
5. Zusammenfassung

T. gondii verursacht eine in der Regel asymptomatisch verlaufende Infektion, die durch Persistenz des Erregers in Zysten vor allem im zentralen Nervensystem charakterisiert ist. Unter Immunsuppression (z.B. AIDS-Patienten, Transplantierte) kommt es zu einer Reaktivierung der Infektion, die unbehandelt unter dem Bild einer Enzephalitis tödlich verläuft. Die Therapie der Reaktivierungstoxoplasmose, einer der häufigsten zerebralen Infektionen bei Immunsupprimierten, setzt sich aus einer mindestens vierwöchigen Akut-Behandlung, gefolgt von einer lebenslang durchzuführenden Erhaltungstherapie, zusammen. Standardtherapeutika wie Pyrimethamin und Sulfadiazin sind durch hohe Toxizität oder Allergisierung gekennzeichnet; alternative Wirkstoffe werden nur wenig resorbiert und/oder sind wenig gehirngängig. Die Wirkstoffapplikation in Form von oberflächenmodifizierten Nanosuspensionen ermöglicht das gezielte Targeting von Zellen im zentralen Nervensystem. Um die Passage von Wirkstoff-Nanosuspensionen durch die Blut-Hirn-Schranke zu untersuchen, wurde in der vorliegenden Arbeit ein In-vitro-Modell der Blut-Hirn-Schranke etabliert. Die Kokultur von primären Ratten-Hirnendothelzellen mit primären Rattenastrozyten in einem Transwell-System war der Monokultur von unterschiedlichen Zelllinien aus Maus oder Ratte überlegen. Sowohl die Messung des TEER (bis zu $350 \Omega \times \text{cm}^2$) als auch die Permeabilitätsuntersuchungen bestätigten die grundsätzliche Eignung für Transportstudien. Problematisch stellte sich die Testung von mit Tween-80-beladenen Nanosuspensionen heraus, da diese selbst im zellfreien System vermutlich aufgrund von Aggregation oder Adhäsion an der Plastikoberfläche den Filter nicht dosisabhängig passierten.

Um die Interaktion von *T. gondii* mit der Blut-Hirn-Schranke zu untersuchen, wurde die Infektion von primären Hirnendothelzellen der Ratte mit *T. gondii* mittels Laser-Scanning-Mikroskopie untersucht. Parallel dazu wurden zytotoxische Effekte des Parasiten auf Hirnendothelzellen mit verschiedenen Methoden untersucht. Es zeigte sich, dass Hirnendothelzellen innerhalb weniger Minuten von *T. gondii* infiziert wurden; deutliche zytotoxische Effekte stellten sich erst bei Parasiten-Zell-Verhältnissen von >1:1 ein.

Um die Wirksamkeit von Antiparasitika-Nanosuspensionen zu untersuchen, wurden

Tween-80-beladene Nanosuspensionen des Hydronaphthochinons Atovaquon (mit exzellenter In-vitro-Wirksamkeit gegen *T. gondii*) für die i.v.-Therapie hergestellt. Die Dosis und Häufigkeit der Verabreichung in der Akutphase der Behandlung wurde optimiert. Dabei wurden Konzentrationen im Serum der Versuchstiere von Atovaquon erreicht, die denen im Serum von oral-behandelten Patienten entsprechen.

Darüber hinaus wurde erstmals ein Mausmodell der Reaktivierungstoxoplasmose zur Testung von Wirkstoffen für die Erhaltungstherapie etabliert. In diesem Modell zeigte eine oral verabreichte Atovaquon-Suspension eine der Standard-Erhaltungstherapie (Kombination von Pyrimethamin und Sulfadiazin) überlegene Wirksamkeit. Sowohl die Überlebenszeiten der behandelten Mäuse als auch die histologischen Veränderungen im Hirn und anderen Organen belegten die ausgezeichnete Wirksamkeit der Atovaquon-Suspension. Atovaquon konnte in Serum, Leber und Lunge der behandelten Tiere mittels HPLC, im Gehirn mittels Massenspektrometrie nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertationsarbeit erlauben weiterführende detaillierte Untersuchungen zur Passage von Wirkstoffen durch die Blut-Hirn-Schranke im Kokultur-Modell. Darüber hinaus kann die Transmigration des Parasiten durch die Blut-Hirn-Schranke und die Interaktion mit Zellen der Blut-Hirn-Schranke in-vitro analysiert werden. Das Mausmodell der Reaktivierungstoxoplasmose ermöglicht in enger Anlehnung an die Situation bei immunsupprimierten Patienten die Testung des therapeutischen Effekts weiterer antiparasitärer Substanzen in der Akut- und Erhaltungstherapie. Atovaquon sollte in klinischen Studien zur Akut- und Erhaltungstherapie der Toxoplasma-Enzephalitis getestet werden.