

**¹⁸F-Fluoracetat als potentieller Tracer zur Diagnostik des Prostatakarzinoms mittels
Positronenemissionstomographie (PET)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich- Wilhelms- Universität
Bonn

Eva-Maria Ullrich
Bad Honnef

2006

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD. Dr. rer. nat. Stefan Guhlke
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Düsing

Tag der Mündlichen Prüfung: 23.10.2006

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hssulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Bonn,
Rheinische Friedrich- Wilhelms- Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Biersack

*Meiner mich immer bedingungslos
unterstützenden Familie*

INHALTSVERZEICHNIS

<u>1</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>8</u>
1.1	Einführung in die Nuklearmedizin	8
1.2	Die Bedeutung der PET Diagnostik in der Nuklearmedizin	9
1.2.1	Grundlagen zur Funktion der PET	9
1.2.2	Substanzen und Einsatzgebiete der PET	11
1.3	Zur Produktion von Fluor-18	14
1.4	PET Diagnostik in der Urologie	15
1.5	Das Prostatakarzinom	20
1.6	¹⁸ F-Fluoracetat als möglicher Tracer für das Prostatakarzinom	22
1.7	Zur Biochemie und Toxizität von Fluoracetat	23
1.8	Problemstellung	29
<u>2</u>	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	<u>30</u>
2.1	Synthese von ¹⁸ F-Fluoracetat	30
2.2	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	31
2.3	UV-Spektroskopie	32
2.4	Die Flüssigkeitsszintillationsmethode	32
2.5	Zellkultur	33
2.5.1	Charakterisierung der Zelllinien	33
2.5.1.1	BPH-1	33
2.5.1.2	DU-145	34
2.5.1.3	LNCaP	35
2.5.1.4	PC-3	36
2.5.2	Zusammensetzung der Medien und Zusätze	36
2.5.3	Kultivierung und Umsetzung	40
2.5.4	Einfrieren und Auftauen	41

2.5.5	Zellzahlbestimmung	42
2.6	Aufbau und Durchführung der Zellversuche zur Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat im Vergleich zu ^{18}F -Fluordeoxyglukose	42
2.7	Aufbau und Durchführung der Tierversuche	43
2.8	Optimierung der Tumorzellzahl	44
3	<u>ERGEBNISSE</u>	46
3.1	Qualitätskontrolle des hergestellten ^{18}F -Fluoracetat	46
3.2	Bestimmung der spezifischen Aktivität von Fluoracetat	48
3.3	Ergebnisse der Zellversuche zur Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat im Vergleich zu ^{18}F -Fluordeoxyglukose	52
3.4	Optimierung der Tumorzellzahl	54
3.5	Ergebnisse der Tierversuche	56
3.5.1	Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in Tumortragenden Mäusen mit verschiedenen humanen Zelllinien des Prostatakarzinoms	56
3.5.1.1	Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in PC-3 Tumortragenden Mäusen	56
3.5.1.2	Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen	58
3.5.1.3	Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in LNCaP Tumortragenden Mäusen	60
3.5.1.4	Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in BPH-1 Tumortragenden Mäusen	61
3.5.2	Zusammenfassender Vergleich der Kinetik und Biodistribution aller untersuchten Zelllinien	64
3.5.3	Vergleich von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat in einem duallabeling Experiment mit Tumortragenden Mäusen der Zelllinien PC-3 und DU-145	66

3.5.3.1	^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat Aufnahme bei PC-3 Mäusen	66
3.5.3.2	^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat Aufnahme bei DU-145 Mäusen	70
3.5.3.3	Zusammenfassender Vergleich der Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat Aufnahme bei PC-3 und DU-145 Mäusen	73
3.5.4	Fallbeispiele von Mäusen mit PET Imaging	77
3.5.5	Fallbeispiele von Patienten	81
<u>4</u>	<u>DISKUSSION</u>	<u>84</u>
4.1	Methodenkritik	84
4.1.1	Auswahl und Applikation des Radiopharmakon	84
4.2	Diskussion der Ergebnisse	85
4.2.1	Zellversuche	85
4.2.2	Tierversuche und Fallbeispiele	86
<u>5</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>94</u>
<u>6</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>96</u>

1. Einleitung

1.1 Einführung in die Nuklearmedizin

Die Nuklearmedizin ist eine relativ junge medizinische Disziplin, die sich mit der diagnostischen und therapeutischen Anwendung offener, meist kurzlebiger Radionuklide befasst.

Die zahlreichen Verfahren der Nuklearmedizin basieren auf der von Georg de Hevesy eingeführten Indikator-technik, bei der in Molekülen stabile Elemente durch ihre radioaktiven Isotope ersetzt werden.

Georg de Hevesy (geb. 1. August 1885 in Budapest, gest. 5. Juli 1966 in Freiburg im Breisgau), ein ungarischer Chemiker, wollte mit der ersten Anwendung der Radioaktivität ein kulinarisches Problem lösen. Er arbeitete in London und wohnte bei einer Vermieterin mit Vollpension, bei der es regelmäßig sonntags ihre Spezialität gab: Meatpudding. De Hevesy beschlich der Verdacht, dass die Reste vom Sonntag in der darauf folgenden Woche wiederverwertet wurden. Um dies zu beweisen, mischte er eine kleine Menge eines radioaktiven Isotops unter die Essenreste. Das Isotop wurde nur in geringer Menge eingesetzt und war außerdem geruchs-, farb- und geschmacklos. In der Mitte der folgenden Woche bestätigte sich sein Verdacht, da er Radioaktivität nachweisen konnte. Er ließ es sich nicht nehmen dies sogleich seiner Vermieterin zu demonstrieren, die ihn umgehend auf die Strasse setzte.

Hevesy erhielt 1943 den Nobelpreis für Chemie für seine Arbeiten über „die Anwendung der Isotope als Indikatoren bei der Erforschung chemischer Prozesse“.

Die von Georg de Hevesy angewandete Methode wurde später als „Tracermethode“ bezeichnet. Eine sehr geringe, gesundheitlich unbedenkliche Menge eines radioaktiv markierten Stoffes, dessen Verteilung und Weg man von außen verfolgen kann, gibt Auskunft über Stoffwechselfunktionen des Körpers. Diese Markierungsform nutzt das chemisch gleiche Verhalten der Isotope eines Elements aus. Strahlungsmessgeräte können dann die Aktivitätsverteilung markierter Verbindungen in vivo (in der Natur, am lebenden Objekt) und/oder in vitro (im Reagenzglas) registrieren und zur qualitativen oder quantitativen Analyse von Stoffwechsel- und Kreislaufprozessen eingesetzt werden.

Die sehr spezifische Anreicherung in den einzelnen Organen ermöglicht eine empfindliche Funktionsdiagnostik nahezu aller Organe. Bei vielen Erkrankungen ist nämlich die Funktion eines Organs gestört, obwohl dessen Morphologie keine Auffälligkeiten aufweist.

Einerseits unterscheidet man in der nuklearmedizinischen Diagnostik Messungen, bei denen ein im Inneren des Körpers befindliches Radiopharmakon an der Körperoberfläche registriert wird (z.B. Szintigraphie, Radiojodtest), andererseits Messungen, bei denen Proben von Körperausscheidungen oder entnommenen Blutproben im Labor gemessen werden (z.B. In-vitro-Diagnostik, Nierenclearance).

Bei der nuklearmedizinischen Therapie wird das eingesetzte Radiopharmakon auf Grund spezifischer Stoffwechselfvorgänge im zu bestrahlenden Gewebe selektiv angereichert (z.B. ^{131}I zur Strahlentherapie bei Schilddrüsenerkrankungen, ^{153}Sm zur Schmerztherapie).

Die Nuklearmedizin ist nicht nur eine medizinische, sondern auch eine physikalisch-technische Disziplin, die die Zusammenarbeit von Nuklearmedizinern, medizinisch-technischen Assistenten, Radiochemikern, Biochemikern, Medizinphysikern, Elektronikern und Informatikern bei der Durchführung der Untersuchungen, aber auch bei der Entwicklung neuer Methoden erfordert.

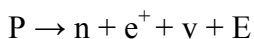
1.2 Die Bedeutung der PET Diagnostik in der Nuklearmedizin

1.2.1 Grundlagen zur Funktion der PET

Die Positronenemissionstomographie (PET) ist ein rechnergestütztes Schichtaufnahmeverfahren der Szintigraphie, bei der die Strahlung der inkorporierten Radionuklide (Positronenstrahlern) mit Hilfe von Ringdetektoren bzw. einer Gammakamera (Koinzidenz-Messung) gemessen werden und zur Berechnung von Schnittbildern der zu untersuchenden Organe dienen.

Für die Anwendung in der Positronenemissionstomographie (PET) werden Isotope verwendet, die unter Aussendung eines Betaplusteilchens (β^+), also eines Positrons zerfallen. Diese Art von Radioisotopen bezeichnet man als Positronenstrahler.

Wenn ein Kern weniger Neutronen als für seine Stabilität notwendig sind besitzt, wandelt sich ein Proton in ein Neutron, ein Positron und in ein Neutrino um.



Beim β^+ - Zerfall nimmt die Ordnungszahl um 1 ab, die Massenzahl des Kerns bleibt dabei aber unverändert.

Positronen sind die Antiteilchen der Elektronen ($e = -1,602 \times 10^{-19}$ Coulomb), sie haben eine identische Masse ($m_e = 9,1093897 \times 10^{-31}$ kg), sind jedoch entgegengesetzt geladen.

Trifft ein positiv geladenes Positron (Betaplusteilchen, β^+) auf ein negativ geladenes Elektron, welche sich überall in der Materie befinden, kommt es zu einer so genannten Vernichtungsstrahlung, einer Umsetzung der Materie in eine Gammastrahlung, die aus zwei identischen Strahlungen mit je 511keV besteht und fast exakt in 180° Grad entgegengesetzter Richtung mit hoher Geschwindigkeit durch das Gewebe strahlt. Dieser Vorgang wird auch als Annihilation bezeichnet und ist Grundlage der PET-Diagnostik (Lange, 2001; Schicha et al., 2000). Bei der Aufnahme mit einer PET-Kamera wird dem Patienten ein β^+ -strahlendes Isotop injiziert welches dann, in der Region des Körpers die von Interesse ist, zerstrahlt. Die Gammakamera registriert die beiden Gammastrahlen nur dann, wenn sie in einem Winkel von 180° Grad zueinander innerhalb eines extrem kleinen Zeitfensters detektiert werden (Koinzidenzschaltung). Die Gammakamera besteht aus einem Hochleistungsrechner und einem Detektorring, welcher aus 12.000 Wismutgermanat-Detektoren, die ringförmig um den Patienten angelegt sind, besteht. Diese Detektoren aus Szintillatorkristallen und Photomultipliern werden auch Koinzidenzdetektoren genannt, da sie exakt dann ansprechen, wenn sie in genau 180° Grad zwei 511keV Quanten gleichzeitig registrieren. Diese Ereignisse werden in elektrische Signale umgewandelt, um dann -computergestützt- zu farblich kodierten Schnittbildern der jeweiligen Detektorebene mit Hilfe des tomographischen Algorithmus berechnet zu werden. Ein Kristall besitzt dabei die Größe von 4mm x 8mm x 30mm. Die gesamte Breite des Ringes besteht aus mehreren Kristallen nebeneinander und beträgt insgesamt 15,3cm. Die vom Patienten ausgesandten Gammastrahlen werden durch diese Kristalle registriert und dem angeschlossenen Rechner zugeführt. Mit Hilfe der PET können nicht nur Querschnittsbilder erstellt werden, sondern auch Stoffwechselfvorgänge in bestimmten Regionen qualitativ und quantitativ dargestellt werden.

Die PET ist dabei das einzige bildgebende Verfahren, das biologische Vorgänge quantitativ und nicht-invasiv darstellen kann.

Wie in Weiss und Hahn (2000) beschrieben, ist der besondere Vorteil der PET, dass man Gewebe unter physiologischen und biochemischen Aspekten, durch Markierung organischer Verbindungen untersuchen kann, ohne invasive Verfahren anwenden zu müssen.

Die zur Diagnostik verwendeten radioaktiven Substanzen greifen auf Grund ihrer extrem kleinen Menge (submolarer Bereich) nicht in Stoffwechsel-Gleichgewichte ein und entfalten daher auch in aller Regel keine dynamische Wirkung.

Die PET erlaubt also eine dreidimensionale Darstellung der regionalen Gewebefunktion und deren absolute Quantifizierung durch die Kombination und den Vergleich mit Modellen, die eine Beschreibung der im Organismus ablaufenden Prozesse ermöglicht.

Ein weiterer Vorteil der PET besteht darin, dass die PET-Diagnostik beim Metastasen-Screening einen zeitlichen Vorsprung von bis zu mehreren Monaten im Vergleich zu anderen radiologischen Verfahren aufweist (Damian et al., 1996).

Da β^+ -strahlende Isotope nur verhältnismäßig kurze Halbwertszeiten haben und sie auch nicht Teil einer der Zerfallsreihen sind, kommen sie in der Natur nicht vor. Sie müssen daher über Kernreaktionen künstlich z.B. in einem Zyklotron erzeugt werden.

Die Funktionsweise des Zyklotrons wird anhand des Beispiels von Fluorid im Kapitel 5.6 genauer erklärt.

1.2.2 Substanzen und Einsatzgebiete der PET

Die Positronenemissionstomographie ermöglicht eine genauere Diagnose bei der Diagnostik, dem Staging und der Therapieplanung von Erkrankungen und gesundheitlichen Störungen, da hierbei die Beobachtung physiologischer und biochemischer Vorgänge möglich wird. Die PET wird zum präoperativen Staging von malignen Tumoren verwendet und macht eine Unterscheidung zwischen benignen und malignen Erkrankungen sowie nach Blessing et al. (1995) die Differenzierung zwischen Narbe und vitalem Gewebe, auch vitalem Tumorgewebe, möglich.

Außerdem wird die PET in der Rezidivkontrolle und in der Therapieverlaufskontrolle eingesetzt (Damian et al., 1996).

Die PET-Diagnostik wird aber nicht nur zur Tumordiagnostik und zum Tumorstaging eingesetzt, sondern auch zur Messung der Stoffwechsellleistungen verschiedener Organe.

Die Hirn-PET erlaubt eine Messung der Perfusion (Durchblutung) im Gehirn und ist indiziert zur Diagnose von Hirnerkrankungen wie Alzheimer, Parkinson und Epilepsie, sowie bei einem Trauma, Hirninfarkt und anderen demenziellen Erkrankungen sowie Enzephalitis.

Nach Biersack et al., 2001 bietet die PET neben der höheren räumlichen Auflösung und Quantifizierbarkeit der gemessenen Parameter gegenüber der SPECT den Vorteil, dass nicht nur die Durchblutung, die in der "subakuten" Phase des Schlaganfalls sehr variabel verändert sein kann, sondern u.a. auch der regionale Sauerstoffverbrauch und die lokale Glukoseutilisation gemessen werden kann.

Untersucht wird mit ^{18}F -FDG (Fluorodeoxyglukose), einem radioaktiv markierten Zucker. Vor Gabe des FDG wird ein venöser Zugang gelegt und der Blutzucker bestimmt. Der Blutzucker sollte nicht über 120mg/dl liegen. Appliziert wird auf der Untersuchungsliege, während der Patient schon liegt. 30 Minuten nach Applikation wird die Messung gestartet, welche über 20 Minuten läuft.

Das Myokard-PET wird zur Darstellung der Vitalität und Perfusion des Herzmuskels durchgeführt, unter anderem bei Zustand nach Herzinfarkt.

Durch die PET ist eine Quantifizierung von Stoffwechsel und Perfusion des Myokards möglich. Im Gegensatz zum gesunden Myokard verarbeitet ein ischämisches Herz mehr Glukose. Auf diese Weise kann eine Quantifizierung des Glukoseumsatzes zur Diagnose pathologischer Prozesse herangezogen werden, so dass eine Differentialdiagnostik zwischen stummer Ischämie, Infarktnekrose und Hybernating Myokard (Myokard, welches seine Funktion wieder aufnehmen kann) möglich ist. Die PET-Untersuchung liefert mit dieser Diagnostik die Grundlage für eine weitere Therapie.

Die folgende Tabelle 1 gibt einen Überblick über die am häufigsten verwendeten Isotope, wobei darauf hingewiesen werden soll, dass Fluor-18 zur Diagnostik nicht nur eine sehr geeignete Halbwertszeit aufweist, sondern auch wegen der niedrigsten β^+ Energie zur besten Ortsauflösung unter den gelisteten Isotopen führt.

<u>Isotop</u>	<u>Zerfall über</u>	<u>Halbwertszeit</u>	<u>Energie des abgestrahlten Teilchens in MeV</u>
Kohlenstoff ^{11}C	β^+ - Zerfall	20,38 Minuten	1,2
Fluor ^{18}F	β^+ - Zerfall	109,7 Minuten	0,6
Stickstoff ^{13}N	β^+ - Zerfall	10,10 Minuten	1,2
Sauerstoff ^{15}O	β^+ - Zerfall	02,03 Minuten	1,8

Tabelle 1: Isotopenübersicht zur Markierung von PET-Radiopharmaka.

Die Tabelle 2 zeigt eine Aufreihung der wichtigsten PET-Radiopharmaka und ihre Anwendungsgebiete.

Radiopharmaka	Hauptanwendung
1-[¹¹ C]-Acetat	Myokardialer Sauerstoffverbrauch
methyl-[¹¹ C]-Flumazenil	Benzodiazepinrezeptoren: Dichte und Funktion
[¹³ N]-Ammoniak	Myokardperfusion
[¹⁵ O]-Wasser	Perfusion
[¹⁸ F]-Fluorid	Knochenstoffwechsel
2-[¹⁸ F]-Fluor-2-deoxy-D-Glukose (¹⁸ F-FDG)	Glukosetransport und -phosphorylierung
[¹⁸ F]-FMISO	Sauerstoffmangel (Hypoxie)
[¹⁸ F]-6-Fluoro-DOPA	Präsynaptischer Dopamin-Pool
Ga-68 DOTA-Tyrosinocetotid	Neuroendokrine-Tumore (Onkologie)

Tabelle 2: wichtige Radiopharmaka und deren Verwendung nach Brandau et al., (2001).

1.3 Zur Produktion von Fluor-18

Die Produktion von Fluor-18 findet zumeist in Zyklotronen statt. Prinzipiell sind auch Linearbeschleuniger geeignet, jedoch ist die Ausbeute in Zyklotronen deutlich höher.

Das Zyklotron ist eine Apparatur, die zu den Teilchenbeschleunigern gehört und zur Beschleunigung von Protonen und anderen geladenen Teilchen auf große Geschwindigkeiten verwendet wird. Bei der Weiterentwicklung der Linearbeschleuniger sollten Teilchen auf immer größere Energien beschleunigt werden, so dass die Beschleunigungsstrecken immer länger wurden. Daher lenkte man die Teilchen auf eine Kreisbahn, um so die verwendete Beschleunigungsstrecke immer wieder durchlaufen zu können.

Ernest Orlando Lawrence schlug das Prinzip des Kreisbeschleunigers erstmals 1930 vor und baute Ende 1930 das erste Zyklotron. Ein Zyklotron besteht aus zwei Dipolmagneten, zwischen denen sich zwei D-förmige Elektroden (Dee), eine Ionenquelle und ein Deflektor befinden.

Die Dipolmagnete erzeugen ein möglichst homogenes Magnetfeld (ca. 2Tesla). Im Spalt zwischen den Magneten (in der Mitte des Zyklotrons) befindet sich die Ionenquelle, hier werden die zu beschleunigenden Teilchen erzeugt. Zyklotronnuklide sind meist neutronendefiziente Isotope, welche durch Beschuss von stabilen Targetnukliden mit geladenen Teilchen erzeugt werden. Diese geladenen Teilchen sind z.B. Protonen, Deuteronen sowie Heliumkerne (α -Teilchen).

Die wichtigsten Kernreaktionen, die zur Erzeugung von Fluor-18 führen sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Target	Kernreaktion	Targetproduktion
H_2^{18}O	$^{18}\text{O} (\text{p},\text{n}) ^{18}\text{F}$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{-F}^- \text{ ap}$
H_2^{16}O	$^{16}\text{O} (^3\text{He},\text{p}) ^{18}\text{F}$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{-F}^- \text{ ap}$
^{20}Ne (0,1-0,2% F_2) 18bar	$^{20}\text{Ne} (\text{d},\alpha) ^{18}\text{F}$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{-F}_2$
$^{18}\text{O}_2$, Kr (1% F_2) 20bar	$^{18}\text{O} (\text{p},\text{n}) ^{18}\text{F}$	$[\text{}^{18}\text{F}]\text{-F}_2$

Tabelle 3: Die wichtigsten ^{18}F -Produktionsprozesse am Zyklotron.

Wie in der Tabelle 3 gezeigt wird, kann sowohl [^{18}F]-Fluorid ($^{18}\text{F}^-$) als auch [^{18}F]-Fluor ([^{18}F]- F_2) im Target über die aufgezeigten Kernreaktionen hergestellt werden.

Zur Herstellung von Fluor-18 als Fluorid-Ion in wässriger Lösung verwendet man meist die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion, da hier im Gegensatz zu der $^{16}\text{O}(\text{}^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion eine hohe Ausbeute schon bei relativ geringer Protonenenergie (11 MeV) erzielt werden kann. Die Ausbeute kann durch die Anreicherung des ^{18}O auf >98% im Targetwasser maximiert werden, so dass Aktivitäten von >150 GBq erreicht werden. Das erzeugte [^{18}F]-Fluorid wird nach der Bestrahlung meist an einen Anionentauscher gebunden, so dass das [^{18}O]-Wasser separiert wird. Dieses Verfahren ermöglicht die Rückgewinnung des angereicherten [^{18}O]-Wassers, welches aufgrund der relativ hohen Kosten von Nutzen ist. Nach photochemischer und destillativer Reinigung kann dieses erneut als Targetwasser genutzt werden. Die Herstellung von [^{18}F]-Fluor in Form von [^{18}F]- F_2 findet über die Deuteronenbestrahlung von Neon $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ oder über die Protonenbestrahlung von [^{18}O]-Sauerstoff $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ in Gegenwart von stabilem F_2 statt. Hierbei erhält man wegen des notwendigen Zusatzes von F_2 zum Target geringe spezifische Aktivitäten. Somit sind auch nur trägerhaltige Zielverbindungen erhältlich und zudem sind die Ausbeuten bei Reaktionen unter Verwendung von $^{18}\text{F}-\text{F}_2$ (ein Fluor-Molekül (F_2) enthält nur ein radioaktives Teilchen) auf maximal 50% beschränkt.

1.4 PET Diagnostik in der Urologie

Die Positronenemissionstomographie kann in der Urologie, vor allem beim Tumor-Staging, Verwendung finden (Bomanji et al., 2001).

Maligne Tumore werden je nach Stadium, in dem sie sich befinden, anhand der TNM-Klassifikation therapiert (Bachor et al., 1995). Die TNM-Klassifikation ist eine von der UICC (Union internationale contre le cancer) vorgeschlagene Stadieneinteilung von malignen Tumoren. T (Tumor) beschreibt die Primärtumorausbreitung, N (Nodus) das Vorhandensein oder Fehlen von (juxta-) regionären Lymphknotenmetastasen und M (Metastase) das von Fernmetastasen. Um eine adäquate Therapie zu gewährleisten muss das TNM-Stadium exakt erfasst werden (Yu und Hawkins, 2000). Darin liegt das Ziel der Diagnostik durch nichtinvasive Methoden das Tumorstadium zu bestimmen (Bachor et al., 1995, 1996, 1999; Lantz und Hattery, 1984). Nach Bachor et al. (1995) weisen alle Verfahren zur Diagnostik urologischer Tumore, wie die Sonographie, das i.v.-Pyelogramm, die CT und MRT, die Lymph- und Angiographie, das

Röntgen und die Skelettszintigraphie Mängel auf, so dass manchmal erst durch eine Probelaparotomie die endgültige Festlegung des Tumorstadiums möglich ist (Yu und Hricak, 2000; Kurhanewicz et al., 1996; Kurhanewicz et al., 2000; Nudell et al., 2000). Auch Garnick und Fair (1998) haben festgestellt, dass die exakte Bestimmung des initialen Tumorstaging mit oft kontroversen bildgebenden Ergebnissen von Sonographie und CT verbunden ist. CT und MRT sind aufgrund ihrer geringen Sensitivität limitiert (Kotzerke et al., 2002a, 2002b). Dennoch scheint das CT laut Seltzer et al. (1999) sinnvoll in der Entdeckung von vorhandenen Lymphknoten Metastasen bei Patienten mit negativem Knochenscan und PSA Level > 4ng/ml. An sich ist ein früher Lymphknotenbefall sehr schwer bildgebend darzustellen (Trapasso et al., 1994). Goldstandard in dieser Beziehung ist die Lymphknotendisektion entweder durch eine offene Operation oder laparoskopisch (Kotzerke et al., 2002a). Da das Prostatakarzinom ein sehr häufiger Tumor ist, eine ansteigende Inzidenz besitzt und früh metastasiert, versucht man die Diagnostik zu verbessern (Garnick und Fair, 1989; Greenlee et al., 2001; Britton et al., 2000; Brush, 2001; Yeh et al., 1996). Folglich sucht man eine alternative, nicht invasive Methode zum Tumorstaging. Die Vorteile der PET liegen wie erwähnt darin, dass es ein nicht invasives Verfahren darstellt (Strauss und Conti, 1991; Weber et al., 1999). Es kann zur Therapiekontrolle, bei der das Proliferationsverhalten der Tumoren nach einer Chemo- Strahlen- oder Zytostatikatherapie verfolgt werden kann, und zur Diagnostik eingesetzt werden (Bachor et al., 1995; Glaspy et al., 1993). Durch die Untersuchung des Metabolismus wird es möglich Mikrometastasen in nicht vergrößerten Lymphknoten zu diagnostizieren. Weiterhin kann man zwischen Restgewebe und noch aktivem Tumor, sowie zwischen Narbe und Nekrose unterscheiden (Schlag et al., 1989; Biersack et al., 2000). Außerdem kann aufgrund der minimalen Strahlenbelastung der meist sehr kurzlebigen Radionuklide die Untersuchung im Rahmen der Verlaufskontrolle in kurzen Abständen wiederholt werden (Gardner, 1992; Maisey und Jeffery, 1991; Wilson, 1992).

Bezüglich der urologischen Tumordiagnostik hat sich gezeigt, dass die PET in den von Bachor et al. (1995) durchgeführten Untersuchungen mit ^{18}F -FDG beim Harnblasenkarzinom eine Spezifität von 80%, beim Lymphknotenstaging von 86% und beim Nierenzellkarzinom sogar eine Spezifität von 88,9% aufwies (Kosuda et al., 1997). Ho et al. (2003) beschreiben allerdings, dass ^{18}F -FDG eine hohe Rate falsch negativer Befunde von 40-50% beim Hepatozellulären Karzinom (HCC) aufweist (Lomena et al., 2001).

Beim Prostatakarzinom hat sich nach Effert et al. (1996) ^{18}F -FDG als nicht effektiv zur Detektion des Primärtumors oder von Metastasen dargestellt (Liu et al., 2001). Außerdem konnte es nicht zwischen einer Hyperplasie und einem Karzinom differenzieren. Laut Seltzer et al. (1999) scheint es aber diesbezüglich vergleichbare Ergebnisse wie das CT zu liefern. Bei Oyen et al. (2001), die verschiedene nuklearmedizinische Techniken wie $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Knochenszintigraphie mit Diphosphonaten, monoklonale Antikörper, die sich direkt gegen das prostataspezifische Antigen (PSA) richteten, SPECT (single photon emission computed tomography) und die PET verglichen haben, zeigten sich für ^{18}F -FDG bei der Erkennung des Prostatakarzinoms nur enttäuschende Ergebnisse. Die Glukoseaufnahme der Prostatazellen ist gegenüber Normalgewebe nicht signifikant genug gesteigert.

Die ^{18}F -FDG Aufnahme ins Prostatagewebe ist gering (Shvarts et al., 2002) und man kann nach Effert et al. (1996); Hofer et al. (1999) und Hara et al. (1998) nicht zwischen der BPH und dem Prostatakarzinom unterscheiden. Im Gegensatz beschreibt Seltzer et al. (1999), dass man in 50% der Fälle, bei denen ein hoher PSA-Wert oder ein Anstieg des PSA-Wertes gefunden wurde, eine etwa vergleichbare Effektivität der PET wie mit CT vorgefunden hat.

^{18}F -Cholin, ein anderer onkologischer Tracer, wird in die Zellen durch Phosphorylcholine-Synthese eingebracht und in die Phospholipide der Zellwand eingebaut (DeGrado et al., 2001; 2002; Jonson und Welch, 2002; Tronchere et al., 1994).

Hara et al. (1997, 1998) und De Jong et al. (2002) sowie Kotzerke et al. (2000) haben ^{11}C -Cholin eingeführt und festgestellt, dass es einen potentieller Tracer zur Lokalisation von Primärtumoren darstellt. Der limitierende Faktor von ^{11}C -Cholin ist, dass es eine Halbwertszeit von nur 20 Minuten aufweist und daher nur begrenzt verwendet werden kann. Picchino et al. (2002) zeigten jedoch, dass ^{11}C -Cholin gute Ergebnisse bei der Lokalisation von Knochenmetastasen aufwies, die weder die $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Bisphosphonat-Szintigraphie noch das ^{18}F -FDG PET Knochenmetastasen anzeigten. Sie kommen daher, wie auch Kobori et al. (1998); Macapinlac et al. (1999) und Zeisel, (1981) zu dem Schluss, dass ^{11}C -Cholin ein viel versprechender Tracer in der PET Diagnostik des Prostatakarzinoms sei. Als weitere möglicher Tracer in der urologischen Onkologie wurde auch ^{11}C -Acetat untersucht (Oyama et al., 2003; Dimitrakopoulou-Strauss und Strauss, 2003; Dienel et al., 2001; Kato et al., 2002). ^{11}C -Acetat ist ein Substrat der β -Oxidation und biologischer Vorbote von Aminosäuren und Sterol (Liu, 2000; Kotzerke et al., 2000, 2003; Delbeke und Pinson, 2003; Kreuzig, 2000; Löffler 2003; Knust et al., 1979). Shreve et al. (1990, 1996) haben festgestellt, dass es schwierig ist zwischen der normalen Aktivität, die über die Blase

ausgeschieden wird und der tatsächlichen Anreicherung im Prostatagewebe zu differenzieren. Laut Shreve et al. (1995) und Kotzerke et al. (2002b) wurde eine urinaire Ausscheidung von ^{11}C -Acetat nicht beobachtet. Eine Studie von Yeh et al. (1996, 1999) hat ergeben, dass ^{11}C -Acetat eine hohe Sensitivität und eine hohe Spezifität aufweist, wenn Lymphknoten betroffen sind, so dass eine hormonelle Therapie indiziert war, anstelle von einer lokalen Bestrahlung. Bei einem Vergleich von ^{11}C -Acetate and ^{11}C -Choline PET zur Darstellung des Prostatakarzinoms zeigte sich (Kotzerke et al., 2003), ein hoher ^{11}C -Choline-Uptake in Leber und Nierenparenchym, jedoch variierte der Uptake individuell stark. Beide Tracer stellten sich gleich stark im Nachweis von Skelettläsionen, Lymphknotenmetastasen und Primärtumoren da. Beide versagten jedoch beim Nachweis eines kleinen Lokalrezidivs bei zwei Patienten, sowie bei der Detektion eines histologisch verifizierten Lymphknotenbefalls bei einem weiteren Patienten. Schlussfolgerung dieser Studie war, dass in der Uptake der Radiotracer ^{11}C -Acetate and ^{11}C -Choline beim Prostatakarzinom und seinen Metastasen so weit identisch war, dass keine der beiden Substanzen favorisiert werden konnte. Derzeit können beide Radiotracer die Therapieplanung durch den Nachweis von Lokalrezidiv, Lymphknoten- oder Skelettmetastasen beeinflussen. Ho et al. (2003) machten vergleichende Versuche an Patienten mit Hepatozellulären Karzinom unter Verwendung von ^{18}F -FDG und ^{11}C -Acetat. Hierbei stellten sie fest, dass die Sensitivität von ^{18}F -FDG nur 47,3% betrug, wohingegen die Sensitivität von ^{11}C -Acetat bei 87,3% lag. Interessant hierbei war auch, dass ^{18}F -FDG wenig differenzierte Tumore entdeckt hat, wohingegen mit ^{11}C -Acetat die gut differenzierten Tumore entdeckt wurden. Bei 34% wurde das HCC durch beide Tracer erkannt und die Sensitivität bei beiden Tracern zusammen lag bei 100%.

Jedoch wird auch ^{11}C -Acetat zum Teil über den Urin ausgeschieden und in der Blase sichtbar. Dennoch konnte man zwischen Blase und Prostatakarzinom unterscheiden, da in der Frühphase Tracer-Anreicherung im Tumor, nicht aber in der Blase vorzufinden war (ca. 5-10 Min. nach Verabreichung des Tracers).

In einer in vivo Studie mit ^{14}C -Acetat an Ratten wurde gezeigt, dass es in freies und gebundenes Cholesterol in der ventralen Prostata eingebaut wurde (Carmena et al., 1984; Shreve et al., 1995; Billah und Anthes, 1990). Oyama et al. (1999) berichteten über eine Sensitivität der ^{11}C -Acetat-PET von 100% sowohl für den Lokalbefall als auch für ossäre und Lymphknotenmetastasierung bei einer Patientenpopulation mit stanziobioptisch gesichertem PCA vor Ersttherapie. Zusätzlich war das ^{11}C -Acetat dem ^{18}F -FDG-PET überlegen.

Beim Literaturvergleich kristallisiert sich heraus, dass Tracer mit einer längeren Halbwertszeit praktische Vorteile liefern. Somit versuchten Hara et al. (2002) Substanzen einzuführen, die den Vorteil der längeren Halbwertszeit (109 Minuten) von ^{18}F ausnutzen (Varagolo et al., 2000). ^{18}F -Cholin hat eine höhere urinaire Elimination als ^{11}C -Cholin, was zur Lokalisation des Prostatakarzinoms nicht von Vorteil ist. Sie stellten jedoch fest, dass beide Tracer das Prostatakarzinom gut, durch einen hohen Kontrast gegenüber normalem Gewebe darstellen konnten und Biopsien bestätigten die Bildgebenden Befunde.

Hara et al. (2002) konnten durch Zellversuche mit ^{18}F -Cholin zeigen, dass dieser Tracer durch einen aktiven Transport in die Tumorzelle aufgenommen wird, dort phosphoryliert wird und schließlich in die Phospholipide eingebaut wird.

Sie fanden heraus, dass sich ^{18}F -Cholin und ^{11}C -Cholin ähnlich verhalten, außer dass ^{18}F -Cholin etwas schneller über den Urin ausgeschieden wird. DeGrado et al. (2001b) konnten an Hand von in-vitro Zellversuchen zeigen, dass sich ^{18}F -Cholin gut in PC-3 Zellen anreichert, während Fluorethyl- und Fluorpropylanaloga eine deutlich geringere Aufnahme zeigten.

Zu den Tracern mit dem Vorteil einer längeren Halbwertszeit gehört auch das hier untersuchte ^{18}F -Fluoracetat. In einem Abstract veröffentlichten Oyama et al. (2002b) erste Versuchsergebnisse mit ^{18}F -Fluoracetat. Die Versuche sollten zeigen, ob ^{18}F -Fluoracetat in der Bildgebung des Prostatakarzinoms einsetzbar wäre. Es wurde eine Biodistributiosstudie mit weiblichen Ratten, an den Zeitpunkten 20 Minuten, 1, 2 und 4 Stunden durchgeführt. Außerdem wurde zum Vergleich ein Pavian injiziert und, wie auch die weiblichen Ratten, mittels PET Kamera untersucht. Hierbei zeigte sich, dass nach Injektion von ^{18}F -Fluoracetat bei Ratten die Aktivitätskonzentration im Knochen mit der Zeit zunahm, während dies beim Pavian nicht beobachtet werden konnte. Die Knochenaktivitätszunahme lässt sich unter der Annahme erklären, dass in vivo freies ^{18}F -Fluorid gebildet wird, d.h. ^{18}F -Fluoracetat in-vivo defluoriert wird. Somit scheint eine speziesabhängige Defluorierung vorzuliegen. Hinsichtlich der Tumorlokalisation war festzustellen, dass ^{18}F -Fluoracetat zur Tumorlokalisation mittels PET geeignet sein könnte.

1.5 Das Prostatakarzinom

Das Prostatakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung des Mannes. Rund 19% aller in Deutschland jährlich aufgetretenen Krebserkrankungen bei Männern betreffen die Prostata. Das sind mehr als 30.000 neu entdeckte Prostatakarzinome pro Jahr. Der Häufigkeitsgipfel liegt dabei zwischen dem 70. und 80. Lebensjahr.

Beim Prostatakarzinom handelt es sich um ein Adenokarzinom, welches von den Epithelzellen der peripheren Drüsenanteile ausgeht und im Malignitätsgrad sehr unterschiedlich sein kann. Die Letalität des Prostatakarzinoms ist mit ca. 50% sehr hoch (Sökeland et al., 2002).

Nach Böcking und Riede (1999) unterscheidet man, je nach Klinik, verschiedene Formen wie die PIN (prostatistische intraepitheliale Neoplasie), das latente Prostatakarzinom, das inzidentelle Prostatakarzinom und das okkulte Prostatakarzinom.

Die Ursachen zur Entstehung des Prostatakarzinoms sind bis heute nicht gänzlich geklärt. Mehrere Risikofaktoren werden diskutiert. Als gesichert gilt ein familiäres Risiko, wobei mittlerweile eine Genveränderung auf Chromosom 1 entdeckt wurde, welche wahrscheinlich die Entstehung der Erkrankung begünstigt. Das Risiko ist etwa 2 bis 3-fach erhöht, wenn der Vater oder der Bruder an einem Prostatakarzinom erkrankt sind und besteht dann auch schon in einem früheren Lebensalter. Das Risiko ist sogar 5mal höher, wenn Vater und Bruder betroffen sind. Das Alter spielt ebenfalls eine wichtige Rolle, wobei der Häufigkeitsgipfel zwischen dem 70. und 80. Lebensjahr liegt. Anscheinend spielt auch das Hormon Testosteron eine wichtige Rolle, da Männer, die in jungen Jahren einen Hodenverlust erlitten haben, später nicht an einem Prostatakarzinom erkranken. Weitere Faktoren, die das Krebsrisiko fördern sind fettreiche, faserarme Kost mit viel rohem Fleisch. Das Prostatakarzinom ist im Gegensatz zur benignen Prostatahyperplasie zu 95% im äußeren Anteil der Prostata lokalisiert, wobei alle vier Quadranten etwa gleich häufig betroffen sind. Das Karzinom entsteht oft multizentrisch, das heißt an mehreren Lokalisationen gleichzeitig und breitet sich erst innerhalb der Prostata (intraprostatisch) aus. Zunächst werden die äußeren und mittleren Düsenbereiche befallen, dann erst die inneren, periurethralen Drüsenanteile. Daher kommt es beim Prostatakarzinom erst sehr spät zur Harnwegsobstruktion. Wenn es zur Penetration der Prostatakapsel kommt, breitet sich der Tumor auf die Nachbarorgane aus und es kommt zur Infiltration von Samenblase und Harnblase. Histologisch handelt es sich in 97% aller Prostatakarzinome um Adenokarzinome, die verschiedene Wachstumsmuster ausbilden (Böcking und Riede, 1999). Das Prostatakarzinom

metastasiert zunächst in die regionalen Beckenlymphknoten, später in die juxtaregionären Lymphknoten.

Die Häufigkeit eines Lymphknotenbefalls ist abhängig vom Ausmaß des Tumorbefalls der Prostata, sowie vom Differenzierungsgrad des Tumors. Anlässlich der Obduktion werden in etwa 50% der Fälle Lymphknotenmetastasen und in 40% osteoplastische Skelettmetastasen mit Bevorzugung der unteren Wirbelsäule, des Kreuzbeins und des Beckens gefunden. Hämätogene Fernmetastasen in Leber und Lunge sind seltener.

Das klinische Management des Prostatakarzinoms scheint nach Yu und Hricak (2000) eines der kontroversesten Gebiete der Medizin zu sein, dies da das Prostatakarzinom nicht immer tödlich ist, sondern oftmals klinisch unauffällig bleibt. Bei Autopsien wurde bei 30-46% der über 50-jährigen mikroskopisch ein Prostatakarzinom gefunden. Weniger als 20% haben während ihres Lebens Symptome gezeigt. Ein Hindernis der Früherkennung ist die Unfähigkeit der Differenzierung zwischen klinischen signifikanten und nicht signifikanten Prostatakarzinomen. Erschwerend kommt hinzu, dass das Prostatakarzinom anfangs keine Beschwerden verursacht und nur im Rahmen von Screening-Untersuchungen über einen Bluttest (PSA-Wert) entdeckt werden kann. Wenn das Karzinom rektal tastbar wird, ist es meistens schon fortgeschritten. Im fortgeschrittenen Stadium treten oft uncharakteristische Beschwerden auf (zum Teil auch im Frühstadium). Dies sind in erster Linie Blasenentleerungsstörungen, Knochenschmerzen, Gewichtsverlust und Blutarmut sind. Man geht davon aus, dass neun von zehn Männern mit Beschwerden wie schwacher Harnstrahl, häufiger Harndrang (Pollakisurie) und nächtlicher Blasenentleerung (Nykturie) nur eine gutartige Vergrößerung der Prostata haben, einer jedoch ein Prostatakarzinom. Das Prostatakarzinom ist lediglich im Frühstadium auf Dauer heilbar. Daher ist der Aufruf zur Früherkennung sinnvoll und wichtig (Sökeland et al., 2002).

Bei der Therapie des Prostatakarzinoms werden das Tumorstadium, der Differenzierungsgrad, der Allgemeinzustand und das biologische Alter des Patienten sowie Begleiterkrankungen berücksichtigt.

Bei sehr kleinen Tumoren mit prognostisch günstigem, feingeweblichem Aufbau und ohne Überschreitung der Organgrenze ist unter weiterer Beobachtung ein Aufschub der Behandlung möglich („wait-and-see“).

Für die effektive Behandlung des Prostatakarzinoms stehen mehrere Verfahren zur Verfügung:

- Operation (radikale Prostataektomie = komplette Entfernung der Prostata)

- Seed-Implantation (minimal-invasive Einbringung von radioaktiven ^{125}Jod Strahlern in die Prostata)
- Bestrahlung von außen (externe Radiotherapie)
- Hormontherapie
- Chemotherapie

Die Prognose des Prostatakarzinoms hängt natürlich von der Konstitution des Patienten, von dem feingeweblichen Aufbau und der Ausbreitung des Tumors ab.

Die 5-Jahresüberlebensrate liegt ungefähr bei 74-80%, wenn der Tumor auf die Prostata begrenzt ist, und bei 40%, wenn er bereits gestreut hat.

1.6 ^{18}F -Fluoracetat als möglicher Tracer für das Prostatakarzinom

Wie sich zeigte, scheint ^{11}C -Acetat ein sehr viel versprechendes Radiopharmakon für die onkologische PET Diagnostik besonders für das Prostatakarzinom zu sein.

Shreve et al. (2002) und Hautzel et al. (2002) demonstrierten, dass die zelluläre Anhäufung von radiomarkiertem ^{11}C -Acetat in Prostatazelllinien in-vitro damit zu begründen ist, dass Acetat über Acetyl-CoenzymA in den Krebszyklus eingeschleust wird, und dann eine Umwandlung in Phosphatidylcholine und neutrale Lipide stattfindet, welche in Phospholipide der Zellmembranen eingebaut werden (Yoshimoto et al., 2001; Swinnen und Verhoeven, 1998; Pelech und Vance, 1989; Vogelstein und Kinzler, 1993; Bartlett und Barron, 1947; Brand et al., 1973; Podo, 1999; Shinoda et al., 2000). Im Gegensatz dazu gehen Costello und Franklin (1997) davon aus, dass der Krebszyklus beim Prostatakarzinom eine untergeordnete Rolle spielt, da im Prostatagewebe hohe Konzentrationen von Citrat und Zink gefunden werden. Wahrscheinlich spielt Zink in der Regulation der Aconitase (Schlüsselenzym des Krebszyklus) eine wichtige Rolle (Costello und Franklin, 1991). Die Zinkkonzentration ist in der Prostata höher als in allen anderen Geweben und korreliert mit der Citratkonzentration.

Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass wenn Acetat oder Fluoracetat in Tumorzellen angereichert wird, dies hauptsächlich über den Weg der Lipidsynthese erfolgt. Ein Charakteristikum von Tumorzellen ist, dass ihre Teilungsfähigkeit nicht eingeschränkt wird. Dies bedeutet, dass die Zellen einen stark erhöhten Energieverbrauch aufweisen und dass dieser durch die Fettsäuresynthese gedeckt werden kann.

1.7 Zur Biochemie und Toxizität von Fluoracetat

Fluoracetat ist eine gut untersuchte Substanz, die eine ausgeprägte Toxizität aufweist.

Fluoracetat ist ein hoch toxisches Naturprodukt (Mead und Segal, 1972; Chenoweth, 1949; Peters et al., 1953). Eine Pflanze bekannt unter dem Namen *Dichapetalum cymosum* („Gifblaar“) wurde 1902 in Südafrika als tödlich giftig bekannt (Pattison, 1959).



“Gifblaar”: *Dichapetalum cymosum*

Abbildung 1: Die Pflanze *Dichapetalum cymosum*.

Die Natur der toxischen Substanz blieb unbekannt, bis es 1944 Marais (Marais, 1944) gelang dieses Gift als Kaliumsalz von *Dichapetalum cymosum* zu isolieren, es handelte sich um Fluoracetat (Peters et al., 1981; Peters, 1963; Mc Ewan, 1964; Meyer et al., 1990; Oelrichs und McEwan, 1961).

Fluoracetat wirkt in den meisten Zellen, durch Hemmung des Enzyms Aconitase im Citratzyklus, als Gift. Acetat, das Salz der Essigsäure wird unter Verbrauch von ATP und CoA-SH zu Acetyl-CoA aktiviert. Das Acetyl-CoA, ein aktivierter Essigsäurerest, kann entweder in Fettsäuren oder Ketonkörper umgewandelt werden, oder bei Energiebedarf im Citratzyklus und über die Atmungskette zu CO₂, H₂O und Energie abgebaut werden.

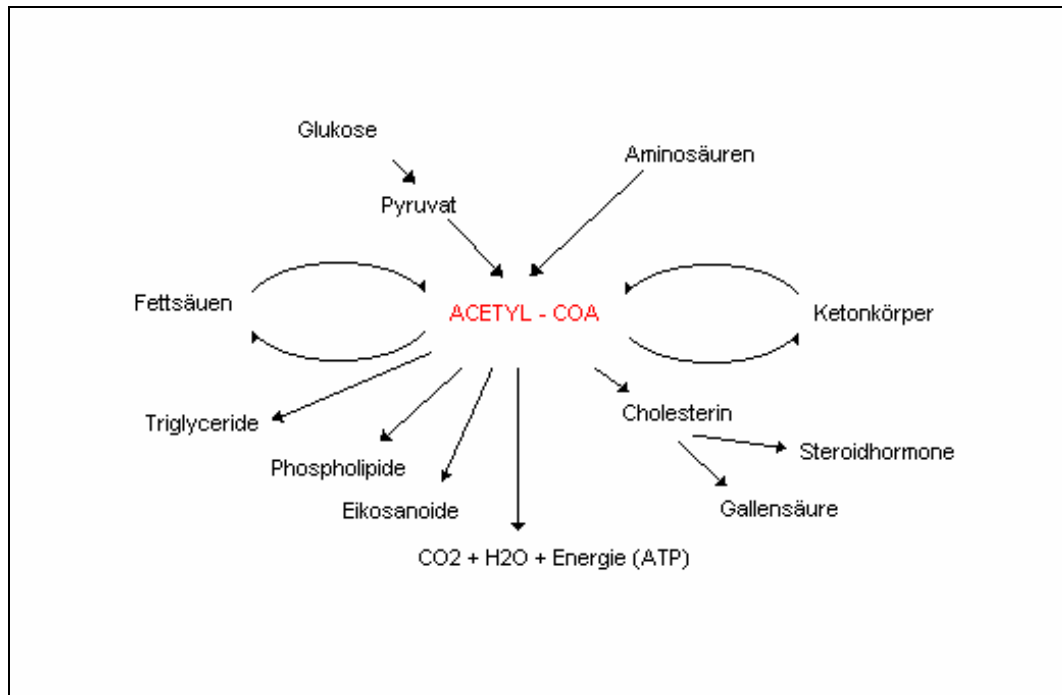


Abbildung 2: Acetyl-CoA Metabolismus.

Wie in Abbildung 2 gezeigt, besitzt Acetyl-CoA sehr viele Angriffspunkte. Besonders wichtig ist hier die Umwandlung in CO_2 , H_2O und Energie über den Citratzyklus und die Verwertung als Grundbaustein der Zellmembranen über die Synthese von Phospholipiden und Triglyceriden (Harms-Ringdahl et al., 1987; 1989; Kennedy 1987; Kennedy und Weiss, 1995).

Fluoracetat kann in Analogie zum Acetat in Fluor-Acetyl-CoA umgewandelt und in die Lipidsynthese eingeschleust werden (Mead und Segal, 1972).

Das Fluoracetyl-CoA könnte in die Eingliederung als terminale Gruppe der langkettigen ω -fluoro Fettsäuren beteiligt sein, welche von Dichapetalum (Peters und Wakelin, 1957; Peters et al., 1960) isoliert wurden. Liebecq und Peters (1989) gaben an, dass Fluoracetat im Gewebe nicht in Fluorid und Acetat gespalten wird. Sie beweisen durch ihre Experimente, dass Fluoracetat den Acetatstoffwechsel inhibiert.

Buffa und Peters (1949) haben das Konzept der 'lethal synthesis' vorgestellt, da sie herausgefunden haben, dass der Inhibitor der Aconitase Fluorcitrat ist, welches den Citratzyklus inhibiert (Chi et al., 1996; Buffa et al., 1951).

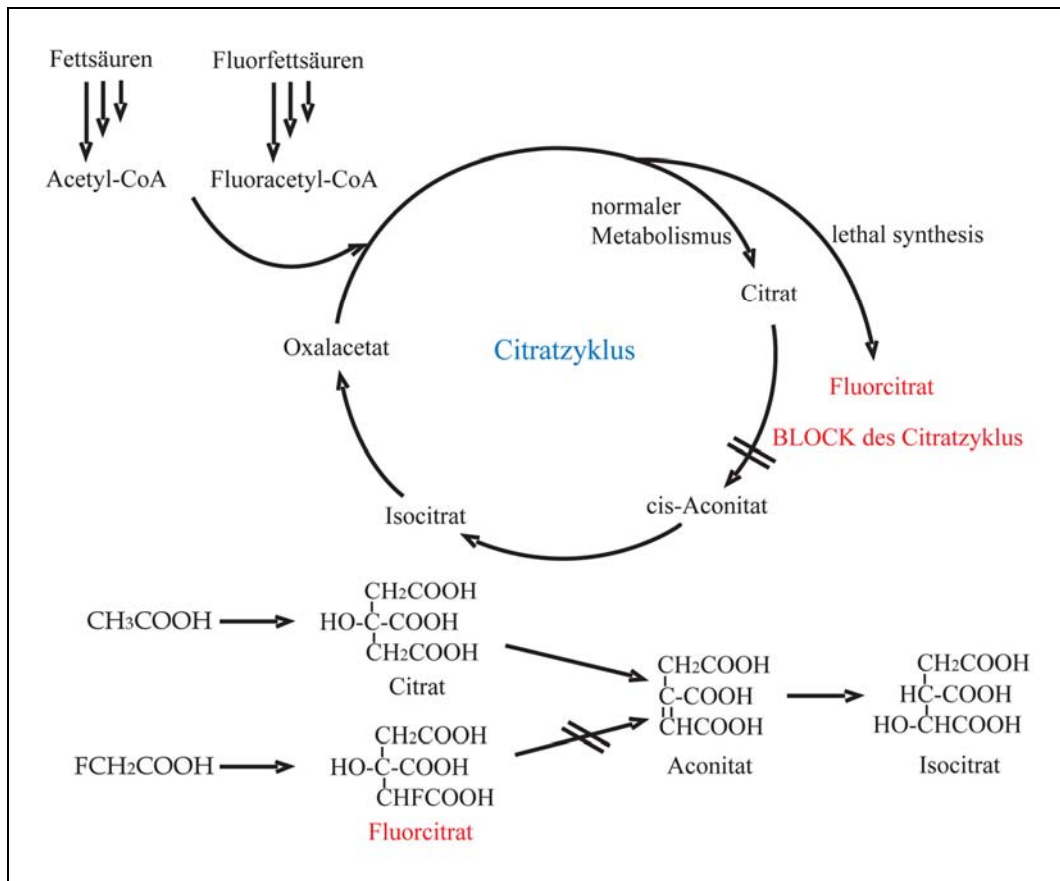


Abbildung 3: Der Krebszyklus und die Blockierung durch Fluoracetat.

Schließlich wurde gezeigt, dass 2-Fluorcitrat tatsächlich durch die Citrat Synthase Reaktion hergestellt wird und dass diese Substanz das Enzym Aconitase hemmt (Morrison und Peters, 1954; Peters, 1963). In einem Artikel von Lauble et al. (1996) wird die Hypothese unterstützt, dass das (-)-erythro Diastereomer des 2-Fluorcitrats erst in Fluor-cis-Aconitase umgewandelt wird, dann ein Hydroxidion hinzukommt und das Fluorid abgespalten wird und so schließlich 4-hydroxy-trans-Aconitase entsteht, dies bindet sehr stark und hemmt das Enzym Aconitase. Hierbei ist interessant, dass nach ihren Angaben dass Fluorid-Ion abgespalten wird, während hingegen Liebecq und Peters (1989) davon ausgehen, dass es nicht abgespalten wird. Auch Villafranca und Platus (1973) haben gezeigt, dass wenn (-)-erythro-fluorcitrat mit Aconitase inkubiert wird, Fluorid frei gesetzt wird. Sie bestätigten mit ihren Experimenten, dass das Enzym unter anderem dadurch gehemmt wird, dass Fluorid auf die Aconitase übertragen wird und so diese inaktiviert und gleichzeitig Fluorid wieder frei wird. Die unterschiedliche Meinung zur Fluoridabspaltung könnte auch als Grund für die oben (S.18) diskutierte speziesabhängige Beobachtung der ^{18}F -Defluorierung bei Injektion von ^{18}F -Fluoracetat in Mäusen bzw. Affen

sein. Eine andere Hypothese besagt, dass aus Fluorcitrat durch die Aconitase Fluor-cis-aconitat entsteht, welches dann das Enzym inaktiviert. Nach Villafranca und Platus (1973) ist Fluorcitrat ein kompetitiver Inhibitor des Enzyms Aconitase und die Inaktivierung ist reversibel. Es wurde bestätigt, dass die Aconitase-Hemmung die Hemmung der Mitochondrien verursacht.

Es existieren vier Isomere des Fluorcitrates, von denen das (2R, 3R)-2-fluorcitrate (-)erythro-2-fluorcitrate das aktivste ist (Stallings et al., 1980; O'Hagan und Rzepa, 1994; Dumel und Kun, 1969).

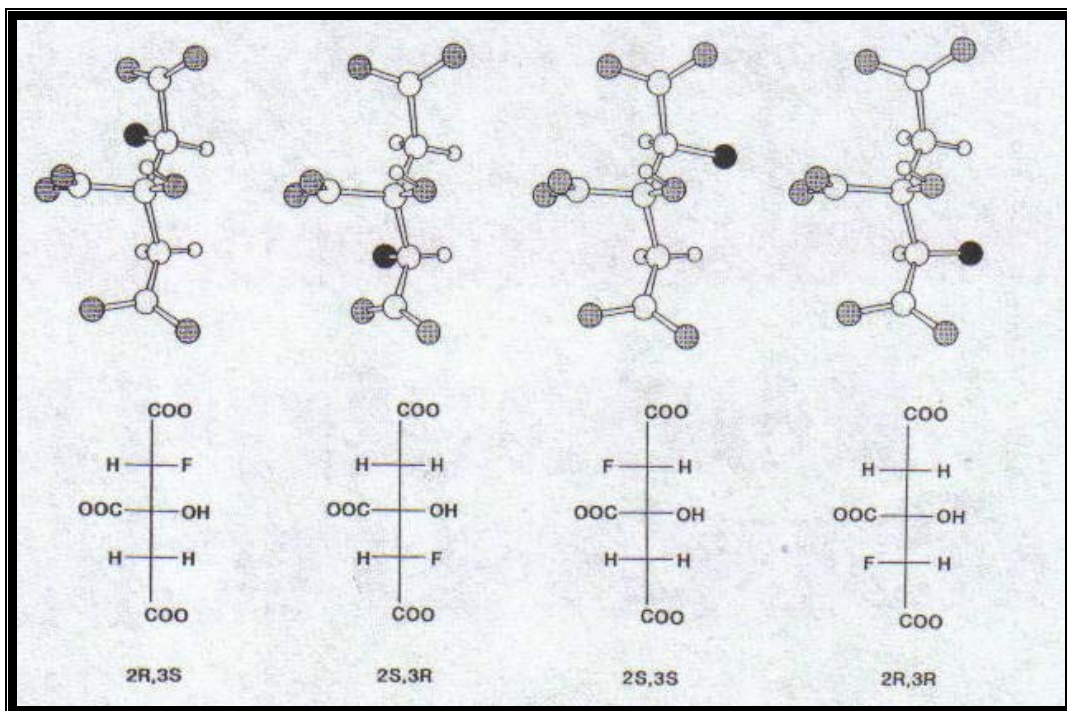


Abbildung 4: Schematische Darstellung der vier Isomere von Fluorcitrat.

Villafranca und Platus (1973) sowie Stallings et al. (1979) zeigten, dass Aconitase das Isomer (-)-erythro-fluorcitrat defluoriert, nicht aber das Isomer (+)-erythro-fluorcitrat. Franshier et al. (1964) haben versucht das Isomer, welches für die Hemmung des Enzyms Aconitase verantwortlich ist zu finden. Sie fanden heraus, dass Aconitase durch Fluorcitrat auf der einen Seite direkt kompetitiv gehemmt wird und auf der anderen Seite eine progressiv fortschreitende zeitabhängige Inhibition stattfindet.

Weiterführende Experimente von Lauble et al, 1996 haben gezeigt, dass (-)-Erythro-2-fluorcitrat Fluorid abgibt und in 4-hydroxy-trans-Aconitase umgewandelt wird, welches an Aconitase fest

bindet. Wenn die Aconitase inhibiert wird, erniedrigt sich der ATP-Level, dies führt zu Zelltod, Apoptose und Nekrose. Fluoracetat zeigt nach Sullivan et al. (1979) testikuläre Toxizität, da durch Blockierung der Aconitase es zu einer Limitation der intrazellulären ATP-Produktion in verschiedenen Geweben mit hoher Metabolisierungsrate, wie den Testes, kommt. Als Schlussfolgerung konnte man entnehmen, dass Fluoracetat beide Formen des Zelltodes (Nekrose und Apoptose) induziert.

Fluoracetat wird sehr gut über den Intestinaltrakt absorbiert, sowie durch Inhalation, okkuläre Exposition oder durch Membranschäden. Es dominieren nach Inkorporation kardiovaskuläre (Arrhythmien) und zentralnervöse (Agitiertheit und Anfälle) Symptome (Robinson et al., 2002; Bosakowski und Levin, 1986; Harrison et al., 1952; Clarke, 1991). Die neurologischen Hauptmerkmale entsprechen einer Somnolenz, die bis zur Lethargie fortschreitet (Bosakowski und Levin, 1986; Harrison et al., 1952; Chung, 1984;). Fluoracetat wurde auch als Rodentizid und als Insektizid genutzt, welches heute aufgrund der hohen Toxizität verboten wurde (Chi et al., 1996; Atzert, 1960; Eason, 2002; Norris et al., 2000; Sykess et al., 1986; Robinson et al., 2002).

Bei Tieren sind die Zielorgane einer Vergiftung Herz, Lunge, Leber, Nieren und Hoden (Chenoweth, 1976; Annsion et al., 1960; Buffa et al., 1977; Sullivan et al., 1979; Schultz et al., 1982; Twigg et al., 1988; Gregg et al. 1998; Gribble, 1973; Eason et al., 1999; Eason und Turck, 2002, de-Moraes-Moreau et al., 1995; Egeheze und Oehme, 1979). Durch die Inhibition der Aconitase findet eine Anreicherung von Citrat im Gehirn und anderen Organen statt (Buffa und Peters, 1949; Goldberg et al., 1966; Fonnum et al., 1997). Da Citrat Kalziumionen komplexiert, führt dies zu einer Reduktion der extrazellulären Kalziumkonzentration und zum Anstieg der neuronalen Reizbarkeit bis hin zur Epilepsie (Hornfeldt und Larson, 1990; Roy et al., 1980; Campbell und Hille, 1976; Davies und Petersen, 1989). Hornfeldt und Larson (1990) haben Fluorcitrat intrathekal injiziert und festgestellt, dass dies innerhalb von 15 Sekunden Krampfanfälle bei Mäusen auslöste. Hieraus ergibt sich, dass die extrazelluläre Kalzium-chelatbildung bei Anstieg der extrazellulären Citratkonzentration mitverantwortlich für die Toxizität ist (Taitelmann et al., 1983; Wu et al., 1991). Swanson und Graham (1994) haben gezeigt, dass auch die Glutamin-Synthese sensibel gegenüber Fluorcitrat ist. Fluoracetat wird auch für die neurologischen Effekte des Medikamentes 5-Fluoruracil und seiner Derivate fluoro- β -Alanine verantwortlich gemacht (Koenig und Patel, 1970a, b).

In Tabelle 4 sind die Letalitatsdosen (LD₅₀) in mg/kg von Fluoracetat Vergiftungen in verschiedenen Spezies angegeben.

Hund	0,11
Katze	0,4
Kaninchen	0,42
Schwein	1,02
Schaf	0,49
Rind	0,39
Pferd	0,41
Huhn	7,70
Mensch	~2
Maus	0,5
Pferd	0,5-2,0

Tabelle 4: Toxizitat von Fluoracetat LD₅₀ Werte in mg/kg.

1.8 Problemstellung

Die Anreicherung des in der PET-Diagnostik am häufigsten verwendeten Tracers der ^{18}F -Fluorodeoxyglukose (^{18}F -FDG) ist beim Prostatakarzinom limitiert (Bender et al., 1997; Fricke et al., 2003; Ahlström et al., 1996; Hayward et al., 1987; Heicappell et al., 1999; Mathews und Oz, 2002; Price et al., 2002; Sanz et al., 2003), da es sich hierbei um einen langsam wachsenden Tumor handelt, bei dem die Glykolyserate niedrig ist. Zudem wird ^{18}F -FDG über die Nieren ausgeschieden wird, womit die Darstellung der Strukturen im Becken durch die Traceranreicherung in der Blase und der ableitenden Harnwege begrenzt ist. Alternativ wurde ^{11}C -Acetat von Hautzel et al. (2002) als Radiopharmakon zur Diagnostik des Prostatakarzinoms getestet und erzielte gute Ergebnisse. Der Nachteil der ^{11}C markierten Substanzen ist jedoch die sehr kurze Halbwertszeit von 20,38 Minuten, die eine zyklotronnahe Verwendung voraussetzten. Fluor-18 markierte Verbindungen mit einer Halbwertszeit von 109,07 Minuten sind daher vorteilhaft. Das ^{18}F -Fluoracetat könnte sich ebenso wie ^{11}C -Acetat zur Prostatakarzinom-Diagnostik eignen und den Vorteil der längeren Halbwertszeit mit sich bringen.

Hier soll nun ^{18}F -Fluoracetat, als möglicher Tracer für die PET Diagnostik des Prostatakarzinoms, untersucht und bewertet werden. Die Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat soll in Zellversuchen und mit humanen Prostatazellen mit der von ^{18}F -FDG verglichen werden.

Des Weiteren sollen Biokinetik- und Biodistributionsstudien in einem Mausmodell mit unterschiedlichen Zelllinien untersucht werden und in einem Doppelmarkierungsexperiment, ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat in-vivo verglichen werden.

2. Material und Methoden

2.1 Synthese von ^{18}F -Fluoracetat

Die Synthese von ^{18}F -Fluoracetat erfolgte durch nukleophile Substitution an Bromessigsäurebenzylester. Nach basischer Hydrolyse des Esters erfolgte die Reinigung des Produktes über Sep-Pak-Anionentauscher (QMA). Die Formulierung in eine injektionsfähige Form wurde durch Elution des ^{18}F -Fluoracetat mittels PBS-Puffer und Sterilfiltration vorgenommen.

Zur Herstellung des ^{18}F -Fluoracetat wurden folgende Chemikalien und Hilfsmittel verwendet:

Chemikalien	Hersteller
^{18}F -Fluorid	MC- Pharma (Bonn)
Acetonitril	Merck
Bromessigsäurebenzylester	Aldrich
Dimethylaminopyridin (DMAP)	Aldrich
Essigsäure	Merck
Ammoniumhydroxid	Merck
C18 Sep-Pak® Kartusche	Waters
AlumN Plus Kartusche	Waters
Silica Plus Kartusche	Waters
QMA Plus Kartusche	Waters
QMA light Anionentauscher	Waters
Kationenkartusche (H^+)	Alltech
0,9%ige Kochsalzlösung (NaCl)	Delta Pharma
PBS-Puffer	Apotheke Uni-Bonn
Kaliumcarbonat	Merck
Kryptofix 222	Merck

Tabelle 5: Chemikalien zur Synthese von ^{18}F -Fluoracetat.

^{18}F -Fluorid wurde in wässriger Lösung geliefert. Zunächst wurde das ^{18}F -Fluorid auf einem Anionentauscher (QMA light) in Hydrogencarbonatform fixiert.

Das ^{18}F -Fluorid wurde dann mit einer Lösung aus 12mg Kryptofix® in 900µl Acetonitril und 50µl Kaliumcarbonat eluiert.

Das Gemisch wurde unter einem Argonstrom bei 90° Grad erhitzt, bis zur Trocknung eingedampft und erneut mit 300µl Acetonitril getrocknet. Zum Kryptofix/Carbonat/ ^{18}F -Fluorid Komplex wurde eine Lösung aus 3µl Bromessigsäurebenzylester in 0,5ml Acetonitril zugegeben und 10 Minuten bei 90° Grad erhitzt. Eine Dünnschichtchromatographie (DC) mittels Kieselgelalufolie diente zur Kontrolle der nukleophilen Substitutionsreaktion. Anschließend wurden 5mg DMAP (Dimethylaminopyridin) in 0,25ml Acetonitril zugegeben und erneut 10 Minuten erhitzt. Diese Reaktion erfolgte zur Umwandlung des Bromessigsäureesters in ein Pyridiumsalz zur späteren Abtrennung mittels Reinigungskartuschen. Der gebildete ^{18}F -Fluoresigsäureester wird daher nicht angegriffen.

Die Radioaktivitätsmessung wird mittels eines Aktivitätsmessgerätes M2311 Vakutronik (Messelektronik Dresden GmbH) bestimmt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 10ml 60%iger Essigsäure versetzt und über eine C-18 Kartusche gegeben. 6ml Acetonitril werden über eine Kombination von C-18 Kartusche mit AlumN Plus (Aluminiumhydroxid) und Silica Plus (Silica Gel) Reinigungskartuschen gegeben. Zur Verseifung (Hydrolyse) des Fluoresigsäureesters wurden 4ml Wasser und 1ml 2,5%ige Ammoniak-Lösung verwendet und bei 90° Grad für 10 Minuten erhitzt. Die Lösung wurde über eine Kombination zweier Säulen (H^+ -ICH / HCO_3^- Kartusche) geführt. Das Produkt (^{18}F -Fluoracetat) wurde schließlich mit 3ml PBS über einen Sterilfilter vom Anionentauscher (HCO_3^- Kartusche) eluiert.

Die radiochemische Ausbeute bezüglich des eingesetzten ^{18}F -Fluorid betrug 50-70%. Die Qualitätskontrolle erfolgte mittels HPLC und ergab eine radiochemische Reinheit von >98%.

2.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Die radioaktiven Verbindungen wurden mittels HPLC ausgestattet mit UV- und Radioaktivitätsdetektor charakterisiert.

Analytische HPLC:

Kontron Instruments Pump System 322

Variabler Wellenlängendetektor;

Radioaktivitätsdetektor von raytest Modell GABI

STAR; RP18-Säule (LiChospher 100, 5 µm)

Die HPLC diente der Identifizierung der mit ^{18}F -Fluorid markierten Produkte und bestand aus einem binären Pumpensystem und einem UV-Detektor der Firma Kontron (Typ 322) mit variabler Wellenlänge.

Die Messung der Aktivität erfolgte mit einem nachgeschalteten NaI (Tl) Szintillationsdetektor. Die parallele Aufzeichnung der UV- und Radioaktivitätschromatogramme erfolgte durch das Radio-Chromatographie-System Ramona (Firma Nuclear-Interface, Münster). Als analytische Säule wurde eine Lichrospher100 RP18 $5\mu\text{m}$ sowie eine Anionentauschersäule (CS-Chromatographie, Chromatographieservice Langerwerke) verwendet. Die Probenaufnahme erfolgte über einen Rheodyne-Injektionsblock (Typ 7125) mit einem Probenschleifenvolumen von $200\mu\text{l}$. Die Detektionswellenlänge des UV-Detektors betrug 254nm .

2.3 UV-Spektroskopie

UV-Spektrometer: Shimadzu UV-3600
UV-VIS-NIR Spektrophotometer
Shimadzu Deutschland

Die Untersuchungen mittels UV-Spektroskopie wurden mit einem Gerät der Firma Shimadzu durchgeführt.

Zur Untersuchung der verschiedenen Halogenessigsäurebenzylester wurden 7mM methanolische Lösungen, in 1ml Quarzglasküvetten gegeben und gegen reines Methanol als Basislinienkorrektur im UV-Spektrometer gemessen. Die Messungen dienten zum Vergleich der UV-Absorptionsmaxima.

2.4 Flüssigkeitszintillationsmethode

LSC-Messgerät Tri-Carb 2300 TR
Packard Instruments

Die LSC-Messung (Liquid Scintillation Counting) der Tritiumacetat Proben wurde am Institut für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich durchgeführt, wobei die Gewebeproben in den Polyethylen-Szintillationsgefäßen durch Zugabe eines speziellen, für die Solubilisierung von

LSC-Proben vorgesehenen alkalischen Solubilizers (0,4M Natriumhydroxid-Lösung, Solvable[®], Firma Packard Instruments) aufgelöst wurden.

Es wurden ca. 1,5ml Lösungsmittel pro 200mg Probe verwendet und in einem Inkubator bei 50° Grad Celsius 2 Tage erwärmt um die vollständige Lösung zu erreichen. Die stark gefärbten Proben wurden mit 200µl Wasserstoffperoxyd-Lösung 35% gebleicht.

Den vorbereiteten Proben wurde ein Szintillatorvolumen von 10ml (Ultima Gold XR, Fa. Packard Bioscience) zugesetzt. Nach 45 Minuten fand die Messung der Proben im Messgerät statt.

In einer zweiten Messung wurde eine Quenchkorrektur durch Zugabe einer definierten Tritium-Aktivität als internem Standard zu jeder Probe vorgenommen. Das Ergebnis der Messung wird für jede Probe in Prozent der applizierten Dosis bezogen auf die Organmasse angegeben.

2.5 Zellkultur

Die verschiedenen Zelllinien wurden in der experimentellen Urologie gezüchtet. Die Zellen wurden, zur Messung der Aufnahme von ¹⁸F-Fluoracetat im Vergleich zu ¹⁸F-FDG (FluorodeoxyGlukose) in Zellkulturen, sowie der Kultur ausreichender Mengen Zellen zur Induzierung eines Tumors in Nacktmäusen, benötigt.

2.5.1 Charakterisierung der Zelllinien

Charakterisierung nach der © DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

2.5.1.1 BPH-1

Zelllinie: BPH-1

Zelltyp: humane benigne Prostatahyperplasie

Herkunft: Erhalten von DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig #DSMZ No: ACC 143.

Es handelt sich hierbei um Prostataepithelzellen eines 68 Jahre alten Mannes mit einer benignen Prostatahyperplasie (BPH).

Die Zellen exprimieren Zytokeratin 8,18 und 19, aber nicht Zytokeratin 14, außerdem metabolisieren sie Androgene.

Referenz: Hayward et al., In Vitro Cell Develop. Biol. 31A: 14-24 (1995)

Depositor: Dr. Simon Hayward, University of California at San Francisco, San Francisco, California, USA

DSMZ Zellkulturdaten:

Morphologie: adhärenzte Epitheloidzellen, die als monomolekulare Schicht (Monolayer) wachsen.

Subkultivierung: Die wachsende Kultur wird 1:3 oder 1:8 alle 3-7 Tage aufgeteilt unter Verwendung von Trypsin/EDTA.

Inkubation: Bei 37 Grad Celsius und 5% CO₂

Verdopplungszeit: ca. 50 Stunden

Ernte: Bei ca. $0,4 \times 10^5$ Zellen/cm²

Lagerung: gefroren mit 70% Medium, 20% FCS, 10% DMSO ungefähr $1.3-1.6 \times 10^6$ Zellen/Ampulle.

2.5.1.2 DU-145

Zelllinie: DU-145

Zelltyp: humanes Prostatakarzinom

Erhalten von DSMZ # DMSZ No: ACC 261

Herkunft: Bestehend aus Tumorgewebe, welches von einer Metastase des Zentralnervensystems eines 69 jährigen Mannes mit einem Prostatakarzinom im Jahre 1975 entnommen wurde.

Referenz: Mickey et al., in "Models for prostate cancer", G.P. Murphy (ed.) , Alan R. Liss, 1980, p. 67-84; Scaccianoce et al., 2003, p-101-12

Depositor: DKFZ Tumorbank, Heidelberg Germany

DSMZ Zellkulturdaten:

Morphologie: Epithel-ähnliches adhärenztes Zellwachstum als Monolayer.

Subkultur: Kultur 1:3 oder 1:5 alle 2-3 Tage aufteilen unter Verwendung von Trypsin/EDTA; Aussähen von $2-3 \times 10^6$ Zellen/80cm².

Inkubation: Bei 37 Grad Celsius mit 5% CO₂

Verdopplungszeit: ca. 30-40 Stunden

Ernte: Bei ca. 35×10^6 Zellen/175cm²

Lagerung: gefroren mit 70% Medium, 20% FCS, 10% DMSO bei einer Zellzahl von ungefähr $2-3 \times 10^6$ Zellen/Ampulle.

2.5.1.3 LNCaP

Zelllinie: LNCaP

Zelltyp: humanes Prostatakarzinom

Erhalten von DSMZ # DMSZ No: ACC 256.

Herkunft: Das Gewebe stammt von einer Lymphknotenmetastase des linken, supraklavikulären Lymphknoten eines 50 jährigen Mannes mit einem Prostatakarzinom im Jahre 1977. Die Zellen wurden als androgen-sensitiv beschrieben.

Referenz: Horoszewicz et al., in 'Models for prostate cancer ' (ed.G.P.Murphy), Alan R. Liss, New York, 1981, p. 115-132; Horoszewicz et al., Cancer Res. 43: 1809-1818 (1993); Gibas et al., Cancer Genet. Cytogenet. 11: 399-404 (1984)

Depositor: Prof. M.Motta, Universita di Milano, Milan, Italy

DSMZ Zellkulturdaten:

Morphologie: adhärenente fibroblastische Zellen, die als Aggregat oder als einzelne Zellen wachsen.

Subkultur: Die Zellen werden 1:4 einmal die Woche aufgeteilt, wobei wieder Trypsin/EDTA genutzt wird.

Man sät ca. $1-2 \times 10^6$ Zellen/25cm²; nach der Behandlung mit Trypsin kann es sein, dass die Zellen 1-2 Tage benötigen, bis sie wieder festgewachsen sind.

Aufgrund einer sehr starken Zellaggregation kann es schwierig werden eine genaue Zellzahl zu bestimmen.

Inkubation: Bei 37 Grad Celsius with 5% CO₂

Verdopplungszeit: ca. 60 Stunden

Ernte: Bei ca. $10-15 \times 10^6$ Zellen/80cm²

Lagerung: gefroren mit 70% Medium, 20% FCS, 10% DMSO und ca. 1.2×10^6 Zellen/Ampulle.

Besonderheit bei LNCaP: Die Zellen sind sehr empfindlich und wachsen äußerst langsam.

2.5.1.4 PC-3

Zellline: PC-3

Zelltyp: humanes Prostatakarzinom

Erhalten von DSMZ # DSMZ No. ACC 465.

Herkunft: Das Gewebe stammt von einem Prostatakarzinom, welches post mortem von einem 62-jährigen Mann entnommen wurde.

Es handelte sich hierbei um ein Grad IV Karzinom, welches ein schlecht differenziertes Adenokarzinom darstellt.

Der Patient wurde mit einer Androgensuppressionstherapie behandelt.

Die Zellen sprechen nicht auf eine Androgene Behandlung an und gelten als Zellen, die in nude Mäusen Tumore bilden und auf weichem Agar wachsen.

Referenz: Kaighn et al., Invest. Urol. 17: 16-23 (1979); Pan et al., Cytogenet. Cell Genet. 87: 225-232 (1999)

Depositor: Dr. J. R. W. Masters, University College London, London, UK (who had obtained the cells from the original investigator)

DSMZ Zellkulturdaten:

Morphologie: Epithel-ähnliche Zellen die adhären als monomolekulare Schicht (Monolayer) oder multimolekulare Schicht (Multilayer) wachsen.

Subkultur: Aufteilen der Zellkultur entweder 1:3 oder 1:10 alle 3-5 Tage mit Hilfe von Trypsin/EDTA; Man besät 1×10^4 Zellen/cm².

Inkubation: Bei 37 Grad Celsius mit 5% CO₂.

Verdopplungszeit: ca. 50 Stunden

Ernte: Bei ca. $0,5 \times 10^5$ Zellen/cm²

Lagerung: gefroren mit 70% Medium, 20% FCS, 10% DMSO mit ungefähr 1×10^6 Zellen/Ampulle.

2.5.2 Zusammensetzung der Medien und Zusätze

Medium BPH-1:

500ml RPMI 1640

Fa. PAA # E15-039

100ml FCS hitzeinaktiviert (ca. 20%), gelagert bei –20 Grad Celsius	Fa. PAA # E15-144
5ml Supplement: Insulin 5µg/ml, Natrium Selenite 5µg/ml (gelöst in 50ml PBS steril) gelagert bei –20 Grad	Fa. Sigma# I-1884
0,5ml Testosteron, wasserlöslich, 20ng/ml (gelöst in PBS steril, 25mg/ml), gelagert bei –20 Grad	Fa. Sigma# T-5035
2ml Pen-Strep	Fa. Bio Whittaker #
Penicillin 10000U/ml, Streptomycin 10000µg, -20 Grad	De17-602E

Medium DU-145:

500ml RPMI 1640	Fa. PAA # E15-039
50ml FCS hitzeinaktiviert (ca. 10%), gelagert bei –20 Grad Celsius	Fa. PAA # E15-144
2ml Pen-Strep	Fa. Bio Whittaker #
Penicillin 10000U/ml, Streptomycin 10000µg, -20 Grad	De17-602E

Medium LNCaP:

500ml RPMI 1640	Fa. PAA # E15-039
50ml FCS hitzeinaktiviert (ca. 10%), gelagert bei –20 Grad Celsius	Fa. PAA # E15-144
2ml Pen-Strep	Fa. Bio Whittaker #
Penicillin 10000U/ml, Streptomycin 10000µg, -20 Grad	De17-602E

Medium PC-3:

500ml RPMI 1640	Fa. PAA # E15-039
500ml Ham's F12	Fa. PAA # E15-016
100ml FCS hitzeinaktiviert (ca. 10%), gelagert bei –20 Grad Celsius	Fa. PAA # E15-144
2ml Pen-Strep	Fa. Bio Whittaker #

Penicillin 10000U/ml, Streptomycin 10000µg, -20 Grad Celsius De17-602E
 Das Mediums RPMI 1640 Ohne L-Glutamin E15-039 500ml
 der Firma PAA Laboratories GmbH, D – 35091 Coelbe

Spezifikationen:

Optimale CO ₂ - Konzentration	4,5%
pH-Wert	7,0 – 7,5
Osmolalität	280 – 340mOsmol/kg
Endotoxin	1EU/ml
Sterilität	getestet
Haltbarkeit	18 Monate
Lagerung	+2 Grad - +8 Grad

Zusammensetzung:

Anorganische Salze:

Calciumnitrat, Kaliumchlorid, Magnesiumsulfat wfr, Natriumchlorid, diNatriumhydrogenphosphat, Natriumhydrogenphosphat

Aminosäuren:

L-Arginin-HCL, L-Asparagin-H₂O, L-AsparaginsäureL-Cystin, L-Glutaminsäure wfr, Glycin, L-Histidin Base, L-Hydroxyproline, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Lysin-HCL, L-Methionin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Serin, L-Threonin, L-Tryptophan, L-Tyrosin, L-Valin

Vitamine:

D-(+)-Biotin, D-Calcium-Pantothenat, Cholinchlorid, Folsäure, i-Inositol, Nikotinsäureamid, p-Amionbenzoesäure, Pyridoxin-HCL, Riboflavin, Thiamin-HCL, Vitamin B12

Sonstige Zusätze:

D-Glukose wfr, Glutathion, Phenolrot

Ham's F-12 Medium Ohne L-Glutamin E15-016 500ml
 Der Firma PAA Laboratories GmbH aus D – 35091 Coelbe

Spezifikationen:

Optimale CO ₂ - Konzentration	2,5%
pH-Wert	7,0 – 7,5
Osmolalität	280 – 340mOsmol/kg
Endotoxin	< 1EU/ml
Sterilität	getestet
Haltbarkeit	18 Monate
Lagerung	+2 Grad - +8 Grad

Zusammensetzung:

Anorganische Salze:

Calciumchlorid wfr., Eisen(II)-sulfat-7H₂O, Kaliumchlorid, Kupfer(II)-sulfat-5H₂O, Magnesiumchlorid-6H₂O, Natriumchlorid, di-Natriumhydrogenphosphat, Zinksulfat-7H₂O, Natriumhydrogenphosphat

Aminosäuren:

L-Alanin, L-Arginin-HCL, L-Asparagin-H₂O, L-Asparaginsäure, L-Cystin-HCL-H₂O, L-Glutaminsäure, Glycin, L-Histidin-HCL-H₂O, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Lysin-HCL, L-Methionin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Serin, L-Threonin, L-Tryptophan, L-Tyrosin
L-Valin

Vitamine:

D-(+)-Biotin, D-Calcium-Pantothenat, Cholinchlorid, Folsäure, i-Inositol, Nikotinsäureamid, Pyridoxin-HCL, Riboflavin, Thiamin-HCL, Vitamin B12

Sonstige Zusammensetzungen:

D-Glukose wfr., Hypoxanthin, Linolsäure, DL- α -Linolsäure, Natriumpyruvat, Phenolrot, Putrescin-2HCL, Deoxythymidin

Medium Zusatz der Firma Sigma-Aldrich

Produkt Name: Insulin-transferrin-sodium selenite media supplement

Synonym: ITS Supplement beinhaltet:

Insulin, Transferrin, Sodium selenite

Das Testosteron ist wasserlöslich (Komplex mit 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin) und kommt von der Firma Sigma [®]-Aldrich, Inc.

Rekonstitution und Gebrauch: Lösung von 25mg Testosteron/ml in H₂O, dann entweder durch eine 0,2 μ m dicke Zelluloseacetat oder eine andere Membran filtern, die niedrigmolekulare Proteine bindet.

Lagerung: Die erstellte Lösung kann bei 2-8 Grad Celsius für mindestens eine Woche gelagert werden oder bei -20 Grad Celsius für 6-12 Monate.

2.5.3 Kultivierung und Umsetzung

Kultivierung:

Inkubator	Biotron, Labortechnik GmbH Röntgenstraße 12 D-40721 Hilden
Arbeitsplatz	Gelaire [®] Flow Laboratories GmbH Mühlengarbenstraße 10 D-5309 Meckenheim
Pipetten	Pasteur [®] Pipette pipetus [®] akku, von Hirschmann

Die Kultivierung der verschiedenen Zelllinien findet in einem Inkubator bei 5% CO₂ und 37 Grad Celsius statt. An einem speziellen Arbeitsplatz entfernt man mit einer Pasteur[®] Pipette das Medium und gibt mittels einer elektrischen Pipette neues Medium, je nach Grösse der Kulturflaschen (3ml/7ml) hinzu.

Umsetzung:

PBS ohne Mg, ohne Ca	Fa.PAA#H15-002
Trypsin mit EDTA 10fach	Fa.PAA#L11-004
Mikroskop	Zeiss West-Germany
Zentrifuge	Hettich Zentrifugen Universal 30RF Heckenfeldstraße 14 D-45476 Mühlheim

Die Medien besitzen Phenolrot als Indikator, welcher sich aufgrund von pH Veränderungen ändert. Die Kulturflaschen werden unter dem Mikroskop betrachtet.

Von den Zellen die „umgesetzt“ werden sollen wird das Nährmedium mittels einer Pasteur Pipette abgenommen. In die Flasche werden 3ml PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) gegeben, welches noch vorhandenes Nährmedium entfernen soll. Zum Ablösen der Zellen werden 2ml Trypsin verwendet. Der Vorgang wird mit 3ml Medium gestoppt.

Die Zellen werden bei 1200 Umdrehungen/Minute (Upm) für 5 Minuten zentrifugiert, so dass sie sich am Boden absetzen und eine definierte Menge an Medium hinzugeben werden kann.

2.5.4 Einfrieren und Auftauen**Einfrieren:**

Einfriermedium mit DMSO	Fa.Gibco#11101-011
Röhrchen	Cryon®

Zum Einfrieren der Zellen werden sterile Cryon® Röhren mit Zellen und 1ml DMSO Einfriermedium verwendet. Einen Tag werden die Röhren in einen Kühlschrank bei –80 Grad Celsius gestellt und am nächsten Tag in flüssigen Stickstoff (-200 Grad Celsius) überführt.

Auftauen:

Die im flüssigen Stickstoff gelagerten Zellen werden in einem 37 Grad Celsius (C°) warmen Wasserbad aufgetaut.

2.5.5 Zellzahlbestimmung

Zu den trypsinisierten Zellen wird Medium gegeben, damit der Vorgang des Ablösens gestoppt wird. Von dieser Zellsuspension werden 100µl entnommen und mit 2µl Trypanblau gemischt. 8µl Zellsuspension werden entnommen und in eine Zählkammer eingebracht. Durch das Mikroskop kann man die Zellen beurteilen, wobei nur die lebenden Zellen berücksichtigt werden. Auf diese Weise ist es möglich eine Lösung mit genau definierter Zellzahl herzustellen.

2.6 Aufbau und Durchführung der Zellversuche zur Aufnahme von ¹⁸F-Fluoracetat im Vergleich zu ¹⁸F-FluordeoxyGlukose (¹⁸F-FDG)

Es wurden zwei verschiedene Methoden zur Durchführung der Zellversuche benutzt:

1. Verwendung eines Coverslip
2. Verwendung eines Sterilfilter

Für die Versuche wurde eine Zellsuspension mit genau definierter Zellzahl ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$) pro Milliliter der Zelllinien PC-3, DU-145 und BPH-1 hergestellt.

Es wurden 0,5ml Zellsuspension und 2ml Medium auf einen Coverslip in eine Petrischale gegeben und für 48 Stunden in den Inkubator bei 37 Grad Celsius und 5% CO₂ gestellt. Das Medium wurde nach 2 Stunden und nach 12 Stunden gewechselt. Nach Entfernen des Mediums

wurden 450µl ^{18}F -Fluoracetat in Medium über den Coverslip gegeben. Die Inkubationszeit betrug je nach Versuch 45, 90 und 120 Minuten im Inkubator bei oben genannten Bedingungen.

Nach der Inkubationszeit wird die Flüssigkeit entfernt, die Zellen abgelöst und zentrifugiert.

Zu den abgelösten Zellen wurden 450µl PBS zum waschen hinzu gegeben, welches wieder entfernt wurde, so dass nur die Zellen in eine Messflasche gefüllt wurden. Der Coverslip wurde ebenfalls mehrmals mit 450µl PBS gewaschen und in eine Messflasche gegeben. Die gesamten Messflaschen wurden anschließend im Gammacounter (Wallac 1480) gemessen.

Bei Verwendung der Eppendorf-Gefäße, unter Verwendung eines Sterilfilters, standen alle vier Zelllinien (PC-3, DU-145, BPH-1 und LNCaP) zur Verfügung. Es wurden in 6 Eppendorf-Gefäße je Zelllinie jeweils 1ml Zellsuspension mit genau definierter Zellzahl und 0,2ml ^{18}F -Fluoracetat bzw. zum Vergleich ^{18}F -FDG pipettiert und in den Inkubator gestellt. Die Inkubationszeit ist auf unterschiedliche Zeitpunkte (45 Minuten, 90 Minuten und 120 Minuten) festgelegt. Nach der jeweiligen Inkubationszeit filtriert man den Inhalt des Gefäßes über einen Sterilfilter nach vorherigem waschen mittels 450µl PBS.

Das Eppendorf-Gefäß und der Sterilfilter wurden in einen Messbehälter und in den Gammacounter zum messen gestellt. So kann die Anreicherung (Uptake) des radioaktivmarkierten Tracers in den Zellen erhalten werden.

2.7 Aufbau und Durchführung der Tierversuche

Die Tierversuche werden zur Ermittlung der Bioverteilung und der Pharmakokinetik sowie dem Ausschluss gravierender Nebenwirkungen, bedingt durch die potentielle Toxizität von Fluoracetat, durchgeführt.

NMRI-NUDE Mäuse

Firma Harlan
Winkelmann GmbH
Gartenstrasse 27
D-33178 Borcheln

Gammacounter

Wallac 1480 Wizard 3
Gammacounter
20101 Turku, Finnland

Die ca. 5 Wochen alten NMRI-NUDE Mäuse wurden von der Firma Harlan geliefert und mit jeweils 1×10^5 – 1×10^7 Zellen pro Milliliter der Zelllinien PC-3, DU-145, BPH und LNCaP in einem Volumen von 2ml, unter Verwendung von 0,5ml Matrigel (BD Biosciences, USA) inokuliert.

LNCaP-Zellen (menschliche maligne Prostatazelllinie) sind typischerweise nicht tumorigen, werden aber aggressiv tumorigen in Anwesenheit von Matrigel. Mit Matrigel bearbeitete Zellen zeigen einen 125% Anstieg der Zellatmung gegenüber nicht behandelten Zellen (Cooper und Farid, 1963).

Je nachdem bei welcher Tumorzelllinie das Tumorwachstum in den Mäusen besonders weit fortgeschritten war, wurden die Zelllinien, die Anzahl der Tiere und die jeweiligen Untersuchungs-Zeitpunkte bestimmt. Zur Biodistribution erfolgt eine intravenöse (i.v.) Injektion von 37-370KBq des Tracers in einem Volumen von 200 μ l in die Schwanzvene, zu verschiedenen Zeitpunkten. Bei manchen wurde Tritiumacetat als Vergleich mitinjiziert und nach den jeweiligen Zeitpunkten werden die Mäuse unter Chloroform-Narkose per Genickbruch getötet.

Die Mäuse werden seziiert, jedes Organ einzeln entnommen, gewogen und anschließend in einer Messflasche im Gammacounter (Wallac 1480, Wizard 3) gemessen. Anschließend wurden die einzelnen Zelllinien und die einzelnen Zeitpunkte miteinander verglichen und die Mittelwerte, sowie die Standardabweichung berechnet. Obwohl die Zellen sehr sorgsam gezüchtet wurden, gab es Schwierigkeiten mit dem Wachstum der LNCaP-Zellen. Diese erwiesen sich als schwer anzüchtbar, wodurch nur wenige Biodistributionen mit dieser Zelllinie stattfanden. Die BPH-1 Zellen sind sehr gut gewachsen und konnten daher in hoher Zahl (2×10^7 Zellen/ml in einem Volumen von 2ml) in die Nacktmäuse injiziert werden. Dennoch zeigten diese Mäuse zum Teil nach über 6 Monaten keinerlei Tumorwachstum. Somit konnten mit dieser Zelllinie nur wenige Biodistributionen erhalten werden.

2.8 Optimierung der Tumorzellzahl

Dieser Versuch wurde durchgeführt um die optimale Tumorzellzahl für die Tierversuche zu bestimmen, das heißt welche Konzentration am besten dafür geeignet ist, um ein möglichst schnelles und innerhalb der Tiergruppe homogenes Wachstum des Tumors hervorzurufen. Um diese Zahl zu bestimmen wurde mit drei verschiedenen Konzentrationen gearbeitet. Für den

Versuch wurden je 10 Mäuse pro Zelllinie (DU-145, BPH-1 und PC-3), also insgesamt 30 Mäuse benötigt. Die LNCaP Zellen wurden nicht benutzt, da sich die LNCaP Linie zu diesem Zeitpunkt in der Kultur noch nicht ausreichend vermehrt hatte.

Die Zellen, die sich in einem Volumen von 0,2ml befunden, wurden zusammen mit 0,5ml flüssigem Matrigel, welches das Tumorwachstum fördert (Cooper und Farif, 1963) subkutan in die linke Flanke injiziert. Danach wurden die Mäuse markiert. Für die drei verwendeten Zelllinien wurde die gleiche Prozedur durchgeführt.

Anzahl der Tiere	Zellzahl in Milliliter
4 Tiere	1×10^7 Zellen pro Milliliter
3 Tiere	5×10^6 Zellen pro Milliliter
3 Tiere	1×10^6 Zellen pro Milliliter
Summe der Tiere 10 pro Zelllinien (DU-145, BPH-1, PC-3). Gesamtzahl: 30	

Tabelle 6: Anzahl der Tiere und Zellzahl in Milliliter.

3. Ergebnisse

3.1 Qualitätskontrolle des hergestellten ^{18}F -Fluoracetat

Zur Qualitätskontrolle des hergestellten ^{18}F -Fluoracetat wurde ein chromatographischer Vergleich mit stabilem, käuflichen ^{19}F -Fluoracetat (Fa. Fluka) mittels HPLC-Chromatographie durchgeführt (Identitätsnachweis).

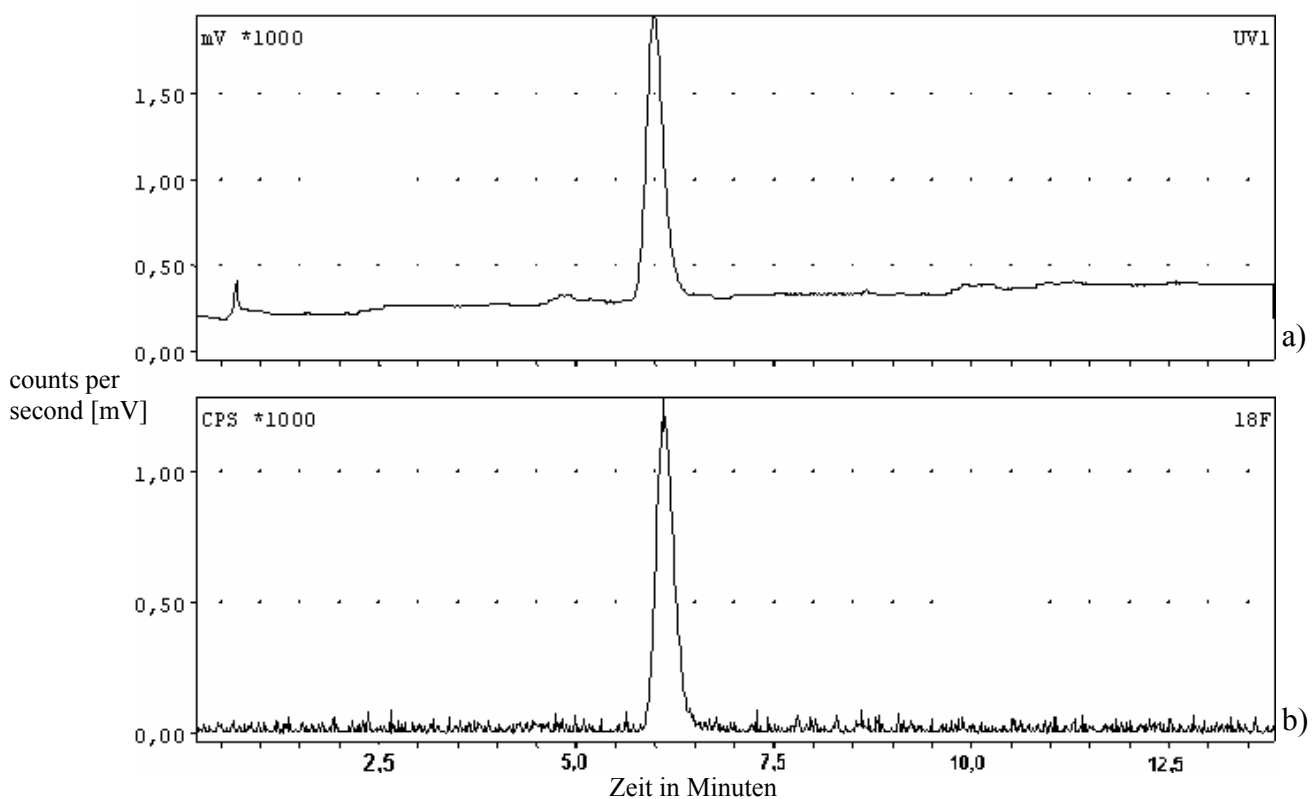


Abbildung 5: HPLC-Chromatogramm zum Nachweis der Identität von ^{18}F -Fluoracetat. Die counts per second (multipliziert mit 1000) in mV sind gegen die Zeit in Minuten graphisch dargestellt. a) UV-Detektor zum Nachweis von stabilem Fluoracetat, b) Radioaktivitätsdetektor zum Nachweis von radioaktivem ^{18}F -Fluoracetat.

Das in Abbildung 5 zu sehende HPLC-Chromatogramm wurde durch die Injektion eines Gemisches von selbst hergestelltem, radioaktivem ^{18}F -Fluoracetat und käuflichem, stabilem Fluoracetat erhalten. Die HPLC-Anlage besteht aus zwei hintereinander geschalteten Detektoren (UV-Detektor und Radioaktivitätsdetektor). Beide Detektoren sind in Abbildung 5

wiedergegeben, wobei oben (a) der UV-Detektor und unten (b) der Radioaktivitätsdetektor abgebildet ist. Die minimale zeitliche Verschiebung des UV- gegenüber dem Radioaktivitäts-Signals ist durch die Reihenfolge der Detektoren (erst UV-Detektor, dann Radioaktivitätsdetektor) bedingt.

Der UV-Detektor kann die geringe ^{18}F -Fluoracetatmenge nicht detektieren, wohl aber das stabile Fluoracetat. Beim Radioaktivitätsdetektor verhält es sich genau umgekehrt, da dieser nur Radioaktivität, nicht aber stabile, nicht radioaktive Verbindungen detektieren kann. Da das hergestellte ^{18}F -Fluoracetat vor der Injektion mit stabilem ^{19}F -Fluoracetat Standard gemischt wurde und sich die selbst hergestellte Substanz chromatographisch genauso verhält (gleiche Retentionszeit) wie das stabile, käufliche Fluoracetat beweist somit die Koelution von Radioaktivität und Massensignal (UV) die Identität des ^{18}F -Fluoracetat.

Bei der HPLC wird als Lösungsmittel (mobile Phase) Wasser und Phosphatpuffer bei einem pH von 7,2 und einem Phosphatpuffer-Gradient von 0-50% in 30 Minuten mit einer Flussrate von 1,5ml/min verwendet. Bei diesem pH-Wert liegt Fluoroessigsäure (pK_A -Wert = 2,72) quantitativ in deprotonierter Form als Fluoracetat vor. Das Fluoracetat wird somit als Anion bei geringer Ionenstärke stark auf der Anionentauschersäule (Säule: CS-Chromatographie PRP-100) retardiert um schließlich mit steigender Ionenstärke eluiert zu werden. Das Fluoracetat kann bei einer Wellenlänge von 220nm als Peak im UV-Kanal detektiert werden.

Zur Validierung des Chromatographiesystems wurden noch 2 weitere anionische Substanzen nämlich ^{18}F -Fluorid und ^{131}I -Iodid untersucht. ^{18}F -Fluorid eluiert unter gleichen Chromatographiebedingungen bei einer Retentionszeit von 5 Minuten, während Iodid erst bei einer Retentionszeit von 21 Minuten eluiert. Die Retention von anionischen Substanzen nimmt somit bei der verwendeten HPLC-Säule mit steigender Polarisierbarkeit zu, wie dies auch theoretisch zu erwarten war. Mit der Konsistenz des Herstellungsgangs von ^{18}F -Fluoracetat, der HPLC-Säulvalidierung mit verschiedenen Anionen und den chromatographischen Koinjektionsexperimenten ($^{18/19}\text{F}$ -Fluoracetat) besteht somit keinerlei Zweifel an der Identität des in dieser Arbeit verwendeten ^{18}F -Fluoracetat.

3.2 Bestimmung der spezifischen Aktivität von ^{18}F -Fluoracetat

Die Bestimmung der spezifischen Aktivität von ^{18}F -Fluoracetat wurde indirekt über den Nachweis der spezifischen Aktivität von ^{18}F -Fluoroessigsäurebenzylester bestimmt. ^{18}F -Fluoroessigsäure-benzylester weist mit der Benzylesterkomponente (im Gegensatz zu Fluoracetat) ein aromatisches Chromophor auf und lässt sich daher wesentlich empfindlicher als Fluoracetat selbst mittels UV-Detektion nachweisen.

Dazu wurden zunächst die Extinktionskoeffizienten käuflicher Benzylester (unsubstituierter Essigsäurebenzylester sowie Chloressigsäurebenzylester und Bromessigsäurebenzylester) mittels UV-Spektroskopie verglichen (siehe Abbildung 6).

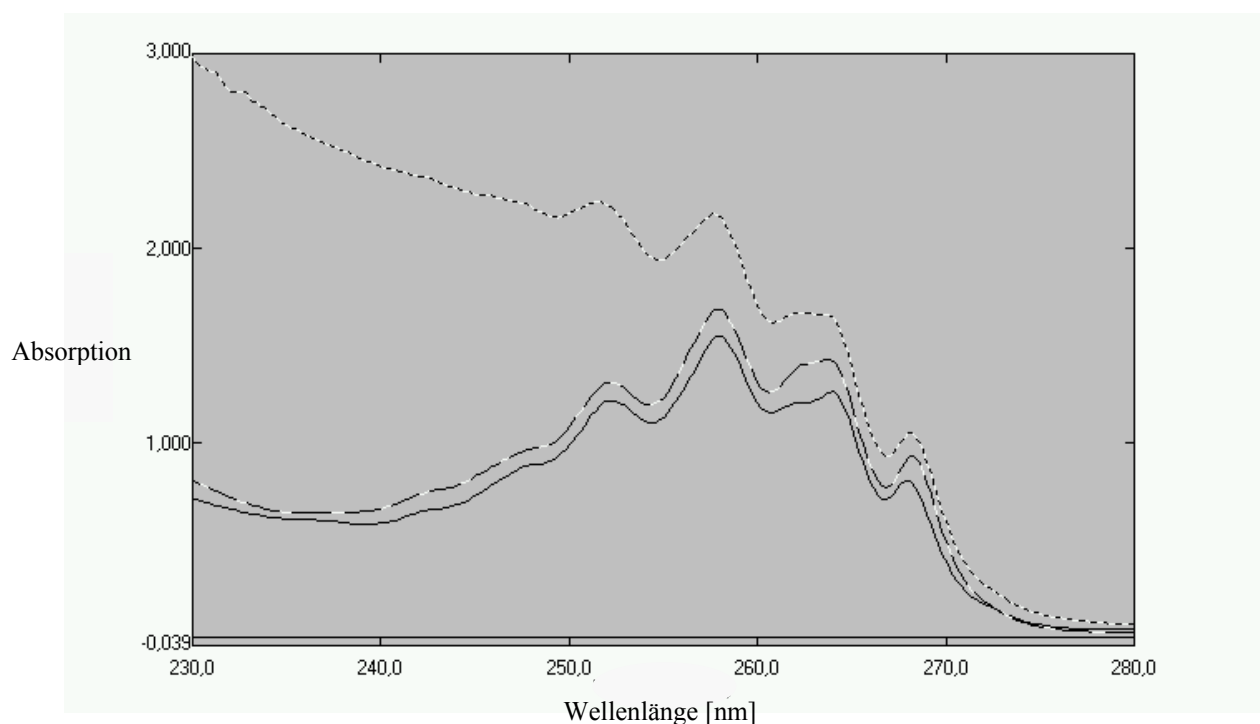


Abbildung 6: UV-Spektren von unsubstituierten- und substituierten Essigsäurebenzylestern. Das UV-Spektrum Diagramm stellt die Absorption von Brom-, Chlor-, und Essigsäurebenzylester bei unterschiedlichen Wellenlängen in nm da. Die Absorption ist die relative UV-Absorption im Vergleich zu einer verwendeten Referenzküvette.

Bromessigsäurebenzylester (gepunktete Linie)

Chloressigsäurebenzylester (gestrichelte Linie)

Essigsäurebenzylester (durchgezogene Linie)

Wie man in Abbildung 6 sieht, liegen die Absorptionsmaxima von unsubstituierter Essigsäurebenzylester sowie Chloressigsäurebenzylester und Bromessigsäurebenzylester bei 258nm in gleicher Größenordnung (1,5-2,2) vor. Da Fluor ebenfalls in die Gruppe der Halogene gehört und sich chemisch ähnlich wie Brom und Chlor verhält, ist daher nicht zu erwarten, dass Fluoressigsäurebenzylester einen wesentlich davon abweichenden Extinktionskoeffizienten aufweist. Der Extinktionskoeffizient ist ein Maß dafür, wie viel elektromagnetische Strahlung eine Substanz (hier die untersuchten Essigsäureester) in molarer Konzentration (hier 7,0mM in Methanol) und bei einer bestimmten Wellenlänge (Absorptionsmaxima liegen bei 258nm) absorbiert.

Daher kann die mittels Chloressigsäurebenzylester aufgenommene Eichkurve (Abbildung 7) zur Quantifizierung von Fluoressigsäurebenzylester herangezogen werden.

Über die experimentell bestimmte Nachweisgrenze von Chloressigsäurebenzylester (bei 254nm) kann man annehmen, dass dies auch in sehr guter Näherung die Nachweisgrenze von Fluoressigsäurebenzylester ist.

Um diese Nachweisgrenze experimentell zu bestimmen, wurden verschieden konzentrierte Lösungen von Chloressigsäurebenzylester in Acetonitril erstellt und jeweils 25µl dieser Lösungen mittels HPLC analysiert (siehe Abbildung 7).

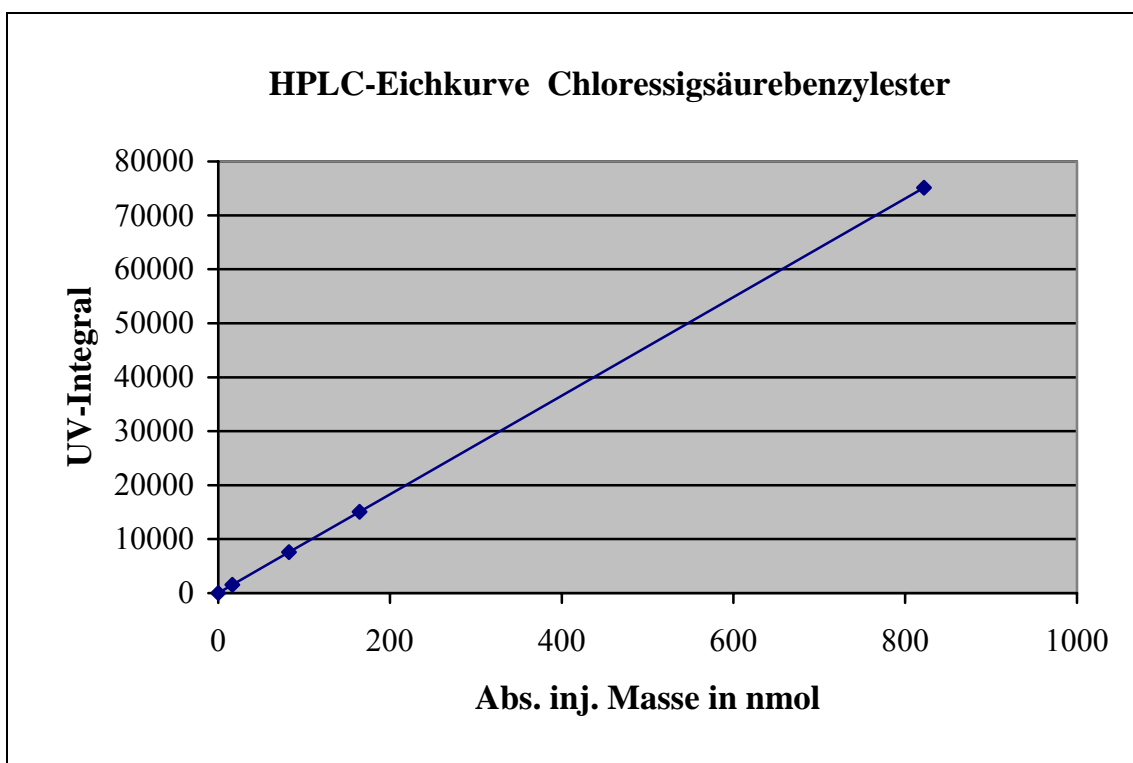


Abbildung 7: Eichkurve zur Massenbestimmung von Chloressigsäurebenzylester mittels HPLC.

UV-Detektion bei 254nm; RP-18 Säule der Fa. CS-Chromatographie

Gradient: A nach 60% B in 30min.

A=TEAP; B=Acetonitril

Die Bestimmungsgrenze für Chloressigsäurebenzylester lag bei 16,4nmol, während die Nachweisgrenze bei ca. 5nmol lag. Unter der Voraussetzung, das Fluoressigsäurebenzylester, keine stark von der Chlorverbindung abweichende UV-Extinktionseigenschaften aufweist, kann auch hier von einer Nachweisgrenze von 5nmol absolut ausgegangen werden.

Injektionen von 25µl (also 1/20 der Gesamtlösung) der Reaktionslösung zur Herstellung von ^{18}F -Fluoressigsäurebenzylester (durch nukleophile Substitution an Bromessigsäurebenzylester) zeigten im UV-Kanal (in der Region des Fluoressigsäurebenzylesters) keine Signale, die über das Untergrundrauschen hinausgingen und somit also unterhalb der Nachweisgrenze von 5nmol lagen. Durch Multiplikation mit dem Faktor 20 (um den gesamten Reaktionsansatz zu berücksichtigen) ergibt sich somit ein experimentell bestimmter Gehalt von unter 100nmol Fluoressigsäurebenzylester im gesamten Reaktionsansatz.

(entsprechend 16900ng oder 16,7 μ g Fluoressigsäurebenzylester bzw. nach der Verseifung des Esters von maximal 7,8 μ g Fluoressigsäure).

Bei einer Toxizität (LD_{50}) des ^{18}F -Fluoracetat am Menschen von etwa 2mg/kg entsprechend 100mg für eine Person mit 50kg Gewicht liegt also die maximal verabreichte Menge von < 7,8 μ g weit unterhalb (Faktor > 12.000) dieser Menge. Toxische Nebenwirkungen waren daher nicht zu erwarten.

Tatsächlich dürfte die in einer ^{18}F -Fluoracetatpräparation vorliegende Menge von stabilem Fluoracetat noch wesentlich niedriger liegen, da die spezifische Aktivität von ^{18}F -Fluorid bei Standardbestrahlbedingungen des Zyklotrons (Dualbeambetrieb, 30 μ A Strahlstrom; 1 Stunde Strahldauer) bei etwa 15-30Ci/ μ mol liegt.

Bei einer injizierten Menge von 10mCi (Standardaktivität vieler ^{18}F -PET-Untersuchungen) entspricht dies etwa 0,75-1,5nmol Fluorid.

Da die verwendeten Chemikalien zur Synthese des ^{18}F -Fluoressigsäurebenzylesters (ausgehend vom ^{18}F -Fluorid) kaum weitere Einschleppungen von Spuren stabilen Fluors erwarten lassen, dürften die tatsächlich vorliegenden Massen von ^{19}F -Fluoracetat in einer ^{18}F -Fluoracetatpräparation in einem Bereich von 1-5nmol (entsprechend 0,08-0,38 μ g) liegen.

3.3 Ergebnisse der Zellversuche zur Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat im Vergleich zu ^{18}F -FluordeoxyGlukose (^{18}F -FDG)

Die Ergebnisse dieser Untersuchung werden in Tabelle 7 sowie in den Abbildung 5 und 6 aufgezeigt. Die Werte sind als Prozentdosis des jeweiligen Tracers, von der Gesamtdosis die für den Zellversuch verwendet wurden angegeben.

Bei den Zellversuchen konnte festgestellt werden, dass die Aufnahme von ^{18}F -FDG bei allen Zelllinien, außer bei DU-145 Zellen zu den Zeitpunkten 90 und 120 Minuten, um den Faktor 1,1-2,5 höher war, als die Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat. In Tabelle 7 und Abbildung 5 sind die Zellversuchsdaten für ^{18}F -FDG aller vier Zelllinien (DU-145, PC-3, LNCaP, BPH-1) tabellarisch und graphisch dargestellt.

^{18}F -FDG				
	DU-145	LNCaP	BPH – 1	PC-3
	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
45 Minuten	2,29 ± 0,23	1,50 ± 0,05	4,28 ± 1,77	6,39 ± 2,78
90 Minuten	3,52 ± 0,09	3,82 ± 0,09	4,99 ± 1,38	8,17 ± 2,64
120 Minuten	3,73 ± 0,56	3,68 ± 0,66	5,18 ± 1,96	8,04 ± 2,89
^{18}F -Fluoracetat				
	DU-145	LNCaP	BPH-1	PC-3
	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
45 Minuten	0,92 ± 0,05	0,82 ± 0,06	2,54 ± 1,82	3,83 ± 2,68
60 Minuten	3,00 ± 1,48	1,81 ± 0,09	4,01 ± 2,37	4,53 ± 2,02
90 Minuten	4,23 ± 0,56	1,89 ± 0,14	4,55 ± 2,19	4,79 ± 2,58
120 Minuten	4,14 ± 0,15	1,87 ± 1,31	4,42 ± 1,59	4,80 ± 2,81

Tabelle 7: Mittelwert ± Standardabweichung der Fluoracetat und ^{18}F -FDG Menge auf dem Filter (angegeben in % der eingesetzten ^{18}F -Fluoracetat bzw. ^{18}F -FDG Menge).

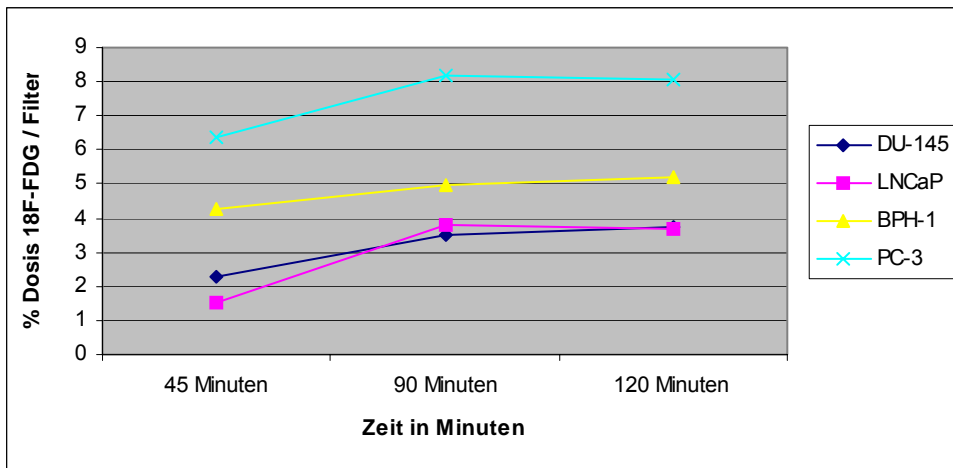


Abbildung 8: Kinetik der Aufnahme von ¹⁸F-FDG in Prostatazellen.

Die graphische Darstellung des zeitlichen Verlaufs (Abbildung 8) der ¹⁸F-FDG Aufnahme der verschiedenen Zelllinien zeigt, dass die maximale Aufnahme nach etwa 90 Minuten erreicht wurde. Die Absolutwerte der Zelllinien DU-145 und LNCaP waren zu allen drei Zeitpunkten (45, 90 und 120 Minuten) sehr ähnlich (2-4% der verwendeten ¹⁸F-FDG Dosis). Hingegen ist die Absolutaufnahme der BPH-1 Zelllinie um den Faktor 1,36-2,25 höher, bei den PC-3 Zellen sogar um den Faktor 2,17-3,36 höher, als bei den PC-3 bzw. DU-145 Zellen.

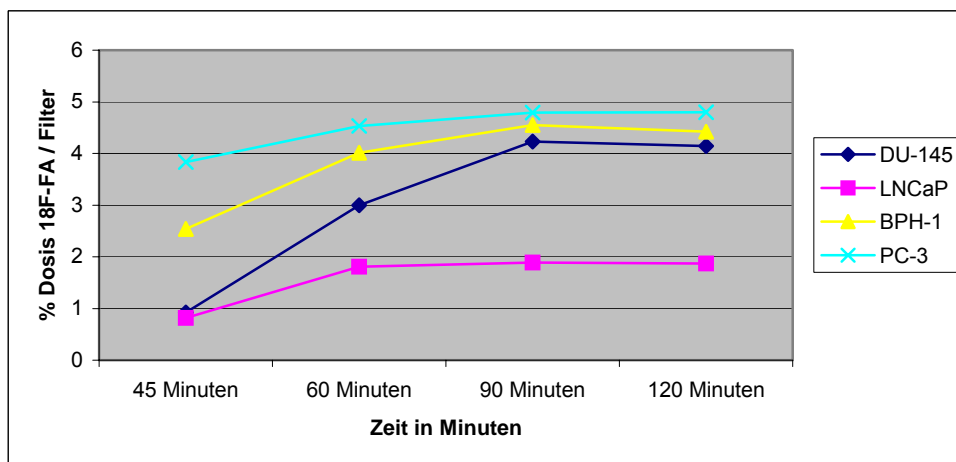


Abbildung 9: Mittelwert der ¹⁸F-FA Dosis aller Zelllinien in %, welche auf dem Filter gemessen wurden.

Der zeitliche Verlauf der Aufnahme von ¹⁸F-Fluoracetat ähnelt dem des FDG. Auch hier ist nach 90 Minuten ein Plateau erreicht. Die Absolutwerte der Anreicherung von ¹⁸F-Fluoracetat war zu

allen Zeitpunkten bei der Zelllinie PC-3 (3,83-4,8%) am höchsten, gefolgt von den BPH-1 Zellen (2,5-4,5%), DU-145 (0,82-4%) und den LNCaP Zellen (0,82-1,89%).

Bei beiden untersuchten Tracern zeigten in Abbildung 8 und 9 die PC-3 Zellen und die BPH-1 Zellen die höchste Aufnahme unter den Zelllinien. Insgesamt war die Aufnahme des ^{18}F -Fluoracetat zu allen Zeitpunkten, außer bei der DU-145 Zelllinie zum Zeitpunkt 90 und 120 Minuten bei dem Tracer ^{18}F -FDG durchschnittlich um den Faktor 1,56 höher.

Dennoch wird ^{18}F -Fluoracetat signifikant in die Zellen aufgenommen. Man kann daher erwarten, dass ^{18}F -Fluoracetat auch in einem intakten Organismus in Tumorzellen aufgenommen werden kann.

3.4 Optimierung der Tumorzellzahl

Vier Mäuse, die eine Zellkonzentration von 1×10^7 Zellen pro Milliliter der PC-3 Zelllinie erhalten haben zeigten nach ca. 3-4 Wochen ein Tumorstadium mit einer Größe von ca. 1cm Durchmesser und einem Volumen von ca. $0,52\text{mm}^3$.

Die Konzentrationen von 5×10^6 Zellen pro Milliliter und jeweils 3 Mäuse mit 1×10^6 Zellen zeigten ähnliches Tumorstadium, jedoch erst nach ca. 5-6 Wochen.

Tiere (4), die mit DU-145 Zellen injiziert wurden zeigten bei 10^7 Zellen Tumorstadium nach 5-6 Wochen, die beiden niedrigeren Konzentrationen nach 6-8 Wochen.

Bei den mit BPH-1 beimpften Tieren zeigt sich das Tumorstadium erst nach 8-10 Wochen. Dabei wuchsen alle Zellkonzentrationen ähnlich gut. Dies zeigt, dass benigne Zellen weniger aggressiv wachsen als maligne Zellen.

Hingegen konnte bei den mit LNCaP behandelten Mäusen erst nach 3 Monaten ein Tumorstadium, bei höchster Konzentration, festgestellt werden. Die niedrigeren Konzentrationen benötigten dazu 5-6 Monate, wobei zwei Mäuse überhaupt keinen Tumor entwickelten (zur Übersicht siehe Tabelle 8).

Zellzahlkonzentration Pro Milliliter	PC-3	Zelllinien DU-145	BPH-1	LNCaP
1 x 10 ⁷ Zellen/ml	3-4 Wochen	5-6 Wochen	8-10 Wochen	3 Monate
5 x 10 ⁶ Zellen/ml	5-6 Wochen	6-8 Wochen	8-10 Wochen	5 Monate
1 x 10 ⁶ Zellen/ml	5-6 Wochen	6-8 Wochen	8-10 Wochen	5-6 Monate

Tabelle 8: Wachstum der Tumorzellen bei den unterschiedlichen Zelllinien mit unterschiedlichen Konzentrationen der Zellen.

In den nachfolgenden Tierversuchen wurden aufgrund der zum Teil langen Wachstumszeit Zellzahlen von 10⁷ Zellen injiziert.

3.5 Ergebnisse der Tierversuche

3.5.1 Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in Tumortragenden Mäusen mit verschiedenen humanen Zelllinien des Prostatakarzinoms

3.5.1.1 Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in PC-3 Tumortragenden Mäusen

Zur Bestimmung der Kinetik und Biodistributionen von ^{18}F -Fluoracetat wurden Biodistributionsstudien an Tumortragenden Mäusen unterschiedlicher Prostatakarzinomzelllinien zu verschiedenen Zeitpunkten (30, 60, 90 Minuten) durchgeführt.

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von ^{18}F -Fluoracetat			
In Organen von Mäusen			
Mittelwert \pm Standardabweichung			
	PC – 3 n = 3	PC – 3 n = 2	PC – 3 n = 2
Organe	30 Minuten	60 Minuten	90 Minuten
Herz	3,03 \pm 1,52	2,44 \pm 0,36	1,81 \pm 0,18
Lunge	3,01 \pm 1,19	2,56 \pm 0,33	1,65 \pm 0,91
Leber	2,95 \pm 1,19	2,19 \pm 1,72	1,52 \pm 1,39
Magen	1,23 \pm 0,78	0,95 \pm 0,39	0,91 \pm 0,79
Dünndarm	3,86 \pm 1,52	2,80 \pm 0,72	1,76 \pm 0,35
Dickdarm	6,22 \pm 1,34	5,61 \pm 2,73	6,07 \pm 2,17
Nieren	3,23 \pm 2,17	2,88 \pm 1,07	1,76 \pm 1,13
Milz	2,76 \pm 1,34	2,53 \pm 0,96	1,71 \pm 1,05
Femur	2,87 \pm 0,92	2,42 \pm 1,02	1,83 \pm 0,83
Muskel	2,04 \pm 0,86	1,72 \pm 1,01	1,02 \pm 0,75
Tumor	3,95 \pm 0,81	2,95 \pm 0,24	2,27 \pm 0,35
Blut	2,79 \pm 1,56	2,09 \pm 1,93	1,83 \pm 0,99
Gehirn	1,16 \pm 0,52	1,10 \pm 0,22	1,05 \pm 0,35
Tumor/Blut Verhältnis	1,42 \pm 0,52	1,41 \pm 0,12	1,24 \pm 0,35

Tabelle 9: Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat in einzelnen Organen [% inj. Dosis/g].

Die Ergebnisse, die in Tieren mit PC-3 Tumoren erhalten wurden sind in Tabelle 9 zusammengefasst und in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

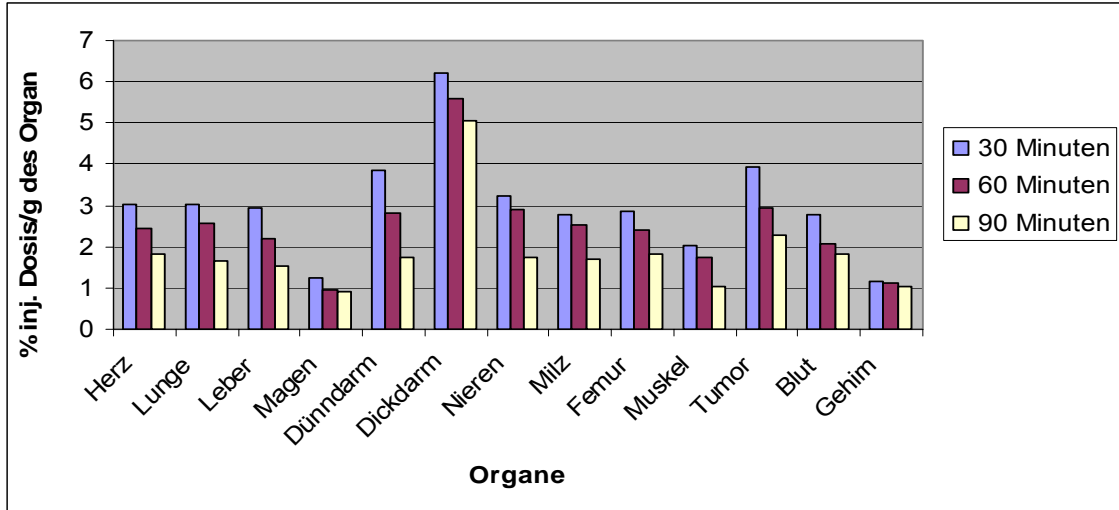


Abbildung 10: Biodistribution PC-3 tragender Mäuse zu den Zeitpunkten 30, 60 und 90 Minuten. Angegeben wird der Mittelwert der injizierten Dosis pro Gramm des Organes [% inj. Dosis/g].

Die Ergebnisse zeigen für sämtliche Organe einen ähnlichen, zeitlich abnehmenden, Verlauf. Die Anreicherung des ^{18}F -Fluoracetat in den Organen Herz, Lunge, Leber, Nieren Milz und Femur weisen ähnliche Werte zwischen 2,76%-3,23% (Zeitpunkt 30 Minuten) auf. Die höchsten Werte werden im Darmtrakt gefunden. ^{18}F -Fluoracetat wird somit hauptsächlich biliär ausgeschieden.

Dies stellt eine Überraschung dar, da für ein kleines, hochpolares und negativ geladenes Molekül eher eine prädominant renale Ausscheidung erwartet wurde.

3.5.1.2 Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen

In Tabelle 10 und Abbildung 11 sind die Ergebnisse der ^{18}F -Fluoracetat Biodistribution von DU-145 Zelltumorentragenden Tieren dargestellt. In dieser Versuchsreihe wurden zusätzlich auch Tiere zum Zeitpunkt von 180 Minuten untersucht. Die Biodistributionsdaten dieses DU-145 Tumortragenden Mäuse, zeigen gegenüber den PC-3 Zellentragenden Mäusen zu allen Zeitpunkten ähnliche Absolutwerte der Anreicherung sowie ähnliche Organverhältnisse auf.

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von Fluoracetat in Organen von Mäusen				
Mittelwert \pm Standardabweichung				
	DU – 145 n = 5	DU – 145 n = 5	DU – 145 n = 2	DU – 145 n = 3
Organe	30 Minuten	60 Minuten	90 Minuten	180 Minuten
Herz	3,69 \pm 1,73	2,71 \pm 1,12	1,92 \pm 0,96	0,99 \pm 0,01
Lunge	3,14 \pm 1,74	2,48 \pm 1,34	1,86 \pm 1,07	0,81 \pm 0,06
Leber	3,04 \pm 1,37	2,40 \pm 1,06	1,74 \pm 0,31	1,33 \pm 0,31
Magen	1,27 \pm 0,71	1,07 \pm 0,81	1,01 \pm 0,06	0,53 \pm 0,01
Dünndarm	3,18 \pm 1,38	2,81 \pm 1,51	1,85 \pm 0,91	1,55 \pm 0,28
Dickdarm	6,58 \pm 0,52	5,30 \pm 1,46	4,34 \pm 1,97	4,96 \pm 1,57
Nieren	3,78 \pm 1,15	2,85 \pm 1,23	2,41 \pm 1,51	1,89 \pm 0,29
Milz	2,82 \pm 1,66	2,50 \pm 1,42	2,09 \pm 0,85	1,12 \pm 0,17
Femur	2,69 \pm 1,17	2,48 \pm 1,02	2,06 \pm 0,35	1,96 \pm 0,35
Muskel	2,37 \pm 1,30	1,83 \pm 1,45	1,25 \pm 0,43	0,69 \pm 0,14
Tumor	3,56 \pm 1,31	2,95 \pm 1,63	2,14 \pm 0,93	1,83 \pm 0,27
Blut	3,02 \pm 1,85	2,16 \pm 1,47	2,04 \pm 0,54	1,50 \pm 0,54
Gehirn	1,92 \pm 1,02	1,69 \pm 1,28	1,79 \pm 0,35	0,79 \pm 0,18
Tumor/Blut				
Verhältnis	1,18 \pm 0,71	1,36 \pm 1,11	1,22 \pm 0,50	1,22 \pm 0,50

Tabelle 10: Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat in einzelnen Organen, angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung in [% inj. Dosis/g].

Tabelle 10 und die Abbildung 11 zeigen weiterhin, dass die Anreicherungen von Tumor zu Blut immer über 1 (1,18-1,36% inj. Dosis/g) lagen. Dieses Verhältnis ist wichtig um einzuschätzen, ob tatsächlich eine Anreicherung im Tumor stattfindet oder die Darstellung des Tumors nur mit der Durchblutung zusammenhängt.

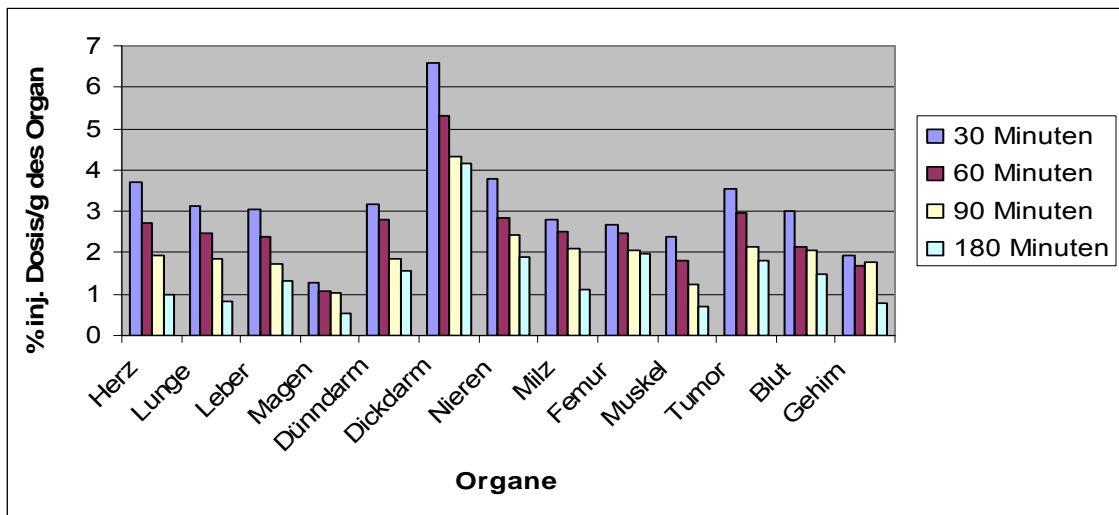


Abbildung 11: Biodistribution DU-145 tragender Mäuse zu den Zeitpunkten 30, 60, 90 Minuten angegeben wird der Mittelwert der injizierten Dosis pro Masse [% inj. Dosis/g].

3.5.1.3 Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in LNCaP Tumortragenden Mäusen

Tabelle 11 zeigt die Biodistributionsdaten und Abbildung 12 eine graphische Darstellung der Ergebnisse der LNCaP Tumorzelltragenden Tiere.

Aufgrund der schwierigen Anzucht konnten nur 6 Mäuse mit dieser Zelllinie untersucht werden.

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von Fluoracetat			
In Organen von Mäusen			
Mittelwert \pm Standardabweichung			
	LNCaP	LNCaP	LNCaP
	n = 2	n = 2	n = 2
Organe	30 Minuten	60 Minuten	90 Minuten
Herz	3,24 \pm 0,48	2,14 \pm 1,07	1,84 \pm 0,35
Lunge	2,65 \pm 0,25	2,31 \pm 0,64	1,67 \pm 0,35
Leber	2,81 \pm 0,32	1,97 \pm 0,73	1,62 \pm 0,34
Magen	1,38 \pm 0,01	0,87 \pm 0,31	0,77 \pm 0,20
Dünndarm	3,68 \pm 0,56	1,89 \pm 0,68	1,77 \pm 0,37
Dickdarm	6,58 \pm 1,83	5,46 \pm 2,16	4,15 \pm 1,75
Nieren	3,53 \pm 0,34	2,55 \pm 0,58	1,60 \pm 0,06
Milz	2,27 \pm 1,40	1,82 \pm 0,50	1,32 \pm 0,31
Femur	2,87 \pm 1,07	2,17 \pm 2,76	1,78 \pm 1,28
Muskel	1,99 \pm 0,28	1,73 \pm 0,49	1,03 \pm 1,67
Tumor	4,30 \pm 0,54	2,69 \pm 0,27	2,02 \pm 0,54
Blut	3,13 \pm 0,61	2,01 \pm 0,67	1,55 \pm 0,19
Gehirn	1,71 \pm 0,23	0,87 \pm 0,65	0,67 \pm 0,29
Tumor/Blut			
Verhältnis	1,37 \pm 0,88	1,33 \pm 0,40	1,30 \pm 2,84

Tabelle 11: Fluoracetat Verteilung in [% inj. Dosis/g] in LNCaP Mäusen.

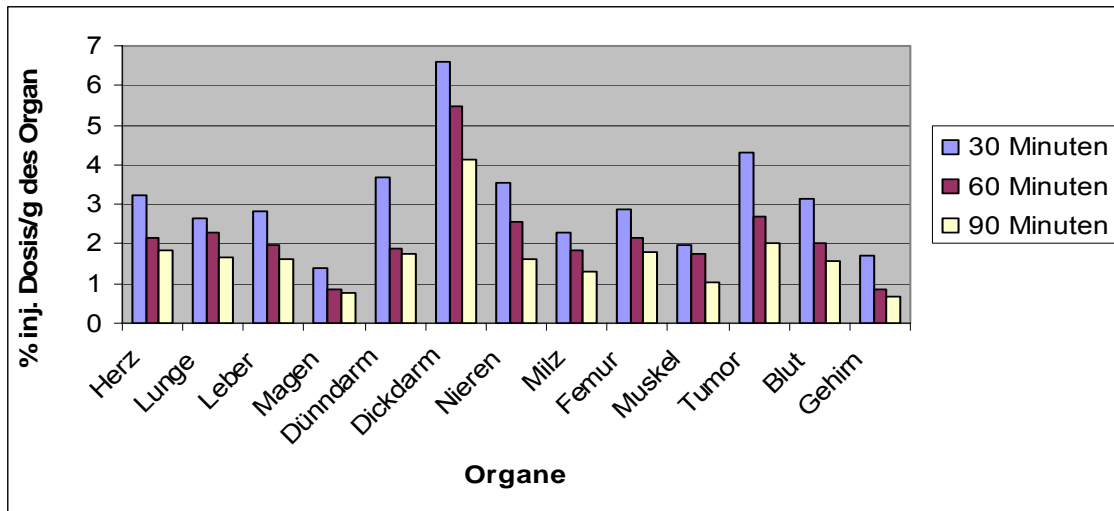


Abbildung12: Biodistribution LNCaP-Zellen tragender Mäuse zu den Zeitpunkten 30, 60 und 90 Minuten. (Angegeben wird die injizierte Dosis pro Gramm des Organs [% inj. Dosis/g]).

Man erkennt, dass die Anreicherungswerte für die einzelnen Organe wie Herz, Lunge, Leber, Magen, Dünndarm usw. bei dieser Untersuchungsreihe im Vergleich zu den anderen ^{18}F -Fluoracetat Biodistributionen ähnliche Werte aufweisen.

Auch hier lässt sich feststellen, dass höhere Werte im Darmtrakt gefunden werden als in den Nieren.

Das Tumor- zu Blutverhältnis hat einen Wert von 1,30-1,37 zu allen Untersuchungszeitpunkten, so dass eine bildliche Darstellung des Tumors erwartet werden kann.

3.5.1.4 Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in BPH-1 Tumortragenden Mäusen

Biodistributionsdaten sowie die Anreicherungs kinetik der Mäuse denen BPH-1 Zellen injiziert wurden, sind in Tabelle 12 gelistet und in Abbildung 13 graphisch dargestellt. Mangels Zellen konnten nur jeweils zwei Untersuchungen zu den gewählten Zeitpunkten 30 Minuten und 60 Minuten durchgeführt werden.

Die Anreicherungsdaten von ^{18}F -Fluoracetat in den einzelnen Organen der BPH-1 Zellen tragenden Tiere zeigen wieder ein ähnliches Muster, im Vergleich zu anderen Tumortragenden Tieren.

Das Tumor/Blutverhältnis ist bei beiden untersuchten Zeitpunkten über 1 (1,11 und 1,26% inj. Dosis pro Organmasse).

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von Fluoracetat in Organen von Mäusen		
Mittelwert \pm Standardabweichung		
	BPH-1 n = 2	BPH-1 n = 2
Organe	30 Minuten	60 Minuten
Herz	3,29 \pm 0,63	2,45 \pm 0,23
Lunge	3,32 \pm 0,09	2,18 \pm 0,15
Leber	3,03 \pm 0,27	2,51 \pm 0,19
Magen	1,25 \pm 0,07	0,95 \pm 0,11
Dünndarm	3,38 \pm 1,13	2,68 \pm 0,18
Dickdarm	5,62 \pm 2,26	5,32 \pm 0,78
Nieren	3,28 \pm 0,54	2,09 \pm 0,36
Milz	2,84 \pm 0,36	1,97 \pm 0,05
Femur	2,75 \pm 0,18	1,97 \pm 0,61
Muskel	1,99 \pm 1,08	1,63 \pm 0,01
Tumor	3,23 \pm 0,09	2,88 \pm 0,48
Blut	2,92 \pm 0,55	2,28 \pm 0,27
Gehirn	1,05 \pm 0,01	1,13 \pm 0,25
Tumor/Blut Verhältnis	1,11 \pm 0,16	1,26 \pm 1,78

Tabelle 12: Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat in einzelnen Organen, angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung in [% inj. Dosis/g]

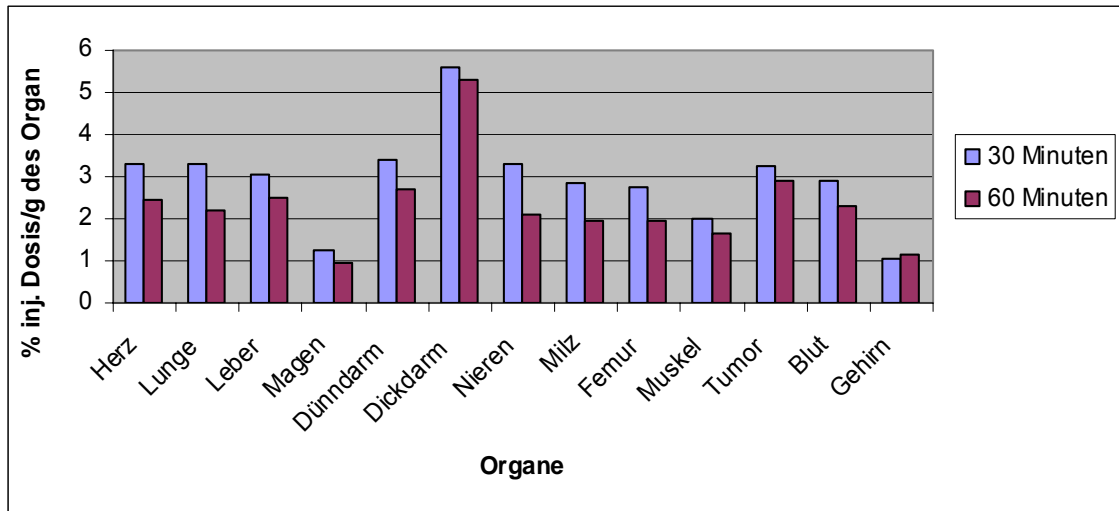


Abbildung 13: Biodistribution BPH-1-Zellen tragender Mäuse zu den Zeitpunkten 30 und 60 Minuten. (Angegeben wird die injizierte Dosis pro Gramm des Organs [% inj. Dosis/g]).

3.5.2 Zusammenfassender Vergleich der Kinetik und Biodistributionen aller untersuchten Zelllinien

In diesem Kapitel die Werte der Biodistributionen der vier verschiedenen Zelllinien (PC-3, DU-145, LNCaP und BPH-1) zu den Zeitpunkten 30, 60 und 90 Minuten zusammenfassend dargestellt werden.

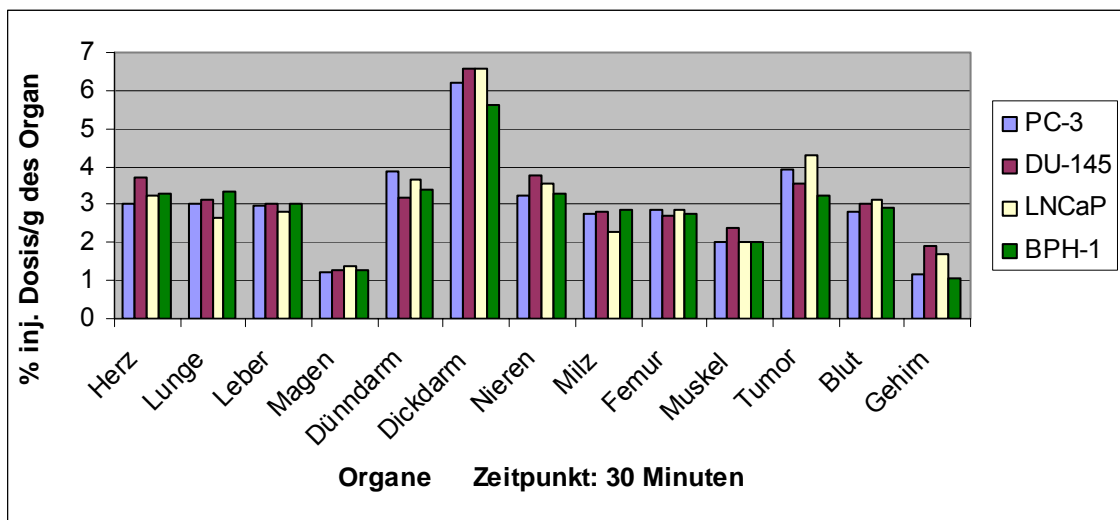


Abbildung 14: Vergleich der Biodistributionsdaten der Zelllinien PC-3, DU-145, LNCaP und BPH-1 zum Zeitpunkt 30 Minuten. (Angabe in [% inj. Dosis/g]).

In Abbildung 14 sind die Biodistributionsdaten von Mäusen zum Zeitpunkt 30 Minuten dargestellt.

Für alle untersuchten Tumorvarianten ergibt sich ein einheitliches Verteilungsmuster ohne besondere Auffälligkeiten. Auch die Anreicherungen im Tumor selber unterscheiden sich nicht wesentlich.

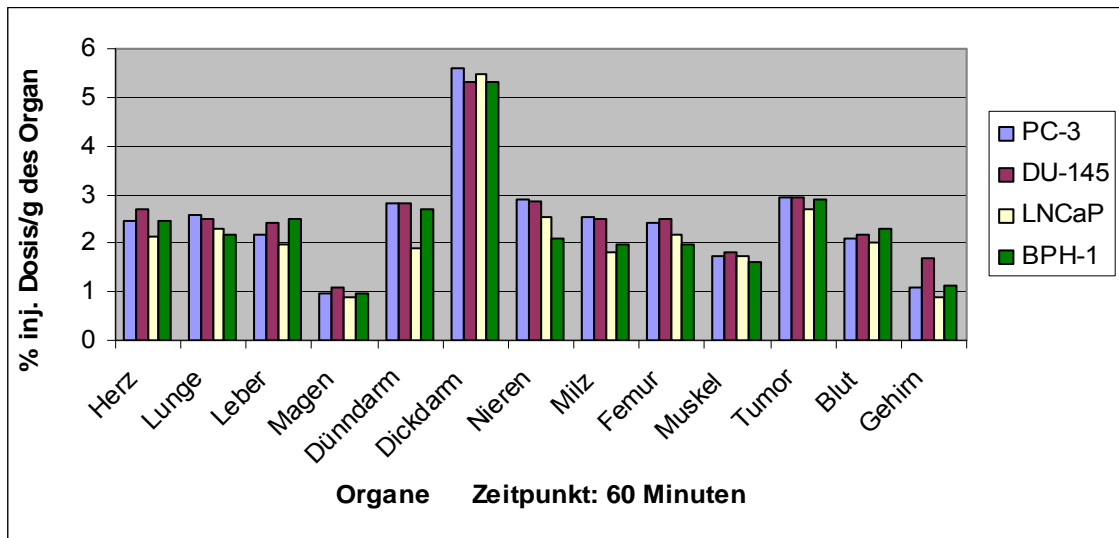


Abbildung 15: Alle Biodistributionen der Mäuse mit allen vier Zelllinien (PC-3, DU-145, LNCaP, BPH-1) zum Zeitpunkt 60 Minuten angegeben in [% inj. Dosis/g] der Organe.

Auch der ^{18}F -Fluoracetat-Uptake in den einzelnen Organen der Mäuse zum Zeitpunkt von 60 Minuten (Abbildung 15) zeigt ein ähnlich einheitliches Bild.

Das Tumor- zu Blutverhältnis ist zu diesem Zeitpunkt jedoch günstiger als bei 30 Minuten.

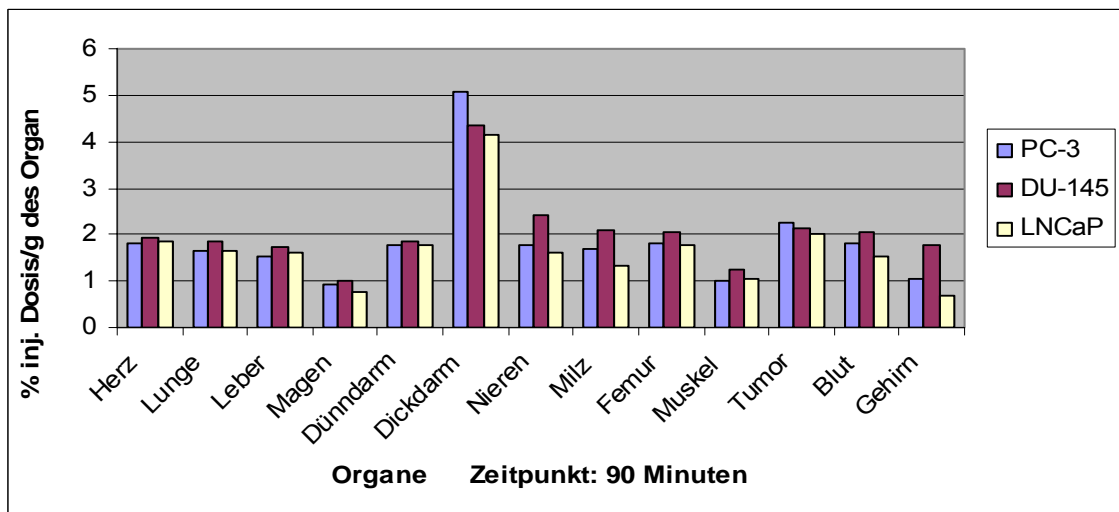


Abbildung 16: Alle Biodistributionen der Mäuse mit den Zelllinien (PC-3, DU-145, LNCaP) zum Zeitpunkt 90 Minuten angegeben in [% inj. Dosis/g] der Organe.

Die in Abbildung 16 dargestellten Biodistributionen zeigten nur drei der vier Zelllinien, da zu diesem Zeitpunkt (90 Minuten) keine BPH-1 tragenden Tiere zur Verfügung standen.

Zum Zeitpunkt 90 Minuten weisen die DU-145 Zellen in allen Organen, mit Ausnahme des Dickdarms und des Tumors (PC-3), die höchsten Werte auf. Die geringste Anreicherung wurde wie zum Zeitpunkten 60 Minuten bei den LNCaP Zellenträgenden Mäusen vorgefunden, wobei die Werte denen der PC-3 Zellenträgenden Tiere in den Organen Leber, Lunge, Dünndarm Femur und Muskel ähnlich waren.

Insgesamt ist festzustellen, dass sich die Werte und die Verhältnisse der einzelnen Organe, sowie der Zelllinien untereinander sehr ähnlich verhalten haben.

3.5.3 Vergleich von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat in einem duallabeling Experiment mit Tumortragenden Mäusen der Zelllinien PC-3 und DU-145

3.5.3.1 ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat Aufnahme bei PC-3 Mäusen

Das duallabeling Experiment wurde mit ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat (Rc American labeled chemicals Inc.) als kombinierte Injektion durchgeführt.

Durch diesen Versuch sollten Daten geliefert werden, die es ermöglichen ^{18}F -Fluoracetat mit Acetat (Tritiumacetat), unter exakt gleichen Bedingungen zu vergleichen.

Die Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat mit menschlichen Tumorzellen in-vivo an immuninkompetenten, ca. 10-12 Wochen alten Mäusen (NMRI-NUDE), hat die in Tabelle 13 gelisteten Daten geliefert.

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von ^{18}F -Fluor und Tritiumacetat						
In Organen von Mäusen						
(Mittelwert \pm Standardabweichung)						
Organe	^{18}F -Fluoracetat			Tritiumacetat		
	PC – 3 n = 4	PC – 3 n = 4	PC – 3 n = 6	PC – 3 n = 4	PC – 3 n = 4	PC – 3 n = 6
	30 Minuten	60 Minuten	180 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	180 Minuten
Herz	3,56 \pm 1,59	2,88 \pm 1,98	2,29 \pm 2,18	2,64 \pm 0,45	2,34 \pm 0,46	2,35 \pm 1,00
Lunge	3,26 \pm 1,69	2,92 \pm 1,59	1,79 \pm 1,04	2,51 \pm 0,60	2,29 \pm 0,66	2,01 \pm 0,89
Leber	3,38 \pm 1,12	3,03 \pm 0,90	1,51 \pm 0,67	0,39 \pm 0,10	0,35 \pm 0,10	0,32 \pm 0,12
Magen	1,31 \pm 1,36	1,29 \pm 0,38	0,97 \pm 1,16	0,16 \pm 0,09	0,25 \pm 0,10	0,27 \pm 0,10
Dünndarm	3,67 \pm 2,41	3,02 \pm 2,00	2,94 \pm 2,37	0,43 \pm 0,06	0,46 \pm 0,11	0,38 \pm 0,15
Dickdarm	6,24 \pm 2,74	5,81 \pm 1,99	5,86 \pm 2,57	0,37 \pm 0,12	0,42 \pm 0,15	0,35 \pm 0,18
Nieren	3,83 \pm 0,87	2,96 \pm 1,31	1,91 \pm 1,04	1,55 \pm 0,52	1,50 \pm 0,46	1,16 \pm 0,45
Milz	3,03 \pm 2,29	2,58 \pm 0,96	1,35 \pm 0,34	2,78 \pm 0,77	2,53 \pm 1,02	2,46 \pm 1,17
Femur	2,96 \pm 1,73	2,63 \pm 4,62	1,47 \pm 0,31	1,78 \pm 0,43	1,83 \pm 0,48	1,65 \pm 0,85
Muskel	2,09 \pm 0,44	1,45 \pm 1,02	0,99 \pm 0,22	2,44 \pm 0,29	2,18 \pm 0,61	1,93 \pm 0,85
Tumor	3,12 \pm 1,15	3,44 \pm 1,97	1,91 \pm 0,45	1,79 \pm 1,28	1,19 \pm 0,28	0,93 \pm 0,57
Blut	2,99 \pm 1,72	2,53 \pm 0,92	1,50 \pm 0,61	1,58 \pm 0,48	1,23 \pm 0,49	0,89 \pm 0,55
Gehirn	1,22 \pm 0,87	1,01 \pm 0,41	0,63 \pm 0,19	1,49 \pm 0,32	1,40 \pm 0,63	1,01 \pm 0,41
Tumor/Blut						
Verhältnis	1,04 \pm 0,67	1,36 \pm 2,14	1,27 \pm 0,74	1,13 \pm 2,67	0,96 \pm 0,57	1,04 \pm 1,04

Tabelle 13: Anreicherung von Fluoracetat und Tritiumacetat in einzelnen Organen in PC-3 Zellen tragenden Mäusen. (Angegeben in [% inj. Dosis/g]; n= Anzahl der Mäuse).

In Abbildung 17 ist die Kinetik der ^{18}F -Fluoracetat Biodistributionsdaten allein graphisch aufgetragen (Tritiumacetat findet sich in Abbildung 18).

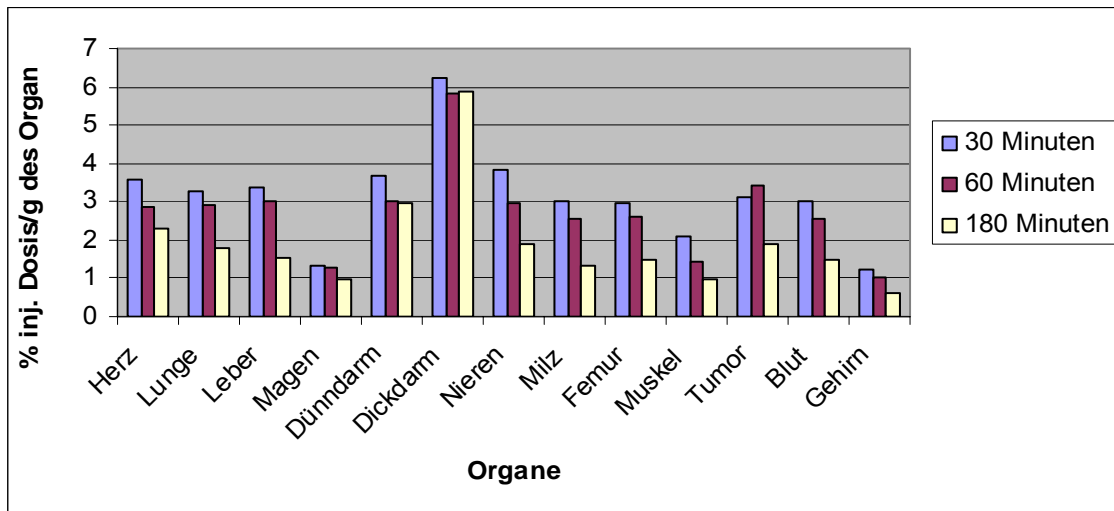


Abbildung 17: Biodistribution von PC-3 Zellen tragenden Mäusen, welchen Fluoracetat und Tritiumacetat injiziert wurde. Gemessen werden die Zeitpunkte 30, 60 und 180 Minuten. Die Fluoracetatwerte werden als injizierte Dosis pro Masse, also pro Gramm [% inj. Dosis/g] der Organe angegeben.

Bei Betrachtung von Abbildung 17 fällt auf, dass die Werte zum Zeitpunkt 180 Minuten erwartungsgemäß in fast allen Organen abnehmen. Die Organverhältnisse sind zu allen Zeitpunkten ähnlich, wobei die Werte, mit Ausnahme des Dickdarms als Endausscheidungsorgan, mit der Zeit abnehmen. Die Werte innerhalb einzelner Organe zum Zeitpunkt 180 Minuten im Vergleich zum Zeitpunkt 30 Minuten nehmen um den Faktor 1-2 ab. Bei einem Vergleich der Werte von Tabelle 13 (Doppelmarkierungsexperiment) mit den PC-3 Tumorzelltragenden Mäusen des Einzelmarkierungsexperimentes (Tabelle 10) zeigen sich keine wesentlichen Änderungen.

Abbildung 18 stellt die Kinetik der Biodistributionsdaten der PC-3 Zelltragenden Mäuse mit Tritiumacetat graphisch dar.

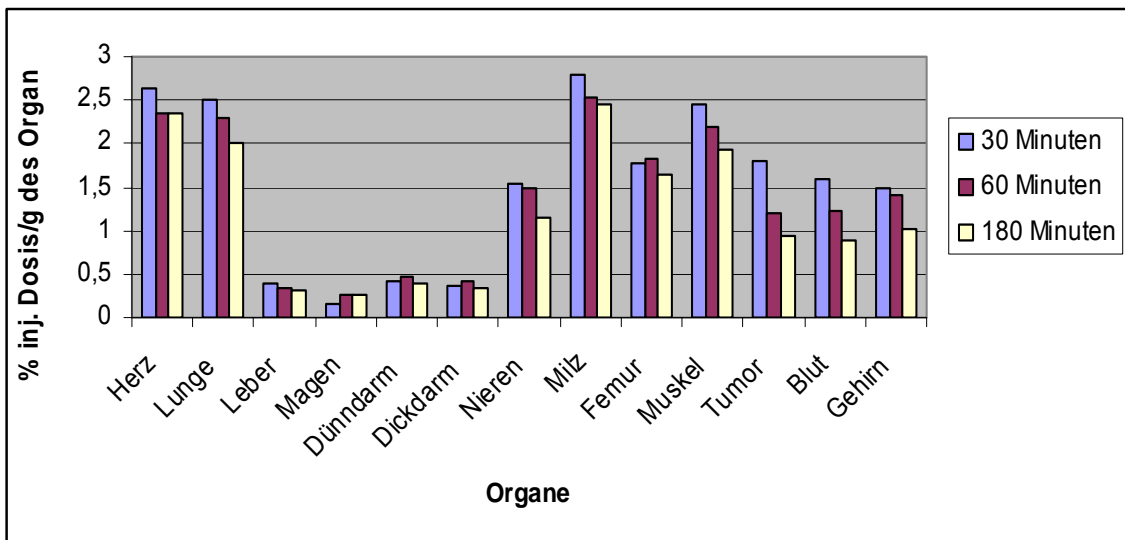


Abbildung 18: Biodistribution von PC-3 Zellen tragenden Mäusen, denen ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat injiziert wurde. Gemessen werden die Zeitpunkte 30, 60 und 180 Minuten. Die Tritiumacetatwerte werden als injizierte Dosis pro Masse, also pro Gramm [% inj. Dosis/g] der Organe angegeben.

Die Werte (Abbildung 14) nehmen mit der Zeit um den Faktor 1-1,7 ab. Lediglich die Anreicherung im Magen nimmt zum Zeitpunkt 180 Minuten um das 1,6fache zu. Diese Werte hängen jedoch stark von der Füllung des Magens ab.

Bei einem Vergleich der Anreicherungen von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat bei den PC-3 Zellenträgenden Mäusen in Abbildung 17 und 18 fällt auf, dass die Werte der Tritiumacetat Anreicherung allgemein um den Faktor 2 niedriger liegen, obwohl Organverhältnisse ähnlich hohe Werte aufweisen. Die größten Unterschiede finden sich im Darmtrakt. Während die ^{18}F -Fluoracetat-Anreicherung im Dickdarm durchschnittlich bei 5,97% liegt, wurden bei Tritiumacetat nur Werte von 0,42% erreicht. Somit liegt die ^{18}F -Fluoracetat-Anreicherung im Dickdarm um den Faktor 14 höher. Ebenso sind die Anreicherungs-werte im Dickdarm bei ^{18}F -Fluoracetat mit 3,21% um den Faktor 7 höher als bei Tritiumacetat (0,42%). Die Ausscheidung des Tritiumacetats erfolgt somit, im Gegensatz zum ^{18}F -Fluoracetat, nicht über den Darmtrakt.

3.5.3.2 Biodistributionen von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen

Die zeitabhängige Verteilung von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat in DU-145 Tumortragenden Tieren ist in Tabelle 14 zusammengefasst.

Anreicherung [% inj. Dosis/g] von ^{18}F -Fluor und Tritiumacetat (Mittelwert \pm Standardabweichung)					in Organen von Mäusen	
Organe	18F-Fluoracetat				Tritiumacetat	
	DU - 145 n = 2	DU - 145 n = 2	DU - 145 n = 2	DU - 145 n = 2	DU - 145 n = 2	DU - 145 n = 2
	30 Minuten	60 Minuten	180 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	180 Minuten
Herz	3,43 \pm 0,17	2,61 \pm 0,07	1,98 \pm 0,35	2,31 \pm 0,01	1,59 \pm 1,02	1,32 \pm 0,64
Lunge	2,91 \pm 0,47	2,18 \pm 0,25	1,57 \pm 0,31	2,88 \pm 0,58	2,37 \pm 0,42	2,04 \pm 0,32
Leber	3,31 \pm 0,33	3,18 \pm 0,01	2,09 \pm 0,71	0,59 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01	0,51 \pm 0,03
Magen	1,72 \pm 0,11	0,97 \pm 0,61	0,83 \pm 1,89	1,33 \pm 0,13	0,78 \pm 0,05	0,41 \pm 0,63
Dünndarm	3,88 \pm 1,63	3,82 \pm 4,10	2,37 \pm 0,21	0,80 \pm 0,18	0,75 \pm 0,03	0,52 \pm 0,34
Dickdarm	6,63 \pm 2,43	5,84 \pm 4,48	4,92 \pm 1,41	0,97 \pm 0,30	0,63 \pm 0,13	0,54 \pm 0,25
Nieren	3,71 \pm 0,77	2,80 \pm 0,18	2,29 \pm 1,71	3,15 \pm 0,52	1,77 \pm 0,27	1,24 \pm 0,35
Milz	2,80 \pm 0,62	2,41 \pm 0,01	2,18 \pm 1,51	3,07 \pm 0,65	2,74 \pm 0,35	2,30 \pm 1,67
Femur	2,88 \pm 1,74	2,17 \pm 0,31	1,64 \pm 4,03	2,42 \pm 0,78	2,26 \pm 1,49	2,08 \pm 0,44
Muskel	2,01 \pm 0,06	1,57 \pm 0,03	1,09 \pm 0,03	2,98 \pm 0,01	2,88 \pm 1,96	2,65 \pm 0,37
Tumor	3,48 \pm 0,11	2,71 \pm 0,25	2,15 \pm 0,45	1,73 \pm 0,11	1,59 \pm 0,09	1,32 \pm 0,69
Blut	2,99 \pm 0,17	2,66 \pm 0,13	2,30 \pm 0,48	1,49 \pm 0,14	1,67 \pm 0,52	1,29 \pm 0,56
Gehirn	1,85 \pm 0,11	1,54 \pm 0,05	1,25 \pm 0,17	1,74 \pm 0,07	1,44 \pm 0,15	1,92 \pm 0,51
Tumor/Blut Verhältnis	1,16 \pm 0,65	1,02 \pm 1,92	0,93 \pm 0,93	1,16 \pm 0,78	0,95 \pm 0,17	1,02 \pm 1,23

Tabelle 14: zeitabhängige Verteilung von Fluoracetat und Tritiumacetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen. ([% inj.Dosis/g]; n = Anzahl der Mäuse)

Graphische Darstellungen der Daten aus Tabelle 14, getrennt nach den beiden koinjizierten Verbindungen finden sich in Abbildung 19 (^{18}F -Fluoracetat) und in Abbildung 20 (Tritiumacetat).

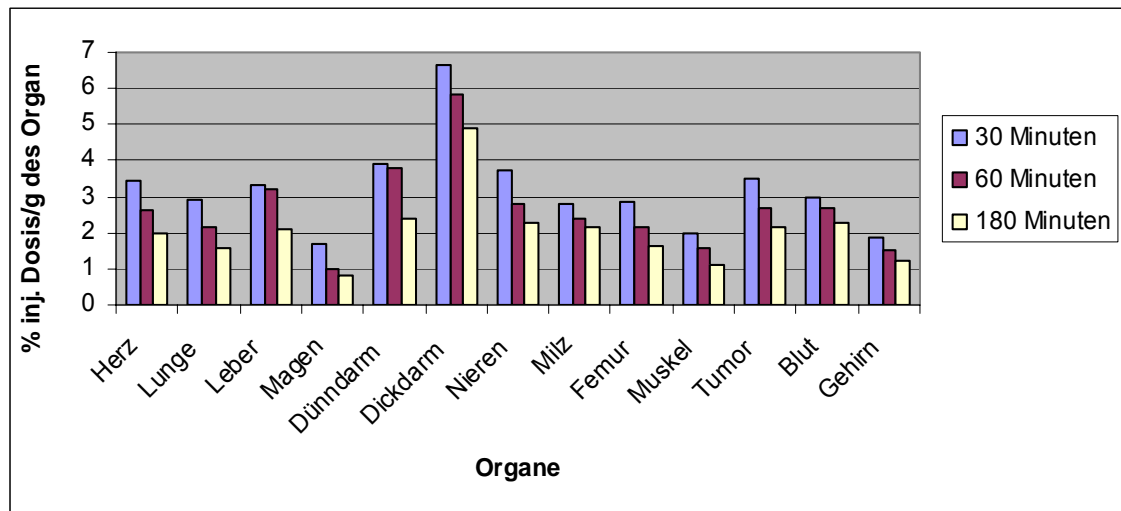


Abbildung 19: Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen; ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat wurden koinjiziert. 30, 60 und 180 Minuten p.i. [% inj. Dosis/g].

Die Daten aus Tabelle 14 und Abbildung 19 zeigen eine relativ homogene Verteilung von ^{18}F -Fluoracetat in den Organen Herz, Lunge, Leber, Milz, und im Blut, sowie eine etwas geringere Anreicherung im Magen.

Die Ausscheidung von ^{18}F -Fluoracetat erfolgt überwiegend über den Darm und in einem geringen Ausmaß über Nieren und Blase. Die Anreicherung im Tumor ist ähnlich wie in den oben erwähnten Organen mit etwa ausgeglichenem Tumor/Blutverhältnissen. Die zeitliche Änderung ist ebenfalls recht homogen über sämtliche Organe zu beobachten. Die Werte fallen im Beobachtungszeitraum von 30-180 Minuten p.i. auf ca. 50-75% ihrer Ausgangswerte ab.

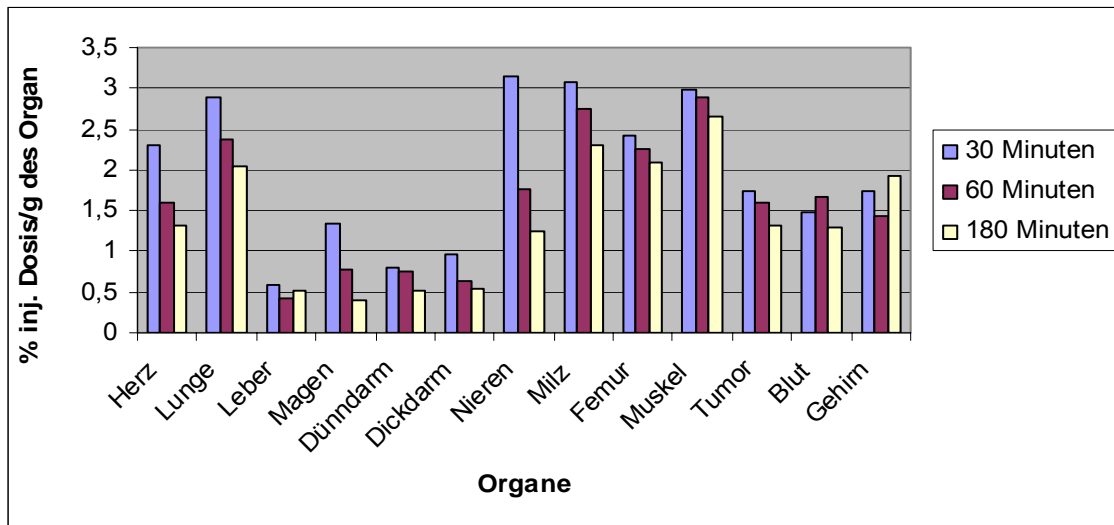


Abbildung 20: Biodistribution von Tritiumacetat in DU-145 Tumortragenden Mäusen; ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat wurden koinjiziert. 30, 60 und 180 Minuten p.i. [% inj. Dosis/g].

Aus Abbildung 20 kann man entnehmen, dass die Tritiumacetatausscheidung deutlich weniger über den Magen-Darmtrakt stattfindet und mehr über die Nieren ausgeschieden wird. Die Tritiumacetatwerte liegen im Dickdarm um den Faktor 8,4 und im Dünndarm um den Faktor 4,87 niedriger, als bei ^{18}F -Fluoracetat. Dabei ist zu beachten, dass bei Tritiumacetat allgemein sehr viel niedrigere Werte vorlagen. In den Nieren finden sich Werte um 3,15-1,24% der injizierten Dosis pro Gramm Organgewicht, während hingegen die Werte im Darmtrakt nur um 0,52-0,97%/g lagen.

Abgesehen von den Ausscheidungsorganen wird Tritiumacetat in DU-145 Tumorzellenträgenden Mäusen hauptsächlich in Muskel, Femur, Milz, Lunge und Herz aufgenommen.

Die Verteilung ist ähnlich homogen wie bei ^{18}F -Fluoracetat und auch in kinetischer Hinsicht vergleichbar.

3.5.3.3 Zusammenfassender Vergleich der Kinetik und Biodistribution von ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat bei PC-3 und DU-145 Tumortragenden Mäusen

In diesem Kapitel soll der Vergleich der beiden Tracer, ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat, noch einmal zusammenfassend für die beiden verwendeten Zelllinien PC-3 und DU-145 dargestellt werden.

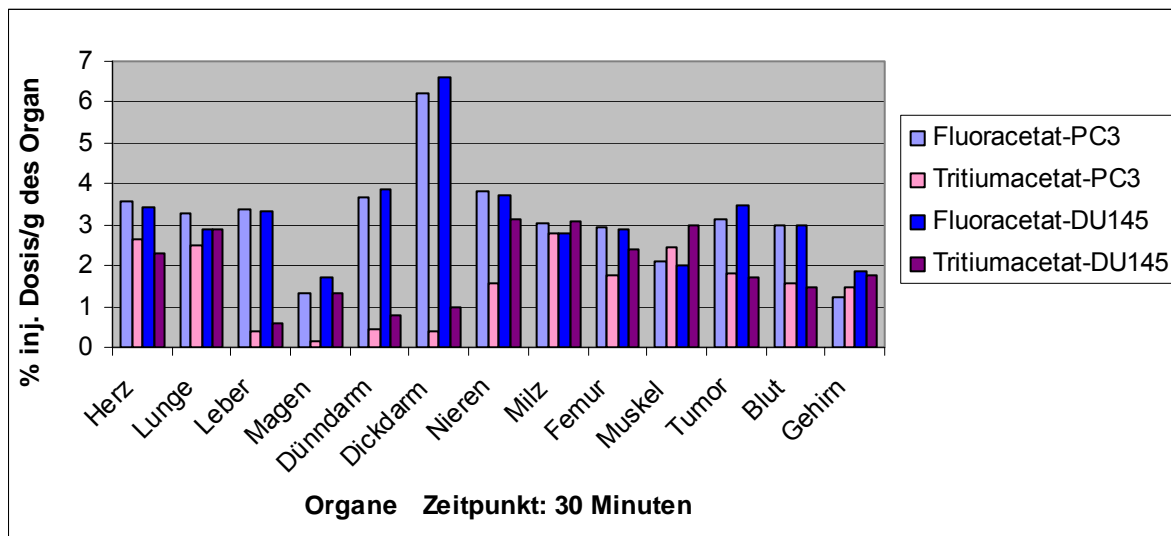


Abbildung 21: Biodistribution von Tritiumacetat und ^{18}F -Fluoracetat in PC-3 und DU-145 Tumortragenden Mäusen (30 Minuten p.i. in % inj. Dosis/g).

Es zeigt sich, dass in den Organen Herz, Lunge, Milz und Gehirn bei beiden Tracern ähnliche Werte erzielt werden, während hingegen in den Organen Leber, Magen, Dünndarm und Dickdarm sowie in Tumor und Blut sehr viel höhere Anreicherungen des ^{18}F -Fluoracetats gefunden wird.

Die Nieren wiesen höhere Tritiumacetatwerte als der Darmtrakt auf, was durch die bevorzugt renale Ausscheidung des Tritiumacetates begründet werden kann. In Femur und Muskel wird Tritiumacetat deutlich aufgenommen und zeigt im Muskel bei beiden Zelllinien höhere Werte als ^{18}F -Fluoracetat. Die Aufnahme der Tracer im Tumor zeigte Werte zwischen 1,73-3,48% der inj. Dosis /g, wobei die PC-3 Zellentragenden Tiere beim ^{18}F -Fluoracetat um den Faktor 1,7 höhere Werte aufwiesen, während hingegen bei den DU-145 Zellentragenden Tieren die Aufnahme bei ^{18}F -Fluoracetat um den Faktor 2,19 höher vorgefunden wurde.

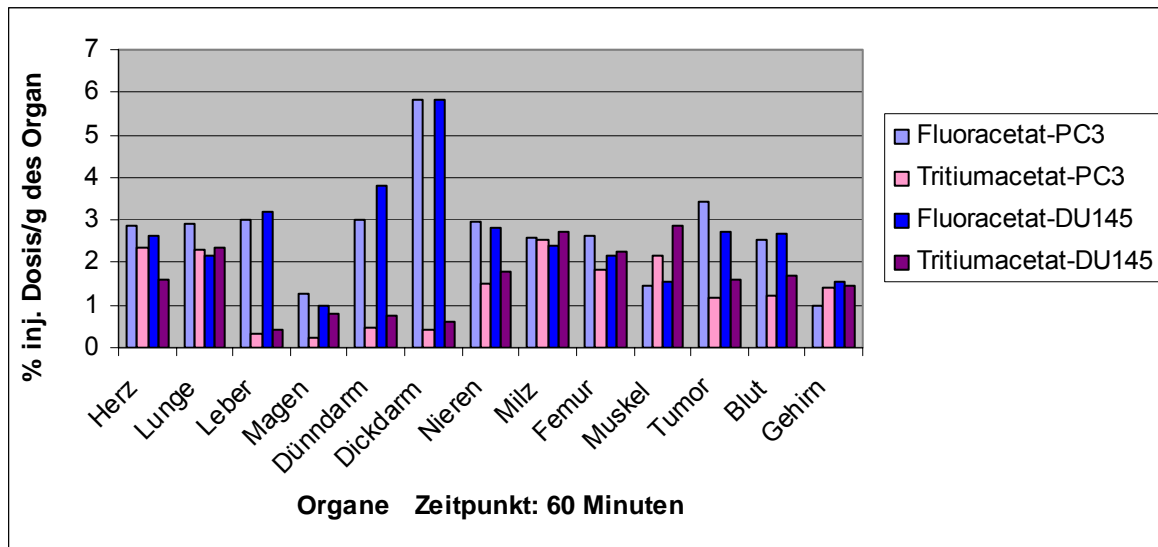


Abbildung 22: Biodistribution von Tritiumacetat und ^{18}F -Fluoracetat in PC-3 und DU-145 Tumortragenden Mäusen (60 Minuten p.i. in % inj. Dosis/g).

Die Werte der duallabeling Biodistributionen zum Zeitpunkt 60 Minuten, dargestellt in Abbildung 22 zeigen ähnliche Verhältnisse wie zum Zeitpunkt 30 Minuten (Abbildung 21). Bedingt durch die Ausscheidung sind die Werte allgemein etwas niedriger. Die Werte für die Organe Herz, Lunge, Milz, Femur und Gehirn sind für beide Tracer ähnlich, während hingegen im Darmtrakt durchschnittlich um den Faktor 11 höhere Werte für ^{18}F -Fluoracetat gemessen werden. Auffällig ist, dass sich der Tritiumacetatwert im Muskel zum Zeitpunkt 60 Minuten (2,88% inj. Dosis/g) für die DU-145 Tumorzellenträgenden Mäusen um das 2fache höher ist als die der ^{18}F -Fluoracetat injizierten Tiere, eine Erklärung hierfür liegt jedoch nicht auf der Hand.

Die vergleichbaren Werte um 2% inj. Dosis/g für Tritiumacetat und ^{18}F -Fluoracetat im Knochen sprechen jedoch für eine geringe Defluorierung des ^{18}F -Fluoracetat. Die ^{18}F -Fluoracetat Anreicherung im Tumor war zum Zeitpunkt 60 Minuten bei den PC-3 Zellenträgenden Tieren mit einem Wert von 3,44%/g am höchsten und war um das 2,9fache höher als für Tritiumacetat (1,19%/g).

Für die DU-145 Tumorzellenträgenden Mäuse wurde für ^{18}F -Fluoracetat mit einem Wert von 2,71%/g ein 1,7mal so hoher Wert, wie bei Tritiumacetat injizierten Mäusen (1,59%) im Tumor vorgefunden.

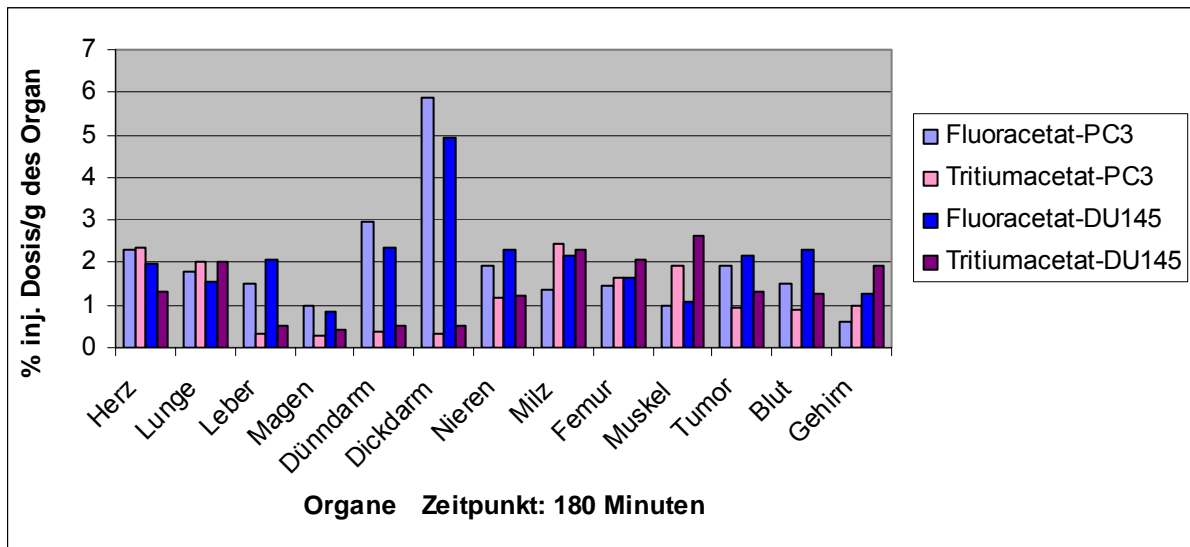


Abbildung 23: Biodistribution von Tritiumacetat und ^{18}F -Fluoracetat in PC-3 und DU-145 Tumortragenden Mäusen (180 Minuten p.i. in % inj. Dosis/g).

Die Biodistributionsdaten der beiden Tracer zeigen zum Zeitpunkt 180 Minuten wegen der andauernden Ausscheidung allgemein sehr viel niedrigere Werte als bei früheren Zeitpunkten, wobei die Organverhältnisse untereinander annähernd gleich blieben. Der Magen/Darmtrakt zeigt weiterhin eine hohe Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat, wobei festgestellt werden kann, dass die Anreicherung im Dickdarm bei den DU-145 Zelltragenden Mäusen mit einem Wert von 5%/g um das 9fache höher liegt als bei Tritiumacetat (0,54%/g). Auch ist bei den PC-3 Zelltragenden Mäusen die ^{18}F -Fluoracetataufnahme im Dickdarm zum Zeitpunkt 180 Minuten mit einem Wert von 5,86%/g um das 16fache höher als beim Tritiumacetat.

Insgesamt kann man bei einem Vergleich der Mittelwerte feststellen, dass die Werte für ^{18}F -Fluoracetat in der Regel deutlich über den Werten der Tritiumacetat-Anreicherung gemessen wurden.

Auffällig ist auch, dass die Werte sowohl für die DU-145 als auch für die PC-3 Zelltragenden Mäuse für Tritiumacetat bei den Organen Leber, Magen, Dünn und Dickdarm unter 1,5%/g lagen. Beim ^{18}F -Fluoracetat hingegen wurden bei den oben genannten Organen um den Faktor 5,6-7,5 höhere Werte gefunden.

Diese hohen Werte belegen deutlich, dass ^{18}F -Fluoracetat über den Darmtrakt ausgeschieden wird. Die Werte für Tritiumacetat lagen hingegen in den Nieren, verglichen mit dem

Magen/Darmtrakt dreimal so hoch vor, was wiederum zeigt, dass Acetat zumindest zum Teil über die Nieren ausgeschieden zu werden scheint.

Beim Femur (Oberschenkelknochen) wurden für ^{18}F -Fluoracetat im Vergleich zum Tritiumacetat bei den PC-3 tragenden Tumormäusen etwas höhere Werte gefunden, während hingegen die Tiere der Zelllinie DU-145 durchschnittlich ähnliche Werte von 2,24% ID/g bei beiden Tracern aufwiesen. Auf eine wie in der Literatur beschriebene Fluorid-Ion Abspaltung und die Einlagerung im Knochen kann nach diesen Werten nicht geschlossen werden.

Die Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat im Tumor ist ebenso wie die Blutwerte höher als für Tritiumacetat. Auch das Tumor/Blutverhältnis ist außer zum Zeitpunkt 30 Minuten bei den PC-3 Tumortragenden Mäusen und zum Zeitpunkt 180 Minuten bei den DU-145 Tumortragenden Tieren für ^{18}F -Fluoracetat höher (Faktor 1,1- 1,5).

Tritiumacetat wurde als Vergleich hinzugezogen, da festgestellt werden sollte wie stark der Elektronenziehende Einfluss des Fluors die Biodistribution des Acetats beeinflusst.

Wie man anhand der Ergebnisse sehen kann, korreliert die Aufnahme und Anreicherung beider markierten Tracer im Tumor. Dadurch kann man annehmen, dass das negative geladene Fluorid-Ion keinen sehr großen Einfluss auf die Aufnahme im Tumor hat. Jedoch ist festzustellen, dass Tritiumacetat im Gegensatz zu ^{18}F -Fluoracetat, welches über den Darm ausgeschieden wird, über die Nieren ausgeschieden wird.

3.5.4 Fallbeispiele von Mäusen mit PET-Imaging

In diesem Kapitel werden einige Biodistributionsstudien von Mäusen vorgestellt, die zusätzlich mittels PET Kamera untersucht wurden.

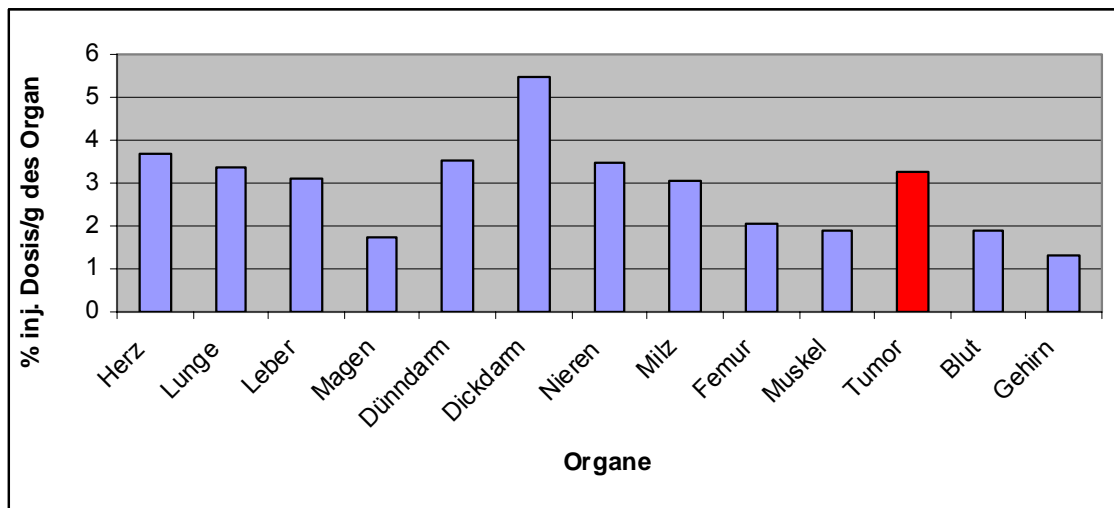


Abbildung 24: Biodistributionsdaten einer PC-3 Tumortragenden Maus zum Zeitpunkt: 30 Minuten.

Bei der Biodistributionsuntersuchung in Abbildung 24 handelt es sich um eine mit PC-3 Zellen beimpfte Maus, die 30 Minuten nach Injektion von ^{18}F -Fluoracetat getötet wurde. Die Daten werden hier gezeigt, um die Interpretation des PET (Positronen-Emissions-Tomographie) Befundes zu komplimentieren.

Das PET-Bild in Abbildung 25 spiegelt die Biodistributionsdaten wieder.

Die Anreicherung im Tumor betrug 3,24%/g, während im Blut Werte von 2,89%/g erreicht wurden, wodurch sich ein Tumor- zu Blutverhältnis von 1,12 ergibt. Dieses Verhältnis reicht aus um den Tumor von der Umgebung abzugrenzen und relativ deutlich sichtbar zu machen.

Starke Aktivitätsbereiche sind weiterhin im Magen/Darmtrakt sowie in Leber und Nieren zu erkennen, während der Restkörper eine eher diffuse, gleichmäßige Verteilung aufweist. Insgesamt ist dieser Befund in guter Übereinstimmung mit den übrigen Daten der Biodistributionen.

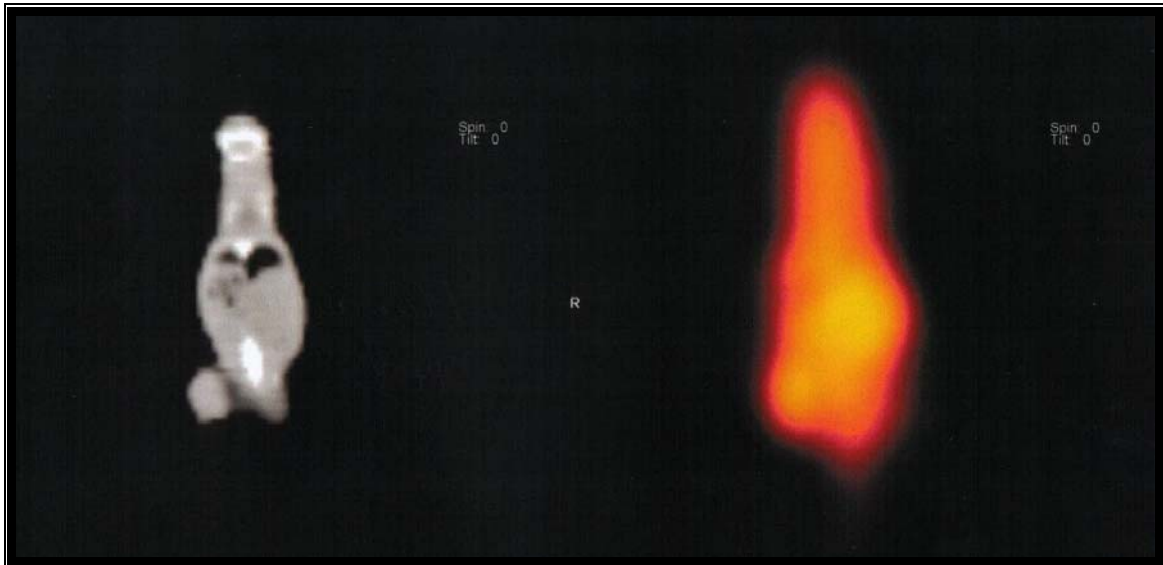


Abbildung 25: PET-Bild einer mit PC-3 Zellen behandelten Maus, der ^{18}F -Fluoracetat injiziert wurde und die nach 30 Minuten per Genickbruch unter Chloroformnarkose getötet wurde. Links zum Vergleich ein CT (Computertomographie) Bild der Maus, rechts das PET-Bild.

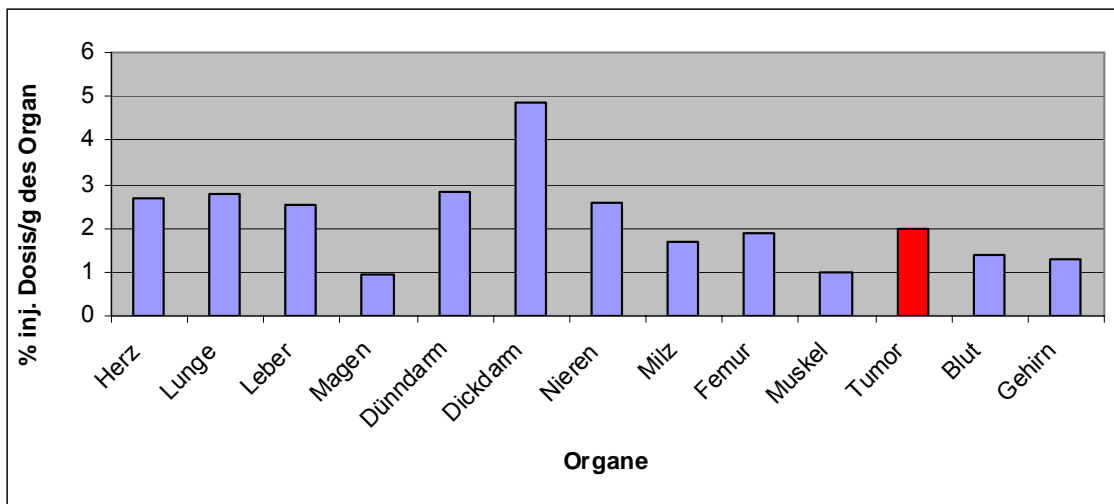


Abbildung 26: Biodistributionsdaten einer BPH-1 Tumortragenden Maus zum Zeitpunkt: 60 Minuten.

Die Biodistributionsdaten einer BPH-1 Hyperplasiezellentragender Maus sind in Abbildung 26 dargestellt und sollen hier aufgezeigt werden, da auch bei dieser Maus eine PET-Untersuchung stattgefunden hat. Das PET-Bild im Vergleich zum CT-Bild ist in Abbildung 27 abgebildet.

Auch hier ergibt sich ein positives Tumor/Blutverhältnis von 1,42 und eine entsprechend gute Darstellung des Tumors, der sogar besser als im CT-Bild erkennbar ist.

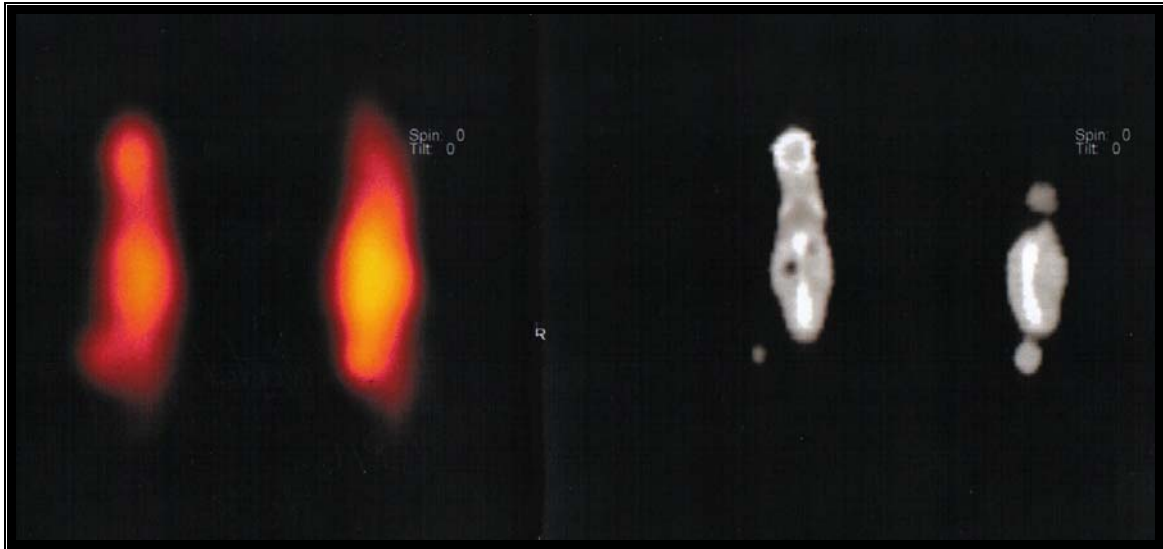


Abbildung 27 PET-Bild zweier mit BPH-1 Zellen behandelten Mäusen, der ^{18}F -Fluoracetat injiziert wurde und die nach 60 Minuten per Genickbruch unter Chloroformnarkose getötet wurde. Rechts zum Vergleich ein CT (Computertomographie) Bild der Maus, links das PET-Bild.

Die sonstigen Regionen entsprechen auch hier den Biodistributionsdaten, wie schon im Experiment mit der PC-3 Tumortragenden Maus.

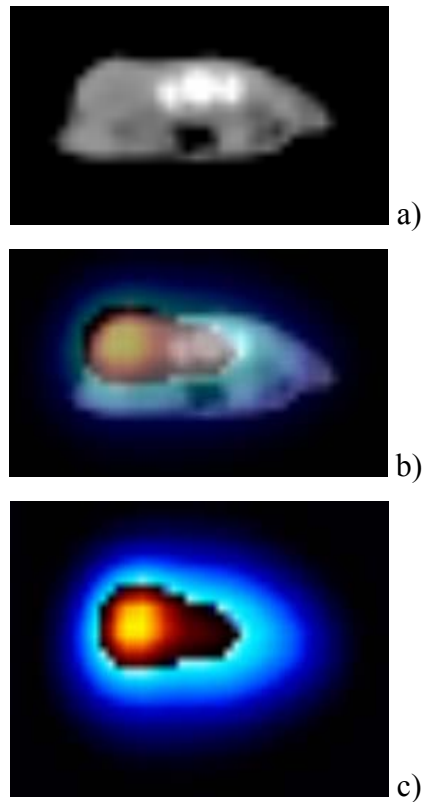


Abbildung 28: axiales Schnittbild einer LNCaP Tumortragenden Maus 60 Minuten nach der Injektion von ^{18}F -Fluoracetat [a) CT, b) PET-CT, c) PET]

In Abbildung 28 a-c wurden von einer LNCaP Tumortragenden Maus ist auf dem CT-Bild der Tumor als Ausbuchtung am Hinterleib erkennbar. Eine Abgrenzung zum umliegenden Gewebe ist nur sehr schwer möglich. Jedoch kann man die anatomischen Strukturen besser zuordnen z.B. sind die Knochen mit einer hohen Hounsfield Einheit als hyperintense Strukturen darstellbar. Die Darmschlingen sind nicht sicher abgrenzbar. Beim unteren PET-Bild hingegen gelingt die Abgrenzung des Tumors sehr viel besser, da hier der Tumor aufgrund seiner Anreicherung eine andere Farbe als das umliegende Gewebe aufweist. Das überlagerte Bild nutzt nun die Vorteile beider verwendeten Verfahren aus.

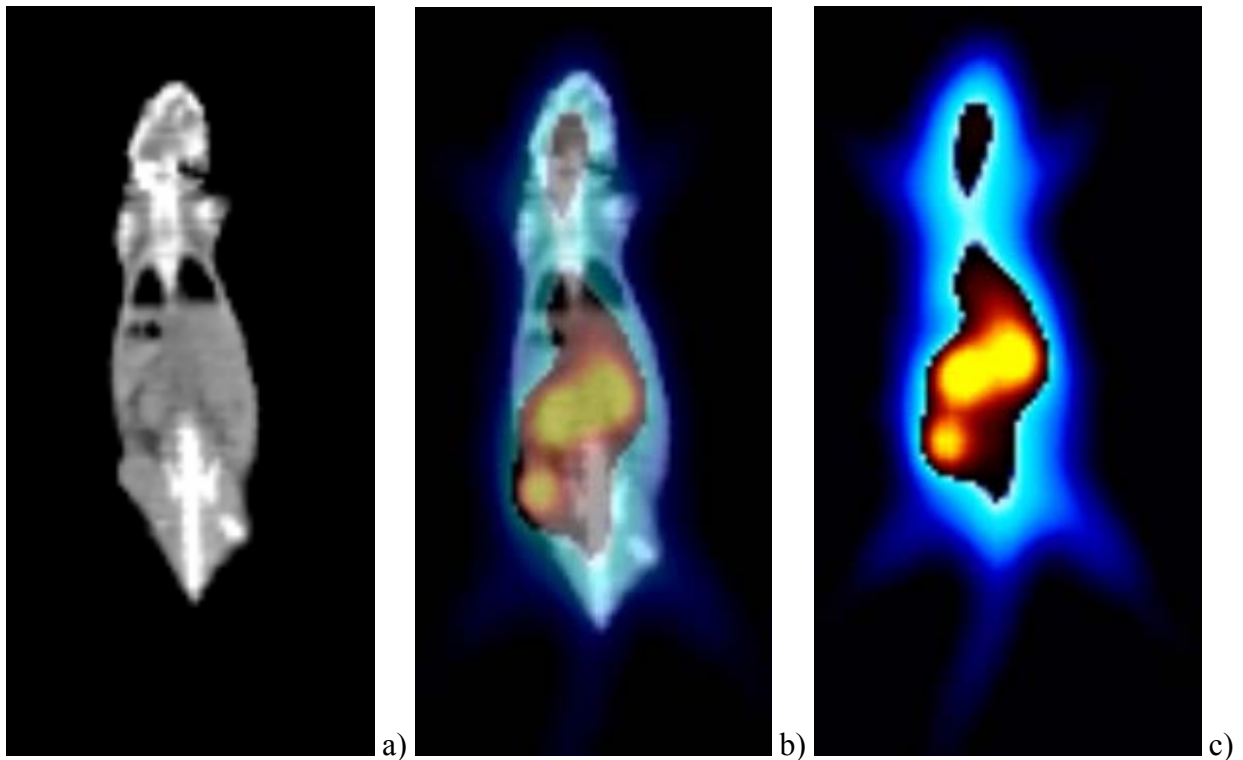


Abbildung 29: Ein coronares Schnittbild eines LNCaP Tumors [a) CT, b) PET-CT, c) PET]

Abbildung 29 zeigt die LNCaP Tumortragende Maus im coronaren Schnittbild. Auch hier zeigt sich, dass die Möglichkeiten der Tumorabgrenzung mit dem CT sehr eingeschränkt sind, während bei dem PET-Bild eine Abgrenzung des Tumors leichter möglich ist.

Die intensive gelbe Farbe weist auf eine sehr hohe Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat in Tumor und Darm hin.

3.5.5 Fallbeispiele von Patienten

Hier sollen nun Fälle von Patienten vorgestellt werden, die unter einem bekannten Tumor leiden und sich einverstanden erklärten ^{18}F -Fluoracetat als Tracer zur Tumorlokalisation zu testen.

Nach der Injektion wurden PET-CT Untersuchungen durchgeführt.

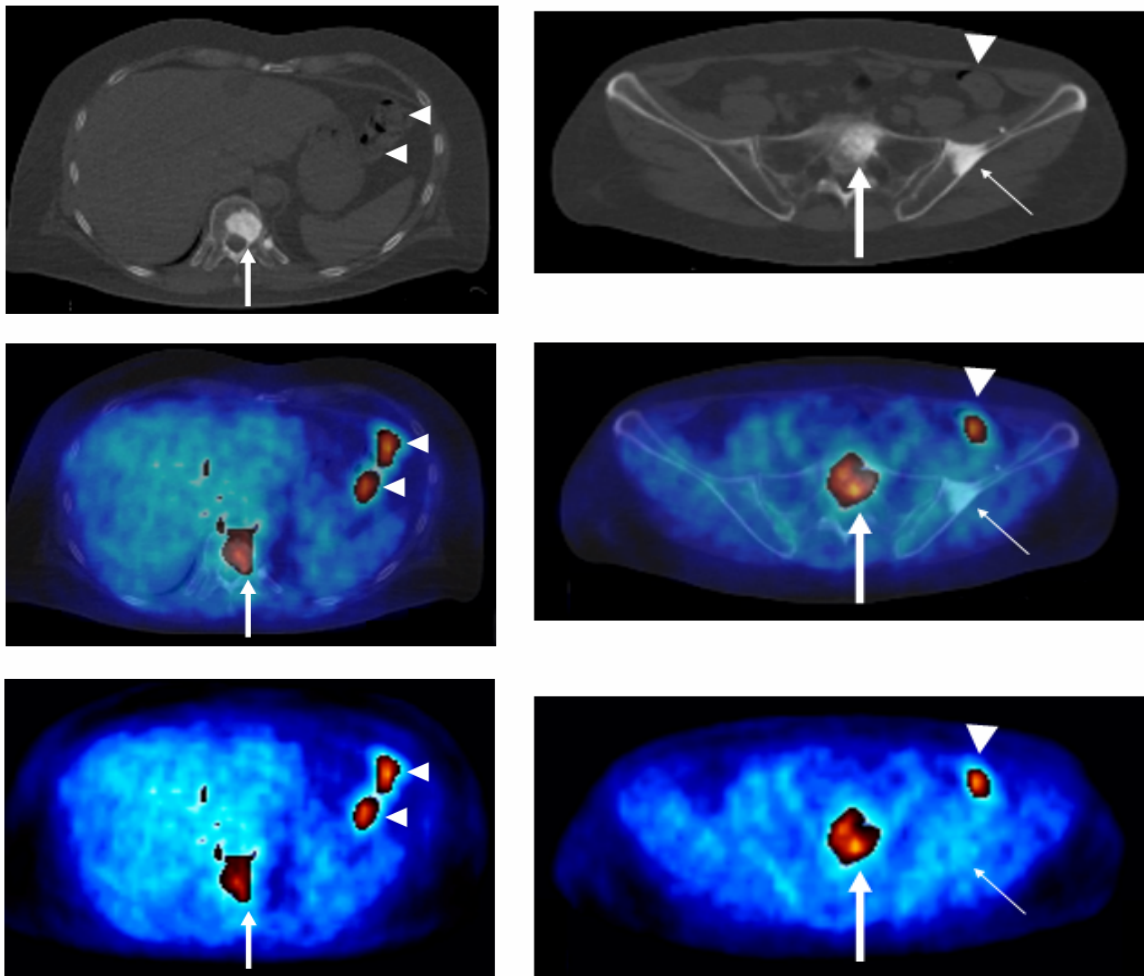


Abbildung 30: a) CT, b) PET/CT, c) PET ^{18}F -Fluoracetat PET eines Patienten mit multiplen Knochenmetastasen eines Prostatakarzinoms (nach Matthies et al., 2004). Die obere Reihe zeigt das CT, die mittlere Reihe die Kombination aus PET und CT und die untere Reihe zeigt das PET alleine, wobei auf der linken Seite axiale Schnittbilder in Höhe der Leber und rechts Bilder in Projektion auf das Os sacrum dargestellt werden.

Die Aufnahmen in Abbildung 30 zeigen einen Patienten, der an einem Prostatakarzinom leidet und multiple Knochenmetastasen aufweist. Dem Patienten wurden 280MBq ^{18}F -Fluoracetat injiziert und nach 70 Minuten die in Abbildung 30 zu sehenden Aufnahmen mittels PET/CT System (Siemens Biograph) angefertigt (Matthies et al., 2004).

Auf der linken Bildhälfte wird eine Knochenmetastase im Brustwirbelkörper aufgezeigt und auf der rechten Bildhälfte eine ossäre Metastase des Prostatakarzinoms im Os sacrum.

Die Knochenmetastase im Wirbelkörper ist sowohl im CT als auch im PET gut nachweisbar (mittelstarke Pfeile). Im PET können jedoch interessanterweise nicht alle Knochenmetastasen (dünne Pfeile: Knochenmetastase im Os ilium) nachgewiesen werden. Die dicken Pfeile zeigen ^{18}F -Fluoracetat Anreicherungen einer Metastase im Os sacrum, die sowohl im CT als auch im PET zu Darstellung kamen. Die dreieckigen Markierungen zeigen eine Anreicherung des ^{18}F -Fluoracetat im Magen/Darmtrakt.

Das SUVmittel (SUV= standardised uptake values) beträgt 2,82-4,10 und einem SUVmax von 3,36-5,11. Die Leber zeigt im Vergleich dazu eine mittlere SUV von 2,35-2,71 und einem SUVmax von 3,0-3,58.

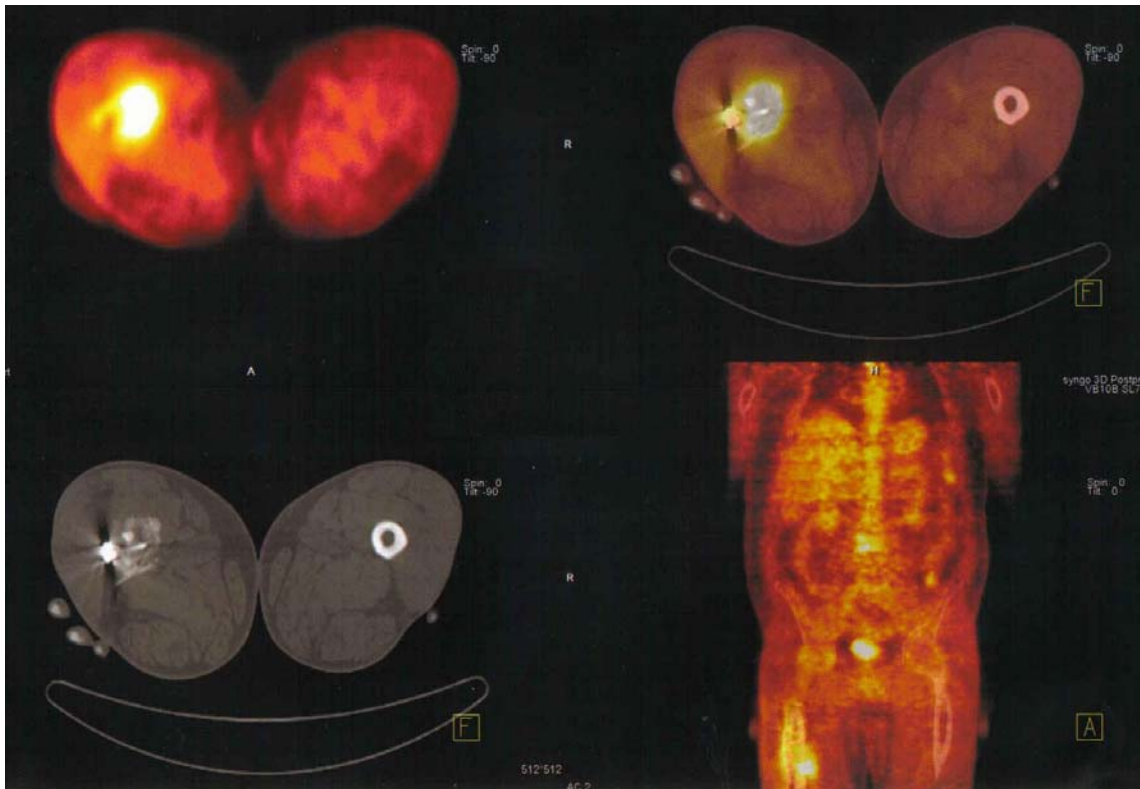


Abbildung 31: axiales und coronares PET-Bild sowie axiales CT-Bild eines weiteren Patienten dem Fluoracetat als PET Tracer injiziert wurde.

Die Abbildung 31 zeigt ein PET- und ein CT-Bild von einem Patienten, der an einem Karzinom leidet, welches Knochenmetastasen in Wirbelkörpern und Oberschenkel gebildet hat. Im rechten Oberschenkel ist zudem eine Metallplatte vorhanden. Das PET-Bild zeigt eine gute Anreicherung des verwendeten ^{18}F -Fluoracetat sowohl im Oberschenkelknochen als auch in der Wirbelsäule.

4 Diskussion

4.1 Methodenkritik

Bei experimentellen Untersuchungen zu physiologischen und pathologischen Vorgängen im menschlichen Körper kann man sich primär nur Modellvorstellungen aufbauen und diese durch vereinfachte und abstrahierte Versuche z.B. an Zellen oder Tiermodellen prüfen und schließlich auf den Menschen selbst übertragen.

Dies gilt vor allem, wenn neue Substanzen zur Diagnostik und Therapie erforscht werden sollen.

4.1.1 Auswahl und Applikation des Radiopharmakons

Auswahl:

Speziell das Prostatakarzinom weist Probleme bei der Darstellung mit kommerziell erhältlichen Radiopharmaka auf. Auf Grund der anatomischen Lage sind Tracer, die sich stark in den ableitenden Harnwegen ansammeln, wie das in der PET meist genutzte ^{18}F -FDG beim Prostatakarzinom nicht zu verwenden. Das ^{18}F -FDG-PET ist zudem limitiert aufgrund der Tatsache, dass der Uptake im Prostatakarzinom gering ist und das es sehr schnell im Urin ausgeschieden wird, was zu einer hohen Anreicherung in der Blase und den ableitenden Harnwegen führt (Effert et al., 1996; Shreve et al., 1996; Hoh et al., 1998; Hofer et al., 1999, 2001). Auch in der Forschung befindliche ^{11}C markierte Tracer wie ^{11}C -Acetat und ^{11}C -Cholin weisen wie bereits erwähnt aufgrund der geringen Halbwertszeit von 20 Minuten einen hohen Nachteil in ihrer Verwendung auf. Daher sollte hier das ^{18}F markierte ^{18}F -Fluoracetat untersucht und geprüft werden. Es sollte festgestellt werden, ob sich ^{18}F -Fluoracetat im Tumor von Prostatakarzinom tragenden Mäusen anreichert sowie die Eignung hinsichtlich einer möglichen Verwendung als PET-Tracer, anhand genereller Bioverteilung und Biokinetik, untersucht werden.

Herstellung und Dosierung:

Das ^{18}F -Fluoracetat kann aufgrund des schnellen Abfalls der Aktivität nicht gelagert werden. Die Herstellung des ^{18}F -Fluoracetats wurde in unserem Institut erst kürzlich entwickelt, so dass

mögliche Ungenauigkeiten und geringe Abweichungen bei der Herstellung nicht ausgeschlossen werden können. Es wurden jeweils 37-370KBq des Radiotracers zur Injektion mit Kochsalz auf 200µl aufgezo-gen.

Applikation:

Die Injektion wurde intravenös in die Schwanzvene der Mäuse durchgeführt. Da die Schwanzvenen der Mäuse trotz Wärmebehandlung nur einen sehr geringen Durchmesser haben waren geringe Schwankungen des injizierten Volumens nicht zu vermeiden. Ein Aktivitätsverlust von 10-15% konnte festgestellt werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Zellversuche

Die in Tabelle 7 und Abbildung 9 dargestellten Versuche mit verschiedenen Zelllinien unter der Verwendung von ^{18}F -Fluoracetat als Tracer haben ergeben, dass die Zellen bis zu 5% der verwendeten Dosis aufgenommen haben. Die Aufnahme von ^{18}F -Fluoracetat nahm nach schneller initialer Aufnahme mit der Zeit, aufgrund des radioaktiven Zerfalls, bei allen vier Zelllinien ab. Bei einem Vergleich mit ^{18}F -Fluorcholin-Zellversuchen in der Literatur, die von DeGrado et al. (2000) durchgeführt wurden, konnte festgestellt werden, dass die ^{18}F -Fluorcholinaufnahme mit einem Wert von 4,2% ähnlich hohe Werte ergibt wie in Tabelle 7 bzw. Abbildung 9, mit einem durchschnittlichen Wert von 4,67%. Auch bei DeGrado et al. (2000) liegen die ermittelten ^{18}F -FDG Werte höher (Faktor 1,24) als die Werte des zu vergleichenden Tracers (^{18}F -Fluorcholin). Bei einem Vergleich von ^{18}F -Fluoracetat mit dem Standard Tracer der Nuklearmedizin ^{18}F -FDG (Tabelle 7 und Abbildung 8) konnte gezeigt werden, dass die Anreicherung von ^{18}F -Fluoracetat zwar in allen Zelllinien zu allen Zeitpunkten geringer war, jedoch nur um den Faktor 0,8-2,5. Die Anreicherung des ^{18}F -Fluoracetats im Vergleich zu ^{18}F -FDG in den Zellen war sehr viel versprechend, so dass weitere Versuche an Tiermodellen angezeigt erschienen.

4.2.2 Tierversuche und Fallbeispiele

Die Ergebnisse der Biodistributionsuntersuchungen an 5 Wochen alten immuninkompetenten Nacktmäusen (NMRI- NUDE) mit ^{18}F -Fluoracetat als Tracer fielen teilweise unterschiedlich aus. Bei den zeitabhängigen Biodistributionen mit Fluoracetat an den verschiedenen Zelllinien ist festzustellen, dass von ^{18}F -Fluoracetat zwischen 1,83 und 4,30% der injizierten Dosis pro Gramm in den Tumor aufgenommen wurde. Dennoch kann man in den Abbildungen 10, 11, 12 und 13 feststellen, dass die ^{18}F -Fluoracetatanreicherung auch in den Organen Herz, Lunge, Leber und im Blut ähnlich hohe Werte aufwies wie im Tumor selbst. Das Tumor- zu Blutverhältnis lag daher nur knapp über 1. Die Anreicherung im Tumor und in den anderen Organen könnte daher auch allein aufgrund der Durchblutung stattgefunden haben (Flowtracer). Die Biodistributionen anhand der verschiedenen Zelllinien zeigten ähnliche Organverhältnisse untereinander. In Tabelle 10 und Abbildung 11 ist die Biodistribution DU-145 Zellentragender Mäuse aufgezeigt, bei der im Gegensatz zu den anderen Zelllinien auch der Zeitpunkt 180 Minuten untersucht wurde. Hierbei konnten zum Zeitpunkt 180 Minuten besonders hohe Werte im Dickdarm (4,96% inj.Dosis/g) festgestellt werden. Die Anreicherung des Tracers im Darm war auch zu den früheren Zeitpunkten recht hoch. Dies lässt auf eine hepatobiliäre Ausscheidung des Tracers schließen. Die Anreicherung im Femur zeigte bei den verschiedenen Zelllinien zu den unterschiedlichen Zeitpunkten Werte um 2-3% der inj. Dosis pro Gramm. Ob dies darauf beruht, dass Fluorid von ^{18}F -Fluoracetat abgespalten wird und sich im Knochen anlagert, konnte nicht geklärt werden. Bei einem duallabeling Experiment mit zwei verschiedenen Tracern, ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat, konnten diese miteinander verglichen werden.

Bei Betrachtung der Werte in Abbildung 21, 22 und 23 zeigt sich, dass in den Organen Herz, Lunge, Milz und Gehirn bei beiden Tracern ähnliche Werte erzielt wurden, wohingegen in den Organen Leber, Magen, Dünndarm, Dickdarm und im Blut sehr viel höhere Anreicherungen des ^{18}F -Fluoracetats gefunden wurden. Im Unterschied zur Fluoraktivität weisen die Nieren bei Tritiumacetat hohe Werte auf, was die unterschiedliche Ausscheidung der beiden Tracer zeigt. ^{18}F -Fluoracetat wird fast ausschließlich über den Darmtrakt ausgeschieden und erzielte dort höhere Werte als im Nierengewebe.

Zur Einschätzung der eigenen Werte der ^{18}F -Fluoracetat Biodistributionen, wurden dies mit Ergebnissen von Sykes et al. (1987) verglichen. Diese Mäuse waren tumorfrei und wurden 15, 60, 120 und 240 Minuten nach Injektion mit ^{18}F -Fluoracetat untersucht.

Biodistribution von Fluoracetat zu verschiedenen Zeitpunkten				
Nach i.v. Injektion von ^{18}F -Acetat				
angegeben in % der ^{18}F Dosis pro Gramm Gewebe				
	15 Minuten	60 Minuten	120 Minuten	180 Minuten
Gehirn	4,75 ± 0,63	3,78 ± 0,43	3,10 ± 0,54	1,09 ± 0,41
Herz	7,16 ± 1,93	5,06 ± 0,39	4,68 ± 1,13	1,80 ± 0,98
Lunge	5,37 ± 0,94	4,53 ± 0,51	3,61 ± 0,50	1,22 ± 0,37
Leber	5,37 ± 0,47	3,88 ± 0,65	3,24 ± 0,69	1,16 ± 0,38
Milz	4,72 ± 0,77	3,62 ± 0,42	2,83 ± 0,41	0,90 ± 0,26
Magen	5,39 ± 0,68	3,48 ± 0,41	3,34 ± 0,53	1,04 ± 0,40
Interstitium	6,52 ± 0,55	7,41 ± 1,12	5,77 ± 1,05	2,57 ± 1,00
Nieren	4,66 ± 0,76	3,41 ± 0,99	3,18 ± 0,64	1,03 ± 0,20
Muskel	3,83 ± 0,58	2,97 ± 0,33	2,44 ± 0,34	0,83 ± 0,24

Tabelle 15: Biodistributionsergebnisse von Mäusen, denen i.v. Fluoracetat injiziert wurde und zu verschiedenen Zeitpunkten (15, 60, 120 und 180 Minuten) gemessen wurde und in [% inj. Dosis/g] angegeben wird. (nach Sykes et al., 1987)

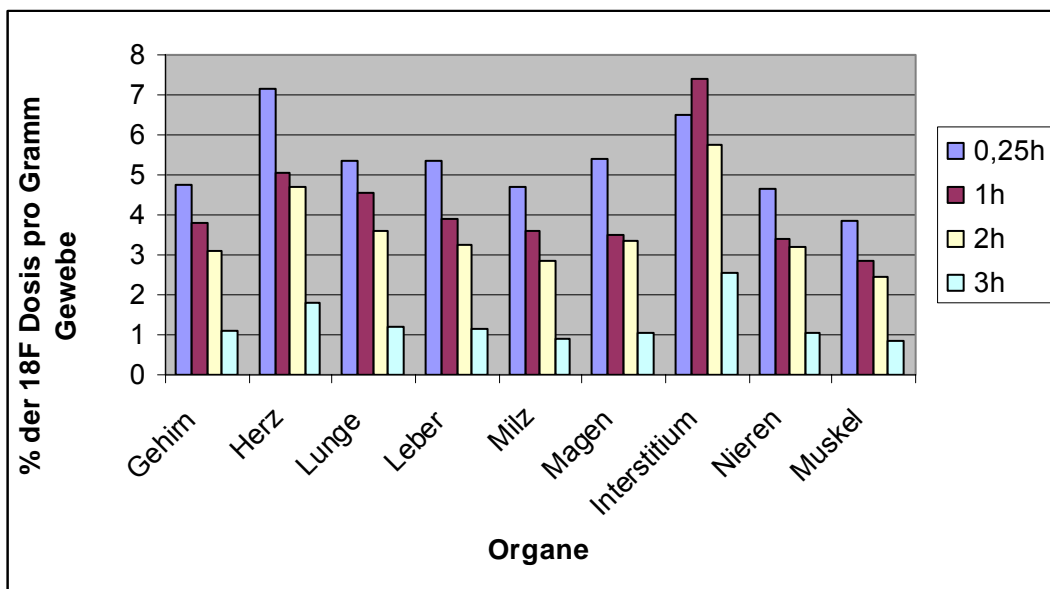


Abbildung 32: Biodistributionsergebnisse von Mäusen, denen i.v. Fluoracetat injiziert wurde und zu verschiedenen Zeitpunkten (15, 60, 120 und 180 Minuten) gemessen wurde und in % der Fluoracetat Dosis pro Gramm Gewebe angegeben wird. (nach Sykes et al., 1987)

Die 60 Minutenwerte der ^{18}F -Fluoracetat-Anreicherung (Abbildung 17 und 19) wurden mit denen von Sykes et al. (Abbildung 32) verglichen. Man konnte feststellen, dass die Anreicherungsdaten bei den Tumortragenden Mäusen in Hirn, Lunge, Herz, Milz, Magen und Muskel um den Faktor 1-2 höher waren, während hingegen die Anreicherung in Leber, Nieren und Interstitium annähernd gleich ausfielen. Zur besseren Einschätzung der Ergebnisse wurden auch die Organverhältnisse herangezogen. Die Organrelationen sind allgemein bei der Fluoracetatbiodistribution mit Tumortragenden Tieren höher als bei Sykes et al. (1987). Die Werte liegen bei Sykes et al. (1987) meist über den Werten der Tumortragenden Mäuse und sind bei den Verhältnissen Herz zu Lunge und Herz zu Leber sowie Leber zu Niere nicht gleich. Der Quotient von Herz zu Lunge beträgt bei Sykes et al. (1987) 1,12 bei den eigenen Untersuchungen wurden Werte von 0,98-1,19 vorgefunden. Der Quotient von Herz zu Magen beträgt bei Sykes et al. (1987) 1,45 und liegt bei den Tumortragenden Mäusen mit 2,23-2,69 um den Faktor 1,7 höher. Zur Einschätzung der ermittelten Tritiumacetatbiodistributionswerte wurden diese mit ^{11}C -Acetatwerten verglichen, die von Oyama et al. (2002) an CWR22 Tumortragenden Mäusen und tumorfreien Ratten erhalten wurden (Tabelle 16 und 17 sowie Abbildungen 33 und 34).

Biodistribution mit ^{11}C-Acetat in Ratten	
zum Zeitpunkt 30 Minuten [% inj. Dosis/g]	
n=8	
Blut	0,20 \pm 0,04
Lunge	0,49 \pm 0,10
Leber	0,40 \pm 0,05
Muskel	0,17 \pm 0,04
Prostata	0,32 \pm 0,07

Tabelle 16: Biodistribution nach Oyama et al., (2002) an tumorfreien Ratten mit ^{11}C -Acetat zum Zeitpunkt 30 Minuten in [% inj. Dosis/g].

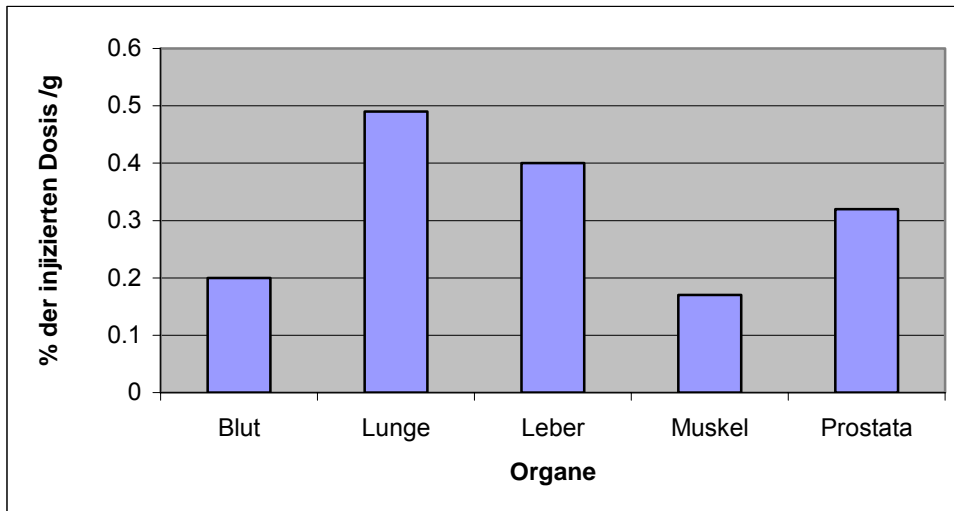


Abbildung 33: Biodistribution nach Oyama et al., (2002) an tumorfreien Ratten mit ^{11}C -Acetat zum Zeitpunkt 30 Minuten.

Biodistribution mit ^{11}C-Acetat in CWR 22	
Tumortragenden Mäusen zum Zeitpunkt 30 Minuten	
n=8	[% inj. Dosis/g]
Blut	0,41 ± 0,02
Herz	0,79 ± 0,31
Leber	0,98 ± 0,08
Muskel	0,57 ± 0,21
Prostata	0,25 ± 0,15
Tumor	0,88 ± 0,21

Tabelle 17: Biodistribution nach Oyama et al., (2002) an CWR 22 Tumortragenden Mäusen mit ^{11}C -Acetat zum Zeitpunkt 30 Minuten angegeben in % der injizierten Dosis pro Gramm Gewebe.

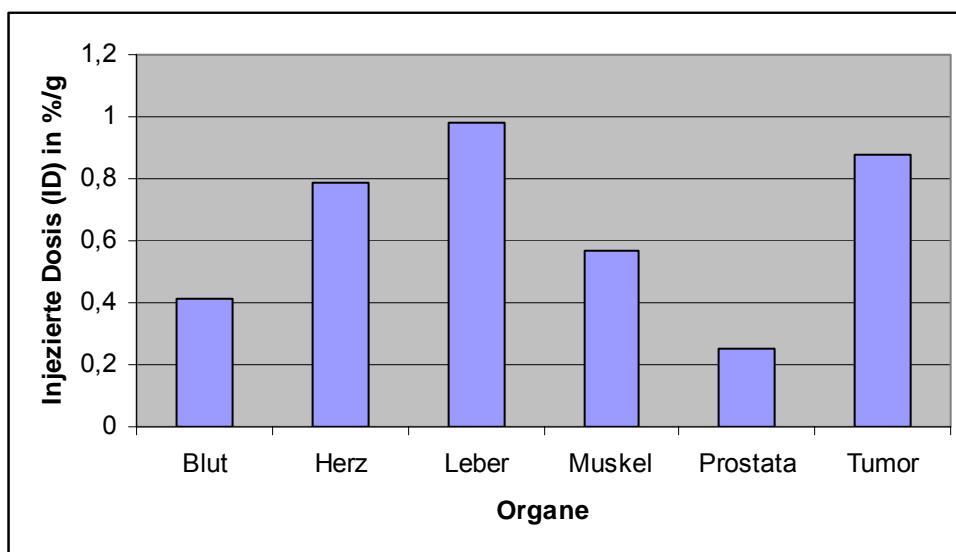


Abbildung 34: Biodistribution nach Oyama et al., (2002) an CWR 22 Tumortragenden Mäusen mit ^{11}C -Acetat zum Zeitpunkt 30 Minuten angegeben in % der injizierten Dosis pro Gramm Gewebe. [% inj. Dosis/g].

Oyama et al. (2002) haben nur ^{11}C -Acetat-Untersuchungen zum Zeitpunkt 30 Minuten veröffentlicht. Bei einem Vergleich mit den eigenen Werten bei PC-3 und DU-145 Tumortragenden Mäusen kann man feststellen, dass die Leberwerte der CWR22-Mäuse (Tabelle 17 und Abbildung 34) um den Faktor 1,6-3 höher anzusetzen waren, als die der PC-3 und DU-145 Zelllinien (Tabelle 13 und Abbildung 18). Hingegen fielen die Tritiumacetatwerte im Muskel mit einem Faktor von 4,28-5,23 sehr viel höher aus als bei den PC-3 und den DU-145 Tumortragenden Mäusen. Hierbei ist festzustellen, dass das Blut zu Muskelverhältnis sowohl bei den CWR22-Mäusen und auch bei den PC-3 Mäusen zum Zeitpunkt 30 Minuten einen ähnlichen Quotienten (0,65) aufweist.

Die Blut- (Faktor 1,49-1,58) und Herz- (Faktor 2,31-2,64) Werte der PC-3 und DU-145 Mäuse liegen mit einem Faktor 3-4 deutlich über den Werten von Oyama et al. (2002).

Der Blut/Herz Quotient der PC-3 Mäuse beträgt ebenso wie der Quotient der CWR22-Tumortragenden Mäuse ca. 0,6.

Es ist festzustellen, dass, obwohl die Werte bei den DU-145 und PC-3 Biodistributionen höher sind, aber dennoch die Verhältnisse der Organe untereinander ähnlich sind.

Die Tumoranreicherung betrug bei den CWR-Tumortragenden Tieren 0,88%/g, wohingegen die Tumoranreicherung in den PC-3-Zellen tragenden Mäuse 1,79%/g zum gleichen Zeitpunkt ausmachte und somit um den Faktor 2 höher war.

Die Tritiumacetatanreicherungen in Tabelle 13 und 14, welche mit Werten Oyama et al. (2002) verglichen wurden, zeigen, dass die Organverhältnisse untereinander ähnliche Werte erzielten, jedoch die ^{18}F -Fluoracetatanreicherung in den angegebenen Organen um den Faktor 3-5 höher waren.

Insgesamt ist festzustellen, dass bei 84,6% (44 von 52 Tieren) der untersuchten Tiere das Tumor/Blutverhältnis Werte über 1 zeigte. Die Relation von Tumor zu Blut ist vor allem bei Patientenuntersuchungen ein wichtiger Marker. Der Wert erlaubt Rückschlüsse darauf, ob die Traceraufnahme im Tumor eventuell nur auf die Durchblutung zurück zu führen ist.

Die in den Abbildung 24 bis 27 dargestellten Biodistributionen wurden bei Mäusen gewonnen, bei denen eine PET Untersuchung durchgeführt wurde. Das Tumor/Blutverhältnis bei, der in Abbildung 24 gezeigten PC-3 Maus, hat mit 1,12 einen Wert nur knapp über 1 erzielt. Auf der nachfolgenden Abbildung 22 kann man den Tumor von der Umgebung abgrenzen. Man kann aber nicht ausschließen dass der Tumor aufgrund einer guten Durchblutung dargestellt wird und das ^{18}F -Fluoracetat nicht wirklich in die Zellen des Tumors eingebaut wurde.

Abbildung 26 und 27 zeigt eine BPH-1 Maus, der Zellen eines an benigner Prostatahyperplasia erkrankten Mannes injiziert worden waren. Auch hier findet sich eine gute Abgrenzung der Hyperplasie von dem umliegenden Gewebe. Das Tumor/Blutverhältnis hat einen Wert von 1,12.

Die ersten Versuchsdaten nach ^{18}F -Fluoracetatinjektion bei tumorkranken Menschen zeigten eine recht gute Anreicherung des Tracers in den meisten Knochenmetastasen.

Nach diesen Untersuchungen kann man nicht entscheiden, ob durch ^{18}F -Fluoracetat zwischen einer Hyperplasie und einem Tumor differenziert werden kann. Die Organwerte der BPH-1 Zellen tragenden Mäuse liegen sogar in manchen Organen um den Faktor 1-2 höher und der Wert der Hyperplasieanreicherung liegt bei einem Vergleich der Abbildung 10 und 13 sowie der Tabellen 9 und 12 zum Zeitpunkt 30 Minuten mit einem Wert von 3,23%/g nur um den Faktor 1,29 unter dem Wert der PC-3 tragenden Zellen mit einem Wert von 3,95%/g. Zum Zeitpunkt 60 Minuten ist der Wert der PC-3 tragenden Tiere mit einem Wert von 2,95%/g um den Faktor 1,02 höher als die Anreicherung in der BPH-1 (2,88%/g) Maus. Um eine konkrete Aussage über die

Differenzierung zwischen einer Hyperplasie (BPH-1) und einem Karzinom (PC-3) treffen zu können, sollten weitere Versuche unternommen werden.

Die eigenen Ergebnisse weisen zum Teil unterschiedlich hohe Anreicherungen im Tumor auf. Unterschiedliche Werte werden sowohl innerhalb einer Zelllinie als auch zwischen den Zelllinien vorgefunden. Dies könnte mit der bekannten zellulären Heterogenität des Prostatakarzinoms im Zusammenhang stehen (Hautzel et al., 2002), sodass das ^{18}F -Fluoracetat unterschiedlich metabolisiert wird, was vielleicht die unterschiedliche Anreicherung in den einzelnen Zelllinien erklären könnte. Nach Hautzel et al. (2002) scheint sogar der Lipidstoffwechsel im Primärtumor unterschiedlich von dem in einer Metastase zu sein. Auch beim ^{18}F -FDG soll diese intraindividuelle Heterogenität bekannt sein (Hautzel et al., 2002).

Wie bereits erwähnt wurde, haben Peters (1952) und Peters et al. (1953a, b) festgestellt, dass die Toxizität von Fluoracetat eine Folge seiner Umwandlung in Fluorcitrat ist. Fluorcitrat ist 100-1000mal aktiver als Fluoracetat (Morselli et al., 1968; Swanson und Graham, 1994) und wirkt über die Hemmung des Enzyms Aconitase (Lotspeich et al. 1952; Peters et al. 1953).

Ob dieses Prinzip der Enzyminhibition bei der Verwendung von ^{18}F -Fluoracetat zur Diagnostik des Prostatakarzinoms eine Rolle spielt, ist jedoch fraglich.

Nach Costello und Franklin (1981; 1989; 1991; 1997) sowie Costello et al. (1999) findet nämlich der Citratzyklus/Krebszyklus in der gesunden Prostata und in einer hyperplastisch veränderten Prostata nur in geringem Maße statt, da aufgrund von Zinktransportern eine hohe Zinkkonzentration in den Prostataepithelien erreicht wird, welche zur Hemmung der Aconitase und damit zur Reduktion des Citratzyklus führt.

Dieser Mechanismus scheint nach Costello et al. (1999) bei malignen Zellen nicht mehr aufrechterhalten werden zu können. Da bei malignen Zellen die Zinktransporter verloren gehen, verringert sich die intrazelluläre Zinkkonzentration, was dazu führen müsste, dass die Aconitase nicht weiter gehemmt werden kann und somit der Ablauf der Citratoxidation über den Krebszyklus nicht gehemmt wird. Ob dieser Umkehrschluss gerechtfertigt ist oder nicht, muss noch geklärt werden. Gegen die Verwertung des Fluoracetats über den Krebszyklus sprechen die erhobenen Werte in Nieren und Knochen. Wenn man nämlich den Aussagen von Lauble et al. (1996) und Kent et al. (1985) Glauben schenken darf, findet eine Abspaltung des Fluoridions statt und die entstehende 4-hydroxy-trans-Aconitase hemmt die Aconitase. Das freigewordene Fluorid würde sich dann in den Knochen ansammeln. Wenn die Aufnahmekapazität der Knochen

überschritten würde, würde das Fluorid über die Nieren und somit die ableitenden Harnwegen ausgeschieden werden. Dies kann in unseren Versuchen nicht bestätigt werden, da die Anreicherung in den Nieren sehr viel niedrigere Werte als der Darmtrakt aufwies. Konträr dazu sagen Liebecq und Peters in ihrem Artikel von 1989 aus, dass Fluoracetat im Gewebe nicht in Fluorid und Acetat gespalten wird.

Costello et al. (1999) wie auch Hochachka et al. (2002) weisen in ihren Artikeln darauf hin, dass maligne Zellen einen erhöhten Lipidstoffwechsel zeigen. Maligne Zellen gelten als Citratoxidierende Zellen (Costello und Franklin, 1997), ob die Zellen nun Citrat über den Citratzyklus oxidieren oder über die Lipidsynthese verbrauchen, wird nicht näher erläutert.

Zur Herstellung von Lipiden würde das Fluoracetat in Fluorcitrat umgewandelt werden und dann entsprechend verwertet (Hochachka et al., 2002). Die entstehenden Produkte werden dann in der Zellmembransynthese Verwendung finden.

Eine weitere Frage muss noch beantwortet werden, nämlich ob das Fluorid-Ion bei der Fettsäuresynthese wie auch bei dem Citratsäurezyklus (Teclé und Casida, 1989) abgespalten wird oder nicht. Die geringen Anreicherungswerte (ca. 3% der injizierten Dosis pro Organmasse) der Knochen in unseren Versuchen sprechen eher gegen diese Annahme.

Ponde et al. (2003) haben untersucht, ob sich ^{18}F -Fluoracetat, ein Analogon des ^{11}C -Acetates, sich zur onkologischen PET Diagnostik des Prostatakarzinoms eignet. Sie haben Tierversuche mit LAPC-4 Tumorzellen und ^{18}F -Fluoracetat sowie ^{11}C -Acetat im Vergleich durchgeführt und stellten fest, dass ^{18}F -Fluoracetat und ^{11}C -Acetat ähnliche Verteilungen aufweisen und dass mit ^{18}F -Fluoracetat PET-Bilder mit einer hohen Qualität gewonnen werden können.

PET-Bilder bei nichtmenschlichen Primaten zeigten eine Abspaltung des Fluoridions, die speziesabhängig war, aber nicht bei Menschen auftrat. Als Schlussfolgerung gaben sie an, dass ^{18}F -Fluoracetat in die Lipide eingebaut wird und sich daher genau wie ^{11}C -Acetat im Tumor anreichert und sich als Tracer eignet.

Es bleiben aber sehr viele Fragen bezüglich des ^{18}F -Fluoracetats und seiner Verwertung offen, so dass man auch nach unseren Versuchen nicht abschließend beurteilen kann, wie gut sich das ^{18}F -Fluoracetat als Tracer eignet. Es müssten weitere Versuche durchgeführt werden, um zu klären unter welchen Umständen Fluorid abgespalten wird oder nicht und ob die Aufnahme in die Zellen durch den Citratzyklus oder die Fettsäuresynthese stattfindet. Außerdem wäre interessant zu klären, welcher Stoffwechselweg beim Prostatakarzinom abläuft.

5 Zusammenfassung

Der Nachweis von vitalem Tumorgewebe ist in vielen Bereichen der Onkologie, vor allem beim Prostatakarzinom, nach wie vor schwierig und bedarf neuer, verbesserter Methoden. Nuklearmedizinische Konzepte sind zumeist nicht-invasiv und zeigen oft schon Ergebnisse, bevor andere bildgebende Verfahren und morphologische Methoden wie Sonographie, CT oder MRT dazu in der Lage sind. Somit bestehen gerade in der Nuklearmedizin gute Chancen, neue Methoden zu finden, die zu einer Verbesserung der Überlebensrate von Tumorpatienten führen.

^{18}F -Fluoracetat kann als Fluoranalogen des ^{11}C -Acetates aufgefasst werden und bietet sich als längerlebige Acetatvariante für die onkologische PET-Diagnostik an.

Die Radiosynthese ist einfach und zeigt eine sehr gute radiochemischen Ausbeute von 50-70% bei einer radiochemischen Reinheit von >98%. Die Trennung von ^{18}F -Fluoracetat und dem Markierungsvorläufer Bromessigsäurebenzylester war problemlos möglich. Die Wahl des Benzylesters als Precursor erfolgte aufgrund seiner guten UV-Absorption und der damit verbundenen Möglichkeit der indirekten, aber sehr empfindlichen Bestimmung der spezifischen Aktivität von ^{18}F -Fluoracetat. Es konnte gezeigt werden, dass bei hoher spezifischer Aktivität des als Ausgangsstoff eingesetzten ^{18}F -Fluorids, eine Injektion des daraus hergestellten ^{18}F -Fluoracetat weit unterhalb toxischer Konzentration möglich ist.

In-vitro konnte eine Aufnahme des ^{18}F -Fluoracetates in Prostatakarzinom- und Hyperplasiezelllinien von bis zu 5% der applizierten Dosis festgestellt werden.

Zeitabhängige *in-vivo* Studien an Mäusen mit Tumoren verschiedener Prostatakarzinomzelllinien und Prostatahyperplasiezellen zeigten, dass ^{18}F -Fluoracetat auch im lebenden Organismus in die Tumore aufgenommen wird.

Es wurden Werte von 0,6-3,5% der injizierten Dosis pro Gramm Tumor und ein Tumor/Blut-Verhältnis, welches im Mittel knapp über dem Wert 1 lag, gefunden. In einem duallabeling-Experiment wurden Mäusen ^{18}F -Fluoracetat und Tritiumacetat zum direkten Vergleich koinjiziert. Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Organanreicherungen von Tritiumacetat allgemein niedriger ausgefallen sind. Auch das Tumor/Blutverhältnis blieb für Tritiumacetat im Mittel unter einem Wert von 1.

^{18}F -Fluoracetat ermöglichte auch gute bildliche Darstellung mittels PET/CT. Bei ersten Patienten im Rahmen individueller Heilversuche konnten teilweise Knochenmetastasen sehr gut diagnostiziert werden.

Zur Klärung der Frage, ob der Einsatz von ^{18}F -Fluoracetat gegenüber ^{11}C -Acetat bzw. ^{11}C - oder ^{18}F -markiertem Cholin zur präoperativen Diagnostik und Verlaufsdagnostik des Prostatakarzinoms vorteilhaft ist, bedarf es jedoch weiterer vergleichender Studien.

6 Literaturverzeichnis

1. Ahlström H, Malmström PU, Letcho H, Anderson J, Langström B, Nilsson S.
Positron emission tomography in the diagnosis and staging of urinary bladder cancer.
Acta Radiol. 1996; 37: 180-5
2. Annison EF, Hill KJ, Lindsay DB, Peters RA.
Fluoracetate poisoning in sheep.
1960; 70: 145-155
3. Atzert SP.
A review of sodium monofluoroacetate (Compound 1080), its properties, toxicology and its use in predator and rodent control.
J Comp Pathol. 1960 Jan; 70: 145-55
4. Bachor R, Kocher F, Gropengiesser F, Reske SN, Hauptmann RE.
Positron emission tomography. Introduction of a new procedure in diagnosis of urologic tumors an initial clinical results.
Urologe A 1995 Mar; 34(2): 138-42
5. Bachor R, Kotzerke J, Gottfried HW, Brande E, Reske SN, Hauptmann RE.
Positron emission tomography in diagnosis of renal cell carcinoma.
Urologe A 1996 Mar; 35(2): 146-50
6. Bachor R, Kotzerke J, Reske SN, Hauptmann R.
Lymph node staging of bladder neck carcinoma with positron emission tomography.
Urologe A 1999; 38: 46-50
7. Bartlett GR, Barron ESG.
Fluoroacetate

- J Biol Chem 1947; 170: 67
8. Bender H, Schomburg A, Albers P, Ruhlmann J, Biersack HJ.
Possible role of FDG-PET in the evaluation of urologic malignancies.
Anticancer Res. 1997; 17: 1655-60
 9. Biersack HJ, Bender H, Ruhlmann J, Oehr P, Guhlke S, Grünwald F.
Clinical PET in Oncology.
Rev. Esp.Med.Nuclear.2000; 19: 219-224
 10. Billah MM, Anthes JC.
The regulation and cellular functions of phosphatidylcholine hydrolysis.
Biochem J. 1990 Jul 15; 269(2): 281-91
 11. Blessing C, Feine U, Geiger L, Carl M, Rassner G, Fierlbeck G.
Positron emission tomography and ultrasonography. A comparative retrospective study assessing the diagnostic validity in lymph node metastases of malignant melanoma.
Arch dermatol. 1995; 131:1394-8
 12. Böcking A, Riede UN. In
Riede UN, Schaefer HE, Hrsg.
Allgemeine und spezielle Pathologie
Stuttgart – New York:
Georg Thieme Verlag, 1999: 917-20
 13. Bomanji JB, Costa Dc, Ell PJ.
Clinical role of positron emission tomography in oncology.
Lancet Oncol. 2001 Mar; 2(3):157-64. review.
 14. Bosakowski T, Levin AA.
Serum citrate as a peripheral indicator of fluoroacetate and fluorocitrate toxicity in

rats and dogs.

Toxicol Appl Pharmacol. 1986 Sep 30; 85(3): 428-36

15. Brand MD, Evans SM, Mendes-Mourao J, Chappell JB.
Fluorocitrate inhibition of aconitate hydratase and the tricarboxylate carrier of rat liver mitochondria.
Biochem J. 1973 May; 134(1): 217-24.
16. Brandau W, Becker W, Meyer GJ. In
Büll U, Schicha H, Biersack HJ, Knapp WH, Reiners C, Schober O, Hrsg.
Nuklearmedizin
Stuttgart – New York:
Georg Thieme Verlag, 2001: 83-84
17. Britton KE, Feneley MR, Jan H, Chengazi VU, Granowska M.
Prostate cancer: the contribution of nuclear medicine.
BJU Int. 2000 Jul; 86 Suppl 1: 135-42.
18. Brush JP.
Positron emission tomography in urological malignancy.
Curr Opin Urol. 2001; 11:175-179
19. Buffa P, Peters RA.
The in vivo formation of citrate induced by fluoracetate poisoning in animals.
J Physiol (Lond.) 1949; 110: 488-500
20. Buffa P, Peters RA, Wakelin RW.
Biochemistry of fluoroacetate poisoning; isolation of an active tricarboxylic acid fraction from poisoned kidney homogenates.
J Biochem. 1951 Apr; 48(4): 467-77
21. Buffa P, Pasquali-Ronchetti I.

Biochemical lesions of respiratory enzymes and configurational changes of mitochondria in vivo. II. Early ultrastructural modifications correlated to the biochemical lesion induced by fluoroacetate.

Cell Tissue Res. 1977 Sep 14; 183(1): 1-23

22. Campbell DT, Hille B.
Kinetic pharmacological properties of the sodium channel of frog skeletal Muscle.
Y Gen Physiol. 1976; 67: 265-293
23. Carmena MJ, Perez-Albarsanz MA, Recio MN.
[1-14C]acetate incorporation into free and esterified cholesterol during the development of the rat ventral prostate.
Comp Biochem Physiol B 1984; 79(4): 633-36
24. Chenoweth MB.
Monofluoroacetiv and related compounds.
Pharm Rev. 1949; 1: 383-424
25. Chenoweth MB.
Fluoroacetate: still a portal to comparative toxicology.
Fed Proc. 1967 Jul-Aug; 26(4):1074
26. Chi CH, Chen KW, Chan SH, Wu MH, Huang JJ.
Clinical presentation and prognostic factors in sodium monofluoroacetate intoxicatin.
J Toxicol Clin Toxicol. 1996; 34(6): 707-12
27. Chung HM.
Acute renal failure caused by acute monofluoracetate poisoning.
Vet Hum Toxicol. 1984; 26: 29-32
28. Clarke DD

Fluoroacetate and fluorocitrate: mechanism of action

Neurochem Res. 1991 Sep; 16(9): 1055-8

29. Cooper JF, Farid I.
The role of citric acid in the physiology of the prostate. A chromatographic study of citric acid cycle intermediates in benign and malignant prostatic tissue.
J Surg Res. 1963 Mar;3:112-21.
30. Costello LC, Franklin RB.
Aconitase activity, citrate oxidation, and zinc inhibition in rat ventral prostate.
Enzyme. 1981;26(6):281-7.
31. Costello LC, Franklin RB.
Prostate epithelial cells utilize Glukose and aspartate as the carbon sources for net citrate production
Prostate. 1989;15(4):335-42.
32. Costello LC, Franklin RB.
Concepts of citrate production and secretion by prostate. 1. Metabolic relationships.
Prostate. 1991;18(1):25-46.).
33. Costello LC, Franklin RB.
Citrate metabolism of normal and malignant prostate epithelial cells.
Urology. 1997 Jul;50(1):3-12.
34. Costello LC, Franklin RB, Narayan P.
Citrate in the diagnosis of prostate cancer.
Prostate. 1999 Feb 15;38(3):237-45.
35. Damian D, Fulham M, Thompson E, Thompson J.
Positron emission tomography in the detection and management of metastatic melanoma.

- Melanoma Res. 1996; 6: 325-9
36. Davies G, Peterson DW.
Normal extracellular calcium levels block kindled seizures.
Exp Neurol. 1989; 106: 99-101
37. Delbeke D, Pinson CW.
11C-Acetate: A new Tracer for the Evaluation of Hepatocellular Carcinoma.
J Nucl Med. 2003; 44: 222-223
38. Dienel GA, Popp D, Drew PD, Ball K, Krisht A, Cruz NF.
Preferential labelling of glia and meningeal brain tumors with [2-(14)C]acetate.
J Nucl. Med. 2001 Aug; 42(8): 1243-50
39. Dimitrakopoulou-Strauss A, Strauss LG.
PET imaging of prostate cancer with 11C-acetate.
J Nucl. Med. 2003 Apr; 44(4): 556-8.
40. Dumel RJ, Kun E.
Studies with specific enzyme inhibitors. Resolution of DL-erythro-Fluorocitric acid
Into optically active isomers.
J Bio Chem. 1969; 244: 2966-9
41. Eason CT, Wickstrom M, Turck P, Wright GRG.
A review of recent regulatory and eniromental toxicology studies on 1080: Result
And implications.
N Z J Ecol. 1999; 23: 129-37
42. Eason CT.
Sodium monofluoroacetate (1080) risk assessment and risk communication
Toxicology 2002 Dec; 27;181-182: 523-30

43. Eason CT, Turck P.
A 90-day toxicological evaluation of Compound 1080
(sodium monofluoroacetate) in Sprague-Dawley rats
Toxicol Sci. 2002Oct; 69(2): 439-47
44. Effert PJ, Bares R, Handt S, wolff JM, Bull D, Jakes G.
Metabolic imaging of untreated prostate cancer by positron emission tomography with
18-fluorine-labeled deoxyGlukose.
J Urol.1996; 155: 994-998
45. Egekeze JO, Oehme FW.
Sodium monofluoroacetate (SMFA, compound 1080): a literature review.
Vet Hum Toxicol. 1979 Dec; 21(6): 411-6
46. Fonum F, Johnsen A, Hassel B.
Use of fluorocitrate and fluoroacetate in the study of brain metabolism
Glia. 1997 Sep; 21(1): 106-13
47. Franshier DW, Gottwald LK, KunE.
Studies on specific enzyme mechanism of action of the enzyme-inhibitory isomer of
Monoflourocitrate
J Biol Chem. 1964 Feb; 239: 425-34
48. Fricke E, Machtens s, Hofmann M, Van den hoff J, bergh S, brunkhorst T, Meyer GJ,
Karstens JH, Knapp WH, Boerner AR.
Positron emission tomography with (11)C-acetate and (18)F-FDG in prostate cancer
patients.
Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2003 Apr; 30(4):607-11.
49. Gardner SF, Green JA, Bednarczyk EM, Farnett L, Miraldi F.
Principles and clinical applications of positron emission tomographie.
Am J Hosp Pharm. 1992; 49: 1400-1506

50. Garnick MB, Fair WR.
Combating prostate cancer.
Sci Am. 1998; 279: 74-83

51. Glaspy JA, Hawkins R, Hoh CK, Phelps ME.
Use of positron emission tomography in oncology.
Oncology (Huntingt.) 1993 Jul; 7(7): 41-6,49-50; discussion 50-55

52. Gibas Z, Becher R, Kawinski E, Horoszewicz J, Sandberg AA.
A high-resolution study of chromosome changes in a human prostatic carcinoma cell line (LNCaP).
Cancer Genet Cytogenet. 1984 Apr;11(4):399-404.

53. Goldberg ND, Passonneau JV, Lowry OH.
Effects of changes in brain metabolism on the level of citric acid cycle intermediates.
J Biol Chem. 1966; 241: 3997-4003

54. DeGrado TR, Reiman RE, Price DT, Wang S, Coleman RE.
harmacokinetics and radiation dosimetry of 18F-fluorocholine.
J Nucl Med. 2002 Jan; 43(1): 92-6

55. DeGrado Tr, Coleman Re, Wang S, Baldwin SW, Orr MD, Robertson CN, Polascik TJ, Price DT.
Synthesis and evaluation of 18F-labeled choline as an oncologic tracer for positron emission tomography: initial findings in prostate cancer.
Cancer Res. 2001 Jan 1; 61 (1): 110-17

56. DeGrado TR, Baldwin SW, Shuyan W, Orr MD, Friedman HS, Reinman R, Price DT, Coleman RE.
Synthesis and evaluation of 18F-labeled choline analogs as oncologic PET tracers.

- J Nucl Med. 2001; 42:1805-1814
57. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M.
Cancer statistics, 2001.
CA Cancer J Clin. 2001; 51: 15-36
58. Gregg K, Hamdorf B, Henderson K, Kopecny J, Wong C.
Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning.
Appl Environ Microbiol. 1998 Sep; 64(9): 3496-8
59. Gribble GW.
Fluoroacetate toxicity.
J Chem Educ. 1973 Jul; 50(7): 460-62.
60. O'Hagan D, Rzepa HS.
Stereochemical Effects of Fluorine in Enzyme Chemistry.
Stereospecific Control of the Citrate Synthase mediated Synthesis of (2R,3R) 3
Fluorocitrate by relative stabilities of the Intermediated Fluoroenolates.
J.Chem.Soc.,Chem.Comm.,1994 : 2029-36
61. Hara T, Kosaka N, Kishi H.
Development of (18) F- Fluoroethylcholine for cancer imaging with PET: synthesis,
biochemistry, and prostate cancer imaging.
J Nucl. Med. 2002 Feb; 43(2): 187-99
62. Hara T, Kosaka N, Shinoura N, Kondo T.
PET imaging of brain tumor with [methyl-11C]choline.
J Nucl Med. 1997; 38: 842-7
63. Hara T, Kosaka N, Kishi H.
PET imaging of prostate cancer using carbon-11-choline.
J Nucl Med. 1998 Jun; 39(6): 990-5

64. Harms-Ringdahl M, Anderstam B, Vaca C.
Heat-induced changes in the incorporation of [H3]acetate in membrane lipids
Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med. 1987 Aug; 52(2): 315-24
65. Harms-Ringdahl M, Anderstam B, Vaca C.
Incorporation of [3H]acetate into the membrane lipids of a murine tumour during the development of thermotolerance.
Int J Radiat Biol. 1989 Feb; 55(2): 297-305
66. Harrison JW, Ambrus JL, Ambrus CM, Rees EW, Peters RH Jr, Reese LC.
Acute poisoning with sodium fluoroacetate (compound 1080).
J Am Med Assoc. 1952 Aug 23;149(17):1520-2
67. Hautzel H, Müller-Mattheis V, Herzog H, Roden W, Coenen HH, Ackermann R, Müller-Gärtner HW, Krause BJ.
Die [11C] Acetat- Positronenemissionstomographie beim Prostatakarzinom.
Urologe A. 2002 Nov; 41(6): 569-76.
68. Hayward SJ, McIvor J, Burdge AH, Jewkes RF, William G.
Staging of prostatic carcinoma with radionuclide bone scintigraphy and lymphography.
Br J Radiol. 1987 Jan; 60(709): 79-81
69. Hayward SW, Dahiya R, Cunha GR, Bartek J, Deshpande N, Narayan P.
Establishment and characterization of an immortalized but non-transformed human prostate epithelial cell line: BPH-1.
In Vitro Cell Dev Biol Anim. 1995 Jan;31(1):14-24.
70. Heicappell R, Muller-Mattheis V, Reinhardt M., Vosberg H., Gerharz CD, Muller-Gartner H, et al.

Staging of pelvic lymph nodes in neoplasms of the bladder and prostate by positron emission tomography with 2-[¹⁸F]-2-deoxy-D-Glucose.

Eur Urol. 1999; 36: 582-7

71. Ho CL, Yu SCH, Yeung DWC.
11C-Acetate PET Imaging in Hepatocellular Carcinoma and other Liver Masses.
J Nucl Med. 2003 Feb; 40(02): 213-223
72. Hochachka PW, Rupert JL, Goldenberg L, Gleave M, Kozlowski P.
Going malignant: the hypoxia-cancer connection in the prostate.
Bioessays. 2002 Aug;24(8):749-57.
73. Hofer C, Kubler H, Hartung R, Breul J, Avril N.
Diagnosis and monitoring of urological tumors using positron emission tomography
Eur Urol. 2001 Nov; 40(5): 481-487
74. Hofer C, Laubenbacher C, Block T, Breul J, Hartung R, Schwaiger M.
Fluorine-18-fluorodeoxyGlucose positron emission tomography is useless for the
detection of local recurrence after radical prostatectomy
Eur Urol. 1999; 36(1): 31-35
75. Hoh CK, Seltzer MA, Franklin J DeKernion JB, Phelps ME, Belldegrun A.
Positron emission tomography in urological oncology.
J Urol. 1998; 159: 347-356
76. Hornfeldt CS, Larsson AA.
Seizures induced by fluoroacetic acid involve chelation of divalent cations in the
Spinal cord.
Eur J Pharmacol. 1990; 179: 307-313
77. De Jong IJ, Pruim J, Elsinga PH, Vaalburg W, Mensink HJ.
Visualization of prostate cancer with 11C-choline Positron Emission Tomography.

- Eur Urol. 2002 Jul; 42(1):18-23
78. Jonson SD, Welch MJ.
Investigations into tumor accumulation and peroxisome proliferator activated receptor binding by F-18 and C-11 fatty acids.
Nucl Med Biol. 2002 Feb; 29(2): 211-6
79. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW.
Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3).
Invest Urol. 1979 Jul;17(1):16-23
80. Kato T, Tsukamoto E, Kuge Y, Takei T, Shiga T, Shinohara N, Katoh C, Nakada K, Tamaki N.
Accumulation of [(11)C]acetate in normal prostate and benign prostatic hyperplasia comparison with prostate cancer.
Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2002 Nov; 29(11): 1492-5
81. Kennedy EP.
Metabolism and function of membrane lipids.
Klin Wochenschr. 1987 Mar 2; 65(5): 205-12
82. Kennedy EP, Weiss SB.
The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides.
J Biol Chem. 1995 Sep; 270(1): 193-214
83. Kent TA, Emptage MH, Merkle H, Kennedy MC, Beinert H, Munck E.
Mossbauer studies of aconitase. Substrate and inhibitor binding, reaction intermediates, and hyperfine interactions of reduced 3Fe and 4Fe clusters.
J Biol Chem. 1985 Jun 10;260(11):6871-81.
84. Knust EJ, Kupfernagel C, Stocklin G.

- Long-chain F-18 Fatty acid for the study of regional metabolism in heart and liver; odd-even effects of the metabolism in mice.
J Nucl Med. 1979 Nov; 20(11): 1170-5
85. Kobori O, Kirihara Y, Kosaka N, Hara T.
PET imaging of prostate cancer using carbon-11-choline.
J Nucl Med. 1998; 86: 1638-45
86. Koenig H, Patel A.
Biochemical basis for fluorouracil neurotoxicity. The role of Krebs cycle inhibition by fluoroacetate.
Arch Neurol. 1970 Aug; 23(2): 155-60.
87. Koenig H, Patel A.
The acute cerebellar syndrome in 5-fluorouracil chemotherapie: A manifestation of fluoroacetate intoxication.
Neurology 1970; 20: 416
88. Kosuda S, Kison PV, Greenough R, Grossman Hb, Wahl RL.
Preliminary assessment of fluorine-18fluorudeoxyglukose positron emission Tomography in the diagnosis and staging of urinary bladder cancer.
Eur J Nucl Med. 1997; 24: 615-20
89. Kotzerke J, Volkmer BG, Neumaier B, Gschwend JE, Hautmann RE; Reske SN.
Carbon-11 acetate positron emission tomography can detect local recurrence of prostate cancer.
Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2002 Oct; 29(10): 1380-4
90. Kotzerke J, Prang J, Neumaier B, Volkmer B, Guhlmann A, Kleinschmidt K, Hautmann R; Reske SN.
Experience with carbon-11 choline positron emission tomography in prostate carcinoma.

Eur J Nucl Med. 2000 Sep; 27(9): 1415-9

91. Kotzerke J, Volkmer BG, Glatting G, van der Hoff J, Gschwend JE, Messer P, Reske SN, Neumaier B.
Intraindividual comparison of [^{11}C]acetate and [^{11}C]choline PET for detection of metastases of prostate cancer.
Nuklearmedizin 2003; 42: 25-30
92. Kotzerke J, Gschwend JE, Neumaier B.
PET for prostate cancer imaging: still a quandary or the ultimate solution?
J Nucl Med. 2002 Feb; 43(2): 200-2.
93. Kreutzig T. In
Kreutzig T., Hrsg.
Kurzlehrbuch Biochemie
München, Jena
Urban & Fischer Verlag, 2002: 197-245
94. Kurhanewicz J, Vignero DB, Hricak H, Narayan P, Carroll P, Nelson SJ.
Three-dimensional H-1 MR spectroscopic imaging of the in situ human prostate with high (0,24-0,7cm³) spatial resolution.
Radiology 1996; 198: 795-805
95. Kurhanewicz J, Vignero DB, Males RG, Swanson MG, Yu KK, Hricak H.
The prostate: MR imaging and spectroscopy. Present and future.
Radiol Clin North Am. 2000; 38(1): 115-38
96. Lange D. In
Büll U, Schicha H, Biersack HJ, Knapp WH, Reiners C, Schober O, Hrsg.
Nuklearmedizin
Stuttgart – New York:
Georg Thieme Verlag, 2001: 4-47

97. Lantz EJ, Hattery RR.
Diagnostic imaging of urothelial cancer.
Urol Clin North Am. 1984; 11: 567-583
98. Lauble H, Kennedy MC, Emptage MH, Beinert H, Stout CD.
The reaction of fluorocitrate with aconitase and the crystal structure of the enzyme-inhibitor complex.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA.1996 Nov 26; 93(24): 13699-13703
99. Liu RS.
Clinical Application of C-11-acetate in oncology
Clin Positron Imaging. 2000 Jul; 3(4): 185
100. Loeffler G. In
Loeffler G, Petrides PE, Hrsg.
Biochemie und Pathobiochemie
Berlin, Heidelberg, New York:
Springer Verlag, 2003: 520-29
101. Lomena F, Simo M, Setoain X, Perez G.
[Positron emission tomography (PET): application in urogenital system oncologic diseases].
Arch Esp Urol. 2001 Jul-Aug; 54(6): 649-60
102. Lotspeich WD, Peters RA, Wilson TH.
The inhibition of aconitase by 'Inhibitor fractions' isolated from tissues poisoned with fluoroacetate.
Biochem J. 1952 Apr; 51(1): 20-5
103. Liebecq C, Peters RA.
The toxicity of fluoroacetate and the tricarboxylic acid cycle. 1949.

- Biochem Biophys Acta. 1989; 1000: 254-69
104. Liebecq C.
Commentary on 'The toxicity of fluoroacetate and the tricarboxylic acid cycle'.
Biochem Biophys Acta. 1989; 1000: 251-3.
105. Liu IJ, Zafar MB, Lai YH, et al.
FluorodesoxyGlukose positron emission tomography studies in diagnosis and staging
of clinically organ-confined prostate cancer.
Urology 2001; 57: 108-111
106. Macapinlac HA, Humm JL, Akhurst T, Osman I, Pentlow K, Shangde C, Yeung HW,
Squire O, Finn RD, Scher HI, Larson SM.
Differential metabolism and pharmacokinetics of C-11 methionine (C11-MET) and
FDG in metastatic prostate cancer.
Clin Positron Imaging. 1999 May; 2(3): 173-181
107. Maisey M, Jeffery P.
Clinical aplikations of positron emission tomography.
Br J Clin Pract. 1991; 45: 265-272
108. Marais JSC.
Monofluoroacetic acid , the toxic principle of "Gifblaar" *Dichapetalum cymosum*
(Hook) Engl.
Ond J Ve Sci Animal Ind. 1944; 20: 67-73
109. Marcelo CL, Dunham WR.
Fatty acid metabolism studies of human epidermal cell cultures.
J Lipid Res. 1993 Dec; 34(12): 2077-90
110. Mathews D, Oz OK.
Positron emission tomography in prostate and renal cell carcinoma.

- Curr Opin Urol. 2002 Sep; 12(5): 381-5
111. Matthies A, Ezziddin S, Ullrich EM, Palmedo H, Biersack HJ, Bender H, Guhlke S.
Imaging of prostate cancer metastases with 18F-fluoroacetate using PET/CT.
Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004 May;31(5):797. Epub 2004 Feb 20.
112. McEwan T.
Isolation and identification of the toxic principle of *gastrolobium grandiflorum*.
Nature. 1964 Feb 22; 201: 827
113. Mead RJ, Segal W.
Fluoroacetic acid biosynthesis: a proposed mechanism.
Aust J Biol Sci. 1972 Apr; 25(2): 327-33.
114. Meyer JJ, Grobbelaar N, Steyn PL.
Fluoroacetate-metabolizing pseudomonad isolated from *Dichapetalum cymosum*.
Appl Environ Microbiol. 1990 Jul; 56(7): 2152-5
115. de-Moraes-Moreau RL, Haraguchi M, Morita H, Palermo-Neto J.
Chemical and biological demonstration of the presence of monofluoroacetate in the
leaves of *Palicourea marcgravii* St. Hil.
Braz J Med Biol Res. 1995 Jun; 28(6): 685-92
116. Morrison JF, Peters RA.
Biochemistry of fluoroacetate poisoning: effect of fluorocitrate on purified aconitase.
Biochem J. 1954 Nov; 58(3): 473-79
117. Morselli PL, Garattini S, Marcucci F, Mussini E, Rewersky W, Valezelli L
Peters RA.
The effect of injections of fluorocitrate into brain of rats.
Biochem Pharmacol. 1968; 17: 195-202

118. Norris WR, Temple WA, Eason CT, Wright GR, Atsalria J, Wickstrom ML:
Sorption of fluoroacetate (compound 1080) by Colestipol, activated charcoal and anion-exchange in resins in vitro and gastrointestinal decontamination in rats.
Vet Hum Toxicol. 2000 Oct; 42(5): 269-75

119. Nudell DM, Wefer AE, Hricak H, Carroll PR.
Imaging of recurrent prostate cancer.
Radiol Clin North Am. 2000; 38: 213-29

120. Oelrichs PB, McEwan T.
Isolation of the toxic principle in *Acacia georginae*.
Nature. 1961 May27; 190: 808-9

121. Oyama N, Akino H, Suzuki Y, Kanamaru H, Sadato N, Yonekura Y, Okada K.
The increased accumulation of [¹⁸F]fluorodeoxyGlucose in untreated prostate cancer.
Jpn J Clin. Oncol. 1999 Dec; 29(12): 623-9

122. Oyama N, Akino H, Kanamaru H, Suzuki Y, Muramoto S, Yonekura Y, Sadato N, Yamamoto K, Okada K.
C-11 acetate PET imaging of prostate cancer.
J Nucl Med. 2002 Feb; 43(2): 181-6

123. Oyama N, Kim J, Jones LA, Mercer NM, Engelbach JA, Sharp TL, Welch MJ.
MicroPET assessment of androgenic control of Glukose and acetate uptake in the rat.
Nucl Med Bil. 2002 Nov; 29(8): 783-90

124. Oyama N, Miller TR, Dehdashti F, Siegel BA, Fischer KC, Michalski JM, Kibel AS, Andriole GL, Picus J, welch MJ.
11C- acetate PET imaging of prostate cancer: detection of recurrent disease at PSA relapse.
J Nucl. Med. 2003 Apr; 44(4): 549-55

125. Oyen WJ, Witjies JA, Corstens FH.
Nuclear medicine techniques for the diagnosis and therapy of prostate carcinoma.
Eur Urol. 2001 Sep; 40(3): 294-9
126. Pan Y, Kytola S, Farnebo F, Wang N, Lui WO, Nupponen N, Isola J, Visakorpi T, Bergerheim US, Larsson C.
Characterization of chromosomal abnormalities in prostate cancer cell lines by spectral karyotyping.
Cytogenet Cell Genet. 1999;87(3-4):225-32.
127. Pattison FLM.
Toxic aliphatic fluorine compounds.
Elsevier Publishing Company, 1959: 12-81
128. Pelech SL, Vance DE.
Signal transduction via phosphatidylcholine cycles.
Trends Biochem. 1989 ; 14 : 28-30
129. Peters RA.
The puzzle for therapy in fluoroacetate poisoning.
Br Med J. 1952 Nov 29; 2(4795): 1165-70
130. Peters RA
Biochemical Lesions and Lethal synthesis.
Proc R Soc Lond. 1963; 139: 143-170
131. Peters RA, Hall RJ, Ward PF, Sheppard N.
The chemical nature of the toxic compound containing fluorine in the seeds of *Dichapetalum toxicarium*.
Biochem J. 1960 Oct; 77: 145-55
132. Peters RA, Spencer H, Bidstrup PL.

- Subacute fluoroacetate poisoning.
J Occup Med. 1981 Feb; 23(2): 112-3
133. Peters RA, Wakelin RW.
The synthesis of fluorocitric acid and its inhibition in acetate.
Biochem J. 1957 Oct; 67(2): 280-6
134. Peters R, Wakelin RW, Buffa P.
Biochemistry of fluoroacetate poisoning; the isolation and some properties of the fluorotricarboxylic acid inhibitor of citrate metabolism.
Proc R Soc Lond B Biol Sci. 1953 Jan 15; 140 (901): 497-507
135. Peters RA, Wakelin RW, Rivett DE, Thomas LC.
Fluoroacetate poisoning: comparison of synthetic fluorocitric acid with the enzymically synthesized fluorotricarboxylic acid.
Nature. 1953 Jun 20; 171(4364): 1111-2
136. Picchio M, Landoni C, Messa C, Gianolli L, Matarrese M, De Cobelli F, Maschio AD, Fazio F.
Positive [¹¹C]choline and negative [¹⁸F]FDG with positron emission tomography in recurrence of prostate cancer.
AJR Am J Roentgenol. 2002 Aug; 179(2): 482-4.
137. Podo F.
Tumour phospholipid metabolism
NMR Biomed. 1999 Nov; 12(7): 413-439
138. Ponde DE, Oyama N, Dence KS, Welch MJ.
18Fluoroacetate, an analogue of C-11 acetate for tumour imaging
J Nucl Med. 2003; 44:1062
139. Price DT, Coleman RE, Liao RP, Robertson CN, Polascik TJ, DeGrado TR.

- Comparison of [18F]- fluorocholine and [18F] fluorodeoxyGlucose for positron emission tomography of androgen dependent and androgen independent prostate cancer.
J Urol. 2002 Jul; 168(1): 273-80
140. Robinson RF, Griffith JR, Wolowich WR, Nahata MC.
Intoxication with sodium monofluoroacetate (compound 1080).
Vet Hum Toxicol. 2002 Apr; 44(2): 93-5
141. Roy A, Taitelmann U, Bursztein S.
Evaluation of the role of ionized calcium in sodium fluoracetate (“1080”) poisoning.
Toxicol Appl Pharmacol. 1980; 56: 216-20
142. Sanz G, Robles JE, Gimenez M.
Positron emission tomography with 18fluorine-labeled deoxyGlucose : utility in localized and advanced prostate cancer.
Br J Urol.1999; 84: 1028-1931
143. Scaccianoce E, Festuccia C, Dondi D, Guerini V, Bologna M, Motta M, Poletti A.
Characterization of prostate cancer DU145 cells expressing the recombinant androgen receptor.
Oncol Res. 2003;14(2):101-12.
144. Seltzer MA, Barbaric Z, Belldegrun A, et al.
Comparison of helical computerized tomography, positron emission tomography and monoclonal antigen scans for evaluation of the lymph node metastases in patients with prostate cancer specific antigen relapse after treatment for localized prostate cancer.
J Urol.1999; 162: 1322-1328
145. Shinoda K, Mitsumori K, Uneyama C, Uehara M.
Induction and inhibition of testicular germ cell apoptosis by fluoroacetate in rats.
Arch Toxicol. 2000 Mar; 74(1): 33-9

146. Shreve PD.
Carbon-11 acetate PET imaging of prostate cancer.
J Nucl. Med 1990; 40(suppl): 60
147. Shreve PD, Chiao PC, Humes HD, Schwaiger M, Gross MD.
Carbon-11-acetate PET imaging in renal disease.
J Nucl Med 1995; 36: 1595-1601
148. Shreve PD, Grossman HB, Gross MD, Wahl RL.
Metastatic prostate cancer: Initial findings of PET with 2-deoxy-2-[F-18]fluoro-D-Glucose.
Radiology 1996; 199: 751-756. 1997; 202: 497-503
149. Shvarts O, Han KR, Seltzer M, Pantuck AJ, Beldegrun AS.
Positron emission tomography in urologic oncology.
Cancer control. 2002 Jul-Aug; 9(4):335-342. Review.
150. Sökeland J, Schulze H, Rübber H. In
Sökeland J, Schulze H, Rübber H, Hrsg.
Urologie
Stuttgart – New York:
Georg Thieme Verlag, 2002: 286-314
151. Stallings WC, Monti CT, Belveder JF, Preston RK, Glusker JP.
Absolute configuration of the isomer of fluorocitrate that inhibits aconitase.
Arch Biochem Biophys. 1980 Aug; 203(1): 65-72
152. Strauss LG, Conti PS.
The applications of PET in clinical oncology.
J Nucl Med. 1991; 32: 623-648

153. Sullivan JL, Smith FA, Garman RH.
Effects of fluoroacetate on the testis of rats.
J Reprod Fertil. 1979; 56: 201-07
154. Swanson RA, Graham SH.
Fluorocitrate und Fluoroacetate effects on astrocyte metabolism in vitro.
Brain Res. 1994; 664: 94-100
155. Swinnen JV, Verhoeven G.
Androgens and the control of lipid metabolism in human prostate cancer cells.
J Steroid Biochem Mol Biol. 1998 Apr;65(1-6):191-8.
156. Sykes TR, Ruth TJ, Adam MJ.
Synthesis and murine tissue uptake of sodium[18F]fluoroacetate.
Int J Rad Appl Instrum B. 1986; 13(5): 497-500
157. Sykes TR, Quastel JH, Adam MJ, Ruth TJ, Noujaim AA.
The Disposition and Metabolism of [18F]-Fluoroacetate in Mice.
Biochemical Archives. 1987; 3: 317-323
158. Schicha H, Schober O. In
Schicha Schober H Hrsg.
Nuklearmedizin
Basiswissen und klinische Anwendung
Stuttgart–New York:
Schattauer, 2000: 6-8
159. Schlag P, Lehner B, Strauss LG, Georgi P, Herfarth C.
Scar or recurrent rectal cancer.
Arch Surg. 1989; 124: 197-200
160. Schultz RA, Coetzer JA, Kellerman TS, Naude TW.

- Observations on the clinical, cardiac and histopathological effects of fluoroacetate in sheep.
Onderstepoort J Vet Res. 1982 Dec; 49(4): 237-45
161. Taitelmann U, Roy A, Hoffer E.
Fluoroacetate poisoning in man: the role of ionized calcium.
Arch Toxicol. 1983; 6: 228-231
162. Teclé B, Cassida JE.
Enzymatic defluorination and metabolism of fluoroacetate, fluoroacetamid, Fluorethanol and (-)-erythrofluorocitrate in rats and mice examined by ^{19}F and ^{13}C NMR.
Chem Res Toxicol. 1989; 2: 429-35
163. Trapasso JG, deKernion JB, Smith RB, Dorey F.
The incidence and significance of detectable levels of serum prostate specific antigen after radical prostatectomy.
J Urol. 1994; 152: 1821- 5
164. Tronchere H, Record M, Terce F, Chap H.
Phosphatidylcholine cycle and regulation of phosphatidylcholine biosynthesis by enzyme translocation.
Biochem Biophys Acta 1994; 1212: 137-151
165. Twigg LE, King DR, Bowen LH, Wright GR, Eason CT.
Fluoroacetate content of some species of the toxic Australian plant genus, *Gastrolobium*, and its environmental persistence.
Nat Toxins. 1996; 4(3): 122-7
166. Varagnolo L, Stokkel MP, Mazzi U, Pauwels EK.
 ^{18}F -labeled radiopharmaceuticals for PET in oncology, excluding FDG.

- Nucl Med Biol. 2000 Feb; 27(2): 103-12
167. Villafrana JJ, Platus E.
Fluorocitrate inhibition of aconitase: Reversibility of the inactivation.
Biochem Biophys Res Commun. 1973 Dec 19; 55(4): 1197-1207
168. Vogelstein B, Kinzler KW.
The multistep nature of cancer.
Trends Genet. 1993; 9: 138-41
169. Weber wa, Avril N, Schwaiger M.
Relevance of positron emission tomography (PET) in oncology.
Strahlenther. Onkol. 1999; 175: 356-373,
170. Weiss M, Hahn K.
Positronen-Emissions-Tomographie (PET).
Manual Maligne Melanome
© 2000 by Tumorzentrum München
171. Wilson CBJH.
PET scanning in oncology.
Eur J cancer. 1992; 28: 508-510
172. Wu TJ, McArthur NH, Harms PG.
Fluoroacetate, a selective inhibitor of the glia tricarboxylic acid cycle, attenuated the
release of luteinizing hormone-releasing hormone from the hypothalamus of
ovariectomized rats.
Ann NY Acad Sci. 1991; 633: 626-7.
173. Yeh SD, Imbriaco M, Larson SM, Garza D, Zhang JJ, Kalaigian H, et al.
Detection of bony metastases of androgenindependent prostate cancer by PET-FDG.
Nucl Med Biol. 1996; 23: 693-7

174. Yeh SH, Liu RS, Wu LC, Yen SH, Chang CW, Chen KY.
11C-Acetate clearance in nasopharyngeal carcinoma.
Nucl Med. commun 1999; 20: 131-134
175. Yoshimoto M, Waki A, Yonekura Y, Sadato N, Murata T, Omata N, Takahashi N, Wech MJ, Fujibayashi Y.
Characterization of acetate metabolism in tumor cells in relation to cell proliferation: acetate metabolism in tumor cells.
Nucl Med Biol. 2001 Feb; 28(2): 117-22
176. Yu KK, Hricak H.
Imaging prostate cancer.
Radiol Clin North Am. 2000 Jan; 38(1): 59-85
177. Yu KK, Hawkins RA.
The prostate: diagnostic evaluation of metastatic disease.
Radiol Clin North Am. 2000 Jan; 38(1): 139-57
178. Zeisel SH.
Dietary choline: biochemistry, physiology and pharmacology.
Annu Rev Nutr 1981; 1: 95-121

Danksagung

Für den erfolgreichen Abschluss der vorliegenden Arbeit schulde ich sehr vielen Menschen meinen herzlichen Dank.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Stefan Guhlke, danken, der mir viel Geduld und Vertrauen entgegengebracht und mich in schwierigen Situationen mit seiner Diskussionsbereitschaft und seinen wertvollen Ratschlägen motiviert hat.

Bei Herrn Professor Biersack möchte ich mich für die Möglichkeit an seiner Klinik zu arbeiten und für die Unterstützung bedanken.

Herzlichen Dank an das ganze Team der Klinik für Nuklearmedizin der Universitätsklinik Bonn, die mich alle so lieb unterstützt haben und mir immer alle mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ein ganz besonderes Dankeswort gilt meinem Bruder Philipp Ullrich und meinem Freund Benjamin Sattler, die mich mit ihren Computerkenntnissen bei allen Fragestellungen über Formatierungen, Excel und Bildbearbeitung unterstützt haben.

Ich habe mich immer auf die Unterstützung meiner ganzen Familie verlassen können. Sie haben mich bestärkt, wenn ich selbst an der erfolgreichen Fertigstellung meiner Doktorarbeit gezweifelt habe und mich immer bedingungslos in allem unterstützt.

Ihnen möchte ich diese Arbeit von ganzem Herzen widmen.