

Einführung in das Thema

Peter C. Scriba

Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität, Medizinische Klinik, München

Herrn Präsident Zintzen sei zunächst Dank gesagt für die wiederholte und bewährte Gastfreundschaft der Akademie der Wissenschaften und der Literatur in Mainz. Akademien pflegen unter anderem die Interdisziplinarität. In diesem Sinne paßt das Symposium der Paul-Martini-Stiftung besonders gut in seine Akademie. Unser Symposium ist ein Treffen von Wissenschaftlern aus Kliniken und Instituten der Universitäten, aus den Forschungsabteilungen der Industrie und aus Behörden. Die Veranstaltung hat gerade den Zweck, Defizite der gegenseitigen Kenntnis und Bekanntschaft abzubauen. Dieses Ziel ist mitbestimmend für die Auswahl der Vortragenden, Vorsitzenden und Zuhörer und gibt der Veranstaltung ihren singulären Charakter.

Der Vorstand der Paul-Martini-Stiftung hat als diesjähriges Thema die Immunsuppression gewählt als Domäne der Pharmakotherapie bei Autoimmunerkrankungen und Transplantationen. Dieses Thema ist in zweifacher Hinsicht bedeutsam.

Es geht zum einen um die immer gezieltere, wenn auch leider vielfach noch nicht sehr spezifische Behandlung chronisch entzündlicher Krankheiten. Die gezielte Immunsuppression ist von Erkrankungen wie dem Morbus Wegener nicht mehr wegzudenken. Eine Form der spezifischen Immunsuppression besteht im Einsatz von Cyclosporin A, das selektiv intrazelluläre Signalvorgänge bei der Aktivierung von T-Helfer-Zellen und damit die Produktion von Lymphokinen blockiert. Neben der großen Bedeutung für die Transplantationsmedizin wird Cyclosporin A zu einem interessanten Kombinationspartner für eine Intensivierung der Therapie bei der rheumatoiden Arthritis. Ebenfalls bei der rheumatoiden Arthritis kann durch den Einsatz von Leflunomid, einem Isoxazol-Derivat, spezifisch das Enzym Dihydro-Orotatdehydrogenase und damit die de-novo-Pyrimidinsynthese gehemmt werden. Die Wirkung zeichnet sich in einer verminderten T-Zellproliferation und B-Zell-Aktivierung ab, beides zentrale Prozesse in der Pathogenese der rheumatoiden Arthritis. Als nicht spezifisch ansetzendes Immunsuppressivum wirkt Tacrolimus welches die Aktivierung von T-Zellen, Antigen-präsentierenden Zellen und B-Zellen hemmt. Damit werden therapeutische Effekte neben der Transplantationsmedizin auch bei der atopischen Dermatitis erreicht.

Die klinischen Studien der letzten Jahre haben gezeigt, daß nicht nur durch die Suppression einzelner Zellpopulationen, sondern auch durch die gezielte Hemmung einzelner Mediatoren bei bislang therapierefraktären Verläufen ein pharmakologischer Ansatz geboten werden kann. Besonderes Augenmerk gilt hier der Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Therapie, sowohl bei der rheumatoiden Arthritis wie auch dem Morbus Crohn. In dem Ansatz der Mediatorinhibition liegt ein großes Feld der pharmakologischen Forschung, da nicht nur auf der Ebene der direkten Antagonisierung durch Antikörper, sondern auch durch spezifische, in die Synthese eingreifende Substanzen, eine Inhibition erreicht wird. In bezug auf die Suppression der Tumor-Nekrose-Faktor-Synthese konnte diese durch spezifische Phosphodiesterase-Inhibitoren gezeigt werden. Hier liegen vielversprechende Ergebnisse aus Phase II-Studien bei Patienten mit COPD vor, die unter Therapie eine verbesserte Lungenfunktion zeigten. Ebenfalls in Phase II-Studien befinden sich die sogenannten „interleukin-1 converting enzyme“-Inhibitoren, die spezifisch die Aktivierung von Interleukin-1 und Interleukin-18, zwei pro-inflammatorischen Zytokinen, hemmen und bei der rheumatoiden Arthritis therapeutische Effekte zeigen. Derzeit viel diskutiert, auch bei der rheumatoiden Arthritis bereits in der klinischen Untersuchung, befinden sich genterapeutische Ansätze, die im Tiermodell erfolgreich praktiziert wurden; Ergebnisse der klinischen Studien stehen noch aus. Eine immunmodulierende Wirkung erzielen wir jedoch nicht nur durch Antagonisierung, sondern auch durch die Applikation einzelner Mediatoren, wie z. B. die Interferon- β -Behandlung bei der Multiplen Sklerose. Werden nicht spezifische Mediatoren induziert oder antagonisiert, können durch eine orale Toleranzinduktion die Kapazitäten des eigenen Immunsystems genutzt werden. Über dieses Prinzip wurde im Rahmen eines Heilversuches bei Patienten mit Autoimmunerkrankung berichtet.

In einem weiteren Teil des Symposiums wird dann ein zweiter Bereich der Immunsuppression angesprochen: die Transplantationsmedizin. Die spezifische Immunsuppression ist hier für die Funktion des Organs und für den Patienten zentral. Pharmakogenetische Untersuchungen zeigen, daß bei Patienten mit einem Polymorphismus und folglich niedriger Thiopurinmethyltransferase-Aktivität eine Reduktion der Azathioprin-Dosis erforderlich sein kann. Die Therapieoptionen setzen schon beim Spenderorgan vor der eigentlichen Implantation an. So kann die Funktion des post mortem entnommenen Spenderorgans durch Behandlung mit Dopamin und Noradrenalin verbessert werden. Neue Mechanismen der Immunsuppression werden bei der Substanz FTY 720, einem synthetischen Sphingolipid erhofft: Es wird eine erhöhte Migration von Lymphozyten in das Lymphsystem postuliert. Zum anderen stellt die Antagonisierung von Adhäsionsmolekülen durch Antikörper oder – wie bei der Nierentransplantation im Tiermodell mit Erfolg angewendet – durch Antisense-Moleküle einen neuen Ansatzpunkt dar. Abschließend steht den spezifischen immunsuppressiven Schemata die Suche nach Alternativen zur allogenen Organtransplantation gegenüber, um dem wachsenden Organmangel gerecht zu werden. Die Xenotransplantation mit all ihren Hindernissen ist hier eine Herausforderung der Zukunft. Ich danke allen Rednern und Vorsitzenden für ihre Vorbereitung und allen interessierten Zuhörern, daß sie gekommen sind. Herrn Endres gebührt Dank für einen wesentlichen Teil der Vorbereitungsarbeit.

Abschließend ein besonderes Wort des Dankes an die Paul-Martini-Stiftung (PMS) und an den Verband Forschender Arzneimittelhersteller (VFA): Beide Organisationen tragen das Symposium. Der Vorstand der PMS, das heißt zwei Herren, die Herren Raff als Vorsitzender und Baumbauer als Geschäftsführer, werden die PMS turnusgemäß verlassen. Sie haben sich beide über viele Jahre um die ganze PMS und ganz besonders um unser Symposium sehr verdient gemacht. Nehmen Sie bitte meinen Dank und den des Auditoriums entgegen. Auch Frau Berendes, der gute Geist im Sekretariat, wird wegen des Bonn/Berlin-Umzuges ausscheiden. Auch ihr herzlichen Dank.

Cyclosporin A in der Therapie von Autoimmunerkrankungen des rheumatischen Formenkreises

Bernhard Manger

Universität Erlangen-Nürnberg, Medizinische Klinik III, Erlangen

Das Wissen über die biochemischen und molekularbiologischen Abläufe bei der Auslösung einer zellulären Immunreaktion hat in den vergangenen 15 Jahren enorm zugenommen. Im Zentrum steht hierbei die Interaktion von antigenpräsentierender Zelle und T-Helferzelle, die sich gegenseitig in ihrem Aktivierungszustand durch eine komplexe Abfolge von Zellmembraninteraktionen und löslichen Mediatoren beeinflussen. Im Gegensatz zur „ungezielt immunsuppressiven“ Therapie mit Alkylantien oder Antimetaboliten ist es daher heute möglich einzelne Komponenten der zellulären Immunreaktion gezielt zu beeinflussen. Eine solche Form spezifischer Immunsuppression besteht im Einsatz von Cyclosporin A (CsA), das selektiv intrazelluläre Signalvorgänge bei der Aktivierung von T-Helferzellen und damit die Produktion von Lymphokinen blockiert [1–3]. Neben seiner großen Bedeutung für die Transplantationsmedizin wird CsA zunehmend auch zur Therapie von Autoimmunerkrankungen eingesetzt.

In den späten 80er und frühen 90er Jahren wurde eine Reihe von Phase I–III Studien veröffentlicht, in denen die Wirksamkeit und Verträglichkeit von CsA bei rheumatoider Arthritis (RA) untersucht wurde. Es konnte gezeigt werden, daß eine CsA-Therapie gegenüber Placebo signifikant überlegen ist [4–7]. Frühe Vergleichsstudien von CsA mit anderen Basistherapeutika gibt es gegenüber Azathioprin [8, 9] und D-Penicillamin [10], in denen Patienten mit bereits lange bestehender Erkrankung untersucht wurden. Hier ergab sich in allen Studien eine äquivalente Wirkung von CsA und der jeweiligen Vergleichssubstanz mit einer Verbesserung der einzelnen klinischen Parameter um etwa 25 bis 50 %. In späteren Vergleichsstudien wurden Patienten mit kürzerem Erkrankungsverlauf untersucht. Bei Patienten mit einem Krankheitsverlauf von unter zwei Jahren und hoher Krankheitsaktivität wurde eine mit Chloroquin vergleichbare signifikante Besserung für CsA berichtet [11]. Ebenfalls Patienten mit einer kurzen Krankheitsdauer von bis zu drei Jahren wurden in einer offenen randomisierten Studie mit CsA oder parenteralem Gold behandelt. Beide Behandlungsgruppen zeigten ein äquivalentes Ansprechen nach 18 Monaten sowohl im Hinblick auf die klinischen Parameter als auch auf die radiologische Progression [12]. Bei diesen Studien lagen die Dosierungen für die Dauertherapie bei etwa 4 mg/kg.

Die erste Studie, die den Verlauf der Röntgenprogression unter CsA-Therapie untersuchte, wurde 1994 publiziert. Nach 48 Wochen Therapie bereits zeigte sich ein signifikanter Vorteil von CsA gegen-

über Placebo bei einer radiologischen Auswertung mittels des Larsen-Scores [5]. Ebenfalls eine Beeinflussung der radiologischen Progression wird in einer italienischen Studie gezeigt, bei der eine CsA-Therapie mit verschiedenen anderen Basistherapeutika (oralem und parenteralem Gold, Sulfasalazin sowie Antimalarika) verglichen wird [13, 14]. In zwei weiteren Studien war der Einfluß von CsA auf den Röntgenverlauf bei RA vergleichbar mit dem Effekt von parenteralem Gold oder von Methotrexat [12, 15].

Der selektive immunsuppressive Effekt macht CsA zu einem interessanten Kombinationspartner für eine Intensivierung der RA-Therapie. Dies wird klinisch durch einige Kombinationsstudien eindrucksvoll bestätigt. In einer nordamerikanischen Studie wurde bei Patienten mit unzureichendem Ansprechen auf Methotrexat (MTX, 10–15 mg/Woche) in einem „add-on“-Design CsA oder Placebo in doppel-blinder Weise hinzugefügt. Nach einem halben Jahr erfüllten im MTX/CsA-Arm 48 % im MTX/Placebo-Arm 16 % die Response-Kriterien des „American College of Rheumatology“ [16]. Diese Ergebnisse konnten in einer offenen Fortsetzungsphase dieser Studie bestätigt werden [17]. Auch für die Kombination von CsA mit Chloroquin gibt es in vitro Untersuchungen, die auf einen synergistischen Effekt beider Substanzen hinweisen. Dies bestätigte sich in einer randomisierten doppel-blinden Studie, die eine Überlegenheit der CsA/Chloroquin-Kombination gegenüber einer Chloroquin-Monotherapie zeigte [18].

Für eine Reihe weiterer entzündlich rheumatischer Erkrankungen (juvenile chronische Arthritis [19], M. Still [20], systemischer Lupus erythematoses [21–23], Sklerodermie [24], Dermato-/Polymyositis [25, 26], Wegener'sche Granulomatose [27], Pannikulitis [28]) bestehen positive klinische Erfahrungen aus Fallbeobachtungen und kleineren Studien.

Im Rahmen von internationalen Consensus-Konferenzen wurden Richtlinien zur Therapie der rheumatoiden Arthritis mit CsA erstellt [29, 30]:

Zur Vermeidung von renalen Schäden ist folgendes zu berücksichtigen:

1. Ausgangsdosis 2,5–3,0 mg/kg pro Tag, Maximaldosis 5,0 mg/kg pro Tag.
2. Eine Steigerung des Serum-Kreatinins um > 30 % des Ausgangswertes sollte zu einer Reduktion des CsA oder einer Therapieunterbrechung führen.

Werden diese Vorsichtsmaßnahmen beachtet stellt die CsA-Behandlung eine gute steuerbare Therapiemöglichkeit bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen des rheumatischen Formenkreises dar.

Literatur

- [1] Manger, B., Hardy, K. J., Weiss, A. et al., *J. Clin. Invest.* **77**, 1501 (1986)
- [2] Kronke, M., Leonhard, W. J., Depper, J. M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 5214 (1984)
- [3] Schreiber, S. L., Crabtree, G. R., *Immunol. Today* **13**, 136 (1992)
- [4] Dougados, M., Awada, H., Amor, B., *Ann. Rheum. Dis.* **47**, 127 (1988)
- [5] Forre, O., *Arthritis Rheum.* **37**, 1506 (1994)
- [6] Tugwell, P., Bombardier, C., Gent, M. et al., *Lancet* **335**, 1051 (1990)
- [7] van Rijthoven, A. W., Dijkmans, B. A., Goei The, H. S. et al., *Ann. Rheum. Dis.* **45**, 726 (1986)
- [8] Forre, O., Bjerckhoel, F., Salvesen, C. F. et al., *Arthritis Rheum.* **30**, 88 (1987)
- [9] Krüger, K., Schattenkirchner, M., *Clin. Rheumatol.* **13**, 248 (1994)
- [10] van Rijthoven, A. W., Dijkmans, B. A., The, H. S. et al., *J. Rheumatol.* **18**, 815 (1991)
- [11] Landewe, R. B., Goei The, H. S. van Rijthoven, A. W. et al., *Arthritis Rheum.* **37**, 637 (1994)
- [12] Zeidler, H. K., Kvien, T. K., Hannonen, P. et al., *Br. J. Rheumatol.* **37**, 874 (1998)
- [13] Ferraccioli, G. F., Bambara, L. M., Ferraris, M. et al., *Clin. Exp. Rheumatol.* **15** (Suppl. **17**), S83 (1997)
- [14] Pasero, G., Priolo, F., Marubini, E. et al., *Arthritis Rheum.* **39**, 1006 (1996)
- [15] Drosos, A. A., Voulgari, P. V., Papadopoulos, I. A. et al., *Clin. Exp. Rheumatol.* **16**, 695 (1998)
- [16] Turgwell, P., Pincus, T., Yocum, D. et al., *N. Engl. J. Med.* **333**, 137 (1995)
- [17] Stein, C. M., Pincus, T., Yocum, D. et al., *Arthritis Rheum.* **40**, 1843 (1997)
- [18] van den Borne, B. E., Landewe, R. B., Goei The, H. S. et al., *J. Rheumatol.* **25**, 1493 (1998)
- [19] Gattinara, M., Lomater, C., Gerloni, V. et al., *Acta Univ. Carol. [Med.] (Praha)* **40**, 105 (1994)
- [20] Marchesoni, A., Ceravolo, G. P., Battafarano, N. et al., *Rheumatol.* **24**, 1582 (1997)
- [21] Manger, K., Kalden, J. R., Manger, B., *Br. J. Rheumatol.* **35**, 669 (1996)
- [22] Tokuda, M., Kurata, N., Mizoguchi, A. et al., *Arthritis Rheum.* **37**, 551 (1994)
- [23] Favre, H., Miescher, P. A., Lemoine, R., *Transplant. Proc.* **26**, 3194 (1994)
- [24] Clements, P. J., Lachenbruch, P. A., Sterz, M. et al., *Arthritis Rheum.* **36**, 75 (1993)
- [25] Lueck, C. J., Trend, P., Swash, M. J. *Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **54**, 1007 (1991)
- [26] Grau, J. M., Herrero, C., Casademont, J. et al., *J. Rheumatol.* **21**, 381 (1994)
- [27] Georganas, C., Ioakimidis, D., Iatrou, C. et al., *Clin. Rheumatol.* **15**, 189 (1996)
- [28] Perez-Bocanegra, C., Pascual, C., Solans, R. et al., *Clin. Exp. Rheumatol.* **14**, 222 (1996)
- [29] Panayi, G. S., Tugwell, P., *Br. J. Rheumatol.* **33**, (1994)
- [30] Panayi, G. S., Tugwell, P., *Br. J. Rheumatol.* **36**, 808 (1997)

Leflunomid bei der rheumatoiden Arthritis

Josef S. Smolen

AKH-Universitätskliniken Wien, Innere Medizin III, Wien (Österreich)

Einleitung

Leflunomid ist ein Isoxazol-Derivat, dessen aktiver Metabolit A77 1726 das in der de-novo-Pyrimidinsynthese wichtige Enzym Dihydro-Orotatdehydrogenase hemmt, wodurch die Proliferation von Zellen, insbesondere T-Lymphozyten, die in der Pathogenese der rheumatoiden Arthritis (RA) wesentlich sind, inhibiert wird. Darüber hinaus hat Leflunomid auch Wirkungen auf B-Zellen und hemmt den Transkriptionsfaktor NF κ B, der u. a. durch in der RA pathogenetisch bedeutsame Cytokine, wie Tumornekrosefaktor α , aktiviert wird.

Die Wirksamkeit von Leflunomid in der Indikation „rheumatoide Arthritis“ (RA) wurde in zwei placebo-kontrollierten Studien und einer aktiv-kontrollierten Studie untermauert. Die klinischen Prüfungen mit Leflunomid waren alle randomisiert, doppelt-blind und kontrolliert.

Klinische Studien

Alle Leflunomid-Patienten erhielten eine Initialdosis von 100 mg/Tag für die ersten 3 Tage, gefolgt von einer Erhaltungsdosis von 20 mg/Tag ab dem 4. Tag bis Studienende.

In der Studie MN301 wurden drei Behandlungsgruppen miteinander verglichen: Leflunomid (n = 133, 20 mg/Tag) vs. Sulfasalazin (n = 133, 2 g/Tag) vs. Placebo (n = 92). Die Behandlungsdauer betrug 24 Wochen. Patienten, die von der Behandlung im Rahmen der Studie profitierten, erhielten die Möglichkeit, an kontrollierten, doppelt-blinden Verlängerungsstudien teilzunehmen. Patienten, die bisher Placebo erhielten, wurden nach 24 Wochen doppelt-blind auf Sulfasalazin umgestellt. Insgesamt boten die Studien eine Behandlungsdauer von 96 Wochen.

In der Studie US301 erhielten Patienten mit aktiver RA entweder Leflunomid (n = 182, 20 mg/Tag) oder Methotrexat (n = 182; 7,5–15 mg/Woche) oder Placebo (n = 118). Alle Patienten wurden mit Folat (2 mg/Tag) substituiert. Die Gesamtbehandlungsdauer betrug 52 Wochen für die erste Analyse mit einer doppelt-blinden Verlängerung auf insgesamt 104 Wochen.

An der Studie MN302 nahmen insgesamt 999 Patienten teil. Sie wurden nach dem Zufallsprinzip zwei aktiven Behandlungsgruppen zugeordnet, Leflunomid (n = 501, 20 mg/Tag) oder Methotrexat (n = 498, 7,5–15 mg/Woche). Folsäure war keine obligate Begleitmedikation in dieser Studie.

Die Wirksamkeit von Leflunomid wurde mit etablierten Methoden gemessen: Die Zahl der schmerzhaften und geschwollenen Gelenke (Gesamtzahl: n = 28) und die Einschätzung der Krankheitsaktivität durch den Prüfarzt und den Patienten waren die primären Zielgrößen für die multinationalen (MN) Studien. Primärer Wirksamkeitsparameter in den USA und sekundäre Zielgröße in den anderen Studien war die „ACR20 Response“, ein kombinierter Index für die Aktivitätsbeurteilung der rheumatoiden Arthritis. Ein „ACR20 Responder“ ist ein Patient, der mindestens 20 % Besserung bei den schmerzhaften und geschwollenen Gelenken zeigt und darüber hinaus in 3 der folgenden 5 Parameter: globale Beurteilung der Krankheitsaktivität durch den Prüfarzt, globale Beurteilung der Krankheitsaktivität durch den Patienten, „Health Assessment Questionnaire (HAQ)“ als Maßstab für Gelenkfunktion/Funktions Einschränkung, Schmerz und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) oder C-reaktives Protein (CRP).

Außerdem wurde die gelenkerhaltende Wirkung von Leflunomid durch Röntgen-Analysen geprüft. Für die Studien MN301 und MN302 wurde die Methode nach Larsen zur Auswertung von Röntgenaufnahmen der Hände und Füße herangezogen, für die Studie US301 die Methode nach Sharp.

Ergebnisse

Leflunomid war Placebo in allen primären und sekundären Zielgrößen statistisch signifikant überlegen. Es wurden in den Studien MN301 und US301 keine klinisch relevanten Unterschiede zwischen der Wirksamkeit von Leflunomid und Methotrexat

oder Sulfasalazin gefunden. Die Wirksamkeit von Leflunomid ist bereits nach 1 Monat Behandlung offenkundig, stabilisiert sich nach 3 bis 6 Monaten und bleibt konstant über die gesamte Behandlungsdauer. Auch im zweiten Behandlungsjahr bleibt die durch Leflunomid erzielte Besserung erhalten. In der Studie MN302 zeigte Leflunomid einen den anderen Studien völlig äquivalenten Effekt, doch war hier Methotrexat seinen Effekten in der US-Studie, aber auch dem Leflunomid gegenüber überlegen. Da bei dieser Studie Folat nicht routinemäßig appliziert wurde, kam es häufiger zu unerwünschten Leberenzym-Erhöhungen als in der US-Studie und unter Leflunomid.

Leflunomid verlangsamt die radiologisch erfassbare Gelenkerstörung durch die rheumatoide Arthritis deutlich und statistisch signifikant im Vergleich zu Placebo. Die Ergebnisse sind vergleichbar mit Methotrexat und Sulfasalazin und scheinen bei jenen Patienten, die ansprechen, auch über 2 Jahre anzuhalten.

Leflunomid ist gut verträglich. Zielorgan unerwünschter Wirkungen ist vor allem der Magen-Darm-Trakt: Es kann zu Diarrhöen, Übelkeit und Bauchschmerzen kommen. Diese unerwünschten Wirkungen sind in der Regel nicht schwerwiegend, führen nicht zum Absetzen der Medikation und sind reversibel unter fortgesetzter Behandlung. Leflunomid kann zu allergischen Reaktionen, zu einem verstärkten, reversiblen Haarausfall und zu reversiblen Transaminasen-Anstiegen führen. In den Studien wurden keine schwerwiegenden Nebenwirkungen mit Leflunomid beobachtet, obwohl bei gleicher Dauer der Exposition 2 Fälle von idiosynkratischer Agranulozytose unter Sulfasalazin und 5 Fälle von Pneumonitis unter Methotrexat berichtet wurden.

Schlußfolgerung

- Leflunomid ist ein neues „Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drug“ (DMARD, Basistherapeutikum), das die Symptome der RA-Arthritis schnell und deutlich verbessert.
- Leflunomid verlangsamt die röntgenologisch nachweisbare Progression der RA.
- Leflunomid verbessert die Funktionsfähigkeit der Gelenke und damit die Lebensqualität der Patienten.
- Leflunomid ist verhältnismäßig gut verträglich.

Tacrolimus in Immune-mediated Skin Diseases

Thomas Ruzicka

Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Clinic of Dermatology, Düsseldorf (Germany)

Atopic eczema is a common disease with a very complex pathophysiology. Both genetic and environmental factors are involved in the development of the disease. The dominant factors are dry, sensitive skin, immunological disturbances with exaggerated immunoglobulinE-mediated immune response to harmless environmental agents and decreased cellular immune response towards harmful infectious agents, pharmacological disturbances and psychosomatic influences. Various provocation factors can trigger an exacerbation of atopic eczema, such as airborne and dietary allergens, stress, climatic factors, infections etc. From this complex array of factors it follows that therapeutic approach to the disease is also complex and a simple solution does not exist. On the contrary, a highly individualistic approach is necessary based on a thorough diagnostic evaluation of each patient's provocation factors. This evaluation must particularly include the thorough search for triggering allergens, dietary advice, psychosomatic guidance, a microbiological investigation and others.

Despite this complex therapeutic scheme, all patients should receive basic therapy consisting of skin care aimed at prevention of skin dryness, antihistamines to reduce pruritus and glucocorticosteroids and anti-inflammatory and anti-eczematous agents. The development of new glucocorticosteroids with improved risk-benefit-ratio enlarges the therapeutic armamentarium of dermatologists and reduces the risk of side-effects. Nevertheless, an intensive search has been ongoing to discover new non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of atopic eczema.

Besides glucocorticosteroids, the following therapeutic options are available at present for the symptomatic treatment of atopic skin:

- ultraviolet treatments including UVA-1, 311 nm UV-B and extracorporeal photochemotherapy;
- systemic immunosuppressants, particularly cyclosporin; and
- topical immuno-suppressive drugs, particularly Tacrolimus.

In leading European centers, most patients with wide-spread disease of intermediate severity receive some form of ultraviolet treatment, which can be used both for the induction of remission and maintenance therapy. In severe cases, cyclosporin is a highly valuable alternative.

A particular need exists for the treatment of limited disease of low to intermediate severity. So far, only glucocorticosteroids have been available, whose use is restricted by possible long-term side-

effects and reluctance of patients to use this class of drugs. The reluctance is based partly on irrational fears, and partly on side-effects caused by inappropriate use by non-dermatologists.

The first pharmacological break-through since the introduction of glucocorticosteroids in the dermatology in the 1950s is the introduction of topical immunosuppressants, of which Tacrolimus is the best characterized representative. In short-term trials, Tacrolimus showed a high clinical efficacy with rapid onset of action within 72 h and improvement of the clinical scores by 70–80 % within 3 weeks. These favourable effects were seen both in adults and children, and also in critical body areas such as face and neck. So far, no serious side-effects have been detected, the most frequent side-effect has been local irritation. Very low systemic absorption occurs initially and decreases during the course of treatment as the skin barrier function is restored. Long-term trials confirmed the high clinical efficacy and the low frequency of side-effects. As atrophogenicity is the major side-effect of long-term glucocorticosteroid treatment, it is of particular importance that Tacrolimus did not show any signs of skin atrophy in-vivo, and did not influence fibroblast function and collagen metabolism in-vitro.

The reasons for the high clinical efficiency of Tacrolimus lie in its mechanism of action. The drug does not only influence the function of T-cells with inhibition of both TH-1 and TH-2 dependent cytokine synthesis, but also influences a number of other cells involved in cutaneous inflammation. Particularly notable is the inhibition of histamine release from mast cells and basophils and the influence on antigen presenting cells as well as macrophages and B-cells. A strong influence on various aspects of keratinocyte function has been described as well, which may be of particular relevance for the effects of Tacrolimus in psoriasis. Thus, Tacrolimus represents the first non-steroidal anti-eczematous drug in dermatology displaying a highly favourable risk-benefit-ratio. It greatly enlarges the therapeutic armamentarium of dermatologists and improves the outlook for patients afflicted with atopic eczema.

References

- [1] Ruzicka, T., Wüthrich, B., Das atopische Ekzem – Neue pathophysiologische Konzepte und exogene Provokationsfaktoren. *Dt. Ärzteblatt* **94**, 26, A-1797–1801 (1997)

[2] Ruzicka, T., Wüthrich, B., Das integrierte Therapiekonzept des atopischen Ekzems – Implementierung ganzheitlicher und naturheilkundlicher Prinzipien in der universitären Medizin; Dt. Ärzteblatt **94**, 27, A-1874–1880 (1997)

[3] Ruzicka, T., Bieber, T., Schöpf, E., A Short-Term-Trial of Tacrolimus Ointment for Atopic Dermatitis. N. Engl. J. Med. **337**, 816 (1997)

[4] Ruzicka, T., Ring, J., Przybilla, B., Handbook of atopic eczema. Springer-Verlag Berlin–Heidelberg etc. (1991)

Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Therapie bei der rheumatoiden Arthritis

Joachim R. Kalden

Universität Erlangen-Nürnberg, Medizinische Klinik III, Erlangen

Erfahrungen aus der täglichen Praxis hinsichtlich der Therapie der rheumatoiden Arthritis (RA) zeigen deutlich die Grenzen des zur Verfügung stehenden Therapierepertoires auf. Als einzige therapeutische Substanz ist Methotrexat hinsichtlich der klinischen Effektivität, des Nebenwirkungsprofils und damit verbunden einer länger möglichen Therapie eine Ausnahme. Neue und möglicherweise spezifisch wirkendere Therapiemodalitäten für dieses Krankheitsbild sind daher notwendig. Dies wird nicht zuletzt mit dadurch unterstrichen, daß, wie kürzlich in einer Studie in Skandinavien gezeigt werden konnte, nach 10 Jahren mehr als 40 % von Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis nicht mehr in ihrem Arbeitsprozeß stehen.

Etiologische Faktoren die zur Auslösung einer rheumatoiden Arthritis führen sind unbekannt. Bekannt dagegen ist eine genetische Prädisposition. Definiert werden konnten ebenfalls innerhalb der letzten Jahre Entzündungsmechanismen, die zu einer systemischen Manifestation der Erkrankung führen, vor allem aber im Gelenk eine perpetuierende Synovitis und Knorpel- und Knochenstrukturen unterhalten. Aufgrund dieser neuen pathogenetischen Erkenntnisse lassen sich derzeit drei Ziele für neue Therapieprinzipien definieren: T-Zellen, Migrationsmechanismen von entzündungsunterhaltenden Zellpopulationen sowie vor allem im Gelenk proinflammatorisch wirkende Zytokine.

Untersuchungen von mehreren Arbeitsgruppen zur Definition proinflammatorischer Zytokine im Gelenk von Patienten mit einer RA wiesen nicht nur eine Prädominanz proentzündlicher im Vergleich von antiinflammatorisch wirkenden Zytokinen nach, sondern ließen auch eine Hierarchie in der Reihe der proinflammatorischen Zytokine definieren mit Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) an der Spitzenposition, gefolgt von Interleukin-1 β und Interleukin-6. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden sowohl Therapiestudien mit einem monoklonalen Antikörper gegen Interleukin-6 wie mit

einem gentechnologisch hergestellten Interleukin-1-Rezeptorfusionsprotein aufgenommen. Im Gegensatz zu einer Blockade von Interleukin-6 und Interleukin-1 zeigten sich Therapieversuche mit einem chimärisierten monoklonalen Antikörper gegen den Tumornekrosefaktor- α wie mit einem p-75 TNF- α Rezeptorfusionsprotein bei Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis von hoch signifikanter klinischer Effektivität.

Mit dem chimärisierten Antikörper (Remicade) wurde eine erste doppel-blind placebo-kontrollierte Studie 1994 publiziert, die eindeutig nach einer einmaligen Gabe von 10 mg pro kg Körpergewicht eine deutliche und signifikante Besserung in unterschiedlichen klinischen Parametern bei den verumtherapierten Patienten im Vergleich zu der Placebomedizierten Kontrollkohorte zeigte. In der Folgezeit wurden diese ersten, sehr erfolgreichen Daten weiter entwickelt, wobei sich vor allem eine Kombinationsmedikation von Remicade mit Methotrexat von signifikanter klinischer Effektivität auswies, mit einer langanhaltenden Verbesserung wiederum unterschiedlicher klinischer wie auch subjektiver Krankheitsparameter.

Ähnliche Untersuchungsergebnisse wurden mit dem TNF- α - p-75-Rezeptorfusionsprotein berichtet. Dieses Agens, das 2 \times wöchentlich mit 25 mg subkutan injiziert wird, zeigte ebenso wie der chimärisierte Antikörper Remicade signifikante Besserungen in klinischen und subjektiven Krankheitsparametern bei der rheumatoiden Arthritis. Auch eine Kombination mit Methotrexat erwies sich als sehr effektiv.

Das Nebenwirkungsspektrum beider TNF- α blockierenden Substanzen ist akzeptabel. Gleichwohl bleibt es vor allem Postmarketingstudien überlassen nachzuweisen, ob es bei einer langanhaltenden Mono- oder Kombinationstherapie von TNF- α blockierenden Substanzen mit krankheitsmodifizierenden Medikamenten zu einer gesteigerten Infektionsanfälligkeit, dem Auftreten von Autoimmuni-

tät oder von malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems kommt.

Das TNF- α -Rezeptorfusionsprotein ist als Enbrel für die Behandlung der rheumatoiden Arthritis in den Vereinigten Staaten bereits zugelassen, die Zulassung für Europa steht bevor. Der monoklonale Antikörper Remicade wird Anfang 2000 für die Kombinationstherapie mit Methotrexat (MTX) zur Behandlung der RA ebenfalls von der FDA

die Zulassung erhalten. Mit einer Zulassung dieses Kombinationstherapieprinzips für Europa ist Mitte 2000 zu rechnen.

Ohne jeden Zweifel haben die Neuentwicklung biologischer Reagenzien zur Blockade des TNF- α das Therapierepertoire für die rheumatoide Arthritis nicht nur erweitert, sondern hinsichtlich des Angebots von klinisch effizienten Therapiemodalitäten für RA-Patienten signifikant verbessert.

Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Antikörper bei Patienten mit Morbus Crohn

Martin Zeitz

Universität des Saarlandes, Medizinische Klinik, Homburg/Saar

Durch den gezielten Einsatz von Glukokortikoiden und klassischer Immunsuppressiva wie Azathioprin konnte bei Patienten mit M. Crohn eine deutliche Verbesserung bei der Remissionsinduktion und -erhaltung erreicht werden. Es stellt sich daher die Frage, wie groß der Bedarf für die Entwicklung neuer Therapieformen ist. Aufgrund der verfügbaren Studienlage kann dieser Bedarf nur abgeschätzt werden. Patienten mit hoher Krankheitsaktivität werden in der Regel mit systemisch wirkenden Glukokortikoiden behandelt. Dabei liegt die Ansprechrate zwischen 60 % und 93 %; 7 % bis 40 % müssen somit als Therapieversager betrachtet werden. Kalkuliert man für die verbleibenden 7 % bis 40 % der Patienten eine Ansprechrate von ca. 80 % auf eine intensiviertere Kombinationstherapie aus voll-parenteraler Ernährung, intravenös applizierten Glukokortikoiden, 5-Aminosalizylaten und Azathioprin, ergibt sich ein Anteil von „Versagern“ der Akuttherapie, der bei 2 % bis 8 % liegt. Häufiger stellt das Auftreten von Rezidiven trotz einer anti-inflammatorischen Therapie ein klinisch relevantes Problem dar. Unter einer kombinierten Therapie mit Glukokortikoiden und Aminosalizylaten wird eine Rezidivrate von etwa 50 % in 12 Monaten beobachtet. Würden alle Patienten, die innerhalb eines Jahres unter einer anti-inflammatorischen Therapie ein Rezidiv erleiden, mit etablierten Immunsuppressiva behandelt werden, wäre bei ca. 70 % dieser Patienten bei einer Therapie mit Azathioprin mit einer längerfristigen Remission zu rechnen. Entsprechend dieser Rechnung müßten 15 % aller Patienten einer anderweitigen Therapie zugeführt werden. Diese Patienten werden zur Zeit entweder durch chirurgische Interventionen, mit wiederholten hochdosierten Glukokortikoidtherapien oder mit anderen Immunsuppressiva (als Heil-

versuche bzw. im Rahmen von Studien) behandelt. Durch diese Modellrechnung wird deutlich, daß bei einer Prävalenzrate von ca. 50 Patienten mit M. Crohn pro 100 000 Einwohner bei etwa 7 bis 8 pro 100 000 Einwohner pro Jahr keine langfristige Rezidivfreiheit bzw. nur unter Inkaufnahme von ausgeprägten Nebenwirkungen erreicht werden kann. Dies entspricht beispielsweise in Deutschland ca. 6000 Patienten. Das klinisch relevante Problem ist somit durch den Remissionserhalt, und weniger durch die Therapie in der Akutsituation, geprägt.

Therapie des akuten Schubes durch Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Antikörper

Der Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) spielt eine zentrale Rolle im Entzündungsgeschehen bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Basierend auf diesen Überlegungen konnte in einer Pilotstudie bei neun Patienten mit M. Crohn innerhalb weniger Wochen nach der einmaligen Gabe eines neutralisierenden Antikörpers gegen TNF- α (cA2) ein rascher Abfall des Aktivitätsindex dokumentiert werden. Parallel dazu wurde eine rasche Abheilung der endoskopisch erfaßbaren Veränderungen beobachtet [1]. Insbesondere die rasche Besserung der endoskopischen Befunde wurde in einer Folgestudie bestätigt [2]. Basierend auf diesen positiven Ergebnissen wurde die therapeutische Anwendung von anti-TNF- α monoklonalen Antikörpern in zwei großen prospektiven, randomisierten doppel-blind Studien, bei denen humanisierte bzw. chimäre anti-TNF- α mAk als Einmalgabe verabreicht wurden, überprüft [3, 4]. In der ersten Studie wurde ein Beobachtungszeitraum von zwei Wochen nach einer einmaligen Infusion des mAk

(CDP571) in einer Dosierung von 5 mg/kg Körpergewicht gewählt. Dabei zeigte sich ein geringer, aber signifikanter Abfall des Crohn-Aktivitätsindex. In der zweiten Studie wurden nach ebenfalls einmaliger Infusion des monoklonalen Antikörpers cA2 in verschiedenen Dosierungen (5 bis 20 mg/kg KG) die Patienten über einen Zeitraum von 4 Wochen nachbeobachtet. Die höchste Wirksamkeit wurde für die niedrigste Dosierung (5 mg/kg KG) festgestellt. In diese Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die erfolglos immunsuppressiv behandelt worden waren. Es zeigte sich zwar innerhalb von vier Wochen ein signifikanter Abfall des Aktivitätsindex bei einem hohen Prozentsatz der Patienten (verglichen zu den Ausgangswerten). Insgesamt erreichte aber in beiden Studien nur ein kleiner Teil der Patienten eine komplette Remission (Abfall des CDAI unter 150 Punkte) (29 % bzw. 33 %). Auch bei Patienten mit Fisteln bei M. Crohn wurde die Wirkung von anti-TNF- α -Antikörpern in einer größeren Studie überprüft. Bei 94 Patienten mit Fisteln konnte nach dreimaliger Gabe des Antikörpers (0, 2 und nach 6 Wochen) bei 55 % (5 mg/kg KG) bzw. 38 % (10 mg/kg KG) ein kompletter Verschluss der Fisteln, der im Median für drei Monate anhielt, nachgewiesen werden.

Remissionserhalt durch Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Antikörper

Ergebnisse zur Remissionserhaltung durch die wiederholte Gabe von anti-TNF- α -Antikörpern liegen zum aktuellen Zeitpunkt aus einer kontrollierten Studie vor [6]. In diese Untersuchung wurden 73 Patienten, bei denen nach initialer Gabe des cA2-anti-TNF- α -Antikörpers ein Abfall des Aktivitätsindex beobachtet wurde, aufgenommen. Die Infusionen erfolgten 12, 20, 28 und 36 Wochen nach der ersten Gabe. Die Patienten wurden für insgesamt 48 Wochen nachbeobachtet. In diesem stark selektierten Patientenkollektiv wurde 8 Wochen nach erster Gabe bei ca. 55 % der Patienten eine Remission beobachtet; diese Rate fiel nach 12 Wochen auf 37,8 % ab. Durch die wiederholte Antikörpergabe stieg dieser Anteil wieder auf ca. 60 % und konnte durch die 8-wöchentliche Gabe (insgesamt dreimal) auf diesem Niveau gehalten werden. 12 Wochen nach letzter Antikörpergabe (Woche 48) zeigte sich ein erneuter Abfall auf ca. 40 %.

Schlußfolgerungen

Der anti-TNF- α -Antikörper cA2 (Infliximab, Handelsname: Remicade®) ist seit dem 13. August 1999 zur Behandlung des schwergradigen aktiven M. Crohn und von M. Crohn-Patienten mit Fistel- leiden, die auf eine vollständige und adäquate Therapie mit einem Kortikosteroid und/oder Immunsuppressiva nicht ansprechen, zugelassen. Vor diesem Hintergrund hat eine Expertenrunde im Juni 1999 eine kritische Bewertung der vorliegenden Daten zur anti-TNF- α -Antikörper-Therapie vorgelegt. Insgesamt kann die anti-TNF- α -Antikörpertherapie nicht als ‚first-line‘-Therapie bei Patienten mit M. Crohn empfohlen werden; hierfür gibt es auch keine Zulassung [7]. Der Einsatz sollte in der aktiven Phase, beim Rezidiv oder chronisch aktiver Erkrankung und Fisteln nach Versagen der Standardtherapie (siehe dazu [8]) erfolgen. Beim Monitoring sollte auf die Entwicklung von sog. humanen antichimären Antikörpern (HACAs) geachtet werden. Da vereinzelt in dem mit Infliximab behandelten Patientenkollektiv (Patienten mit rheumatoider Arthritis oder M. Crohn) maligne Lymphome beobachtet wurden, ist ein Monitoring in dieser Hinsicht angezeigt. Der Zusammenhang mit der Therapie mit anti-TNF- α -Antikörpern ist jedoch nicht belegt, da diese Gruppe von chronisch kranken Patienten per se ein erhöhtes Risiko einer Lymphomentwicklung besitzt. Hinweise für eine erhöhte Komplikationsrate bei Kombination mit klassischen Immunsuppressiva bestehen derzeit nicht. Aufgrund der verfügbaren Informationen empfiehlt die Arbeitsgruppe, anti-TNF- α -Antikörper – trotz der Zulassung und generellen Verfügbarkeit – bevorzugt in Studien einzusetzen. Außerhalb von Studien therapierte Patienten sollten registriert werden, um langfristige Daten zu Wirksamkeit und Nebenwirkungsprofil zu erhalten.

Literatur

- [1] van Dullemen, H. M. et al., *Gastroenterology* **109**, 129 (1995)
- [2] D'Haens, G. et al., *Gastroenterology* **116**, 1029 (1999)
- [3] Stack, W. A. et al., *Lancet* **349**, 521 (1997)
- [4] Targan, S. R. et al., *N. Engl. J. Med.* **337**, 1029 (1997)
- [5] Present, D. et al., *N. Engl. J. Med.* **340**, 1398 (1999)
- [6] Rutgeerts, P. et al., *Gastroenterology*, **117**, 761 (1999)
- [7] Lochs, H. et al., *Z. Gastroenterol.* **37**, 509 (1999)
- [8] Stange, E. F. et al., *Gastroenterol.* **35**, 541 (1997)

Pharmakologische Suppression der Synthese von Tumor-Nekrose-Faktor

Stefan Endres, Britta Siegmund, Gunther Hartmann und Andreas Eigler

Abteilung für Klinische Pharmakologie (Direktor: Prof. Dr. Stefan Endres) und Bereich Gastroenterologie, Medizinische Klinik Innenstadt (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. P. C. Scriba), Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

Wirkungen von Tumor-Nekrose-Faktor

Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) wird als membrangebundenes Pro-Protein aus 233 Aminosäuren synthetisiert und besitzt ein Molekulargewicht von 26 Kilodalton. Dieses Pro-Protein wird durch eine Metalloprotease gespalten [McGeehan et al. 1994, Mohler et al. 1994]. Das Monomer von TNF hat in der reifen Form ein Molekulargewicht von 17 Kilodalton und besteht beim Menschen aus einer Kette von 157 unglykosylierten Aminosäuren. TNF liegt physiologisch als nicht-kovalent assoziiertes Trimer vor, das eine Kegelform bildet.

Die biologischen Wirkungen von TNF sind vielfältig und werden durch die Quervernetzung (cross linking) von zwei Molekülen membranständiger Rezeptoren (je nach Ausstattung der Zellen: Typ I, p55-Rezeptor, und Typ II, p75-Rezeptor) vermittelt. Sie umfassen verschiedene Organsysteme und Gewebe im Organismus (Abb. 1).

Tumor-Nekrose-Faktor als Krankheitsmediator

Bei gesunden Probanden konnte mit einer hochsensitiven Methode, welche auf der hohen Bindungsspezifität und -affinität des TNF-Rezeptormoleküls (p55) beruht, kein zirkulierendes Protein nachgewiesen werden [Poltorak et al. 1994]. Dabei lag die Nachweisgrenze bei 200 attomolar (10^{-18} mol/l). Bei akuten Erkrankungen wie dem septischen Schock zirkuliert TNF dagegen in nanomolarer (10^{-9} mol/l) Konzentration. Tab. 1 stellt eine Übersicht dar für Erkrankungen, bei denen erhöhte Plasmakonzentrationen für TNF gemessen werden.

Therapeutika mit Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Wirkung

Eine Vielzahl von Medikamenten und physiologisch vorkommenden Substanzen wurde bisher auf

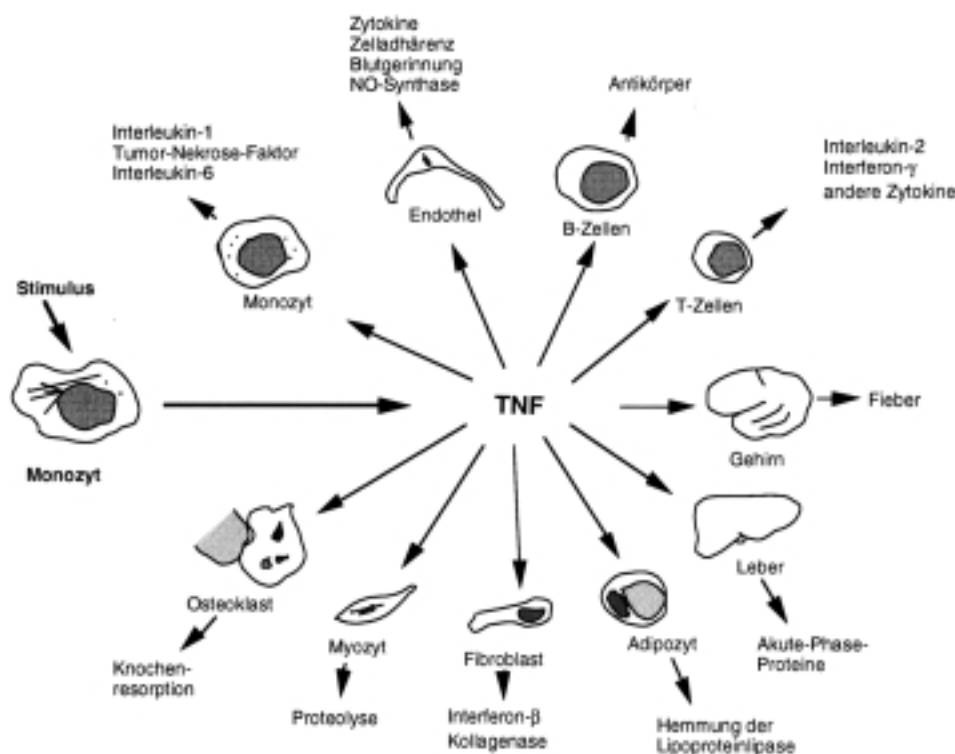


Abb. 1: Überblick bekannter Eigenschaften von Tumor-Nekrose-Faktor (TNF).

Obwohl eine Vielzahl von Zellen in der Lage sind TNF zu bilden, stellen Monozyten und Makrophagen die wesentliche Quelle dar. Von Monozyten gebildeter TNF wirkt autokrin wiederum auf Monozyten und induziert in Endothelzellen eine große Zahl von Aktivierungsprozessen, wie Zytokinproduktion, die Expression von Adhäsionsmolekülen, die Freisetzung prokoagulatorischer Substanzen und die Synthese von Stickstoffmonoxid (klinisches Bild: septischer Schock). B- und T-Lymphozyten werden stimuliert, im Gehirn wird Fieber induziert, in Adipozyten kommt es zur Hemmung der Lipoproteinlipase (klinisches Bild: Kachexie) und in der Leber wird die Bildung von Akute-Phase-Proteinen (bei einer bakteriellen Infektion) induziert. Fibroblasten, Myozyten und Osteoklasten bilden Zielzellen für die Wirkung von TNF bei der rheumatoiden Arthritis.

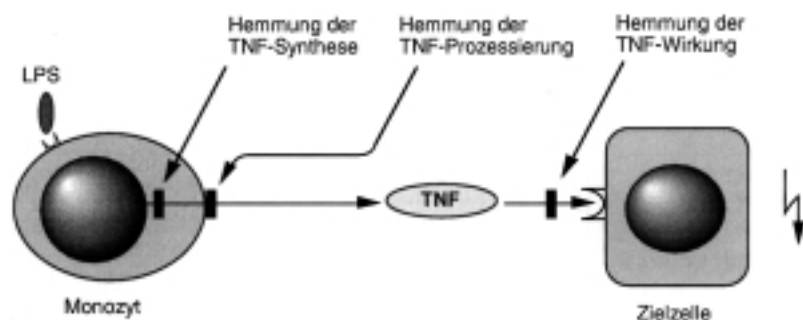


Abb. 2: Hemmung der Bildung oder der Wirkung von Tumor-Nekrose-Faktor (TNF).

Lipopolysaccharide (LPS, Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien) induzieren die TNF-Synthese in Monozyten. Um die Folgen einer überschießenden Synthese zu verhindern, wurden Strategien zur Hemmung der Proteinsynthese, zur Hemmung der Prozessierung und zum Antagonismus von TNF entwickelt. Weitere therapeutische Strategien greifen proximal (z. B. anti-LPS-Antikörper) oder distal (z. B. Hemmung der Signaltransduktion in der Zielzelle) der hier beschriebenen Regelstrecke an.

ihre TNF-modulierenden Eigenschaften geprüft (Übersicht bei Eigler et al. 1997). Die meisten Hemmstoffe der Bildung oder Wirkung wurden in frisch isolierten humanen mononukleären Zellen untersucht, einzelne in Tierversuchen und ein geringer Teil in Studien an Probanden oder Patienten.

Aufgrund ihrer Wirkung auf TNF können diese Substanzen in drei Gruppen eingeteilt werden (Abb. 2). Erstens, Stoffe, die die Bildung von TNF hemmen, wie zum Beispiel Phosphodiesterase-Hemmstoffe, Prostaglandine, Adenosin, Kortikosteroide oder Interleukin-10. Zweitens, Substanzen, die die Prozessierung des pro-Proteins verhindern (spezifische Inhibitoren der TNF-Metall-

oprotease). Und drittens, Therapeutika, die die Wirkung von reifem TNF abschwächen oder verhindern, wie lösliche TNF-Rezeptoren oder anti-TNF-Antikörper. Eine Übersicht der TNF-modulierenden Substanzen, entsprechend ihres Angriffspunktes, ist in Tab. 2 wiedergegeben.

Jede der aufgeführten Strategien ist limitiert durch ihre Spezifität und/oder durch das therapeutische Fenster, in dem eine gewählte Strategie noch greifen kann. Bei einem akuten Ereignis, wie z. B. dem septischen Schock, ist dieses zeitliche Fenster relativ eng. Andererseits scheint eine vollständige Hemmung der TNF-Wirkung in einem frühen Krankheitsstadium eher schädlich zu sein.

Tab. 1: Erhöhte Plasmakonzentrationen von Tumor-Nekrose-Faktor.

Infektionen
Sepsis Malaria tropica Bakterielle Meningitis AIDS Jarisch-Herxheimer-Reaktion
Autoimmunerkrankungen
Rheumatoide Arthritis* Sarkoidose Graft-versus-Host-Erkrankung Transplantatabstoßung (Niere, Herz) Kawasaki-Syndrom
Organversagen
ARDS Schwere Herzinsuffizienz (NYHA III-IV) Myokardinfarkt Akutes Leberversagen
Malignome
Haarzell-Leukämie
Therapieformen
Interleukin-2-Infusion anti-CD3-Antikörper-Infusion*)

*) Protektiver Effekt bei Gabe von monoklonalen Antikörpern gegen TNF.

Tab. 2: Substanzen zur Hemmung der Bildung oder Wirkung von Tumor-Nekrose-Faktor.

Hemmung der Synthese	
● Zytokine:	
Interleukin-10	Marchant et al. 1994
Transforming Growth Factor-β	Espevik et al. 1987
● Andere endogene Mediatoren:	
Kortikosteroide	Han et al. 1990
Prostanoide	Sinha et al. 1995
Adenosin	Parmely et al. 1993
Retinolsäure	Mehta et al. 1994
n-3 ungesättigte Fettsäuren	Endres et al. 1989
Histamin	Vannier et al. 1991
Stickstoffmonoxid	Eigler et al. 1995
● Andere Pharmaka:	
Pentoxifyllin	Endres et al. 1991
Rolipram	Semmler et al. 1993
Cyclosporin A	Remick et al. 1989
Thalidomid	Moreira 1993
Pyrrolidin-Dithiocarbamat	Ziegler-Heitbrock et al. 1993
Hemmung der Prozessierung	
● Inhibitoren der TNF-Metalloprotease:	
Compound 2	
GI 129471	
Hemmung der Wirkung	
● Anti-TNF-Antikörper	
● Lösliche TNF-Rezeptoren	

Lösliche Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptoren und Anti-Tumor-Nekrose-Faktor-Antikörper

1993 wurde von der britischen Arbeitsgruppe um Elliott eine erste erfolgreiche offene Studie zum Einsatz von anti-TNF-Antikörpern bei einer Autoimmunerkrankung (chronische Polyarthrit) veröffentlicht. Die Ergebnisse konnten in einer geblinden Studie bestätigt werden [Elliott et al. 1994]. Seit 1998 ist ein löslicher TNF-Rezeptor (Etanercept) für die Therapie bei chronischer Polyarthrit und ein anti-TNF-Antikörper (Infliximab) für die Therapie bei steroidrefraktärem Morbus Crohn zugelassen.

Die Therapie von Erkrankungen, bei denen es akut zu einer überschießenden Zytokinproduktion kommt, wie etwa dem septischen Schock, stellt weiterhin ein ungelöstes Problem dar. Im Gegensatz dazu konnte gezeigt werden, daß durch chronische Zytokinbildung unterhaltene Krankheiten, spezifisch und mit geringen Nebenwirkungen behandelt werden können. Wahrscheinlich eröffnen sich in Zukunft für weitere Erkrankungen, die bisher mit unspezifischen Immunsuppressiva und den damit verbundenen Nebenwirkungen behandelt wurden, ähnliche Therapiemöglichkeiten.

Literatur

- Eigler, A., Moeller, J., Endres, S., Exogenous and endogenous nitric oxide attenuates tumor necrosis factor synthesis in the murine macrophage cell line RAW 264.7. *J. Immunol.* **154**, 4048 (1995)
- Eigler, A., Sinha, B., Hartmann, G. et al., Strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Immunol. Today* **18**, 487 (1997)
- Elliott, M. J., Maini, R. N., Feldmann, M. et al., Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor α (cA2 versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet* **344**, 1105 (1994)
- Endres, S., Fülle, H. J., Sinha, B. et al., Cyclic nucleotides differentially regulate the synthesis of tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β by human mononuclear cells. *Immunology* **72**, 56 (1991)
- Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V. E. et al., The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N. Engl. J. Med.* **320**, 265 (1989)
- Espevik, T., Figari, I. S., Shalaby, M. R. et al., Inhibition of cytokine production by cyclosporin A and transforming growth factor β . *J. Exp. Med.* **166**, 571 (1987)

- Han, J., Thompson, P., Beutler, B., Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *J. Exp. Med.* **172**, 391 (1990)
- Marchant, A., Bruyns, C., Vandenabeele, P. et al., Interleukin-10 controls interferon-gamma and tumor necrosis factor production during experimental endotoxemia. *Eur. J. Immunol.* **24**, 1167 (1994)
- Mehta, K., McQueen, T., Tucker, S. et al., Inhibition by all-trans-retinoic acid of tumor necrosis factor and nitric oxide production by peritoneal macrophages. *J. Leukoc. Biol.* **55**, 336 (1994)
- Moreira, A. L., Sampaio, E. P., Zmuidzinas, A. et al., Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor- α by enhancing messenger RNA degradation. *J. Exp. Med.* **177**, 1675 (1993)
- Parmely, M. J., Zhou, W. W., Edwards, C. K. et al., Adenosine and a related carbocyclic nucleoside analogue selectively inhibit tumor necrosis factor- α production and protect mice against endotoxin challenge. *J. Immunol.* **151**, 389 (1993)
- Poltorak, A., Peppel, K., Beutler, B., Receptor-mediated label-transfer assay (Relay) – a novel method for the detection of plasma tumor necrosis factor at attomolar concentrations. *J. Immunol. Methods* **169**, 93 (1994)
- Remick, D. G., Nguyen, D. T., Eskandari, M. K. et al., Cyclosporine A inhibits TNF production without decreasing TNF mRNA levels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **161**, 551 (1989)
- Semmler, J., Wachtel, H., Endres, S., The specific type IV phosphodiesterase inhibitor rolipram suppresses tumor necrosis factor- α production by human mononuclear cells. *Int. J. Immunopharmacol.* **15**, 409 (1993)
- Sinha, B., Semmler, S., Eisenhut, T. et al., Enhanced tumor necrosis factor (TNF- α) suppression and cyclic AMP accumulation by combination of phosphodiesterase inhibitors and prostanoids. *Eur. J. Immunol.* **25**, 1207 (1995)
- Vannier, E., Miller, L. C., Dinarello, C. A., Histamine suppresses gene expression and synthesis of tumor necrosis factor α via histamin H₂ receptors. *J. Exp. Med.* **174**, 281 (1991)
- Ziegler-Heitbrock, H. W. L., Sterndorf, T., Liese, J. et al., Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits NF- κ B mobilization and TNF production in human monocytes. *J. Immunol.* **151**, 6986 (1993)

Danksagung

Die experimentellen Projekte der Abteilung werden unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, die Wilhelm Sander-Stiftung, die Deutsche Krebshilfe/Dr. Mildred Scheel-Stiftung, die German Israeli Foundation for Scientific Research, Byk Gulden Konstanz und Novartis Stiftung für Therapieforschung.

Selektive Phosphodiesterase-Hemmer als potentielle Suppressoren chronischer Entzündungen

Christian Schudt

Byk Gulden Lomberg Chemische Fabrik GmbH, Konstanz

Reizschwelle von Entzündungszellen

Entzündungen der Atemwege, Gelenke, Haut und ZNS sind initial durch Ödem und Infiltration von regulierenden Zellen sowie Effektorzellen charakterisiert, die in der Folge bei chronischem Verlauf irreversible Gewebeeränderungen („remodeling“) verursachen. Cytokine, Chemokine und weitere Mediatoren steuern die Chemotaxis, die synthetischen Aktivitäten, die Sekretion sowie das survival der verschiedenen an der Entzündung beteiligten Zellen, für die eine funktionelle Hierarchie beschrieben werden kann. Für eine therapeutische Intervention ist es eventuell sinnvoller, eine „orchestrierende“ Zelle anstatt einer von mehreren „peripheren“ Effektorzellen zu hemmen.

Die Suszeptibilität von inflammatorischen Zellen für aktivierende Signale ist auch Gegenstand der Regulation und kann z. B. durch Verringerung oder Inaktivierung der Rezeptorpopulation moduliert werden. Als ein wichtiger supprimierender Mechanismus zur Erhöhung dieser „Reizschwelle“ hat sich die Proteinkinase A (PKA) herausgestellt, deren Aktivität wiederum durch den sekundären Botenstoff cAMP eingestellt wird. Die intrazelluläre Konzentration von cAMP durch Synthese via Adenylcyclase und Abbau durch die Phosphodiesterasen (PDEs) sowie die konsekutive Änderung der Aktivität der PKA sind zentrale Regelglieder, welche die Intensität der Signalweiterleitung vom Rezeptor zum antwortenden System (Enzym, Transkriptionsfaktor, Kanal etc.) steuern. Die PKA reguliert den Informationsfluß in Zellen durch Phosphorylierung und gleichzeitige Inhibition von Schlüsselenzymen wie PLA₂, RAF-Kinase („gating“).

Die Proteinsuperfamilie der Phosphodiesterasen

Derzeit sind 10 Familien von PDEs bekannt. In diesen Familien sind teilweise mehrere Gene identifiziert und aufgrund der Genstruktur, die bei den humanen PDEs zwischen 10–22 Exons variiert, gibt es in jeder PDE-Familie eine unterschiedliche Anzahl von Splicevarianten. Die PDE-Familien sind durch breite Variation der Substratspezifität und -affinität, durch allosterische Regulation (Ca²⁺/Calmodulin, cGMP-Bindung) oder durch Affinität zu Pharmaka charakterisiert. Die PDEs sind modular aufgebaut und für die PDE4 sind die Domänen beschrieben. An einen lipophilen Carboxyterminus schließt sich in den meisten Familien die katalytische Domäne mit ca 300 Aminosäuren an. Weiter zum N-Terminus sind zwei Domänen als „upstream conserved regions“ UCR1 und

UCR2 beschrieben, denen in der PDE4-Familie eine „regulatorische“ und eine „autoinhibitorische“ Funktion zugeordnet wurde. In diesen beiden Domänen und dem übrigen N-Terminus, der in den „long-forms“ der PDE4-Splicevarianten auftritt, sind wichtige regulatorische Funktionen lokalisiert wie Membranassoziation, aktivierende und hemmende Phosphorylierung, Regulation der katalytischen Aktivität sowie Assoziation mit Tyrosinkinasen und „scaffold proteins“.

Zelluläres PDE-Profil und Wirkung selektiver PDE-Hemmer

An der gesamten hydrolytischen Aktivität für cAMP und cGMP in Zellextrakten sind fast immer mehrere Isoenzyme beteiligt. Wenn die PDE-Aktivität in den löslichen und partikulären Fraktionen in Gegenwart von selektiven Hemmsubstanzen und/oder allosterischen Aktivatoren bestimmt wird, ist es möglich, Fraktionen der Gesamtaktivität einzelnen Isoenzyme zuzuordnen. Mit diesem Verfahren sind Isoenzymprofile von gereinigten Zellpopulationen und homogenen Geweben analysiert worden. Neutrophile, Eosinophile und Monozyten enthalten vorwiegend PDE4, T-Zellen PDE3 und PDE4, dendritische Zellen und Makrophagen enthalten neben PDE3 und PDE4 noch PDE1 und bei Endothelzellen findet sich neben PDE3 und PDE4 noch PDE2.

Die PDE-Profile, die für viele Zellen analysiert sind, stellen das Profil des Ruhezustandes dar und es hat sich gezeigt, daß diese Aktivitäts-Profile sich verändern können. Einige PDE-Isoenzyme werden phosphoryliert und ändern dadurch in Sekunden ihre Aktivität (z. B. PDE3, mehrere PDE4-Splicevarianten), andere werden im Zuge von Zelldifferenzierungen induziert und damit ändert sich das PDE-Profil im Verlauf von Stunden. Beispielsweise werden bei der Differenzierung von Monozyten eine PDE1B, bei der Proliferation von glatten Muskelzellen PDE1C exprimiert. Ein anderes Beispiel für Regulation via Expression ist die Erhöhung von PDE4-Aktivität in T-Zellen und Monozyten durch dauerhaft erhöhtes cAMP. In diesen Zellen führt die Dauerstimulation durch β 2-Agonisten, Adenosin oder PGE₂ zu einer Induktion von PDE4B2, 4D1 und 4D2. Diese reaktive Steigerung der abbaubaren Aktivität für cAMP und der gleichzeitigen Inaktivierung der PKA-Aktivität trägt zur schnellen und langandauernden Veränderung der Empfindlichkeit von Zellen bei. Es ist wahrscheinlich, daß die Tachyphylaxie von Entzündungszellen gegenüber β 2-Mimetika bzw. die

Hyperreaktivität des Atemwegtraktes gegenüber Allergenen auf diese „indirekte Desensitivierung“ durch Erhöhung der PDE-Aktivität zurückgeführt werden kann.

Analog zur physiologischen Steuerung von cAMP-Konzentration können diese auch pharmakologisch reguliert werden. Es sind eine Reihe von Substanzen bekannt und es werden laufend neue synthetisiert, die für die einzelnen PDE-Isoenzyme selektiv sind, und mit deren Hilfe die Funktion der einzelnen Isoenzyme analysiert werden kann. Für die selektiven PDE3-, PDE4- und PDE4>3-Hemmer zeigt sich, daß diese entsprechend dem PDE-Profil hemmen. Z. B. ist ein PDE4-Hemmer (Rolipram) in der Lage, die LTC₄-Synthese in Eosinophilen komplett zu hemmen, da in dieser Zelle nur PDE4 vorhanden ist. In Makrophagen oder dendritischen Zellen dagegen hat der selektive PDE4-Hemmer fast keinen Effekt. Da in diesen Zellen neben PDE4 noch erhebliche Mengen PDE3 vorhanden sind, kann nur eine Kombination von PDE3- und PDE4-Hemmern bzw. ein dual-selektiver kombinierter PDE4>3-Hemmer (Tolafentrin) die TNF-Synthese wirkungsvoll blockieren. Für einen dual-selektiven PDE4>3-Hemmer läßt sich dadurch ein breiteres Wirkungsspektrum prognostizieren. Während ein selektiver PDE4-Hemmer die Funktionen der Effektorzellen Eosinophile, Neutrophile und partiell T-Zellen supprimiert, wird ein dual-selektiver Hemmer – bei hinreichender Verträglichkeit – zusätzlich die Vorgänge im Entzündungsgeschehen supprimieren, an denen dendritische Zellen und/oder Endothelzellen beteiligt sind. Erst klinische Studien werden entscheiden, bei welchen entzündlichen Erkrankungen ein PDE4-Hemmer hinreicht und wann ein PDE4>3-Hemmer besser geeignet ist.

PDE4- und PDE4>3-Hemmer als anti-entzündliche Therapeutika

Selektive PDE4- und PDE4>3-Hemmer wie Rolipram oder Zardaverin haben bislang wegen ihrer emetischen Nebenwirkung in der Therapie keine Rolle gespielt. Erst bei der neuen Generation der PDE4-Hemmer – z. B. bei Piclamilast und Ariflo – zeigt sich die Möglichkeit, die emetische Wirkung von der antiinflammatorischen Wirkung zu separieren. Die PDE4-Isoenzyme können – besonders die langen Splicevarianten – in zwei Konformationen vorliegen. Kurze Splicevarianten hingegen wie z. B. PDE4D2 liegen wegen des kurzen N-Terminus bevorzugt in einer der beiden Konformationen vor. Die beiden Konformerer können mit Rolipram unterschieden werden. Die Affinität von Rolipram an das katalytische Zentrum unterscheidet sich 10-100-fach an den beiden Konformationen, die damit als „high affinity receptor“ (HAR) oder als „low affinity receptor“ (LAR) bezeichnet wurden. Hochaffine Bindungsstellen für Rolipram und damit viel HAR-PDE4 wurde im ZNS identifiziert, während HAR-PDE4 offenbar bevorzugt in Monozyten und T-Zellen gefunden wurde. Da für Rolipram die emetische Nebenwirkung bei niedrigeren Blutkonzentrationen beobachtet wurde als die Hemmung entzündlicher Vorgänge, wurde die

emetische Funktion der HAR-PDE4 und die anti-entzündliche Funktion der LAR-PDE4 zugeordnet.

Nachdem es nun wahrscheinlich war, daß Wirkung und Nebenwirkung von PDE4-Hemmern der Wechselwirkung mit verschiedenen Konformationen bzw. verschiedenen Splicevarianten der PDE4 zugeordnet werden können, wurde es möglich, nebenwirkungsarme PDE4-Hemmer zu identifizieren. Von solchen Substanzen sollte man erwarten, daß sie Entzündungsprozesse supprimieren, an denen Monozyten, dendritische Zellen und T-Zellen beteiligt sind, ohne in therapeutischer Dosis Emeis auszulösen.

Mit Rolipram als HAR-selektivem Detektor und beispielsweise Piclamilast als HAR/LAR-unselektivem Detektor läßt sich die Anwesenheit der PDE in der einen oder anderen Konformation in Geweben oder Zellpopulationen analysieren. Gleichzeitig kann mit diesen Substanzen funktionell festgestellt werden, ob die eine oder die andere Konformation an der cAMP Hydrolyse beteiligt sind. Dadurch hat sich bestätigt, daß in den Monozyten und in T-Zellen die LAR-Konformation bei der PDE4 vorherrscht. Damit ist auch funktionell gezeigt, daß LARV-selektive PDE4-Hemmer mehr entzündungshemmend und weniger emetisch sein sollten.

Daß die Substanzklasse der PDE-Hemmer auch bei Asthma wirkt, konnte schon durch die Effekte von Zardaverin an Patienten gezeigt werden. Diese Substanz konnte jedoch wegen ihres Nebenwirkungspotentials nicht weiterentwickelt werden. Für die Wirkung von PDE4-Hemmern bei rheumatoider Arthritis liegen bislang nur tierexperimentelle Daten mit Rolipram vor, die aber einen therapeutischen Effekt von PDE4-Hemmern bei RA nahelegen. Für die neue Substanz der „dritten Generation von PDE4-Hemmern“ Ariflo liegen heute erste Ergebnisse aus klinischen Studien mit COPD (chronisch obstruktive Bronchitis) -Patienten vor. Diese Phase II-Studien zeigen, daß hier bei ausreichender Verträglichkeit die Lungenfunktion der Patienten deutlich verbessert wird. Es spricht viel dafür, daß diese Substanz zur Zulassung gelangen wird. Ariflo wäre damit der erste selektive PDE4-Hemmer, mit dem eine chronische Entzündungserkrankung therapiert werden kann.

Literatur

- Schudt, C., Gantner, F., Tenor, H. et al., Therapeutic Potential of selective PDE Inhibitors in Asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **12**, 123 (1999)
- Tenor, H., Schudt, C., Analysis of PDE Isoenzyme Profiles in Cells and Tissues by Pharmacological Methods. In: C. Schudt, D. Dent, K. F. Rabe (eds.), *Phosphodiesterase Inhibitors*, S. 21–40. Academic Press San Diego/USA (1996)
- Tenor, H., Schudt, C., Phosphodiesterase in Asthma. In: A. P. Sampson, M. K. Church (eds.), *Anti-Inflammatory Drugs in Asthma*, S. 87–135. Birkhäuser Verlag, Basel (1999)
- Torphy, T., Phosphodiesterase Isozymes. *J. Respir. Crit. Care Med.* **157**, 351 (1998)
- Conti, M., Jin, S.-L. C., The Molecular Biology of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **63**, 1 (1999)

Interleukin-1 Converting Enzyme (ICE) als therapeutischer Angriffspunkt

Roland Kurrle

Hoechst Marion Roussel Deutschland, Frankfurt/Main

Das menschliche Interleukin-1 β Converting Enzyme (ICE) gehört zu einer neuen Klasse von intrazellulären Cystein-Proteasen, den Caspasen (cysteinyll *aspartate-specific proteinases*). Die ständig wachsende Familie von Caspasen, bis heute sind mindestens 13 Caspasen bekannt, lassen sich in 3 Unterfamilien einteilen.

1. Zytokin-prozessierende Caspasen
2. Initiator-Caspasen
3. Effektor-Caspasen

Alle Caspasen weisen signifikante Gemeinsamkeiten bezüglich Aminosäure-Sequenzen, Struktur und Substratspezifität auf. Sie werden als Proenzyme exprimiert (30–50 kD) und werden durch proteolytische Spaltung zu einer großen (\sim 20 kD), sowie zu einer kleinen Untereinheit (\sim 10 kD) prozessiert. Diese Untereinheiten wiederum bilden Heterodimere, die zum aktiven Tetramer assoziieren. Initiator- und Effektor-Caspasen sind vorrangig in einer Kaskade von intrazellulären Prozessen involviert, die schlußendlich zum programmierten Zelltod (Apoptose) führen. Im Gegensatz dazu sind Zytokin-prozessierende Caspasen, falls überhaupt, nur in bestimmte Apoptosewege involviert.

Interleukin-1 β Converting Enzyme (ICE) oder Caspase-1 gehört, ebenso wie die Caspasen -4, -5 und -13, zu der Unterfamilie Zytokin-prozessierender Caspasen. ICE ist ein essentiell notwendiges Enzym zur Spaltung der biologisch inaktiven Interleukin-1 β Vorstufe (pro-IL 1 β ; 33 kD) in das biologisch aktive, reife Zytokin IL-1 β (17 kD). In analoger Weise prozessiert ICE auch pro-IL18 zum biologisch aktiven Zytokin IL-18. Interleukin-18, ursprünglich als γ -Interferon induzierender Faktor bezeichnet, wird heute vorrangig als Co-Stimulator für Th1-Zytokine angesehen. Ebenso wie die Regulation der IL-1 Aktivität sollte auch die Regulation der IL-18 Aktivität bei verschiedenen Erkrankungen von hohem therapeutischen Nutzen sein.

Interleukin-1 β (IL-1 β) ist, ebenso wie TNF- α , ein Schlüsselmolekül pro-inflammatorischer Pathomechanismen. Durch eine Vielzahl von präklinischen und klinischen Untersuchungen wurde die entscheidende Rolle von IL-1 β für die Pathogenese von verschiedensten Erkrankungen belegt. Beispielsweise können bei bestimmten Autoimmunerkrankungen, Knochenerkrankungen oder bei entzündlichen Erkrankungen erhöhte IL-1 β Spiegel nachgewiesen werden. So werden erhöhte Zytokinpiegel auch in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) oder mit Osteoarthritis (OA) gefunden. Darüber hinaus ist IL-1 β als stark Knochen-resorbierendes Agens be-

kannt. Präklinische Untersuchungen in relevanten Arthritis-Modellen legen nahe, daß die Inhibition überhöhter IL-1 β Aktivität nicht nur einen positiven Einfluß auf akute, entzündlich Prozesse hat, sondern auch langfristig zu einer Verbesserung der Krankheitsparameter führen kann. Daher sind für diese Krankheiten seit längerer Zeit Therapieprinzipien von großem Interesse, die eine Inhibition der IL-1 β Freisetzung oder IL-1-medierter Effekte bewirken. Auch verschiedene heute bereits etablierte RA-Therapien reduzieren die Produktion von IL-1 β . Diese niedermolekularen Substanzen, wie beispielsweise Doxycyclin, Tenidap oder Steroide sind jedoch nur indirekte Zytokin-Inhibitoren und wirken auf unterschiedlichste Zelltypen über ein breites Spektrum verschiedener Wirkmechanismen. Möglicherweise verursacht diese geringe Selektivität verschiedenste Nebenwirkungen, die eine breitere Anwendung in der RA/OA-Therapie limitieren.

Therapieprinzipien, die auf hochmolekularen IL-1 Inhibitoren, wie dem IL-1 Rezeptor Antagonisten (IL-1ra) beruhen, wurden ebenfalls in RA-Patienten, in Sepsis-Patienten und in einer Vielzahl von präklinischen Untersuchungen getestet. Auch hier wurden Krankheitsparameter entscheidend verbessert oder die Progression der Erkrankung verzögert. Makromoleküle wie IL-1ra haben eine hohe Selektivität, jedoch den entscheidenden Nachteil, daß sie üblicherweise per Injektion appliziert werden müssen und so bei chronischer Behandlung für den Patienten wenig komfortabel sind. Dies gilt in analoger Weise auch für Proteine, die TNF- α neutralisieren (TNF-R Fusionsproteine, anti-TNF- α -Antikörper) und mit großem Erfolg bei der Behandlung von RA-Patienten eingesetzt werden.

Daten mit Peptidinhibitoren belegen, daß durch die Inhibition des Interleukin-1 Converting Enzymes die Freisetzung von biologisch aktivem IL-1 β inhibiert werden kann. Diese IL-1 β Inhibition geht in verschiedensten Tiermodellen mit einer signifikanten Verbesserung von Krankheitsparametern einher. Gleichermaßen sollte es durch ICE-Inhibition, über die Inhibition der IL-18-Aktivität, möglich sein, auch eine erhöhte Th-1 Antwort zu vermindern. Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis sind nicht nur durch ausgeprägte Entzündungen, sondern ebenso durch eine gestörte Balance der Th-1 und Th-2 Populationen, mit einer erhöhten Th-1 Antwort, gekennzeichnet. ICE sollte daher ein hochattraktives Target zur Behandlung IL-1 β assoziierter Erkrankungen darstellen. Potente ICE-Inhibitoren könnten darüber hinaus auch in der Lage sein, regulierend in die T-Zell-Kontrolle von Pathomechanismen einzugreifen.

In enger Zusammenarbeit mit VERTEX Pharmaceuticals Inc., Cambridge (USA) haben wir verschiedenste ICE-Inhibitoren entwickelt und präklinisch evaluiert. Im Rahmen dieser Forschungsoperation wurde HMR 3480/VX-740 als Ergebnis von umfangreichen Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen und durch Techniken der

kombinatorischen Chemie generiert. HMR 3480/VX-740 inhibiert in vitro und in vivo mit hoher Selektivität die Caspase-1 (ICE)-vermittelte Prozessierung von IL-1 β . HMR 3480/VX-740 ist ein hochpotenter, oral bioverfügbarer ICE-Inhibitor, der für die klinische Entwicklung bei rheumatoider Arthritis ausgewählt wurde.

Neue Therapiekonzepte bei Morbus Wegener

Werner J. Mayet

Universität Mainz, I. Medizinische Klinik, Mainz

Klinik

Bei der Wegenerschen Granulomatose handelt es sich primär um eine Granulomatose mit sekundärem Übergang in eine Vaskulitis. Ein biphasischer Verlauf zeigt sich in ca. $\frac{1}{3}$ der Fälle.

Die Krankheit kann zunächst ohne Hinweise auf eine Systembeteiligung locoregionär begrenzt beginnen.

Die Symptome einer Vaskulitis treten in der aktiven Generalisationsphase in den Vordergrund. In der Lunge finden sich multiple noduläre Infiltrate, zum Teil mit Kavernenbildung. Die Niere kann mit einer Nephritis (Proteinurie und Hämaturie) und evtl. Hypertonie beteiligt sein. Weitere Manifestationen sind eine Rhinitis, Sinusitis, Laryngitis, Tracheitis, Pharyngitis, Arthralgien oder eine Episkleritis, eine Otitis, bei Augenbeteiligung eine Konjunktivitis, Skleritis oder Episkleritis. Als Hauteffloreszenzen werden Ulzerationen, Granulome, Nekrosen sowie eine Sattelnase gesehen.

Prognose

Die Mortalität ohne Therapie liegt innerhalb eines Jahres nach der Krankheitsmanifestation bei über 80 %. Der stadienadaptierte therapeutische Einsatz von Immunsuppressiva hat jedoch zu einer Verlängerung der Überlebenszeit mit möglichen Vollremissionen geführt.

Die Immunpathogenese ist möglicherweise heterogen und der exakte Mechanismus noch nicht vollständig geklärt. Den für den M. Wegener typischen anti-neutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern mit dem Zielantigen Proteinase 3 (PR3-ANCA) wird hier eine besondere Rolle zugeschrieben. Die Therapie ist nicht zuletzt auch wegen des komplexen klinischen Bildes schwierig.

Induktionstherapie

Das Ziel der sog. Induktionstherapie ist die Remissionsinduktion. Da höhere Dosen von Immunsuppressiva mit relevantem Nebenwirkungspotential eingesetzt werden, ist eine zeitliche Begrenzung angestrebt. Die Induktionstherapie muß sich nach der Diagnose, Krankheitsausdehnung bzw. Aktivität und den Prognosefaktoren richten.

In der sog. „Granulomphase“ kann Cotrimoxazol (2 \times 960 mg/d) eingesetzt werden. Neue Forschungsdaten (z. B. Etablierung von Staphylococcus aureus reaktiven T-Zellklonen mit irregulärem Zytokinmuster aus der Nasenschleimhaut von Wegener-Patienten) untermauern dafür den theoretischen Hintergrund. Die Kombination mit Methotrexat muß vermieden werden (Gefahr einer Panzytopenie).

Mit einer „low-dose“ Methotrexat-Therapie (0,3 mg/kg/Woche i.v.) gibt es erste positive Erfahrungen. Wegen der vorwiegend renalen Elimination sollte der Einsatz bei Niereninsuffizienz jedoch vermieden werden.

Die Standardinduktionstherapie ist auch heute noch das FAUCI-Schema (orales Cyclophosphamid 2 mg/kg/d und Glucokortikoide) (bis zu 90 % Remissionsinduktion). Zu beachten ist allerdings ein relativ hoher Anteil von ernsthaften Nebenwirkungen: Schwere Infektionen (3 %), Erhöhung des allgemeinen Malignomrisikos (2,4fach), erhöhtes Blasenkarzinomrisiko (33fach), erhöhtes Lymphomrisiko (11fach), Ovarialinsuffizienz (57 %), hämorrhagische Zystitis (43 %), aseptische Knochennekrosen (14 %) und Steroidkatarakt (21 %). Kritisch ist auch die kumulative Cyclophosphamid-Dosis. Die Glucokortikoid-Dosis sollte besonders zur Vermeidung infektiöser Komplikationen im ersten Vierteljahr unter 7,5 mg/d gesenkt werden.

Die Acrolein-Toxizität (Cyclophosphamid-Abbauprodukt) kann durch die Gabe von Mesna in äquivalenter Dosis sowie reichlich Flüssigkeitszufuhr gemildert werden.

Nach Erreichen einer Remission nach ca. 6–12 Monaten kann eine Erhaltungstherapie versucht werden.

Das AUSTIN-Schema wird überwiegend bei renaler Vaskulitis bzw. beim alveolären Hämorrhagie-Syndrom eingesetzt. Im Vergleich zum FAUCI-Schema ist die Cyclophosphamid-Dosis erhöht (15–20 mg/kg i.v.). Am 8.–12. Tag nach dem Bolus sollten die Leukozyten bei > 3000 μ l liegen. Das Schema wird alle 3 Wochen wiederholt. Eine Kombination mit Prednisolon ist obligat. Insgesamt ist das Schema weniger toxisch als die klassische Therapie.

Die Pulstherapie jede zweite Woche ist sicher und effektiv bezüglich der Remissionsinduktion, aber die Rückfallrate im Vergleich zur niedrig dosierten oralen Cyclophosphamid-Therapie höher. Die kumulative Dosis ist allerdings niedriger.

Erhaltungstherapie

Sie dient der Erhaltung einer Remission. Eingesetzt werden niedrigere Dosen, um iatrogene Schäden durch Immunsuppressiva zu minimieren.

Weiter kontrovers diskutiert wird der Einsatz von Cotrimoxazol (s. o.). Die „low-dose“ Methotrexat-Therapie (s. o.) scheint jedoch auch zur Remissionserhaltung geeignet. Im Rahmen aktueller Studien wird derzeit die Eignung von Azathioprin zur Remissionserhaltung evaluiert. Im Vergleich zum Methotrexat hat diese Substanz Vorteile bei manifester Niereninsuffizienz. Über den Einsatz von Cyclosporin A sind nur wenige Daten verfügbar. Außer bei transplantierten Patienten sollte es derzeit nur bei hämatologischen Komplikationen der Standardtherapie eingesetzt werden.

Aktuelle Studien mit Mycophenolat Mofetil berichten über Erfolge in der Remissionserhaltung über 15 Monate. Mycophenolat Mofetil hemmt die Proliferation von B- und T-Lymphozyten und scheint in Kombination mit niedrig dosierten Kortikosteroiden gut verträglich und effektiv zu sein. Ähnliche Daten liegen mittlerweile für Leflunomid vor. Diese Substanz ist ein Isoxazolderivat und wirkt über die Hemmung der Dihydroorotat-Dehydrogenase bzw. der de-novo-Pyrimidinsynthese. Derzeit laufen kontrollierte Studien zum Vergleich mit Methotrexat bzw. Azathioprin.

Eskalationstherapie

Sie ist therapieresistenten Verläufen vorbehalten. Hier werden u. a. additive Maßnahmen (z. B. Immunadsorption, Plasmapherese) und biologische

Immunmodulatoren (monoklonale Antikörper, Interferone, Zytokinrezeptoren-Antagonisten etc.) eingesetzt.

Bei therapierefraktären Verläufen (ca. 10 %) kann zunächst das sog. intensivierte FAUCI-Schema (Cyclophosphamid 3–4 mg/kg/d, Prednisolonäquivalent 1 g an 3 Tagen) versucht werden. Im Rahmen offener Studien konnte ein positiver Effekt einer zusätzlichen Gabe von intravenös applizierten Immunglobulinen (400 mg/kg über 5 d) bestätigt werden. Als wichtiger Wirkmechanismus wird hier die Regulation der Autoantikörperproduktion durch B-Zellen über idiotypische- anti-idiotypische Reaktionen diskutiert.

Als weitere Möglichkeit (Salvage-Therapie) wurden humanisierte monoklonale Antikörper gegen CD4 und CD52 (CAMPATH-1) sowie Antithymozytenglobulin eingesetzt. Plasmaseparationen wurden ergänzend durchgeführt.

Zytotoxische Medikamente konnten in mehreren Studien während der Therapie mit monoklonalen Antikörpern abgesetzt werden. Monoklonale Antikörper gegen T-Zellen bieten somit eine Alternative zu konventionellen immunsuppressiven Regimen. Die „Humanisierung“ dieser Antikörper verringert dabei das Risiko einer Sensibilisierung.

Literatur

De Groot, K., Muhler, M., Reinhold-Keller, E. et al., Induction of remission in Wegener's granulomatosis with low dose methotrexate. *J. Rheumatol.* **25**, 492 (1998)

Jayne, D. R., Lockwood, C. M., Intravenous immunoglobulin as sole therapy for systemic vasculitis. *Br. J. Rheumatol.* **35**, 1150 (1996)

Lockwood, C. M., Thirn, S., Isaacs, J. D. et al., Long-term remission of intractable systemic vasculitis with monoclonal antibody therapy. *Lancet* **341**, 1620 (1993)

Mayet, W.-J., Helmreich-Becker, J., Meyer zum Büschenfelde, K.-H., The pathophysiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their clinical relevance. *Crit. Rev. Oncol. Rheumatol.* **23**, 151 (1996)

Mayet, W.-J., Märker-Hermann, E., Schlaak, J. et al., Irregular cytokine pattern of CD4+ T-lymphocytes in response to *Staphylococcus aureus* in patients with Wegener's granulomatosis. *Scand. J. Immunol.* **49**, 585 (1999)

Nowack, R., Gobel, U., Klooker, P. et al., Mycophenolate mofetil for maintenance therapy of Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **10**, 1965 (1999)

Stegeman, C. A., Cohen-Tervaert, J. W., De-Jong, P. E. et al., Trimetoprim-sulphamethoxazole (cotrimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. *N. Engl. J. Med.* **335**, (1996)

Kontrolle von Wirkstofftransport über biologische Barrieren

Claus-Michael Lehr

Universität des Saarlandes, Fachrichtung Biochemie und Pharmazeutische Technologie,
Saarbrücken

1. Bedeutung der Biotechnologie für unseren Arzneischatz

Fraglos haben die Fortschritte der modernen Biotechnologie die Entwicklung neuer Arzneimittel enorm beschleunigt. Auf der einen Seite ermöglichen es neuartige Methoden des Computer-aided Drug Design, der kombinatorischen Chemie sowie pharmakologische Testmethoden mit hoher Durchsatzkapazität (high-throughput screening), daß innerhalb relativ kurzer Zeit und in einem Arbeitsgang 100 000 und mehr neue Arzneistoffmoleküle synthetisiert und auf ihre potentielle Wirksamkeit getestet werden können. Auf der anderen Seite kommen zu diesen, mit modernen Methoden identifizierten „konventionellen“ Arzneistoffen (= relativ kleine Moleküle organisch chemischer Herkunft) in zunehmendem Maße echte „Biopharmazeutika“, also makromolekulare Arzneistoffe biotechnologischer Herkunft. Damit gemeint sind zunächst Peptide und Proteine, aber auch Oligonukleotide zur Modulation der Gen-Expression, bis hin zu DNA-Vektoren für eine mögliche in-vivo Gentherapie. Erst seit dem Aufkommen moderner biotechnologischer Methoden können Arzneistoffe dieser Art überhaupt in hinreichender Menge und Reinheit hergestellt bzw. ihre Struktur und ihr Wirkprinzip entdeckt und verstanden werden.

2. Bedeutung der Absorption bzw. biologischer Barrieren bei der Entwicklung von Arzneimitteln

Während die modernen Synthesemethoden und Wirksamkeitstests inzwischen zu einer enormen Zunahme an potentiellen Wirkstoffkandidaten geführt haben (strenggenommen sind dies zunächst nichts anderes als Liganden mit einer hohen Rezeptoraffinität), herrscht noch immer ein Mangel an adäquaten Methoden, um die wichtigen biopharmazeutischen Eigenschaften, insbesondere die Permeabilität über Absorptionsbarrieren, mit einer dem neuen Stoffangebot angemessenen Kapazität zu untersuchen. Es liegt auf der Hand, daß von zwei gleich potenten Arzneistoffen letztlich derjenige ein erfolgreicheres Produkt abgeben wird, welcher oral (z. B. als Tablette oder Kapsel) und nicht parenteral oder nur über ein kompliziertes und teures „Delivery System“ angewandt werden kann.

Vor diesem Hintergrund kommt modernen Zellkulturverfahren eine wachsende Bedeutung im Entwicklungsprozeß neuer Arzneistoffe zu. Sie erlauben es, von einer relativ großen Anzahl an Substanzen wichtige Permeabilitätsdaten zur Vorhersage der Absorption bereits in einer sehr frühen

Entwicklungsphase zu erhalten. Außerdem hilft dieser Ansatz, Tierversuche zu vermeiden. Eine neue Guideline der FDA [1] sieht außerdem vor, beim Vorliegen geeigneter Permeabilitätsdaten aus solchen in-vitro Untersuchungen auf klinische Bioäquivalenzstudien zu verzichten. In diesem Zusammenhang gewinnt – neben dem rein physikalisch-chemischen Parameter der Löslichkeit – auch die Permeabilität von Arzneistoffen über biologische Barrieren an Bedeutung.

Noch größer wird die Problematik bei den „echten“ Biopharmazeutika. Aufgrund ihrer Größe, ihrer schlechten Lipidlöslichkeit und geringen metabolischen Stabilität bereitet der Transport solcher Moleküle vom Applikations- zum Wirkort von Natur aus große Probleme. Die für Arzneimittel grundsätzlich bevorzugte orale Applikation scheidet in der Regel aus, aber auch nach intravenöser Applikation können Peptide und Proteine z. B. kaum in das zentrale Nervensystem gelangen, weil sie die sog. Blut-Hirn-Schranke normalerweise nicht überwinden. Noch schwieriger gestaltet sich die Überwindung solcher biologischer Barrieren bei der sog. Gentherapie, wo selbst nach direkter Injektion ins Cytoplasma nur etwa eines von 100 000 Plasmid-Molekülen in den Nukleus transportiert und erfolgreich transkribiert wird. Die Erforschung neuer Technologien, welche den sicheren und effizienten Transport zum eigentlichen Wirkort gewährleisten ist gerade für diese hochpotenten, aber leider mit äußerst unvorteilhaften pharmakokinetischen Eigenschaften behafteten Makromoleküle besonders wichtig.

3. Transport- und Barrierefunktionen epithelialer Schleimhautgewebe – Strategien zur verbesserten Absorption makromolekularer Arzneistoffe

Der schematische Aufbau eines einschichtigen Epithels, wie z. B. das des Dünndarms, ist in Abb. 1 gezeigt. Gleichzeitig enthält Abb. 1 auch alle wesentlichen (nicht auf Arzneistoffe beschränkte!) Transportwege zwischen der apikalen (= dem Darmlumen zugewandten) und der basolateralen (= der Serosa bzw. den Blutgefäßen zugewandten) Seite einer solchen biologischen Barriere.

3.1. Absorption kleiner Arzneistoffmoleküle

Die meisten Arzneistoffe, insbesondere jene, die derzeit als Arzneimittel zur oralen Anwendung zugelassen und im Handel sind, werden über passive transzelluläre Diffusion (Weg 2) absorbiert. Dies

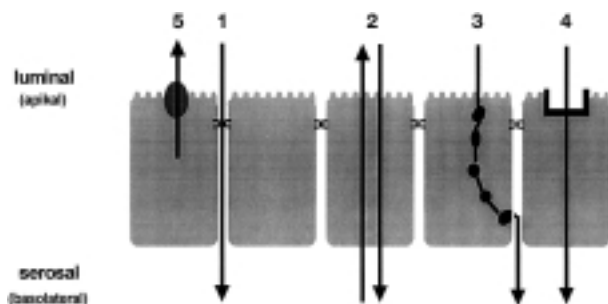


Abb. 1: Transportwege an einer epithelialen Barriere: 1 = parazellulär, 2 = transzellulär, 3 = vesikulär (Endo-/Transzytose), 4 = carrier-vermittelt, 5 = apikales Efflux-System.

ist jedoch nur für relativ kleine Moleküle möglich, die hinreichend schnell durch die lipoidalen Zellmembranen diffundieren und überdies hinreichend lipid- und wasserlöslich sein müssen. Einige Arzneistoffe (z. B. bestimmte Antibiotika) werden über spezifische Carriersysteme (Weg 4) transportiert, teilweise sogar aktiv, d. h. unter Verbrauch von ATP. Es ist jedoch festzuhalten, daß wahrscheinlich keines dieser Transportersysteme geeignet ist, für die Absorption großer Moleküle wie z. B. biopharmazeutische Arzneistoffe genutzt zu werden.

Neben ihrer Wirkung als physikalische Diffusionsbarriere wirken epitheliale Zellverbände aber auch als eine biochemische bzw. metabolische Barriere. Besondere Bedeutung kommt in diesem Zusammenhang einerseits metabolischen Enzymen, andererseits sog. apikalen Efflux-Systemen zu. Unter den metabolischen Enzymen im Darmepithel ist das zur P450-Klasse gehörende Enzym CYP 3A4 wohl das am besten bekannte. Von den verschiedenen Efflux-Systemen kommt insbesondere dem sog. P-Glykoprotein eine besondere Bedeutung als Absorptionsbarriere zu. Sofern ein Arzneistoff ein Substrat für ein derartiges Efflux-System ist, wird der Transport in absorptiver Richtung (also von apikal nach basolateral) entsprechend gehemmt und es kommt zu einer stark verminderten bzw. variablen Bioverfügbarkeit (Weg 5). Apikale Efflux-Systeme sind wahrscheinlich auch die Hauptursache für den häufig problematischen Transport von Arzneistoffen in das zentrale Nervensystem über das Kapillarendothel der Blut-Hirn-Schranke.

3.2. Mögliche Transportwege für makromolekulare Biopharmazeutika

Für makromolekulare Biopharmazeutika ist sowohl die Überwindung der physikalischen wie auch der verschiedenen biochemischen Barrieren am Epithel ein großes Problem. Um signifikante Mengen größerer hydrophiler Moleküle (z. B. Peptide und Proteine, $M_w > 1000$ Da) über eine epitheliale Barriere zu transportieren, bieten aber die parazelluläre Route (Weg 1) oder der bislang für Arzneimittel noch kaum genutzte vesikuläre Transport (Weg 3) durchaus Perspektiven. Der parazelluläre Weg zwischen benachbarten Epithelzellen hindurch wird vor allem von hydrophilen Substan-

zen bevorzugt. Allerdings begrenzen die im oberen Bereich der Epithelzellen vorhandenen „tight junctions“ die Durchlässigkeit des Zellverbandes auf relativ kleine Moleküle.

3.2.1. Erhöhung der parazellulären Permeabilität durch Modulation der tight junctions

In jüngerer Zeit sind Möglichkeiten gefunden worden, die normalerweise dicht geschlossenen tight junctions vorübergehend zu öffnen. Diese kurzzeitige Permeabilitätserhöhung läßt sich pharmazeutisch nutzen, um mit einer geeigneten Formulierung die Absorptionsgeschwindigkeit normalerweise nur schlecht bzw. praktisch nicht absorbierbarer Arzneistoffe erheblich zu steigern. Hierbei sind natürlich neben der Effektivität auch die Sicherheit bzw. Unbedenklichkeit (mögliche Cytotoxizität oder immunologische Reaktionen etc.) solcher Maßnahmen genau zu untersuchen. Zusammen mit ihrer Fähigkeit, bestimmte Proteasen zu inhibieren, ist dies ein interessantes Anwendungsgebiet für bestimmte multifunktionale Polymere, insbesondere mucoadhäsive Polyacrylsäure-Derivate oder Chitosane [2]. Wegen der guten Erreichbarkeit durch entsprechende Zubereitungen erscheint dabei neben dem oralen Weg vor allem auch die nasale oder vaginale Applikation von Peptiden als sehr aussichtsreich.

3.2.2. Rezeptor-vermittelte Endo- und Transcytose

Letztlich eleganter, aber auch wesentlich komplexer als die Modulation der parazellulären Permeabilität erscheint der Weg eines kontrollierten epithelialen Transports makromolekularer Biopharmazeutika über Membranvesikel. Hierbei können auch sehr große Moleküle ($> 100\,000$ Da) oder sogar nanoskalige Carriersysteme (Liposomen, Nanopartikel etc.) durch Endozytose in Epithelzellen hinein, und in bestimmten Fällen durch eine anschließende Exozytose auch wieder hinaus transportiert werden. Durch Kopplung der beiden Prozesse kommt es also letztlich zu einem Transport durch die Zelle hindurch (Transcytose). Im Unterschied zur nicht-spezifischen fluid-phase-Endozytose (Pinozytose), die ohne eine Bindung des Substrates an die Zellmembran mehr oder weniger spontan abläuft, läßt sich die Kapazität und Selektivität dieses Transportmechanismus stark erhöhen, wenn er über eine adsorptive oder rezeptorvermittelte Bindung des Substrats an die Zellmembran ausgelöst wird [3]. Physiologische Transportsysteme, die auf dem Prinzip der rezeptorvermittelten Endozytose beruhen und bereits im Hinblick auf eine Möglichkeit pharmazeutischer Nutzung untersucht wurden, sind z. B. die Transcytose von Vitamin B12 oder von Transferrin. Dabei können sich aber u. U. die relativ geringe Transportkapazität dieses hochspezifischen Transportsystems, sowie der Umstand, daß dieselben auch gleichzeitig die Versorgung mit physiologischen Mangelsubstraten gewährleisten müssen, für eine mögliche pharmazeutische Nutzung als nachteilig erweisen. Ein anderes Konzept untersucht deshalb die mögliche pharmazeutische Nutzbarkeit nicht-physiologischer Liganden von endozytischen Rezeptoren, wie z. B. cytoadhäsive Lektine oder bakterielle Invasionsfaktoren [4, 5].

4. Zusammenfassung und Zukunftsperspektiven

Transportvorgänge an biologischen Absorptionsbarrieren nehmen bei der Entwicklung sicherer und wirksamerer Arzneimittel eine zunehmend wichtigere Rolle ein. Zum einen können mit Hilfe moderner in-vitro Testsysteme auf der Basis humaner Zellkulturen schon in einer sehr frühen Phase der Arzneimittelentwicklung Aussagen zur Permeabilität an epithelialen Barrieren gewonnen werden. Dies sind im Hinblick auf die orale Bioverfügbarkeit von neuen Substanzen wichtige Informationen, die sowohl bei der rationalen Suche bzw. bei der späteren Zulassung neuer Arzneistoffkandidaten erhebliche Einsparungen an Zeit und Kosten bewirken können. Zum anderen erlaubt erst ein fortgeschrittenes Verständnis der Vorgänge und Mechanismen, über welche die Absorption einer bestimmten Substanz durch die Darmschleimhaut erfolgt, diesen kritischen Schritt u. U. durch geeignete pharmazeutisch-technologische Maßnahmen erfolgreich zu beeinflussen. Dies ist gerade im Falle der normalerweise schlecht bzw. gar nicht absorbierbaren makromolekularen „Biopharmazeutika“ im Grunde unverzichtbar. Auch hier erlauben es epitheliale Zellkulturen in-vitro, die Funktionsweise zu entwickelnder moderner Drug Delivery Systeme unter kontrollierten Bedingungen zu evaluieren. Die Beantwortung der Frage, auf welche Weise solche Systeme einen ausreichenden und sicheren Transport über biologische Barrieren ermöglichen, ist nämlich im Falle von Tierversuchen in-vivo oder durch klinische Prüfungen am Menschen normalerweise nicht möglich.

Die orale Applikation und der kontrollierte Transport über die Darmschleimhaut gelten noch immer als der am meisten bevorzugte, aber gerade für Makromoleküle wohl auch der als am schwierigsten zu realisierende Weg für die Anwendung von Arzneimitteln. Aus diesem Grunde wird derzeit auch intensiv nach alternativen Applikationswegen

gesucht. Hierbei erscheint insbesondere der Respirationstrakt als besonders vielversprechend. Neben der Entwicklung moderner Aerosoltechniken [6] ist aber auch in diesem Bereich die Entwicklung relevanter Zellkultursysteme [7] sehr wichtig, um die Transportvorgänge pulmonal applizierter Arzneistoffe an der Blut-Luft-Schranke des Alveolarepithels zu untersuchen und zu verstehen.

Literatur

- [1] Hussain, A., Guidance for Industrie; Waiver of In-Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Containing Certain Active Moieties/Active Ingredients Based on a Biopharmaceutics Classification System, Draft Guidance. FDA; Rockville, MD, USA (1999)
- [2] Lueßen, H. L., Verhoef, J. C., de Boer, A. B. G. et al., Multifunctional Polymers for the Peroral Delivery of Peptide Drugs, in *Bioadhesive Drug Delivery Systems – Fundamentals, Novel Approaches and Developments*, E. Mathiowitz, D. E. I. Chickering, C.-M. Lehr (eds.), S. 299–340, Marcel Dekker, New York (1999)
- [3] Lehr, C. M., The Transcytosis approach. In: *Drug Absorption Enhancement*, A. G. de Boer, (ed.), S. 325–365, Harwood Academic Publishers, Chur (1994)
- [4] Haltner, E., Easson, J. H., Lehr, C. M., Lectins and bacterial invasion factors for controlling endo- and transcytosis of bioadhesive drug carrier systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **44**, 3 (1997)
- [5] Easson, J. H., Haltner, E., Lehr, C.-M. et al., Bacterial Invasion Factors and Lectins as Second-Generation Bioadhesive Drug Delivery Systems – Fundamentals, Novel Approaches and Developments, E. Mathiowitz, D. E. Chickering, C.-M. Lehr (eds.), S. 409–432, Marcel Dekker, New York (1999)
- [6] Edwards, D. A., Hanes, J., Caponetti et al., Large Porous Particles for Pulmonary Drug Delivery. *Science* **276**, 1868 (1997)
- [7] Elbert, K. J., Schäfer, U., Schäfers, H. J. et al., Monolayers of human alveolar epithelial cells in primary culture for pulmonary absorption and transport studies. *Pharm. Res.* **16**, 601 (1999)

Orale Toleranzinduktion bei Autoimmunerkrankungen

Gerhild Wildner

AG Immunbiologie, Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität, München

Die Autoimmunerkrankung ist eine entzündliche Erkrankung des inneren Auges, von der bis zu 2 % der Bevölkerung betroffen ist. Diese T-Zell-vermittelte Autoimmunerkrankung verläuft rezidivierend oder chronisch progressiv, was bei zunehmender Krankheitsdauer zu irreversibler Zerstörung der Netzhaut und somit zu einer Sehverschlechterung bis zur Erblindung führen kann. Die Uveitis kann

als isolierte Erkrankung auftreten, aber auch Begleitsymptom bei bestimmten Systemerkrankungen sein, wie etwa die Iritis (vordere Uveitis) beim Morbus Bechterew und der juvenilen rheumatoiden Arthritis, oder die Uveitis im Rahmen eines Morbus Behçet. Die konventionellen Therapien beschränken sich z. Z. auf Immunsuppression (Kortikosteroide, Cyclosporin, Zytostatika), die bei

der durch den Krankheitsverlauf bedingten langen Anwendungsdauer zu erheblichen Nebenwirkungen und Schäden führen kann. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, nach nebenwirkungsarmen immunologischen Therapieansätzen zu suchen.

Eine solche Möglichkeit bietet die „orale Toleranzinduktion“. Die orale Toleranz ist ein natürlicher immunologischer Mechanismus, der verhindern soll, daß gegen im Darm resorbierte Proteinmoleküle eine Abwehrreaktion induziert wird. Bereits wenige Minuten nach der Nahrungsaufnahme erscheinen im Blut für den Organismus fremde Nahrungsproteine, gegen die keine Immunreaktion induziert werden sollte. Lösliche Proteine, die durch die Mukosa des Gastrointestinaltrakts in den Organismus gelangen, können daher eine spezifische, systemisch wirksame immunologische Toleranz induzieren. Diese Toleranzinduktion kann therapeutisch bei Autoimmunerkrankungen genutzt werden, wenn man die entsprechenden gewebsspezifischen Autoantigene kennt. In diversen experimentellen Tiermodellen für Autoimmunerkrankungen wie EAE (experimentelle Enzephalomyelitis), Kollagen- und Adjuvans-induzierter Arthritis, Diabetes und der EAU (experimentelle Autoimmunuveitis), wurde die orale Toleranzinduktion mit Autoantigenen bereits erfolgreich getestet.

Im Tiermodell der Uveitis spielen zwei retinale Autoantigene der Photorezeptorschicht eine dominante Rolle, das S-Antigen (Arrestin) und das IRBP (Interphotorezeptor-retinoidbindendes Protein). Im Tiermodell kann die Immunisierung mit diesen Proteinen eine Uveitis induzieren, während die orale Verabreichung eine immunologische Toleranz induziert, die vor der Erkrankung schützt. Die Toleranz hat aber nur dann einen schützenden Effekt, wenn Tolerogen und Immunogen die gleichen Proteine sind. Es kann aber auch mit Peptiden von S-Ag oder IRBP orale Toleranz gegen die entsprechenden kompletten Autoantigenproteine induziert werden.

Wir konnten vor einigen Jahren antigene Mimikry zwischen einem Peptid des retinalen S-Ag und einem Peptid (B27PD) aus der Sequenz verschiedener HLA-B-Antigene (B27, B51 etc.) beschreiben [1]. Unsere Hypothese zur Pathogenese der autoimmunen Uveitis geht davon aus, daß eine aberrante Immunreaktion gegen das HLA-B-Peptid im peripheren Immunsystem induziert wird, die dann als kreuzreaktive Autoimmunantwort gegen retinales Autoantigen im Auge eine Uveitis verursacht.

Im Tiermodell entwickelt sich nach Immunisierung mit dem HLA-Peptid eine milde Uveitis. Im Gegensatz dazu schützt die orale Verabreichung des HLA-Peptids sowohl vor einer S-Ag- als auch IRBP-induzierten Uveitis, letzteres vermutlich ebenfalls bedingt durch ein noch nicht charakterisiertes kreuzreaktives Epitop. Durch orale Gabe von B27PD-Peptid werden in der Ratte γ/δ -Suppressorzellen aktiviert, die den Schutz vor Uveitis auf andere Ratten übertragen können (adoptiver Transfer) [2]. In vitro können periphere Lymphozyten von Uveitispatienten gleichermaßen auf das HLA-Peptid B27PD wie auf retinale Autoantigene und Peptide reagieren.

Aufgrund des tolerogenen Potentials des HLA-Peptids im Tiermodell und der Kreuzreaktivität beim Patienten wurde ein erster Heilversuch für Uveitispatienten zur oralen Toleranzinduktion mit dem Peptid B27PD durchgeführt [3, 4]. Die Entscheidung, das HLA-Peptid und nicht ein retinales Autoantigen als orales Tolerogen therapeutisch einzusetzen, wurde aus folgenden Gründen getroffen:

1. HLA-B-Antigene kommen auf allen Körperzellen (also auch auf Zellen im Darm) vor. Folglich ist die Notwendigkeit für eine Toleranzinduktion im Darm gegen das HLA-Peptid viel größer als eine Toleranz gegen ein spezielles Protein oder Peptid aus einem kleinen, immunprivilegierten und somit isolierten Organ wie dem Auge.
2. Da gemäß unserer Hypothese die antigene Mimikry zwischen HLA- und retinalem Peptid überwiegend in der Initialphase der uveitogenen Autoimmunreaktion eine Rolle spielt, würde mit einer Toleranz gegen B27PD die Aktivierung neuer retinaspezifischer T-Zellen verhindert werden.
3. Weder mit kompletten retinalen Autoantigenen, noch mit Peptiden konnte eine kreuzreaktive Toleranz zwischen S-Ag und IRBP beobachtet werden, d. h. eine Toleranz gegen S-Ag ist nicht protektiv für IRBP-induzierte Uveitis und umgekehrt. Das Peptid B27PD dagegen hatte im Tierversuch suppressierende Wirkung auf Reaktionen gegen beide Antigene.

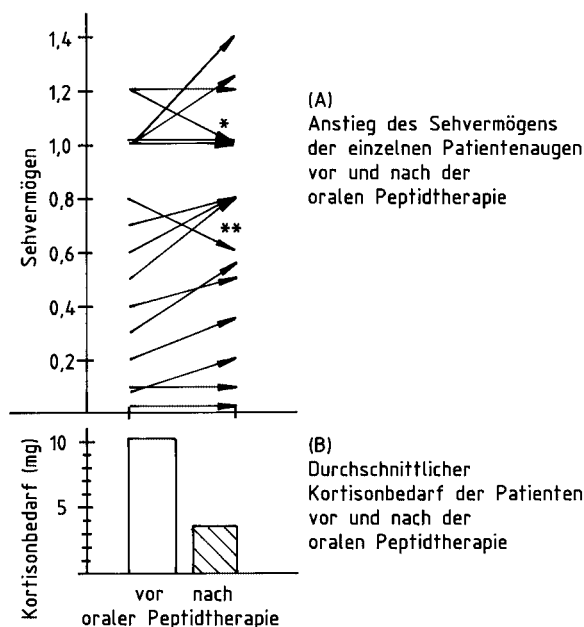


Abb. 1: Therapieversuch bei Patienten mit Autoimmunuveitis durch orale Toleranzinduktion mit dem HLA-Peptid B27PD. A) Visusentwicklung: Maximaler Visus im Jahr vor bzw. nach Beginn der oralen Peptidtherapie.

* Entwicklung eines Nachstars (Linsenübertragung nach Katarakt-Operation).

** Patient hatte kurz vor Beginn des Heilversuchs einen schweren Uveitisschub, der zu einer irreversiblen Schädigung der Netzhaut führte.

B) Durchschnittlicher täglicher Kortisonbedarf im Jahr vor bzw. nach Beginn der oralen Peptidtherapie.

4. Peptide repräsentieren meist nur ein immunologisch aktives T-Zell-Epitop. Sowohl in Tierexperimenten als auch in ersten Patientenstudien mit oraler Verabreichung von Organextrakten zeigte sich eine verminderte Toleranzinduktion durch diese Antigengemische. So schränkt sich durch die Verwendung eines Peptids zwar die Breite der Antigen-spezifität ein, dies aber u. U. zugunsten einer verbesserten Toleranzinduktion.

Acht Patienten, die seit vielen Jahren an beidseitiger Uveitis litten und auf die konventionellen immunsuppressiven Therapien entweder nicht mehr ausreichend ansprachen, oder wegen der Nebenwirkungen nicht mehr fortsetzen konnten, erhielten das HLA-Peptid, in Kapseln mit einer Einzeldosis von 4 mg verpackt, 3 × wöchentlich über einen Zeitraum von 12 Wochen. Wegen der noch unbekanntem Wirkung von Immunsuppressiva auf die orale Toleranzinduktion waren während der Peptid-Einnahme maximal 20 mg Kortikosteroide pro Tag erlaubt. Die Patienten wurden während der Peptidtherapie und einer Nachbeobachtungszeit von 9 Monaten in definierten Zeitabständen ophthalmologisch und internistisch untersucht. Es zeigte sich, daß während bzw. nach der oralen Toleranzinduktion alle Patienten bei gleichzeitigem Rückgang der intraokularen Entzündung ihren Kortisonbedarf reduzieren oder sogar absetzen konnten (Abb. 1). Das Sehvermögen blieb dabei entweder stabil oder zeigte Verbesserung. Bei einigen Patienten konnte sogar ein nachhaltiger positiver Effekt über mehrere Monate nach der Peptidtherapie beobachtet werden. Nebenwirkungen wurden nicht festgestellt.

Diese hoffnungsvollen Ergebnisse des ersten Therapieversuchs durch orale Toleranzinduktion mit

einem HLA-Peptid bei Autoimmunerkrankungen sollen in weiteren Studien bestätigt werden. In keiner der bisher durchgeführten Patientenstudien zur oralen Toleranzinduktion bei Autoimmunerkrankungen konnten Nebenwirkungen oder Verschlechterungen festgestellt werden, es sind allerdings noch Optimierungen des Therapieeffekts notwendig.

Literatur

- [1] Wildner, G., Thurau, S. R., Crossreactivity between an HLA-B27 derived peptide and a retinal autoantigen peptide: A clue to MHC-association with autoimmune disease. *Eur. J. Immunol.* **24**, 2579 (1994)
- [2] Wildner, G., Hünig, T., Thurau, S. R., Orally induced, peptide specific γ/δ TCR⁺ cells suppress experimental autoimmune uveitis. *Eur. J. Immunol.* **26**, 2140 (1996)
- [3] Thurau, S. R., Diedrichs-Möhling, M., Fricke, H. et al., Molecular mimicry as a therapeutic approach for an autoimmune disease: oral treatment of uveitis patients with an MHC-peptide crossreactive with autoantigen – first results. *Immunol. Lett.* **57**, 193 (1997)
- [4] Thurau, S. R., Diedrichs-Möhling, M., Fricke, H. et al., Oral tolerance with an HLA-peptide mimicking retinal autoantigen as a treatment of autoimmune uveitis. *Immunol. Lett.* **68**, 205 (1999)

Übersichtsartikel

Weiner, H. L., Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol. Today* **19**, 335 (1997)

Wildner, G., Thurau, S. R., Oral Tolerance in Uveitis. Uveitis Update, *Developments in Ophthalmology*, Vol. 31, pp. 67–76, D. BenEzra (ed.), Karger, Basel

Interferon- β -Behandlung der Multiplen Sklerose

Frank Dahlke

Schering AG, Berlin

Interferon- β ist die erste Substanz für die gezeigt werden konnte, daß sie den klinischen Verlauf der Multiplen Sklerose (MS) positiv beeinflusst. Das Wirkprinzip von Interferon- β in der MS ist nicht geklärt, jedoch deuten die Gesamtheit der Befunde darauf hin, daß es durch Modulation des Immunsystems (u. a. Inhibition der Proliferation von T-Lymphozyten sowie der Antigen-Präsentation, Modulation der Zytokinexpression hin zu einem entzündungshemmenden Profil, Hemmung der Migration der Leukozyten in das ZNS) im Netto-

effekt zu einer Herunterregulation von für die MS relevanten pathophysiologischen Mechanismen kommt [1].

Zwei Präparate mit rekombinantem Interferon β -1a (produziert in CHO-Zellen) sowie ein Präparat mit rekombinantem Interferon β -1b (produziert in *E. coli*) sind mittlerweile zur Behandlung der schubförmig-remittierenden MS (RR-MS) zugelassen. Die Reduktion der Schubrate um ca. 30 %, ein geringeres Auftreten der mit Schüben nicht selten einhergehenden dauerhaften neurologischen Stö-

rungen sowie ausgeprägte positive Effekte auf kernspintomographische Parameter (geringere kontrastmittelanreichernde Läsionen – Entzündungszeichen des ZNS –, sowie Reduktion der Läsionen in T2-gewichteten Aufnahmen – Zeichen einer oft dauerhaften Läsion) sind die wesentlichen Maße der klinischen und paraklinischen Wirksamkeit [2, 3, 4]. Für Interferon β -1b konnte darüber hinaus gezeigt werden, daß auch die unabhängig von Schüben fortschreitende neurologische Verschlechterung bei der sekundär progressiven Form der Erkrankung durch die Therapie signifikant verlangsamt wird [5].

Die verschiedenen Präparate werden unterschiedlich dosiert (Wochendosen zwischen 6 MIU und 36 MIU) und entweder intramuskulär oder subkutan appliziert. Welches ist das optimale Behandlungsschema? Der direkte Vergleich der Wirksamkeit der unterschiedlichen Interferon- β und der jeweiligen Behandlungsregime im Rahmen klinischer Studien steht aus. Die Ergebnisse der jeweiligen Placebo-kontrollierten Studien in RR-MS deuten jedoch auf eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für klinische und kernspintomographische Variablen hin [6]. Mangels ausreichend sensitiver und reliabler Assays sind pharmakokinetische Studien zur Klärung dieser Frage wenig hilfreich. Eine andere Möglichkeit, sich dieser Frage experimentell zu nähern, ist die Untersuchung der Effekte von unterschiedlichen Dosierungs- und Applikationsformen von Interferon- β auf sogenannte 'biologische Response Marker' (BRM) im Rahmen von Phase I Studien. Typische BRM sind Neopterin, 2'-5' Oligoadenylat-Synthetase, Beta-2 Mikroglobulin und MxA-Protein, Proteine oder Metaboliten, die durch Interferon- β induziert werden und etwa für die antiviralen Eigenschaften der Interferone eine Bedeutung haben, deren Stellenwert bei der Behandlung der MS jedoch nicht etabliert ist. Dennoch erlauben sie die Stärke und den zeitlichen Verlauf einer biologischen Antwort reliabel zu erfassen und können somit zur Antwort auf die Frage eines optimalen Therapieschemas beitragen. So konnte gezeigt werden, daß die Applikation von Interferon beta-1b jeden zweiten Tag zu signifikant stärkeren und andauernden biologischen Antworten führte im Vergleich zu einer Applikation von Interferon beta-1a einmal pro Woche [7]. Auch die Frage der eventuellen Vorteile einer intramuskulären versus einer subkutanen Applikation wurden

in ähnlicher Weise adressiert und es konnte kein Unterschied der biologischen Antwort zwischen den Applikationsformen nachgewiesen werden [8].

Zusammenfassung

Die Wirksamkeit der Therapie mit Interferon- β bei der MS ist mittlerweile durch mehrere unabhängige klinische Studien belegt und kann als etabliert angesehen werden. Die pleiotropen Effekte von Interferon- β auf das Immunsystem haben es bisher erschwert, den relevantesten Wirkmechanismus zu identifizieren. Vergleiche der Ergebnisse aus klinischen Studien sowie der Wirkung von Interferon- β auf sogenannte biologische Response Marker legen nahe, daß regelmäßige und höhere Dosierungen wirksamer sind, jedoch die Art der parenteralen Applikation wahrscheinlich eine geringe Rolle spielt.

Literatur

- [1] Yong, V. W., Chabot, S., Stuve, O. et al., Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis: Mechanism of action. *Neurology* **51**, 682 (1998)
- [2] The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing/remitting MS. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* **43**, 655 (1993)
- [3] PRISMS Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* **352**, 1498 (1998)
- [4] Jacobs, L. D., Cookfair, D. L., Rudick, R. A. et al., Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* **39**, 285 (1996)
- [5] The European Study Group on Interferon beta-1b in Secondary Progressive MS. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. *Lancet* **352**, 1491 (1998)
- [6] OWIMS Study. Evidence of interferon beta-1a dose response in relapsing-remitting MS. *Neurology* **53**, 679 (1999)
- [7] Williams, G. J., Witt, P. L., Comparative study of the pharmacodynamic and pharmacologic effects of Betaseron[®] and AVONEX[™]. *J. Interferon Cytokine Res.* **18**, 967 (1998)
- [8] Stürzebecher, S., Maibauer, R., Heuner, A. et al., Pharmacodynamic Comparison of Single Doses of IFN-beta 1a and IFN beta-1b in Healthy Volunteers. *J. Interferon Cytokine Res.* **19**, 1257 (1999)

Stand der Gentherapie bei Rheumatoid Arthritis

Thomas Pap, Renate E. Gay und Steffen Gay

Zentrum für Experimentelle Rheumatologie und WHO Collaborating Center for Molecular Biology and Novel Therapeutic Strategies for Rheumatic Diseases, Rheumaklinik und Institut für Physikalische Medizin, Universitätsspital Zürich, Zürich (Schweiz)

Gentherapeutische Ansätze gewinnen auch für erworbene, nicht maligne Erkrankungen wie die Rheumatoid Arthritis (RA) zunehmend an Bedeutung. Die Erwartungen bestehen darin, Nachteile konventioneller Pharmakotherapie zu überwinden und zu einer spezifischeren Beeinflussung relevanter Pathomechanismen zu gelangen. Für die RA ist in diesem Zusammenhang die Verhinderung der progressiven Gelenkerstörung wichtigstes Ziel. Obwohl die Pathogenese der Erkrankung weiterhin ungeklärt ist, belegen eine Reihe von Untersuchungen, daß stabil aktivierte synoviale Fibroblasten eine Schlüsselrolle bei der rheumatischen Gelenkerstörung spielen [1]. Von diesem Verständnis ausgehend wurden auf dem „First workshop of the European Study Group of Gene Therapy in Osteoarticular Diseases“ Ziele für den Gentransfer bei RA ausgearbeitet [2]. Diese beinhalten 1. die Modulation der vom Entzündungsgeschehen entkoppelten Aktivierung synovialer Fibroblasten, 2. die Beeinflussung ihrer infolge gestörter Apoptose verlängerten Lebensdauer, 3. die Unterbrechung ihrer Anheftung an den Gelenkknorpel, 4. die Verhinderung ihrer externen Stimulierung durch pro-inflammatorische Zytokine und 5. die Inhibition matrixzerstörender Enzyme. Für die Untersuchung gentherapeutischer Effekte auf die Invasivität von synovialen Fibroblasten hat sich dabei das SCID-Mausmodell der RA bewährt. In diesem Modell werden parentale bzw. gentechnisch veränderte synoviale Fibroblasten gemeinsam mit normalem menschlichen Gelenkknorpel unter die Nierenkapsel von immundefizienten (SCID) Mäusen implantiert. Da diese Tiere die Implantate nicht abstoßen, kann das aggressiv-invasive Verhalten der Fibroblasten in bezug auf den mitimplantierten Knorpel untersucht werden [3]. Unter Verwendung des SCID-Mausmodells werden in unserem Labor gegenwärtig vor allem Möglichkeiten untersucht, zellinterne Signalkaskaden, die zur Aktivierung und gestörten Apoptose synovialer Fibroblasten beitragen, günstig zu beeinflussen. Außerdem steht der Transfer von antisense-Konstrukten und Ribozymen, welche die Produktion matrixzerstörender Enzyme wie Matrixmetalloproteinasen (MMPs) spezifisch unterbrechen, im Vordergrund. Zusätz-

liche Angriffspunkte ergeben sich auch aus der möglichen Inhibition von Enzymen, die MMPs spezifisch aktivieren. Bisherige Untersuchungen belegen dabei einerseits die Komplexität der Mechanismen, die zur Knorpelzerstörung bei RA führen, liefern aber auch vielversprechende erste Ergebnisse. So konnte gezeigt werden, daß eine Unterbrechung des Ras-Raf-MAPK-Signalweges zu einer Verminderung der Knorpelzerstörung durch MMPs führt. Im Gegensatz dazu bewirkt die Inhibition des Tumorsuppressors p53 nicht nur eine Verstärkung der Knorpelzerstörung durch RA-Fibroblasten, sondern auch die stabile Aktivierung normaler synovialer Fibroblasten in Richtung eines aggressiven Verhaltens. Diese Ergebnisse unterstreichen die Relevanz von Befunden, die dominant negative Mutationen im p53-Gen bei einem Teil der RA-Patienten nachgewiesen haben [4]. Interessante Resultate sind auch von der ersten klinischen Studie eines Gentransfers bei RA zu erwarten, die in den USA durchgeführt und derzeit unter Beteiligung unseres Labors ausgewertet wird [5]. Sowohl im Interesse der Patienten als auch der Methode sollten jedoch vor zu eiligen Erwartungen auf kurative Erfolge gewarnt werden.

Literatur

- [1] Pap, T., Franz, J. K., Gay, R. E. et al., Has research on lymphocytes hindered progress in rheumatoid arthritis? Challenges in rheumatoid arthritis. H. Bird, M. Snaith (eds.), pp. 61–77, Blackwell Science, Oxford (1999)
- [2] Jorgensen, C., Gay, S., Gene therapy in osteoarticular diseases: where are we? *Immunol. Today* **19**, 387 (1998)
- [3] Müller-Ladner, U., Krigsmann, J., Franklin, B. N. et al., Synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis attach to and invade normal human cartilage when engrafted into SCID mice. *Am. J. Pathol.* **149**, 1607 (1996)
- [4] Han, Z., Boyle, D. L., Shi, Y. et al., Dominant-negative p53 mutations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* **42**, 1088 (1999)
- [5] Evans, C. H., Robbins, P. D., Ghivizzani, S. C., Clinical trial to assess the safety, feasibility, and efficacy of transferring a potentially anti-arthritis cytokine gene to human joints with rheumatoid arthritis. *Hum. Gene Ther.* **7**, 1261 (1996)

Klinische Pharmakogenetik: Polymorphismus der Thiopurinmethyltransferase und Therapie mit Azathioprin

Andreas Eigler, Marc Dauer und Johannes Schulze

Abteilung für Klinische Pharmakologie, Medizinische Klinik Innenstadt, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Die Metabolisierung des Immunsuppressivums Azathioprin bzw. 6-Mercaptopurin unterliegt einem genetischen Polymorphismus. Nach Absorption im Organismus wird Azathioprin durch nicht-enzymatische Spaltung in 6-Mercaptopurin umgewandelt. Das Enzym Thiopurinmethyltransferase (TPMT) methyliert 6-Mercaptopurin, den Hauptmetabolit des Azathioprin zum inaktiven 6-Methylmercaptapurin. Die Höhe der TPMT-Aktivität ist negativ korreliert mit der Konzentration der wirksamen Metabolite des Azathioprin; d. h. bei Patienten mit niedriger TPMT-Aktivität kommt es zu einer Akkumulation wirksamer und toxischer Metabolite (6-Thioguanin-Nukleotide). Die Enzymaktivität unterliegt einem genetischen Polymorphismus mit trimodaler Verteilung. Die Testung der TPMT-Aktivität gesunder Probanden ergab, daß 89 % Probanden eine hohe TPMT-Aktivität aufweisen und 11 % eine mittlere Aktivität. Jedes dreihundertste Individuum ist genetisch homozygot für ein Defektallel des Enzyms. Dies führt phänotypisch zu stark erniedrigter Enzymaktivität und hierdurch zu einem hohen Risiko unter normaler Dosierung von Azathioprin eine schwere Leukopenie zu entwickeln. In Einzelfallberichten wurde wiederholt von Patienten berichtet, die unter Standarddosierung mit Azathioprin bei retrospektiv nachgewiesener fehlender TPMT-Aktivität in der Neutropenie an Infektionen verstarben. Bisher sind 9 Polymorphismen bekannt die zu einer erniedrigten TPMT-Aktivität führen. Weitere Poly-

morphismen werden vermutet, so daß zur Zeit die meisten Autoren die Messung der Enzymaktivitäten empfehlen.

Die Bestimmung der TPMT-Aktivität aus Erythrozytenlysate mit einem radiochemischen Assay (erstmalig von Weinshilboum und Mitarbeitern 1978 beschrieben) wurde in unserem Labor etabliert. Anschließend wurde der Assay modifiziert, um die Durchführung der Bestimmung zu vereinfachen. Das radioaktive Produkt der TPMT-Reaktion wird durch Dünnschichtchromatographie isoliert und durch Computerdensitometrie quantifiziert. Zunächst wurde die pharmakogenetisch bedingte trimodale Enzymaktivitätsverteilung an zufällig ausgewählten Rückstellproben von Patienten (n = 306 Patienten) unserer Klinik untersucht und bestätigt (s. Abb. 1).

Es wurde die in der Literatur beschriebene Hemmung der rekombinanten TPMT durch das Diuretikum Furosemid und 5-Aminosalicylsäure-Derivaten in unserem Assay mit erythrozytärer TPMT untersucht. Von den untersuchten Substanzen Furosemid, Etacrynsäure, Mesalazin, Sulfasalazin und Olsalazin konnte nur für Olsalazin in therapeutischen Konzentrationen eine relevante Hemmung der TPMT gezeigt werden. Somit sollte zumindest bei Patienten mit erniedrigter TPMT-Aktivität die Azathioprintherapie langsam gesteigert werden und häufigere Blutbildkontrollen erfolgen. Derzeit wird für alle Patienten der Klinik, die mit Azathioprin behandelt werden oder werden sollen, die Bestimmung der TPMT-Aktivität angeboten. Bisher wurden die TPMT-Aktivität von 61 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung und von 25 Patienten mit anderen Erkrankungen (u. a. Autoimmun-Hepatitis, Polymyositis, Herztransplantation, Myasthenia gravis und Polymyositis) untersucht. Patienten mit einer fehlenden TPMT-Aktivität wurden nicht ermittelt. Bei den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der TPMT-Aktivität und der Höhe der Azathioprinindosierung. Die Langzeitbeobachtung des klinischen Verlaufs wird zeigen ob sowohl Über- wie Unterdosierungen durch Bestimmung der TPMT-Aktivität – auch bei Patienten mit niedriger und hoher TPMT-Aktivität – vermieden werden können.

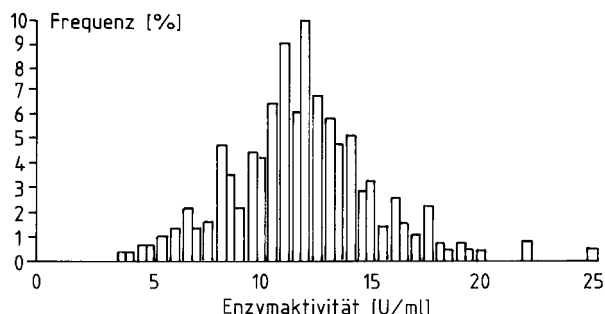


Abb. 1: Verteilung der TPMT-Aktivität bei n = 306 zufällig ausgewählten internistischen Patienten.

New Concepts for Chronic Rejection after Solid Organ Transplantation

Fokko J. van der Woude

Vth Medical Clinic, Klinikum Mannheim, Heidelberg University (Germany)

Introduction

Prolonging the survival of kidneys transplanted from cadaveric donors is a major task of modern nephrology. Factors of immune origin and of non-immune origin are thought to be of importance in the process of long-term functional deterioration. Nevertheless, the original immunological insult to the graft remains an important determinant for late graft loss.

Increasing the amount of immunosuppression without severe side effects or achieving a state of donor-specific immune tolerance have as yet not been within reach in the clinical situation. Since during the rejection process proximal tubular epithelial and endothelial cells within the kidney play an active role in the induction and maintenance of the immune response we tried to design pharmacological strategies for making the renal cadaveric allograft less immunogenic.

I will now briefly discuss our recent results of the pharmacological attempts to modify the graft, not the recipient, to prevent chronic rejection.

In vitro experiments

Heparin is a glycosaminoglycan (GAG) with a molecular weight of 12 000 to 20 000 Dalton. Like heparan sulfate it consists of partly sulfated N-glucosamine alpha-1,4 linked to glucuronic or iduronic acid. The degree of N-sulfation is 50 % in HS and over 70 % in heparin. Due to the sulfate- and carboxylic groups of the glucuronic or iduronic acid both compounds are highly negatively charged. Besides its anticoagulant properties, heparin has a wide range of effects on the immune system. These effects are related to the inhibition of inflammation, the inhibition of complement and the inhibition of lymphocyte migration by heparin. More recently, it became evident that cellbound GAG may play a role in the regulation of the biological activity of various cytokines and growth factors. GAG may bind these factors and present them to specific affinity receptors or alternatively this binding may protect these factors from proteolytic breakdown. Since proximal tubular epithelial cells are prime targets in acute renal allograft rejection, we investigated if there is a difference in the ability of heparin to influence MHC and ICAM-1 expression on PTEC as compared to endothelial cells (EC). Heparin was able to inhibit the up-regulation of MHC and ICAM-1 in a dose dependent fashion on both interferon gamma stimulated EC and PTEC. Heparin and supersulfated GAGs were able to bind to interferon-gamma, whereas N-desulfated-N-acetylated GAG with a low amount of

sulfate were not. Inhibition of cellbound heparan-sulfate proteoglycan sulfation with NaClO₃, resulted in an impaired MHC and ICAM-1 expression after interferon-gamma stimulation. We postulate that interferon-gamma binds to cellbound HSPG in a sulfation dependent fashion. This binding may facilitate the interaction of interferon-gamma with its receptor. Supersulfated GAG with low anti-coagulant activity could be used therapeutically to decrease MHC and ICAM-1 expression in organ grafts.

In vivo experiments in experimental animals

We examined the influence of the selective endothelin (ET)-A receptor antagonist LU135252 on the course of chronic rejection in the well-established Fisher into Lewis rat model. Treatment with the ET-A receptor antagonist dramatically improved allograft survival as well as creatinine clearance in the range of isografts without influencing systemic blood pressure and proteinuria. Selective ET-A receptor blockade was associated with less morphological changes and a significant reduction of expression of cell surface markers for macrophages, T-cells and MHC class II. Our data demonstrate an important role of the ET system in the pathomechanisms underlying chronic renal allograft rejection and are likely to have implications for the future treatment of patients undergoing cadaveric renal transplantation.

Analysis of clinical results

Epidemiological data implicate that renal transplants from living unrelated donors result in superior survival rates as compared to cadaveric grafts despite a higher degree of HLA-mismatching. Severe acute rejection has been reported to be indicative for a poor prognosis in long-term follow-up. We undertook a centre-based case control study to identify donor-specific determinants affecting early outcome in cadaveric renal transplantation.

The study data base consisted of 145 consecutive renal cadaveric transplants performed at our centre between June 1989 and March 1998. Of these, 21 patients received a re-transplant. Donor kidneys were allocated on the basis of prospective HLA matching according to the Eurotransplant rules of organ sharing. Immunosuppressive therapy consisted of a cyclosporine based triple drug regimen. In 62 recipients at least one acute rejection episode occurred during the first month after transplantation. They were taken as cases and the remaining

83 patients were the controls. Stepwise logistic regression was done on donor specific explanatory variables obtained from standardised Eurotransplant Necrokidney reports. In a secondary evaluation, the impact on graft survival in long-term follow-up was further measured applying a Cox regression model.

Donor age (OR 1.06, 95 % CI 1.02–1.07), traumatic brain injury as cause of death (OR 3.02, 95 % CI 1.23–7.38) and mismatch on HLA-DR (OR 3.67, 95 % CI 1.70–7.89) were associated with an increased risk of acute rejection, whereas donor use of dopamine (OR 0.20, 95 % CI 0.05–0.51) and/or noradrenaline (OR 0.34, 95 % CI 0.13–1.92) independently resulted in a significant beneficial effect. In the multivariate Cox regression analysis, both donor treatment with dopamine (HR 0.43, 95 % CI 0.22–0.84) and noradrenaline (HR = 0.26, 95 % CI 0.08–0.79) remained to be a significant predictor of superior graft survival in long-term follow-up.

Our data strongly suggest that the use of dopamine and noradrenaline in post-mortal organ donors during intensive care results in immunomodulating effects and improves graft survival in long-term follow-up.

Literature

[1] Yard, B. A., Lorentz, C. P., Herr, D. et al., Sulfation-dependent down-regulation of interferon-gamma-induced major histocompatibility complex class I and II and intercellular adhesion molecule-1 expression on tubular and endothelial cells by glycosaminoglycans. *Transplantation* **66**, 1244 (1998)

[2] Braun, C., Conzelmann, T., Vetter, S. et al., Prevention of chronic allograft rejection in rats with an oral endothelin a receptor antagonist. *Transplantation* **68**, 739 (1999)

[3] Schnuelle, P., Lorenz, D., Mueller, A. et al., Donor catecholamine use reduces acute allograft rejection and improves graft survival after cadaveric renal transplantation. *Kidney Int.* **56**, 738 (1999)

Acknowledgements

The work from Mannheim discussed in this review has been performed in close co-operation with Dr. B. A. Yard, Dr. P. Rohmeiss and Dr. P. Schnuelle. The studies were supported in part by grants from the „Deutsche Forschungsgemeinschaft“, grant numbers WO 686/1-1 and WO 686/1-2, and by a grant from the Knoll Corporation, Ludwigshafen (Germany).

FTY720, a Novel Class Immunosuppressant that Modulates Lymphocyte Recirculation

Volker Brinkmann

Novartis Pharma AG, Basel (Switzerland)

The novel immuno-modulator FTY720 is a synthetic structural analog of myriocin, a metabolite of the ascomycete *Isaria sinclairii*. FTY720 prolongs with remarkable potency the survival of allografted rat skin, heart, liver and small bowel. In combination with subtherapeutic doses of CsA, FTY720 supports long-term survival of allografted dog kidney and monkey kidney. Moreover, FTY720 prevents the development of pathology in experimental models of GvHD, autoimmune type 1 diabetes, and rheumatoid arthritis.

It is now evident that FTY720 displays a completely novel mechanism of action that has not been observed with any other immunosuppressive agent. In striking contrast to CsA, FK506, and rapamycin, FTY720 does not directly suppress T or B cell activation, proliferation, cytokine production, and antibody production irrespective of the mode of cellular activation in vivo und in vitro,

FTY720 reduces the number of T and B cells in the blood and increases lymphocyte numbers in the lymph nodes (LN) and the Peyer's patches (PP). This results in a reduced recirculation of lymphocytes to peripheral tissues, including a complete suppression of lymphocyte infiltration into grafted solid organs. Based on its mechanism, FTY720 suppresses the recirculation of virus-specific effector T cells and their recruitment to peripheral lesions, but does not suppress activation of virus-specific T cells in the LN and the humoral immune response to the virus. It is tempting to speculate that treatment with FTY720 may not impair the defense against virus-related lymphomas, and this could be a striking advantage compared to conventional immunosuppressive therapies.

The lack of effects of FTY720 in LN/PP-deficient *aly/aly* mice suggested that the agent induces migration of blood lymphocytes to the LN rather

than eliminating these cells by apoptosis. Indeed, if lymphocytes labeled with a fluorescent vital dye are transferred to normal mice and depleted from the blood by a 7 day treatment with FTY720, the same labelled cells reappear in the blood after withdrawal of the drug. Accordingly, FTY720 does not eliminate a resting memory T cell pool, since mice treated between a primary LCMV infection and a viral challenge for 10 days with high doses of FTY720 mount normal specific memory immune responses.

Recent data suggest that FTY720 acts through Pertussis toxin (PT)-sensitive mechanism(s), possibly G protein-coupled receptors (which are blocked by PT). FTY720 targets the lymphocyte, and accordingly lymphocytes pretreated with PT *ex vivo* and transferred into rats are resistant to depletion by FTY720 *in vivo*. Moreover, lymphocytes pretreated with FTY720 *ex vivo* immediately leave the peripheral blood after transfer *in vivo*. It is now believed that FTY720 modulates G protein-coupled chemokine receptors on lymphocytes, and that an increased response of these lymphocytes to chemokines may cause the accelerated homing to the secondary lymphoid tissues. The activity of FTY720 is unrelated to a non-specific lipophilic effect of the molecule, since only one enantiomer of two chiral analogs of FTY720 displays activity, despite that both molecules have the same physico-chemical properties. Moreover, FTY720 does not 'trap' lymphocytes in the LN by increasing their adhesion to high endothelial venules (HEV).

The new mode of action of FTY720 and the complete absence of renal, pancreatic, and bone marrow toxicities makes this drug an ideal candidate to be combined with T cell cytokine inhibitors like CsA. In rats, dogs, and monkeys, the oral activity of FTY720 is excellent. Moreover, pharmacokinetics data and compound dose-linearity are promising. None of the identified metabolites is immunosuppressive, only the parent drug is active. No pharmacokinetic interaction with CsA was found. Therefore blood levels needed for therapeutic use in man will range between 0.5 to 20 ng/ml, corresponding to 1 to 25 mg/patient/day.

In preclinical studies, even very low doses of FTY720 resulted in the pharmacologic response of

lymphopenia in all animal models tested. Utilizing both toxicokinetic and allometric scaling data collected in preclinical studies, an appropriate dose range of FTY720 to be used in the humans was determined. The first in human trial explored a single oral FTY720 dose over a range of 0.25 mg to 3.5 mg in twenty stable renal transplant patients and was completed in the fall of 1998. Since then a metabolic study conducted in four normal volunteers has also been completed and a multiple dose study of FTY720 in stable renal transplant patients has been initiated.

From this combined human experience, several preliminary observations regarding the safety, tolerability and clinical pharmacology of FTY720 can be made. As of the time of this writing, there have been no serious adverse events in humans treated with FTY720 and no significant issues of tolerability have arose. In both stable renal transplant patients and normal volunteers, the single dose administration of FTY720, even at low doses (0.5 to 1.0 mg), results in a transient lymphopenia. The onset of this pharmacologic response occurs at approximately 6 h post dose and the intensity and duration of relative lymphopenia appears to be dose dependent. All lymphocyte subsets measured, including T, B, T-helper, T-suppressor, NK cells, appear to be equally effected by FTY720. While the apparent clearance of FTY720 is relatively rapid, the apparent volume of distribution of this drug is quite high, resulting in a long half-life. As in animal studies, the single dose pharmacokinetics of FTY720 in humans appears to be dose linear.

While it is known from preclinical studies that FTY720 is extensively metabolised by the liver, the human metabolism of this compound is being intensively studied at the present time using both *in vitro* and *in vivo* methodologies. As mentioned above, the safety, tolerability and pharmacology of FTY720 is currently being studied in a multiple dose trial in humans. The results from both of these avenues of study will allow the design and implementation of future trials measuring the efficacy of FTY720 in various immunosuppressive regimens for the prevention of rejection in renal transplantation.

Potential of Leukocyte Adhesion Antagonists as Immunosuppressives

Peter Müller and Robert Rothlein

Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc., Ridgefield, Connecticut (USA)

Approximately 20 years of research involving several converging experimental approaches implicate the importance of leukocyte adhesion in the inflammatory process and the immunosuppressive potential of inhibiting this adhesion. Briefly, this research revealed that leukocyte/leukocyte and leukocyte/target cell adhesion are necessary events for the host defense system to function normally during an immune response. Specifically, leukocytes must first attach to the endothelium prior to migrating from the circulation to sites of inflammation. Furthermore, lymphocytes must adhere to antigen presenting cells in order for specific immunological processes such as antibody production or the generation and elaboration of antigen specific T cells to occur and finally leukocytes must first attach to target cells in order to perform their effector functions such as lysis of these target cells. The first line of evidence used to identify leukocyte adhesion molecules and to elucidate their role in inflammation came from the use of adhesion antagonists in *in vitro* experimental models. By far, the most widely used adhesion antagonists were monoclonal antibodies (MAbs) directed against the leukocyte adhesion molecules belonging to the selectins (L-selectin) and integrin gene family (CD11a/CD18. . . LFA-1, CD11b/CD18. . . Mac-1, CD49d/CD29. . . VLA-4) or their cell associated binding ligands (sLex proteins; ICAMs and VCAM-1, respectively).

In vitro, MAbs directed against selectins and VLA-4 blocked leukocyte rolling under flow conditions which is a prerequisite for leukocytes to traffic from the vascular to inflammatory lesions. Furthermore, antibodies to LFA-1 and Mac-1 blocked leukocyte attachment to endothelium, the next step in the leukocyte trafficking process. Antibodies to LFA-1 have also been shown to inhibit *in vitro* models of general and/or specific immunological responsiveness such as antibody formation, mitogen- and antigen-induced T cell proliferation, mixed lymphocyte responses and lymphocyte mediated cytotoxicity such as NK activity and cytotoxic T cell activity.

A second and perhaps more compelling line of evidence suggesting an important role of leukocyte adhesion and of the CD18 family adhesion of molecules in the inflammatory response came from the identification of a group of individuals, who due to genetic defects were unable to express the normal

number of leukocyte adhesion molecules on their cell surfaces. These leukocyte adhesion deficiency (LAD) patients were immunosuppressed as evidenced by frequent skin infections with little leukocyte infiltrate and the inability to form pus. Severely deficient patients also had depressed T cell responses, presumably because of the inability of their T cells to attach to the antigen-presenting cell resulting in a defective antigen-presenting capacity. *In vitro*, lymphocytes from LAD patients behaved as normal lymphocytes did in the presence of anti-LFA-1 MAb. Both demonstrated defective proliferative and effector responses in assays requiring cell/cell interactions. Not only did these patients teach us that the LFA-1 family of adhesion molecules were involved in leukocyte adhesion and immunological function, but also and equally important, that if one could identify a specific antagonist of the LFA-1 family of adhesion molecules, one could attenuate an inflammatory response without having other unwanted side effects. This became apparent since the LAD patient presented clinically with only an inability to mount an inflammatory response. LAD patients had no other apparent defects (e.g. developmental defects, predisposition to malignancy, etc.). This experiment of nature has now been reproduced in knockout mice that exhibit a similar phenotype as LAD patients.

The immunosuppressive activity of adhesion antagonists were confirmed multiple times in *in vivo* models of inflammation. Antibodies to LFA-1, ICAM-1, CD18 or VLA-4 have blocked multiple models of autoimmunity and acute inflammation including collagen-induced arthritis, transplant rejection, inflammatory bowel disease, thermal injury and ischemia reperfusion injury. Antibodies to LFA-1 or ICAM-1 have been reported to have been effective in clinical trials for bone marrow transplant, kidney transplant, rheumatoid arthritis, psoriasis and thermal injury while antisense to ICAM-1 has been reported to be effective in a clinical trial involving patients with Crohns disease.

Because of the above, many pharmaceutical companies are developing protein based antagonists of cell adhesion as potential immunosuppressives. To date, several companies including Boehringer Ingelheim, have programs to identify small molecule inhibitors of leukocyte adhesion molecules to develop a new class of potent immunosuppressives.

Anti-ICAM-1-Antisense-Therapie bei Nierentransplantation

Hermann Haller

Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Nephrologie, Hannover

Der Gewebeschaden nach Ischämie und anschließender Reperfusion spielt eine große Rolle auf verschiedenen Gebieten der Inneren Medizin. In der Organtransplantation ist der Ischämie-Reperfusionsschaden eine wichtige Ursache für akute Organschädigung unmittelbar im Anschluß an die Transplantation und scheint für das akute Nierenversagen nach Transplantation einer Niere von großer Bedeutung zu sein. Der Ischämie-Reperfusionsschaden setzt sich aus unterschiedlichen molekularen Mechanismen zusammen. Die Ischämie führt zu einer lokalen Aktivierung des Endothels mit Zunahme der Permeabilität und Ausbildung von endothelialen Adhäsionsmolekülen. Die anschließende Reperfusion führt zu einer Einströmung von aktivierten Leukozyten mit einer gesteigerten Adhäsion an das Endothel. Die adhären- den Leukozyten verstopfen die Kapillaren, setzen freie Radikale und proteolytische Enzyme frei. Sie sezernieren außerdem verschiedene Zytokine. In der Niere werden die Vasa recta blockiert und die kapilläre Perfusion nimmt ab. Die Interaktion der Leukozyten mit dem Endothel wird über Adhäsionsmoleküle vermittelt. Auf der Seite der Leukozyten ist es der beta-2-Integrinkomplex, welcher mit dem endothelialen Liganden ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1) interagiert. Diese Bindung wird eingeleitet durch die Interaktion von Selektinen mit PSGL-1 (P-Selectin Glykoprotein Ligand-1). Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, daß die Expression von ICAM-1 während Ischämie und Reperfusion in Gehirn, der Leber und dem Myocard gesteigert ist. Wir konnten in ischämischen Nieren unter verschiedenen Bedingungen ebenfalls nachweisen, daß ICAM-1 bei Ischämie und Reperfusion hochreguliert wird.

Ein möglicher therapeutischer Ansatz ist der Einsatz von Antisense-Oligonucleotiden gegen endotheliale Adhäsionsmoleküle. Antisense-Oligonucleotide binden an einsträngige Messenger RNA und verhindern damit deren Ablesung und Übersetzung in Proteinexpression. Die exponierte Lage von Endothelzellen sowie eine möglicherweise gesteigerte Aufnahmefähigkeit während Ischämie und Reperfusion und machen das Endothel zu einem interessanten Zielorgan für den Einsatz von Antisense-Oligonucleotiden. Wir verwendeten deshalb Antisense-Oligonucleotide gegen das endotheliale Adhäsionsmolekül ICAM-1, um die Rolle von ICAM-1 bei der Ischämie-Reperfusion zu untersuchen und die Hypothese zu testen, daß eine therapeutische Intervention mit Antisense-Oligonucleotiden gegen dieses Adhäsionsmolekül den Ischämie-Reperfusionsschaden beeinflussen kann. In ersten Untersuchungen konnten wir in vitro

nachweisen, daß die Antisense-Oligonucleotide eine spezifische Wirkung gegen ICAM-1 ausüben und zu einer Verminderung der ICAM-1-Expression um 60 bis 70 % führen. In einer ersten Studie wurde von ICAM-1 an einem Ischämie-Modell der Ratte getestet. Die Nierenarterie der Ratte wurde für 30 Minuten geklippt und anschließend wieder eröffnet. 6 Stunden zuvor waren die Ratten mit Antisense-Oligonucleotiden bzw. mit Kontroll-Oligonucleotiden behandelt worden. Eine 24 Stunden später erfolgende Analyse der Nierenfunktion sowie eine immunhistologische Untersuchung der Nieren ergab eine deutliche Verbesserung der Nierenfunktion nach Behandlung mit Antisense-Oligonucleotiden sowie eine dramatisch verminderte Infiltration von Monozyten und Neutrophilen in das ischämische Nierengewebe.

Nach diesen ersten Experimenten untersuchten wir die Wirkung von Antisense-Oligonucleotiden bei der Nierentransplantation. Um die verschiedenen Effekte genauer analysieren zu können, wurden zuerst Isotransplantationen durchgeführt. Die Spender-tiere wurden 6 Stunden vor Transplantation mit Antisense-Oligonucleotiden i.v. behandelt. Die Nieren wurden dann in die Empfängertiere transplantiert, welche kein Antisense-ICAM erhalten hatten. Nach 24 Stunden wurde die Funktion der mit Antisense-Oligonucleotiden behandelten Spenderorgane analysiert. Es zeigte sich eine deutliche therapeutische Wirkung. Alle behandelten Organe zeigten kein akutes Nierenversagen. Die Analyse der glomerulären Filtrationsplantation im Vergleich zu den nicht operierten Kontrolltieren. In der immunhistologischen Analyse fanden sich eine deutlich gesenkte Expression von ICAM-1 und weniger leukozytäre Infiltrate. Die histologische Analyse zeigte weniger ischämische Schäden und keine Nekrosen nach Antisense-Oligonucleotid-Therapie. Diese Untersuchungen lassen vermuten, daß der Einsatz von Antisense-Oligonucleotiden in der akuten Phase der Transplantation eine deutliche Verbesserung der Organfunktion mit sich bringt. Da Antisense-Oligonucleotide gegen ICAM-1 auch für den Menschen zugelassen sind, arbeiten wir zur Zeit an einem Therapieprotokoll für die Nierentransplantation am Patienten.

In den letzten Jahren ist immer wieder diskutiert worden, ob die initiale Schädigung der Niere nach Transplantation zu einer chronischen Abnahme der Nierenfunktion führt und damit eine Rolle bei der sogenannten „chronischen Rejektion“ der Transplantatniere spielt. Um diese Hypothese zu testen, führten wir wie in den vorhergegangenen Versuchen Isotransplantationen in der Ratte durch. Im Unterschied wurden nun die Nieren be-

züglich Funktion über 20 Wochen behandelt. Um chronische Veränderungen zu induzieren, wurden außerdem die kontralaterale Niere eine Woche nach der Transplantation entfernt. Es zeigte sich im Verlauf von 20 Wochen eine deutlich verringerte Mortalität der Antisense-Oligonucleotid-behandelten Tiere. Die Proteinurie nahm in den nicht behandelten Tieren im Verlauf deutlich zu, während die Therapie mit Antisense-Oligonucleotiden die progressive Proteinurie deutlich beeinflusste. Die Analyse der Nieren 20 Wochen nach Transplantation zeigte, daß eine initiale Therapie mit Antisense-Oligonucleotiden die histologische Schädigung deutlich vermindert hatte. Vor allem bezüglich der Monozyteninfiltration waren die behandelten Organe weniger stark betroffen, außerdem zeigte sich, daß auch immunologische Veränderungen im Transplantat durch die Gabe von Antisense-Oligonucleotiden gegen endotheliale Adhäsionsmoleküle vermindert war. Insgesamt sprechen diese Befunde dafür, daß in dem vorliegenden Mo-

dell die chronischen Veränderungen in der Transplantatniere durch eine initiale Therapie gegen den Ischämie-Reperfusionsschaden beeinflusst werden können.

Unsere Untersuchungen belegen, daß der Ischämie-Reperfusionsschaden eine wichtige Rolle bei der akuten und chronischen Transplantatfunktion spielt. Die therapeutische Beeinflussung eines der vorliegenden Mechanismen vermindert die Schädigung des Gewebes durch aktivierte Leukozyten. Welche Mechanismen direkt durch eine Blockade des Adhäsionsmoleküls beeinflusst werden, wird zur Zeit von uns analysiert. Die Befunde deuten darauf hin, daß eine therapeutische Intervention beim Organspender ebenfalls eine positive Wirkung haben könnte. Der von uns gewählte Ansatz zur Therapie der Spenderorgane könnte auf andere molekulare Mechanismen, welche bei der Ischämie-Reperfusion eine Rolle spielen, ausgedehnt werden.

Unterschiedliche Immunsuppressionsschemata bei der Lebertransplantation

Peter Neuhaus und Jan M. Langrehr

Charité, Universitätsklinikum Rudolf Virchow, Berlin

Die raschen Fortschritte im Bereich der Transplantationsmedizin während der letzten 30 Jahre haben eine Reihe von verschiedenen Transplantationsverfahren als klinische Standardtherapie des terminalen Organversagens etabliert. Neben der Entwicklung der chirurgischen Technik, der Verbesserung der Organ-Konservierung und der perioperativen Intensivbehandlung, waren insbesondere die Entwicklung potenter immunsuppressiver Substanzen und immunsuppressiver Behandlungsschemata für diesen Erfolg verantwortlich.

Bis 1980 bestand die immunsuppressive Therapie nach Lebertransplantation normalerweise aus Steroiden. Azathioprin und polyklonalen Antikörperpräparationen wie zum Beispiel anti-Lymphozyten-Globulin (ALG), oder anti-Thymozyten-Globulin (ATG). Diese Antikörperpräparationen wurden während der ersten 7 bis 14 Tage nach der Transplantation als Induktionstherapie verabreicht, während Steroide und Azathioprin zur Erhaltungstherapie verwendet wurde. Mit Cyclosporin A wurde Anfang der 80er Jahre das erste sogenannte Basis-Immunsuppressivum klinisch eingeführt und durch die drastische Reduzierung der akuten Abstoßungsepisoden ermöglichte es den Anstieg der Patienten- und Organüberlebensraten nach 1 Jahr von 30–50 % auf über 70 %.

Nachdem Cyclosporin A zunächst nur in Kombination mit Steroiden gegeben wurde, stellte sich bald heraus, daß dieses Immunsuppressionsschema in vielen Fällen früh postoperativ eine ausgeprägte Nephro- und Hepatotoxizität aufwies. Daraufhin wurde diese duale Therapie von vielen Zentren wiederum mit polyklonalen Antikörperpräparationen kombiniert und somit unter dem Schutz von z. B. Cyclosporin A erst nach Stabilisierung der Nieren und Leberfunktion eingesetzt. Dieses Therapie-Protokoll wurde als sequentielle Dreifach-Therapie bezeichnet. Ende der achtziger Jahre konnten einige Arbeitsgruppen zeigen, daß chronische Abstoßungsvorgänge unter der zusätzlichen Gabe von Azathioprin deutlich gemindert werden konnten, und da die Antikörperpräparationen neben einem erhöhten Infektionsrisiko auch noch beträchtliche Nebenwirkungen aufwiesen, setzte sich für die Lebertransplantation zunehmend diese auf Cyclosporin A basierende Dreifach-Therapie durch. Unter diesem Therapie-Protokoll erreichten viele Zentren 1-Jahres Patientenüberlebensraten von 80 % und darüber, jedoch lag die Abstoßungsinzidenz während des ersten Jahres nach Transplantation immer noch zwischen 60 % und 80 %. Die dann notwendige zusätzliche immunsuppres-

sive Behandlung dieser Abstoßungsepisoden mit Steroid-Bolustherapie und/oder Antikörperpräparationen führte wiederum zu infektiöser Morbidität und erhöhte außerdem das Risiko der Entwicklung von Lymphomen.

Daher wurde Ende der 80er Jahre in verschiedenen Zentren das Standard-Dreifach-Protokoll mit Antikörperpräparationen zur zusätzlichen Induktionstherapie während der ersten 7 bis 14 Tage nach Transplantation bei initial reduzierter Cyclosporin A-Dosis zur Vermeidung der Toxizität kombiniert und die Abstoßungsinzidenzen konnten auf 30 % bis 40 % gesenkt werden. Unter dieser Vierfach-Induktionstherapie konnten in erfahrenen Zentren bei etwa gleicher Infektionsinzidenz 1-Jahresüberlebensraten von 90 % erreicht werden.

Trotz der deutlich verbesserten Effektivität dieser Vierfach-Induktionstherapie verblieben die Nebenwirkungen der polyklonalen Antikörperpräparation als ernstes Problem. Die Entwicklung nicht-zytotoxischer monoklonaler Antikörper gegen den Interleukin-2 Rezeptor ermöglichte uns diese Substanz in mehreren randomisierten Studien im Vergleich mit polyklonalen Antikörperpräparationen jeweils als Teil einer Vierfach-Induktionstherapie zu untersuchen. Wir konnten beobachten, daß der monoklonale Antikörper bei gleicher immunsuppressiver Effektivität praktisch keine Nebenwirkungen aufwies und sich daher besonders zur Induktionstherapie eignet. Während die ersten dieser Antikörper noch Mausantikörper waren, sind inzwischen humanisierte und chimäre monoklonale anti-Interleukin-2-Rezeptor-Antikörper entwickelt worden, die wegen der fehlenden Immunreaktion des Empfängers gegen die Antikörper über längere Zeit oder mehrfach gegeben werden können.

Ende der 80er Jahre wurde zusätzlich noch ein neu entwickeltes Basisimmunsuppressivum, Tacrolimus, erstmals klinisch eingesetzt und es konnte in mehreren internationalen, multizentrischen Studien gezeigt werden, daß Tacrolimus in der Lebertransplantation die Abstoßungsinzidenz und hier insbesondere die Inzidenz der komplizierten, also steroid-resistenten Abstoßungsepisoden signifikant senken konnte ohne die Effektivität zu vermindern oder die Nebenwirkungsrate zu erhöhen. Unsere eigenen Untersuchungen bestätigten diese Ergebnisse und konnten zusätzlich zeigen, daß auf Tac-

rolimus basierende Immunsuppression bei chronischen Abstoßungsepisoden wirksamer war als Vierfach-Induktionstherapie mit Cyclosporin A. In Folgestudien stellten wir fest, daß bei niedriger, am klinischen Verlauf orientierten Dosierung von Tacrolimus, auch das Nebenwirkungsprofil der auf Tacrolimus basierenden Therapie signifikant reduziert werden konnte und somit Tacrolimus als das Standard-Basisimmunsuppressivum nach Lebertransplantation etabliert wurde. Die Addition von Azathioprin und einer polyklonalen Antikörperpräparation (ALG) konnte die immunsuppressive Wirksamkeit in einer prospektiv-randomisierten Studie nicht signifikant erhöhen, so daß die immunsuppressive Standard-Induktionstherapie nach Lebertransplantation zur Zeit aus Tacrolimus und Steroiden besteht.

Auf den Erfolgen in der Nierentransplantation basierend wurde das neue Immunsuppressivum Mycophenolat Mofetil (MMF) in einer drei-armigen prospektiv-randomisierten Studie nach Lebertransplantation mit Cyclosporin A und Steroiden und mit Tacrolimus und Steroiden kombiniert und mit der Standardtherapie (Tacrolimus und Steroide) verglichen. Hier zeigte sich, daß MMF früh postoperativ erhebliche gastrointestinale und hämatologische Nebenwirkungen aufwies, in etwa der Hälfte der Fälle abgesetzt werden mußte und somit als Induktionsimmunsuppressivum nicht geeignet war. Dieses Ergebnis stand im Gegensatz zu unseren guten Ergebnissen mit dem Einsatz von MMF in der Therapie der komplizierten und der chronischen Abstoßungsreaktion. Zusätzlich zu diesen bereits etablierten Immunsuppressiva sind weitere Substanzen wie Rapamycin, Leflunomid, FTY-720 in der klinischen Prüfung.

Insgesamt kann man festhalten, daß die zunehmende Entwicklung potenter Substanzen während der letzten 20 Jahre die postoperative Immunsuppression nach Lebertransplantation revolutioniert hat. Standen Ende der 70er Jahre praktisch nur Steroide, Azathioprin und polyklonale Antikörperpräparationen zur Verfügung, so hat man heute Zugriff auf 2 potente Basisimmunsuppressiva, und eine Reihe von weiteren Substanzen, monoklonale Antikörperpräparationen, MMF und Rapamycin, die eine individuelle immunsuppressive Therapie der Patienten erlauben.

Xenotransplantation: Hoffnung oder Irrweg?

Claus Hammer

Universität München, Klinikum Großhadern, München

Alle derzeit bekannten und technisch durchführbaren Alternativen zur allogenen Organtransplantation können den bestehenden und vor allem noch wachsenden Organmangel nicht beheben. Deshalb wird seit einem Jahrzehnt große Hoffnung in die Transplantation von Tierorganen auf den Menschen, die Xenotransplantation, gelegt.

Die seit 30 Jahren sich nur langsam entwickelnde Xenotransplantation machte mit der Erzeugung transgener Tiere mit Hilfe der Molekularbiologie rasante Fortschritte. Überlebenszeiten von über einem Monat sind im Primatenmodell beschrieben. Herzen von transgenen Schweinen, die das Affenherz ersetzen, sind in der Lage die entsprechende Pumpleistung zu verbringen. Nieren solcher Schweine sind fähig, über drei Monate ihre physiologischen Funktionen zu erfüllen. Langerhanssche Inseln von Schweinen können, zumindest teilweise, die Insulinabhängigkeit reduzieren.

Dies alles sind Leistungen und Überlebenszeiten, die in der Anfangsphase der heute so erfolgreichen menschlichen Transplantation nicht erreicht wurden.

Andererseits muß bestätigt werden, daß klinische Versuche der Xenotransplantation bisher allesamt fehlschlugen. Die längste Überlebenszeit eines Xenotransplantates wird von einer Schimpansenniere berichtet, die eine Patientin 9 Monate am Leben erhielt. Die Patientin starb infolge der noch sehr einfachen Immunsuppression an einer therapieresistenten Infektion. Weitere Patienten, die Paviannieren erhielten, stießen diese nach spätestens 3 Monaten ab. Baby Fae starb mit einem juvenilen Pavianherzen nach 21 Tagen an multiplen Organversagen.

Der Grund für diese Mißerfolge war die hyperakute Abstoßungsreaktion, die mit den herkömmlichen Immunsuppressiva nicht beherrschbar war. Heute sind die ersten Schritte dieser durch Mediatoren ausgelösten, heftigen Reaktion durch gentechnische Eingriffe am Spender weitgehend gelöst. Letzteres ist für die Zukunft gesehen ein Vorteil. Nicht der menschliche Patient wird maximal an der Abstoßungsreaktion gehindert, sondern das Spendertier wird optimal manipuliert. Es gibt bereits weitere Vorstellungen, die auch eine immunologische Toleranz gegen die fremden, tierspezifischen Antigene erlauben.

Sollte es gelingen diese immunologischen Barrieren zu überwinden, stehen allerdings weitere evolutionär bedingte, physiologische und anatomische Hindernisse im Wege. Nur Organe von Tieren, die dem Menschen was Körpergröße und Leistung betrifft entsprechen, sind für eine klinische Xenotrans-

plantation akzeptabel. Vor allem das Hausschwein mit all seinen unterschiedlichen Rassen und seinem, dem Menschen prinzipiell ähnlichen Stoffwechsel, steht im Mittelpunkt der Forschung. Allerdings unterscheiden sich vor allem die physiologischen Mechanismen zum Teil stark von den menschlichen, molekularen Stoffwechselabläufen. Andererseits sind Hormone wie Insulin, das Wachstumshormon, einige Interleukine und Enzyme fast mit denen des Menschen identisch.

Als ein unerwartetes Problem entpuppte sich die Übertragung von tierischen Keimen auf die Organempfänger. Dabei handelt es sich weniger um bekannte Keime wie Tuberkelbazillen, Bakterien, Pilze oder zoonotische Viren, die bekannt sind und damit therapierbar, als vielmehr um sogenannte endogene Viren, die nur über die Aufnahme ins Genom zur Wirkung kommen. Diese „porzinen endogenen Retroviren“, PERV's genannt, wurden erst kürzlich entdeckt. Sie können im Reagenzglas von Schweinezellen auf menschliche Zellen übertragen werden. Bei Patienten, die mit Schweinegewebe, z. B. Haut, Inseln oder Lebern behandelt wurden, scheint es aber zu keiner Übertragung gekommen zu sein. In solchen Patienten wurden keine speziellen Erkrankungen beobachtet und auch bei den Schweinen selber ist keine Krankheit bekannt, die auf PERV's zurückgeführt werden könnte. Da angenommen werden muß, daß HIV von Schimpansen stammt und seinen Weg zum Menschen gefunden hat, muß vorsichtig vorgegangen werden. Selbst wenn PERV's nicht auf gesunde Menschen übertragen werden, so muß bei immunsupprimierten Patienten in Kombination mit transgenen Organen besondere Sorgfalt angewandt werden.

Angenommen, alle diese Hindernisse, die übrigens im wesentlichen auch bei der allogenen Transplantation bestehen, werden überwunden, erhebt sich die Frage, ob die Patienten ein Organ vom Schwein akzeptieren. Umfragen haben ergeben, daß nur 6 % der gesunden Befragten ein Transplantat vom Schwein dem eines Menschen vorziehen würden. Noch immer herrscht die Vorstellung, daß Wesenseigenschaften der Tiere, vor allem durch das Herz, übertragen werden könnten. Auf die Frage, ob im Hinblick des Todes ein Schweineherz akzeptiert würde, antworteten Jugendliche mit 20 %, Erwachsene im mittleren Alter mit 50 % und Patienten auf der Warteliste zu 80 % mit „Ja“. Dies gilt für Befragte in den USA, Australien und Deutschland gleichermaßen. Patienten, die bereits gute Erfahrung mit einer Transplantation gemacht haben, stehen einem tierischen Transplantat noch posi-

ver gegenüber als Patienten, die noch nie transplantiert wurden und auf der Warteliste stehen.

Die hohe Akzeptanz führt zu einem weiteren ethischen Problem. Wer sollte im Falle einer klinischen Xenotransplantation mit Ergebnissen, die der allogenen Transplantation vergleichbar sind, ein Xenotransplantat bekommen. Organe aller Größen, Altersklassen und Arten stünden nun in unbeschränkter Zahl zur Verfügung. Dürfte, wie im Falle von Baby Fae, jedem Neugeborenen geholfen werden? Dürfte jeder auch noch so alte Mensch transplantiert werden? Es gäbe dann Organe für Suchtkranke, HIV-positive Patienten im frühen Stadium, und solche die an Multipler Sklerose erkrankt sind. Hier sind noch keine Antworten gefunden worden.

Könnte andererseits die Gesellschaft diese Kosten tragen? Es wurde bereits errechnet, daß die heute weltweit 40 000 allogenen Transplantationen im Jahr 2020 auf 10 000 sinken werden, daß dafür aber 300 000 Xenotransplantationen ausgeführt werden.

Nach heutigen Berechnungen dürfte eine Xenotransplantation nicht billiger als eine allogene Organübertragung werden. Wie im Falle von allogenen Nieren, würden xenogene Nieren aber die teuren Dialysebehandlungen ersetzen. Es könnte zwar nach Transplantation diese Dialysebehandlung eingespart werden, die Anzahl der Operationen würde aber um das Zehnfache zunehmen. Herz- oder Leberpatienten würden in jedem Falle höhere Kosten erzeugen, da sie ohne Xenotransplantat auf der Warteliste sterben würden. Zweifellos werden eines Tages Zelltransplantationen möglich werden. In der BRD leben etwa eine Million Diabetiker und jedes Jahr kommen 10 000 neue Fälle hinzu. Könnten diese Patienten mit Langerhans'schen Inseln vom Schwein behandelt werden und damit die

Nebenerscheinungen des Diabetes, die auch unter Insulintherapie auftreten, vermieden werden, wäre dies ein nicht zu unterschätzender Vorteil.

Es bestehen schon heute, also vor dem Beginn der klinischen Anwendung konkrete Richtlinien, die eine klinische Xenotransplantation und deren postoperative Behandlung regulieren. Ethische und religiöse Fragen wurden weltweit und von allen monotheistischen Religionen eingehend behandelt und positiv beschieden. Politiker und die pharmazeutische Industrie bejahen die Xenotransplantation als solche. Auch extreme Tierschützer haben sich nicht grundsätzlich gegen Xenotransplantation ausgesprochen, da es sich um eine Organentnahme wie bei einem menschlichen Patienten handelt und dem Tier weder Schmerzen noch Leiden zugefügt werden. Die Haltung der wertvollen Quellentiere ist ohnehin wesentlich besser und artgerechter als bei jedem Schlachtschwein.

Es besteht allerdings die Frage, ob alle Hindernisse, die aufgeführt wurden, überwunden werden können. Aber selbst wenn nur einzelne Organe, Organellen oder Zellen und Gewebe in großer Zahl verwendet werden können, wäre die Xenotransplantation eine hoffnungsvolle Methode. Doch auch ohne diese optimale Entwicklung wäre die Forschung auf dem Gebiet der Xenotransplantation kein Irrweg, ebensowenig wie Weltraumforschung ein solcher ist. Alleine die neuen Erkenntnisse der Xenobiologie und Xenokompatibilität wären es wert, diese Forschung weiter zu betreiben. Somit scheint die Xenotransplantation eine Therapie zu werden, die eines Tages von historischer Bedeutung sein könnte. Sie ist für Biologen, Mediziner und Tiermediziner, vor allem aber für Molekularbiologen eine Herausforderung von höchster Konsequenz. Es gilt nämlich 180 Millionen Jahre der Evolution, die die Divergenz der Spezies erzeugte, zu überlisten.

Anschriften der Referenten

Dr. Volker Brinkmann
Novartis Pharma AG, WSJ – 386.1.25
4002 Basel (Schweiz)

Dr. Frank Dahlke
Schering AG, SGE „Therapeutica“
Sellerstraße 31, 13342 Berlin

Dr. Andreas Eigler
Universität München
Klinikum Innenstadt
Medizinische Klinik,
Abt. für Klinische Pharmakologie
Ziemssenstraße 1, 80336 München

Prof. Dr. Stefan Endres
Universität München
Klinikum Innenstadt
Medizinische Klinik
Abt. für Klinische Pharmakologie
Ziemssenstraße 1, 80336 München

Prof. Dr. Hermann Haller
Medizinische Hochschule Hannover
Klinik für Nephrologie
Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover

Prof. Dr. Dr. Claus Hammer
Universität München
Klinikum Großhadern
Institut für Chirurgische Forschung
Marchioninistraße 15, 81366 München

Prof. Dr. Dr. h.c. Joachim R. Kalden
Universität Erlangen–Nürnberg
Medizinische Klinik III mit Poliklinik
Institut für Klinische Immunologie
Krankenhausstraße 12, 91054 Erlangen

Dr. Roland Kurrle
Hoechst Marion Roussel Deutschland
Abt. DG Rheumatologie u. Autoimmunkrankheiten
Brüningstraße 50, 65926 Frankfurt

Prof. Dr. Claus-Michael Lehr
Universität des Saarlandes
Department Biopharmaceutics u.
Pharmaceutical Technology
Postfach 15 11 50, 66041 Saarbrücken

Prof. Dr. Bernhard Manger
Universität Erlangen–Nürnberg
Medizinische Klinik III
Krankenhausstraße 12, 91054 Erlangen

Prof. Dr. Werner J. Mayet
Universität Mainz, Klinikum
I. Medizinische Klinik u. Poliklinik
Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz

Prof. Dr. Peter Müller
Boehringer Ingelheim
Pharmaceuticals Inc./USA
Research & Development
P.O. Box 368, Ridgefield, CT 06877 (USA)

Prof. Dr. Peter Neuhaus
Charité Universitätsklinikum Berlin
Campus Virchow-Klinikum
Klinik für Allgemein-, Viszeral- u.
Transplantationschirurgie
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

Dr. Thomas Pap
Universitätsspital Zürich
Rheumaklinik und Institut für
Physikalische Medizin, Zentrum für
Experimentelle Rheumatologie
Gloriastraße 25, 8091 Zürich (Schweiz)

Prof. Dr. Dr. h.c. Thomas Ruzicka
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Hautklinik
Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf

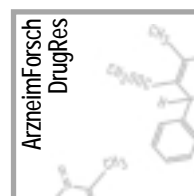
Dr. Christian Schudt
Byk Gulden Lomberg
Chemische Fabrik GmbH
Byk-Gulden-Straße 2, 78467 Konstanz

Prof. Dr. Josef S. Smolen
AKH-Universitäts-Kliniken Wien
Klinik für Innere Medizin III
Klinische Abt. für Rheumatologie
Währinger Gürtel 18–20, 1090 Wien (Österreich)

Priv.-Doz. Dr. Gerhild Wildner
Universität München
Klinikum Innenstadt
Augenklinik, AG Immunbiologie
Mathildenstraße 8, 80336 München

Prof. Dr. Fokko J. van der Woude
Klinikum Mannheim, Universität Heidelberg
V. Medizinische Universitätsklinik
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3, 68135 Mannheim

Prof. Dr. Martin Zeitz
Universität des Saarlandes
Medizinische Klinik u. Poliklinik
Innere Medizin II
Kirrbergerstraße, 66421 Homburg/Saar



Book Reviews

Handbuch der unerwünschten Arzneimittelwirkungen

B. Müller-Oerlinghausen, R. Lasek, H. Düppenbecker und K.-H. Munter (Hrsg.). Urban & Fischer, München-Jena (1999). ISBN 3-437-21240-0. 768 S., ca. 50 zweifarb. Abb., geb., Preis: 198,- DM / 176,- sfr / 1445,- öS.

Das hier besprochene und dem Andenken an Frau Prof. Dr. med. Ellen Weber (gest. am 7. 12. 1992) gewidmete Buch ist nicht ohne Vorgänger und baut zum Teil auf Frau Webers erfolgreiches Buch „Taschenbuch der unerwünschten Arzneimittelwirkungen“ auf.

Unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind unvermeidbare Folgen der Arzneimittelanwendung. So werden beispielsweise allergische bzw. idiosynkratische Reaktionen beobachtet, zum Teil haben sich aber auch weitere und bis dahin nicht vermutete nützliche pharmakologische Effekte eines Wirkstoffes erst bei dessen breiter klinischer Anwendung gezeigt. Da durchschnittlich etwa fünf Prozent aller medikamentös behandelten Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen rechnen müssen und bis zu zehn Prozent der stationären Einweisungen aufgrund eingetretener unerwünschter Arzneimittelwirkungen erfolgen, widmet sich dieses Buch einem medizinisch äußerst wichtigen Themenkomplex. Untersuchungen haben ergeben, daß nahezu die Hälfte derartiger Nebenwirkungen

bei gutem pharmakologischem Kenntnisstand des Arztes vermeidbar wären. Und diesen zu vermitteln, leiste das Buch hervorragende Dienste.

Die Kapitel sind einheitlich strukturiert, und im Teil A „Unerwünschte Arzneimittelwirkungen – Speziell“ werden in einundzwanzig Kapiteln die unterschiedlichen Arzneimittelgruppen wie beispielsweise Analgetika, Dermatologika, Herz-/Kreislaufmittel usw. systematisch behandelt. Der Teil B „UAWs (unerwünschte Arzneimittelwirkungen) allgemein“ beinhaltet folgende acht Kapitel: Abwehr von Arzneimittelrisiken; Pharmakoepidemiologische Methoden bei der Erfassung von UAWs; Aufklärung und Haftung; Pharmakologische Grundlagen von UAWs; Allergische und pseudoallergische Reaktionen als Ursachen von UAWs (inkl. Hilfsstoffe); Praxisdeutsame Methoden zum Nachweis allergisch bedingter UAWs; UAWs von Phytopharmaka; Besonderheiten von UAWs bei Impfstoffen, Seren und Immunglobulinen.

Das vorliegende, exzellente Buch dient somit allen Ärzten sowohl in der Praxis wie auch in der Klinik als wertvolle Hilfe, um das Risiko unerwünschter Arzneimittelwirkungen einschätzen und somit für den Patienten verringern zu können. Durch die zweifarbige, schwarzblaue Darstellungsweise gewinnt das Buch noch mehr an Transparenz, ferner wird auf besonders gefährliche unerwünschte Arzneimit-

telwirkungen durch ein auffälliges Ausrufungszeichen hingewiesen, so daß diese sofort ins Auge fallen. Die Kapitel sind streng systematisch, einheitlich und anwenderfreundlich aufgebaut, und die Zugehörigkeit der Herausgeber und vieler beteiligter Autoren zur Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft bürgt für die hohe sachliche Kompetenz und vor allem auch Unabhängigkeit der Darstellungen. Die Literaturverweise sind relativ „up to date“, jedoch in vielen Kapiteln etwas spärlich ausgefallen, was der Ansicht des Rezensenten nach einen kleinen „Schönheitsfehler“ dieses Buches darstellt. Der ausführliche Index am Ende des Buches erlaubt eine schnelle Suche nach Wirkstoffen wie auch nach Präparatenamen, wobei der gesamte deutschsprachige Raum (Deutschland, Österreich, Schweiz) abgedeckt wird. Vom Umfang her ist das Buch deutlich kompakter als die umfangreichen pharmazeutischen „Handbücher“ traditioneller Art, aber auch bedeutend ausführlicher als etwa die „Arzneimittelverordnungen“ der Arzneimittelkommissionen der deutschen Ärzteschaft (AkdA) oder die „Rote Liste“. Dieses stellt einen guten Kompromiß dar und schließt eine wichtige Literaturlücke. Auch der Preis ist aufgrund des hohen praktischen Nutzens dieses Buches sowie aufgrund der exzellenten Aufmachung als absolut gerechtfertigt anzusehen.

A. Schmidt, Wuppertal

Manuscripts should be addressed to the editors. Only original papers are accepted. The authors affirm that they are solely entitled to make use of the copyright of their contributions including any figures, tables etc. without prejudice to the right of third parties. Manuscripts are accepted and published on the understanding that the copyright for all languages and countries as well as the circulation, duplication, storage and retrieval by databases or else is transferred to the publisher for a period of ten years from publication. The publisher is entitled to permit any reprint to third parties without indemnification to the author. Photostat copies for personal or internal use are permitted only as single copies of single articles or parts thereof. Any photostat copy produced or used by an enterprise is made for commercial purpose according to copyright law § 54 (2) and is liable to charge payable to Verwertungsgesellschaft Wort, Abteilung Wissenschaft, Goethestraße 49, 80336 München (Germany). The absence of the symbol ® after any name does not imply that this name is not under trademark protection. Fifty reprints (format DIN A 4) of a published contribution are supplied to the authors free of charge. Reprints in a smaller size (DIN A 5) are supplied on request only and have to be purchased.

Editors responsible: Prof. Dr. Hans Georg Classen and Viktor Schramm. Editorial services: Eveline Dangel. Advertisement department: Hella Butscher. Editorial office, publishers and advertisements: ECV · Editio Cantor Verlag für Medizin und Naturwissenschaften GmbH, P.O.B. 12 55, 88322 Aulendorf (Germany); phone (00 49) 0 75 25 940 0; telefax: (00 49) 0 75 25 940 180; e-mail: redaktion@ecv.de; Internet: http://www.ecv.de. Advertising rate card No. 23 is valid at present. Printed by VEBU Druck GmbH, Am Reutele 18, 88427 Bad Schussenried (Germany). The journal is published monthly and is obtainable from the publisher or via bookstores. The annual subscription rate (minimum 12 issues) is 567.19 DM/290,- € plus 25,- DM/12.78 € postage; foreign annual subscription rate is 641,51 DM/328,- € plus 52,- DM/26,59 € postage. Price for one single copy is 56.72 DM/29,- € plus postage (VAT always included). Any subscription remains legally valid unless it is cancelled at 3 months' notice for the end of the period of computation. Publishers' accounts: Dresdner Bank Ravensburg (650 800 09) 2 824 103; Kreissparkasse Aulendorf (650 501 10) 55 205 960; Postscheckkonto Stuttgart (600 100 70) 294 87-703.

Printed in Germany · ISSN 0004-4172.