



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Enzymatisch aktivierbare Kohlenstoffmonoxid-freisetzende Moleküle - Ein differenzierter Einsatz von Gasotransmittern

Autor: José Tomás Jaraba Molt
Institut / Klinik: V. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. B. Yard

Kohlenstoffmonoxid (CO) war lange Zeit lediglich als hochgiftiges Gas bekannt. Seit den 1990er Jahren jedoch rückte diese Substanz aufgrund der Entdeckung, dass im menschlichen Körper konstant CO produziert wird, in den Fokus der medizinisch-wissenschaftlichen Forschung. CO hat mannigfaltige Effekte in biologischen Systemen, es reguliert den Gefäßtonus, schützt Zellen vor Hypothermie-Schäden und mildert inflammatorische Prozesse ab.

In der vorliegenden Arbeit wurden Acyloxybutadien-Fe(CO)₃-Komplexe untersucht, welche nach intrazellulärer enzymatischer Spaltung Kohlenstoffmonoxid freisetzen. Es wurden ein Struktur-Aktivitäts-Ansatz verfolgt, d.h. unterschiedliche Substanzen verwendet, welche sich entweder in der Wahl des Estersubstituenten oder in der Position bzw. Anzahl der Ester unterschieden.

Ziel war es, diese Moleküle hinsichtlich ihrer protektiven Eigenschaften bei Kältepräservierung von humanen Umbilicalvenen-Endothelien (HUVEC) und proximalen Tubulusepithelien der Niere (PTEC) sowie potentieller toxischer Effekte der einzelnen Substanzen zu untersuchen.

Die toxischen Effekte durch ET-CORM wurden mittels MTT-Tests und Vitalitätstests untersucht und quantifiziert. Zur Evaluation der Zellprotektion bei Hypothermie wurden die Zellkulturen über 24h bei 4°C gelagert. Dies wurde in An- oder Abwesenheit der Substanzen durchgeführt, zudem wurde untersucht, ob eine Präkonditionierung mit ET-CORM bereits einen protektiven Effekt hat. Hierzu wurden die Zellkulturen morphologisch beurteilt, außerdem wurde das intrazelluläre Eisen gemessen, um einen möglichen Zusammenhang zwischen einer Eisenfreisetzung und der Toxizität herauszustellen. Weiterhin wurden Laktat-Dehydrogenase-Assays durchgeführt, welche das Ausmaß des Zellunterganges bei Hypothermie anzeigen, sowie eine Dosis-Wirkungs-Untersuchung mittels MTT-Tests. Zuletzt wurden, um eine mögliche Abmilderung inflammatorischer Prozesse durch Kohlenstoffmonoxid-Freisetzung zu untersuchen, Vollblut-Proben mit Lipopolysaccharid stimuliert und die TNF- α -Produktion in An- oder Abwesenheit der Substanzen untersucht.

Toxisch waren rac-4 in HUVEC und rac-7 in HUVEC und PTEC, insgesamt waren HUVEC empfindlicher als PTEC. Das toxische rac-4 unterscheidet sich vom protektiven rac-1 lediglich in der Esterposition, dadurch kann es schneller oxidiert werden und CO abgeben. Die Toxizität war zudem vom Substituenten abhängig, Acetate waren am stärksten toxisch, Pivalate weniger toxisch und Palmitate nicht toxisch. Es ist anzunehmen, dass die Menge und Geschwindigkeit des freigesetzten CO und begleitenden Eisens die Toxizität bedingt, weswegen diese durch die Esterposition (Oxidationsempfindlichkeit) und Estergruppe (Hydrolyseeffizienz) gesteuert werden kann. Es wurde zudem eine Zunahme der intrazellulären Eisenkonzentration in den mit ET-CORM behandelten Zellen beobachtet, ein Zusammenhang mit der Toxizität wurde in dieser Arbeit jedoch nicht nachgewiesen.

Die Protektivität gegenüber Hypothermie ließ sich nur durch 2-Cyclohexanon-Derivate erreichen und ging nicht von der Muttersubstanz 2-Cyclohexanon aus. Diese Effekte waren ebenfalls Zelltyp-abhängig und gegenüber PTEC stärker ausgeprägt. Zudem zeigte sich ebenfalls eine Abhängigkeit vom Ester-Substituenten, in diesem Fall war mit dem Acetat-Ester rac-1 die beste Zellprotektion zu erzielen, gefolgt von Pivalat-Estern. Die Esterposition war ebenfalls ausschlaggebend, nur Substanzen mit Ester in innerer Position konnten effektiv und in beiden Zellreihen protektive Effekte entfalten.

Die Untersuchungen in den LPS-stimulierten Vollblut-Proben zeigten keinen Effekt auf die TNF- α -Produktion.