

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Apl. Prof. Dr. Andrea Fischer

Pilotstudie zur Untersuchung der Wirksamkeit und
Verträglichkeit einer Add-on-Therapie zur Behandlung
Phenobarbital-resistenter idiopathischer Epilepsie beim Hund

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Viviana Pamela Muñoz Schmieder

aus Köln

München 2014

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Apl. Prof. Dr. Andrea Fischer

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Kaspar Matiasek

Tag der Promotion:

12. Juli 2014

Meinem Großvater

Friedrich Georg Schmieder

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1	Epilepsie	2
2.1.1	Definitionen.....	2
2.1.2	Pathophysiologie epileptischer Anfälle.....	3
2.1.3	Pharmakotherapie.....	3
2.1.3.1	Für Hunde zugelassene Antiepileptika.....	4
2.1.3.1.1	Phenobarbital.....	4
2.1.3.1.2	Kaliumbromid	4
2.1.3.1.3	Imepitoin	5
2.1.3.2	Humanmedizinische Antiepileptika	5
2.1.3.2.1	Levetiracetam	5
2.1.3.2.2	Zonisamid.....	5
2.1.3.2.3	Gabapentin	6
2.1.3.2.4	Pregabalin.....	6
2.2	Pharmakoresistenz	6
2.2.1	Definition Pharmakoresistenz	7
2.2.2	Aktuell diskutierte Hypothesen.....	7
2.2.2.1	Target Hypothese	7
2.2.2.2	“Intrinsic Severity” Hypothese.....	7
2.2.2.3	Multidrug Transporter Hypothese	8
3	MATERIAL UND METHODEN	11
3.1	Studiendesign.....	11
3.2	Patientenrekrutierung	11
3.2.1	Einschlusskriterien	12
3.2.2	Ausschlusskriterien	13
3.2.3	Einschlussuntersuchungen	14
3.3	Patientenkollektiv	15
3.3.1	Besitzerinstruktionen.....	16
3.3.2	Behandlungsschema	16
3.3.2.1	Basistherapie	16

3.3.2.2	Add-on-Therapie	17
3.3.2.3	Notfallinstruktion	18
3.3.3	Tierärztliche Kontrolluntersuchungen.....	18
3.4	Auswertung	19
3.4.1	Definition Anfallsparameter.....	20
3.4.2	Auswertung der Anfallsparameter	21
3.5	Abbruchkriterien	23
4	ERGEBNISSE	24
4.1	Einschlussuntersuchungen	24
4.2	Studienabbrecher	24
4.3	Ausgewertete Patienten.....	25
4.4	Anfallsauswertung.....	26
4.4.1	Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Monat (Anfallsfrequenz).....	27
4.4.2	Durchschnittliche Zahl der Anfallstage pro Monat (Anfallstagfrequenz) .	29
4.4.3	Durchschnittliche Zahl der Serienanfälle pro Monat (Serienanfallsfrequenz)	31
4.4.4	Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall	33
4.4.5	Anfallsfrequenz während der Intervallphase.....	34
4.4.6	Anfalltagsfrequenz während der Intervalle	35
4.4.7	Serienanfallsfrequenz während der Intervalle	37
4.4.8	Anfälle pro Serienanfall während der Intervalle	38
4.4.9	Verlauf der Anfallsfrequenz beim individuellen Patienten.....	40
4.5	Verträglichkeit und Nebenwirkungen.....	51
5	DISKUSSION	53
5.1	Ziel der Studie.....	53
5.2	Studiendesign.....	53
5.3	Datenmaterial	54
5.4	Einschlusskriterien und Definition Pharmakoresistenz	54
5.5	Verträglichkeit und Nebenwirkungen.....	56
5.6	Anfallsparameter.....	58

5.7	Studienmedikament und Therapieprotokoll	60
5.8	Ausblick.....	61
6	ZUSAMMENFASSUNG	62
7	SUMMARY.....	63
8	LITERATURVERZEICHNIS	64
9	DANKSAGUNG	71

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ALT	Alanin-Transaminase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
BBB	blood-brain barrier
BHS	Blut-Hirnschranke
CA3 Region	Region des Cornu Ammonis (Ammonshorn)
COX	Cyclooxygenase
CT	Computertomographie
EP1 Receptor	Prostaglandin E1 Rezeptor
GABA	γ -Aminobuttersäure
HIV	Humanes Immundefizienzvirus
ILAE	International League Against Epilepsy
KG	Körpergewicht
MDR1-Gen	Multidrug-Resistance-Gen 1
MRT	Magnetresonanztomographie
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NSAID	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PGE2	Prostaglandin E2
Pgp	P-Glykoprotein
SE	Status epilepticus
s.	siehe
Tab.	Tabelle
U-P/C	Urin-Protein/Kreatinin-Quotient
USG	Urinspezifisches Gewicht
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG

Die Überwindung der Pharmakoresistenz bei der Behandlung epileptischer Anfälle beim Menschen sowie auch beim Hund ist eines der dringendsten Anliegen der Epilepsieforschung. Bei beiden Spezies stellen epileptische Anfälle eine der häufigsten chronischen neurologischen Erkrankungen dar. Die Behandlung von Epilepsien macht meist eine lebenslange Therapie notwendig, doch sowohl in der Humanmedizin, als auch in der Tiermedizin, lassen sich bei einem Teil der Patienten die Anfälle trotz adäquater Therapie nicht oder nicht ausreichend kontrollieren CHANDLER, 2006; HUFNAGEL und NOACHTAR, 2007).

Zu den Mechanismen dieser Pharmakoresistenz werden aktuell verschiedene Hypothesen diskutiert. Der Forschungsansatz der vorliegenden Studie stützt sich auf die Multidrug-Transporter-Hypothese. Multidrug-Transporter sind Bestandteil der sogenannten Blut-Hirn-Schranke. Sie befinden sich in den Kapillaren der zerebralen Gefäße und bewirken einen Auswärtstransport potentiell schädlicher Substanzen. Es konnte nachgewiesen werden, dass im chronisch epileptischen Gehirn eine Überexpression von Multidrug-Transportern, besonders P-Glycoprotein (Pgp), stattfindet (POTSCHEKA, 2010). Die meisten Antiepileptika sind Substrate von Pgp, so dass sie, im Falle einer zu hohen Konzentration von Pgp in den Gehirnkapillaren, nicht in ausreichendem Maß an ihren Wirkort im Gehirn gelangen können. Die Überexpression von Pgp wird durch die Anfälle selbst ausgelöst, wobei eine Signaltransduktionskette in Gang gesetzt wird, bei der unter anderem das Enzym Cyclooxygenase 2 (COX-2) eine Rolle spielt. Durch gezielte Hemmung der COX-2 wird eine anfallsinduzierte Hochregulation von Pgp verhindert, so dass die eingesetzten Antiepileptika ihre Wirkung an ihrer jeweiligen Zielstruktur in den Zellen entfalten können, ohne dass die Schutzfunktion der Bluthirnschranke durch komplett Hemmung von Pgp beeinträchtigt wird. In der vorliegenden Studie wurden Hunde mit pharmakoresistenter, idiopathischer Epilepsie bzw. Epilepsie unbekannter Ursache über einen Zeitraum von 6 Monaten zusätzlich zur antiepileptischen Basistherapie mit einem COX-2-Hemmer behandelt, mit dem Ziel, die Verträglichkeit und Wirksamkeit zu prüfen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Epilepsie

Epileptische Anfälle gehören zu den häufigsten Vorstellungsgründen in der neurologischen Kleintierpraxis. Auch beim Menschen ist Epilepsie die zweithäufigste chronische Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS) (HUFNAGEL und NOACHTAR, 2007). Die Prävalenz für Epilepsie beim Hund wird zwischen 0,5% und 5,7% angegeben (CHANDLER, 2006). Epilepsie ist ein Sammelbegriff für verschiedene Störungen und Krankheiten, die in wiederholten spontanen epileptischen Anfällen resultieren.

2.1.1 Definitionen

Man unterscheidet zwischen primärer, idiopathischer Epilepsie, der eine genetische Ursache zugrunde liegt und sekundärer Epilepsie, für die eine Vielzahl an möglichen Ursachen in Frage kommt. Die sekundäre Epilepsie unterteilt man in symptomatische Epilepsie, die durch strukturelle Veränderungen im Gehirn, wie sie durch Traumata, Entzündungen, Tumore oder Anomalien hervorgerufen werden können, entsteht, und in kryptogene Epilepsie, deren Ätiologie nicht bestimmt werden kann, bei der man aber eine symptomatische unterstellt. Reaktive epileptische Anfälle, die durch metabolische Erkrankungen, Elektrolytentgleisungen oder Vergiftungen verursacht werden, kategorisiert man nicht als Epilepsie (CHANDLER, 2006).

Man unterscheidet in der Tiermedizin ebenso wie in der Humanmedizin verschiedene Anfallstypen. Epileptische Anfälle können sich generalisiert oder fokal darstellen, je nach Ausmaß der betroffenen Hirnregion. Beim generalisierten epileptischen Anfall sind beide Hemisphären des Gehirns simultan aktiv, während bei einem fokalen Anfall nur eine Hemisphere oder nur einzelne Regionen des Großhirns betroffen sind. Fokale Anfälle können außerdem in generalisierte Anfälle übergehen. Epileptische Anfälle sind in der Regel selbstlimitierend. Ab einer Anfallsdauer von fünf Minuten, oder wenn der Patient zwischen zwei oder mehreren Anfällen keine normale Bewusstseinslage wiedererlangt, spricht man von einem Status epilepticus, ein lebensbedrohlicher Zustand, der durch sofortige medikamentöse Therapie behandelt werden muss (FISCHER et al., 2013).

Etwa ein Drittel aller human- und tiermedizinischen Patienten mit idiopathischer Epilepsie erreichen trotz adäquater Therapie keine Anfallsfreiheit, bzw. keine zufriedenstellende Reduktion ihrer Anfallsfrequenz. Als Pharmakoresistenz wird definiert, wenn trotz einer Therapie mit zwei oder mehr, als Mono- oder Kombinationstherapie verabreichten, adäquaten Antiepileptika in einer für den Patienten tolerierbaren Dosierung keine Anfallsfreiheit erreicht wird (KWAN et al., 2010).

2.1.2 Pathophysiologie epileptischer Anfälle

Epileptische Anfälle entstehen im Großhirn. Man nimmt an, dass epileptische Anfälle durch Imbalanzen zwischen erregenden und hemmenden Impulsen entstehen. Eine gesteigerte Erregung sowie eine verminderte Hemmung können durch verschiedene Veränderungen, wie genetisch verursachte Defekte an Ionenkanälen oder Veränderungen an den Rezeptoren hemmender Neurotransmitter (GABA), zustande kommen. Auch durch die Anfälle selbst entstehen Veränderungen an den Rezeptoren (GABA-, Glutamat- und Opioid-Rezeptoren), was zur Pathogenese chronischer Epilepsie beiträgt. Während eines Anfalls feuern die Neuronen in synchronisierter Form (CHANDLER, 2006).

2.1.3 Pharmakotherapie

Das Ziel der medikamentösen Behandlung von epileptischen Anfällen ist es, das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung im Gehirn wiederherzustellen. Antiepileptische Medikamente können auf der Basis ihrer Zielstrukturen (spannungsabhängige Natrium-Ionenkanäle, GABA_A-Rezeptoren, glutamaterge Neurotransmission, Kalzium-Ionenkanäle) eingeteilt werden (CHANDLER, 2006). Die für den Hund zugelassenen Antiepileptika (Phenobarbital, Kaliumbromid, Imepitoin) gehören der Gruppe der Modulatoren der inhibitorischen GABAergen Neurotransmission an. Des Weiteren werden humanmedizinische Antiepileptika (Levetiracetam, Zonisamid, Gabapentin, Pregabalin, Topiramat, Felbamat) umgewidmet. Einige andere der in der Humanmedizin eingesetzten Medikamente sind jedoch aufgrund ihrer schnellen Elimination (Carbamazepin, Phenytoin, Fos-Phenytoin), unerwünschter Nebenwirkungen (Lamotrigin, Vigabatrin) oder auch hoher Kosten nicht für Hunde geeignet (FISCHER et al., 2013).

2.1.3.1 Für Hunde zugelassene Antiepileptika

2.1.3.1.1 Phenobarbital

Phenobarbital ist eines der ältesten Antiepileptika in der Human- und Tiermedizin. Es bindet am GABA_A-Rezeptor und vermindert damit die Erregbarkeit der Nervenzelle. 60-80% aller Hunde können mit Phenobarbital als Monotherapie zumindest zu Beginn der Erkrankung zufriedenstellend therapiert werden (SCHWARTZ-PORSCHE et al., 1985). Phenobarbital braucht 10-14 Tage bis die maximale Serumkonzentration erreicht wird. Nach einer Anfangsdosierung von zwei mal täglich 2,5mg/kg (und einer eventuellen Ladedosis zu Beginn der Therapie von 20mg/kg) wird nach 14 Tagen der steady-state erreicht, weitere Dosisanpassungen werden anhand des Therapieerfolges und auch der Serumkonzentration vorgenommen. Auch weil Phenobarbital durch Enzyminduktion in der Leber (Cytochrom P450) seinen eigenen Abbau beschleunigt, ist es wichtig, die Serumkonzentration regelmäßig zu kontrollieren (MONTEIRO et al., 2009). Als therapeutischer Bereich gelten Serumwirkspiegel von 15-45 µg/ml. Phenobarbital ist in hohen Konzentrationen hepatotoxisch. Als Nebenwirkungen treten Sedierung, Ataxie, Appetitsteigerung und vermehrte Wasseraufnahme auf, diese reduzieren sich aber nach zwei bis vier Wochen meist wieder deutlich. Phenobarbital wird über die Leber ausgeschieden.

2.1.3.1.2 Kaliumbromid

Kommt es unter Phenobarbitaltherapie zu keiner befriedigenden Anfallskontrolle, wird üblicherweise Kaliumbromid als Add-on-Therapie zu Phenobarbital eingesetzt. Es kann auch als Monotherapie eingesetzt werden, was besonders für Hunde mit Lebererkrankungen von Bedeutung ist, da Kaliumbromid über die Niere ausgeschieden wird. Ein weiterer Vorteil von Kaliumbromid ist, dass es nur einmal täglich verabreicht werden muss. Auch Kaliumbromid erhöht die Wirkung am GABA_A-Rezeptor, indem das Bromid das Chlorid ersetzt, welches durch die Chloridkanäle strömt und die Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran verlängert (FISCHER et al., 2013). Die maximale Serumkonzentration wird erst nach mehreren Monaten erreicht. Die Nebenwirkungen sind denen von Phenobarbital ähnlich (Sedation, Polyphagie, Polydypsie), nur dass Kaliumbromid zusätzlich Hautirritationen, gastro-intestinale Irritationen und Pankreatitis

begünstigen kann (CHANDLER, 2006). Kaliumbromid und Phenobarbital gelten beide als wirksame first-choice-Therapeutika, wobei sich Phenobarbital als geringgradig besser verträglich und effektiver während der ersten sechs Behandlungsmonate erwiesen hat (BOOTHE et al., 2012).

2.1.3.1.3 Imepitoin

Imepitoin ist ein speziell für Hunde entwickeltes Antiepileptikum. Es bindet an der Benzodiazepin-Bindungsstelle am GABA_A-Rezeptor, hat aber gegenüber Diazepam und Midazolam, die nur als Notfallmedikamente zur Unterbrechung von Anfällen eingesetzt werden, den Vorteil, nicht abhängig zu machen, keine Toleranzentwicklung und keine Entzugserscheinungen beim Absetzen zu verursachen. Es wird als Monotherapie empfohlen, kann aber auch mit Phenobarbital kombiniert werden (FISCHER et al., 2013).

2.1.3.2 Humanmedizinische Antiepileptika

2.1.3.2.1 Levetiracetam

Der genaue Wirkmechanismus von Levetiracetam ist nicht vollständig bekannt. Es soll mit dem Vesikelprotein SV2A interagieren und damit die Neurotransmitterfreisetzung beeinflussen. Zusätzlich scheint es Effekte auf die Funktion des GABA_A-Rezeptors und auf spannungsabhängige Kalziumkanäle zu haben (VOLK et al., 2008). Ein großer Vorteil von Levetiracetam ist der schnelle Wirkungseintritt, weswegen es nicht nur zur Dauertherapie, sondern auch als Notfallmedikament eingesetzt werden kann. Es ist eine gute Alternative für Hunde mit Lebererkrankungen. An Nebenwirkungen wird nur Sedation beschrieben. Nachteile sind, dass es teuer ist und aufgrund seiner kurzen Plasma-Eliminationshalbwertszeit 3 mal täglich verabreicht werden muss.

2.1.3.2.2 Zonisamid

Zonisamid erhöht die Freisetzung von GABA, hemmt die glutamatvermittelte Erregbarkeit der Neuronen und moduliert spannungsabhängige Ionenkanäle. Es hat eine Eliminationshalbwertszeit von 15 Stunden und wird 2 Mal täglich verabreicht. Da es bei Patienten, die schon mit Antiepileptika vorbehandelt sind,

zu einer Induktion mikrosomaler Leberenzyme kommt, geht man davon aus, dass die Eliminationshalbwertszeit von Zonisamid bei diesen Patienten, analog zu menschlichen Patienten, verkürzt wird, weshalb DEWEY im Falle einer Add-on-Therapie mit Zonisamid die doppelt so hohe Dosis empfiehlt wie bei Zonisamid-Monotherapie (DEWEY, 2006). Der große Vorteil von Zonisamid ist das sehr geringe Auftreten von sichtbaren Nebenwirkungen. Trotzdem empfehlen sich regelmäßige labordiagnostische Untersuchung der Leber- und Nierenwerte.

2.1.3.2.3 Gabapentin

Gabapentin wirkt primär über spannungsabhängige Kalziumkanäle. Es gibt bisher nur wenige Daten zur Wirksamkeit beim Hund. In 2 unterschiedlichen Studien mit Gabapentin als Add-on-Therapie zeigten einmal 7 von 17 und einmal 6 von 11 Hunde eine Reduktion ihrer Anfallsfrequenz um $\geq 50\%$ (GOVENDIR et al., 2005; PLATT et al., 2006). Es ist gut verträglich, muss aber aufgrund der kurzen Plasma-Eliminationshalbwertzeit 3-4 mal täglich verabreicht werden (FISCHER et al., 2013)

2.1.3.2.4 Pregabalin

Pregabalin hat einen ähnlichen Wirkmechanismus wie Gabapentin. Es gibt nur eine klinische Studie mit Pregabalin als Add-on-Therapie, in der von 11 Hunden 7 eine Reduktion der Anfallsfrequenz um mindestens 50% zeigten (DEWEY et al., 2009). Pregabalin sollte alle 8–12 Stunden verabreicht werden. Es ist gut verträglich, Nebenwirkungen sind Sedation und Ataxie (LOWRIE, 2012; FISCHER et al., 2013).

2.2 Pharmakoresistenz

Die genauen Mechanismen der Pharmakoresistenz sind bislang nicht vollständig geklärt. Man geht jedoch davon aus, dass es verschiedene Mechanismen gibt, die zu einer Pharmakoresistenz führen, und dass es sich dabei im einzelnen Patienten auch um ein multifaktorielles Geschehen handeln kann. Man spricht von drei Arten von Pharmakoresistenz. Es gibt Patienten, die vom Beginn ihrer Erkrankung an pharmakoresistent sind, andere, die im Verlauf der Erkrankung nach anfänglichem Therapieerfolg eine Pharmakoresistenz entwickeln, und solche, bei denen sich pharmakosensible mit pharmakoresistenten Phasen abwechseln (KWAN et al., 2010).

Diskutiert werden verschiedene Hypothesen, die z.B. postulieren, dass antiepileptische Medikamente an ihrer Passage durch die Blut-Hirn-Schranke scheitern, so dass intraparenchymal keine ausreichende Wirkstoffkonzentration zustande kommt, oder dass die Medikamente zwar die Blut-Hirn-Schranke mit ihren Abwehrmechanismen passieren, aber an den intraparenchymalen Zielstrukturen nicht binden, weil diese in ihrer molekularen Struktur verändert sind (REMY und BECK, 2006).

2.2.1 Definition Pharmakoresistenz

Pharmakoresistenz wird in der Humanmedizin definiert als das Fehlen von Anfallsfreiheit über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr, trotz adäquater Therapie mit mindestens zwei verschiedenen, tolerierten Antiepileptika als Mono- oder Kombinationstherapie, in maximal verträglichen Dosen (KWAN et al., 2010).

2.2.2 Aktuell diskutierte Hypothesen

2.2.2.1 Target Hypothese

Die Target-Hypothese postuliert, dass genetische oder krankheitsassoziierte molekulare Veränderungen an den Zielstrukturen (spannungsabhängige Natriumkanäle, spannungsabhängige Kalziumkanäle, GABA_A-Rezeptoren) der Antiepileptika zu einer herabgesetzten Sensitivität und Wirkung führen (REMY und BECK, 2006). Dagegen wird argumentiert, dass pharmakoresistente Patienten meist durch kein Antiepileptikum erfolgreich behandelt werden können, was voraussetzen würde, dass alle unterschiedlichen Zielstrukturen der verschiedenen Antiepileptika in diesen Patienten gleichermaßen verändert vorliegen, bzw. sich krankheitsbedingt verändert haben.

2.2.2.2 “Intrinsic Severity” Hypothese

2008 haben Rogawski und Johnson die Hypothese postuliert, dass die Anfallsfrequenz zu Beginn einer Epilepsie, besonders vor deren Behandlungsbeginn, einen entscheidenden Einfluss auf den Therapieerfolg hat. Sie stützen ihre Theorie auf die Tatsache, dass sich das Auftreten von Pharmakoresistenzen in den letzten 20 Jahren trotz der Entwicklung vieler neuer Therapeutika nicht reduziert hat. Außerdem kamen sie in mehreren prospektiven

und retrospektiven Studien zu dem Schluss, dass die größte Gemeinsamkeit im Verlauf der Erkrankung pharmakoresistenter Epilepsiepatienten in einer besonders hohen Zahl von mehr als 10 Anfällen vor Therapiebeginn besteht. Ebenso haben Patienten, die im ersten halben Jahr unter Therapie eine hohe Anfallsfrequenz aufweisen, ein erhöhtes Risiko eine Pharmakoresistenz zu entwickeln (ROGAWSKI, 2013)

2.2.2.3 Multidrug Transporter Hypothese

Multidrug-Transporter sind Efflux-Transporter, die als Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke (BHS) einen Auswärtstransport potentiell schädlicher Substanzen zum Schutz des Gehirns bewirken. Am besten erforscht ist P-Glykoprotein (Pgp), ein in den 1970-er Jahren im Zusammenhang mit Pharmakoresistenz bei der Therapie von Brustkrebs entdeckter Efflux-Transporter (LOSCHER und POTSCHEKA, 2005). Er wird vom Multidrug Resistance 1 Gen (MDR1) codiert und ist in der luminalen Membran der Endothelzellen der kapillären Gefäße im Gehirn, sowie in vielen anderen Organen wie der Leber, den Nieren und dem Darm lokalisiert. Pgp transportiert eine Vielzahl von Pharmaka und anderer Substanzen aus dem Gewebe, bzw. verhindert deren Eintritt. Darunter befinden sich nicht nur Chemotherapeutika und Antiepileptika, sondern unter anderem auch Analgetika, Antibiotika, Antidepressiva und HIV-Therapeutika (LEE et al., 2010). Einige Erkrankungen des Gehirns können zu einer Überexpression von Pgp führen, so dass es nicht mehr möglich ist, therapeutisch wirksame Konzentrationen am Zielort des jeweiligen Pharmakons zu erreichen. Im chronisch epileptischen Gehirn findet eine anfallsinduzierte Überexpression statt, die im Rattenmodell und in menschlichen Gewebeproben, die nach Entfernung des epileptischen Fokus untersucht worden sind, nachgewiesen werden konnten (LEE et al., 2010). Während eines epileptischen Anfalls kommt es zu einer massiven Ausschüttung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat. Glutamat bindet unter anderem am NMDA-Rezeptor an der basolateralen Seite der Endothelzellen der Hirnkapillaren und induziert damit einen Kalziumeinstrom ins Innere der Endothelzelle. Kalzium aktiviert das Enzym Phospholipase A, das dann aus der Zellmembran Arachnidonsäure freisetzt. Diese wird von der Cyclooxygenase-2 (COX-2) zu Prostaglandin E2 (PGE2) umgesetzt. PGE2 bindet am EPI-Rezeptor an der zytoplasmaständigen Kernmembran, was die Transkription von MDR1 initiiert und zur Synthese von Pgp führt (ZIBELL et al., 2009). Bauer et al. haben

in einer 2007 veröffentlichten In-Vitro/In-Vivo-Studie den Zusammenhang von Glutamat und vermehrter Pgp-Expression, sowie der Rolle von COX-2 in der Signalkaskade von Pgp nachgewiesen. Sie zeigten, dass isolierte Hirnkapillaren von Ratten durch die Gabe von Glutamat eine gesteigerte Expression von Pgp und eine gesteigerte Transportaktivität von Pgp aufweisen. Unter Zugabe eines NMDA-Rezeptor-Antagonisten als auch eines selektiven COX-2-Hemmers (Celecoxib) wurde keine dieser Steigerungen ausgelöst. Durch einen COX-1-Hemmer (SC-560) konnte diese Wirkung nicht erreicht werden. Hirnkapillaren von COX-2-knock-out-Mäusen zeigten ebenfalls keine Steigerung der Pgp-Konzentration oder Pgp-Aktivität nach der Inkubation mit Glutamat. Auch die Applikation von Celecoxib führte bei den COX-2-knock-out-Mäusen zu keinen Veränderungen an den Hirnkapillaren. Daraus ergibt sich, dass COX-2 zwar eine Rolle in der Glutamat/NMDA-Rezeptor-Signalkaskade von Pgp und in der Hochregulation spielt, aber keinen Einfluss auf die Erhaltung des Basalniveaus von Pgp hat (BAUER et al., 2008). Für den In-Vivo-Teil ihrer Experimente haben die Autoren Ratten Glutamat in den Hilus und in die CA3-Region des rechten Hippocampus injiziert. Als Kontrollgruppe diente der linke Hippocampus derselben Ratten, sowie eine Gruppe von Ratten, die kein Glutamat injiziert bekamen. Die Konzentration von Pgp stieg signifikant ($P<0.05$) und ausschließlich in den Regionen mit Glutamatmikroinjektion. In einem zweiten In-Vivo-Experiment wurde Ratten Pilocarpin zum Auslösen eines Status epilepticus, bzw. Pilocarpin und der COX-Hemmer Indomethacin verabreicht. Nach 2 Tagen wurde die Pgp-Expression in den Hirnkapillaren gemessen. Die Gehirne der Ratten, die nur Pilocarpin bekommen hatten, wiesen im Hilus und in der CA3-Region eine signifikante Erhöhung der Pgp-Konzentration auf, während in diesen Regionen bei den Ratten, denen Pilocarpin und Indomethacin verabreicht wurde, keine signifikante Erhöhung festgestellt wurde (BAUER et al., 2008). Dadurch konnte gezeigt werden, dass Glutamat sowohl allein als auch in Folge von Anfällen eine signifikante Erhöhung der Pgp-Konzentration bewirkt, und dass dieser Effekt von Glutamat durch den COX-Hemmer Indomethacin reduziert werden kann.

Zuvor wurde in einer anderen Studie an phenobarbitalresistenten Ratten gezeigt, dass mit dem Pgp-Inhibitor Tariquidar die Wirksamkeit von Phenobarbital verbessert werden kann (BRANDT et al., 2006). Jedoch wird damit auch die von

Pgp vermittelte Schutzfunktion der BHS und in anderen Geweben beeinträchtigt. (BARTMANN et al.) Eine Therapie zur Regulation überexprimierten Pgps auf Basalniveau muss jedoch, wie auch die Therapie mit Antiepileptika, über lange Zeiträume wenn nicht lebenslang möglich sein. COX-2-Inhibitoren dagegen reduzierten nur die anfallsinduzierte Überexpression ohne Einfluss auf das Basalniveau der Multidrugtransporter, was die Schutzfunktion von Pgp gewährleistet (BAUER et al., 2008). Des Weiteren gibt es Hinweise, dass es unter Therapie mit Pgp-Inhibitoren nach anfänglicher Verbesserung der Wirksamkeit antiepileptischer Pharmaka zu einer Toleranzentwicklung kommen kann (VAN VLIET et al., 2006). In einer Studie mit 11 phenobarbitalresistenten Hunden wurden mit dem Pgp-Inhibitor Verapamil keine Erfolge bezüglich einer Anfallsreduktion erzielt, da die damit verbundenen Nebenwirkungen keine ausreichend hohe Dosierungen von Verapamil zuließen (Jambroszyk et al., 2011).

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Studiendesign

Die Studie wurde als eine klinische, nicht kontrollierte, prospektive Pilotstudie konzipiert. Sie hat zum Ziel, die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Firocoxib als zusätzliche Therapie („Add-on-Therapie“) zur Basistherapie mit Antiepileptika zur Behandlung der refraktären idiopathischen Epilepsie beim Hund zu erfassen.

3.2 Patientenrekrutierung

Um eine möglichst große Zahl von geeigneten Hunden einschließen zu können, wurde eine Anzeige im Deutschen Tierärzteblatt geschaltet, Studieninformationen wurden an Tierkliniken- und Praxen verschickt und ein Studienaufruf im Internet auf der Homepage der Medizinischen Kleintierklinik München wurde erstellt. Um den Besitzern die Teilnahme an der Studie zu erleichtern, wurden die Untersuchungen und Kontrollen an mehreren Studienzentren in Deutschland angeboten. Abbildung 3.1 stellt dar, wie der Prozess der Patientenrekrutierung, sowie der weitere Studienverlauf mit den verschiedenen Kooperationspartnern und Studienzentren vonstatten ging. Auf die Studienaufrufe über verschiedene Medien meldete sich eine Vielzahl von interessierten Tierärzten und Besitzern von an epileptischen Anfällen leidenden Hunden. In ersten Telefongesprächen musste geklärt werden, inwieweit es sich bei der Erkrankung des einzelnen Hundes wirklich um eine pharmakoresistente idiopathische Epilepsie handeln konnte. Das häufige Vorliegen sogenannter Pseudoresistenzen durch Behandlungsfehler wie mangelnde Serumkonzentrationkontrollen, zog ausführliche Beratungsgespräche nach sich. Auch das Erfüllen anderer Einschlusskriterien wie Alter beim ersten Anfall, Vorerkrankungen und bisherige Therapien (s. Kapitel 3.2.1) wurde telefonisch erfragt. Zum endgültigen Studieneinschluss kam es erst nach der Vorstellung der Patienten und den Einschlussuntersuchungen, die in Kapitel 3.2.3 beschrieben werden.

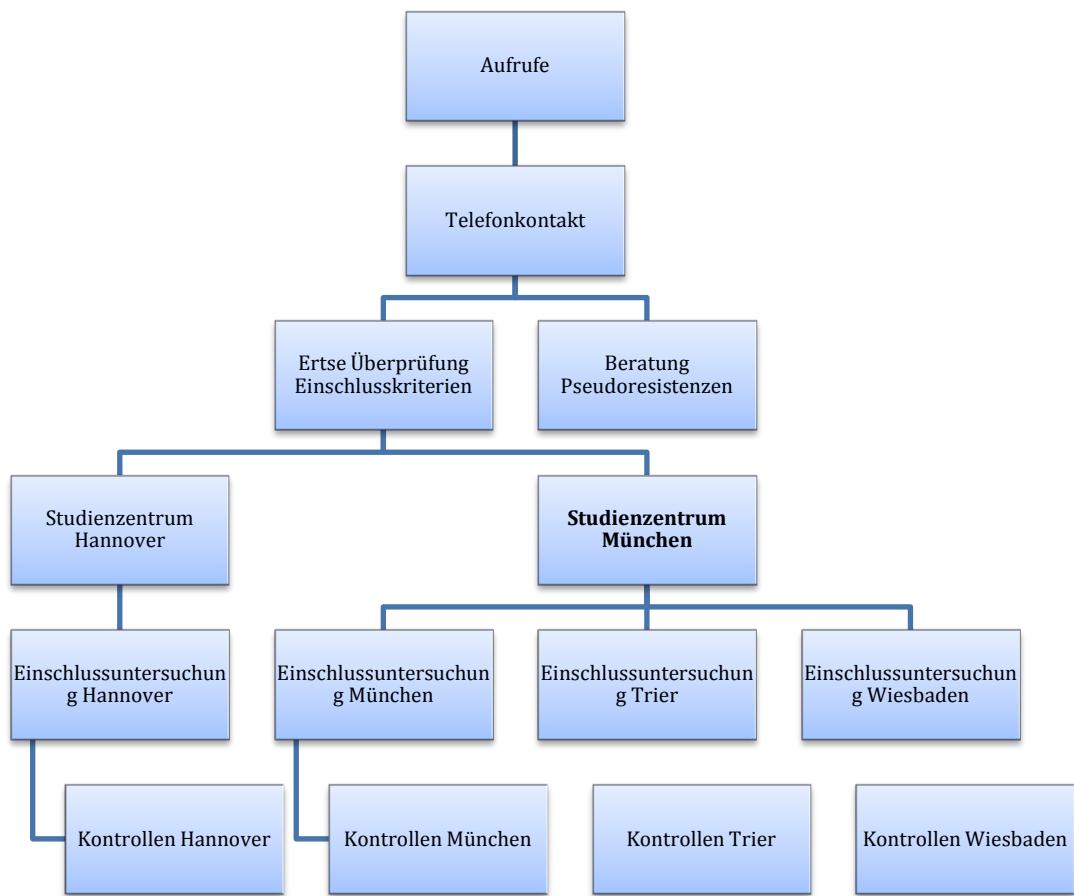


Abbildung 3.1: Patientenrekrutierung und Studienablauf

3.2.1 Einschlusskriterien

In die Studie sollten nur Hunde mit **pharmakoresistenter idiopathischer Epilepsie** eingeschlossen werden.

Als Einschlusskriterien wurden definiert:

- unauffällige neurologische, klinische und labordiagnostische Befunde in der interiktalen Phase
- unauffällige Befunde bei bildgebenden Untersuchungen des Gehirns mit Kernspin- oder Computertomographie einschließlich Kontrastmittelgabe
- Behandlung der Epilepsie mit Phenobarbital seit mindestens 6 Monaten
- Serum-Phenobarbitalkonzentration im mittleren therapeutischen Bereich ($\geq 20 \mu\text{g}/\text{ml}$, weniger nur bei nicht tolerierbaren Nebenwirkungen)

- mindestens durchschnittlich 3 Anfälle pro Monat während der letzten 4 Monate vor Studienbeginn
- Anfallsdokumentation über die letzten 4 - 6 Monate
- Beobachtung des Hundes über mindestens 8 Stunden täglich
- Vorhandensein ausreichender Besitzercompliance

3.2.2 Ausschlusskriterien

Hunde, deren Anfällen eine andere Ursache zugrunde lag (z.B. nachgewiesene strukturelle Epilepsie, Vorbericht eines Schädel-Hirntraumas), durften nicht an der Studie teilnehmen. Folgende Kriterien verhinderten außerdem eine Aufnahme in die Studie:

- Alter beim ersten Anfall über 6 Jahre
- Behandlung mit Glucokortikoiden in den letzten 4 Wochen vor Studienbeginn
- Gastrointestinale Erkrankungen in den letzten 6 Monaten vor Studienbeginn wie z.B. Erbrechen und Durchfall
- Hinweise auf Blutungsneigung oder Gerinnungsstörungen
- Nachgewiesene Leber- oder Nierenfunktionsstörungen
- Sonstige Erkrankungen, die eine medikamentöse Therapie erfordern
- Körpergewicht unter 5 kg
- Trächtigkeit oder Laktation
- Unzureichende Anfallsdokumentation durch den Besitzer
- Unzureichende Compliance der Besitzer

3.2.3 Einschlussuntersuchungen

Folgende Einschlussuntersuchungen wurden bei allen potentiellen Studienpatienten durchgeführt:

- Schriftliche Auswertung der Anfallskalender mit Übertragung der Daten in Tabellen
- Klinische Untersuchung
- Neurologische Untersuchung
- Blutentnahme und Untersuchung von Blutbild, Serumchemie, Gerinnung (Quick-Test, aPTT, TZ) Phenobarbital-Serumkonzentration, Blutgas, Elektrolyte
- Messung der Schleimhautblutungszeit (buccal mucosal bleeding time) durch Schnitt in die Maulschleimhaut mit Einweglanzen mit standardisierter Eindringtiefe (Surgicutt® ITC, Edison, NJ)
- Untersuchung aufgefangenen Urins (Protein, Hämoglobin, Glukose, pH-Wert mittels Teststreifen (Combur®, Hoffmann-La Roche, Basel) nach Anleitung des Herstellers, mikroskopische Untersuchung des Sediments, USG, U-P/C)
- Kernspintomographie/Computertomographie des Gehirns (inklusive Kontrastmittel)
- Liquoruntersuchung optional (Atlantookzipitalpunktion, Bestimmung von Leukozytenzahl, Proteingehalt und zytologische Beurteilung wie in „Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin“ (KRAFT und DÜRR, 2005) beschrieben.

Die Laboruntersuchungen der in München vorgestellten Hunde konnten im Labor der Medizinischen Kleintierklinik München durchgeführt werden. Die Urinuntersuchungen der Hunde, deren Einschlussuntersuchung von der Doktorandin in Trier und Wiesbaden durchgeführt wurden, wurden vor Ort vorgenommen. Die Laboruntersuchungen der im Studienzentrum Hannover vorgestellten Hunde wurden im dortigen Labor durchgeführt. Die zytologische Untersuchung des Liquors wurde vom Institut für Tierpathologie der LMU durchgeführt. Die Bestimmung der Phenobarbital-Serumkonzentration wurde im Epilepsie-Zentrum Bethel in Bielefeld vorgenommen. Ein Studieneinschluss erfolgte nur, wenn alle Einschlussuntersuchungen unauffällig verliefen und die

Diagnose Idiopathische Epilepsie gestellt wurde.

3.3 Patientenkollektiv

Es konnten 17 Hunde mit phenobarbitalresistenter, idiopathischer Epilepsie in die Studie eingeschlossen werden (s. Tabelle 3.1). Sieben Hunde waren weiblich, davon einer kastriert, und 10 Hunde waren männlich, davon 6 kastriert. Jeder Hund hatte einen anderen Besitzer, aber alle wurden in Haushalten mit Familienanschluss gehalten. Das mittlere sowie das mediane Alter lagen bei 5,5 Jahren.

Tabelle 3.1: Signalement der in die Studie eingeschlossenen Hunde

Studien-ID	Geschlecht	Rasse	Alter bei Studienbeginn
001	w	Samojede	3,6 Jahre
002	mk	Boxer	8 Jahre
003	m	Border Collie	5 Jahre
004	w	Mischling	5 Jahre
005	mk	Berger des Pyrénées	6 Jahre
006	w	Golden Retriever	3,5 Jahre
007	w	Labrador	7 Jahre
008	m	Australian Terrier	5 Jahre
009	mk	Bolonka	6 Jahre
010	mk	Border Collie	2 Jahre
011	wk	Mischling	11 Jahre
012	mk	Irischer Setter	2 Jahre
013	w	Labrador	3 Jahre
014	mk	Mischling	8,5 Jahre
015	m	Samojede	4,5 Jahre
016	m	Mops	4,5 Jahre
017	w	Beagle	2,5 Jahre

m, männlich; mk, männlich-kastriert; w, weiblich; wk, weiblich-kastriert

3.3.1 Besitzerinstruktionen

Bei Studieneinschluss erhielt jeder Besitzer vorgedruckte Anfallskalender mit einer Anleitung, wie diese auszufüllen waren. Mögliche Nebenwirkungen wurden erläutert, um ein frühzeitiges Erkennen und Dokumentieren zu gewährleisten. Das Behandlungsschema der Add-on-Therapie wurde erklärt und das Studienmedikament wurde ausgeeinzelnt und in ausreichender Menge für die Zeitspanne bis zum nächsten Kontrollbesuch ausgehändigt. Im Falle des Auftretens gastrointestinaler Nebenwirkung wurden die Besitzer gebeten, sich sofort telefonisch zu melden. Jeder Besitzer unterzeichnete eine Einverständniserklärung und erhielt diese in Kopie.

3.3.2 Behandlungsschema

Die Studientherapie bestand aus einer Kombination aus der bereits bestehenden Basistherapie mit Antiepileptika und der zusätzlichen Therapie mit Firocoxib (Previcox®, MERIAL, Lyon, Frankreich) als Add-on-Therapie.

3.3.2.1 Basistherapie

Alle Hunde waren zuvor mindestens 6 Monate mit Phenobarbital als Monotherapie oder Phenobarbital und einem oder mehreren weiteren Antiepileptika in Kombinationstherapie behandelt worden (s. Tabelle 3.2). Die antiepileptische Basistherapie wurde während des gesamten Studienzeitraumes mit der gleichen Dosierung fortgesetzt, wie sie in dem Vergleichszeitraum vor der Studie verabreicht wurde.

Tabelle 3.2: Antiepileptische Basistherapie der Studienpatienten mit Phenobarbitalserumkonzentration

Studien-ID	Phenobarbital-Serumkonzentration in µg/ml	Kaliumbromid	Levetiracetam
001	30		ja
002	35,1		
003	33		
004	27,9	ja	ja
005	26,8		
006	26		
007	34	ja	
008	28		
009	18		ja
010	25		
011	26,9		
012	34,7	ja	
013	12,1		
014	18,8	ja	
015	24,6	ja	
016	30		
017	32,4		

3.3.2.2 Add-on-Therapie

Die Firocoxib-Add-on-Therapie gliederte sich in zwei Abschnitte. In der Initialphase wurde Firocoxib 8 Wochen täglich einmal gegeben. Danach wurde die Firocoxibgabe für 2 Wochen ausgesetzt und es schloss sich ein alternierendes Behandlungsschema an; d.h. 14 Tage tägliche Therapie mit Firocoxib-Add-on-Therapie, gefolgt von 14 Tagen ohne Firocoxib-Add-on-Therapie im Wechsel für die Dauer von 4 Monaten. Dies ergab einen Beobachtungszeitraum von insgesamt 6 Monaten.

3.3.2.3 Notfallinstruktion

Als Notfallmedikament zur Unterbrechung von Anfällen wurde Diazepam in Form von Rektal-Tuben mitgegeben.

3.3.3 Tierärztliche Kontrolluntersuchungen

Während des Beobachtungszeitraums wurden die Hunde zu regelmäßigen Kontrollen einbestellt, um mögliche Nebenwirkungen zu erfassen und die Anfallskalender auszuwerten. Die Besitzer der Studienpatienten wurden bei jedem Kontrollbesuch zu möglichen Nebenwirkungen befragt. Bei jeder Kontrolluntersuchung wurden die Hunde klinisch und neurologisch untersucht und eine Blutentnahme durchgeführt. Urin wurde aufgefangen und im Labor untersucht. Folgene Untersuchung wurden durchgeführt:

- Blutbild mit Differentialblutbild
- Serumchemie mit Serumgallensäuren, Harnstoff, Kreatinin, ALT, AP, Gesamtprotein, Albumin, Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat
- Gerinnung (PT, PTT, TZ)
- Untersuchung aufgefangenen Urins (Protein, Hämoglobin, Glukose, pH-Wert) mittels Teststreifen (Combur®, Hoffmann-La Roche, Basel) nach Anleitung des Herstellers , mikroskopische Untersuchung des Sediments, USG, U-P/C
- Messung der Schleimhautblutungszeit (Surgicutt® nach Anleitung des Herstellers)
- Leberfunktionstest mit Serumgallensäuren (Blutentnahme nüchtern, dann Fütterung, Blutentnahme 2 Stunden nach Fütterung) zu Beginn und am Ende der Therapiestudie
- Phenobarbital-Serumkonzentration

Bei jeder Kontrolluntersuchung wurde die Menge des Studienmedikaments abgegeben, die bis zum nächsten Besuch verabreicht werden sollte. Es wurden folgende Kontrollzeitpunkte definiert: nach einem Monat (Tag 28), nach 2 Monaten (Tag 56), nach 4 Monaten (Tag 112) und nach 6 Monaten (Tag 168).

Den kooperierenden Tierärzten in Trier und Wiesbaden wurden vor den Kontrolluntersuchungen folgende Unterlagen und Materialien zugeschickt:

- Ein Surgicutt-Gerät mit Anleitung
- Ein Formular zum Eintragen der Befunde der klinischen und neurologischen Untersuchung
- Probenrörchen mit beschrifteten Etiketten für EDTA-Blut, Serum, EDTA-Plasma, Citratplasma, Urin
- Ein Laborantrag für Urin, in den die Befunde der dort durchgeführten Untersuchung mittels Teststreifen, das spezifische Gewicht und die Beurteilung des Sediments eingetragen wurden.
- Laboranträge für das Labor der Medizinischen Kleintierklinik München, die den Proben beizulegen waren.
- ein gepolsterter, frankierter, adressierter Rückumschlag

Alle Untersuchungen, außer denen der Hunde, die im Studienzentrum Hannover vorgestellt wurden, wurden im Labor der Medizinischen Kleintierklinik München durchgeführt. Die Patienten die in Wiesbaden und Trier zu den Kontrolluntersuchungen vorgestellt wurden, bekamen die Medikamente ausgeeinzt und wenn nötig geteilt und portioniert zugeschickt.

3.4 Auswertung

Von den 17 in die Studie eingeschlossenen Hunden haben 10 Hunde die vollen 6 Monate des Beobachtungszeitraumes durchlaufen. Die Daten eines Hundes, der nach 4 Monaten aus der Studie ausschied, wurden auch in die Auswertung mit aufgenommen. Also standen die Daten von insgesamt 11 Hunden zur Auswertung zur Verfügung. Ausgewertet wurden die Anfallskalender der Hunde, wobei der Beobachtungszeitraum (Therapiezeitraum, Studienzeitraum) mit dem Vergleichszeitraum vor Studientherapiebeginn verglichen wurde. Für die Beurteilung der Anfallskalender wurden verschiedene Anfallsparameter definiert und die prozentualen Veränderungen berechnet.

Zur Beurteilung der Verträglichkeit wurden die Nebenwirkungen der Add-on-Therapie durch die Beobachtungen der zuvor ausführlich instruierten Besitzer, sowie durch die regelmäßig durchgeführten Kontrolluntersuchungen erfasst.

3.4.1 Definition Anfallsparameter

Jeder Anfall wurde einzeln gezählt. Anfälle über 5 Minuten Länge wurden als Status epilepticus (SE) definiert. Ein Serienanfall wurde definiert als mehr als ein Anfall innerhalb von 24 Stunden. Bei Serienanfällen wurde jeder Anfall einzeln gezählt. Im Falle eines Status epilepticus, bzw eines Serienanfalles, bei dem die einzelnen Anfälle von den Besitzern nicht voneinander abzugrenzen waren, wurde ein Durchschnittswert von 3 Anfällen als Berechnungsgrundlage definiert.

Folgende Anfallsparameter wurden ausgewertet:

- A Zahl der Anfälle im gesamten Studienzeitraum
- B Anfallsfrequenz: Zahl der Anfälle pro Monat (28 Tage)
- C Zahl der Anfallstage im gesamten Studienzeitraum
- D Anfallstagfrequenz: Zahl der Anfallstage pro Monat.
- E Zahl der Serienanfälle im gesamten Studienzeitraum
- F Serienanfallsfrequenz: Zahl der Serienanfälle pro Monat
- G Serienanfallsschweregrad: Zahl der Anfälle pro Serienanfall
- H Anfallsfrequenz in den Intervallen mit Add-on-Therapie
- I Anfallsfrequenz in den Therapiepausen
- J Serienanfallsfrequenz in den Intervallen mit Add-on-Therapie
- K Serienanfallsfrequenz in den Therapiepausen
- L Serienanfallsschweregrad in den Intervallen mit Add-on-Therapie
- M Serienanfallsschweregrad in den Therapiepausen

3.4.2 Auswertung der Anfallsparameter

Die Anfallsparameter A-G wurden, wie in Abb. 3.2 für die Parameter A und B dargestellt, für jeden Patienten zweimal berechnet; einmal für den sechsmonatigen Beobachtungszeitraum (Therapiezeitraum, Studienzeitraum) und einmal für den Vergleichszeitraum vor Beginn der Studie. Die prozentualen Veränderungen wurden graphisch in Form von Balkendiagrammen dargestellt, die jeweils den Vergleichszeitraum (vor Add-on-Therapie) dem Beobachtungszeitraum (unter Add-on-Therapie) gegenüberstellen.

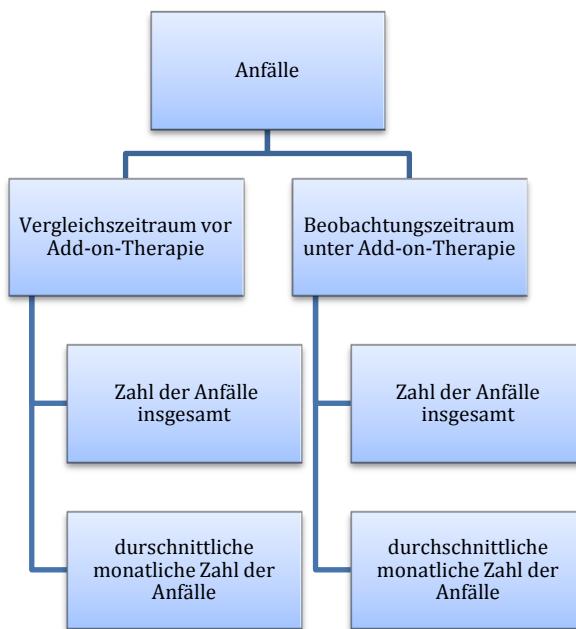


Abbildung 3.2: Auswertungsschema am Beispiel des Parameters „Anfälle“ (Parameter A und B)

Die Anfallsparameter E-J vergleichen nicht die Zeiträume vor und nach Add-on-Therapie, sondern, wie in Abb. 3.3 schematisch dargestellt, das Anfallsverhalten während der Intervalle mit und ohne Add-on-Therapie innerhalb des Beobachtungszeitraumes. Der Zeitraum der addierten Intervalle mit Add-on-Therapie betrug 98 Tage, der Zeitraum der addierten Intervalle der Add-on-Therapiepausen betrug 70 Tage.

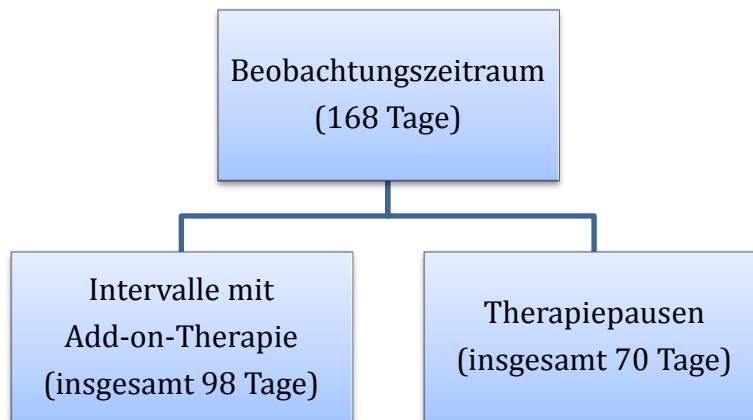


Abbildung 3.3: Auswertungsschema für die alternierenden Behandlungsphasen des Beobachtungszeitraumes

Die Auszählung der Anfälle wurde nicht deckungsgleich mit dem Zeitraum der Studienmedikamentgabe durchgeführt, sondern um jeweils 3 Tage verschoben, um eine dreitägige Anflutungsphase zu berücksichtigen (MCCANN et al., 2004). Das Auftreten von Anfällen wurde jeweils als Gesamtzahl im jeweiligen Zeitraum und als durchschnittliche monatliche Zahl der Anfälle dargestellt, da sich durch das Benutzen gerundeter Zahlenwerte unterschiedliche prozentuale Werte für die Erhöhung oder Erniedrigung der Parameter ergeben. Die Unterschiede in der Anfallsfrequenz in den Intervallen mit und ohne Add-on-Therapie wurden nicht als prozentuale Veränderungen berechnet.

Für jeden Patienten wurde eine Verlaufskurve seiner monatlichen Anfallsfrequenzen über den gesamten Studienzeitraum erstellt.

3.5 Abbruchkriterien

Vor Beginn der Studie wurde das Auftreten eines oder mehrerer der folgenden Ereignisse als Abbruchkriterium definiert:

- Fehlende oder mangelnde Besitzercompliance
- Drastische Verschlechterung der Anfallsparameter
- Klinisch relevante Laborveränderungen
- Durchfall
- Erbrechen
- Notwendigkeit einer Therapie mit Glukokortikoiden und/oder anderen nicht-steroidalen Antiphlogistika aufgrund anderer Erkrankungen
- Jede schwerwiegende Erkrankung, die eine medikamentöse Therapie erforderte

4 ERGEBNISSE

4.1 Einschlussuntersuchungen

Es konnten insgesamt 17 Hunde mit phenobarbitalresistenter, idiopathischer Epilepsie in die vorliegende Studie eingeschlossen werden; 10 männliche (davon 6 kastriert) und 7 weibliche (davon eine kastriert). Das mittlere bzw. mediane Alter lag bei 5,5 Jahren. Die Zeitspanne vom ersten Anfall bis zum Studieneintritt betrug im Durchschnitt 2,6 Jahre.

4.2 Studienabbrücher

Von den 17 in die Studie eingeschlossenen Hunden mit phenobarbitalresistenter Epilepsie haben 7 die Studie vorzeitig abgebrochen (drop-outs). Bei keinem der Hunde konnte der Grund für den Studienabbruch sicher auf Nebenwirkungen des Studienmedikaments zurückgeführt werden (s.Tab.4.1). Einer der drop-outs brach die Studie nach mehr als 4 Monaten ab, so dass seine Daten in der endgültigen Auswertung berücksichtigt werden konnten. Somit standen die Daten von 11 Hunden zur Auswertung zur Verfügung.

Tabelle 4.1: Tabelle der Hunde, die die Studie vorzeitig abbrechen mussten

Studien-ID	Grund für Abbruch	Studienteilnahmedauer (Tage)
001	Blutiger Durchfall. Verdacht auf Infekt da mehrere Hunde des selben Haushalts betroffen waren	58
002	Clukokortikoidtherapie notwendig wegen atopischer Dermatopathie	61
007	Schwere Krankheit des Besitzers verhinderte Teilnahme an den Kontrollen	28
010	Pankreatitis	5
013	Verschlechterung der Anfallsfrequenz	86

014	Kreuzbandriss mit operativer Versorgung	68
015	Hochgradige Zunahme der Anfallsfrequenz (in die Auswertung einbezogen)	125

4.3 Ausgewertete Patienten

Die Daten von 11 Patienten konnten zur endgültigen Auswertung herangezogen werden. Diese Hunde hatten nach Angaben der Besitzer oder der überweisenden Haustierärzte, abgesehen von der Epilepsie, keine anderen Erkrankungen und insbesondere keine gastrointestinale Symptome in den 6 Monaten vor Studienbeginn gezeigt, und auch keine Therapie mit Glukokortikoiden erhalten. Die Besitzer hatten mindestens 6 Monate vor Studieneinschluss sorgfältig Anfallstagebücher geführt und waren bereit, mindestens 5 Mal zu den Kontrolluntersuchungen in eines der Studienzentren zu kommen. Sieben Hunde waren männlich, davon 3 kastriert, 4 Hunde waren weiblich, davon einer kastriert. Die Hunde waren bei Studieneinschluss im Durchschnitt 4,5 Jahre alt. Das durchschnittliche Alter zu Erkrankungsbeginn (erster Anfall) lag bei 2,9 Jahren. Die Durchschnittswerte wurden aus den nicht gerundeten Originaldaten errechnet.

Tabelle 4.2: Übersicht der Hunde, deren Daten ausgewertet wurden

Studien-ID	Geschlecht	Rasse	Alter bei erstem Anfall	Alter bei Studienbeginn
003	m	Border Collie	1 Jahr	5 Jahre
004	w	Mischling	3,5 Jahre	5 Jahre
005	mk	Berger des Pyrénées	4 Jahre	6 Jahre
006	w	Golden Retriever	1,5 Jahre	3,5 Jahre
008	m	Australian Terrier	4 Jahre	5 Jahre
009	mk	Bolonka	3,5 Jahre	6 Jahre
011	wk	Mischling	5 Jahre	11 Jahre

012	mk	Irischer Setter	1,5 Jahre	2 Jahre
015	m	Samojede	3,5 Jahre	4,5 Jahre
016	m	Mops	3 Jahre	4,5 Jahre
017	w	Beagle	1,5 Jahre	2,5 Jahre

m, männlich; mk, männlich-kastriert; w, weiblich; wk, weiblich-kastriert; Alter gerundet auf 0,5 Jahre

4.4 Anfallsauswertung

Zur Auswertung der Anfallskalender wurden folgende Parameter definiert:

- Anfälle (als Zahl und als durchschnittliche monatliche Zahl)
- Anfallstage (als Zahl und als durchschnittliche monatliche Zahl)
- Serienanfälle (als Zahl und als durchschnittliche monatliche Zahl)
- Schweregrad der Serienanfälle (durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall)

Die ausgewerteten Zeiträume betragen bei 10 der 11 Hunde jeweils 6 Monate (168 Tage), bei einem Hund (Studien-ID 015) betragen Vergleichszeitraum und Beobachtungszeitraum 112 Tage (4 Monate).

Da das Studienmedikament in einem alternierenden Behandlungsschema verabreicht wurde, bot sich außerdem an, zu vergleichen, wie sich die Anfallsparameter innerhalb des Beobachtungszeitraumes während der Intervalle mit Studienmedikamentgabe zu den Intervallen ohne Studienmedikament verhielten.

Als Therapieerfolg wurde eine mindestens 50%ige Reduktion der Anfallsfrequenz gewertet. Hunde deren Anfallsparameter sich um 50% oder mehr reduzierten, wurden als Responder klassifiziert.

4.4.1 Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Monat (Anfallsfrequenz)

Bei 6 Hunden zeigte sich eine Reduktion der Anfallsfrequenz. Bei 2 von ihnen (Studien-ID 008 und 017) konnten die Veränderungen der Anfallsfrequenz mit einer Reduktion von 50%, bzw. 54% als Therapieerfolg klassifiziert werden (Responder). Zwei weitere Hunde zeigten eine Anfallsreduktion von immerhin 30% (Studien-ID 006 und 009). Bei zwei Hunden reduzierte sich die durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz um jeweils 8% und 10%. (Studien-ID 003 und 016). Die verbleibenden 5 Hunde haben eine Erhöhung ihrer Anfallsfrequenz erfahren. (Studien-ID 004,011,012,015) Ein Hund (Studien-ID 015) schied nach 4 Monaten unter Add-on-Therapie aus der Studie aus, weil die Anfallsfrequenz sich verdoppelt hatte. Zwei Hunde zeigten eine um 43% erhöhte Anfallsfrequenz (Studien-ID 011 und 012), ein Hund zeigte eine um 29% erhöhte Anfallsfrequenz (Studien-ID 004) und ein Hund (Studien-ID 005) zeigte eine um 8% erhöhte Anfallsfrequenz (s.Tabelle 4.4). Die Veränderungen der Gesamtzahl (Berechnungsgrundlage für die Anfallsfrequenzen) der Anfälle im jeweiligen Studienzeitraum, ist in Tabelle 4.3. ersichtlich. Graphisch sind die Veränderungen in Abb. 4.1 dargestellt.

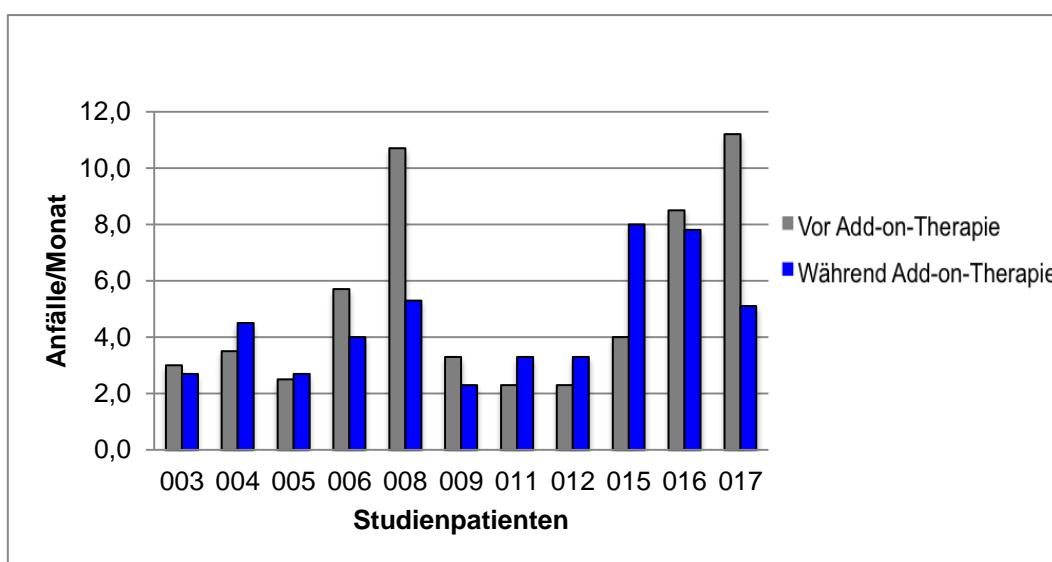


Abbildung 4.1: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Anfallsfrequenz

Tabelle 4.3: Veränderung der Zahl der Anfälle unter Add-on-Therapie (Beobachtungszeitraum)

Studien-ID	Zahl der Anfälle im Vergleichzeitraum	Zahl der Anfälle im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	18	16	-11
004	21	27	29
005	15	16	7
006	34	24	-29
008	64	32	-50
009	20	14	-30
011	14	20	43
012	14	20	43
015	16	32	100
016	51	47	-8
017	67	31	-54

Tabelle 4.4: Veränderung der Anfallsfrequenz unter Add-on-Therapie

Studien-ID	Durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz im Vergleichzeitraum	Durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	3,0	2,7	-10
004	3,5	4,5	29
005	2,5	2,7	8
006	5,7	4,0	-30
008	10,7	5,3	-50
009	3,3	2,3	-30
011	2,3	3,3	43
012	2,3	3,3	43
015	4,0	8,0	100
016	8,5	7,8	-8
017	11,2	5,1	-54

4.4.2 Durchschnittliche Zahl der Anfallstage pro Monat (Anfallstagfrequenz)

Bei dieser Auswertung wurden die Tage gezählt, an denen jeder Hund einen oder mehrere Anfälle hatte, ohne die Zahl der Anfälle zu berücksichtigen. Bei sechs Hunden hat sich die durchschnittliche Zahl der Anfallstage pro Monat im Beobachtungszeitraum (unter Add-on-Therapie) verringert (Studien-ID 003, 004, 005, 006, 008, 017). Vier Hunde (Studien-ID 005, 006, 008, 017) zeigten eine deutliche Reduktion der Anfallstage. Zwei von ihnen können mit einer 50%igen, bzw. 54%igen Reduktion der Anfallstagfrequenz für diesen Parameter als Responder klassifiziert werden (Studien-ID 005, 017). Ein Hund zeigte keine Veränderung (Studien-ID 009), und vier Hunde (Studien-ID 011, 012, 015, 016) zeigten eine leichte Erhöhung der Anfallstagfrequenz (s. Abbildung 4.2 und Tabelle 4.6)

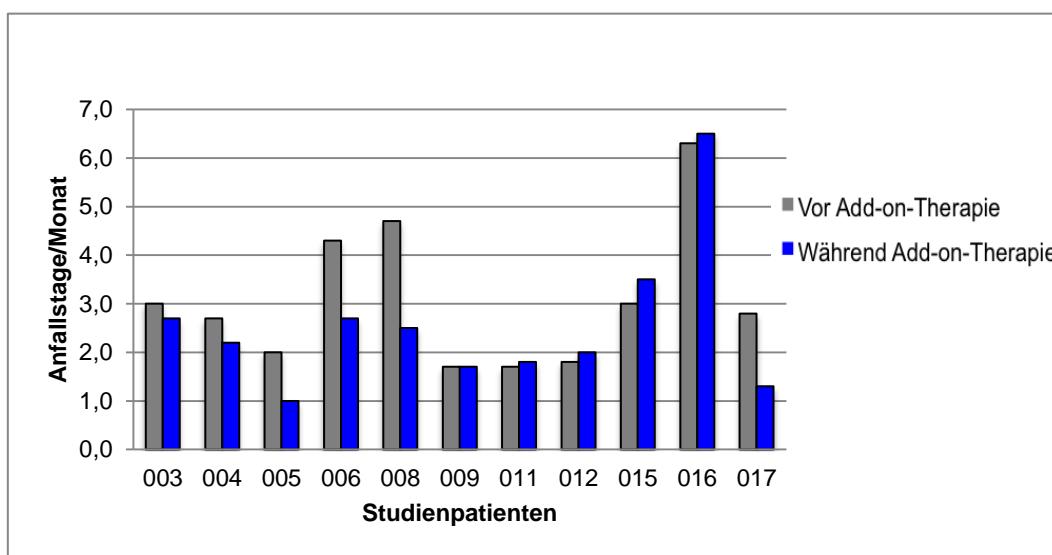


Abbildung 4.2: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Anfallstagsfrequenz

Tabelle 4.5: Veränderung der Zahl der Anfallstage unter Add-on-Therapie (Beobachtungszeitraum)

Studien-ID	Zahl der Anfallstage im Vergleichzeitraum	Zahl der Anfallstage im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	18	16	-11
004	16	13	-19
005	12	6	-50
006	26	16	-38
008	28	15	-46
009	10	10	0
011	10	11	10
012	11	12	9
015	12	14	17
016	38	39	3
017	17	8	-53

Tabelle 4.6: Veränderung der durchschnittlichen monatlichen Zahl der unter Add-on-Therapie (Beobachtungszeitraum)

Studien-ID	Durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz im Vergleichzeitraum	Durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	3,0	2,7	-10
004	2,7	2,2	-19
005	2,0	1,0	-50
006	4,3	2,7	-37
008	4,7	2,5	-47
009	1,7	1,7	0
011	1,7	1,8	6
012	1,8	2,0	11
015	3,0	3,5	17
016	6,3	6,5	3
017	2,8	1,3	-54

4.4.3 Durchschnittliche Zahl der Serienanfälle pro Monat (Serienanfallsfrequenz)

Von den 11 in die Auswertung eingeschlossenen Hunden zeigten 4 eine Reduktion der Häufigkeit von Serienanfällen (Studien-ID 008, 009, 016, 017). Bei 6 Hunden kam es dagegen zu einer Erhöhung der Serienanfallsfrequenz (Studien-ID 004, 005, 006, 011, 012, 015). Ein Hund (Studien-ID 003) zeigte weder vor noch während der Add-on-Therapie Serienanfälle. Einer der 4 Hunde mit reduzierter Serienanfallsfrequenz konnte als Responder klassifiziert werden (Case-ID 017), da sich die Frequenz von Serienanfällen bei ihm um 50% verringert hatte (s. Abbildung 4.3 und Tabelle 4.8).

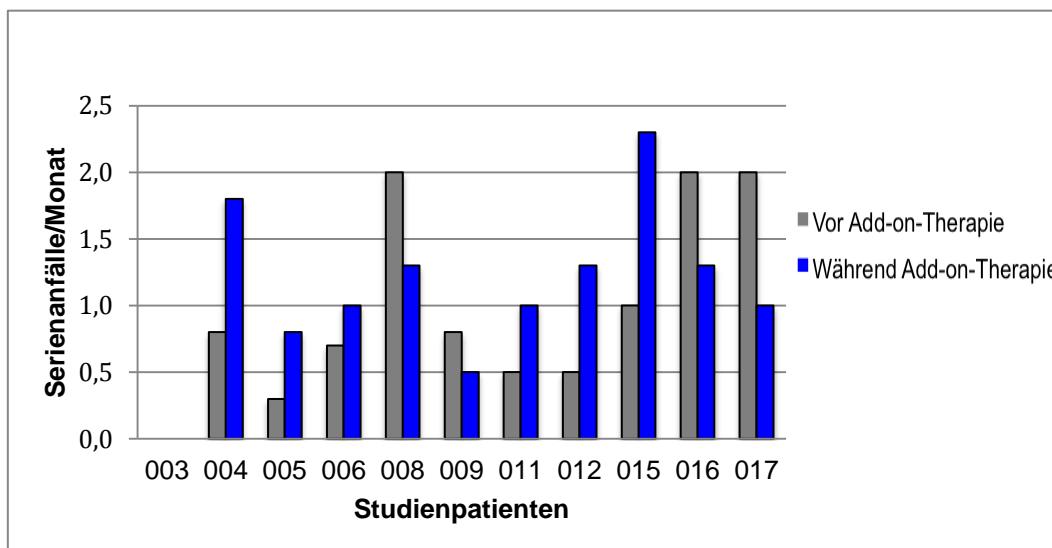


Abbildung 4.3: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Zahl der Serienanfälle unter Add-on-Therapie

Tabelle 4.7: Veränderung der Zahl der Serienanfälle unter Add-on-Therapie (Beobachtungszeitraum)

Studien-ID	Zahl der Serienanfälle im Vergleichzeitraum	Zahl der Serienanfälle im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	0	0	0
004	5	11	120
005	2	5	150
006	4	6	50
008	12	8	-33
009	5	3	-40
011	3	6	100
012	3	8	167
015	4	9	125
016	12	8	-33
017	12	6	-50

Tabelle 4.8: Veränderung der durchschnittlichen monatlichen Zahl der Serienanfälle (Serienanfallsfrequenz)

Studien-ID	Durchschnittliche monatliche Seienanfallsfrequenz im Vergleichzeitraum	Durchschnittliche monatliche Seienanfallsfrequenz im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	0	0	0
004	0,8	1,8	125
005	0,3	0,8	167
006	0,7	1,0	43
008	2,0	1,3	-35
009	0,8	0,5	-37
011	0,5	1,0	100
012	0,5	1,3	160
015	1,0	2,3	130
016	2,0	1,3	-35
017	2,0	1,0	-50

4.4.4 Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall

Die Zahl der Anfälle pro Serienanfall gibt den Schweregrad der Serienanfälle wieder. Bei 5 Hunden ließ sich eine Reduktion der durchschnittlichen Zahl der Anfälle pro Serienanfall feststellen (Studien-ID 004, 006, 008, 009, 017). Eine Erhöhung der durchschnittlichen Zahl der Anfälle pro Serienanfall erfuhren 4 Hunde (Studien-ID 005, 011, 015, 016) Ein Hund (Studien-ID 003) zeigte weder vor noch nach Add-on-Therapie Serienanfälle, und ein Hund erfuhr keine Veränderung seines Serienanfallsverhaltens (Studien-ID 009).

Tabelle 4.9: Veränderung der durchschnittlichen Zahl der Anfälle pro Serienanfall unter Add-on-Therapie (Beobachtungszeitraum)

Studien-ID	Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall im Vergleichszeitraum	Durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall im Beobachtungszeitraum	Veränderung in %
003	0	0	0
004	2,4	2,3	-4
005	2,5	3,0	20
006	3,3	2,5	-24
008	3,8	3,1	-18
009	3,0	2,7	-10
011	2,3	2,5	9
012	2,0	2,0	0
015	2,0	3	50
016	2,1	2,0	5
017	5,3	4,8	-9

4.4.5 Anfallsfrequenz während der Intervallphase

Hier wird nicht die Zeit vor Studienbeginn mit der Zeit unter Add-on-Therapie verglichen, sondern die verschiedenen Intervalle während der 6-monatigen Behandlungsphase. Das Studienmedikament wurde in einem alternierenden Behandlungsschema gegeben. Auf eine Initialphase von 8 Wochen mit durchgehender täglicher Add-on-Therapie folgten im Wechsel jeweils 2-wöchige Phasen mit und ohne Add-on-Therapie. Die Intervalle mit, bzw. ohne Add-on-Therapie werden hier zusammengefasst dargestellt. Bei 9 von 11 Hunden ergab sich eine niedrigere durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz in den Therapiepausen (Studien-ID 004, 005, 008, 009, 011, 012, 015, 016, 017).

Tabelle 4.10: Anfallsfrequenz während der Intervalle mit und ohne Add-on-Therapie

Studien-ID	Durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz in den Intervallen mit Add-on-Therapie	Durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz in den Add-on-Therapiepausen
003	2,6	3,2
004	4,9	4
005	4,0	0,8
006	3,4	7,2
008	5,7	4,8
009	3,4	1,2
011	3,4	3,2
012	3,4	3,2
015	10,8	4
016	10,6	3,6
017	6,3	3,6

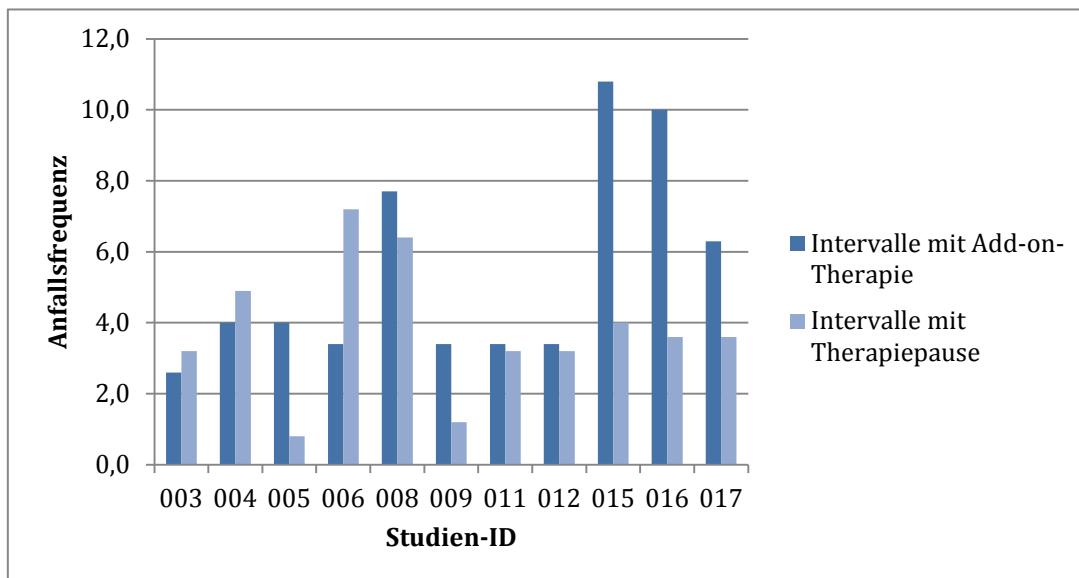


Abbildung 4.4: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Anfallsfrequenz in den Intervallen mit Add-on-Therapie und Intervallen ohne Add-on Therapie

4.4.6 Anfalltagsfrequenz während der Intervalle

Die durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz während der Intervalle mit Add-on-Therapie war wie in Tabelle 4.11 gezeigt, bei 9 von 11 Hunden höher als in den Therapiepausen (Studien-ID 003 und 011).

Tabelle 4.11: Anfallstagfrequenz während der Intervalle

Studien-ID	Durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz in den Intervallen mit Add-on-Therapie	Durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz in den Add-on-Therapiepausen
003	2,5	2,8
004	2,3	2,0
005	1,4	0,4
006	2,8	2,4
008	2,8	2,0
009	2,0	1,3
011	1,1	2,8
012	2,3	1,6

015	4,4	2,0
016	8,8	3,2
017	1,7	0,8

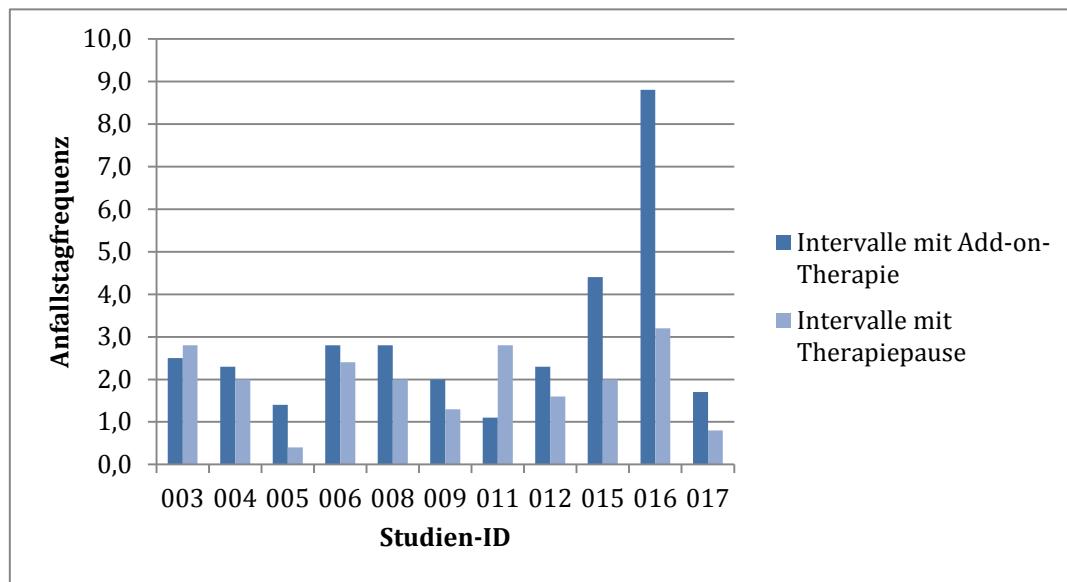


Abbildung 4.5: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Anfallstagfrequenz in den Intervallen mit und ohne Add-on-Therapie

4.4.7 Serienanfallsfrequenz während der Intervalle

Die durchschnittliche monatliche Zahl der Serienanfälle (Tabelle 4.12) in den Intervallen mit Add-on-Therapie war bei 6 Hunden in den Intervallen mit Therapiepausen niedriger als unter Add-on-Therapie (Studien-ID 004, 005, 009, 015, 016, 017). Ein Hund zeigte keine Serienanfälle.

Tabelle 4.12: Serienanfallsfrequenz während der Intervalle

Studien-ID	Serienanfallsfrequenz Intervalle mit Therapie	Serienanfallsfrequenz Intervalle mit Therapiepause
003	0,0	0,0
004	2,0	1,6
005	1,1	0,4
006	0,6	1,6
008	1,1	1,6
009	1,1	0,0
011	0,8	1,2
012	1,1	1,6
015	2,8	1,7
016	2,0	0,4
017	1,1	0,8

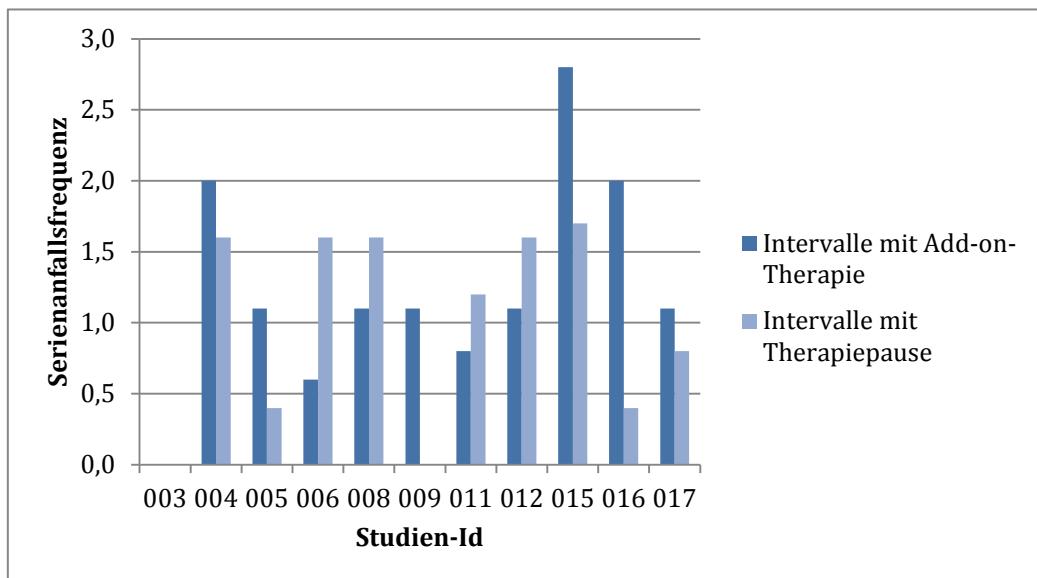


Abbildung 4.6: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Serienanfallsfrequenz in den Intervallen mit und ohne Add-on-Therapie

4.4.8 Anfälle pro Serienanfall während der Intervalle

Die durchschnittliche Zahl der Anfälle pro Serienanfall (s.Tabelle 4.13) während der Intervalle mit Add-on-Therapie war bei 7 Patienten höher als in den Intervallen mit Therapiepause (Studien-ID 004, 005, 008, 009, 011, 015, 017). Zwei Patienten zeigten keine Veränderung ihrer durchschnittlichen Zahl der Anfälle pro Serienanfall (Studien-ID 012 und 016), und ein Patient zeigte keine Serienanfälle. Dieses Ergebnis ist $p=0,0101$ statistisch signifikant.

Tabelle 4.13: Anfälle pro Serienanfall während der Intervalle

Studien-ID	Anfälle/Serienanfall Intervalle mit Therapie	Anfälle/Serienanfall Therapiepause
003	0,0	0,0
004	2,3	2,2
005	2,5	2,0
006	2,0	2,7
008	3,5	2,7
009	2,0	0,0

011	3,0	2,0
012	2,0	2,0
015	3,2	2,0
016	2,0	2,0
017	5,0	4,5

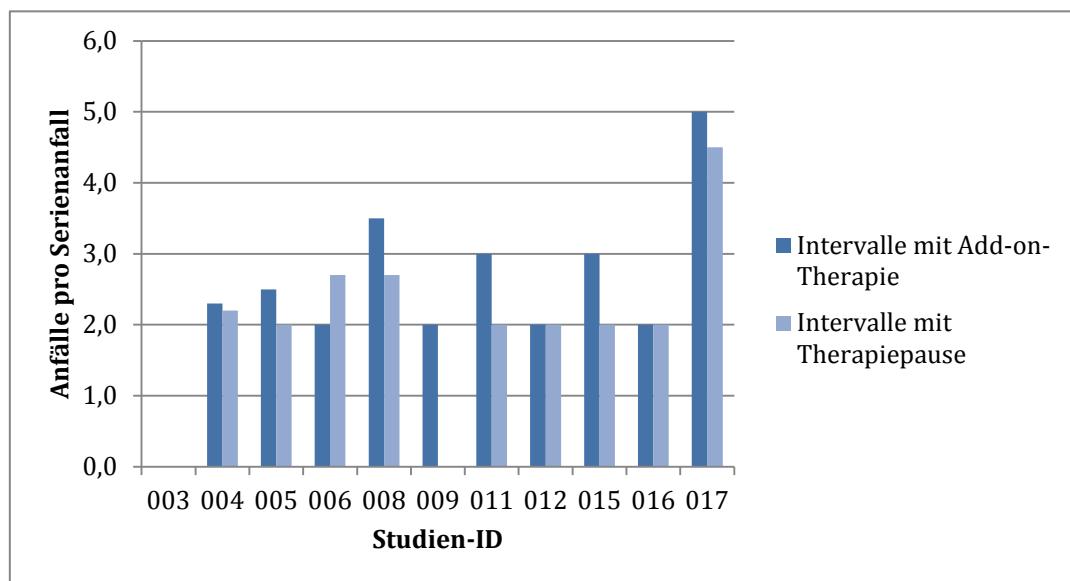


Abbildung 4.7: Vergleichende Übersicht der durchschnittlichen monatlichen Zahl der Anfälle pro Serienanfall in den Intervallen mit und ohne Add-on-Therapie

4.4.9 Verlauf der Anfallsfrequenz beim individuellen Patienten

Studien-ID 003

Der Hund mit der Studien-ID 003 war ein zu Studienbeginn 5-jähriger, männlich-intakter Border Collie, der im Alter von einem Jahr erstmals generalisierte epileptische Anfälle gezeigt hat. Die antiepileptische Therapie mit Phenobarbital wurde 1,5 Jahre nach dem ersten Anfall begonnen. Ein Jahr später wurde zusätzlich Kaliumbromid gegeben, was zu starken Nebenwirkungen wie Sedation, Ataxie und Aggression führte. Es wurde eine Kaliumbromid-Monotherapie versucht, ohne dass es zu einer Reduktion der Anfälle kam. Daraufhin wurde wieder auf Phenobarbitalmonotherapie umgestellt. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bekam er Phenobarbital in einer Dosierung von 8,7 mg/kg KG pro Tag bei einer Serumkonzentration von 33 μ g/ml. Er hatte ein Gewicht von 23 kg und lebte in einem Haushalt mit mehreren Hunden. Bildgebende Untersuchung wurde mittels MRT durchgeführt. Liquor wurde entnommen und untersucht.

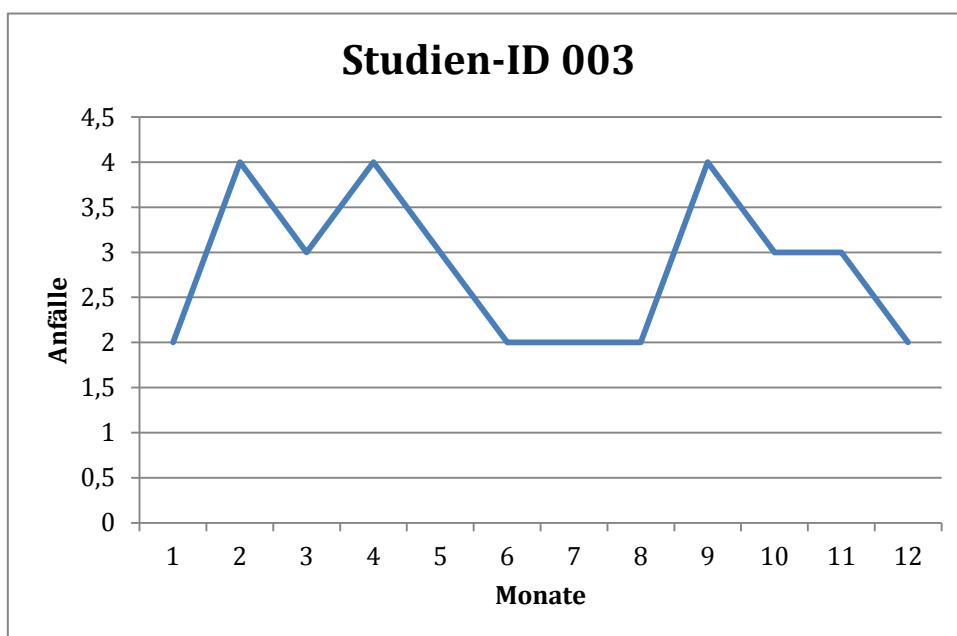


Abbildung 4.8: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum.

Studien-ID 004

Der Hund mit der Studien-ID 004 ist eine zu Studienbeginn 5jährige, weiblich-intakte Schäferhund-Border Collie-Mischlingshündin. Den ersten Anfall hatte sie mit 3 Jahren und 9 Monaten. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bekam sie eine antiepileptische Therapie mit Phenobarbital (10,4mg/kg KG pro Tag, Serumkonzentration 27,9 μ g/ml), Kaliumbromid (13,7mg/kg KG pro Tag, Serumkonzentration 1,01mg/ml) und Levetiracetam (16,1mg/kg KG pro Tag, Serumkonzentration 12,2 μ g/ml). Sie hatte ein Gewicht von 31kg. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels CT durchgeführt.

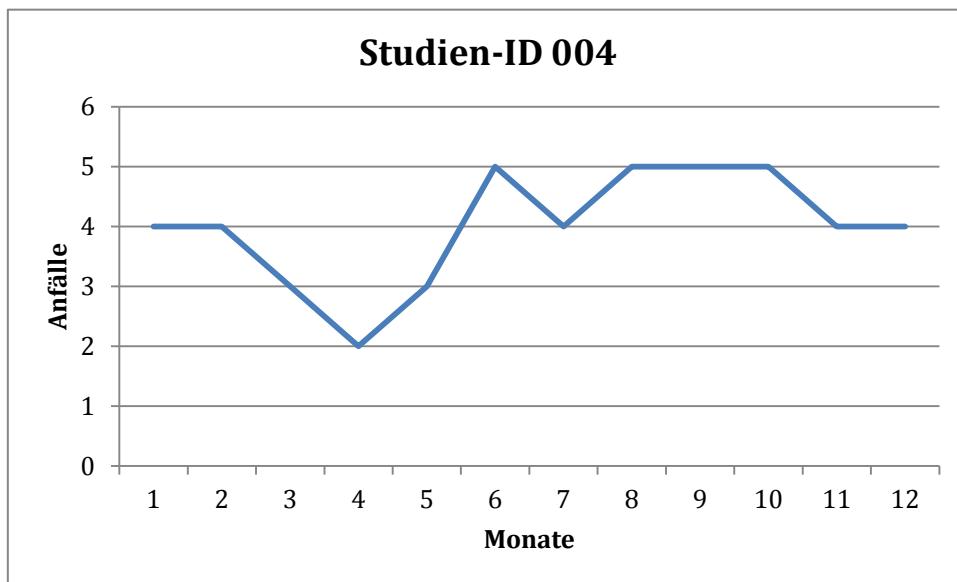


Abbildung 4.9: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 005

Der Hund mit der Studien-ID 005 war ein zu Studienbeginn 6 Jahre alter, kastrierter Berger des Pyrénées-Rüde. Den ersten Anfall hatte er im Alter von 4 Jahren, die antiepileptische Therapie mit Phenobarbital wurde einen Monat später begonnen. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bekam er Phenobarbital in einer Dosierung von 9,2mg/kg KG pro Tag bei einer Serumkonzentration von 26,8 μ g/ml. Sein Gewicht betrug 19kg. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels MRT durchgeführt.

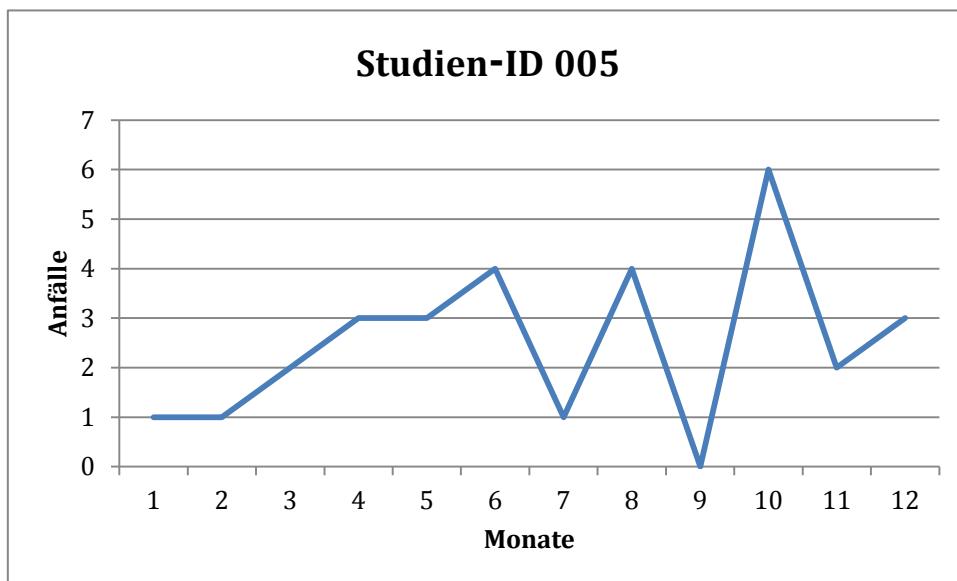


Abbildung 4.10: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 006

Der Hund mit der Studien-ID 006 war eine zu Beginn der Studie 3,5 Jahre alte, nicht kastrierte Golden Retriever-Hündin. Der erste Anfall trat im Alter von 1,5 Jahren auf. Drei Monate später wurde eine antiepileptische Therapie mit Kaliumbromid begonnen, die wegen Problemen des Respirationstraktes nach 4 Monaten beendet wurde. Seit diesem Zeitpunkt bekam sie Phenobarbital, die Dosierung zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses betrug 10mg/kg KG pro Tag bei einer Serumkonzentration von 26 μ g/ml. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels MRT durchgeführt. Ihr Gewicht betrug 36kg.

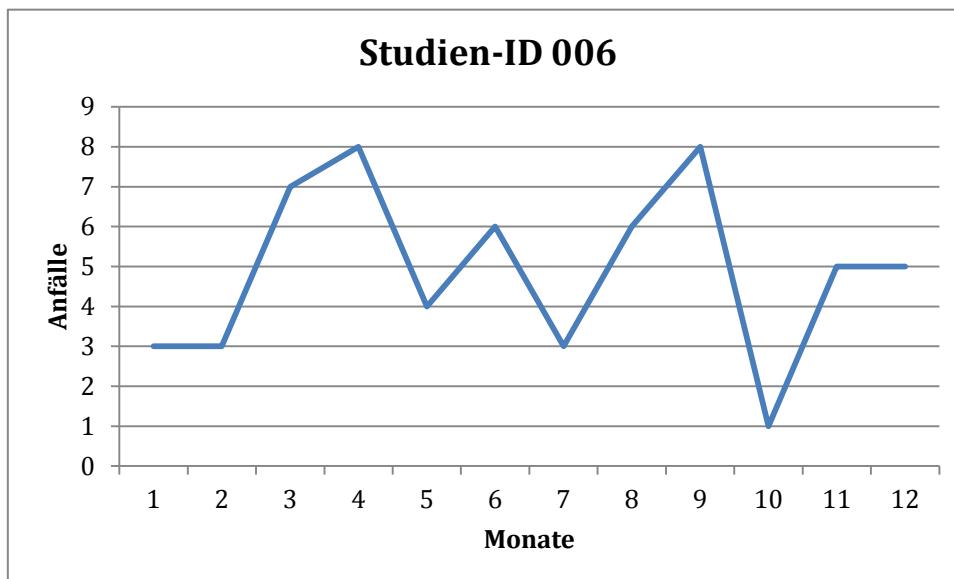


Abbildung 4.11: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 008

Der Hund mit der Studien-ID 008 war ein zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 5 Jahre alter Australian Terrier-Rüde. Der erste Anfall trat im Alter von 4 Jahren ein und es wurde sofort eine Therapie mit Phenobarbital begonnen. Wegen mangelnder Anfallsreduktion wurde die Therapie auf Kaliumbromid umgestellt. Die Anfallsfrequenz verringerte sich nicht, und es kam zu gastrointestinalen Symptomen. Daraufhin wurde auf eine Phenobarbital-Primidon-Kombinationstherapie gewechselt. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses erhielt der Hund nur Phenobarbital in einer Dosierung von 12mg/kg KG pro Tag bei einer Serumkonzentration von 28 μ g/ml. Das Gewicht des Hundes betrug 10kg. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels MRT durchgeführt. Liquor wurde entnommen und untersucht.

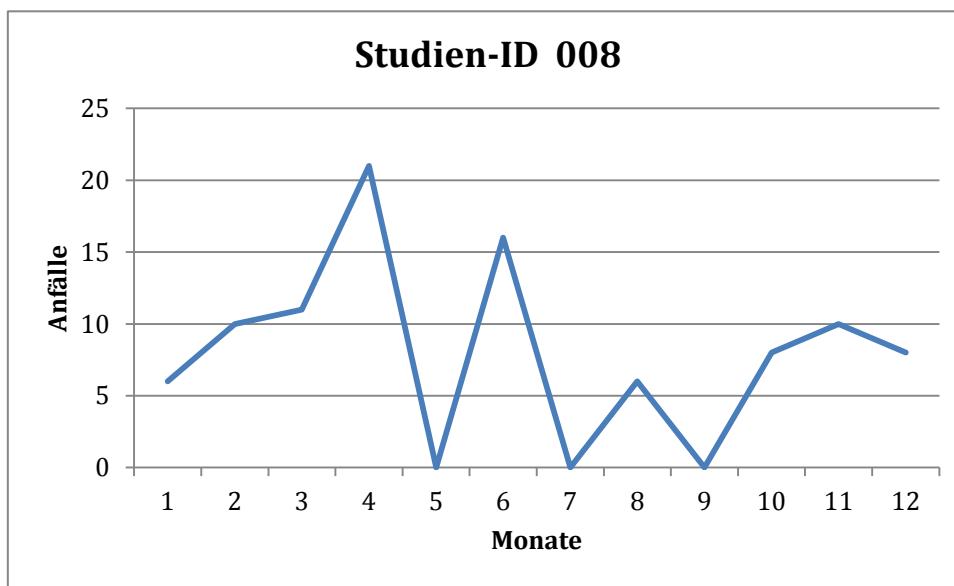


Abbildung 4.12: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 009

Der Hund mit der Studien-ID 009 war ein zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 6 Jahre alter kastrierter Bolonka-Rüde. Der erste Anfall trat im Alter von 3,5 Jahren auf. Er bekam eine antiepileptische Basistherapie aus Phenobarbital (11,6mg/kg KG pro Tag, Serumkonzentration 18,2 μ g/ml) und Levetiracetam (29mg/kg KG pro Tag, Serumkonzentration 0,9 μ g/ml). Sein Gewicht betrug 8,6kg. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels CT durchgeführt.

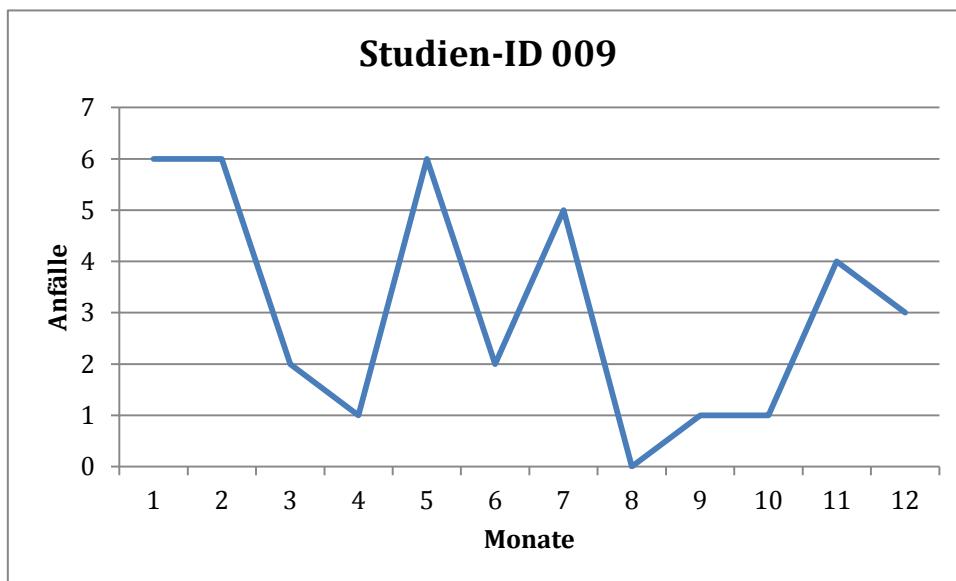


Abbildung 4.13: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 011

Der Hund mit der Studien-ID war eine zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 11 Jahre alte kastrierte Mischlingshündin. Den ersten Anfall hatte sie im Alter von 5 Jahren. Drei Monate später, nach dem zweiten Anfall, wurde mit einer Therapie mit Phenobarbital begonnen. Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bekam die Hündin eine antiepileptische Basistherapie mit Phenobarbital in einer Dosierung von 13mg/kg KG bei einer Serumkonzentration von 26,9 μ g/ml. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittel MRT durchgeführt.

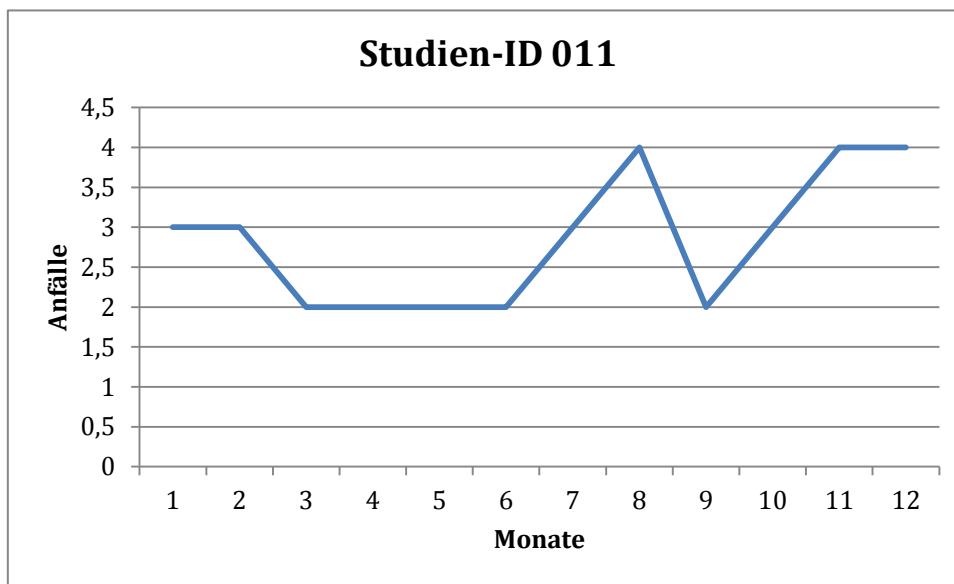


Abbildung 4.14: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 012

Der Hund mit der Studien-ID 012 war ein zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 2 Jahre alter, männlich-kastrierter Irischer Setter. Die ersten Anfälle traten im Alter von einem Jahr und 2 Monaten auf. Es wurde sofort mit einer Phenobarbitaltherapie begonnen, die 5 Monate später mit Kaliumbromid ergänzt wurde. Die antiepileptische Basistherapie zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses enthielt Phenobarbital in einer Dosierung von 8,5mg/kg Kg pro Tag (Serumkonzentration 34,7 μ g/ml) und Kaliumbromid in einer Dosierung von 20,7mg/kg KG pro Tag (Serumkonzentration 0,74mg/ml). Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittel MRT durchgeführt. Das Gewicht des Hundes betrug 41kg.

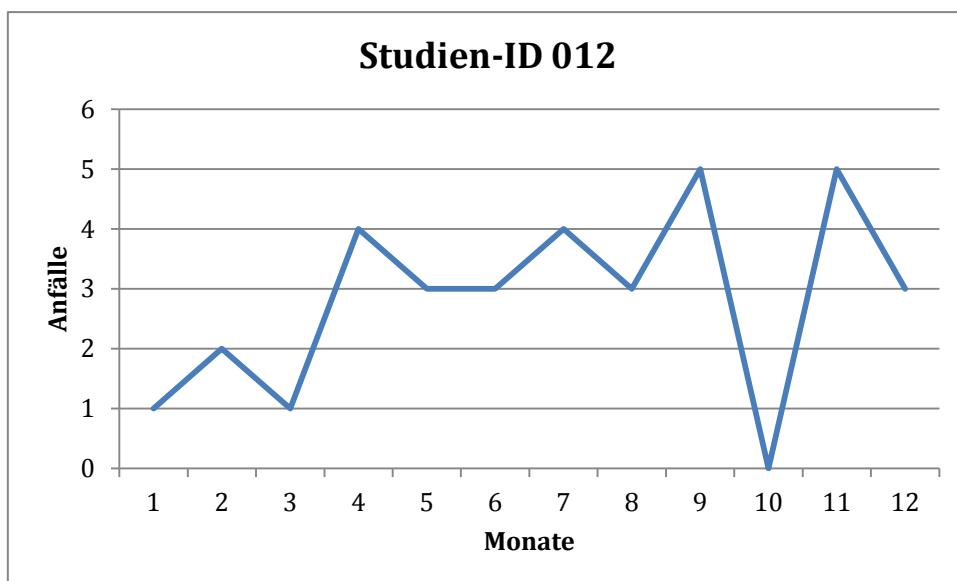


Abbildung 4.15: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 015

Der Hund mit der Studien-ID 015 war ein zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 4,5 Jahre alter, männlich-unkastrierter Samojede. Der erste epileptische Anfall trat im Alter von 3,5 Jahren auf. Die antiepileptische Basistherapie zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses enthielt Phenobarbital in einer Dosierung von 12,2mg/kg KG (Serumkonzentration 24,6 μ g/ml) und Kaliumbromid in einer Dosierung von 17,3mg/kg KG (Serumkonzentration 0,55mg/ml). Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittels MRT durchgeführt.

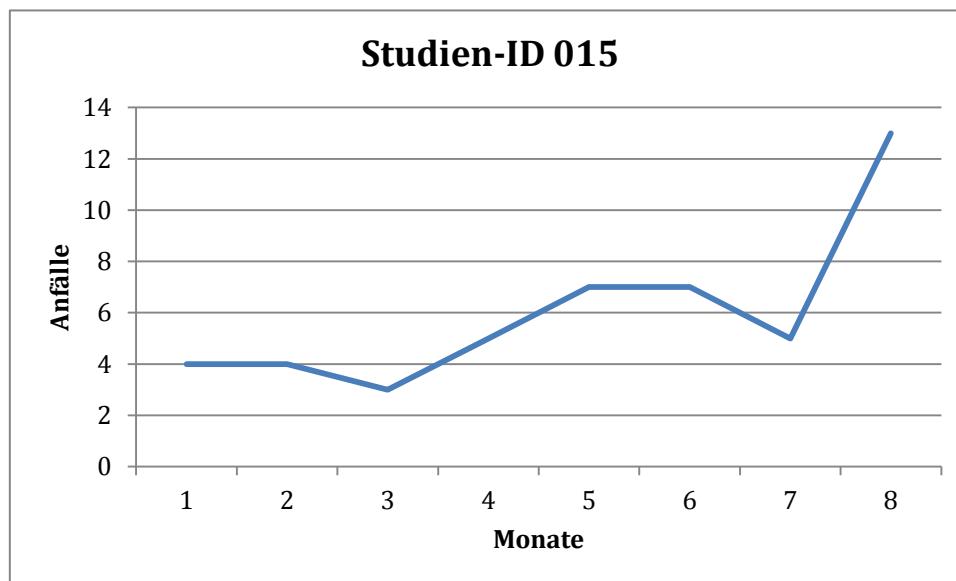


Abbildung 4.16: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 016

Der Hund mit der Studien-ID war eine zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 4,5 Jahre alte unkastrierte Mops-Hündin. Der erste Anfall trat im Alter von 2,5 Jahren auf. Zwei Wochen später, nachdem sie täglich und zum Teil mehrere Anfälle gezeigt hatte, wurde mit einer Phenobarbitaltherapie begonnen. Die antiepileptische Basistherapie zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses enthielt Phenobarbital in einer Dosierung von 12,6mg/kg KG bei einer Serumkonzentration von 30 μ g/ml. Das Gewicht der Hündin betrug 9,9kg. Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittel MRT durchgeführt.

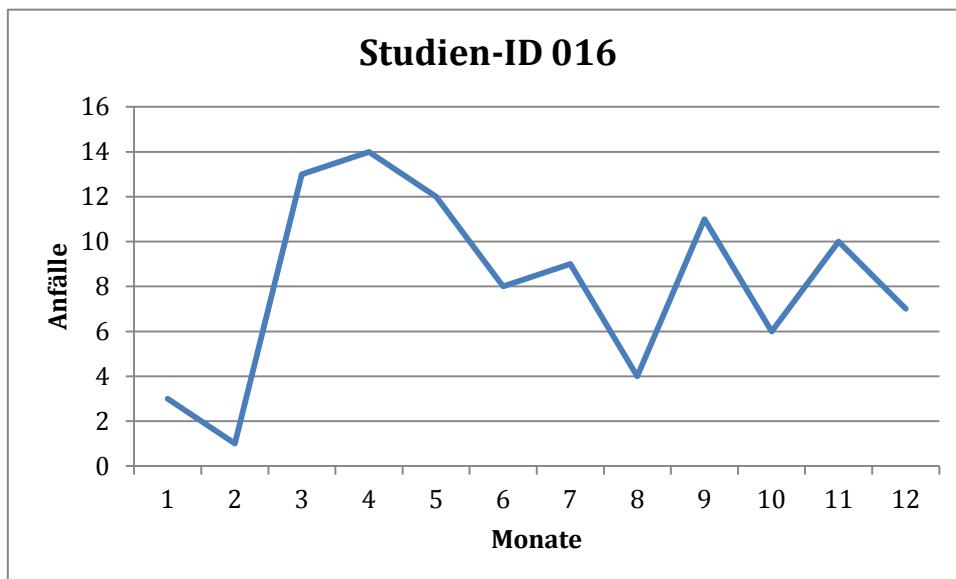


Abbildung 4.17: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

Studien-ID 017

Der Hund mit der Studien-ID 017 war eine zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses 2 Jahre und 4 Monate alte, kastrierte Beagle-Hündin. Den ersten Anfall zeigte sie im Alter von einem Jahr und 7 Monaten. Eine antiepileptische Therapie mit Phenobarbital wurde 3 Monate später begonnen. Zwei Monate später wurde Kaliumbromid dazu gegeben. Die antiepileptische Basistherapie zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses enthielt Phenobarbital in einer Dosierung von 9,3mg/kg KG (Serumkonzentration 32,4 μ g/ml) und Kaliumbromid in einer Dosierung von 52,8mg/kg KG (Serumkonzentration 1,4mg/ml). Die bildgebende Untersuchung des Gehirns wurde mittel MRT durchgeführt. Das Gewicht der Hündin betrug 13,2kg.

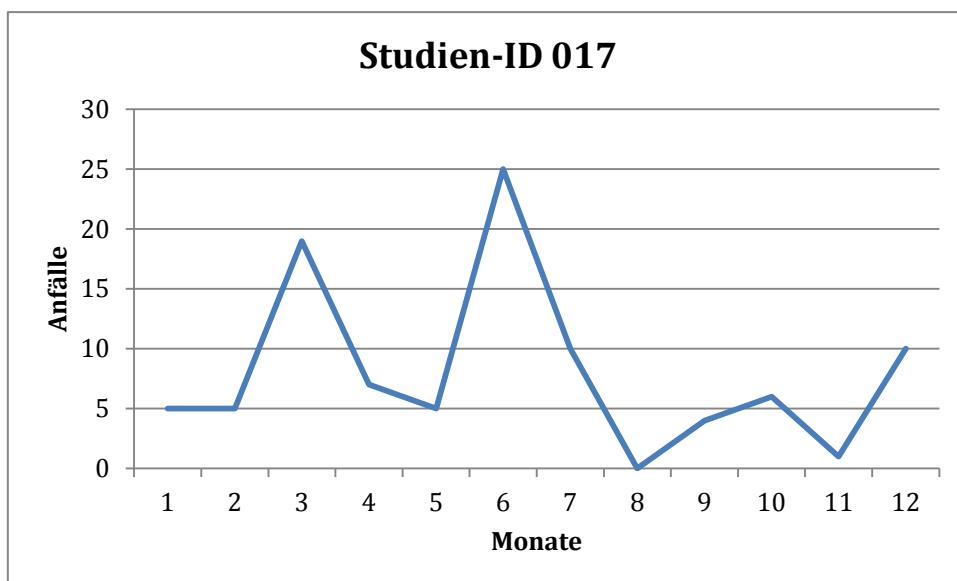


Abbildung 4.18: Verlauf der monatlichen Anfallsfrequenz über den gesamten Studienzeitraum

4.5 Verträglichkeit und Nebenwirkungen

Um potentielle Nebenwirkungen frühzeitig zu erfassen, wurden die Studienpatienten zu regelmäßigen, engmaschigen Kontrolluntersuchungen in die Klinik einbestellt. Untersucht wurden potentiell von Nebenwirkungen betroffene Parameter und Organsysteme, indem Veränderungen

- des Blutbildes
- der Blutgerinnung
- der Nierenfunktion
- der Leberfunktion
- des Gastrointestinaltraktes
- der Phenobarbitalserumkonzentration

kontrolliert wurden.

Ergebnisse des Nebenwirkungs-Screenings:

1. keine Veränderungen des Blutbildes
2. keine Veränderungen der Blutgerinnung oder der Schleimhautblutungszeit
3. keine Veränderungen der Nierenwerte
4. Urinuntersuchung: ein Hund zeigte einmalig erhöhte Glukose-Werte. Bei der Kontrolle eine Woche später war der Wert wieder im Referenzbereich.
5. keine Veränderungen der Leberenzyme, keine Erhöhung der Serumgallensäuren.
6. Pankreatitis: ein Hund brach die Studie nach wenigen Tagen wegen einer Pankreatitis ab. Er bekam als antiepileptische Basistherapie nur Phenobarbital.
7. Ein Hund zeigte zu Beginn der Add-on-Therapie blutigen Durchfall, doch die anderen Hunde desselben Haushaltes waren auch betroffen, so dass begründeter Verdacht auf das Vorliegen einer infektiösen Ursache bestand.
8. Phenobarbital-Serumkonzentration: Bei der Entnahme der Blutproben wurde nicht immer die gleichen Tageszeit, bzw. der gleiche Abstand zur letzten Phenobarbitalgabe eingehalten. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 4.14 zusammengefasst.

Tabelle 4.14: Phenobarbital-Serumkonzentrationen in µg/ml

Studien-ID	Zeitpunkt des Einschlusses	nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 4 Monaten	nach 6 Monaten
003	33	29,6	31	33	46
004	27,9		32,1	29,2	26,7
005	26,8	32,3	26,7	34,6	27,9
006	26		35,3	33,8	
008	28	24,5	40	26,2	
009	18	18			
011	26,9		38,1	33,2	
012	34,7	38,9	35,6	34,7	36,9
015	24,6	30,1	28,7		
016	30	35,6	36,5	32,2	37,1
017	32,4	26,3	26,8	31,8	

5 DISKUSSION

5.1 Ziel der Studie

Die vorliegende Arbeit liefert erste klinische Daten über einen innovativen Therapieansatz zur Überwindung refraktärer Epilepsie beim Hund. Die Anwendung beim Hund basierte auf ersten positiven Ergebnissen der analogen Pgp-Modifikation im epileptischen Nagermodell (ZIBELL et al., 2009; SCHLICHTIGER et al., 2010). Neben der Wirksamkeit in Bezug auf die Überwindung der Pharmakoresistenz lag auch besonderes Augenmerk auf der Verträglichkeit.

5.2 Studiendesign

Die Studie wurde als klinische, prospektive, nicht kontrollierte Pilotstudie konzipiert. Bei jedem Patienten wurde die Anfallsfrequenz in einem bestimmten Zeitraum vor der Therapie mit der Anfallsfrequenz im gleichen Zeitraum unter Therapie verglichen. Der kürzeste Zeitraum, der dabei ausgewertet wurde, waren jeweils vier Monate. Jeder Hund diente gleichzeitig als Proband und als Kontrolle. Damit wurde ein ähnliches Studiendesign verwendet wie in vielen publizierten Studien zur Epilepsie beim Hund (DEWEY et al., 2004; PLATT et al., 2006; KLOPMANN, 2007). Platt und Mitarbeiter verglichen in einer Therapiestudie die Anfallsfrequenz von 11 Hunden 3 Monate vor und 3 Monate unter Add-on-Therapie mit Gabapentin. DEWEY und Mitarbeiter haben in einer Studie mit Zonisamid als Add-on-Therapie den Vergleichszeitraum und Beobachtungszeitraum ebenfalls als jeweils gleich lang festgelegt, wobei die gesamte Studiendauer bei den Patienten nicht einheitlich gewählt wurde. Lediglich eine Mindestzeitspanne von jeweils 8 Wochen vor und 8 Wochen unter Add-on-Therapie wurde definiert. Die zu vergleichenden Zeiträume in der vorliegenden Studie waren mit jeweils 6 Monaten relativ lang gewählt, um möglichst auch die Fluktuationen von chronischen Erkrankungen, wie sie die Epilepsie darstellt, auszugleichen, die zu einer typischen Initialverbesserung bzw. Placebo-Effekt führen (MUNANA et al., 2010). Im Unterschied zu den erwähnten Studien von PLATT und DEWEY, die Medikamente, deren Wirksamkeit bereits für die klinische Anwendung beim Menschen nachgewiesen wurde, erstmals beim

Hund eingesetzt haben, wurde ein translationaler Therapieansatz verfolgt, da der in der vorliegenden Studie durchgeführte Therapieansatz bisher nur im Rattenmodell (BAUER et al., 2008; SCHLICHTIGER et al., 2010) erprobt wurde. Die im Rattenmodell erhaltenen Daten wurden auf den Hund übertragen, um erste klinische Daten zur Wirksamkeit und Verträglichkeit beim Hund zu erhalten.

5.3 Datenmaterial

Zur Rekrutierung geeigneter Studienteilnehmer wurde eine Anzeige im Deutschen Tierärzteblatt geschaltet, Informationsmaterial wurde an Tierkliniken und Praxen verschickt, und ein Aufruf auf der Homepage der Medizinischen Kleintierklinik München wurde ins Internet gestellt. Es meldete sich eine Vielzahl von interessierten Tierärzten und Hundebesitzern. In ausführlichen Beratungsgesprächen wurden mögliche echte Pharmakoresistenzen von sogenannten „Pseudoresistenzen“ unterschieden. Als „Pseudoresistenzen“ wurden in dieser Arbeit mangelnde Therapieerfolge aufgrund zu niedrig dosierter oder falsch applizierter Pharmaka gewertet. Im Laufe dieser intensiven Suche nach geeigneten Patienten konnten 17 Hunde in die Studie aufgenommen werden, die die Einschlusskriterien erfüllten.

Die Daten von 11 Hunden konnten in die Auswertung eingeschlossen werden. Es gab 6 Studienabbrecher, die aber nicht eliminiert wurden, sondern im Rahmen dieser Arbeit detailliert betrachtet wurden, um keine Verfälschung der Situation zu erreichen. Zehn Hunde durchliefen die gesamten 6 Monate der Studientherapiedauer, bei einem Hund wurde ein Zeitraum von 4 Monaten ausgewertet und mit den Daten in den 4 Monaten vor Studienbeginn verglichen.

5.4 Einschlusskriterien und Definition Pharmakoresistenz

Pharmakoresistenz wird in der Humanmedizin definiert als das Fehlen von Anfallsfreiheit über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr trotz adäquater Therapie mit mindestens zwei verschiedenen Antiepileptika als Mono- oder Kombinationstherapie in maximalverträglichen Dosen (KWAN et al., 2010). Für diese Studie wurden Hunde als pharmakoresistent eingestuft, die trotz Therapie mit Phenobarbital im mittleren therapeutischen Bereich der Serumkonzentration bzw. mit maximal verträglicher Dosis (als Phenobarbital-Monotherapie oder in

Kombination) über einen Zeitraum von mindestens 4 Monaten eine Anfallsfrequenz von durchschnittlich 3 oder mehr Anfällen pro Monat aufwiesen. Phenobarbitaltherapie wurde vorausgesetzt, weil es für den Hund zugelassen, nach wie vor Antiepileptikum der Wahl in der Veterinärmedizin und Substrat von PgP ist. Es handelt sich bei unserer Studienpopulation also um phenobarbitalresistente Hunde. Das Kriterium für die Definition von Pharmakoresistenz der ILAE, dass die Therapie mindestens 2 tolerierbare Antiepileptika in maximaler verträglicher Dosis enthalten haben muss, ist in der Tiermedizin aufgrund der weniger großen Auswahl an zugelassenen Medikamenten oft schwierig zu erfüllen. Zum Zeitpunkt des Beginns dieser Studie waren nur Phenobarbital und Kaliumbromid für die Therapie der Epilepsie des Hundes zugelassen. Erst nach Beendigung der Studie wurde ein weiteres, speziell für den Hund entwickeltes Medikament, Imepitoin, auf den Markt gebracht. Als Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie wurde eine Phenobarbital-Serumkonzentration von mindestens 20 µg/ml festgelegt, es sei denn dieser Wert konnte nicht erreicht werden, weil die Nebenwirkungen höherer Dosen nicht tolerierbar waren. Dieser Wert wäre höher anzusetzen, wenn man die Empfehlungen aus der Humanmedizin, die besagen, eine maximale, bezüglich der Nebenwirkungen tolerierbare Dosis muss über einen Zeitraum von einem Jahr appliziert worden sein, ohne jede Modifikation umsetzen würde. Der Grund dafür keine noch höhere Serumkonzentration als Einschlusskriterium zu definieren, war nicht zuletzt die Unmöglichkeit, unter diesen Bedingungen ein ausreichend großes Patientenkollektiv zu rekrutieren. Das liegt möglicherweise daran, dass viele Besitzer und Tierärzte die Nebenwirkungen höherer Dosierungen fürchten oder auch daran, dass in der Tierärzteschaft wenig bekannt ist, dass eine Dosisoptimierung bis zu einer therapeutischen Serumkonzentration von Phenobarbital in den Bereich von 30 – 35 µg/ml möglich ist und durchaus toleriert werden kann (PODELL, 2012). Ein anderer Faktor, der das Erreichen höherer therapeutischer Serumkonzentrationen unter Phenobarbitaltherapie beim Hund oft limitiert, ist die potente Enzyminduktion, die durch Phenobarbital ausgelöst wird, so dass trotz zunehmend höherer oraler Gaben, die Serumkonzentration nur kurzzeitig ansteigt und dann durch Enzyminduktion und schnelleren Metabolismus bedingt wieder absinkt.

Als wirksamer Bereich von Phenobarbital gilt eine Serumkonzentration zwischen

15 und 40 µg/ml (CHANDLER, 2006). Es handelt sich nicht zwingend um eine echte Pharmakoresistenz, wenn ein Hund trotz einer Phenobarbital-Serumkonzentration von $\geq 20\mu\text{g}/\text{ml}$ noch Anfälle zeigt. In einer Studie von BOOTHE et al. wurden 17 von 21 Hunden mit neu diagnostizierter, idiopathischer Epilepsie durch Therapie mit Phenobarbital als Monotherapie anfallsfrei, wobei die mittlere Phenobarbitalserumkonzentration bei $24\mu\text{g}/\text{ml}$ lag (BOOTHE et al., 2012).

Zu beachten ist, dass die Dauer der Erkrankung der Tiere, die im Rattenmodell mit diesem Therapieansatz erfolgreich behandelt wurden, vergleichsweise kurz war. Die Patienten aus der vorliegenden Studie waren chronisch schwer kranke Tiere mit einer zum Teil jahrelangen Krankheitsgeschichte. Die durchschnittliche Zeitspanne vom ersten Anfall bis zum Studieneinschluss betrug 2,6 Jahre.

5.5 Verträglichkeit und Nebenwirkungen

Bei keinem der in die Studie eingeschlossenen 17 Hunde konnten klinisch relevante, eindeutig Firocoxib-assoziierte Nebenwirkungen festgestellt werden. Firocoxib ist ein nicht-steroidales Antiphlogistikum (NSAID) aus der Gruppe der Coxibe. NSAIDs hemmen die Prostaglandinsynthese, indem sie das an dieser beteiligte Enzym Cyclooxygenase (COX) hemmen. Es gibt zwei Isoformen der COX; die konstitutive Cyclooxygenase 1 (COX-1) ist unter anderem an der Synthese zytoprotektiver Prostaglandine der Magendarmschleimhaut beteiligt, während die COX-2 entzündungsfördernde Prostaglandine bildet. Beide COX-Isoformen werden in der Niere zur Synthese von Prostaglandinen gebraucht, die die renale Durchblutung regulieren. Firocoxib ist lipophil und passiert die Blut-Hirn-Schranke (LÖSCHER, 2006).

Die häufigsten Nebenwirkungen von NSAIDs sind Schädigungen der Magendarmschleimhaut und der Nieren, hervorgerufen vor allem durch die Hemmung der konstitutiven COX-1. Firocoxib ist ein stark selektiver Hemmstoff der COX-2, so dass das ulzerogene Potential und das Risiko gastronintestinaler Nebenwirkungen geringer ist als das von anderen, nicht selektiven COX-2 Hemmern (LÖSCHER, 2006). Da die COX-2 jedoch auch physiologische Funktionen in der Niere erfüllt, muss die Nierenfunktion unter Firocoxibtherapie regelmäßig kontrolliert werden.

Firocoxib ist zur Behandlung der Osteoarthritis für den Hund zugelassen und die empfohlene Dosierung beträgt 5mg/kg KG einmal täglich. Der Steady-state von Firocoxib wird bei täglicher Gabe nach 3 Tagen erreicht. Die Eliminationshalbwertzeit beträgt 7,5 Stunden, die vollständige Elimination ist nach 3 Tagen abgeschlossen (MCCANN et al., 2004). Es wurden verschiedene Studien zur Verträglichkeit von Firocoxib durchgeführt, deren Ergebnisse hier zusammengefasst sind.

In einer klinischen Studie mit 39 an Osteoarthritis leidenden Hunden, denen über einen Zeitraum von 360 Tagen einmal täglich die vom Hersteller empfohlene Dosis von 5mg/kg KG verabreicht wurde, zeigte nur 1% der Hunde Erbrechen und 2,5% zeigten Durchfall. Zwei Hunde zeigten erhöhte Kreatininwerte und ein Hund zeigte eine Anämie ungeklärter Ursache nach 120 Tagen Firocoxibbehandlung. Ein Hund bekam versehentlich die doppelte Dosis und starb nach Durchbruch eines duodenalen Ulcus. Insgesamt wurden 10,3% der Hunde vorzeitig aus Studie genommen aufgrund der beschriebenen Nebenwirkungen. (AUTEFAGE et al., 2011)

In einer Studie mit speziellen Risikopatienten wurde die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Firocoxib an 16 älteren Hunden mit Osteoarthritis evaluiert, die über 90 Tage mit Previcox nach Empfehlung des Herstellers behandelt wurden. In dieser Studie wurde zusätzlich zu den üblichen Laborparametern, wie sie in der oben genannten und in unserer Studie kontrolliert wurden, auch eine endoskopische Untersuchung des Magens und Duodenum bei jedem Kontrollbesuch (insgesamt 3 Mal) durchgeführt. Zehn der 16 Hunde zeigten bei keiner der Untersuchungen Veränderung der Magendarmschleimhaut, 2 hatten schon in der Einschlussuntersuchung leichte Veränderungen, die trotz Firocoxibtherapie in den folgenden Untersuchungen nicht mehr zu sehen waren, 3 Hunde zeigten am Ende der Studie leichte, ein Hund mittelgrade Veränderungen. Durchfall oder Erbrechen traten bei 6 Hunden vorübergehend auf. Insgesamt wurden diese Nebenwirkungen als nicht klinisch signifikant bewertet. Die Untersuchungen der Nierenfunktion war bei allen Hunden unauffällig (LECOINDRE und PEPIN-RICHARD, 2011).

Im Tierversuch wurden 24 Beagle-Hunden unterschiedliche Dosierungen von Firocoxib verabreicht. Jeweils 8 Hunde bekamen 5mg/kg, 15mg/kg und 25mg/kg KG einmal täglich über 180 Tage. Die Hunde, die die empfohlene Dosis von

5mg/kg KG erhielten, zeigten keine Nebenwirkungen. Durchfall und Erbrechen kam in allen Gruppen vor (auch in der Kontrollgruppe ohne Firocoxib-Gabe), gehäuft aber nur in der Gruppe der 5-fach überdosierten Hunde. Einige Hunde aus den beiden Gruppen mit Firocoxib-Applikation in Überdosierung zeigten außerdem vorübergehend Hypalbuminämie und Leberenzym erhöhungen. Ein Hund aus der Gruppe mit 3-facher Überdosierung zeigte ein mildes Ulcus im Duodenum (CLARK, 2006).

Basierend auf diesen Daten wurde in der vorliegenden Studie eine Firocoxib-Dosierung von 5mg/kg KG gewählt. Das Studienmedikament wurde von allen 17 in die Studie eingeschlossenen Hunden gut vertragen. Laborveränderungen des Blutbildes, der Serumchemie, der Gerinnung und Verlängerungen der Schleimhautblutungszeit wurde bei keinem der Hunde beobachtet. Blutiger Durchfall trat bei einem Hund auf, woraufhin er aus der Studie ausgeschlossen wurde, jedoch lag der Verdacht nahe, dass nicht die Therapie mit dem Studienmedikament sondern eine Infektion ursächlich verantwortlich war, weil andere Hunde aus demselben Haushalt die gleiche Symptomatik zeigten. Ein Hund zeigte vorübergehend eine normoglykämische Glukosurie. Ein Hund schied nach wenigen Tagen unter Firocoxib-Therapie wegen akuter Pankreatitis aus. Dieser Patient hatte als Basistherapie nur Phenobarbital bekommen. Insgesamt bestätigen unsere Ergebnisse die gute Verträglichkeit von Firocoxib, wie sie auch in den oben zitierten Studien beschrieben wurde.

5.6 Anfallsparameter

Zur Beurteilung der Wirksamkeit des zu untersuchenden Therapieansatzes wurden verschiedene Anfallsparameter ausgewertet. Als Erfolg wurde eine Reduktion der durchschnittlichen monatlichen Zahl der Anfälle (Anfallsfrequenz) von 50% oder mehr bei mindestens der Hälfte der Studienteilnehmer gewertet. Dies wurde nicht erreicht. Lediglich zwei von elf Hunden (Studien-ID 008 und 017) haben sich hinsichtlich ihrer Anfallsfrequenz soweit verbessert, dass sie die Kriterien erfüllten, um bezüglich des Anfallsparameters Anfallsfrequenz als Responder eingestuft werden zu können. Der Begriff Responder ist bei einer so geringen, statistisch nicht signifikanten Gruppe ($n=2/11$) vielleicht nicht gerechtfertigt. Und vielleicht auch deshalb nicht gerechtfertigt, da diese Hunde trotz der 50% Reduktion der Anfallsfrequenz über den gesamten Therapiezeitraum immer noch

eine hohe monatliche Anfallsfrequenz zeigten, die langfristig als nicht tolerierbar angesehen werden muss. Hier ist zu diskutieren, ob die Definition des Outcomes von Therapiestudien auf der Basis einer 50%igen Reduktion der Anfallsfrequenz gerechtfertigt ist, da eine Epilepsie mit monatlichen Anfällen immer noch als schlecht kontrolliert einzustufen ist. In der Humanmedizin ist Anfallsfreiheit der Zielparameter (KWAN et al., 2010). Im Folgenden wird der Begriff jedoch trotzdem verwendet, um die Erfüllung der Erfolgskriterien zu benennen. In Bezug auf die Anfallstagfrequenz konnten ebenfalls zwei Hunde (Case-ID 005 und 017) als Responder klassifiziert werden. Hinsichtlich der Serienanfallsfrequenz hat sich ein Hund (Case-ID 017) um 50% verbessert. Bemerkenswerterweise waren die beiden Hunde, die in den sechs Monaten vor Studienbeginn die höchste Anfallsfrequenz aufwiesen (Case-ID 008 und 017), diejenigen, deren Anfallsfrequenz unter Firocoxib-add-on-Therapie um 50 und 53% gesunken ist. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass besonders Hunde mit einer hohen Anfallsfrequenz von dieser Therapie profitieren könnten. Bemerkenswert ist auch, dass der Hund mit der Studien-ID 017 bei Betrachtung aller 3 Hauptanfallsparameter als Responder auftaucht.

Pharmakoresistenz wird heute für ein multifaktorielles Geschehen gehalten (VAN VLIET et al., 2006; POTSCHKA et al., 2013). Im einzelnen Individuum können mehrere Ursachen zugrunde liegen und verschiedene Patienten können unterschiedliche Ursachen für ihre Pharmakoresistenz haben. Es ist nicht genau bekannt, wie groß der Anteil der Patienten mit pharmakoresistenter Epilepsie ist, bei denen eine Pgp-Überexpression vorliegt. In einer Studie von PEKCEC und Mitarbeitern wurde die Pgp-Konzentration an 3 verschiedenen Lokalisationen in den Gehirnen post-SE euthanasierter Hunde untersucht, und mit einer Kontrollgruppe aus Hunden, die aufgrund anderer, nicht ZNS-assozierter Ursachen euthanasiert worden waren, verglichen. Die Hunde mit vorangegangenem Status epilepticus (SE) oder Cluster-Anfällen hatten zwar eine durchschnittliche signifikante Erhöhung der Pgp-Konzentration gegenüber der Kontrollgruppe, aber nicht alle Hunde aus der Anfallsgruppe waren davon betroffen (PEKCEC et al., 2009). Die 2 Hunde der vorliegenden Studie, deren Anfallsfrequenz sich um mehr als 50% reduziert hat, haben vor der Therapie mit Firocoxib die höchsten Anfallsfrequenzen aufgewiesen, nämlich jeweils über 10 Anfälle pro Monat. Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese, dass besonders bei

Patienten mit schweren und häufigen Anfällen eine anfallsinduzierte Pgp-Überexpression eine Rolle bei der Entstehung der Pharmakoresistenz spielen könnte. Trotzdem muss man berücksichtigen, dass chronische Erkrankungen immer einer gewissen natürlichen Fluktuation unterliegen, so dass es sich bei der Reduktion der Anfallsfrequenz bei den insgesamt sechs Hunden (Case-ID 003, 006, 008, 009, 016, 017) nicht zwingend um den gewünschten Effekt der Add-on-Therapie gehandelt haben muss. Auch von pharmakoresistenter Epilepsie wird angenommen, dass etwa 4% der Patienten Episoden haben, in denen sie besser auf Antiepileptika ansprechen (KWAN et al., 2011). Eine erhöhte Konzentration bzw. Aktivität von Pgp im lebenden Hund nachweisen zu können, würde große Hilfe dabei leisten, Patienten zu selektieren, die von einer Add-on-Therapie mit einem COX-2-Hemmer profitieren können. Methoden zum In-vivo-Nachweis erhöhter Pgp-Expression mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) werden seit einigen Jahren sowohl an Versuchstieren als auch an menschlichen Populationen erprobt. Bei dieser Art der Bildgebung werden schnell zerfallende, radioaktiv markierte Substanzen (in diesem Fall Substrate oder Inhibitoren von Pgp) in ihrer zeitlichen und räumlichen Verteilung im Gewebe sichtbar gemacht (BAUER et al., 2012; FELDMANN und KOEPP, 2013).

5.7 Studienmedikament und Therapieprotokoll

Da COX-2-Hemmer das Risiko von Nebenwirkungen mit sich bringen (LECOINDRE und PEPIN-RICHARD, 2011), wurde in dieser Studie ein intermittierendes Behandlungsprotokoll gewählt. Im Rattenmodell hat sich sowohl eine 6-tägige als auch eine 14-tägige Intervall-add-on-Therapie mit einem COX2-Hemmer erfolgreich gezeigt (POTSCHEKA, 2012). Daher wurde in dieser Studie auf die Anwendung längerer durchgehender Behandlungsintervalle nach einem Zeitraum von zwei Monaten verzichtet und das intermittierende Behandlungsprotokoll gewählt, wobei sich die Länge der Therapieintervalle an den experimentellen Daten orientierte. Zu diskutieren bleibt, ob der Erfolg dieser Behandlungsschemata auf den Hund übertragbar ist. Des Weiteren gibt es neben den üblichen Nebenwirkungen von COX2-Hemmern, wie gastrointestinalen oder renalen Symptomen, Hinweise darauf, dass COX2-Hemmer in seltenen Fällen eine anfallsfördernde Wirkung entfalten können (HOLTMAN et al.; POTSCHEKA, 2012). In dieser Pilotstudie wurde als Studienmedikament Firocoxib eingesetzt, da es bereits seit 2004 eine Marktzulassung für den Hund zur Behandlung von

postoperativen Schmerzen und degenerativen Gelenkerkrankungen besitzt und Daten zur Verträglichkeit und Toxizität zur Verfügung stehen. Im Rattenmodell wurden Celecoxib und andere COX2-Hemmer eingesetzt und haben erfolgreich zu einer Reduktion der Überexpression von Pgp in den Gehirnkapillaren geführt. (ZIBELL et al., 2009; SCHLICHTIGER et al.; VAN VLIET et al., 2010). Firocoxib wurde an Ratten in diesem Zusammenhang nicht erprobt. Dass Celecoxib bei den caninen Probanden zu einem besseren Therapieerfolg geführt hätte, ist aufgrund des ähnlichen Wirkmechanismus nicht anzunehmen. Celecoxib hat nicht nur keine Zulassung in der Tiermedizin, es wurde im März 2011 auch in der Humanmedizin die Marktzulassung für Celecoxib entzogen (EMA, 2011). Laut Hersteller dürfen durchgebrochene Firocoxib-Tabletten nur sieben Tage nach dem Halbieren verwendet werden. Da die Tabletten aber zur Unkenntlichmachung ausgeeinzt und zum Teil halbiert und geviertelt an die Besitzer abgegeben wurden, wurden sie bis zu 30 Tage ohne Originalverpackung gelagert.

5.8 Ausblick

Die Wirksamkeit des in dieser Studie erprobten Therapieansatzes war mit nur 2 als „Responder“ klassifizierten Patienten nicht zufriedenstellend. Aufgrund der positiven Erfahrungen im Rattenmodell sollte jedoch weiter geforscht werden, wie das Therapieprotokoll zu verändern ist, um die erzielten Erfolge auf den Hund übertragen zu können. Die Verträglichkeit des Studienmedikaments Firocoxib konnte in dieser Studie bestätigt und als gut bewertet werden. Da die Patienten dieser Studie, die hinsichtlich ihrer Anfallsfrequenz als Responder eingestuft werden konnten, Hunde mit besonders hoher Anfallsfrequenz im Vergleichszeitraum vor Add-on-Therapie waren, liegt auch in der Auswahl geeigneter Patienten, zusammen mit einem individualisierten Behandlungsschema, die Möglichkeit zur Verbesserung der Wirksamkeit dieses Therapieansatzes.

6 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die im Rahmen einer prospektiven, klinischen Pilotstudie erhobenen Daten von 11 Hunden mit idiopathischer, phenobarbitalresistenter Epilepsie ausgewertet, die zusätzlich zu ihrer antiepileptischen Basistherapie eine Add-on-Therapie mit einem COX-2-Hemmer erhalten haben. Damit wurde ein Therapieansatz verfolgt, der auf der Hypothese der Veränderungen der Multi-Drug-Transporter an der Blut-Hirn-Schranke beruht. Diese besagt, dass es im chronisch epileptischen Gehirn anfallsinduziert zu einer Überexpression des Transportermoleküls Pgp in den cerebralen Kapillaren kommt, wodurch die Wirksamkeit von Pgp-Substraten, wie in diesem Fall Phenobarbital, reduziert wird. Ziel dieser Studie war es, diesen im Rattenmodell wirksamen Therapieansatz zur Überwindung der Pharmakoresistenz auf den Hund zu übertragen, und sowohl die Wirksamkeit als auch die Verträglichkeit zu erfassen. Es wurden die durchschnittliche monatliche Anfallsfrequenz und andere Anfallsparameter der Studienpatienten in einem definierten Zeitraum vor Beginn der Studientherapie mit den Daten unter Studientherapie verglichen. Es wurden jeweils 6 Monate lang Anfallskalender zur Berechnung der Anfallsparameter geführt, und klinische sowie labordiagnostische Daten in regelmäßigen Kontrolluntersuchungen erhoben. Die Verträglichkeit von Firocoxib konnte als gut bestätigt werden, da keiner der Studienpatienten eindeutig firocoxib-assoziierte Nebenwirkungen wie Durchfall, Erbrechen oder Veränderungen der Laborparameter, besonders bezüglich der Nierenfunktion, gezeigt hat. Eine Reduktion der durchschnittlichen monatlichen Anfallsfrequenz im angestrebten Umfang von mindestens 50 Prozent konnte nur bei zwei Hunden erreicht werden. Die durchschnittliche monatliche Anfallstagfrequenz reduzierte sich ebenfalls bei zwei Hunden um $\geq 50\%$. Die durchschnittliche monatliche Serienanfallsfrequenz reduzierte sich bei einem Patienten um 50%. Der Schweregrad der Serienanfälle (Anfälle/Serienanfall) reduzierte sich bei einem der Hunde um 24%. Weitere Studien zur Verbesserung des Behandlungsschemas sind notwendig, um mehr Hunde mit phenobarbital-resistenter Epilepsie von diesem Therapieansatz profitieren zu lassen.

7 SUMMARY

In the present study, which was conducted as a prospective clinical trial, data from 11 dogs with phenobarbital-resistant idiopathic epilepsy that were treated with a COX-2 inhibitor as an add-on therapy, were investigated. This therapeutical approach is based on the hypothesis of seizure-induced alterations in multidrug transporter molecules in the blood-brain barrier. The multidrug transporter hypothesis postulates that seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein (Pgp) in capillary endothelial cells of the chronical epileptic brain leads to an increased efflux transport of Pgp-substrates such as phenobarbital, reducing its therapeutic efficacy. The objective of this study was to evaluate the efficacy and safety of this therapeutical strategy to overcome drug resistance translating it from rodent model trials to canine patients. Monthly frequency of seizures, seizure-days, cluster seizures and average number of seizures per cluster were recorded six months before and during add-on therapy. The collected data from the two study periods before and during add-on therapy were compared. During the study period, the dogs were presented 5 times to veterinary control visits to assess clinical and laboratory data, ask owners about side-effects and re-evaluate the seizure-logs. Safety of firocoxib add-on therapy was confirmed to be very high. Clinically relevant side-effects of the add-on therapy like diarrhea, vomiting or abnormalities in laboratory tests were not seen. A reduction of seizure frequency of $\geq 50\%$ was achieved in 2 dogs. Seizure-day frequency was also reduced by $\geq 50\%$ in 2 dogs, and the frequency of cluster seizures as well as the average number of seizures per cluster were reduced in one dog. Further investigations to develop improved therapy protocols of this therapeutic strategy are needed.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Autefage A, Palissier FM, Asimus E, Pepin-Richard C. Long-term efficacy and safety of firocoxib in the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 2011; 168: 617-21.

Bartmann H, Fuest C, la Fougere C, Xiong G, Just T, Schlichtiger J, Winter P, Boning G, Wangler B, Pekcec A, Soerensen J, Bartenstein P, Cumming P, Potschka H. Imaging of P-glycoprotein-mediated pharmacoresistance in the hippocampus: proof-of-concept in a chronic rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2010; 51: 1780-90.

Bauer B, Hartz AM, Pekcec A, Toellner K, Miller DS, Potschka H. Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 1444-53.

Bauer M, Zeitlinger M, Karch R, Matzneller P, Stanek J, Jager W, Bohmdorfer M, Wadsak W, Mitterhauser M, Bankstahl JP, Loscher W, Koepp M, Kuntner C, Muller M, Langer O. Pgp-mediated interaction between (R)-[11C]verapamil and tariquidar at the human blood-brain barrier: a comparison with rat data. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 91: 227-33.

Boothe DM, Dewey C, Carpenter DM. Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 1073-83.

Brandt C, Bethmann K, Gastens AM, Loscher W. The multidrug transporter hypothesis of drug resistance in epilepsy: Proof-of-principle in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2006; 24: 202-11.

Chandler K. Canine epilepsy: what can we learn from human seizure disorders? *Vet J* 2006; 172: 207-17.

Clark TP. The clinical pharmacology of cyclooxygenase-2-selective and dual inhibitors. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 1061-85, vii.

Dewey CW, Giuliano R, Boothe DM, Berg JM, Kortz GD, Joseph RJ, Budsberg SC. Zonisamide therapy for refractory idiopathic epilepsy in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 285-91.

Dewey CW. Anticonvulsant therapy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 1107-27, vii.

Dewey CW, Cerdá-González S, Levine JM, Badgley BL, Ducote JM, Silver GM, Cooper JJ, Packer RA, Lavelle JA. Pregabalin as an adjunct to phenobarbital, potassium bromide, or a combination of phenobarbital and potassium bromide for treatment of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *J Am Vet Med Assoc* 2009; 235: 1442-9.

EMA. European Medicines Agency. Onsenal (Celecoxib): Withdrawal of the marketing authorization in the European Union. 2011: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Public_statement/2011/04/WC500104950.pdf. Stand: 16.03.2014.

Feldmann M, Koepp M. P-glycoprotein imaging in temporal lobe epilepsy: in vivo PET experiments with the Pgp substrate [11C]-verapamil. *Epilepsia* 2013; 53 Suppl 6: 60-3.

Fischer A, Potschka H, Tipold A, Stein V, Volk H. Kapitel 4, Therapie. In: Die idiopathische Epilepsie des Hundes. Fischer A, Potschka H, Rentmeister K, Tipold A, Volk H, Kloppmann TH, eds. Stuttgart: Enke 2013: S. 66-106.

Govendir M, Perkins M, Malik R. Improving seizure control in dogs with refractory epilepsy using gabapentin as an adjunctive agent. *Aust Vet J* 2005; 83: 602-8.

Holtman L, van Vliet EA, Edelbroek PM, Aronica E, Gorter JA. Cox-2 inhibition can lead to adverse effects in a rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2010; 91: 49-56.

Hufnagel A, Noachtar S. Epilepsien und ihre medikamentöse Behandlung. In: Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen, 5 edn. Brandt TD, J.; Diener, H.C., ed. Stuttgart: Kohlhammer 2007: 199-223.

Jambroszyk M., Tipold A., Potschka H. Add-on-treatment with verapamil in pharmacoresistant canine epilepsy. *Epilepsia* 2011; 52: 284-91.

Klopmann TR, B; Tipold, A. Prospective study of zonisamide therapie for refractory idiopathic epilepsy in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 2007; 48: 134-8.

Kraft W, Dürr UM (2005) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer Verlag, Stuttgart

Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, Moshe SL, Perucca E, Wiebe S, French J. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010; 51: 1069-77.

Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ. Drug-resistant epilepsy. *N Engl J Med* 2011; 365: 919-26.

Lecoindre O, Pepin-Richard C. Tolerance of firocoxib in dogs with osteoarthritis during 90 days. *J Vet Pharmacol Ther* 2011; 34: 190-2.

Lee MS, Green R, Marsillac SM, Coquelle N, Williams RS, Yeung T, Foo D, Hau DD, Hui B, Monteiro AN, Glover JN. Comprehensive analysis of missense variations in the BRCT domain of BRCA1 by structural and functional assays. *Cancer Res* 2010; 70: 4880-90.

Loscher W, Potschka H. Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 591-602.

Löscher WU, F.R.; Kroker, R. (2006) Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 7 edn. Parey, Stuttgart

Lowrie M. Advances in the Management of Idiopathic Epilepsy in Dogs. *CVL-Companion Animals* 2012; 1: 77-88.

McCann ME, Andersen DR, Zhang D, Brideau C, Black WC, Hanson PD, Hickey GJ. In vitro effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. *Am J Vet Res* 2004; 65: 503-12.

Monteiro R, Anderson TJ, Innocent G, Evans NP, Penderis J. Variations in serum concentration of phenobarbitone in dogs receiving regular twice daily doses in relation to the times of administration. *Vet Rec* 2009; 165: 556-8.

Munana KR, Zhang D, Patterson EE. Placebo effect in canine epilepsy trials. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 166-70.

Pekcec A, Unkruer B, Stein V, Bankstahl JP, Soerensen J, Tipold A, Baumgartner W, Potschka H. Over-expression of P-glycoprotein in the canine brain following spontaneous status epilepticus. *Epilepsy Res* 2009; 83: 144-51.

Platt SR, Adams V, Garosi LS, Abramson CJ, Penderis J, De Stefani A, Matiasek L. Treatment with gabapentin of 11 dogs with refractory idiopathic epilepsy. *Vet Rec* 2006; 159: 881-4.

Podell D. Seizures. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology. Platt S, Olby N, eds.: British Small Animal Veterinary Association 2012: 117-35.

Potschka H. Targeting regulation of ABC efflux transporters in brain diseases: a novel therapeutic approach. *Pharmacol Ther* 2010; 125: 118-27.

Potschka H. Role of CNS efflux drug transporters in antiepileptic drug delivery: overcoming CNS efflux drug transport. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 64: 943-52.

Potschka H, Fischer A, von Ruden EL, Hulsmeyer V, Baumgartner W. Canine epilepsy as a translational model? *Epilepsia* 2013; 54: 571-9.

Remy S, Beck H. Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. *Brain* 2006; 129: 18-35.

Rogawski MA. The intrinsic severity hypothesis of pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2013; 54 Suppl 2: 33-40.

Schllichtiger J, Pekcec A, Bartmann H, Winter P, Fuest C, Soerensen J, Potschka H. Celecoxib treatment restores pharmacosensitivity in a rat model of pharmacoresistant epilepsy. *Br J Pharmacol* 2010; 160: 1062-71.

Schwartz-Porsche D, Loscher W, Frey HH. Therapeutic efficacy of phenobarbital and primidone in canine epilepsy: a comparison. *J Vet Pharmacol Ther* 1985; 8: 113-9.

van Vliet EA, van Schaik R, Edelbroek PM, Redeker S, Aronica E, Wadman WJ, Marchi N, Vezzani A, Gorter JA. Inhibition of the multidrug transporter P-glycoprotein improves seizure control in phenytoin-treated chronic epileptic rats. *Epilepsia* 2006; 47: 672-80.

van Vliet EA, Zibell G, Pekcec A, Schllichtiger J, Edelbroek PM, Holtman L, Aronica E, Gorter JA, Potschka H. COX-2 inhibition controls P-glycoprotein expression and promotes brain delivery of phenytoin in chronic epileptic rats. *Neuropharmacology* 2010; 58: 404-12.

Volk HA, Matiasek LA, Lujan Feliu-Pascual A, Platt SR, Chandler KE. The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmacoresistant epileptic dogs. *Vet J* 2008; 176: 310-9.

Zibell G, Unkruer B, Pekcec A, Hartz AM, Bauer B, Miller DS, Potschka H. Prevention of seizure-induced up-regulation of endothelial P-glycoprotein by COX-2 inhibition. *Neuropharmacology* 2009; 56: 849-55.

9 DANKSAGUNG

Ich danke Frau Prof. Dr. Andrea Fischer für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Dissertationsschrift.

Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann danke ich für die Möglichkeit, in der Medizinischen Kleintierklinik zu lernen und zu arbeiten, und natürlich zu promovieren.

Frau Prof. Dr. Heidrun Potschka danke ich für ihre Hilfestellung in pharmakologischen Fragen.

Den kooperierenden Tierärzten Dr. Marion Kornberg aus Trier, Dr. Florian König aus Wiesbaden, Prof. Dr. Andrea Tipold mit Dr. Liza Ahrend und Dr. Felix Gesell aus Hannover danke ich für die Überlassung von Patienten.

Besonderer Dank geht an Dr. Velia Hülsmeyer und Dr. Katrin Putschbach für ihre Unterstützung und Freundschaft.