

AUTORADIOGRAPHISCHE EXPERIMENTE AN RATTENHIRNSCHNITTEN MIT DEM RADIOLIGANDEN [¹⁸F]DDIC1

A. Bauman¹, F. Debus³, M. Piel¹, S. Höhnemann¹, M. Jansen⁵, G. Dannhardt², H. Lüddens³, F. Rösch¹

¹Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität, Fritz-Strassmann-Weg 2, 55128 Mainz

²Institut für Pharmazie, Johannes Gutenberg-Universität, Staudingerweg 5, 55128 Mainz

³Psychiatrische Klinik und Poliklinik, Johannes Gutenberg-Universität, Untere Zahlbacher Str. 8, 55131 Mainz

⁵Department of Physiology & Biophysics, Albert Einstein College of Medicine, Yeshiva University, New York, USA

Um den Einfluss der Blut-Hirn-Schranke auszuschließen und um die Verteilung des NMDA-Rezeptors in diskreten Hirnarealen nachzuweisen, wurden autoradiographische Versuche mit dem Radioliganden [¹⁸F]DDIC1 (IC₅₀= 81 nm, logP= 2,07) an Hirnschnitten ausgewachsener, gesunder, männlicher Sprague-Dawley Ratten durchgeführt. Die gesunden Tiere wurden dekapitiert, die Gehirne sofort entnommen, in gekörntem Trockeneis eingefroren und bis zur Bearbeitung bei -80°C gelagert. Die Gehirne wurden seriell koronar (10 µm) mit einem Kryostat (Leica, Jung CM3000) bei -15°C geschnitten, direkt auf Objektträger aufgezogen und bei -80°C aufbewahrt.

Die Schnitte, welche zuvor mit einer hydrophoben Markierung (PAP Pen) umrandet worden sind, wurden auf einer mit Eis gefüllten Kristallierschale in Inkubationspuffer Tris-HCl + 120 mM NaCl (pH 7,5) für 20 min vorinkubiert. 125 µL des Radioliganden (680 kBq / 0,8 mL Puffer) wurden mit 125 µL Puffer verdünnt, auf die Hirnschnitte pipettiert und bei +4°C für 60 min inkubiert. Für die Verdrängungsexperimente wurden die endogenen Liganden Glycin und Kynurensäure verwendet, welche als 200 µM Glycin- bzw. 20 µM Kynurensäurelösung (125 µL) an Stelle der Pufferlösung zum Verdünnen der Radioligandlösung verwendet wurden. Die Schnitte wurden jeweils für 15 sec mit eiskaltem Inkubationspuffer gespült und kurz in destilliertes Wasser getaucht. Die Schnitte wurden für 20 sec vorsichtig trocken gefönt und anschließend auf einem Amersham General Purpose Phosphor Screen (Storm) bei RT für 17,5 h exponiert und ausgelesen. Die Auswertung der Bilddaten erfolgte mit ImageQuant (Molecular Dynamics, Version 5,2)

Die in Abbildung 1 dargestellte Gesamtbindung des Radioliganden zeigt Areale hoher Anreicherung im Cortex, den Thalamuskernen und im Cerebellum. Im NMDA-reichen Hippocampus wurden allerdings nur geringe Bindungsanteile vorgefunden.

Zur Deutung des Resultats gilt zu bedenken, dass der NMDA-Rezeptor einen heteromeren Komplex, zusammengesetzt aus NR1- und NR2-Untereinheiten, darstellt und die synthetisierte Verbindung zur Klasse der Liganden der Glycin-Bindungsstelle zählt. Durch das ubiquitäre Vorhandensein der NR1-Untereinheit, welche die Glycin-Bindungsstelle trägt und für einen funktionstüchtigen Rezeptor notwendig ist, kann man damit sehr schwer eine definierte Aussage über Subtypspezifische Verteilungen treffen.

Man kann jedoch erkennen, dass die Areale verstärkter Anreicherung (Cortex und Cerebellum) jene sind, die eine hohe Dichte der häufig vorkommenden Untereinheiten NR2 A bzw. NR2 B aufweisen, was im Einklang mit

Literaturdaten zur Rezeptorverteilung der einzelnen Untereinheiten im Gehirn von Nagetieren steht [1].

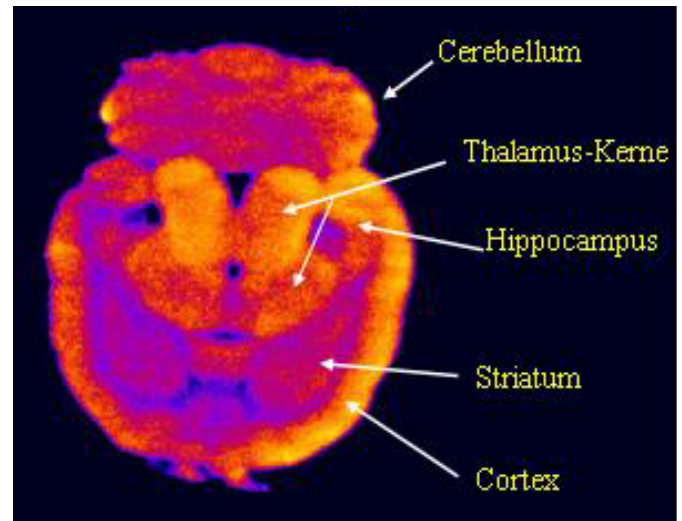


Abb. 1: Anreicherung von [¹⁸F]DDIC1 im Rattenhirn (Gesamtbindung)

Um den Anteil der spezifischen Bindung zu bestimmen, wurden Verdrängungsexperimente mit den endogenen Liganden Glycin und Glutamat durchgeführt. Diese resultierten in einer nur geringen spezifischen Bindung des Radioliganden [¹⁸F]DDIC1, trotz sehr guter *in vitro*-Daten [2,3].

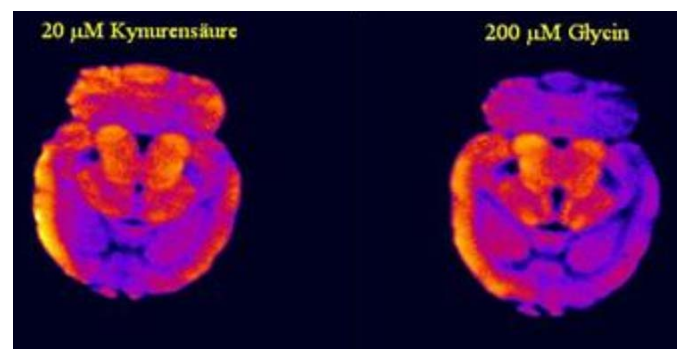


Abb. 2: Verdrängungsexperiment mit den endogenen Liganden Kynurensäure (20 µM) und Glycin (200 µM)

1. D. J. Goebbel, M. S. Poesch, Mol. Brain. Res. 69, 164-170 (1999)
2. Bauman, A. et al.; Statusreport IAk PET, 2004
3. Bauman, A. et al.; Statusreport IAk PET, 2005