trotzdem war es aufgrund der klaren räumlichen Trennung der Strukturen möglich, die Regions of Interest (ROIs) so zu legen, dass es zu keiner Überschneidung der Anreicherung in den untersuchten Strukturen mit der Anreicherung in den Arealen der unspezifischen Bindung kam.

Aufgrund der geringen Größe des Versuchstiers ist anzunehmen, dass die von den Augen abgegebene Strahlung ins Gehirn des Tieres sehr gering war und somit die ermittelten Werte in den untersuchten Regionen auch durch diesen Faktor wenig beeinflusst wurden.

Des Weiteren ist darauf hinzuweisen, dass sich die Versuchstiere während der Untersuchung unter dem Einfluss des Narkosegases befanden. Dies könnte zu Veränderungen des Gehirnstoffwechsels und der Darstellung des monoaminergen Systems führen. Eine an nichtmenschlichen Primaten durchgeführte Studie zeigte, dass Isofluran die Bindung von Kokain und Kokainanaloga an den DAT geringfügig erhöht (174). Studien, die diesen Einfluss auf das Rattenhirn oder den SERT bestätigen, wurden bisher nicht veröffentlicht.

Trotz dieser möglichen Interferenz ist Isofluran das bevorzugte Anästhetikum bei der Untersuchung des monoaminergen Systems im Gehirn, da es im Vergleich zu anderen Anästhetika, wie zum Beispiel Ketamin, den bei weitem kleinsten Einfluss auf die Bindung von Radioliganden hat (141, 142).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass aufgrund der guten Korrelation zwischen den ohne Flurannarkose *ex vivo* gewonnenen und den *in vivo* gewonnenen Daten die durch Narkose induzierten Veränderungen als minimal einzuschätzen sind (3).

Ein weiteres Problem der bildgebenden Untersuchung von Kleintieren und besonders bei der Darstellung des neuronalen Systems stellt die Menge der injizierten Radiotracer-Dosis dar. Trotz der viel geringeren Größe der Versuchstiere wird die Menge der injizieren radioaktiven Dosis nicht verringert. Obwohl die Volumenauflösung des darzustellenden Elements von Mensch zu Ratte von ca. 1 cm auf ca. 1 mm sinkt, muss die Anzahl der Counts pro untersuchter Struktur ungefähr dieselbe bleiben, wenn nicht sogar höher liegen. Da Volumen und Gewicht der Ratte ca. 1.000-fach geringer sind als die des Menschen wirft dies folgendes Problem auf:

Entspricht die Menge der Anlagerung des injizierten Radiotracers einer pharmakologischen Dosis, die eine Reaktion im Gehirnstoffwechsel bewirken würde, oder aber einer Radiotracer-Dosis, welche keinen Einfluss auf den Gehirnstoffwechsel hätte? Dieser Sachverhalt ist besonders wichtig bei Bindungsstudien, da das zugrunde liegende kinetische Modell in erster Linie von der Radiotracer-Dosis abhängig ist und voraussetzt, dass es zu keiner Veränderung durch den injizierten Radiotracer kommt.

Wenn im Schnitt mehr als 1% der Bindungsstellen besetzt sind, ist zumeist eine mit dem entsprechenden Rezeptor oder Transporter assoziierte Reaktion und somit eine Veränderung des Ergebnisses zu erwarten. Dies ist jedoch in erster Linie ein Problem von Studien, welche mit PET-Tracern durchgeführt werden, da diese zumeist eine niedrigere spezifische Aktivität besitzen (83).

Vorangegangene *ex vivo* Studien mit [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT in Ratten zeigten, dass die meisten Substanzen (zum Beispiel Methylphenidat, CFT), welche aktiv am Dopamintransporter (DAT) wirken, gleiche Affinitäten zu diesem besitzen. Es werden Dosen von ca. 0,5 µmol/kg benötigt, um entsprechend viele Bindungsstellen zu besetzen und um eine Veränderung der [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT-Bindung zu bewirken (49). Die injizierte Dosis der in dieser Studie (ca. 0,003 µmol/kg) verwendeten Radiopharmaka lag jedoch bei allen Substanzen ca. um den Faktor 200 darunter. Hinzu kommt, dass der geringe Anteil der injizierten Menge, der nicht der mit <sup>99m</sup>Technetium markierte ist, nicht lipophil genug ist, um

die Blut-Hirnschranke zu überwinden. Dasselbe gilt für mit  $^{123}\text{I}$ od markierte Substanzen (100). Somit kann keine pharmakologisch relevante Dosis erreicht werden.

Ein weiteres noch nicht hinreichend untersuchtes Problem stellt die hohe Strahlendosis dar, der das Versuchstier ausgesetzt ist. Es ist unklar, ob es durch diese hohe Strahlenbelastung zu strahleninduzierten Veränderungen in den untersuchten Strukturen kommt. Dies ist vor allem bei longitudinal angelegten Studien, bei denen es zu Mehrfachinjektionen kommt, von großer Bedeutung. Da bei den Untersuchungen im Rahmen dieser Studie nur ein sehr kurzer Zeitraum zwischen radioaktiver Belastung und Untersuchung liegt, können solche Veränderungen vernachlässigt werden.

Die Untersuchungen in dieser Studie mit [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]TRODAT kamen zu den folgenden Ergebnissen: Die gewonnenen Daten der Anreicherung im Cerebellum sowie der spezifischen Bindung von [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]TRODAT im Striatum mit einem Plateau zwischen der 90. und der 180. Minute korrelieren sehr eng mit den Daten anderer Arbeitsgruppen, die diese Werte durch ex vivo Messungen ermittelten (55). Es konnte gezeigt werden, dass sich durch die Gabe einer transporterblockierenden Substanz die Bindung höchst signifikant um im Schnitt 89% senken lässt. Dies untermauert die Spezifität des Systems zur Abgrenzung von Strukturen im Rattenhirn.

Es konnte somit nachgewiesen werden, dass sich das verwendete Pinhole-SPECT-System hervorragend für die hochauflösende und reproduzierbare Darstellung des dopaminergen Systems sowie für die Durchführung von Kinetik- und Blockadestudien mit [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]Tc markierten Substanzen eignet.

Die Untersuchungen mit dem DAT-Liganden [ $^{123}\text{I}$ ]IPT zeigten, dass sich dieselben spezifischen Ergebnisse auch für mit  $^{123}\text{I}$ od markierten Substanzen, sowohl für die Darstellung des Transporters als auch für die Durchführung von Blockierungsstudien, erreichen lassen.

Zusammenfassend kann somit festgehalten werden, dass das in dieser Arbeit verwendete Pinhole-SPECT-System in der Lage ist, hochspezifisch und reproduzierbar Strukturen des monoaminergen Systems in vivo darzustellen.

Solche in vivo Aufnahmen haben zum einen den Vorteil, dass eine gesamte dynamische Studie an einem einzelnen Tier durchgeführt werden kann und nicht verschiedene Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten getötet werden müssen, um die erforderlichen Daten zu gewinnen.

Zum anderen kann angenommen werden, dass es sich trotz der guten Korrelation von in vivo mit ex vivo Daten bei den in vivo Daten um eine exaktere Widerspiegelung der Vorgänge im Organismus handelt. Dies wird durch die Tatsache begründet, dass dabei sämtliche Veränderungen aufgrund von postmortalem Zerfall und Bearbeitung des Gehirngewebes ausgeschlossen werden können.

Ziel der mit [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM durchgeführten Studien war es, erstmals in vivo die Spezifität dieses innovativen Radioliganden für den SERT in Ratten darzustellen sowie dessen Bindungskinetik zu charakterisieren.

Zusätzlich wurde die spezifische Bindung nach Gabe von selektivem SERT-Inhibitor Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) evaluiert. Dies gibt wichtige Hinweise auf die in vivo Bindungsspezifität des klinisch eingesetzten Medikamentes.

Ziel der Experimente an Ratten war es, die in vivo Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM primär zu untersuchen und nach der Gabe einer um die Bindungsstellen konkurrierenden Substanz zu beurteilen. Neben der Charakterisierung der Substanz haben diese Messungen noch eine zusätzliche Bedeutung im Hinblick auf die Veränderung der Bindung des Radiopharmazeutikums nach klinischer Applikation der inhibierenden Substanz bei an Depression erkrankten Patienten. .

Die in vivo Untersuchungen zeigten, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM in Regionen mit hoher SERT-Dichte, wie dem Mittelhirn mit den Raphekernen, am stärksten bindet. Die niedrigste Bindung wurde im Cerebellum festgestellt und somit mit der unspezifischen Bindung gleichgesetzt. Das Auswaschen der Substanz fand dort im Vergleich zu den SERT-reichen Regionen sehr schnell statt.

Die Quantifizierung der Aufnahme des Radiopharmazeutikums durch die Verwendung eines Referenzgewebes hat sich sowohl in unseren Studien als auch in anderen Studien als Modell mit der höchsten Akkuratheit herausgestellt (6).

Als Folge der schnellen Aufnahme und der langsamen Auswaschphase von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM in den SERT-reichen Regionen kam es im Verlauf zu einem Anstieg der spezifischen Bindung und des Ziel-/Hintergrundverhältnisses mit einem Maximum nach 180 bis 210 Minuten nach der Injektion.

Ähnliche Ergebnisse wurden von anderen Arbeitsgruppen, die jedoch unspezifischere ex vivo PET-Radiotracer verwendeten, erzielt (124, 170).

Die in vivo Untersuchung nach Gabe eines selektiven SERT-Inhibitors kam zu folgenden Ergebnissen:

Im Mittelhirn ließ sich eine höchst signifikante Erniedrigung der Bindung des Radioliganden nachweisen. Im Durchschnitt wurde eine 69% geringere Anreicherung von [<sup>123</sup>I]ADAM im Mittelhirn durch eine Gabe von 5 mg/kg Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) beobachtet. Diese Werte sind vergleichbar mit anderen ex vivo Studien, welche jedoch den selektiven SERT-Inhibitor Paroxetin verwendeten (76, 95, 170).

Nach Gabe von Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>) änderte sich die Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM im Cerebellum nicht signifikant.

Die Ergebnisse der Rattenstudien zeigen die spezifische in vivo Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM an den SERT. Diese kann kompetitiv durch an den Bindungsstellen wirkende Substanzen inhibiert werden.

Diese Experimente unterstützen die weitere Evaluation dieses innovativen Radiopharmakons an Menschen als einen klinisch nützlichen Liganden zur Darstellung und Erforschung des serotonergen Systems sowie dessen Erkrankungen.

## **7.2. SPECT**

### **7.2.1. Probanden und Patienten**

#### ***7.2.1.1. Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei gesunden Probanden***

##### ***7.2.1.1.1. Untersuchungen zur Kinetik von [<sup>123</sup>I]ADAM***

Aufgrund von Voruntersuchungen an Zellmembranpräparationen von LLC-PK1 geklonten Zelllinien stellte sich [<sup>123</sup>I]ADAM als viel versprechender Radioligand für die Markierung des SERT dar (145). Es wies die höchste Bindungsaffinität zu dem Transporter im Vergleich zu anderen Substanzen, wie [<sup>123</sup>I]IDAM oder [<sup>123</sup>I]ODAM, auf. Es ergab sich für [<sup>123</sup>I]ADAM eine Inhibitionskonstante ( $K_{(i)}$ , nM) von  $0,013 \pm 0,003$  für den SERT. Im Gegensatz dazu betragen die Inhibitionskonstanten für den DAT (Dopamintransporter) 840 und für den NET (Norephidrintransporter) 699. Dies weist die hohe Spezifität von ADAM für den SERT und die sehr geringe Kreuzaffinität zu anderen Transportern biogener Amine wie

DAT und NET nach. Damit ist es all seinen Konkurrenzprodukten wie z.B. IDAM, ODAM und dem PET-Liganden [<sup>11</sup>C]McN5652 überlegen (34).

Anhand von ex vivo Studien an Ratten als auch an in vivo Studien an nichtmenschlichen Primaten konnte die selektive Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM an den Serotonintransporter (SERT) im Mesencephalon bereits validiert werden (31).

Die Dosimetriestudien sowohl an nichtmenschlichen Primaten als auch an gesunden Probanden ergaben keine Nebenwirkungen des Radiotracers auf die untersuchten Probanden und Patienten. Es wurden keine Veränderungen von Herzrate, EKG, Blutdruck, Pulsoxymetrie oder Laborwerten festgestellt (79, 91).

Die totale Strahlendosis wurde als 4,1 bis 4,2 mSv berechnet. Diese Werte beziehen sich auf eine injizierte Dosis von 196±20 MBq und entsprechen circa der jährlichen Belastung eines Individuums durch die natürliche Hintergrundstrahlung. Die Belastung ist somit durchaus vertretbar, sollte jedoch nicht vernachlässigt werden. Sie entspricht auch anderer bereits klinisch verwendeter <sup>123</sup>I markierter Substanzen, wie zum Beispiel β-CIT.

Die höchste Strahlenabsorption im Menschen fand zum einen in der Harnblasenwand und zum anderen im Dünndarm statt (139).

Zusammenfassend ging also aus diesen Studien hervor, dass [<sup>123</sup>I]ADAM ein sicheres Radiopharmazeutikum für die Darstellung des SERT in der klinischen Routine darstellt.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die kinetische Verteilung von [<sup>123</sup>I]ADAM im menschlichen Gehirn anfangs eine schnelle unspezifische und nicht selektive Verteilung der Aktivität aufweist, die von der Gehirndurchblutung abhängig ist. Es wird im Gehirngewebe sehr früh (nach ca. 30 Minuten p.i.) ein Maximum erreicht, dem direkt eine schnelle Auswaschphase folgt. Es kommt relativ schnell wieder zu einem Aktivitätsabfall.

Eine spezifischere und selektivere Anreicherung kann jedoch im Mesencephalon festgestellt werden. Hierfür spricht sowohl das etwas verzögerte Anreicherungsmaximum (nach ca. 45 Minuten p.i.) als auch die deutlich verlangsamte Auswaschphase. Das Verhältnis von Zielgewebe und Hintergrundgewebe, also Mesencephalon und Kleinhirn, steigt von Beginn der Untersuchung kontinuierlich an. Es erreicht sein Maximum zwischen der 3. und 5. Stunde p.i. Innerhalb dieses Zeitfensters findet sich auch die Plateauphase, die den optimalen Untersuchungszeitraum für die Messung des SERT darstellt.

[<sup>123</sup>I]ADAM ist ein für die Darstellung des SERT am Menschen geeignetes und alltagstaugliches Radiopharmazeutikum. Der große Vorteil liegt in den sehr guten kinetischen Eigenschaften, die SPECT-Aufnahmen schon wenige Stunden nach der Injektion erlauben. Eine geringe Belastung für den Patienten ist dadurch garantiert, dass er innerhalb eines Tages



nuklearmedizinisch untersucht werden kann und rasch eindeutige Ergebnisse der SPECT-Untersuchung vorliegen.

#### **7.2.1.1.2. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM**

Untersuchungen zur der Altersabhängigkeit der Bindung eines SERT-spezifischen Radiopharmakons wurden mit dem PET-Liganden [<sup>11</sup>C]McN5652 von einer Arbeitsgruppe um Yamamoto et al. durchgeführt. Dabei konnte eine Verminderung der spezifischen Bindung von 9,6% im Thalamus und 10,5% im Mittelhirn bei 28 gesunden männlichen Probanden pro Dekade nachgewiesen werden (186).

Die folgenden Studien, die mit [<sup>123</sup>I]β-CIT, das ebenfalls teilspezifisch für den SERT ist, schon an gesunden Probanden durchgeführt worden sind, lieferten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse.

Pirker und Dyck konnten ein alterabhängiges Abnehmen des SERT in Hirnstamm und Diencephalon bei 35 bzw. 126 gesunden Probanden, von 3 bis 4,5% pro Dekade nachweisen (146, 175).

Kuikka et al. konnten bei 19 Frauen ebenfalls ein Abnehmen nachweisen, welches jedoch deutlich geringer ausfiel (96).

Dahlström et al. konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen und wiesen kein signifikantes Abnehmen der Bindung nach (43).

In der aktuellsten Studie von Hesse et al. konnte ein signifikantes Abnehmen des SERT im Mittelhirn/Hirnstamm von 7,2 bis 8,3% pro Dekade bei 22 Probanden nachgewiesen werden (72).

Die Untersuchungen in dieser Studie mit [<sup>123</sup>I]ADAM ergaben eine altersabhängige Abnahme der Bindung an den SERT im Mesencephalon. Die Abnahme betrug im Schnitt 5,1% pro Dekade

Die in dieser Studie abweichende altersabhängige Bindung an den SERT von [<sup>123</sup>I]ADAM kann durch die höhere Spezifität dieses Radiopharmakons für den Rezeptor und auch durch die geringere Kreuzaffinität zu anderen Rezeptoren erklärt werden.

Folgende Störfaktoren, die eine exakte und optimale Messung der frei verfügbaren SERT-Bindungsstellen im Gehirn erschweren, sollen erwähnt werden. Erstens ist die altersabhängige Veränderung der Perfusion des ZNS zu berücksichtigen. Aufgrund der im hohen Alter verminderten Durchblutung des Gehirns könnte es zu einer verminderten Anreicherung des Radiopharmakons kommen. Dieser Effekt kann aber auch zu einer

Verlangsamung der Auswaschphase des Radiopharmazeutikums führen. Beide Effekte zusammengenommen würden somit zu einer scheinbaren Verstärkung des Alterseffekts und somit zu einem stärkeren Absinken der Bindung im höheren Alter führen. Zweitens ist zu erwähnen, dass eine altersbezogene inhomogene Veränderung der Durchblutung des Gehirns, welche zum Beispiel nur das Mittelhirn oder das Kleinhirn betrifft, die Messung negativ beeinflussen könnte. Drittens ist anzumerken, dass geschlechtsspezifische Unterschiede bei der Anreicherung von [<sup>123</sup>I]ADAM zwischen den Probanden bestehen könnten. Weder die Ergebnisse dieser Studie noch die anderer Studien konnten einen solchen Effekt eindeutig nachweisen.

Zusammenfassend ergeben sich keine Hinweise darauf, dass einer der vorher genannten Effekte die Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM signifikant beeinflusst. Somit lässt sich aus diesen Daten schlussfolgern, dass [<sup>123</sup>I]ADAM für die Darstellung des SERT geeignet ist, wobei das Patientenalter bei der Auswertung der Daten nicht vernachlässigt werden sollte.

#### **7.2.1.2. Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit depressivem Syndrom**

Da die Depression eine in der Bevölkerung sehr weit verbreitete Erkrankung ist (136), wurden zahlreiche Studien zur Erforschung dieser Störung und ihrer Behandlung durchgeführt. Trotz dieser Bemühungen existieren bis heute keine absolut gesicherten Modelle, die die pathophysiologischen Veränderungen erklären (121).

Als gesichert gilt, dass es sich bei den Veränderungen um ein Zusammenspiel vieler verschiedener Faktoren handelt. Zu diesen zählen neben neuroanatomischen und neurobiochemischen auch genetische und psychosoziale Faktoren. Es ergibt sich eine Reihe von Ansatzpunkten für die Erforschung der Ursachen dieser Erkrankung.

Es gibt viele Hinweise darauf, dass Veränderungen in der neuronalen Funktion von Serotonin im ZNS der Pathogenese von Depressionen zugrunde liegen (119). So provoziert eine schnelle Reduktion von Tryptophan im ZNS einen schnellen klinischen Rückfall bei remittierenden depressiven Patienten (130).

Der SERT, welcher mit der präsynaptischen Membran assoziiert ist, reguliert die 5-HT Neurotransmission durch das Entfernen des 5-HT aus dem synaptischen Spalt.

In verschiedenen Studien wurde eine Veränderung der Dichte des SERT bei Depression beobachtet (144). Diverse post-mortem-Studien von Suizidopfern und depressiven Patienten haben Veränderungen in der SERT-Bindung beschrieben (64). Andere post mortem Studien hingegen konnten keinen Unterschied feststellen (13). Beide Studien haben sich in

erster Linie auf den SERT im frontalen Kortex konzentriert. Zu Thalamusuntersuchungen bei Suizidopfern gab es nur zwei Studien. Eine beschrieb eine Erhöhung des SERT (64), eine andere konnte keinen Unterschied feststellen (107).

Durch die Anwendung moderner bildgebender Verfahren ist eine in vivo Untersuchung des serotonergen Systems möglich geworden, die von hohem wissenschaftlichen Interesse für das Verständnis der Depression ist (167). Es wurden zahlreiche Radioliganden entwickelt, die dies möglich machen sollten. Nur wenige von ihnen wiesen in vivo eine hohe Spezifität für den SERT auf. (172).

Zwei Studien mit dem Radioliganden [ $^{123}\text{I}$ ] $\beta$ -CIT untersuchten den Hirnstamm. Malison et al. berichteten eine reduzierte Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ] $\beta$ -CIT im Hirnstamm von depressiven Patienten (117).

Dahlström et al. konnten eine erhöhte Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ] $\beta$ -CIT feststellen (43). Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass [ $^{123}\text{I}$ ] $\beta$ -CIT sowohl für den SERT als auch für den DAT eine hohe Affinität besitzt (103). Da im Mittelhirn auch dopamintransporterreiche Regionen, wie die Substantia Nigra, lokalisiert sind, können Signale von diesem Transporter die Aussagekraft verfälschen.

Der zurzeit am besten geeignete PET-Ligand zur Markierung des SERT scheint [ $^{11}\text{C}$ ](+) $\text{McN5652}$  zu sein (27). Aufgrund der Tatsache, dass es sich hierbei um einen PET-Liganden mit extrem kurzer Halbwertszeit handelt, setzt er das Vorhandensein eines Zyklotrons voraus.

Untersuchungen mit diesem Liganden zeigten eine signifikant erhöhte Bindung des Liganden an den SERT bei depressiven Patienten im Thalamus (85).

Präklinische Studien an Ratten mit [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM, die ex vivo durchgeführt worden sind, zeigten die hohe Affinität zu dem SERT ( $K_{(i)}=0.013$  nM). Gleichzeitig besteht aber nur eine sehr gering ausgeprägte Affinität zu anderen Monoamintransportern. Für den Norepinephrintransporter (NET) ergab sich ein Wert von ( $K_{(i)}=699$  nM) und für den Dopamintransporter (DAT) ein Wert von ( $K_{(i)}=840$  nM) (145). Weitere Studien an nichtmenschlichen Primaten zeigten, dass [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM den SERT exakt und wiederholbar quantifizieren kann (2).

In dieser Studie wurde bei unbehandelten, an Depression erkrankten Patienten die Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den Serotonintransporter (SERT) gemessen.

Die Ergebnisse zeigen, dass bei unbehandelten Patienten mit depressivem Syndrom, verglichen mit gesunden Probanden, eine signifikant erhöhte Anzahl von Bindungsstellen an den SERT vorliegt.

Einerseits könnte dies auf eine erhöhte Konzentration des Serotonintransporters im hypothalamischen Mittelhirnbereich hindeuten. Andererseits wäre es jedoch auch denkbar, dass die erhöhte Bindung von [<sup>123</sup>I]ADAM die gesunkene Serotoninkonzentration und die damit verbundene gesunkene kompetitive Hemmung von Serotonin für den SERT widerspiegelt.

Diese Beobachtungen konnten auch durch andere Arbeitsgruppen, welche jedoch zur Markierung des SERT bei depressiven Patienten das <sup>11</sup>C markierte (+)McN5652 verwendeten, bestätigt werden (85, 150).

Verschiedene Fehlerquellen müssen jedoch bei der Begutachtung dieser Daten in Betracht gezogen werden.

Die im Rahmen dieser Arbeitsgruppe verwendete Methode zur Quantifizierung der Bindung des Radioliganden an den SERT verwendete das Cerebellum als Referenzregion für die Abschätzung der nichtspezifischen Bindung und der freien Ligandenkonzentration. Es wurden zwar in der Literatur strukturelle Veränderungen des Cerebellums bei Depression beschrieben (47, 160), jedoch wiesen in den hier vorliegenden Studien die Aktivitätskurven zum untersuchten Zeitpunkt keinen signifikanten Unterschied zwischen Probanden und Patienten auf. Somit war die Verwendung des Kleinhirns als Hintergrundregion möglich.

Ebenso wenig wurde der Effekt der Veränderung des regionalen Blutflusses bei depressiven Patienten berücksichtigt. Zu diesem Thema gibt es jedoch nur sehr uneinheitliche Ergebnisse von anderen Arbeitsgruppen (21, 127, 187).

Zusammenfassend lässt sich somit feststellen, dass [<sup>123</sup>I]ADAM in dieser Studie ein klinisch geeigneter Radioligand zur Diskriminierung von gesunden Probanden gegen depressive Patienten war. Anzumerken ist jedoch, dass es sich bei dieser Studie um ein sehr kleines Kollektiv gehandelt hat und somit zur Validierung der Daten Studien mit größeren Kollektiven noch durchzuführen sind.

### **7.2.1.3. Darstellung des Serotonintransporters mittels [<sup>123</sup>I]ADAM bei Patienten mit Fibromyalgie**

#### **7.2.1.3.1. Unbehandelte Patienten**

Die Fibromyalgie stellt weltweit die häufigste weichteilrheumatische Erkrankung dar. Von ihr sind etwa 1,6 Millionen Menschen betroffen. Sie tritt in erster Linie bei Frauen (achtmal häufiger) in Erscheinung und ist vor allem durch Schmerzen an ganz speziellen Sehnenansatzpunkten gekennzeichnet (183). Durch die Untersuchung dieser Fibromyalgie-Druckpunkte wird auch die Diagnose gestellt (147). Meistens tritt sie assoziiert mit vegetativen Symptomen wie Verdauungsstörungen, Herzrhythmusstörungen oder Schlafstörungen auf (81).

Ursächlich für die Erkrankung sind jedoch wohl außer den schon beschriebenen neurochemischen und genetischen Veränderungen auch psychosoziale Faktoren (36, 147).

Da ein großer Teil der Patienten auf eine Behandlung mit Antidepressiva oder Tropicsetron (Navoban®) anspricht, wird eine Beteiligung des serotonergen Systems vermutet (133, 166).

Forschungen bezüglich der Ätiologie der Fibromyalgie haben sich zum Teil auf eine vermeintliche genetische Prädisposition konzentriert. Unterstützt wurde diese Vermutung durch ein erhöhtes familiäres Vorkommen der Fibromyalgie und molekular genetische Unterschiede bei der Charakterisierung des Serotonintransportes (SERT) sowie der Serotoninrezeptoren in den untersuchten Patienten (36).

Die gewonnenen Daten dieser Arbeit könnten einen Beitrag dazu liefern, die wichtige Rolle des Serotonintransporters in der zentralen Regulation des Schmerzes zu erklären.

In dieser Studie wurden Fibromyalgiepatienten mit [<sup>123</sup>I]ADAM, welches selektiv den Serotonintransporter (SERT) markiert, untersucht. Diese Studie zeigt bei unbehandelten Patienten ((Mes-Cer)/Cer=1,11±0,04) mit Fibromyalgie, verglichen mit gesunden Probanden ((Mes-Cer)/Cer=1,19±0,10), im Schnitt eine erniedrigte Anzahl von Bindungsstellen an den SERT. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Diese Ergebnisse deuten somit darauf hin, dass sich Fibromyalgiepatienten nicht in der Dichte des SERT und der damit verbundenen Serotoninkonzentration vom Normalkollektiv unterscheiden. Aufgrund des jedoch recht kleinen Patientenkollektives müssen diese Daten noch validiert werden, um eine gesicherte Aussage treffen zu können.

### **7.2.1.3.2. Patienten unter Therapie mit Tropisetron**

Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>) ist ein seit einiger Zeit, sowohl in Deutschland als auch weltweit, eingesetztes Mittel zur Therapie von Fibromyalgie. Zugelassen ist es für die antiemetische Therapie nach Chemotherapie, Strahlentherapie und operativen Eingriffen. Außerdem wurde sowohl eine Hemmung der gastrointestinalen Motilität als auch ein anxiolytischer Effekt festgestellt (165). Im Tierexperiment als auch in vitro wurden sowohl antinozizeptive als auch anti-antinozizeptive Effekt nachgewiesen. Die Tatsache, dass nach der Manipulation des 5-HT<sub>3</sub> Rezeptors auch gegensätzliche Effekte beobachtet werden können, belegt die Bedeutung und die Komplexität dieses Neurotransmitternetzwerkes. Es erklärt auch die zum Teil inkonsistenten klinischen Befunde nach Therapie mit Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>). Je nach Studie kam es nach Therapie bei 40 bis 50% der Patienten mit Fibromyalgie zu einer im Placebovergleich signifikanten Schmerzreduktion (166).

Diese Studie stellt nun erstmals die individuelle Wirkung von Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>) bei Patienten mit Fibromyalgie auf den SERT dar. Es wurden nur Patienten untersucht, bei denen die Therapie erfolgreich verlief. Unter einer Therapie von 5 mg Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>) pro Tag für vierzehn Tage konnte eine signifikant reduzierte Anreicherung von [<sup>123</sup>I]ADAM im Mesencephalon dargestellt werden. Dies legt die Vermutung nahe, dass durch die Tropisetrontherapie entweder direkt die Expression des SERT vermindert und so indirekt eine Erhöhung des Serotoninspiegels erreicht wurde. Umgekehrt ist es jedoch auch denkbar, dass Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>) über eine direkte Erhöhung des Serotoninspiegels und die dadurch entstehende vermehrte in vivo Konkurrenz mit [<sup>123</sup>I]ADAM die Bindung des Radiopharmazeutikums an den Transporter vermindert. Beides würde eine Verbesserung der Symptome durch den erhöhten Serotoninspiegel erklären.

Da bis heute keine Studien existieren, die sich auf den Effekt von Tropisetron (Navoban<sup>®</sup>) auf den Serotoninspiegel oder die Expression des SERT beziehen, können die Ergebnisse dieser Studie wichtige Hinweise auf das Verständnis der Rolle von Serotonin und seinem Transporter im komplexen Zusammenspiel von schmerzregulierenden Substanzen bei Fibromyalgie und im gesamten nozizeptiven System geben.

## 8. Zusammenfassung

Das serotonerge System spielt eine entscheidende Rolle bei einer Vielzahl von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen. Seit einigen Jahren ist es mit Hilfe der funktionellen Bildgebung möglich, dieses Neurotransmittersystem darzustellen und zu untersuchen. Nuklearmedizinisch können diese Systeme in vivo mit Hilfe von PET oder SPECT dargestellt werden. Die Involvierung des Serotonintransporters (SERT), beispielsweise bei der Depression, der Manie, bei Essstörungen sowie der Schizophrenie, macht die Bedeutung dieses Transportersystems deutlich und unterstreicht den Bedarf eines in Forschung und Klinik anwendbaren und flächendeckend einfach einsetzbaren Radiotracers. Eine solche funktionelle Diagnostik von depressiven Patienten und Patienten mit anderen Störungen könnte von wesentlicher klinischer Bedeutung sein.

Da bislang für die Darstellung dieses Neurotransmittersystems nur sehr unspezifische SPECT-Liganden oder sehr teure und nur eingeschränkt verfügbare PET-Liganden zur Verfügung stehen, ist die Entwicklung einer spezifischen und flächendeckend einsetzbaren Substanz erstrebenswert.

Die Entwicklung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM macht es nun erstmals möglich, ein Radiopharmazeutikum, welches diesen Anforderungen gerecht wird, zu verwenden.

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war zum einem die Etablierung eines Mikro-SPECT-Systems für die primäre Untersuchung dieser Transportersysteme an Versuchstieren, in dieser Arbeit handelte es sich dabei um Ratten, auf Basis der im klinischen Alltag eingesetzten SPECT-Kameras. Nach Etablierung dieses Systems war es möglich, das Radiopharmazeutikum im Tiermodell zu charakterisieren.

Zum anderen sollte diese neue und innovative Substanz für die Verwendung am Menschen charakterisiert werden.

Als Erstes mussten die physikalischen Eigenschaften des verwendeten Mikro-SPECT-Systems eruiert werden. Hierzu wurden zwei verschiedene Phantome verwendet. Das Kapillar-Phantom diente der Bestimmung der räumlichen Auflösung des Systems. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Auflösung des Systems im Aufnahmegebiet nicht konstant ist, sondern variiert. In Richtung der Rotationsachse zeigte sich eine sich gleichmäßig verschlechternde Auflösung zu den Rändern des Aufnahmegebietes hin. Misst man jedoch die Auflösung orthogonal zur Rotationsachse, lässt sich ein anderer Verlauf beobachten. In der Mitte des Aufnahmegebietes ist die Auflösung schlechter als im ca. 1,5 cm darum liegenden

Bereich. Im Randbereich des Aufnahmegebietes verschlechtert sich die Auflösung wieder stetig. Diese Veränderungen waren durch den geometrischen Aufbau des Systems zu erklären.

Mit Hilfe des Struktur-Phantoms ließen sich einerseits Aussagen über die Sensitivität des in dieser Arbeit verwendeten Pinhole-SPECT-Systems machen. Andererseits konnten mit Hilfe des optischen Auflösungsstestes direkte Aussagen zur Auflösung gemacht werden. Dabei zeigte sich, dass die Sensitivität des Systems von dem Durchmesser und der Anzahl der Bohrungen abhängig war. Je höher der Durchmesser und je höher die Anzahl der Bohrungen, desto höher war auch die Systemsensitivität. Genau umgekehrt hierzu verhielt sich jedoch die Auflösung.

Mit Hilfe dieser beiden Phantome war es somit möglich, einen optimalen Kompromiss zwischen Auflösung und Sensitivität für die Untersuchung des monoaminergen Systems bei Kleintieren zu finden.

Zusätzlich wurde ein Fünf-Punkt-Phantom verwendet. Es erlaubte, die Position der drei Kameraköpfe mit dem entsprechenden Kollimatoren bei der Rekonstruktion optimal aufeinander abzustimmen und somit eine bestmögliche Rekonstruktion der gewonnenen Daten zu gewährleisten.

Im nächsten Schritt wurden die gewonnenen Ergebnisse auf Tierexperimente übertragen. Dabei wurde das System anhand von Rattenexperimenten mit dem bereits umfangreich charakterisierten und kostengünstig herzustellenden Radiopharmazeutikum [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT getestet. Diese Untersuchungen dienten der Validierung des Systems und lieferten so einen wichtigen Beitrag zur Etablierung für die folgenden Experimente.

Zum einen wurde mit Hilfe von dynamischen SPECT-Untersuchungen die Biodistribution der Substanz im Gehirn untersucht und die kinetischen Parameter bestimmt. Dabei zeigte sich, dass sich [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT im Striatum von Ratten spezifisch anreichert und im Vergleich zu anderen Geweben langsamer ausgewäscht. Diese Studien ließen eine Abschätzung des Bindungspotentials an den DAT sowie eine Bestimmung des optimalen Untersuchungszeitpunktes zu.

Des Weiteren wurde eine pharmakologische Charakterisierung von [ $^{99m}\text{Tc}$ ]TRODAT mit Hilfe einer am dopaminergen System bindenden Substanz vorgenommen. Hierbei fand sich nach Injektion der um den Transporter konkurrierenden Substanz Methylphenidat eine deutlich verminderte DAT-Bindung des Radiopharmazeutikums.

Da es sich bei TRODAT jedoch um eine  $^{99m}\text{Tc}$ -Technetium markierte Substanz handelt, der Tracer ADAM jedoch mit  $^{123}\text{I}$  markiert wird, wurden in einem weiteren Zwischenschritt



noch Untersuchungen mit dem I-123 markierten IPT durchgeführt. Dieser Radiotracer bindet wie das oben beschriebene TRODAT ebenfalls an den Dopamintransporter (DAT). Es wurden übereinstimmende Anreicherungen und Blockaden nach Gabe von Methylphenidat mit diesem Radiotracer erzielt.

Die auf diese Weise gewonnenen Daten wurden nun mit den in vivo sowie ex vivo erzielten Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen verglichen. Es zeigte sich, dass sich unter Verwendung des Mikro-SPECT-Systems übereinstimmende Daten bei der Untersuchung des dopaminergen Systems erzielen ließen.

Folglich kann davon ausgegangen werden, dass das in dieser Arbeit verwendete Mikro-SPECT-Systems exakt und reproduzierbar in der Lage ist, dass monoaminerge System bei Kleintieren darzustellen. Somit ist es zur Untersuchung des innovativen und teurer herzustellenden Radioliganden [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Tiermodell hervorragend geeignet.

Zunächst wurden eine ausführliche kinetische und pharmakologische in vivo Charakterisierung des Radioliganden durchgeführt. Dies geschah mit Hilfe von Mikro-SPECT-Untersuchungen zum Nachweis der spezifischen Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT. Die Ergebnisse zeigten, dass sich [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM im Mittelhirn von Ratten spezifisch anreichert und im Vergleich zu anderen Hirnbereichen langsamer auswäscht. Es ließ sich eine maximale spezifische Bindung ((Mes-Cer)/Cer) von 1,18 erreichen. Der optimale Untersuchungszeitpunkt ergab sich aus der Plateauphase der spezifischen Bindung zwischen 180 und 210 Minuten p.i. Im Rahmen der pharmakologischen Charakterisierung wurden Untersuchungen der Ratten mit Fluoxetin (Prozac<sup>®</sup>), welches potentiell am serotonergen System wirksam ist, vorgenommen. Hierbei fand sich eine im Schnitt 68% geringere Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT.

Durch diese Ergebnisse wurde die Eignung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM zur Bildgebung des SERT unter reproduzierbaren Bedingungen in vivo unterstrichen.

Bevor es zur Zulassung eines neuen Radiopharmazeutikums für die klinische Anwendung kommt, müssen kinetische Studien am Menschen durchgeführt werden. Die SPECT-Untersuchung am Menschen ergab in dieser Arbeit bei gesunden Probanden eine selektive Anreicherung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT. Dabei zeigte sich, dass sich [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM spezifisch im Mittelhirn von Menschen, dem Gebiet mit der höchsten Dichte an serotonergen Neuronen (Raphekernen), anreichert. Es wird in diesem Bereich im Vergleich zu anderen Hirnarealen langsamer ausgewaschen, dies führt zu einer maximalen spezifischen

Bindung von 2,4. Der ideale Aufnahmezeitpunkt für die Darstellung des SERT ergab sich aus der Plateauphase der spezifischen Bindung nach 3 bis 5 Stunden p.i.

Außerdem wurde eine Altersabhängigkeit der Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT deutlich. Die Bindung nahm mit zunehmendem Lebensalter stetig ab. Diese Beobachtung legt nahe, dass die Bindung des Radiotracers unter Berücksichtigung des Alters zu betrachten ist.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurden die im Rahmen der Kleintierexperimente und die an gesunden Kontrollen gewonnenen Daten mit denen der Patienten, welche an Depression und an Fibromyalgie litten, gegenübergestellt.

Der Vergleich des gesunden Kontrollkollektives mit den depressiven Patienten ergab einen signifikanten Unterschied. Patienten zeigten eine erhöhte Bindung von [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM an den SERT. Es war somit möglich, die pathologischen Veränderungen der Dichte des SERT darzustellen, was auch in der Literatur durch Vorergebnisse mit PET-spezifischen Substanzen bestätigt worden ist.

Zwischen dem gesunden Kontrollkollektiv und den unbehandelten an Fibromyalgie erkrankten Patienten ließen sich keine Unterschiede feststellen. Nach Therapie mit Tropisetron, einem 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten, ließ sich jedoch eine höchst signifikante Verringerung der Bindung des Radioliganden messen.

Insgesamt lässt sich somit feststellen, dass mit [ $^{123}\text{I}$ ]ADAM ein Radiopharmakon zur Verfügung steht, mit welchem man in der Lage ist, pathologische Veränderungen des Serotonintransporters bei verschiedenen Erkrankungen nachzuweisen und ebenso Einflüsse von Medikamenten, die typischerweise bei derartigen Erkrankungen eingesetzt werden, zu untersuchen.

## Literaturverzeichnis

---

1. Abi-Dargham, A., et al., The role of serotonin in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1997. 9(1): p. 1-17.
2. Acton, P.D., et al., Quantification of serotonin transporters in nonhuman primates using [(123)I]ADAM and SPECT. *J Nucl Med*, 2001. 42(10): p. 1556-62.
3. Acton, P.D., et al., Quantification of dopamine transporters in the mouse brain using ultra-high resolution single-photon emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002. 29(5): p. 691-8.
4. Acton, P.D. and H.F. Kung, Small animal imaging with high resolution single photon emission tomography. *Nucl Med Biol*, 2003. 30(8): p. 889-95.
5. Acton, P.D., et al., Ultra-high resolution single photon emission tomography imaging of the mouse striatum. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002. 29(3): p. 446.
6. Acton, P.D., et al., Simplified reference region model for the kinetic analysis of [99mTc]TRODAT-1 binding to dopamine transporters in nonhuman primates using single-photon emission tomography. *Eur J Nucl Med*, 1999. 26(5): p. 518-26.
7. Acton, P.D., et al., Single-photon emission tomography imaging of serotonin transporters in the nonhuman primate brain with [(123)I]ODAM. *Eur J Nucl Med*, 1999. 26(10): p. 1359-62.
8. Andersen, A.H. and A.C. Kak, Simultaneous algebraic reconstruction technique (SART): a superior implementation of the art algorithm. *Ultrason Imaging*, 1984. 6(1): p. 81-94.
9. Anger, H., Szintillation camera with multichannel collimators. *J Nucl Med*, 1964. 157(3): p. 236-242.
10. Arango, V., et al., Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT<sub>2</sub> and beta-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry*, 1990. 47(11): p. 1038-47.
11. Arango, V., et al., Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology*, 2001. 25(6): p. 892-903.
12. Archimandritis, Development of a High Resolution Spect Gamma Camera for Small Animals Imaging. *IEEE*, 2000.
13. Arora, R.C. and H.Y. Meltzer, Serotonergic measures in the brains of suicide victims: 5-HT<sub>2</sub> binding sites in the frontal cortex of suicide victims and control subjects. *Am J Psychiatry*, 1989. 146(6): p. 730-6.
14. Asanuma, M., H. Hirata, and J.L. Cadet, Attenuation of 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic nigrostriatal lesions in superoxide dismutase transgenic mice. *Neuroscience*, 1998. 85(3): p. 907-17.
15. Association, A.P., The diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM iv). 1994.
16. Attar-Levy, D., et al., The cortical serotonin<sub>2</sub> receptors studied with positron-emission tomography and [18F]-setoperone during depressive illness and antidepressant treatment with clomipramine. *Biol Psychiatry*, 1999. 45(2): p. 180-6.
17. Baumgarten, H.G. and Z. Grozdanovic, Anatomy of central serotonergic projection systems. *Springer-Verlag*, 1997: p. 41-89.
18. Beskow, J., et al., Determination of monoamine and monoamine metabolites in the human brain: post mortem studies in a group of suicides and in a control group. *Acta Psychiatr Scand*, 1976. 53(1): p. 7-20.

19. Biver, F., et al., Serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor imaging in major depression: focal changes in orbito-insular cortex. *Br J Psychiatry*, 1997. 171: p. 444-8.
20. Boissevain, M.D. and G.A. McCain, Toward an integrated understanding of fibromyalgia syndrome. II. Psychological and phenomenological aspects. *Pain*, 1991. 45(3): p. 239-48.
21. Bonne, O., et al., Cerebral hypoperfusion in medication resistant, depressed patients assessed by Tc99m HMPAO SPECT. *J Affect Disord*, 1996. 41(3): p. 163-71.
22. Booij, J., et al., Imaging of dopamine transporters in rats using high-resolution pinhole single-photon emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002. 29(9): p. 1221-4.
23. Bourne, H.R., et al., Noradrenaline, 5-hydroxytryptamine, and 5-hydroxyindoleacetic acid in hindbrains of suicidal patients. *Lancet*, 1968. 2(7572): p. 805-8.
24. Bradley, P.B., et al., Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*, 1986. 25(6): p. 563-76.
25. Briley, M., P. Chopin, and C. Moret, Effect of serotonergic lesion on "anxious" behaviour measured in the elevated plus-maze test in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 1990. 101(2): p. 187-9.
26. Brucke, T., et al., SPECT imaging of dopamine and serotonin transporters with [<sup>123</sup>I]beta-CIT. Binding kinetics in the human brain. *J Neural Transm Gen Sect*, 1993. 94(2): p. 137-46.
27. Buck, A., et al., Evaluation of serotonergic transporters using PET and [<sup>11</sup>C](+)McN-5652: assessment of methods. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000. 20(2): p. 253-62.
28. Bushnell, J.A., et al., Bulimia comorbidity in the general population and in the clinic. *Psychol Med*, 1994. 24(3): p. 605-11.
29. Carlsson, A., K. Fuxe, and U. Ungerstedt, The effect of imipramine on central 5-hydroxytryptamine neurons. *J Pharm Pharmacol*, 1968. 20(2): p. 150-1.
30. Catley, D., et al., A naturalistic evaluation of cortisol secretion in persons with fibromyalgia and rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*, 2000. 13(1): p. 51-61.
31. Chalon, S., et al., ADAM is an effective tool for in vivo study of serotonergic function: validation in rat models. *Synapse*, 2004. 52(2): p. 136-42.
32. Charney, D.S., D.B. Menkes, and G.R. Heninger, Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. Implications for the etiology and therapy of depression. *Arch Gen Psychiatry*, 1981. 38(10): p. 1160-80.
33. Cheetham, S.C., et al., Brain 5-HT<sub>2</sub> receptor binding sites in depressed suicide victims. *Brain Res*, 1988. 443(1-2): p. 272-80.
34. Choi, S.R., et al., Selective in vitro and in vivo binding of [(125)I]ADAM to serotonin transporters in rat brain. *Synapse*, 2000. 38(4): p. 403-12.
35. Choong, M., IEEE, W. W. Moses, Senior Member, IEEE, C. S. Tindall, and P. N. Luke, Design for a High-resolution Small-Animal SPECT System Using Pixellated Si(Li) Detectors for In Vivo <sup>125</sup>I Imaging.
36. Cohen, L.J., Rational drug use in the treatment of depression. *Pharmacotherapy*, 1997. 17(1): p. 45-61.
37. Compton, W.M., 3rd, et al., Substance dependence and other psychiatric disorders among drug dependent subjects: race and gender correlates. *Am J Addict*, 2000. 9(2): p. 113-25.
38. Coppen, A.J., Biochemical aspects of depression. *Int Psychiatry Clin*, 1969. 6(2): p. 53-81.
39. Cornelius, J.R., et al., Alcohol and psychiatric comorbidity. *Recent Dev Alcohol*, 2003. 16: p. 361-74.

40. Cowen, P.J., et al., Desipramine treatment in normal subjects. Effects on neuroendocrine responses to tryptophan and on platelet serotonin (5-HT)-related receptors. *Arch Gen Psychiatry*, 1986. 43(1): p. 61-7.
41. D'Haenen H, A. and A. Bossuyt, Dopamine D2 receptors in depression measured with single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry*, 1994. 35(2): p. 128-32.
42. Dahlstrom A, F.K., Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I: demonstrations of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand.*, 1964. 62(Suppl.232): p. 1-55.
43. Dahlstrom, M., et al., Elevated hypothalamic/midbrain serotonin (monoamine) transporter availability in depressive drug-naive children and adolescents. *Mol Psychiatry*, 2000. 5(5): p. 514-22.
44. Delgado, P.L., Depression: the case for a monoamine deficiency. *J Clin Psychiatry*, 2000. 61 Suppl 6: p. 7-11.
45. Devanand, D.P., Comorbid psychiatric disorders in late life depression. *Biol Psychiatry*, 2002. 52(3): p. 236-42.
46. Dinan, T.G., Serotonin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Life Sci*, 1996. 58(20): p. 1683-94.
47. Dolan, R.J., et al., Regional cerebral blood flow abnormalities in depressed patients with cognitive impairment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1992. 55(9): p. 768-73.
48. Dresel, S.H., et al., Pharmacological effects of dopaminergic drugs on in vivo binding of [99mTc]TRODAT-1 to the central dopamine transporters in rats. *Eur J Nucl Med*, 1998. 25(1): p. 31-9.
49. Dresel, S.H., et al., Pharmacological effects of dopaminergic drugs on in vivo binding of [99mTc]TRODAT-1 to the central dopamine transporters in rats. *Eur J Nucl Med*, 1998. 25(1): p. 31-9.
50. Drevets, W.C., et al., Serotonin type-1A receptor imaging in depression. *Nucl Med Biol*, 2000. 27(5): p. 499-507.
51. Drevets, W.C., et al., PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry*, 1999. 46(10): p. 1375-87.
52. Ehsanullah, R.S., Uptake of 5-hydroxytryptamine and dopamine into platelets from depressed patients and normal subjects--influence of clomipramine, desmethylclomipramine and maprotiline. *Postgrad Med J*, 1980. 56 Suppl 1: p. 31-5.
53. Ehsanullah, R.S. and P. Turner, Effects of nomifensine in vitro on uptake of 5-hydroxytryptamine and dopamine into human platelets. *Br J Clin Pharmacol*, 1977. 4Suppl 2: p. 159S-163S.
54. el-Hawary, M.B. and W. Feldberg, Effect of 5-hydroxytryptophan acting from the cerebral ventricles on 5-hydroxytryptamine output and body temperature. *J Physiol*, 1966. 186(2): p. 401-15.
55. Fang, P., et al., The preclinical pharmacologic study of dopamine transporter imaging agent [99mTc]TRODAT-1. *Nucl Med Biol*, 2000. 27(1): p. 69-75.
56. Feighner, J.P., Mechanism of action of antidepressant medications. *J Clin Psychiatry*, 1999. 60 Suppl 4: p. 4-11; discussion 12-3.
57. Ferrier, I.N., et al., Postmortem neurochemical studies in depression. *Ann N Y Acad Sci*, 1986. 487: p. 128-42.
58. Frazer, A., Hensler JG, Serotonin. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. 1999, Philadelphia: Lippincott-Raven.
59. Fujita, M., et al., Differential kinetics of [123I]beta-CIT binding to dopamine and serotonin transporters. *Eur J Nucl Med*, 1996. 23(4): p. 431-6.

60. Gambhir, S.S., et al., Imaging adenoviral-directed reporter gene expression in living animals with positron emission tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(5): p. 2333-8.
61. Gambhir, S.S., et al., Imaging of adenoviral-directed herpes simplex virus type 1 thymidine kinase reporter gene expression in mice with radiolabeled ganciclovir. *J Nucl Med*, 1998. 39(11): p. 2003-11.
62. Gjerris, A., Studies on cerebrospinal fluid in affective disorders. *Pharmacol Toxicol*, 1990. 66 Suppl 3: p. 133-8.
63. Golden, R.N., et al., Serotonin, suicide, and aggression: clinical studies. *J Clin Psychiatry*, 1991. 52(Suppl): p. 61-9.
64. Gross-Isseroff, R., M. Israeli, and A. Biegon, Autoradiographic analysis of tritiated imipramine binding in the human brain post mortem: effects of suicide. *Arch Gen Psychiatry*, 1989. 46(3): p. 237-41.
65. Gur, A., et al., Regional cerebral blood flow and cytokines in young females with fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*, 2002. 20(6): p. 753-60.
66. Gursoy, S., Absence of association of the serotonin transporter gene polymorphism with the mentally healthy subset of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol*, 2002. 21(3): p. 194-7.
67. Gursoy, S., et al., Association of T102C polymorphism of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int*, 2001. 21(2): p. 58-61.
68. Gutierrez, B., et al., Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Hum Genet*, 1998. 103(3): p. 319-22.
69. Habraken, J.B., et al., Evaluation of high-resolution pinhole SPECT using a small rotating animal. *J Nucl Med*, 2001. 42(12): p. 1863-9.
70. Halliday, G.M., et al., Distribution of substance P-like immunoreactive neurons in the human medulla oblongata: co-localization with monoamine-synthesizing neurons. *Synapse*, 1988. 2(4): p. 353-70.
71. Hallstrom, C.O., et al., Platelet uptake of 5-hydroxytryptamine and dopamine in depression. *Postgrad Med J*, 1976. 52(3 suppl): p. 40-6.
72. Hesse, S., et al., Is correction for age necessary in neuroimaging studies of the central serotonin transporter? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003. 30(3): p. 427-30. Epub 2003 Jan 16.
73. Hesse, S., et al., Advances in in vivo imaging of serotonergic neurons in neuropsychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 2004. 28(6): p. 547-63.
74. Hiemke, C. and S. Hartter, Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacol Ther*, 2000. 85(1): p. 11-28.
75. Hirani, E., et al., Pindolol occupancy of 5-HT<sub>1A</sub> receptors measured in vivo using small animal positron emission tomography with carbon-11 labeled WAY 100635. *Synapse*, 2000. 36(4): p. 330-41.
76. Hirano, K., et al., In vivo identification and characterization of binding sites for selective serotonin reuptake inhibitors in mouse brain. *Life Sci*, 2004. 75(24): p. 2933-45.
77. Horschitz, S., R. Hummerich, and P. Schloss, Structure, function and regulation of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) transporter. *Biochem Soc Trans*, 2001. 29(Pt 6): p. 728-32.
78. Hoyer, D., et al., International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev*, 1994. 46(2): p. 157-203.
79. Huang, W.S., et al., Imaging serotonin transporters with <sup>123</sup>I-ADAM brain SPECT in healthy non-human primates. *Nucl Med Commun*, 2004. 25(5): p. 515-9.

80. Huang, W.S., et al., 123 I-ADAM SPECT in healthy nonhuman primates: a preliminary report. *Ann Nucl Med Sci*, 2002. 15: p. 27-32.
81. Hudson, J.I., et al., Comorbidity of fibromyalgia with medical and psychiatric disorders. *Am J Med*, 1992. 92(4): p. 363-7.
82. Hume, S.P., et al., In vivo saturation kinetics of two dopamine transporter probes measured using a small animal positron emission tomography scanner. *J Neurosci Methods*, 1997. 76(1): p. 45-51.
83. Hume, S.P., R.N. Gunn, and T. Jones, Pharmacological constraints associated with positron emission tomographic scanning of small laboratory animals. *Eur J Nucl Med*, 1998. 25(2): p. 173-6.
84. Hume, S.P. and T. Jones, Positron emission tomography (PET) methodology for small animals and its application in radiopharmaceutical preclinical investigation. *Nucl Med Biol*, 1998. 25(8): p. 729-32.
85. Ichimiya, T., et al., Serotonin transporter binding in patients with mood disorders: a PET study with [11C](+)McN5652. *Biol Psychiatry*, 2002. 51(9): p. 715-22.
86. Ishizu, K., et al., Ultra-high resolution SPECT system using four pinhole collimators for small animal studies. *J Nucl Med*, 1995. 36(12): p. 2282-7.
87. Jacobs, B.L. and C.A. Fornal, Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacol Rev*, 1991. 43(4): p. 563-78.
88. Jarry, J.L. and F.J. Vaccarino, Eating disorder and obsessive-compulsive disorder: neurochemical and phenomenological commonalities. *J Psychiatry Neurosci*, 1996. 21(1): p. 36-48.
89. Jordan, K., Meßtechnik. In Büll U, Schischa H, Biersack H-J, Knapp WH, Reiners Chr, Schober O: *Nuklearmedizin*. Vol. 56. 1999, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
90. Katon, W.J., et al., Increased medical costs of a population-based sample of depressed elderly patients. *Arch Gen Psychiatry*, 2003. 60(9): p. 897-903.
91. Kauppinen, T.A., et al., Biodistribution and radiation dosimetry of [123I]ADAM in healthy human subjects: preliminary results. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003. 30(1): p. 132-6. Epub 2002 Nov 9.
92. Kimbrell, T.A., et al., Regional cerebral glucose utilization in patients with a range of severities of unipolar depression. *Biol Psychiatry*, 2002. 51(3): p. 237-52.
93. Kirmayer, L.J., J.M. Robbins, and M.A. Kapusta, Somatization and depression in fibromyalgia syndrome. *Am J Psychiatry*, 1988. 145(8): p. 950-4.
94. Kirnap, M., et al., A comparison between low-dose (1 microg), standard-dose (250 microg) ACTH stimulation tests and insulin tolerance test in the evaluation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis in primary fibromyalgia syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2001. 55(4): p. 455-9.
95. Kugaya, A., et al., Brain serotonin transporter availability predicts treatment response to selective serotonin reuptake inhibitors. *Biol Psychiatry*, 2004. 56(7): p. 497-502.
96. Kuikka, J.T., et al., Effects of ageing on serotonin transporters in healthy females. *Eur J Nucl Med*, 2001. 28(7): p. 911-3.
97. Kuikka, J.T., et al., Imaging of serotonin and dopamine transporters in the living human brain. *Eur J Nucl Med*, 1995. 22(4): p. 346-50.
98. Kung, H.F., et al., In vitro and in vivo evaluation of [123I]IBZM: a potential CNS D-2 dopamine receptor imaging agent. *J Nucl Med*, 1989. 30(1): p. 88-92.
99. Kung, M.P., et al., Characterization of [(123I)]IDAM as a novel single-photon emission tomography tracer for serotonin transporters. *Eur J Nucl Med*, 1999. 26(8): p. 844-53.
100. Kung, M.P., et al., [99mTc]TRODAT-1: a novel technetium-99m complex as a dopamine transporter imaging agent. *Eur J Nucl Med*, 1997. 24(4): p. 372-80.

101. Kwiatek, R., et al., Regional cerebral blood flow in fibromyalgia: single-photon-emission computed tomography evidence of reduction in the pontine tegmentum and thalami. *Arthritis Rheum*, 2000. 43(12): p. 2823-33.
102. Langer, S.Z. and A.M. Galzin, Studies on the serotonin transporter in platelets. *Experientia*, 1988. 44(2): p. 127-30.
103. Laruelle, M., et al., SPECT imaging of dopamine and serotonin transporters with [123I]beta-CIT: pharmacological characterization of brain uptake in nonhuman primates. *Synapse*, 1993. 13(4): p. 295-309.
104. Lassen, N.A., A reappraisal of the relative merits of SPET and PET in the quantitation of neuroreceptors: the advantage of a longer half-life! *Eur J Nucl Med*, 1996. 23(1): p. 1-4.
105. Lauder, J.M. and E.F. Zimmerman, Sites of serotonin uptake in epithelia of the developing mouse palate, oral cavity, and face: possible role in morphogenesis. *J Craniofac Genet Dev Biol*, 1988. 8(3): p. 265-76.
106. Lawrence, K.M., et al., Brain 5-HT uptake sites, labelled with [3H]paroxetine, in antidepressant-free depressed suicides. *Brain Res*, 1990. 526(1): p. 17-22.
107. Lawrence, K.M., et al., [3H] imipramine binding in brain samples from depressed suicides and controls: 5-HT uptake sites compared with sites defined by desmethylimipramine. *J Affect Disord*, 1998. 47(1-3): p. 105-12.
108. Lepine, J.P., et al., Depression in the community: the first pan-European study DEPRES (Depression Research in European Society). *Int Clin Psychopharmacol*, 1997. 12(1): p. 19-29.
109. Lin, K.J., et al., Biodistribution study of [(123)I] ADAM in mice: correlation with whole body autoradiography. *Nucl Med Biol*, 2002. 29(6): p. 643-50.
110. Lin, K.J., et al., Characterization of the binding sites for 123I-ADAM and the relationship to the serotonin transporter in rat and mouse brains using quantitative autoradiography. *J Nucl Med*, 2004. 45(4): p. 673-81.
111. Lloyd, K.G., et al., Serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in discrete areas of the brainstem of suicide victims and control patients. *Adv Biochem Psychopharmacol*, 1974. 11(0): p. 387-97.
112. Lopez, J.F., H. Akil, and S.J. Watson, Neural circuits mediating stress. *Biol Psychiatry*, 1999. 46(11): p. 1461-71.
113. Lowther, S., et al., Brain 5-HT<sub>2</sub> receptors in suicide victims: violence of death, depression and effects of antidepressant treatment. *Brain Res*, 1994. 642(1-2): p. 281-9.
114. Lundkvist, C., et al., Characterization of bromine-76-labelled 5-bromo-6-nitroquipazine for PET studies of the serotonin transporter. *Nucl Med Biol*, 1999. 26(5): p. 501-7.
115. Maes M, Meltzer, The serotonin hypothesis of major depression. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. 1995, New York: Raven Press Ltd.
116. Maes, M., E. Vandoolaeghe, and R. Desnyder, Efficacy of treatment with trazodone in combination with pindolol or fluoxetine in major depression. *J Affect Disord*, 1996. 41(3): p. 201-10.
117. Malison, R.T., et al., Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropine and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry*, 1998. 44(11): p. 1090-8.
118. Malmgren, R., et al., Defective serotonin transport mechanism in platelets from endogenously depressed patients. *Life Sci*, 1981. 29(25): p. 2649-58.



119. Mann, J.J., Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropsychopharmacology*, 1999. 21(2 Suppl): p. 99S-105S.
120. Mann, J.J., et al., Positron emission tomographic imaging of serotonin activation effects on prefrontal cortex in healthy volunteers. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996. 16(3): p. 418-26.
121. Mann, J.J., et al., The neurobiology of suicide risk: a review for the clinician. *J Clin Psychiatry*, 1999. 60 Suppl 2: p. 7-11; discussion 18-20, 113-6.
122. Mann, J.J., et al., Increased serotonin<sub>2</sub> and beta-adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry*, 1986. 43(10): p. 954-9.
123. Margaret E. DAube-Witherspoon, M., IEEE, Assessment of Image Quality with a Fast Fully 3D Reconstruction Algorithm (RAMLA). IEEE.
124. Marjamaki, P., et al., S-[18F]fluoromethyl-(+)-McN5652, a PET tracer for the serotonin transporter: Evaluation in rats. *Synapse*, 2003. 47(1): p. 45-53.
125. Marsden, C., The Neuropharmacology of serotonin in the central nervous system. Selective Serotonin Re-uptake Inhibitors. 1996, New York: Wiley & Sons.
126. Matej, S. and R. Lewitt, Practical Considerations for 3D Image Reconstruction Using Spherically Symmetric Volume Elements. *IEEE TMI*, 1996. Vol. 15(No 1).
127. Mayberg, H.S., et al., Paralimbic hypoperfusion in unipolar depression. *J Nucl Med*, 1994. 35(6): p. 929-34.
128. McElroy, L.R.M., F.J. Beekman, Y. Wang, B.E. Patt, J.S. Iwanczyk, B.M.W. Tsui, E.J. Hoffman, Performance Evaluation of A-SPECT: A High Resolution Desktop Pinhole SPECT System for Imaging Small Animals. *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, 2002. 49: p. p. 2139-2147.
129. Meltzer, H.Y., Role of serotonin in depression. *Ann N Y Acad Sci*, 1990. 600: p. 486-99; discussion 499-500.
130. Moore, P., et al., Rapid tryptophan depletion, sleep electroencephalogram, and mood in men with remitted depression on serotonin reuptake inhibitors. *Arch Gen Psychiatry*, 1998. 55(6): p. 534-9.
131. Morton, D.B. and P.H. Griffiths, Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *Vet Rec*, 1985. 116(16): p. 431-6.
132. Mozley, P.D., et al., Dosimetry of an iodine-123-labeled tropane to image dopamine transporters. *J Nucl Med*, 1996. 37(1): p. 151-9.
133. Muller, W., et al., The challenge of fibromyalgia: new approaches. *Scand J Rheumatol Suppl*, 2000. 113: p. 86.
134. Mulsant, B.H., et al., Comorbid anxiety disorders in late-life depression. *Anxiety*, 1996. 2(5): p. 242-7.
135. Murphy, D.L., C.S. Aulakh, and N.A. Garrick, How antidepressants work: cautionary conclusions based on clinical and laboratory studies of the longer-term consequences of antidepressant drug treatment. *Ciba Found Symp*, 1986. 123: p. 106-25.
136. Murray, C.J. and A.D. Lopez, Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*, 1997. 349(9064): p. 1498-504.
137. Muscat, R., M. Papp, and P. Willner, Antidepressant-like effects of dopamine agonists in an animal model of depression. *Biol Psychiatry*, 1992. 31(9): p. 937-46.
138. Nagel A, E.H., Strahlenmessung. In Elser: Leitfaden Nuklearmedizin. 1999, Darmstadt: Steinkopffverlag. 21-45.
139. Newberg, A.B., et al., Biodistribution and imaging with (123)I-ADAM: a serotonin transporter imaging agent. *J Nucl Med*, 2004. 45(5): p. 834-41.

140. Nikolaus, S., et al., Quantitation of dopamine transporter blockade by methylphenidate: first in vivo investigation using [(123)I]FP-CIT and a dedicated small animal SPECT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2004.
141. Nishimura, M. and K. Sato, Ketamine stereoselectively inhibits rat dopamine transporter. *Neurosci Lett*, 1999. 274(2): p. 131-4.
142. Nishimura, M., et al., Ketamine inhibits monoamine transporters expressed in human embryonic kidney 293 cells. *Anesthesiology*, 1998. 88(3): p. 768-74.
143. Olsson, L.E. and L. Ahlgren, Tomographic scintigraphy using a pinhole collimator and a rotating gamma camera. *Nuklearmedizin*, 1990. 29(2): p. 47-50.
144. Owens, M.J. and C.B. Nemeroff, Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem*, 1994. 40(2): p. 288-95.
145. Oya, S., et al., 2-((2-((dimethylamino)methyl)phenyl)thio)-5-iodophenylamine (ADAM): an improved serotonin transporter ligand. *Nucl Med Biol*, 2000. 27(3): p. 249-54.
146. Pirker, W., et al., Imaging serotonin and dopamine transporters with 123I-beta-CIT SPECT: binding kinetics and effects of normal aging. *J Nucl Med*, 2000. 41(1): p. 36-44.
147. Pongratz, D.E. and M. Sievers, Fibromyalgia-symptom or diagnosis: a definition of the position. *Scand J Rheumatol Suppl*, 2000. 113: p. 3-7.
148. Rapport, M.M., The discovery of serotonin. *Perspect Biol Med*, 1997. 40(2): p. 260-73.
149. Reid, J., An automatic brain scanner. *Int J Appl Rad*, 1958. 3: p. 1.
150. Reivich, M., et al., PET brain imaging with [11C](+)McN5652 shows increased serotonin transporter availability in major depression. *J Affect Disord*, 2004. 82(2): p. 321-7.
151. Rickels, K. and E. Schweizer, Clinical overview of serotonin reuptake inhibitors. *J Clin Psychiatry*, 1990. 51(Suppl B): p. 9-12.
152. Riedel, W., H. Layka, and G. Neeck, Secretory pattern of GH, TSH, thyroid hormones, ACTH, cortisol, FSH, and LH in patients with fibromyalgia syndrome following systemic injection of the relevant hypothalamic-releasing hormones. *Z Rheumatol*, 1998. 57 Suppl 2: p. 81-7.
153. Riedel, W., et al., Blunted ACTH and cortisol responses to systemic injection of corticotropin-releasing hormone (CRH) in fibromyalgia: role of somatostatin and CRH-binding protein. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 966: p. 483-90.
154. Rosel, P., et al., Altered [3H]imipramine and 5-HT<sub>2</sub> but not [3H]paroxetine binding sites in platelets from depressed patients. *J Affect Disord*, 1999. 52(1-3): p. 225-33.
155. Sargent, P.A., et al., Brain serotonin<sub>1A</sub> receptor binding measured by positron emission tomography with [11C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry*, 2000. 57(2): p. 174-80.
156. Sarkar, S.K., et al., 9.4 T imaging studies of human tumor xenografts in nude mice. *Invest Radiol*, 1988. 23(9): p. 677-9.
157. Scherfler, C., et al., Evaluation of striatal dopamine transporter function in rats by in vivo beta-[123I]CIT pinhole SPECT. *Neuroimage*, 2002. 17(1): p. 128-41.
158. Schildkraut, J.J., The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. 1965. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1995. 7(4): p. 524-33; discussion 523-4.
159. Schwarz, M.J., et al., Relationship of substance P, 5-hydroxyindole acetic acid and tryptophan in serum of fibromyalgia patients. *Neurosci Lett*, 1999. 259(3): p. 196-8.
160. Shah, S.A., et al., Posterior fossa abnormalities in major depression: a controlled magnetic resonance imaging study. *Acta Psychiatr Scand*, 1992. 85(6): p. 474-9.

161. Simpson, S.G. and K.R. Jamison, The risk of suicide in patients with bipolar disorders. *J Clin Psychiatry*, 1999. 60 Suppl 2: p. 53-6; discussion 75-6, 113-6.
162. Smith, M.F. and R.J. Jaszczak, An analytic model of pinhole aperture penetration for 3D pinhole SPECT image reconstruction. *Phys Med Biol*, 1998. 43(4): p. 761-75.
163. Smith, M.F. and R.J. Jaszczak, The effect of gamma ray penetration on angle-dependent sensitivity for pinhole collimation in nuclear medicine. *Med Phys*, 1997. 24(11): p. 1701-9.
164. Soubrie, P., [Serotonergic neurons and behavior]. *J Pharmacol*, 1986. 17(2): p. 107-12.
165. Spath, M., et al., Treatment of fibromyalgia with tropisetron--dose and efficacy correlations. *Scand J Rheumatol Suppl*, 2004(119): p. 63-6.
166. Spath, M., et al., Efficacy and tolerability of intravenous tropisetron in the treatment of fibromyalgia. *Scand J Rheumatol*, 2004. 33(4): p. 267-70.
167. Staley, J.K., R.T. Malison, and R.B. Innis, Imaging of the serotonergic system: interactions of neuroanatomical and functional abnormalities of depression. *Biol Psychiatry*, 1998. 44(7): p. 534-49.
168. Standke, R., Meßgeräte und Auswertegeräte. In Büll U, Hör G, *Klinische Nuklearmedizin*. 1990, Weinheim: Edition Medizin VCH.
169. Stanley, M., et al., Neurochemical findings in suicide completers and suicide attempters. *Suicide Life Threat Behav*, 1986. 16(2): p. 286-300.
170. Suehiro, M., et al., Radiosynthesis and biodistribution of the S-[18F]fluoroethyl analog of McN5652. *Nucl Med Biol*, 1996. 23(4): p. 407-12.
171. Swerdlow NR , G.K., Dopamin, schizophrenia, mania, and depression: Toward a unified hypothesis of cortico-striato-pallido-thalamic function. *Behav. Brain Science*, 1987. 10: p. 197-245.
172. Takano, A., et al., Comparative evaluation of two serotonin transporter ligands in the human brain: [(11)C](+)McN5652 and [(11)C]cyanoimipramine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002. 29(10): p. 1289-97.
173. Tenen, S.S., The effects of p-chlorophenylalanine, a serotonin depletor, on avoidance acquisition, pain sensitivity and related behavior in the rat. *Psychopharmacologia*, 1967. 10(3): p. 204-19.
174. Tsukada, H., et al., Isoflurane anesthesia enhances the inhibitory effects of cocaine and GBR12909 on dopamine transporter: PET studies in combination with microdialysis in the monkey brain. *Brain Res*, 1999. 849(1-2): p. 85-96.
175. van Dyck, C.H., et al., Age-related decline in central serotonin transporter availability with [(123)I]beta-CIT SPECT. *Neurobiol Aging*, 2000. 21(4): p. 497-501.
176. Vehoeff NP, B.U., Costa DC, Kirsch G, Lottes G, Moretti JL, Podreka I, Schober O, van Royen EA., Basics and recommendation for brain SPECT. *Nuklearmedizin*, 1992. 31: p. 114-131.
177. Verkes, R.J., et al., Mood correlates with blood serotonin, but not with glucose measures in patients with recurrent suicidal behavior. *Psychiatry Res*, 1998. 80(3): p. 239-48.
178. Weber, D.A. and M. Ivanovic, Ultra-high-resolution imaging of small animals: implications for preclinical and research studies. *J Nucl Cardiol*, 1999. 6(3): p. 332-44.
179. Whelan, G. and P.A. Flecknell, The assessment of depth of anaesthesia in animals and man. *Lab Anim*, 1992. 26(3): p. 153-62.
180. Willeit, M., et al., [123I]-beta-CIT SPECT imaging shows reduced brain serotonin transporter availability in drug-free depressed patients with seasonal affective disorder. *Biol Psychiatry*, 2000. 47(6): p. 482-9.
181. Winkel, Z.K., *Emissionstomographie*, ed. I. *Nuklearmedizin*. 1990, Berlin: Springer Verlag.

182. Wolfe, F. and M.A. Cathey, Prevalence of primary and secondary fibrositis. *J Rheumatol*, 1983. 10(6): p. 965-8.
183. Wolfe, F., et al., The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum*, 1995. 38(1): p. 19-28.
184. Wolfe, F., et al., The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*, 1990. 33(2): p. 160-72.
185. Wong, D.F., et al., Dopamine receptor binding of C-11-3-N-methylspiperone in the caudate in schizophrenia and bipolar disorder: a preliminary report. *Psychopharmacol Bull*, 1985. 21(3): p. 595-8.
186. Yamamoto, M., et al., Age-related decline of serotonin transporters in living human brain of healthy males. *Life Sci*, 2002. 71(7): p. 751-7.
187. Yazici, K.M., et al., Assessment of changes in regional cerebral blood flow in patients with major depression using the 99mTc-HMPAO single photon emission tomography method. *Eur J Nucl Med*, 1992. 19(12): p. 1038-43.
188. Ye, X.X., et al., Microautoradiography of [123I]ADAM in mice treated with fluoxetine and serotonin reuptake inhibitors. *Nucl Med Biol*, 2004. 31(5): p. 557-62.
189. Zutphen LF, H.H., van Oortmerssen GA et al, Genetische Standardisierung. *Grundlagen der Versuchstierkunde - ein Beitrag der zum Tierschutzgerechten Umgang mit Versuchstieren und zur Qualität tierexperimenteller Ergebnisse.*, 1995(1): p. 117-30.

# Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1:	Diese Abbildung stellt die Synthese von Serotonin im Körper dar. Ausgangsstoff ist Tryptophan. Über einen Zwischenschritt entsteht Serotonin. Abgebaut wird es zu 5-Hydroxyindolessigsäure. Im Corpus Pineale stellt Serotonin die Ausgangssubstanz für die Synthese von Melatonin dar. ....	10
Abbildung 2:	Dargestellt ist die mediosagittale Ebene des humanen Gehirns mit Lage der serotonergen Raphekerne und den aufsteigenden Hauptbahnen der 5-HT Projektion (CB: Cingulum; Cli: Ncl. Linearis caudalis; DR: Nucl. Raphe dorsalis; DRCT: kortikaler Trakt des DRN; F: Fornix; IC: Capsula interna; MFB: mediales Vorderhirnbündel; MnR: Nucl. Raphe magnus; Rob: Ncl. Raphe obscurus; Rpa: Nucl. Raphe pallidus). Abbildung nach (17). ....	13
Abbildung 3:	Der serotonerge Einfluss auf den hypothalamischen-hypophysären Regelkreis. 5-HT stimuliert den Hypothalamus, was über verschiedene Zwischenschritte zu einer Erhöhung z.B. des Cortisolspiegels im Organismus führt. ....	17
Abbildung 4:	Aufbau von Kollimatoren (PM: Photomultiplier). Die linke Abbildung zeigt einen Kollimator mit niedriger Auflösung und niedriger Nachweiswahrscheinlichkeit. Die rechte Abbildung zeigt einen anders konstruierten Kollimator mit hoher Auflösung und hoher Nachweiswahrscheinlichkeit für Gammastrahlung. ....	27
Abbildung 5:	Schematische Darstellung des Vergrößerungseffekts von Pinhole-Kollimatoren (D: fokale Länge des Kollimators, d: Abstand des Objekts vom Kollimator, z: reale Größe des Objekts; z': Abbildungsgröße des Objekts auf dem Detektor). ....	29
Abbildung 6:	Darstellung des Rekonstruktionsvolumens, das sich aus den drei Rückprojektionen der Gamma-Kameras ergibt (rot: sich überschneidendes Rekonstruktionsvolumen im Zentrum des Aufnahmefeldes; orange: Rekonstruktionsvolumen der einzelnen Gamma-Kameras an den Rändern des Aufnahmefeldes). ....	29
Abbildung 7:	Strukturformel des Radioliganden [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT .....	41
Abbildung 8:	Strukturformel von ADAM ([2-[[2- <sup>22</sup> Dimethylamino]methyl]phenyl]thio]-5-iodophenylamine]. ....	42
Abbildung 9:	Schematische Zeichnung des Aufbaus der Pinhole-Kollimatoren sowie die Photographie eines unmontierten Pinhole-Kollimators. ....	44
Abbildung 10:	Links: Die Abbildung stellt die verwendeten Wolfram-Pinholeaufsätze dar. (Linkes Bild, links: Sechs-Loch-Pinholeaufsätze mit von oben nach unten 3, 2, 1 mm Öffnungsdurchmesser; linkes Bild, rechts: Ein-Loch-Pinholeaufsatz mit von oben nach unten 3, 2, 1mm Öffnungsdurchmesser. Rechtes Bild: Aufnahme des Pinhole-SPECT-Systems mit montierten Pinhole-Kollimatoren.) ....	44
Abbildung 11:	Links: Schematische Darstellung der Anordnung der drei Pinhole-Kollimatoren um das untersuchte Objekt. Rechts: Photographie des experimentellen Aufbaus bei der Datenakquisition im Tierexperiment. ....	45
Abbildung 12:	Schematische Darstellung des Rotationsorbits, des untersuchten Objekts, eines Detektors sowie der Vorwärts- und Rückprojektionen. ....	46
Abbildung 13:	Links: Bildrekonstruktion (Projektion, Rückprojektion), welche den Raum der überlappenden und glatten Blobs benutzt; rechts: Bilddarstellung in Voxelform der Summen aller Blobs, die sich in diesem Voxel überschneiden. Abbildung nach (126). ....	47
Abbildung 14:	Darstellung des in diesen Versuchen als Kalibrierungs-Phantom verwendeten Fünf-Punktphantoms, sowohl schematisch (li.) als auch als Foto (re.). ....	48

Abbildung 15: Links: Photographie der Kapillaren. Rechts: Schematische Darstellung der Anordnung der Kapillaren im Aufnahme­feld.....	49
Abbildung 16: Links: Dies ist eine transaxiale Darstellung des zylindrischen Struktur-Phantoms. Die dargestellte Quellenverteilung dient als Schablone für den Aufbau des Struktur-Phantoms. Rechts: Axiale Sicht auf das Struktur-Phantom. Der Übersicht wegen ist nur eine der 121 Bohrungen eingezeichnet. Vor und hinter der abzubildenden Ebene waren Areale von ca. 3 mm axialer Tiefe, die zur besseren Verteilung des Radiopharmakons in die Löcher dienten.....	49
Abbildung 17: Foto einer Sprague-Dawley Ratte nach Einleiten der Narkose und nach Anlegen der Narkosemaske.....	50
Abbildung 18: Foto der Injektion des Radiopharmazeutikums in die V. femoralis der Ratte..	50
Abbildung 19: Sagittales und transversales SPECT-Bild des Gehirns mit eingezeichneten Regions of Interest. Die markierten Strukturen entsprechen dem frontalen Kortex (linkes Bild 1), dem parietalen Kortex (links, 2), dem occipitalen Kortex (links, 3), dem Cerebellum (links, 5) sowie dem Mesencephalon (links, 4; rechts, 1,2,3).....	53
Abbildung 20: Rekonstruktion der SPECT-Aufnahmen des untersuchten Fünf-Punkt-Phantoms. ....	58
Abbildung 21: Transversale sowie koronare SPECT-Aufnahmen der untersuchten Kapillaren. Der Pfeil gibt die Schnittebene für die koronaren Aufnahmen wieder.....	59
Abbildung 22: Links: Rekonstruktion des Kapillar-Phantoms mit Hilfe des SART-Algorithmus ohne Berücksichtigung der Strahlendivergenz und ohne Kalibrierung der Kameraköpfe mit Hilfe des Fünf-Punkt-Phantoms; Rechts: Rekonstruktion des Kapillar-Phantoms mit Hilfe der BLOB-Methode unter Berücksichtigung der Strahlendivergenz und unter Verwendung des Fünf-Punkt-Phantoms. ....	59
Abbildung 23: Darstellung der mittleren Auflösung (FWHM) des Pinhole-Systems im Aufnahme­feld in orthogonaler Richtung zu der Rotationsachse, unter Verwendung von 1-mm-Pinhole-Aufsätzen mit einer Bohrung. ....	60
Abbildung 24: Darstellung der mittleren Auflösung (FWHM) des Systems vom Mittelpunkt des Aufnahme­feldes in Richtung der Rotationsachse unter Verwendung von 1-mm-Pinhole-Aufsätzen mit einer Bohrung.....	60
Abbildung 25: Links: Aufnahme des Struktur-Phantoms mit 6-Pinhole-Kollimatoren mit 1 mm Öffnungsdurchmesser unter Verwendung einer Trennwand. Rechts: Aufnahme des Sechs-Pinhole-Struktur-Phantoms mit Öffnungsdurchmesser von 1 mm ohne Trennwand. ....	63
Abbildung 26: Darstellung des Rattenhirns nach SPECT-Scan. Die Region 3 zeigt die Lage des Cerebellums, die Regionen 1 und 2 die Lage der beiden Striatas. ....	64
Abbildung 27: Darstellung der Kinetik der mittleren Anreicherung von [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT an den DAT im Striatum und Cerebellum (n=4). (Schwarze Kurve: Mittelwert Striatum; Grüne Kurve: Mittelwert rechtes Striatum; Gelbe Kurve: Mittelwert linkes Striatum; Rote Kurve: Mittelwert Cerebellum) mit jeweiliger Standardabweichung. ....	65
Abbildung 28: Darstellung der spezifischen Bindung (Str-Cer)/Cer von [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT an den DAT im Striatum von unbehandelten Ratten (n=4) mit entsprechender Standardabweichung. Der optimale Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase von 90 bis 180 Minuten. ....	65
Abbildung 29: Koronare SPECT-Scans eines Versuchstiers vor (linkes Bild:(Str-Cer)/Cer=0,16 ) und eines nach Gabe von 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin®) (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=0,87). ....	66
Abbildung 30: In dieser Darstellung werden vier unbehandelte Versuchstiere (li.) mit drei Versuchstieren nach der Gabe von Methylphenidat (Ritalin®) (re.), nach 90 bis	

120 Minuten, verglichen. Der Mittelwert der unbehandelten Tiere betrug 0,87±0,11, der Mittelwert der .....	66
Abbildung 31: Darstellung des Mittelwerts der spezifischen Bindung von [ <sup>99m</sup> Tc]TRODAT an den DAT im Striatum bei mit 2 mg/kg Methylphenidat (Ritalin <sup>®</sup> ) vorbehandelten Ratten mit Standardabweichung. ....	67
Abbildung 32: Koronare [ <sup>123</sup> I]IPT SPECT-Scans des Gehirns eines unbehandelten (linkes Bild;(Str-Cer)/Cer=1,37) und eines mit Methylphenidat (Ritalin <sup>®</sup> ) behandelten Versuchstiers (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=0,14).....	67
Abbildung 33: Darstellung des Mittelhirns der Ratte in transversalen Schnitten im MRT (li.) und nach einem SPECT-Scan. Der obere Pfeil weist auf die serotonergen Zentren im Mittelhirn hin, der untere auf das Cerebellum.....	68
Abbildung 34: Kinetikdarstellung der mittleren Anreicherung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT. Blau sind die Mittelwerte der Anreicherung im Mittelhirn und rot die Mittelwerte der Anreicherung im Cerebellum (n=4) dargestellt, jeweils mit Standardabweichung. ....	69
Abbildung 35: Darstellung der spezifischen Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM im Mittelhirn bei unbehandelten Versuchstieren (n=4) mit Standardabweichung. Der optimale Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase, welche ca. 180 bis 210 Minuten andauert. ....	69
Abbildung 36: Transversale [ <sup>123</sup> I]ADAM-SPECT-Bilder eines unbehandelten Versuchstiers (links, (Mes-Cer)/Cer=1,27) und eines mit dem selektiven SERT-Inhibitor Fluoxetin (Prozac <sup>®</sup> ) behandelten Versuchstiers (rechts, (Mes-Cer)/Cer=0,33). .....	70
Abbildung 37: Vergleich der spezifischen Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT bei unbehandelten Versuchstieren (n=4) sowie nach Gabe von 5 mg/kg des selektiven SERT-Inhibitors Fluoxetin (Prozac <sup>®</sup> ) (n=3) nach 180 bis 210 Minuten.....	70
Abbildung 38: Darstellung der spezifischen Bindung mit Standardabweichung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT im Mittelhirn von Versuchstieren, welche mit dem selektiven SERT-Inhibitor Fluoxetin (Prozac <sup>®</sup> ; 5 mg/kg) vorbehandelt wurden. ....	71
Abbildung 39: Darstellung der Kinetik der mittleren Anreicherung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT. Mittelwerte im Mesencephalon (blaue Kurve), Cerebellum (grüne Kurve), frontalen (gelbe Kurve) und occipitalen (rote Kurve) Kortex bei gesunden Probanden (n=12) in Counts/Pixel mit Standardabweichung. ....	73
Abbildung 40: Zeitlicher Verlauf des mesencephalen Target/Non-Target-Verhältnisses. Mittelwerte bei gesunden Probanden (n=12) mit Standardabweichung.....	73
Abbildung 41: Darstellung der Mittelwerte der spezifischen Bindung ((Mes-Cer)/Cer) für [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT des Mesencephalons bei gesunden Probanden (n=12) mit Standardabweichung. Der günstigste Untersuchungszeitpunkt ergibt sich aus der Plateauphase, welche von ca. 3 h p.i. bis 5 h p.i. andauert. .....	74
Abbildung 42: Zeitlicher Verlauf der Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT des Mesencephalons bei gesunden Probanden (n=12) mit Standardabweichung. .....	74
Abbildung 43: Altersabhängigkeit der spezifischen Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM im Mesencephalon von gesunden Probanden (n=12).....	75
Abbildung 44: Sagittale [ <sup>123</sup> I]ADAM SPECT Bilder eines gesunden Probanden (linkes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,34) und eines depressiven Patienten (rechtes Bild; (Mes- Cer)/Cer=1,55).....	76
Abbildung 45: Vergleich der spezifischen Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM an den SERT bei gesunden Kontrollpersonen (n=12) und bei Patienten mit Depression (n=8) mit Mittelwert und Standardabweichung. ....	76

Abbildung 46: Sagittale SPECT-Scans eines gesunden Probanden(linkes Bild:(Mes-Cer)/Cer=1,33 ) und eines unbehandelten Patienten mit Fibromyalgie (rechtes Bild; (Mes-Cer)/Cer=1,22).....	77
Abbildung 47: Vergleich der spezifischen Bindung von [ <sup>123</sup> I]ADAM zwischen Normalkollektiv (n=12) und Patienten mit Fibromyalgie (n=5) mit Mittelwert und Standardabweichung.....	77



## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 1: Diese Tabelle zeigt die Klassifikation und Lage der Raphekerne bei Säugetieren (MLF: Mediolateraler Fasciculus). .....	12
Tabelle 2: Dargestellt sind die einzelnen 5-HT Rezeptorsubklassen mit Kopplung, Vorkommen und ihrer Wirkung. ....	14
Tabelle 3: Jeweils die am besten gemessenen radialen Halbwertsbreiten (FWHM) unter Verwendung der verschiedenen zur Verfügung stehenden Pinhole-Adapter mit einer Bohrung. ....	61
Tabelle 4: Sensitivität (cps/MBq) des verwendeten Pinhole-SPECT-Systems in Counts per Second per MBq bei verschiedenen Pinhole-Aufsätzen mit einer Bohrung. ....	63

## Abkürzungen

---

<b>CIT:</b>	N-methyl-2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-iodophenyl)-tropane
<b>5, 7-DHT:</b>	5, 7-dihydroxytryptamine
<b>5-HIAA:</b>	5-HydroxyIndole Acetic Acid
<b>5-HT:</b>	5-Hydroxy-Tryptamin
<b>ACR:</b>	American College of Rheumatology
<b>ACTH:</b>	Adrenocorticotrophes Hormon
<b>ADAM:</b>	2-[[2- <sup>22</sup> Dimethylamino]methyl]phenyl] thio] -5 iodophenyl-amine
<b>CB:</b>	Cingulum
<b>CCT:</b>	Craniale Computertomographie
<b>Cer:</b>	Cerebellum
<b>CFT:</b>	N-methyl-2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-fluoro-phenyl)tropane
<b>CIT-FP:</b>	N-(3-fluoropropyl)-2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-iodophenyl)tropane
<b>Cli:</b>	Ncl. Linearis caudalis
<b>CRF:</b>	Corticotropin-Releasing Factor
<b>CT:</b>	Computertomographie
<b>D:</b>	Dopaminrezeptoren
<b>DAT:</b>	Dopamintransporter
<b>DR: :</b>	Nucl. Raphe dorsalis
<b>DRCT:</b>	kortikaler Trakt des DRN
<b>EDTA:</b>	Äthylendiamintetraessigsäure
<b>EEG:</b>	Elektroencephalogramm
<b>F:</b>	Fornix
<b>FDG:</b>	18-Fluor-Deoxyglukose
<b>FOV:</b>	Field of View
<b>Fro:</b>	Frontaler Cortex
<b>FWHM:</b>	Full Width at Half Maximum
<b>GABA:</b>	$\gamma$ -Amino-Buttersäure
<b>HMPAO:</b>	Hexamethylpropylene-amine-oxime
<b>IBZM:</b>	Iodobenzamide
<b>IC:</b>	Capsula interna
<b>IPT:</b>	N-(3'iodopropen-2'-yl)-2 $\beta$ -carbomethoxy-3 $\beta$ -(4-chloro-phenyl)tropane

**McN5652:** trans-1,2,3,5,6,10b-hexahydro-6-[4-([18F]fluoroethylthio)-phenyl]pyrrolo-[2,1-a]-isoquinoline) FEMcN

**Mes:** Mesencephalon

**MFB:** mediales Vorderhirnbündel

**MLF:** MedioLateraler Fasciculus

**MnR:** Nucl. Raphe magnus

**MPH:** Methylphenidat

**MRT:** Magnetresonanztomographie, Kernspintomographie

**NET:** Norephidrintransporter

**pCPA:** Tryptophan Hydroxylase Inhibitor

**PET:** Positronen-Emissions-Tomographie

**PM:** Photomultiplier

**RAMLA:** Methode Row Action Maximum Likelihood Algorithm

**Rob:** Ncl. Raphe obscurus

**ROI:** Region of interest

**Rpa:** Nucl. Raphe pallidus

**SART:** simultanen algebraischen Rekonstruktionstechnik

**SERT:** Serotonin Transporter

**SPECT:** Single-Photon-Emissions-Computertomographie

**SSRI's:** Selektive Serotonin Reuptake Inhibitor

**Str:** Striatum

**TRODAT:** 2-[[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1.]oct-2-yl]methyl](2-mercaptoethyl)amino]-ethyl]amino] ethane-thiolato(3-)-N2,N2',S2,S2']oxo-[1R-(exo-exo]

## Danksagung

---

Mein spezieller Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. med. Stefan Dresel, der maßgeblich zu einem erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beitrug. Herr Priv. Doz. Dresel stand mir jederzeit mit seinem hohen Engagement, seiner persönlichen Erfahrung und seinem fachlichen Wissen bei. Seine Förderung hat mir ermöglicht, erste wissenschaftliche Kenntnisse für meine weitere Berufslaufbahn zu sammeln und erweiterte mein Interesse an der Forschung und der Nuklearmedizin. Ohne seine grosszügige Förderung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Klaus Hahn, der es mir erst ermöglichte meine Forschungstätigkeiten in der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin am Klinikum der LMU durchzuführen.

Herr Dr. med. Christian la Fougère danke ich ganz herzlich für die Unterstützung und Einarbeitung in die Grundlagen der nuklearmedizinischen Arbeitsweisen. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. rer. medic. Franz Josef Gildehaus sowie Herrn Milan Coporda die von Seiten der Radiochemie meine Dissertation erst möglich gemacht haben. Bei Herrn Dr. rer.nat. Christian Zach möchte ich mich für seine tatkräftige Unterstützung bezüglich der physikalischen Grundlagen bedanken, mit denen er die Voraussetzung für meine Dissertation geschaffen hat. Desweiteren danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin die mich bei der Durchführung meiner Dissertation unterstützt haben.

Für die redaktionelle Unterstützung danke ich besonders Frau Phoebe Gaa die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand sowie Herrn Thomas Payrhuber.

Zuletzt gilt noch mein ausdrücklicher Dank meinen Eltern, die mich stets in jeglicher Hinsicht förderten und die für meinen persönlichen Werdegang, den erfolgreichen Abschluss meines Medizinstudiums sowie dieser Arbeit entscheidend waren.