

Konrad Alexander Bode

Dr. med.

## **Einfluss von Fusidat auf Transportprozesse an der kanalikulären Hepatozytenmembran**

Geboren am 05.02.1969

Reifeprüfung am 25.03.1989

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1998 bis WS 2002/03

Physikum am 25.03.1999 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg /Edinburgh

Staatsexamen am 20.06.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. D. Keppler

Hyperbilirubinämie ist eine häufige Nebenwirkung einer Fusidinsäuretherapie. Das Ziel dieser Arbeit war es, durch Untersuchungen des Einflusses von Fusidat auf kanalikuläre Transportsysteme der Leber die möglichen molekularen Mechanismen dieser durch Fusidinsäure induzierten Hyperbilirubinämie abzuklären.

In kanalikulären Membranvesikeln aus der Rattenleber wurde der Einfluss von Fusidat auf den ATP-abhängigen Transport von Substraten der apikalen Exkretionspumpe für amphiphile Anionen, das „Multidrug resistance protein 2“ (Mrp2, Symbol Abcc2), und der Gallensalzexportpumpe (Bsep, „Bile salt export pump“, Symbol Abcb11) untersucht. Fusidat inhibiert den ATP-abhängigen Transport der Mrp2-Substrate  $17\beta$ -Glucuronosyl-estradiol und Leukotrien C<sub>4</sub> sowie den Transport des Bsep-Substrates Taurocholat in kanalikuläre Membranvesikel aus Rattenleber mit K<sub>i</sub>-Werten von  $7,6 \pm 1,3 \mu\text{M}$ ,  $5,5 \pm 0,8 \mu\text{M}$  und  $2,2 \pm 0,3 \mu\text{M}$ .

In Membranvesikeln aus Ratten Mrp2-transfizierten HEK-Zellen wurde gezeigt, dass der ATP-abhängige Transport von Leukotrien C<sub>4</sub> durch Fusidat mit einem K<sub>i</sub>-Wert von  $13 \pm 2,2 \mu\text{M}$  gehemmt wird. Für den ATP-abhängigen Transport von  $17\beta$ -Glucuronosyl-estradiol wurde in Membranvesikeln aus den Mrp2-Transfektanten keine Hemmung sondern

eine Aktivierung gefunden. In Membranvesikeln aus MRP1-überexprimierenden HL60 ADR-Zellen (Adriamycin resistente humane Leukämiezellen) inhibierte Fusidat den ATP-abhängigen Transport von 17 $\beta$ -Glucuronosylestradiol mit einer Inhibitionskonstanten von  $4,5 \pm 1 \mu\text{M}$ .

Zur Überprüfung, ob die in den *in-vitro* Untersuchungen nachgewiesene Hemmung der kanalikulären Transportsysteme durch Fusidat auch *in-vivo* in vergleichbarer Weise auftritt, wurde der Einfluss von Fusidat auf die Ausscheidung von einer kleinen Menge an intravenös verabreichtem radioaktiv markiertem 17 $\beta$ -Glucuronosyl-estradiol und Taurocholat in die Galle untersucht. Die intravenöse Gabe von Fusidat (100  $\mu\text{mol/kg}$  Körpergewicht) über den Zeitraum von 60 min führte zu einer Reduktion der maximal erreichten Eliminationsgeschwindigkeit von 17 $\beta$ -Glucuronosyl-estradiol und Taurocholat aus dem Blut in die Galle von 1 pmol/(min x kg Körpergewicht) auf 0,26 pmol/(min x kg Körpergewicht) beziehungsweise von 4,2 pmol/(min x kg Körpergewicht) auf 0,9 pmol/(min x kg Körpergewicht). Der Gallefluss wurde durch diese 60 minütige Fusidatinfusion um  $30 \pm 9 \%$  reduziert. Des Weiteren führte eine Behandlung mit Fusidat über einen Zeitraum von drei Tagen (dreimalige i.p. Gabe von 100  $\mu\text{mol/kg}$  Körpergewicht pro Tag) zu einer Reduktion des Mrp2-Gehaltes in der Leber um  $64 \% \pm 21 \%$ , während der Gehalt an P-Glykoprotein und Bsep sich nicht änderte. Nach einer dreitägigen Fusidatbehandlung von Ratten reduzierte sich die maximale Ausscheidungsgeschwindigkeit von 17 $\beta$ -Glucuronosyl-estradiol in die Galle um  $22 \% \pm 19 \%$ .

Die Ergebnisse dieser Arbeit führen zu der Schlussfolgerung, dass es mindestens zwei unterschiedliche Mechanismen gibt, über die Fusidat die ATP-abhängigen kanalikulären Transportprozesse in der Leber beeinflusst. Zum einen hemmt Fusidat an der kanalikulären Membran direkt den ATP-abhängigen Transport von Mrp2- und Bsep-Substraten, wahrscheinlich über eine kompetitive Interaktion. Zum anderen führt eine Fusidatgabe über den Zeitraum von 3 Tagen bei Ratten zu einer Reduktion des Mrp2-Gehaltes der Leber. Durch die Verringerung der Mrp2-Menge in der kanalikulären Membran kommt es zur Verminderung der Transportaktivität von Mrp2-Substraten in die Galle.