



Doctoral Thesis

Characterization of adenosine-releasing cellular brain implants for long-term seizure control

Author(s):

Güttinger, Martin

Publication Date:

2005

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005014178> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 15910

Characterization of adenosine-releasing cellular brain implants for long-term seizure control

A Dissertation Submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the Degree of
Doctor of Sciences

Presented by
Martin Güttinger
Eidg. Dipl. Apotheker, ETH
Born February 1st, 1975
Citizen of Horgen ZH

Accepted on the Recommendation of
Prof. Dr. H. Möhler, examiner
Prof. Dr. J.M. Fritschy, co-examiner

2005

Summary

Despite medical advances and the introduction of new antiepileptic drugs in recent years, seizures persist in approximately 35% of patients with partial epilepsy. In the search for new therapeutic approaches for pharmaco-resistant epilepsy, an adenosine-based cell therapy has been advanced based on the local paracrine delivery of adenosine in the vicinity of an epileptic focus. This strategy to augment the inhibitory adenosinergic system is supported by three recent findings: (i) dysregulation of the adenosinergic neuromodulatory system is associated with chronic seizure activity, (ii) pharmacological activation of the adenosinergic system in a mouse model of pharmaco-resistant epilepsy leads to suppression of seizure activity and (iii) kindled seizures are transiently suppressed by the local release of adenosine from encapsulated adenosine kinase-deficient (*Adk*^{-/-}) fibroblasts. To assess the feasibility of a long-term adenosine-based treatment approach, the following prerequisites have been investigated in this study:

(i) *Identification of the molecular substrates involved in adenosine-mediated seizure suppression.* The anticonvulsant properties of adenosine A_1 and A_{2A} receptor agonists in genetically epilepsy-prone rats (GEPRs) were assessed. These animals represent a model of generalized brainstem epilepsy with a high predictive validity for the screening of antiepileptic compounds. The systemic administration of an A_1 or an A_{2A} receptor agonist is effective in reducing seizure activity in these rats. Thus, the subtypes of adenosine receptors present in the vicinity of an epileptic focus do not impair the effectiveness of adenosine-mediated seizure suppression (Publication n°1).

(ii) *Evaluation of the effectiveness and potential side effects of long-term seizure control by adenosine.* To evaluate potential consequences of long-term adenosine release such as A_1 receptor desensitization or centrally-mediated side effects, adenosine-releasing myoblasts have been generated and grafted into the lateral brain ventricle of kindled rats. In order to isolate the paracrine effects of adenosine from effects caused by network integration of grafted cells, myoblasts were encapsulated into polymer membranes. Seizure suppression by local adenosine delivery is extended to several weeks using these encapsulated myoblasts and this

effect is neither compromised by A₁ receptor desensitization nor by a sedative effect. Thus, long-term seizure suppression by adenosine-releasing cellular brain implants is feasible without sedative side effects (Publication n°2).

(iii) *Determination of the anticonvulsant effectiveness of adenosine release by grafted Adk^{-/-} embryonic stem (ES) cell-derived progeny in vivo.* Adk^{-/-} ES cell-derived embryoid bodies (EBs) and glial precursor cells encapsulated into polymer membranes were implanted into the lateral brain ventricle of kindled rats and the anticonvulsant efficacy of this treatment was determined. As a first experimental proof that engineered ES cells are effective in epilepsy therapy, seizure activity in kindled rats was suppressed at both the behavioural and electroencephalogram (EEG) levels. Thus, Adk^{-/-} ES cell-derived progeny release sufficient amounts of adenosine to suppress seizure activity by a paracrine mode of action (Publication n°3).

In conclusion, the studies reported in this dissertation demonstrate that the local delivery of adenosine for long-term seizure control is feasible by different cell types and is neither precluded by A₁ receptor desensitization nor by central side effects.

Zusammenfassung

Trotz medizinischen Fortschritten und der Einführung von neuen antiepileptischen Medikamenten in den letzten Jahren, lassen sich ungefähr 35% der Patienten mit partieller Epilepsie nicht medikamentös behandeln. Auf der Suche nach neuen therapeutischen Ansätzen für pharmakoresistente Epilepsie-Formen wurde eine Zelltherapie entwickelt, welche auf einer lokalen, parakrinen Freisetzung von Adenosin in der Nähe eines epileptischen Fokus basiert. Dieser auf das inhibitorische, adenosinerge System basierende Therapieansatz wird durch die folgenden Befunde unterstützt: (i) Eine Fehlregulation des adenosinergen, neuromodulatorischen Systems ist mit chronischen epileptischen Anfällen verbunden, (ii) die pharmakologische Aktivierung des adenosinergen Systems in einem Mausmodell für pharmakoresistente Epilepsie führt zu einer Unterdrückung der epileptischen Anfälle und (iii) gekindelte konvulsive Anfälle werden kurzfristig durch eine lokale Freisetzung von Adenosin durch verkapselte Adenosinkinase-defiziente (*Adk*^{-/-}) Fibroblasten unterdrückt. Um die Durchführbarkeit eines auf Adenosin basierenden Therapieansatzes über einen längeren Zeitraum zu bestimmen, wurde im Rahmen dieser Arbeit die folgenden Voraussetzungen für eine solche Therapie genauer analysiert:

(i) *Identifikation der an der Adenosin-vermittelten Anfallsunterdrückung beteiligten Rezeptoren.* Die antikonvulsiven Eigenschaften von A₁- und A_{2A}-Rezeptor-Agonisten wurden in genetisch Epilepsie-anfälligen Ratten (genetically epilepsy-prone rats, GEPR-9) ermittelt. Diese Tiere stellen ein Modell für generalisierte Hirnstamm-Epilepsie mit einer hohen prädiktiven Validität für die Selektion von antiepileptischen Wirkstoffen dar. Sowohl die systemische Gabe eines A₁- sowie eines A_{2A}-Rezeptor-Agonisten waren effektiv in der Unterdrückung von epileptischen Anfällen in diesen Ratten. Demnach wird eine Adenosin-vermittelte Anfallsunterdrückung nicht durch die Adenosin-Rezeptor-Subtypen eingeschränkt, welche in der Nähe eines epileptischen Fokus vorhanden sind (Publikation n°1).

(ii) *Evaluierung der Wirksamkeit sowie möglicher Nebenwirkungen einer Adenosin-vermittelten Langzeit-Anfallskontrolle.* Um die Auswirkungen einer Langzeit-Adenosinfreisetzung, wie zum Beispiel A₁-Rezeptor-Desensibilisierung oder

zentrale Nebenwirkungen, zu ermitteln, wurden Adenosin-freisetzende Myoblasten entwickelt und in den lateralen Hirnventrikel von gekindelten Ratten implantiert. Um parakrine Adenosin-Effekte von Effekten zu trennen, welche durch Netzwerk-Integration der transplantierten Zellen entstehen könnten, wurden die Myoblasten in Polymermembranen verkapselt. Mit der Verwendung dieser verkapselten Myoblasten konnte die Anfallsunterdrückung durch lokale Adenosin-Freisetzung über mehrere Wochen aufrechterhalten werden und dieser Effekt wurde weder durch A_1 -Rezeptor-Desensibilisierung noch durch sedative Effekte beeinträchtigt. Folglich ist eine Langzeit-Unterdrückung von epileptischen Anfällen durch Adenosin-freisetzende zelluläre Hirnimplantate ohne sedative Nebenwirkungen möglich (Publikation n°2).

(iii) *Ermittlung der antikonvulsiven Wirksamkeit der Adenosin-Freisetzung durch transplantierte Abkömmlinge von $Adk^{-/-}$ embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) in vivo.* Von ES-Zellen abgeleitete, in Polymermembranen verkapselte Embryoid Bodies (EBs) und gliale Vorläuferzellen wurden in den lateralen Hirnventrikel von gekindelten Ratten implantiert und auf ihre antikonvulsive Wirksamkeit hin untersucht. Als erster experimenteller Beweis dafür, dass genetisch veränderte ES Zellen wirksam sind in der Epilepsie-Therapie, wurden epileptische Anfälle auf der Stufe vom beobachtbaren epileptischen Verhalten sowie auf der Stufe des Elektroenzephalogramms (EEG) unterdrückt. Somit setzen $Adk^{-/-}$ ES-Zellabkömmlinge ausreichende Mengen an Adenosin frei, um durch eine parakrine Wirkung epileptische Anfälle zu unterdrücken (Publikation n°3).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Untersuchungen dieser Doktorarbeit beweisen, dass epileptische Anfälle durch eine lokale Freisetzung von Adenosin aus verschiedenen Zelltypen kontrolliert werden können und weder durch die eine Desensibilisierung von A_1 -Rezeptoren noch durch zentrale Nebenwirkungen beeinträchtigt werden.