

Tim Ulinski
Dr. med.

Differentielle Wirkungen der IGF-Bindungsproteine auf den Wachstumsknopfel

Geboren am 04. 08. 1969 in Frankfurt
Reifeprüfung am 31. 05. 1989 in Frankfurt
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1990 bis SS 1996
Physikum am 30. 03. 1992 an der Universität Frankfurt am Main
Klinisches Studium in Frankfurt und Lyon
Praktisches Jahr in Frankfurt und Lyon
Staatsexamen am 04. 11. 1996 an der Universität Frankfurt am Main

Promotionsfach: Pädiatrische Nephrologie
Doktorvater: Professor Dr. med. B. Tönshoff

Die Längenwachstumsstörung bei Kindern mit CNI beruht zum Teil auf einer Hemmung der IGF-Aktivität durch einen Überschuss kleinmolekularer inhibitorischer IGFBPs. Erstes Ziel dieser Studie war die Analyse von IGFBP-4 (24 kDa) und IGFBP-5 (29-31 kDa) im Plasma von CNI-Patienten mittels spezifischer RIAs (two-side-assay) und Immunoblots. 77 Kinder (Alter 11,3 (2,4-17,9) Jahre) mit CNI (GFR 27 (15-63) ml/min/1,73 m²) wurden untersucht. Die immunreaktiven IGFBP-4-Spiegel bei CNI waren 4-fach (präpubertär 1080 ± 268 ng/ml, N=49; pubertär 989 ± 299 ng/ml, N=28) im Vergleich zur Kontrollgruppe (265 ± 73 ng/ml) erhöht. Die IGFBP-5-Spiegel bei CNI waren hingegen nicht signifikant erhöht (präpubertär 395 ± 118 ng/ml vs. 282 ± 75 ng/ml bei Kontrolle) oder normal (pubertär 534 ± 91 ng/ml vs. 491 ± 80 ng/ml bei Kontrolle). Im Immunoblot zeigten sich sowohl intaktes wie fragmentiertes IGFBP-4 und -5. IGFBP-4, nicht jedoch IGFBP-5, korrelierte invers mit der GFR ($r = -0.51$, $P < 0.001$). IGFBP-4 korrelierte invers mit der Körpergröße (SDS) ($r = -0.38$; $P < 0.01$), IGFBP-5 korrelierte positiv sowohl mit der Körpergröße (SDS) ($r = 0.35$, $P < 0.02$) als auch mit dem Längenwachstum (SDS) ($r = 0.60$, $P < 0.001$). Eine 3-monatige Therapie mit rhGH stimulierte die IGFBP-5-Spiegel von 305 ± 31.1 ng/ml um 42% ($P < 0.01$) auf 432 ± 29.9 ng/ml, nicht jedoch die IGFBP-4-Spiegel. IGFBP-4 korrelierte positiv mit IGFBP-2 ($r = 0.46$, $P < 0.001$); IGFBP-5 korrelierte positiv mit IGF-I ($r = 0.59$, $P < 0.001$), IGF-II ($r = 0.42$, $p < 0.001$) und IGFBP-3 ($r = 0.47$, $P < 0.001$) und invers mit IGFBP-1 ($r = -0.41$, $P < 0.001$).

Zweites Ziel der Arbeit war eine nähere Charakterisierung der biologischen Wirkung der verschiedenen IGFBPs auf den Wachstumsknopfel (Primärkulturen epiphysealer Knorpelzellen der Tibia juveniler Sprague Dawley-Ratten). Unter Basalbedingungen ließ sich im konzentrierten Zellüberstand im Liganden-Blot mit markiertem IGF-II eine 38-42 kDa Doppelbande (IGFBP-3), eine 34 kDa-Bande (IGFBP-2), und eine 24 kDa-Bande (IGFBP-4) nachweisen. Mittels semiquantitativer RT-PCR wurden spezifische Transkripte für IGFBP-1 bis -6 detektiert. Die Proliferation der Chondrozyten wurde im Radiothymidin-Assay und in Agarose-stabilisierten Suspensionskulturen erfaßt. Die Wirkung verschiedener IGFBPs auf die Bindung von IGF-I an die Chondrozytenmembran und die IGFBP-Bindung selbst wurden anhand von radioaktiv markierten Proteinen in Monolayerkulturen untersucht. Unter Koinkubationsbedingungen hemmten intakes IGFBP-1, -2, -4, -6 und aminotermiales IGFBP-4¹⁻¹²² sowie aminotermiales IGFBP-5¹⁻¹⁶⁹ konzentrationsabhängig signifikant die IGF-stimulierte Zellproliferation und DNA-Synthese. Auch rekombinantes glykosiliertes

(intaktes) IGFBP-3 zeigte unter Koinkubationsbedingungen eine inhibitorische Wirkung auf die DNA-Synthese und die Koloniebildungsrate, während unter Präinkubationsbedingungen die IGF-I-Wirkung verstärkt wurde. Darüberhinaus zeigte IGFBP-3 im Gegensatz zu allen anderen IGFBPs eine IGF-unabhängige antiproliferative Aktivität. IGFBP-5 zeigte sowohl unter Ko- als auch unter Präinkubationsbedingungen eine die IGF-Wirkung steigernde Aktivität. Auch in Abwesenheit von IGF-I stimulierte IGFBP-5 die Chondrozytenproliferation. Um den Mechanismus der IGF-verstärkenden Wirkung von IGFBP-3 und IGFBP-5 aufzuklären, konnte anhand von Bindungsstudien gezeigt werden, daß intaktes IGFBP-3 und -5 unter Präinkubationsbedingungen als einzige IGFBPs in der Lage sind, sich spezifisch an die Chondrozytenmembran anzulagern und die IGF-Bindung zu erleichtern.

Die genaue Charakterisierung der biologischen Aktivität verschiedener inhibitorischer und stimulatorischer IGFBPs im Wachstumsknopfel ist möglicherweise auch von therapeutischer Relevanz. Es wurden kürzlich neuartige Peptide synthetisiert, die mit hoher Spezifität an definierte IGFBPs binden. Diese Peptide wirken als IGF-Displacer, indem sie sowohl die Bindung von IGF-I an spezifische inhibitorische IGFBPs verhindern als auch bereits gebundenes IGF-I aus der IGFBP-Bindung freisetzen. Es besteht die Hoffnung, daß diese Peptide einen spezifischen Therapieansatz bei Erkrankungen mit hochregulierten inhibitorischen IGFBPs wie die chronische Niereninsuffizienz darstellen.