

Britta Höcker
Dr. med.

Zelluläre und subzelluläre Untersuchungen zum Wirkmechanismus von Etherlipidkonjugaten

Geboren am 10.02.1974
Reifeprüfung am 31.07.1993 in Bensheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1993/94 bis WS 2000/01
Physikum am 05.09.1995 an der Humboldt-Universität zu Berlin
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 23.11.2000 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pharmakologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. D.B.J. Herrmann

Zahlreiche in der Klinik etablierte Medikamente zeichnen sich durch gute Wirksamkeit, jedoch ein ungünstiges pharmakologisch-toxikologisches Profil aus. Angesichts der ersten, häufig zum Abbruch der Therapie zwingenden Nebenwirkungen antiretroviraler Substanzen sind Forschung und Entwicklung ständig bemüht, neue Medikamente anzubieten und potente, bereits in der Praxis erprobte Wirkstoffe zu verbessern.

BM 21.1290 Na ist ein Etherlipid-AZT-Konjugat aus dem Hause der Boehringer Mannheim GmbH, das als Therapeutikum gegen HIV-Infektionen eingesetzt werden soll. Die intrazelluläre Umsetzung dieser Verbindung durch ein in der Plasmamembran verankertes Enzym (LCE) mit dem Spaltungsmuster einer PLC hat die Freisetzung des phosphorylierten Wirkstoffs zur Folge.

Zur näheren Charakterisierung dieser LCE-Aktivität wurde in einer Reihe von subzellulären Experimenten die Wirkung mehrerer PLC-Inhibitoren und BM 21.1290-Analoga auf das LCE ermittelt. Anschließend sollten enzymkinetische Untersuchungen Hinweise auf den Hemmmechanismus dieser Substanzen liefern. In beiden Versuchsreihen dienten Membranen humaner peripherer Blutlymphozyten als Testsystem.

Sowohl die PLC-Inhibitoren Manoalid, U-73122, Neomycin, Spermin und D609 als auch die Konjugate BM 21.1160, BM 21.1162 und BM 21.1163 zeigen keinerlei Einfluß auf die Spaltung von BM 21.1290 Na durch das LCE. Im Gegensatz dazu führen die Substanzen ET-18-OCH₃, Compound 48/80, BM 21.1230 Na, BM 21.1252 Na, BM 21.1406 Na, BM 41.0440, BM 41.0742, BM 53.0953 Na, BM 53.0983 und BM 92.0700 Na zu einer deutlichen Reduktion der LCE-Aktivität.

Während das Etherlipidkonjugat BM 41.0440 eine rein kompetitive Inhibition der BM 21.1290 Na-Spaltung bewirkt, lassen die Ergebnisse für Compound 48/80 und BM 21.1406 Na eher auf eine „nicht-kompetitive Hemmung“ des LCE durch diese Substanzen schließen. Der genaue Inhibitionsmechanismus der beiden Verbindungen ET-18-OCH₃ und BM 21.1252 Na konnte durch die dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuche nicht eindeutig geklärt werden. Dieser muß daher Gegenstand weiterer Untersuchungen bleiben.

Aufbauend auf den Ergebnissen subzellulärer Experimente erfolgte schließlich eine weitere Versuchsreihe auf zellulärer Ebene. Hierbei wurden neben den oben aufgeführten Verbindungen auch die beiden G-Protein-regulierenden Substanzen GDP- β -S und GTP- γ -S hinsichtlich ihrer Effekte auf die BM 21.1290-Na-Spaltung in intakten hPBL näher untersucht.

Compound 48/80 weist als einzige der getesteten Substanzen eine deutliche Inhibition des LCE auf zellulärer Ebene auf. Dieses Ergebnis läßt folgende Hypothesen zu: Compound 48/80 könnte einerseits die enzymatische Spaltung von BM 21.1290 Na durch Regulation eines G-Proteins hemmen. Denkbar wäre jedoch auch eine direkte Inhibition des LCE nach Aufnahme von Compound 48/80 in die Zelle.

Aufgrund der vielfältigen Eigenschaften der im Rahmen dieser Arbeit getesteten LCE-Inhibitoren stellt sich abschließend die Frage, welche pathophysiologische Bedeutung diesem Enzym zukommt. In zukünftigen Experimenten sollte daher u.a. erforscht werden, in welcher Form LCE-Hemmer die spezifische LCE-Aktivität in virusinfizierten oder Krebszellen beeinflussen. Auf diese Weise könnte ein Beitrag zur Erschließung des Nutzungspotentials des LCE geliefert und der Anstoß für die Entwicklung neuer Medikamente gegeben werden.