

Inhalt

Weihrauch, T. R. <i>Begrüßung zum Symposium der Paul-Martini-Stiftung „Perspektiven der hormonellen Therapie“</i>	347	Erben, R. et al. <i>Vitamin D-Analoga und Knochen</i>	363
Scriba, P. C. <i>Einführung in das Thema</i>	349	Vaupel, P. <i>Optimierung der Tumorthherapie durch Erythropoietin</i>	364
Wehling, M. <i>Nichtgenomische Steroidwirkungen – ein pharmakotherapeutischer Ansatz?</i>	350	Allolio, B. <i>Hormone als Anti-Aging- und Life-Style-Medikamente</i>	366
Nawroth, P. P. et al. <i>Arteriosklerose – neue Ansätze in Prävention und Therapie</i>	351	Kolb, H. <i>Prävention des Typ 1-Diabetes mellitus: Immunsuppression, Immunmodulation, Immuntoleranz</i>	368
Gärtner, R. <i>Selen – von der Naturheilkunde zur Intensivmedizin</i>	352	Landgraf, R. <i>Neue Insuline: Stellenwert in der Therapie des Typ 1- und Typ 2-Diabetes mellitus</i>	369
Fritzemeier, K.-H. <i>Neue Ansätze in der Estrogen-Therapie – Gewebespezifität über neue Rezeptoren und Liganden</i>	354	Stumvoll, M. <i>Die PPAR (Peroxisome Proliferator-activated Receptor)-Familie</i>	372
Jarry, H. <i>Regulation der GnRH-Sekretion und Möglichkeiten zur pharmakologischen Beeinflussung</i>	356	Müller, G. <i>Extrapancreatic Effects of Anti-diabetic Sulfonylurea Drugs</i>	374
Gerbes, A. L. <i>Vasopressin-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten – neue Perspektiven zur Therapie von hepatorenalem Syndrom und Hyponatriämie</i>	358	Müller-Wieland, D. et al. <i>Genetische Defekte bei verschiedenen Formen des Diabetes mellitus: Therapie-Implikationen?</i>	376
Arnold, R. <i>nicht eingereicht</i>		Luft, D. <i>Pathogenese und Differentialtherapie der diabetischen Neuropathien</i>	378
Strasburger, C. J. et al. <i>Wachstumshormon-Rezeptor-Antagonist</i>	359	Hauner, H. <i>Adipositas: Pathogenese und medikamentöse Therapie</i>	379
Göke, B. <i>Glucagon-like Peptide 1 – vom Labor zur Klinik</i>	360	Rascher, W. <i>Physiologie und Pathophysiologie von Leptin und seines Rezeptors: Therapeutische Perspektiven?</i>	380
Fleisch, H. <i>Bisphosphonate – Neues in deren Wirkmechanismen und Anwendungen</i>	361		

Hinweis: Die Anschriften der Referenten resp. Autoren aller Beiträge sind am Schluß der Dokumentation auf S. 381 aufgeführt.

Begrüßung zum Symposium der Paul-Martini-Stiftung „Perspektiven der hormonellen Therapie“

Thomas R. Weihrauch

Bayer AG, Wuppertal, und Mitglied des Vorstandes der Paul-Martini-Stiftung

Zu unserem diesjährigen Symposium möchte ich Sie sehr herzlich im Namen des Vorstandes der Paul-Martini-Stiftung begrüßen, das wir in Zusammenarbeit mit der Akademie der Wissenschaften und der Literatur hier in Mainz an diesen zwei Tagen veranstalten.

Ich freue mich, daß unser Symposium nicht nur bei Vertretern der universitären Forschung und der industriellen Forschung reges Interesse gefunden hat, sondern auch bei Vertretern der Bundesministerien und der Bundesinstitute, nämlich dem Bundesministerium für Bildung und Forschung, dem Bundesministerium für Gesundheit sowie dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), die ich hiermit besonders herzlich begrüße.

Das Symposium – eine mittlerweile feste Institution im wissenschaftlichen Jahreskongreßkalender – hat in diesem Jahr den Titel „Perspektiven der hormonellen Therapie“ und wird unter der wissenschaftlichen Leitung von Herrn Prof. Peter Scriba, München, dem wissenschaftlichen Berater der Stiftung, durchgeführt.

Die Zahl der Anmeldungen hat uns das große Interesse an diesem Thema eindrucksvoll bestätigt.

Mit diesem Symposium erreicht das Veranstaltungsjahr der Paul-Martini-Stiftung (PMS) einen weiteren Höhepunkt und auch seinen Abschluß. Dies trifft auch für die organisatorische Seite der PMS zu: Sie wird zum Ende des Millenniumjahres neu strukturiert und ihre Schwerpunkte neu ausgerichtet.

Hierzu kurz einige Anmerkungen:

- Die PMS blickt auf viele Jahre wissenschaftlicher Arbeit zurück. Entstanden 1966 als Stiftung der Medizinisch-Pharmazeutischen Studiengesellschaft, jetzt des Verbandes Forschender Arzneimittelhersteller (VFA), hat die PMS über 30 Jahre – exakt sind es 34 – eine Tradition etabliert und ein in der wissenschaftlichen Landschaft eigenes Profil entwickelt.
- Im April diesen Jahres haben wir die Geschäftsstelle der PMS nach Berlin verlegt.
- Der Vorstand der PMS, der bisher aus drei Personen bestand, soll künftig 7 Personen umfassen. Mit diesem Schritt will die PMS deutlich machen, daß sie sich weiter als bisher öffnet, den Blick über die Grenzen hebt und in einer internationalen, global gewordenen wissenschaftlichen Landschaft ihre Rolle wahrnimmt.
- Die PMS schafft ein Forum des wissenschaftlichen Austausch und der Begegnung, wo medizinische und wissenschaftliche Themen aus den unterschiedlichsten Perspektiven, nämlich der Grundlagenforschung und der klinischen Fächer, sowohl aus Sicht der universitären wie der industriellen Forschung, dargestellt und diskutiert werden. Die PMS versteht sich als Mittlerin zwischen universitärer und industrieller Forschung.

- Dies will die PMS auch weiterhin sein, nämlich Forum und Initiatorin, wenngleich die PMS sich neuen Herausforderungen gegenüber gestellt sieht, nicht zuletzt durch die Herausforderungen, die die rasante Entwicklung in den medizinischen Fächern mit sich bringt.
- Unser traditionelles Herbstsymposium in Mainz wollen wir beibehalten. Das besonders große Interesse in diesem Jahr spiegelt sich in einer starken Beteiligung wie selten zuvor wider, und zeigt die Bedeutung als Ort des Austausches.
- Bereits in der Vergangenheit gab es weitere wissenschaftliche Aktivitäten zur Förderung der Arzneimittelforschung in Deutschland, wie z. B. Symposien oder andere Veranstaltungen im Rahmen anderer wissenschaftlicher Tagungen. Diese Aktivitäten wollen wir ausbauen, z. B. in dem wir aktuelle Themen der medizinischen Forschung in Deutschland aufnehmen. Wir wollen so zur Stärkung des Forschungsstandortes Deutschland beitragen.
- Wir wollen künftig nicht nur die Ergebnisse unserer wissenschaftlichen Beiträge – etwa in Form von Abstracts – den Fachkreisen zugänglich machen, sondern auch Ergebnisse unserer Diskussionen einem breiteren Publikum vorstellen. Wir wollen über die Presse die Öffentlichkeit (Entscheidungsträger im Gesundheitswesen und andere interessierte Kreise) besser informieren und so dem gestiegenen Informationsbedürfnis an medizinischen Themen und der medizinischen Forschung Rechnung tragen. Die PMS muß sich verstehen als Teil der wissenschaftlichen Kreise oder besser als Teil einer Gemeinschaft, die Wissenschaft und Medizin begleitet und mit gestaltet und die insbesondere an der Verbesserung der Arzneimitteltherapie mitarbeitet.
- Um dieses Ziel zu erreichen, bedarf es der Kommunikation über Fortschritte, Perspektiven, aber auch über Probleme und kritische Fragen. Ich möchte nur erinnern an Themen wie die Biotechnologie mit ihren verschiedenen Facetten. Die breite Diskussion in allen Kreisen der Gesellschaft und auch im politischen Raum zeigt das öffentliche Interesse an dieser zukunftsweisenden Technologie. Die Medizin bedarf der Innovation, und es ist sicher eine angemessene Aufgabe für die PMS, wenn der Nutzen von Innovationen speziell im Bereich der Arzneimitteltherapie und allen Aspekten neuer Technologien durch die PMS herausgestellt und auch der Öffentlichkeit zugänglich gemacht wird.
- Auf diese Weise wollen wir den neuen Bedingungen, die die sich wandelnde Forschungslandschaft an uns alle stellt, gerecht werden und damit weiterhin den Zweck unserer Stiftung, die Förderung der Arzneimittelforschung in Deutschland unterstreichen und verfolgen.

Ich wünsche uns allen einen erfolgreichen Verlauf unseres Symposiums.

Einführung in das Thema

Peter C. Scriba

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

Die Mainzer Akademie ist traditionell der Interdisziplinarität verpflichtet. Zwei Tage lang darf die Paul-Martini-Stiftung zu Gast sein. Nachdem in den vergangenen Jahren mit der *Therapie mit Blutprodukten* und der *Immunsuppression* die Affinität der Paul-Martini-Stiftung zur Interdisziplinarität bereits gezeigt wurde, kommen heute und morgen die Endokrinologen zu Wort. Endokrinologische Methoden, die sich mit den Hormonen, diesen Botenstoffen, ihrer Synthese, ihrem Transport, ihrem Stoffwechsel sowie ihrer Interaktion mit Rezeptoren, der Signalübertragung und den metabolischen Wirkungen befassen sind in der ganzen Biologie und Medizin fruchtbar geworden. Mit ihrer so vielfach einsetzbaren methodischen Vielfalt ist für die Endokrinologie die Interdisziplinarität geradezu vorgegeben. So sind wir der Mainzer Akademie und ihrem Präsidenten, Herrn Prof. Zintzen für seine Gastfreundschaft dankbar und dafür, daß er gerade diesen Aspekt von uns erwartet.

Es geht bei dem Symposium des Jahres 2000 um Perspektiven der hormonellen Therapie. Es wurde bewußt auf den Begriff Fortschritte im Sinne von gesicherten Fortschritten verzichtet. Diese sollen lediglich den Ausgangspunkt für eine Darstellung des Erwartungshorizontes abgeben. Eine solche zukunftsgerichtete Diskussion ist auch heute unverzichtbar, heute, in einer Zeit, in der Health Technology Assessment und Evidence-based Medicine über die Nutzen/Kosten-Beziehung zu wachen helfen und in der der Sachverständigenrat für die Konzertierte Aktion im Gesundheitswesen nach Über-, Unter- und Fehlversorgung zu suchen hat, um Wirtschaftlichkeitsreserven aufzuspüren. Einer Eingliederung in den Kanon der angemessenen Methoden muß aber zunächst einmal die Entwicklung neuer Methoden vorausgehen, und dafür brauchen wir Visionen und Perspektiven.

In diesem Sinne wünsche ich dem Auditorium zwei anregende Tage. Ich danke Frau Bruns und Frau Bayindir für ihren großen Einsatz bei der Vorbereitung des Symposiums und dem Vorstand der Paul-Martini-Stiftung ebenso wie dem Verband Forschender Arzneimittelhersteller (VFA) für die Unterstützung.

Nichtgenomische Steroidwirkungen – ein pharmakotherapeutischer Ansatz?

Martin Wehling

Institut für Klinische Pharmakologie, Fakultät für Klinische Medizin der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Mannheim

Jahrzehnte hat die klassische, genomische Steroidwirkungstheorie die Vorstellungen zur Wirkung von Steroidhormonen beherrscht. Obwohl bereits erste Berichte in den 40er Jahren vorlagen, daß es nicht nur diese genomischen, verzögert auftretenden Effekte von Steroidhormonen gibt, sondern auch Soforteffekte, hat erst in den letzten zehn Jahren ein Umdenken in diese Richtung stattgefunden. Es ist jetzt unumstritten, daß Steroide aller Klassen auch sogenannte „nichtgenomische“ Sofortwirkungen, z. B. auf intrazelluläre second messenger, aber auch komplexere Zellfunktionen wie Hormonsekretion ausüben können, für deren Vermittlung das Genom *keine* Rolle spielt. Sie sind neben der kurzen Latenz von Sekunden bis wenigen Minuten auch durch eine häufig völlig von der Pharmakologie der klassischen, seit langem klonierten und genau erforschten intrazellulären Rezeptoren abweichende Pharmakologie charakterisiert. So sind z. B. Sofortwirkungen von Aldosteron auf das intrazelluläre Kalzium, den intrazellulären pH, IP3 (Inositoltriphosphat) und zahlreiche andere intrazelluläre second messenger an glatten Gefäßmuskulzellen nicht durch die klassischen Antagonisten Spironolacton oder Canrenon zu hemmen. Außerdem werden zehntausendfach höhere Cortisol-Konzentrationen benötigt, um ähnliche Effekte wie durch Aldosteron induziert auszulösen, obwohl der klassische, für die genomischen Effekte zuständige Rezeptor beide Hormone nicht unterscheiden kann. Dies legte die Annahme nahe, daß es sich für die Vermittlung dieser schnellen Effekte um eine neuartige Klasse von Steroidrezeptoren in Membranen handeln könnte. Obwohl zahlreiche Versuche unternommen wurden, diese Rezeptoren zu klonieren, gibt es bisher erst unvollständige Nachweise und Klonierungsansätze, z. B. für einen Progesteron-Membranrezeptor durch unsere Arbeitsgruppe.

Die Wiederentdeckung dieser schnellen Steroideffekte hat jedoch wichtige Möglichkeiten aufgezeigt, das therapeutische Potential von Steroidhormonen umfassender auszuschöpfen. So sind seit langem Spironolacton-unabhängige Effekte des Aldosterons bekannt, wie z. B. die renale Fibrose, die eindeutig in der Pathophysiologie dieses Hormons, z. B. bei Zuständen mit chronisch erhöhter Plasmakonzentration eine Rolle spielen können.

Es liegt auf der Hand, daß ein Superantagonist gegen die genomischen und nichtgenomischen Wirkungen von klinischem Nutzen sein könnte. Leider ist eine derartige Substanz für Aldosteron noch nicht bekannt, aber Gegenstand intensiver Forschung. Weitere prominente nichtgenomische Steroideffekte mit klinischer Relevanz sind die schnellen Progesteron-Effekte am menschlichen Spermium, deren Störung unter anderem auch mit der männlichen Infertilität in Zusammenhang gebracht wird. Es liegt nahe, hier durch eine pharmakotherapeutische Intervention Infertilitätstherapie betreiben zu können. Ein Gebiet, auf dem nichtgenomische Steroidwirkungen schon lange therapeutisch ausgenutzt werden, ist die Modulation des GABA-ergen Systems durch sogenannte Neurosteroiden wie Pregnanolon. Hierdurch lassen sich Benzodiazepin-ähnliche Wirkungen erzielen, die auch schon zur Narkoseeinleitung durch Althesin® (Alfaxalon) zum klinischen Einsatz kamen. Die Substanz mußte allerdings wegen allergischer Nebenwirkungen vom Markt genommen werden. Enttäuscht hat die Entwicklung von nur nichtgenomisch wirksamen Glukokortikoid-Analoga, den Lazaroiden, die unter anderem in der Behandlung von zentralnervösen Traumata eingesetzt wurden, hier aber nicht überzeugen konnten. Seit langem werden die nichtgenomischen Effekte von Glukokortikoiden in der Hochdosis-Cortison-Stoßtherapie allerdings zur Prophylaxe und Therapie allergischer Zwischenfälle, z. B. bei Röntgenkontrastmitteln, sehr erfolgreich eingesetzt. Die Ordnung der verschiedenartigen Mechanismen nichtgenomischer Steroideffekte in der neuen „Mannheim Klassifikation“ wird helfen, die Vielseitigkeit auch der nichtgenomischen, lange verkannten Steroidwirkungen besser zu verstehen und ihre therapeutischen Möglichkeiten ausschöpfen zu können.

Arteriosklerose – neue Ansätze in Prävention und Therapie

Peter P. Nawroth, Angelika Bierhaus, Stephan Schiekofer, Mei Hong, Martin Andrassy, Peer Humpert und Michael Kanitz

Medizinische Klinik IV und Poliklinik, Universitätsklinikum Tübingen, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen

Einleitung

Die Therapie der Arteriosklerose ist in 2 Bereichen erfolgreich:

1. der Prävention und
2. der Behandlung der Akutkomplikation.

Die endokrinologischen Aspekte der Prävention betreffen vor allem die Therapie von Risikofaktoren, wie Hyperglykämie, Hypothyreose, Störungen des Lipidstoffwechsels und evtl. zukünftig die Reduktion der Hyperhomozysteinämie. Aber es fehlen bisher Möglichkeiten in das Krankheitsgeschehen direkt (d. h. außerhalb der Therapie der Risikofaktoren, dazu gehören neben den endokrinologischen Störungen auch die Hypertonie und Aktivierung des thrombozytären Systems) einzugreifen. Ursache für diese Lücke in den therapeutischen Möglichkeiten ist das mangelhafte Verständnis der Mechanismen, die eine langanhaltende Zellaktivierung verursachen.

Problemstellung

Mediatoren der Arteriosklerose, wie z. B. oxidiertes Low Density Lipoprotein (LDL), Hyperglykämie etc. führen zur Entstehung reaktiver Sauerstoffverbindungen. Diese können ebenso wie z. B. Zytokine Zellen nur sehr kurz, d. h. für Minuten bis Stunden aktivieren, oft gefolgt von einer Tachyphylaxie. Daher sind diese Reaktionen nur sehr ungenügende Erklärungen für die Entstehung von Erkrankungen die auf einer Zeitachse von vielen Jahren entstehen. Die Aufgabe besteht also darin spezifische, rezeptorvermittelte Stoffwechselwege einer lange anhaltenden Zellaktivierung aufzudecken, um basierend auf dem Verständnis der perpetuierten Zellaktivierung innovative Therapiekonzepte zu entwickeln. Die Betrachtung der Zeitachse ist ein bisher unterrepräsentierter Aspekt der Beurteilung pathophysiologischer Konzepte.

Tab. 1

Ligand	Bedeutung
AGE's	Diabetes, Alterung
S100-Proteine	Entzündung
Amyloid- β -Peptid	M. Alzheimer, Entzündung
Amyloid-Fibrillen	Amyloidose
Prione	Prion-Erkrankungen
Amphoterin	Nervenentwicklung, Tumorinvasion

Lösungsweg

Die Gruppe um Stern charakterisierte einen Rezeptor der zur Immunglobulin-Superfamilie gehört und tertiäre Strukturmerkmale von Proteinen erkennt. Dieser Rezeptor erkennt Proteine die eine β -Faltblattstruktur mit einer Fibrillenbildung vereinigen. Dazu zählen Proteine die sowohl bei degenerativen, als auch entzündlichen Erkrankungen als Mediatoren bekannt sind. Da der erste bekannte Ligand die bei Diabetes mellitus (und dem Alterungsprozeß) entstehenden „advanced glycated end products“ (AGE's) sind, wurde der Rezeptor „RAGE“ genannt.

Untersuchungen der Regulation von RAGE ergaben, daß es Zellen gibt, die RAGE induzierbar exprimieren (Endothelzellen) und Zellen, die RAGE konstitutiv und induzierbar (glatte Muskelzellen, Neurone, mononukleäre Zellen, Lymphozyten) exprimieren. Eine verstärkte Expression von RAGE-Antigen und -mRNA wird bei den verschiedensten Erkrankungen gefunden, dazu zählen der Diabetes mellitus, die Arteriosklerose und auch alle bisher untersuchten entzündlichen Erkrankungen. Erklärt wird die Induktion von RAGE bei verschiedenen Erkrankungen dadurch, daß er unter der Kontrolle von Redox-kontrollierten Transkriptionsfaktoren steht. Dies bedeutet, daß alle Erkrankungen, bei denen z. B. durch Zytokine, Hyperglykämie o. ä. vermehrt reactive oxygen species (ROS) anfallen auch zu einer vermehrten RAGE-Expression führen.

Die besondere Rolle der RAGE-vermittelten Zellaktivierung wird dadurch deutlich, daß z. B. die Aktivierung des Redox-sensitiven Transkriptionsfaktors NF κ B, der durch Zytokine nur Minuten bis Stunden aktiviert werden kann, über RAGE mehrere Tage, also perpetuiert aktiviert wird. Die RAGE-abhängige NF κ B-Aktivierung unterscheidet sich von den bisher bekannten Pathways in nicht malignen oder nicht viral infizierten Zellen dadurch, daß sie perpetuiert anhält und Proteinsynthese-abhängig ist. Dies läßt sich in vitro und in vivo nachweisen.

Ein Hinweis, daß diese langanhaltende NF κ B-Aktivierung auch in vivo auftritt, stammt aus Beobachtungen an frisch manifestierten Typ-1-Diabetikern und an Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen (Morbus Crohn). Wenn man bei frisch manifestierten Typ-1-Diabetikern mit einer schlecht eingestellten Hyperglykämie sich die NF κ B-Aktivierung in isolierten mononukleären Zellen ansieht, so kann man eine über

Tage anhaltende NFkB-Aktivierung und erhöhte Transkription des NFkBp65 nachweisen. Dies gelingt indirekt auch in Gewebe von Patienten mit Morbus Crohn, denn alle inflammatorischen Zellen haben aktiviertes NFkB im Zellkern. Wäre die NFkB-Aktivierung nur kurzanhaltend, dann wären auch in Serienschnitten nicht alle Kerne NFkB-positiv.

In-vivo-Studien mit transgenen Tieren konnten auch beweisen, daß die langanhaltende NFkB-Aktivierung RAGE-abhängig ist, denn Blockade der Liganden-RAGE Interaktion reduziert nicht nur die NFkB-Aktivierung, sondern auch die NFkB-abhängige Gentranskription.

Therapeutische Ansätze

Die Gruppe um Stern konnte in mehreren Tiermodellen zeigen, daß es Möglichkeiten gibt, auf dem pathophysiologischen Verständnis der RAGE-abhängigen perpetuierten Zellaktivierung basierend, erfolgreiche Interventionen bei chronischen Erkrankungen durchzuführen. Dazu wurde die extrazelluläre Domäne von RAGE Tieren gegeben, die entweder einen Diabetes mellitus und eine Hyperlipidämie, eine entzündliche Erkrankung, eine Amyloidose oder einen Tumor hatten. In all diesen Modellen, in denen RAGE-Liganden eine Rolle

spielen, konnte durch Gabe der extrazellulären RAGE-Domäne die Erkrankung deutlich reduziert werden. Dies betrifft die makrovaskuläre Arteriosklerose, das Tumorwachstum, Entzündungen und Amyloidose. Damit besteht die Möglichkeit, das Wegfangen von RAGE-Liganden als therapeutisches Prinzip zu erproben.

Zukünftige Aufgaben

Die extrazelluläre Domäne von RAGE bindet Proteine, die die Kombination einer β -Faltblattstruktur mit Fibrillenbildung aufweisen. Aber es kann durchaus sein, daß nicht all diese Proteine ihre biologische Wirkung über RAGE entfalten. Daher müssen Versuche mit RAGE ko Tieren erst belegen, ob die von löslichem RAGE gebundenen Liganden alle über RAGE ihre Wirkung entfalten, oder ob es für die heterogene Gruppe von β -Faltblatt und Fibrillen bildenden Proteine es auch andere Rezeptoren gibt. Unabhängig davon könnte das Abfangen von RAGE-bindenden Proteinen durchaus eine attraktive Therapiemöglichkeit sein, sofern in zukünftigen Versuchen nicht nur Informationen über schädigende Wirkungen der RAGE-Liganden vorliegen, sondern auch Informationen über physiologische (erwünschte) Effekte.

Selen – von der Naturheilkunde zur Intensivmedizin

Roland Gärtner

Medizinische Klinik Innenstadt der Ludwig-Maximilian-Universität, München

Selen wurde im Jahre 1817 von Berzelius erstmals beschrieben, aber erst seit 1957 ist bekannt, daß Selen ein essentielles Spurenelement ist. Ursprünglich war Selen als Karzinogen eingestuft, während heute anerkannt ist, daß Selen-Verbindungen antikarzinogen, antioxidativ und antiinflammatorisch wirken. Selen-Mangel führt bei Cocksackie-Virus-Infektion zu Keshan-Disease (Kardiomyopathie) und Kashin-Beck-Disease (Osteoarthropathie) und zum myxödematösen Kretinismus bei zusätzlichem Iodmangel. Gravierende Veränderungen des Selen-Haushaltes und der Selenoproteine werden andererseits sowohl bei bakteriellen und viralen Infektionen, als auch bei Autoimmun- sowie Tumorerkrankungen beobachtet. Darüber hinaus zeigen epidemiologische

Untersuchungen und Interventions-Studien, daß niedrige Selen-Versorgung ein Risikofaktor für das Auftreten verschiedener häufiger Tumorerkrankungen wie kolorektales Karzinom, Lungen-, Mamma-, Prostata- und Schilddrüsenkarzinom ist. Aber auch die Arteriosklerose mit koronarer Herzerkrankung und Myokardinfarkt scheinen bei niedriger Selen-Versorgung häufiger zu sein. Selen wurde daher schon sehr lange vor allem in der Naturheil- und Alternativmedizin eingesetzt, bevor klinische Interventionsstudien die Effizienz und Wichtigkeit der Selensubstitution bei verschiedenen Erkrankungen belegen konnten.

Als Bestandteil von Proteinen wurde Selen erst vor 25 Jahren entdeckt. Die meisten dieser Proteine sind

wesentlich an Redoxreaktionen, Hormonsystemen und der Reproduktionsfunktion beteiligt.

Zu den wichtigsten Selen-abhängigen Enzymen, die bisher beim Menschen nachgewiesen wurden, gehören vier Glutathionperoxidasen (cytosolische GPx, gastrointestinale GPx, Plasma GPx, Phospholipid-Hydroperoxid-GPx), drei Thioredoxinreduktasen (TrxR), drei Deiodasen (Typ I und II 5'-Deiodase und Typ III 5-Deiodase) und das im Plasma vorkommende Selenprotein P. In allen diesen Selenoproteinen liegt Selen in Form von Selenocystein vor, welches für die effiziente Katalyse der bekannten Selenoenzyme essentiell ist.

GPx-Enzyme konnten inzwischen in allen Geweben von Säugetieren nachgewiesen werden, in denen oxidative Prozesse ablaufen. Durch den Abbau von H_2O_2 zu H_2O und von Lipid- oder Cholesterol-Hydroperoxiden zu entsprechenden Alkoholen wirken diese Enzyme protektiv gegen Folgeprodukte reaktiver Sauerstoffverbindungen und sind somit am Schutz der Lipide und Biomembranen des Organismus vor Oxidation beteiligt. GPx-Enzyme beeinflussen außerdem den Leukotrien-, Thromboxan- und Prostaglandinstoffwechsel und haben damit entscheidende modulierende Wirkungen bei Entzündungsvorgängen.

Etwa 60–70 % des Plasma-Selens sind beim Menschen im Selenprotein P gebunden. Die Funktion dieses Proteins ist noch nicht eindeutig geklärt. Derzeit wird vermutet, daß es ein extrazelluläres antioxidatives Protein ist. Es ist am Abbau von Peroxynitrit beteiligt und kann auch Schwermetalle binden. Da Selenoprotein P mit hoher Affinität an Endothelzellmembranen binden kann, wird auch angenommen, daß es bei Aktivierung des Endothels lokal eine antioxidative Wirkung entfalten kann.

Die vor kurzem in höheren Säugetieren als Selenoprotein identifizierte Thioredoxinreduktase (TrxR) benötigt essentiell einen Selenocystein-Rest als vorletzte Aminosäure zur enzymatischen Funktion. Kürzlich wurden auch hier zwei weitere gewebespezifisch exprimierte Isoenzymformen identifiziert. Durch die breite Substratspezifität der TrxR können verschiedene natürliche und synthetische Verbindungen, oxidierte Peptide und Proteine reduziert werden. Thioredoxin (Trx) und Glutathion sind natürliche Substrate der TrxR. Sie sind nicht nur Regulatoren des zellulären Redoxstatus, sondern auch der Redox-regulierten Funktion von Transkriptionsfaktoren, sowie hormonell regulierter Kernrezeptoren.

Darüber hinaus ist Selen für die Funktion der Immunabwehr selbst offenbar bedeutsam. Phagozytose, Chemotaxis, Lymphozytenproliferation und Antikörpersynthese werden durch Selen positiv beeinflusst. Beim Menschen führte die tägliche Gabe von 200 µg Na-Selenit zu einer signifikanten Zunahme der „natural killer“ (NK)-Zell-Aktivität.

Aus diesen Erkenntnissen der Grundlagenforschung erklärt sich die breite klinische Bedeutung von Selen.

Da bei vielen Erkrankungen insbesondere entzündlicher und autoimmuner Genese vermehrt reaktive Sauerstoffspezies bzw. Sauerstoffradikale (Superoxid-anionen, Hydroperoxyd und Hydroxylradikale) freigesetzt werden, benötigt der Organismus einen erhöhten antioxidativen Schutz.

Die Radikalenbildung der Neutrophilen, die eigentlich der Abwehr von Bakterien und Viren dient, führt direkt zu einer Oxidation von Membranlipiden und somit zur Schädigung des eigenen Organismus, werden diese Radikale nicht abgefangen. Erste Studien zeigten einen positiven Einfluß von Selen auf den Krankheitsverlauf z. B. bei hämorrhagisch nekrotisierender Pankreatitis, schwerer Verbrennung und SIRS/Sepsis.

Bei schwerkranken Intensivpatienten findet man bereits am Aufnahmetag erniedrigte Serum-Selenspiegel sowie eine verminderte Plasma-GPx-Aktivität, die auffällig eine inverse Korrelation mit der Mortalität aufweisen. Diskutiert wird, daß eine Selen-Mangelernährung möglicherweise einen Prädispositionsfaktor für schwere Erkrankungen darstellen könnte. Eine rasche Umverteilung des Selens im Körper bzw. eine Ausscheidung über die Niere bei Beginn einer schweren systemischen Erkrankung wäre ebenso denkbar. In einer kürzlich publizierten Studie konnte jedoch keine vermehrte Selen-Ausscheidung im Urin von Sepsispatienten nachgewiesen werden. Unter längerer parenteraler Ernährung und Fortbestehen der Erkrankung sinkt der Selen-Spiegel weiter ab.

Es lag daher nahe, kontrollierte Studien durchzuführen, um zu zeigen, ob eine Selen-Substitution bei schwerer Sepsis den Krankheitsverlauf beeinflussen kann. Wir konnten in einer ersten prospektiven Placebo-kontrollierten Studie bei 42 Patienten mit schwerer Sepsis/SIRS (systemic inflammatory response syndrome) [APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II Score ≥ 15] zeigen, daß eine Selen-Substitution das akute Nierenversagen signifikant auf ein Drittel senken kann. Noch bedeutsamer war die signifikante Senkung der Mortalität bei Schwerstkranken (APACHE II Score > 20). In der mit 500 µg/d Selen substituierten Gruppe starben nur 4 von 11 Patienten gegenüber 8 von 9 in der Gruppe mit der bisher empfohlenen Selen-Substitution von 35 µg/d. Nur unter der höheren Selensubstitution normalisierten sich sowohl Plasma-Spiegel, als auch die GPx-Aktivität. In einer weiteren, davon unabhängig durchgeführten Dresdener Studie an chirurgischen Sepsispatienten konnte ein vergleichbares Ergebnis erzielt werden. Daher führen wir derzeit eine multizentrische Studie durch, nachdem diese ersten Ergebnisse alle bisherigen Erwartungen übertroffen haben.

Da bei Schwerkranken auch das Schilddrüsenhormon T3 vermindert ist, liegt die Vermutung nahe, daß eine verminderte Aktivität des Selenoenzymes 5'-Deiodase auch eine Folge des Selen-Mangels ist. Wir konnten zeigen, daß die Schilddrüsenhormonwerte sich parallel zum klinischen Zustand unter Selengabe normali-

sierten, aber unabhängig von der Deiodase-Aktivität. Selen und die Selen-abhängigen Enzyme haben infolge der bisherigen Ergebnisse aus der Grundlagenforschung in den letzten Jahren an klinischer Bedeutung zugenommen, woraus sich ein weites Feld von möglichen klinischen Anwendungen ergibt. Weitere prospektiv randomisierte Studien wären dringend notwendig. Ein Problem ist allerdings, daß Selen für die Pharmaindustrie als Arzneimittel wirtschaftlich nicht interessant genug ist und deshalb Sponsoren für breite klinische Studien kaum zu gewinnen sind. Andererseits stehen staatliche Fördermittel hierfür auch nicht zur Verfügung.

Literatur

Angstwurm, W. M., Schottdorf, J., Schopohl, J. et al., Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit. Care Med.* **27**, 1807 (1999)

Forceville, X., Vitoux, D., Gauzit, R. et al., Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit. Care Med.* **26**, 1536 (1998)

Good, H. E., Webster, N. R., Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit. Care Med.* **21**, 1770 (1993)

Köhrle, J., Brigelius-Flohe, Böck, A. et al., The essential trace element selenium and selenocysteine-containing proteins – recent developments. *Biochem. J.* 2000 (in press)

Neue Ansätze in der Estrogen-Therapie – Gewebespezifität über neue Rezeptoren und Liganden

Karl-Heinrich Fritzemeyer

Female Health Care Research, Schering AG, Berlin

Einleitung

Molekularbiologische Untersuchungen haben in den vergangenen zwei Jahrzehnten das Verständnis der molekularen Grundlage der Wirkung von Estrogen revolutioniert. Ein besseres Verständnis der Mechanismen hat es ermöglicht, neue Ansätze für eine selektive Estrogen-Therapie zu entwickeln. Die Mechanismen der Estrogenwirkung sollen vorgestellt und neue therapeutische Ansätze für eine selektive Estrogen-Therapie an Beispielen diskutiert werden.

Physiologische Zielorgane von Estrogen: 'Targets' für Hormon- bzw. Antihormontherapien

Estrogene kontrollieren eine Vielzahl physiologischer Funktionen in verschiedenen Geweben. Zu den Zielorganen der Estrogene zählen neben den weiblichen Reproduktionsorganen der Knochen, das Herz-Kreislauf-System, die Leber, das Zentralnervensystem und das Immunsystem. Diese nichtklassischen physiologischen Zielorgane unterliegen nicht nur bei der Frau, sondern auch beim Mann einer modulatorischen Wirkung durch Estrogene.

Auch männliche Reproduktionsfunktionen, wie die Spermatogenese und die Samenreifung, sind vom Vorhandensein eines funktionellen Estrogen-Rezeptors als Mediator der Estrogen-Wirkung abhängig. Über ihre physiologischen Wirkungen hinaus, spielen Estrogene bei einigen pathophysiologischen Prozessen eine Rolle. So können Estrogene bei der Entstehung und der Progression von Brust- und Endometriumkarzinom beteiligt sein.

Seit vielen Jahren werden Estrogene medizinisch eingesetzt. Ethinylestradiol ist als Komponente oraler Kontrazeptiva unerreichbar. In der Hormonersatztherapie werden vorwiegend natürliche Estrogene wie Estradiol, z. B. als Estradiolvalerat, und equine Estrogene angewandt. Außerdem bildete die Erkenntnis, daß Hormon-deprivation bei einem Teil von Brustkrebspatienten zur zeitweiligen Hemmung des Tumorwachstums führt, die Basis für die Entwicklung und die erfolgreiche Anwendung von Antiestrogenen, insbesondere von Tamoxifen, in der Tumorthherapie.

Da Estrogene eine Vielzahl physiologischer Funktionen in unterschiedlichen Organen beeinflussen, werden bei der therapeutischen Anwendung klassischer Estrogene und Antiestrogenen neben den gewünschten Effekten auch nicht gewünschte Effekte verursacht.

Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, nach selektiv wirksamen Estrogenen zu suchen. Die in den letzten 3 Jahrzehnten, seit dem erstmaligen Nachweis des Estrogen-Rezeptors durch E. Jensen, akkumulierten Erkenntnisse über den molekularen Mechanismus der Estrogen-Wirkung haben die Basis für die gezielte Suche und sogar das Design maßgeschneiderter Estrogene geliefert.

Gewebespezifische Estrogen-Wirkung über isosubtypspezifische Liganden der Estrogen-Rezeptoren

Estrogene üben ihre physiologische Wirkung über ein im Zellkern lokalisiertes Rezeptorprotein, den Estrogen-Rezeptor (ER) aus. Bis vor wenigen Jahren wurde angenommen, daß Estrogene über einen einzigen Rezeptor wirksam werden. Kürzlich wurde jedoch ER β als zweiter Subtyp des Estrogen-Rezeptors entdeckt (Kuiper et al. 1996). ER β besitzt große Ähnlichkeit mit dem klassischen ER, der seitdem als ER α bezeichnet wird.

Die beiden ERs weisen ein unterschiedliches Expressionsmuster auf. So dominiert ER α als Vermittler der Estrogen-Wirkung in den weiblichen Reproduktionsorganen, der Hypophyse, dem Thymus und der Leber. Dagegen wird ER β im Gehirn u. a. in Arealen exprimiert, denen Bedeutung für kognitive Prozesse und ‚Stimmung‘ zugewiesen wird. Weitere Organe, die vorwiegend ER β exprimieren, sind u. a. der Gastrointestinaltrakt, der Urogenitaltrakt und die Granulosazellen des Ovars. In Knochen und Gefäßsystem werden sowohl ER α und als auch ER β exprimiert.

Durch die unterschiedliche Organverteilung der beiden ERs ergibt sich die Option einer gewebe selektiven Estrogen-Therapie über subtypspezifische ER-Liganden.

Trotz der großen Ähnlichkeit zwischen den beiden ERs konnten inzwischen mit Hilfe moderner Methoden der Molekularbiologie, Proteinchemie und Strukturbiologie isosubtypische Liganden für die beiden ERs entworfen und hergestellt werden. Entsprechende Substanzen werden zur Zeit pharmakologisch untersucht.

Gewebespezifische Estrogenwirkung über selektive ER-Modulatoren (SERMs)

Die ERs als Mitglieder der Steroidrezeptor-Genfamilie sind lösliche kernständige Proteine, die als ligandenabhängige Transkriptionsfaktoren wirken. Bindung eines Agonisten führt zur Konformationsänderung des Rezeptorproteins, der Bildung eines Rezeptordimers und der Bindung des Rezeptordimers an eine spezifische Nukleinsäuresequenz im Promotor von Zielgenen. Durch die Bindung des Rezeptors an den Promotor eines Gens wird die Rekrutierung anderer essentieller Transkriptionsfaktoren und nachfolgend die Transkription des entsprechenden Gens ausgelöst.

Das ER-Protein besitzt, wie es für die Mitglieder der Steroidrezeptor-Genfamilie typisch ist, eine modulare Struktur. Wichtige Funktionsabschnitte des ER sind der DNA-bindende Bereich (DNA-Bindungsdomäne) und die Hormonbindungsdomäne. Die sogenannten Aktivierungsfunktionen, AF1 und AF2, stellen Bereiche des Rezeptormoleküls dar, an deren Oberfläche andere essentielle Transkriptionsfaktoren, sogenannte Kofaktoren, binden. Die beiden Aktivierungsfunktionen tragen in gen- und zelltypspezifischer Weise zur Transkriptionsaktivierung eines Gens bei. Agonisten, wie die natürlichen Hormone und synthetische Estrogene, induzieren eine Konformation des Rezeptors, die beide Aktivierungsfunktionen aktiv werden läßt. Reine Antagonisten, wie das neue Zeneca-Antiestrogen, inhibieren beide Transkriptions-Aktivierungsfunktionen des ER. Dagegen hemmen Partialagonisten/-antagonisten, wie Tamoxifen und Raloxifen, die Aktivität der Aktivierungsfunktionen in selektiver Weise. Daher können die Partialagonisten auf die Genexpression in einigen Geweben estrogenartig wirken. So wirkt z. B. das Raloxifen, der Wirkstoff des Präparats Evista, estrogenartig auf den Knochen und die Leber, während es wie ein Antiestrogen auf die Brust, den Uterus und das ZNS wirkt. Solche Substanzen werden wegen ihrer besondere Eigenschaften als SERMs (Selective Estrogen Modulators) bezeichnet. Sie stellen einen Ansatz für eine selektive Estrogen-Therapie dar.

Im Hinblick auf die Hormonerersatztherapie sind SERMs als Alternative zu den klassischen Estrogenen nicht geeignet. Die bisher bekannten SERMs wirken auf das ZNS als Antiestrogene. Dementsprechend gelingt es mit ihnen nicht, die frühen Symptome der Menopause, insbesondere Hitzewallungen und Stimmungsschwankungen zu therapieren. Die SERMs stellen dagegen eine Alternative für eine langfristige Estrogen-Ersatztherapie dar, wenn die Symptome der Menopause abgeklungen sind. Wie Estrogene hemmen SERMs die Knochenresorption. So ist das Raloxifen als Evista für die Prävention und Therapie der Osteoporose inzwischen in zahlreichen Ländern zugelassen.

Darüber hinaus werden zur Zeit Studien durchgeführt, um zu prüfen, ob SERMs, wie Tamoxifen und Raloxifen, für eine Prävention von Brustkrebskrankungen bei Frauen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko geeignet sind.

Wirkung von Estrogenen über nichtgenomische Effekte – Selektive Estrogene mit ausgeprägter antioxidativer Wirkung

Reaktive Sauerstoffradikale spielen bei zahlreichen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen eine Rolle. Um sich gegen toxische Effekte der hochreaktiven Sauerstoffradikale zu schützen, haben alle Organismen vielfältige Schutzmechanismen entwickelt. Therapie-

tisch werden Wirkstoffe mit Radikalfängereigenschaften erfolgreich bei Erkrankungen eingesetzt, bei denen reaktive Sauerstoffe entstehen.

Aufgrund ihrer phenolischen Struktur wirken Estrogene zumindest *in vitro* antioxidativ. Man vermutet, daß diese Eigenschaft der Estrogene zu ihrer gefäß- und neuroprotektiven Wirkung beiträgt. Im Gegensatz zu den klassischen Estrogeneffekten, ist die antioxidative Wirkung von Estrogenen unabhängig von ihrer Rezeptoraffinität. Diese Tatsache wurde ausgenutzt, um ein Estrogen zu entwickeln, das mindestens vergleichbare antioxidative Wirkung wie Estradiol ausübt, dabei aber bei rezeptorvermittelten Prozessen nur schwach wirkt. Dieser neue Wirkstoff (J 861) wurde durch die Forschung von Jenapharm hervorgebracht und befindet sich jetzt in einer frühen klinischen Erprobungsphase als ein, nichtfeminisierendes selektives Estrogen' für den alternden Mann mit ausgeprägten kognitionsfördernden Eigenschaften.

Schlußfolgerung

Die Analyse des molekularen Mechanismus der Estrogen-Wirkung hat Wege zur Auffindung neuer selektiver Estrogene aufgezeigt. Neben den beschriebenen Mechanismen, über die Gewebeselektivität erreicht wird, zeichnen sich weitere Ansätze, z. B. über membranständige Rezeptoren für Estrogene, ab. Hieraus könnten sich neue Perspektiven für eine Ausweitung der therapeutischen Anwendung von Estrogenen ergeben.

Literatur

Kuiper, G. G. J. M., Inmark, E., Telto-Huikko, M. et al., Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 5925 (1996)

Regulation der GnRH-Sekretion und Möglichkeiten zur pharmakologischen Beeinflussung

Hubertus Jarry

Abteilung für klinische und experimentelle Endokrinologie, Universitätsfrauenklinik der Universität Göttingen

Die Sekretion von Gonadotropin-Releasing Hormones (GnRH) aus dem Hypothalamus in die Portalgefäße des Hypophysenstiels ist von zentraler Bedeutung für die Reproduktion in beiden Geschlechtern. Die Freisetzung von GnRH erfolgt in Sekretionsschüben (= GnRH-Pulse), deren Frequenz und Amplitude durch gonadale Steroide beeinflusst werden. Die GnRH-Pulse stimulieren die Freisetzung der Gonadotropine Luteinizing Hormone (LH) und Follicle Stimulating Hormone (FSH) aus der Adenohypophyse. Aufgrund der Tatsache, daß jeder GnRH-Puls einen LH-Puls auslöst, kann durch Bestimmung der Sekretionsdynamik von LH indirekt die Aktivität der hypothalamischen GnRH-Neurone beobachtet werden.

In der Follikelphase treten die LH-Pulse in 90minütigen Intervallen auf, während in der Lutealphase die Frequenz auf etwa 1 Puls pro 240 min abnimmt. Diese Häufigkeit der LH-Pulse ist auch im Mann zu beobachten. In der Frau lösen noch weitgehend unbekannte

Mechanismen zusätzlich den präovulatorischen Sekretionsschub von GnRH bzw. LH aus (= LH-surge). Wenn die Produktion der gonadalen Steroide im Klimakterium sistiert, entfällt die negative rückkoppelnde Wirkung der Steroide auf die GnRH-Neurone, woraus besonders deutliche LH-Pulse in hoher Frequenz resultieren. Neonatal ist die GnRH-Sekretion bis zu einem Alter von 3 Monaten hoch, um dann auf nicht nachweisbare Werte abzusinken. Mit Beginn der Pubertät wird wieder vermehrt GnRH sezerniert, so daß die Reaktivierung der pulsatilen GnRH-Sekretion das initiale Ereignis der Pubertät darstellt. Eine unzeitig frühe Aktivierung führt zur Pubertas praecox, eine verspätete Aktivierung dagegen zur Pubertas tarda.

In jedem Individuum gibt es nur ca. 1500 GnRH-Neurone. Bis heute ist strittig, welche Mechanismen dazu führen, daß diese wenigen Neurone in regelmäßigen Abständen und synchronisiert GnRH in die Portalgefäße freisetzen. Prinzipiell könnte die phasische und

synchrone Aktivität eine intrinsische Eigenschaft der GnRH-Neurone sein. Alternativ könnten andere, die GnRH-Neurone kontaktierende Nervenzellsysteme diese Aufgabe erfüllen. Weiter ist die Frage offen, ob gonadale Steroide einen unmittelbaren Einfluß auf GnRH-Neurone ausüben oder ob ihre rückkoppelnden Effekte durch andere, steroidrezeptive Neurone vermittelt wird. Für das neuronale Netzwerk, das schließlich zur pulsatilen GnRH-Sekretion führt, ist der Begriff „GnRH-Pulsgenerator“ (GnRH-PG) geprägt worden.

Intrahypothalamische γ -Aminobuttersäure (GABA)-Neurone sind ein essentieller Teil dieses Netzwerkes. Sie üben einen tonisch inhibitorischen Einfluß auf die GnRH-Neurone aus. Für eine kurze Zeitspanne sinkt die GABA-Sekretion drastisch ab, wodurch die GnRH-Neurone synchron aktiv werden können. Die Taktgeberfunktion der GABA-Neurone wird durch pharmakologische Manipulationen, mit denen der GABA-Tonus konstant hoch gehalten wird, bestätigt. So unterdrückt der GABA_A-Agonist Muscimol die GnRH-Pulse und den präovulatorischen LH-surge. Viele GABA-Neurone sind estrogenrezeptiv, so daß über diese Neurone die Rückkopplung von Estradiol vermittelt wird. Eine zweite inhibitorische Komponente des GnRH-PGs sind β -endorphinerge Neurone. Analog zu GABA hemmen hohe hypothalamische Opiat-Spiegel die pulsatile und präovulatorische GnRH-Sekretion. Eine Taktgeberfunktion für den GnRH-PG haben endorphinerge Neurone aber nicht. GnRH-Neurone werden durch GnRHerge Synapsen kontaktiert werden. Über die zentralnervösen Effekte von GnRH liegen zur Zeit widersprüchliche Befunde vor. Fest steht aber, daß eine Autoregulation des GnRH-PGs durch GnRH existiert.

Ohne pulsatile GnRH-Sekretion ist keine LH-Freisetzung aus der Hypophyse möglich. An dieser Stelle soll auf die Effekte von GnRH auf die FSH-Ausschüttung nicht eingegangen werden. Durch die eleganten Experimente von Ernest Knobil wurde klar bewiesen, daß der GnRH-Rezeptor nur dann seine biologische Funktion erfüllt, wenn er durch GnRH-Pulse in physiologisch richtiger Frequenz aktiviert wird. Konstante GnRH-Spiegel hemmen die LH-Sekretion durch „Down-Regulation“ des GnRH-Rezeptors. Die LH-Pulse stimulieren die endokrine Aktivität der Gonaden, wodurch die Rückkopplung des hypothalamo-hypophysio-gonadalen Regelkreises durch die Sexualsteroidkomplettiert wird.

Betrachtet man die Pathophysiologie des GnRH-PGs, so ist eine Erkrankung aufgrund einer erhöhten GnRH-Sekretion nicht bekannt, wenn man von der Pubertas praecox, die durch eine Reaktivierung der GnRH-Sekretion im falschen Alter hervorgerufen wird, absieht. Umgekehrt ist aber leicht verständlich, daß eine fehlende GnRH-Sekretion zu deutlichen Ausfallerscheinungen führt. Das Kallmann-Syndrom ist eine primäre GnRH-Insuffizienz, die auf dem Fehlen der GnRH-Neurone im Hypothalamus beruht. Während der Embryogenese wandern die GnRH-Neuronen von der Riechhirn-An-

lage in den Hypothalamus. Diese Migration ist bei Kallmann-Patienten gestört. Erhebliche klinische Bedeutung in der Reproduktionsmedizin haben sekundäre Formen der Dysfunktion des GnRH-PGs, die wahrscheinlich aus der Hyperaktivität einer inhibitorischen Komponente des GnRH-PGs resultieren.

In beiden Situationen bieten sich zwei Strategien an: Entweder man wendet eine kausale Therapie zur Wiederherstellung der fehlenden GnRH-Sekretion an oder die Ausfallerscheinungen des GnRH-Mangels werden durch Applikation von GnRH selbst kompensiert. Für die erstgenannte Therapie gibt es zur Zeit nur wenige Ansätze.

Tierexperimentell konnte durch Implantation immortalisierter GnRH-Neurone in der hypogonadalen Maus die Hypophysenfunktion wiederhergestellt werden. Wie bereits erwähnt, sind Opiate und das GABAerge System wesentliche inhibitorische Komponenten des GnRH-PGs. Experimente in Nagern zeigten, daß durch Gabe des Opiatantagonisten Naloxon der präovulatorische LH-Peak frühzeitig ausgelöst werden kann. Diese Beobachtung führte zur These, daß in einem Kollektiv von Patientinnen mit sekundärer hypothalamischer Amenorrhoe, die eine Ausdauersportart betreiben, einen erhöhten Opiat-Tonus aufweisen. In diesen Patientinnen führten Gaben von Naltrexon zur Normalisierung der Zyklusaktivität. Noch keine therapeutische Verwendung im Bereich der Reproduktionsmedizin haben GABAerge Substanzen gefunden. Für eine anticonvulsive Therapie wird aber der GABA-Transaminase-Hemmer Valproat verwendet. Aufgrund des konstant hohen GABA-Spiegels ist es daher leicht verständlich, daß Epilepsie-Patientinnen unter Valproat-Behandlung Zyklusstörungen aufweisen. Es gibt ferner Berichte über Pubertätsstörungen bei Kindern unter Valproat-Behandlung.

Die zweite Strategie zur Kompensation einer Dysfunktion des GnRH-PGs ist die Applikation des Peptides in physiologischer Frequenz, wodurch die Gonadotropin-Sekretion wieder normalisiert wird. Soll dagegen die LH-Sekretion langfristig gehemmt werden, kann durch kontinuierlich erhöhte GnRH-Spiegel eine Downregulation des hypophysären GnRH-Rezeptors erreicht werden. Beispiele hierfür sind die Therapie der Pubertas praecox und von steroidabhängigen Tumoren wie Prostatacarcinom. Bisher ist man davon ausgegangen, daß die Therapie mit GnRH-Analoga lediglich die GnRH-Rezeptoren in der Hypophyse involviert. Da GnRH-Neurone aber GnRHerge Synapsen erhalten und damit GnRH-Rezeptoren exprimieren, besteht die Möglichkeit, daß GnRH-Analoga auch im Hypothalamus wirken. In tierexperimentellen Untersuchungen konnte diese Wirkmöglichkeit bereits demonstriert werden. Neuentwickelte GnRH-Antagonisten wie Cetrorelix könnten die mit Nebenwirkungen behafteten Agonisten bald völlig ersetzen. Beide Wirkstoffgruppen haben aber aufgrund der Peptidstruktur aufwendige Applikationsformen. Durch gezieltes Moleküldesign sind daher

erste nicht-peptiderge GnRH-Analoga entwickelt worden, die orale Darreichungsformen ermöglichen werden.

Zusammenfassend können also zwei prinzipielle Ansätze zur Therapie der Dysfunktion des GnRH-PGs oder der Verhinderung der GnRH-Wirkung beschränkt werden:

I) die periphere Gabe von GnRH-Analoga mimiert oder blockiert die GnRH-Wirkung, II) durch nicht-peptiderge GnRH-Analoga und selektive Neurotransmitter-Antagonisten könnte im Hypothalamus unmittelbar in die Neurotransmission des GnRH-PGs eingegriffen werden.

Vasopressin-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten – neue Perspektiven zur Therapie von hepato-renalem Syndrom und Hyponatriämie

Alexander L. Gerbes

Medizinische Klinik II im Klinikum des Ludwig-Maximilians-Universität, Großhadern, München

Bei Leberzirrhose führen periphere Vasodilatation und eine Verminderung des zentral effektiven Blutvolumens zur renalen Natriumretention. Bei zunehmender Schwere des Krankheitsbildes zeigt sich dann eine renale Vasokonstriktion bei Einschränkung der Kreatinin-Clearance. Am Ende des Spektrums steht das hepato-renale Syndrom (HRS), das in eine rasch fortschreitende Form (Typ I) und eine chronische Form (Typ II) unterteilt wird. Das hepato-renale Syndrom, insbesondere Typ I ist mit einer infausten Prognose vergesellschaftet. Der einzige bisher etablierte therapeutische Ansatz mit nennenswertem Langzeiterfolg ist die Lebertransplantation. Die verbesserte Nierenfunktion nach Lebertransplantation wie auch die gute Funktion transplantierten Nieren von Patienten mit hepato-renalem Syndrom unterstreichen den meist funktionellen Charakter des HRS. Ausgehend von diesen Überlegungen wurde daher versucht, durch Beeinflussung der initialen hämodynamischen Veränderungen das HRS zu behandeln. Hierbei konnte mit Vasokonstriktoren, insbesondere mit Vasopressin-1 Rezeptor-Agonisten eine Verringerung der peripheren Vasodilatation, begleitet von einer Verbesserung des effektiven Blutvolumens erzielt werden. Dies führte auch zu einer Verbesserung der glomerulären Filtrationsrate und der renalen Natriumausscheidung. Erste publizierte Arbeiten zeigen, daß bei etwa der Hälfte von Patienten mit HRS Typ I eine Wiederherstellung der Nierenfunktion durch pharmakologische Therapie, nämlich durch den Einsatz von Vasokonstriktoren zu erreichen ist. Dies stellt als Überbrückung bis oder ggf. auch als Alternative zur Lebertransplantation einen wesentlichen therapeutischen Fortschritt dar.

Bei Leberzirrhose, aber auch bei Herzinsuffizienz und beim Syndrom der inadäquaten Sekretion des anti-diuretischen Hormons (SIADH) ist die Hyponatriämie eine häufige Komplikation, die den Einsatz von Diuretika limitiert. Daher, und auch weil die Mobilisation von freiem Wasser das primäre therapeutische Ziel darstellt, wäre die Anwendung von Aquaretika häufiger der Anwendung von Diuretika vorzuziehen. Bisher sind jedoch Aquaretika nicht zum klinischen Einsatz zugelassen. Erste vielversprechende Ergebnisse einer Phase-II-Untersuchung mit einem Vasopressin-2-Rezeptor-Antagonisten liegen nun vor. Diese oral applizierbare Substanz kann rasch zu einer Erhöhung der Ausscheidung freien Wassers, Normalisierung der Serumnatriumkonzentration und Abnahme des Körpergewichts führen. Allerdings ist auf Nebenwirkungen einer Dehydration zu achten. Aquaretika stellen somit eine interessante therapeutische Perspektive für die nahe Zukunft dar.

Literatur

- [1] Arroyo, V., Gines, P., Gerbes, A. L. et al., Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepato-renal syndrome in cirrhosis. *Hepatology* **23**, 164 (1996)
- [2] Gerbes, A. L., Aszites-Therapie bei Lebererkrankungen. Richtlinien der GASL/DGVS. *Z Gastroenterol.* **25**, 295 (1997)
- [3] Gülberg, V., Bilzer, M., Gerbes, A. L., Longterm therapy and retreatment of hepato-renal syndrome type I with ornipressin and dopamine. *Hepatology* **30**, 870 (1999)
- [4] Gerbes, A. L., Gülberg, V., Decaux, G. et al., VPA-985, an orally active vasopressin receptor antagonist improves hyponatremia in patients with cirrhosis – a double-blind placebo controlled multicenter trial. *Hepatology* **30**, 419 A (1999)

Wachstumshormon-Rezeptor-Antagonist

Christian J. Strasburger, Katherine M. Morrison, Zida Wu und Martin Bidlingmaier

Arbeitsgruppe Neuroendokrinologie, Medizinische Klinik Innenstadt
der Ludwig-Maximilians-Universität, München

Eingehende Studien der Struktur-Funktions-Beziehung des Wachstumshormon-(GH)-Moleküls und seines Rezeptors haben zu einem sehr präzisen, durch Röntgenkristallographie nahezu mechanischen Verständnis davon geführt, wie ein GH-Molekül durch Dimerisierung zweier Rezeptormoleküle die Signaltransduktion des Hormons an Zielzellen einleitet.

Dieses Arbeiten, die im wesentlichen von der Arbeitsgruppe um Jim Wells bei der Firma Genentech vorgenommen wurden, legten die Grundlage für die Entwicklung eines sich rational aus diesen Einblicken herleitenden Wachstumshormon-Rezeptor-Antagonisten. Als erste Substanz ist Pegvisomant für klinische Prüfungen verfügbar geworden, inzwischen wird ein diese Substanz betreffender Zulassungsantrag für die Indikation Akromegalie von der FDA bearbeitet.

Es handelt sich dabei um ein mutiertes GH-Molekül, das ebenso wie seine Muttersubstanz aus 191 Aminosäuren besteht. An der ersten Rezeptorbindungsstelle des humanen (h)GH, an der mehr als 30 Aminosäureseitenketten des natürlichen hGH mit dem Rezeptormolekül interagieren, wurden 8 Aminosäuren ausgetauscht, um die Affinität zum Rezeptor zu erhöhen. An Bindungsstelle II wurde in Aminosäureposition 120 eine Mutation zu Lysin vorgenommen, durch die eine in der dreidimensionalen Struktur korrekte Dimerisierung zweier hGH-Rezeptormoleküle nicht länger möglich ist. Auf diese Weise ist Pegvisomant geeignet, GH-Rezeptoren an Zielzellen zu blockieren, ohne eine Signaltransduktion zu erlauben. Zur Verlängerung der Plasmahalbwertszeit und zur Verminderung der Antigenizität des mutierten GH-Moleküls wurde der Antagonist mit Polyethylenglykolresten besetzt. Hierdurch verlängert sich seine Halbwertszeit von 16 Minuten bei Wildtyp-Wachstumshormon auf nahezu 100 Stunden.

1997 wurden in einer präklinischen Phase I Studie 36 gesunde Probanden mit Pegvisomant in vier verschiedenen Dosierungen oder mit Placebo behandelt. Es zeigte sich eine klar dosisabhängige Verminderung der zirkulierenden Spiegel des IGF-I (Insulin-like Growth Factor I, früher: Somatomedin C), das als bester Monitoring-Parameter der GH-Effekte gilt. In der höchsten Dosisgruppe von einer einzelnen Injektion von 1,0 mg/kg Körpergewicht konnte ein leichter Anstieg der endogenen hGH-Spiegel beobachtet werden (Thorner et al. 1984). In einer nachfolgenden Phase II Studie wurde das Medikament in Rotterdam 6 akromegalen Patienten

subkutan verabreicht, auch hier zeigte sich ein deutlicher Abfall des IGF-I.

Ab 1998 wurden in einer Phase IIb Studie 46 akromegale Patienten zunächst für die Dauer von 6 Wochen mit Placebo, 30 oder 80 mg pro Woche behandelt, nachfolgend wurden die Patienten auf tägliche subkutane Injektionen umgesetzt. Die Wirksamkeit der Medikation ist durch die vollständige Blockade der GH-Rezeptoren determiniert und wird daher durch ihre pharmakologischen Talspiegel bestimmt. Hierdurch ist zu erklären, daß sich die tägliche Dosierung als deutlich wirksamer erwies, als die wöchentliche Applikation der gleichen Gesamtdosis. Zum Ende der Extension mit täglicher Medikamentengabe in der Phase IIb Studie konnte bei mehr als 80 % der behandelten Patienten der IGF-I Spiegel in den Normbereich abgesenkt werden.

Zwischenzeitlich ist eine an 112 akromegalen Patienten in Europa und den USA vorgenommene Phase III Studie abgeschlossen und publiziert worden (Tainer et al. 2000). In dieser Studie war es möglich, bei 89 % der mit einer Dosis von 20 mg pro Tag behandelten Patienten die IGF-I Spiegel zu normalisieren. Andere GH-abhängige biochemische Parameter, wie IGFBP3 (IGF-Bindungsprotein 3) oder die säurelabile Untereinheit (ALS) des Ternärkomplex, in dem IGF-I zirkuliert, zeigten ebenfalls einen dosisabhängigen Abfall. Darüber hinaus zeigte sich eine dosisabhängige Verbesserung eines klinischen Befindlichkeits-Score und eine signifikante Abnahme des Fingerumfanges, der typischerweise bei der Akromegalie als Ausdruck der Krankheitsaktivität ansteigt. Im Anschluß an die Phase-III-Studie konnte durch individuelle Dosistitration eine Normalisierung der IGF-I-Serumspiegel bei bis zu 95 % der Patienten erreicht werden.

Das Therapiekonzept einer Blockade der peripheren Wachstumshormonrezeptoren zur Behandlung eines GH-Exzeß ist neu, durch das rationale Drugdesign eines sich aus dem natürlichen Wachstumshormon ableitenden GH-Rezeptorantagonisten kann dieses Konzept erstmalig realisiert werden. Die Behandlung erweist sich als anderen bekannten Therapien der Akromegalie hinsichtlich ihrer Wirksamkeit deutlich überlegen.

Die Sicherheit der Behandlung, unter der es bei der Mehrzahl der Patienten zu einem Anstieg der endogenen hGH-Spiegel kommt, muß in längerfristigen Studien und Anwendungsbeobachtungen weiter etabliert

werden. Bei zwei der insgesamt bisher längerfristig mit Pegvisomant behandelten 154 akromegalen Patienten kam es zu einer signifikanten Größenzunahme der somatotrophen Hypophysenadenome. Ob es sich dabei um die Reflektion des natürlichen Verlaufs dieser Adenome handelt, oder ob diese Größenzunahme durch die periphere Rezeptorblockade begünstigt wurde, muß in weiteren prospektiven Untersuchungen geklärt werden. Theoretisch ist vorstellbar, daß sich durch periphere GH-Rezeptorblockade ein Phänomen analog zu einem Nelson-Tumor nach bilateraler Adrenalectomie bei Morbus Cushing einstellt, hierfür gibt es bisher jedoch keine Evidenz.

Während durch Somatostatinanaloga nur maximal 65 % der akromegalen Patienten hinsichtlich ihrer Wachstumshormon- und IGF-I-Spiegel normalisiert werden können, gelingt die Normalisierung der IGF-I Spiegel durch den GH-Rezeptorantagonisten in nahezu allen Patienten.

Die Entwicklung des GH-Rezeptorantagonisten durch rationales Drug Design auf dem Boden des Verständnisses der Struktur-Funktions-Beziehung des Proteohormons Wachstumshormon und seiner Rezeptoren legt im Hinblick auf die Behandlung der Akromegalie ein Pharmakon in die Hand des klinischen Endokrinologen, das die bisher bekannten Therapeutika an Wirksamkeit deutlich übertrifft. Das rationale Design dieses Medikaments ist als beispielhaft für die künftige Entwicklung auf dem Gebiet der Proteohormone und Zytokine anzusehen.

Literatur

Thorner, M. O., Strasburger, C. J., Wu, Z. et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **84**, 2098 (1999)

Trainer, P. J., Drake, W. M., Katznelson, L. et al., *N. Engl. J. Med.* **342**, 1171 (2000)

Glucagon-like Peptide 1 – vom Labor zur Klinik

Burkhard Göke

Medizinische Klinik II, Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, München

Das insulinotrope Darmhormon Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1) wird zur Zeit intensiv wegen seines therapeutischen Potentials bei Diabetes mellitus Typ 2 beforscht. Sowohl das natürlich vorkommende regulatorische Peptid, rekombinant in großen Mengen herstellbar, als auch Peptid-Derivate (Analoge) sowie Substanzen, die den Abbau des GLP-1 im Plasma hemmen, sind in Entwicklungsprogrammen pharmazeutischer Unternehmen in Erprobung. Aktivitäten sind zur Zeit von den Firmen Lilly, Roche, Novartis, Novo, Bionebaska und auch anderen bekannt.

GLP-1 ist ein interessanter Kandidat für die Diabetes-therapie, da es Glukose-abhängig die Insulin-Freisetzung von endokrinen Pankreas direkt in die Pfortader stimuliert, die Glukagon-Freisetzung hemmt, die Magenentleerung verzögert und möglicherweise auch die Nahrungsaufnahme reduziert.

GLP-1 wird von den L-Zellen des Darms, insbesondere im tieferen Dünndarm, produziert und nach Nahrungsaufnahme freigesetzt. Insbesondere Glukose, aber auch Fett und Aminosäuren in der Mischmahlzeit regen

seine Freisetzung an. Das Darmhormon ist zusammen mit dem verwandten Peptid GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide) für den Inkretineffekt verantwortlich. Dieser Effekt beschreibt das Phänomen, daß bei Gesunden nach oraler Aufnahme von Glukose um etwa 50 % mehr Insulin freigesetzt wird als nach intravenöser Zufuhr, obwohl die Glukose-Plasmaspiegel gleichauf liegen. Dieser Effekt wird durch sogenannte Clamp-Studien quantifizierbar. Bei Typ 2-Diabetikern ist dieser Inkretineffekt gestört und GIP verliert seine Wirkung, während GLP-1 weiter effektiv ist.

Nach intravenöser Zufuhr ist GLP-1 in der Lage, den Blutzucker nicht nur in der frühen Phase des Diabetes sondern auch bei Patienten mit Sekundärversagen zu normalisieren. GLP-1 vermag die gestörte Insulin-Sekretion auf etwa 70 % von normalen Kontrollen anzuheben. Subkutane Injektionen zeigen aber nur passagere Effekte. Das Problem ist, daß das natürliche Peptid im Plasma rasch abgebaut wird (Halbwertszeit (HWZ) < 15 min). Neben der neutralen Endopeptidase 24.11 ist vor allem die Dipeptidylpeptidase IV (DPP IV) für diesen

raschen Abbau verantwortlich. Mit Inhibitoren der DPP IV, wie zum Beispiel NVP-DPP728 oder Isoleucin-Thiazolidin, kann man die HWZ des endogen freigesetzten, aber auch parenteral zugeführten Peptids erheblich verlängern. Durch Modifikationen der N-Terminus (z. B. His1 und Ala2) läßt sich ebenfalls die HWZ und die Wirkung verbessern. Ein langwirksames Derivat NN2211, bisher nur an Schweinen geprüft, weist bereits eine HWZ von 14 h nach s.c. Gabe auf. Ob GLP-1, in welcher Formulierung auch immer, für die klinische Praxis wichtig wird, muß sich noch in Langzeitstudien herausstellen. Bisher haben wir einen „solid proof of principle“ für das Wirkprinzip und zahlreiche, vielversprechende Ansätze, die Probleme der Bioverfügbarkeit zu lösen.

Literatur

Byrne, M. M., Gliem, K., Wank, W. et al., Glucagon-like peptide 1 improves the ability of the β -cell to sense and respond to glucose in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes* **47**, 1259 (1998)

Gutniak, M., Orskov, C., Holst, J. J. et al., Antidiabetogenic effects of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* **326**, 1316 (1992)

Kiefer, J. T., Habener, J. F., The glucagon like peptides. *Endocr. Rev.* **20**, 876 (1999)

Nauck, M. A., Heimesaat, M. M., Orskov, C. et al., preserved incretin activity of glucagon-like peptide (1 (7–36) amide) but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* **91**, 301 (1993)

Schirra, J., Katschinski, M., Weidmann, C., Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J. Clin. Invest.* **97**, 92 (1996)

Schirra, J., Leicht, P., Hildebrand, P. et al., Mechanism of the antidiabetic action of subcutaneous GLP-1 in NIDDM. *J. Endocrinol.* **156**, 177 (1998)

Bisphosphonate – Neues in deren Wirkmechanismen und Anwendungen

Herbert Fleisch

Professor emeritus der Universität Bern, Pully (Schweiz)

Chemie

Die Bisphosphonate sind analoge des Pyrophosphats, die eine P-C-P statt einer P-O-P Struktur aufweisen. Sie sind seit langem bekannt, wobei die erste Synthese durch deutsche Chemiker im Jahr 1865 erfolgte. Diese Substanzen wurden in der Industrie für verschiedene Zwecke eingesetzt, u. a. gegen Kesselsteinbildung. Die P-C-P Struktur ermöglicht zahlreiche Variationen, z. B. durch Änderung der beiden Seitenketten am Kohlenstoffatom. Jedes Bisphosphonat hat seine eigenen physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften. Gemeinsam haben sie die Eigenschaft, völlig resistent zu sein gegen enzymatische Spaltung, dies im Gegensatz zu Pyrophosphat.

Bisphosphonate binden sich an Kalziumphosphat-Kristalle und hemmen deren Bildung, Aggregation und Auflösung. Ihre Affinität zu diesem Salz ist die Grund-

lage für ihre Anwendung als Skelettmarker und als Hemmer der ektopen Verkalkung und der Knochenresorption.

Hemmung der Verkalkung

Beim Tier hemmen die Bisphosphonate experimentell induzierte Weichteilkalzifikationen und -ossifikationen, Harnsteine und Zahnstein. Im Gegensatz zu Pyrophosphat, das seine Wirkung nur nach parenteraler Verabreichung entfaltet, sind sie auch nach oraler Verabreichung wirksam. Höhere Dosen von Bisphosphonaten hemmen im Gegensatz zu Pyrophosphat auch die Mineralisation normaler verkalkter Gewebe wie Knochen und Zähne.

Die Mineralisationshemmung in vivo wird vermutlich durch die physikalisch-chemische Hemmung der

Kristallbildung erklärt. Ein Bisphosphonat, Etidronat, wird gelegentlich, mit unterschiedlicher Wirkung, zur Behandlung heterotoper Verknöcherungen verabreicht. Bisphosphonate werden auch Zahnpasten zur Hemmung des Zahnsteins zugesetzt.

Hemmung der Knochenzerstörung

Bisphosphonate hemmen die Knochenzerstörung sowohl in Osteoklasten-, wie auch in Knochenkulturen. In vivo hemmen sie den Knochenabbau in intakten Tieren, wie in solchen mit experimentell induzierter Osteolyse.

In intakten Tieren wird die Knochenresorption, wie auch deren Bildung gehemmt, was zu einem verminderten Knochenumbau führt. Die Verminderung der Bildung ist sehr wahrscheinlich nicht durch eine direkte Wirkung der Bisphosphonate auf diesen Prozeß bedingt, sondern ist sekundär zu der kleineren Osteolyse. Die Kalzium-Bilanz sowie die Knochenmenge sind beim wachsenden Tier erhöht.

In verschiedenen Modellen experimentell induzierter erhöhter Knochenzerstörung und induziertem Knochenverlust zeigten sich die Bisphosphonate wirksam. So hemmen sie die Hyperkalzämie und Hyperkalziurie bei Ratten, denen Tumorzellen subkutan implantiert wurden. Sie verminderten auch die Knochenmetastasen, wenn die Tumorzellen arteriell infundiert wurden. In verschiedenen Osteoporose-Modellen, wie u. a. Immobilisierung, Ovariectomie und Kortikosteroid-Verabreichung, wird der Knochenverlust durch Bisphosphonate gebremst.

Relative Wirksamkeit von Bisphosphaten

Die Dosis, die zur Hemmung der normalen und ektopten Mineralisation führt, ist bei den verschiedenen beim Menschen gebrauchten Bisphosphonaten sehr ähnlich. Im Gegensatz dazu variiert die Stärke der Wirkung auf die Knochenresorption bei der Ratte zwischen 1 und 10'000, beim Menschen etwas weniger.

Bisher konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Struktur und Effekt aufgezeigt werden. Die Bindung an das Mineral scheint durch die P-C-P Struktur selbst, die biologische Aktivität durch die Seitenketten und damit durch die dreidimensionale Struktur bedingt.

Wirkmechanismen von Bisphosphonaten

Große Fortschritte sind in den letzten Jahren in diesem Gebiet erzielt worden. Bisphosphonate vermindern einerseits die Zahl der Osteoklasten, andererseits hemmen sie deren Aktivität.

Die Verminderung der Zahl ist einerseits bedingt durch die Bildung eines Hemmers der Osteoklastenrekritierung durch die Osteoblasten. Andererseits induzieren die Bisphosphonate auch eine Steigerung der Apoptose der Osteoklasten.

Die Hemmung der Aktivität ist bedingt durch zelluläre Effekte nach der Aufnahme dieser Substanzen durch die Osteoklasten selbst. Diese Aufnahme findet nach Auflösung von bisphosphonathaltigem Knochen, oder nach deren preferentieller Ablagerung unter den Osteoklasten statt. Die osteoklastären morphologischen Veränderungen umfassen u. a. das Zytoskelett und den Bürstensaum. Biochemisch sind sowohl die Säureextrusion, wie auch verschiedene Enzymaktivitäten betroffen.

Vor kurzem wurde beschrieben, daß die Bisphosphonate in zwei Kategorien aufgeteilt werden können. Diejenigen, die Stickstoff enthalten, wie Pamidronat, Alendronat und Risedronat, greifen in den Cholesterolfstoffwechsel ein, wo sie die Pyrophosphatfarnesylysynthase hemmen. Dies führt zu einer Verminderung der Prenylierung von Proteinen, was zu Altrationen der Zellfunktion führt. Im Gegensatz dazu werden Bisphosphonate, die kein Stickstoff enthalten und Pyrophosphat gleichen, wie Etidronat oder Clodronat, in die Phosphatkette von Adenosintriphosphat (ATP)-enthaltenden Substanzen eingebaut, was zu Apoptose führt.

Klinische Anwendungen

Die Bisphosphonate werden hauptsächlich bei Krankheiten mit erhöhter Knochenzerstörung und/oder mit Knochenverlust angewendet. Unter denen sind der Morbus Paget, die tumorbedingten Knochenkrankungen und die Osteoporose die häufigsten Indikationen.

Vitamin D-Analoga und Knochen

Reinhold G. Erben^a, Karin Weber^a, Ute Zeitz^a, Desi W. Soegiarto^b, Nadja Grübel^a, Jerzy Adamski^b und Rudi Balling^b

Institut für Tierphysiologie^a, Ludwig-Maximilian-Universität München, und Institut für Säugetiergenetik^b, GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Neuherberg

Obwohl eine Reihe von klinischen Studien gezeigt hat, daß 1α -hydroxylierte Vitamin D-Metaboliten wie das natürlich vorkommende D-Hormon $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ (Calcitriol) oder der synthetische Metabolit 1α -Hydroxyvitamin D₃ den Knochenverlust bei Patienten mit etablierter Osteoporose inhibieren und die Frakturhäufigkeit reduzieren können [1, 2], ist die Rolle von Vitamin D-Metaboliten in der Therapie der Osteoporose immer noch umstritten. Die physiologische Funktion von Calcitriol besteht wahrscheinlich im wesentlichen in der Stimulation der aktiven intestinalen Absorption von Kalzium und Phosphor. Dieser Effekt verursacht auch die potentiellen Nebenwirkungen einer Therapie mit Vitamin D-Metaboliten, Hyperkalzämie und Hyperkalziurie, was insbesondere in Ländern mit traditionell hoher Kalziumaufnahme von Bedeutung ist.

Im Tierexperiment sind Vitamin D-Metaboliten in der Lage, die Entstehung des bei Ratten nach der Ovariectomie auftretenden Knochenverlusts vollständig zu verhindern [3] und zeigen auch therapeutische Wirksamkeit bei einer bestehenden Osteopenie [4]. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß Vitamin D-Metabolite auch die kortikale Knochenmasse bei ovariectomierten Ratten erhöhen [5]. In niedrigen Dosierungen beruht die günstige Wirkung von Vitamin D-Metaboliten am Knochen auf der Positivierung der Kalzium-Bilanz durch Steigerung der intestinalen Kalzium-Absorption. Eine wesentliche Komponente ist in diesem Zusammenhang die Erniedrigung der Parathormon (PTH)-Spiegel unter Therapie mit Vitamin D-Metaboliten. PTH ist einer der wichtigsten Regulatoren des Knochen-Turnovers und wahrscheinlich beruht die antiresorptive Wirkung von Vitamin D-Metaboliten am Knochen hauptsächlich auf diesem Effekt.

Tierexperimentelle Studien haben klar gezeigt, daß Vitamin D-Metaboliten neben einer antiresorptiven Wirkungskomponente auch deutlich knochenanabole Effekte aufweisen, die allerdings erst bei höheren Dosierungen zutage treten [4–7]. Sowohl unter chronischer Therapie wie nach Kurzzeitapplikation von Vitamin D-Metaboliten in höheren Dosen kommt es zu einer Zunahme der Wanddicke von abgeschlossenen Remodeling-Einheiten. Zusammen mit der gleichzeitig beobachteten Steigerung der Trabekelbreite legen diese Veränderungen nahe, daß die Remodeling-Bilanz unter Therapie mit Vitamin D-Metaboliten positiv wird, d. h.

es wird mehr Knochen während der Formationsphase gebildet als vorher während der Resorptionsphase abgebaut wurde. Vitamin D-Analoga stellen somit eine Substanzklasse von knochenanabolen Wirkstoffen dar, die hauptsächlich über eine Positivierung der Remodeling-Bilanz wirken. Wahrscheinlich kommt es durch pharmakologische Stimulierung von reifen Osteoblasten und vor allem durch eine gesteigerte Proliferation und Differenzierung von osteoblastären Vorläuferzellen im Knochenmark zu einer Verbesserung der Leistungsfähigkeit von individuellen Osteoblasten-Teams unter Therapie mit Vitamin D-Metaboliten. Nachdem der Knochenverlust bei Osteoporose-Patienten zumindest in späteren Phasen der Erkrankung vor allem durch eine negative Remodeling-Bilanz pro Remodeling-Einheit erzeugt wird, sind diese Befunde möglicherweise sehr interessant für die Therapie der Osteoporose.

Studien, in denen die Knochenwirkung von Calcitriol in Abhängigkeit von der diätetischen Kalziumzufuhr untersucht wurde, haben deutlich gemacht, daß die anabole Wirkung auf einem direkten Effekt am Knochen beruht und nicht über Veränderungen der Kalzium-Homöostase vermittelt wird [4]. Die direkte Wirkung auf osteoblastäre Zellen eröffnet dabei die Möglichkeit für die Entwicklung von knochenanabolen, jedoch weniger kalzämisch wirkenden Vitamin-D-Analoga. Nachdem die knochenanabolen Wirkungen von Vitamin-D-Analoga an höhere Dosierungen gekoppelt sind, sind Verbindungen mit einer weiten Dissoziation zwischen Knochen- und Darmwirkung und somit verbessertem Sicherheitsprofil als Voraussetzung für eine knochenanabole Therapie der Osteoporose mit Vitamin D-Analoga anzusehen.

Einige Forschungsergebnisse der letzten Jahre haben nahegelegt, daß es neben dem nukleären Rezeptor noch einen zweiten, membranständigen Rezeptor für Vitamin D geben könnte, der für schnelle, nicht-genomische Wirkungen von Vitamin D-Metaboliten verantwortlich ist [8]. Es ist noch ungeklärt, ob dieser potentielle Membranrezeptor eine Rolle in der Knochenwirkung von Vitamin D-Analoga spielt. Untersuchungen an Mäusen mit inaktiviertem nukleären Vitamin D-Rezeptor haben jedoch deutlich gezeigt, daß die physiologisch und pharmakologisch relevanten Funktionen von Vitamin D-Metaboliten durch den nukleären Rezeptor bewerkstelligt werden.

Eine der größten Herausforderung in der Therapie der Osteoporose ist es, die Knochenmasse in einem bereits osteopenischen Skelett wieder zu erhöhen. Obwohl Calcitriol möglicherweise keine physiologische Funktion im Knochen hat, zeigen die vorliegenden tierexperimentellen Daten, daß Vitamin D-Analoga über einen direkten, pharmakologischen Effekt das Knochenremodeling positiv beeinflussen können. Der nukleäre Vitamin D-Rezeptor stellt deshalb ein sehr interessantes Drug target für eine knochenanabole Osteoporose-Therapie dar.

Literatur

- [1] Tilyard, M. W., Spears G. E., Thomson, J. et al., Treatment of postmenopausal osteoporosis with calcitriol or calcium. *N. Engl. J. Med.* **326**, 357 (1992)
- [2] Orimo, H., Shiraki, M., Hayashi, Y. et al., Effects of 1α -hydroxyvitamin D_3 on lumbar bone mineral density and vertebral fractures in patients with postmenopausal osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* **54**, 370 (1994)
- [3] Erben, R. G., Weiser, H., Sinowatz, E. et al., Vitamin D metabolites prevent vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int.* **50**, 228 (1992)

[4] Erben, R. G., Bromm, S., Stangassinger, M., Therapeutic efficacy of $1\alpha,25$ -dihydroxy-vitamin D_3 and calcitriol in osteopenic ovariectomized rats: Evidence for a direct anabolic effect of $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3 on bone. *Endocrinology* **139**, 4319 (1998)

[5] Weber, K., Goldberg, M., Stangassinger, M. et al., 1α -hydroxyvitamin D_2 is less toxic but not bone selective relative to 1α -hydroxyvitamin D_3 in ovariectomized rats. *J. Bone Miner. Res.* (in press)

[6] Erben, R. G., Scutt, A. M., Miao, D. S. et al., Short-term treatment of rats with high dose $1,25$ -dihydroxyvitamin D_3 stimulates bone formation and increases the number of osteoblast precursor cells in bone marrow. *Endocrinology* **138**, 4629 (1997)

[7] Erben, R. G., Bante, U., Birner, H. et al., Prophylactic effects of $1,24,25$ -trihydroxyvitamin D_3 on ovariectomy-induced cancellous bone loss in the rat. *Calcif. Tissue Int.* **60**, 434 (1997)

[8] Nemere, I., Schwartz, Z., Pedrozo, H. et al., Identification of a membrane receptor for $1,25$ -dihydroxyvitamin D_3 which mediates rapid activation of protein kinase C. *J. Bone Miner. Res.* **13**, 1353 (1998)

Optimierung der Tumorthherapie durch Erythropoietin

Peter Vaupel

Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

Anämie (cHb < 120 g/l) ist eine häufige Begleitscheinung fortgeschrittener Krebserkrankungen. Bei etwa 60 % aller Krebspatienten tritt im Verlauf der Erkrankung oder deren Therapie eine tumor- bzw. therapieassoziierte Anämie mit einer herabgesetzten O_2 -Transportkapazität des Blutes auf. Etwa ein Drittel der Krebspatienten benötigt deshalb Transfusionen (Erythrozytenkonzentrate). Die Pathogenese der tumor- bzw. therapieassoziierten Anämie ist multifaktoriell [1, 2]. In der Regel ist die tumorbedingte Anämie normozytär, normochrom und hyporegenerativ. Die Patienten weisen erniedrigte Eisen- und Transferrin-Konzentrationen bei normalen oder leicht erhöhten Ferritin-Spiegeln im Serum auf [3].

Bislang wurde das Problem der *Tumoranämie* und deren Bedeutung zumeist unterschätzt, z. T. auch bagatellisiert, weil man davon ausging, daß durch die verminderte O_2 -Bereitstellung im Körper lediglich die Lei-

stungsfähigkeit bzw. die Lebensqualität der betroffenen Patienten beeinträchtigt sei (z. B. Fatigue-Syndrom). Andererseits war bei der Korrektur durch Transfusionen Zurückhaltung geboten, da u. a. Infektionsrisiken, immunologische Reaktionen und ein beschleunigtes Tumorstadium aufgrund einer transfusionsassoziierten Immunsuppression nicht auszuschließen sind [4–6]. Außerdem schwankt die Hämoglobin-Konzentration wegen der verkürzten Überlebensdauer der übertragenen Erythrozyten bei (wiederholten) Transfusionen erheblich. Deshalb wird neuerdings die traditionelle Option der Anämiebehandlung immer mehr durch den Einsatz des hämatopoietischen Wachstumsfaktors Erythropoietin (EPO) ersetzt, der die Differenzierung und Proliferation von Erythrozytenvorläuferzellen fördert bzw. deren Apoptose hemmt.

Die Tumoranämie ist bei Krebspatienten nicht nur (mit-)verantwortlich für das Fatigue-Syndrom, sondern

von noch größerer Bedeutung ist die Rolle der verringerten O₂-Transportkapazität des Blutes für die Entwicklung hypoxischer bzw. anoxischer Tumoreale [7]. Diese sog. anämische Hypoxie in soliden Tumoren trägt erheblich zur Gewebhypoxie aufgrund von Anomalien der Tumordurchblutung und vergrößerter Diffusionswege bei. Neuere Untersuchungen zeigen, daß etwa 30–60 % der soliden Tumoren hypoxische Areale (pO₂ < 2,5 mmHg) aufweisen – unabhängig von Tumorausdehnung bzw. -größe, Stadium und Differenzierungsgrad. Insbesondere in schlecht durchbluteten Tumorealen trägt eine Anämie substantiell zur Entwicklung der Hypoxie bei.

Die *Tumorhypoxie* gilt bislang lediglich als therapeutisches Problem, da sie solide Tumoren gegen schwach ionisierende Strahlung, eine Reihe von Chemotherapeutika (z. B. Cyclophosphamid, Carboplatin) und gegen die photodynamische Therapie mit Hämatoporphyrinen resistent macht [8, 9]. Neuere experimentelle und klinische Studien legen darüber hinaus den Schluß nahe, daß die O₂-Versorgungssituation möglicherweise eine Vielzahl von biologischen Parametern beeinflusst, die eine erhebliche Wirkung auf das maligne Potential eines Tumors haben können. Eine anhaltende Gewebhypoxie führt möglicherweise zu molekularen Veränderungen, welche die Malignität von Tumorzellen steigern können – ein Vorgang, der als maligne Progression bezeichnet wird. Im Rahmen dieser Tumorprogression entwickeln sich Zellvarianten mit einem erhöhten Potenzial für metastatische Ausbreitung, invasives Wachstum, okkulte Tumorausbreitung und verminderte oder sogar fehlende Fähigkeit zur Apoptose.

Tierexperimentelle und klinisch-kasuistische Daten belegen eindeutig, daß sich die Tumorhypoxie durch eine *Anämiekorrektur* günstig beeinflussen läßt [10–11]. Da der Oxygenierungsstatus solider Tumoren den Therapieerfolg und die Langzeitprognose erheblich beeinflussen kann, wird aufgrund der beschriebenen Zusammenhänge verständlich, warum die Prävention und/oder die Therapie einer Tumoranämie mit rekombinanten humanem EPO (rhEPO) sehr wesentlich die Effizienz der Tumorbehandlung steigern kann [12, 13] bzw. die Hämoglobinkonzentration als prognostischer Parameter angesehen werden muß.

Eine Reihe *retrospektiver Untersuchungen* (Kopfhals-Tumoren, Zervix-, Bronchial- und Blasenkarzinome) zeigen eindeutig, daß eine bestehende Anämie unter alleiniger Radio- oder Chemotherapie bzw. kombinierten Radiochemotherapie mit einer schlechteren Prognose einhergeht [14–16]. Bei einer 1996 begonnenen *prospektiven Studie* zur Radiotherapie von Kopfhals-Tumoren weisen vorläufige Daten ebenfalls auf eine durch rhEPO signifikant verbesserte Lokalkontrolle hin (M. Henke, unveröffentlichte Ergebnisse).

Zusammenfassung

Die durch eine Anämie bedingte Tumorhypoxie läßt sich durch Gabe von rhEPO sehr wirksam behandeln. Transfusionen können dadurch vermieden bzw. eingeschränkt werden. Die Behandlung mit rhEPO korrigiert bzw. verhindert aber nicht nur eine tumorassoziierte Anämie, sondern steigert (wahrscheinlich über eine verbesserte Tumoroxygenierung) die Strahlen- bzw. Chemosensibilität. Klinische Daten weisen eindeutig darauf hin, daß die Aufrechterhaltung adäquater Hämoglobinkonzentrationen (cHb > 12 g/dl) unter Radiochemotherapie sehr wesentlich zur Lokalkontrolle und Verbesserung der Langzeitprognose (u. a. durch Verminderung des Rezidiv- und Metastasierungsrisikos) beitragen. Außerdem wird die Lebensqualität der Patienten positiv beeinflusst.

Literatur

- [1] Smyth, J. F., Boogaerts, M. A., Elmer, B. R. M. (eds.), *rhErythropoietin in Cancer Supportive Treatment*. Marcel Dekker, New York (1996)
- [2] *Med. Oncol.* **15**, Suppl. 1 (1998)
- [3] Nowrousian, M. R., *Med. Oncol.* **15** (Suppl. 1), S 19 (1998)
- [4] Levine, E. A., Vijayakumar, S., *Onkologie* **16**, 79 (1993)
- [5] Blajchman, M. A., Bardossy, L., Carmen, R. L. et al., *Blood* **81**, 1880 (1993)
- [6] Shirwadkar, S., Blajchman, M. A., Frame, B. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **118**, 176 (1992)
- [7] Vaupel, P., Kelleher, D. K. (eds.), *Tumor Hypoxia*. Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1999)
- [8] Vaupel, P. W., *Klin. Pädiatr.* **209**, 243 (1997)
- [9] Vaupel, P., Thews, O., Höckel, M., *Arzneimitteltherapie* **15**, 319 (1997)
- [10] Kelleher, D. K., Matthiensen, U., Thews, O. et al., *Cancer Res.* **56**, 4728 (1996)
- [11] Kelleher, D. K., Matthiensen, U., Thews et al., *Acta oncol.* **34**, 379 (1995)
- [12] Thews, O., Koenig, R., Kelleher et al., *J. Cancer* **78**, 752 (1998)
- [13] Silver, D. M., Piver, F. S., *Gynecol. Oncol.* **73**, 280 (1999)
- [14] Grant, D. G., Hussain, A., Hurman, D., *J. Laryngol. Otol.* **113**, 829 (1999)
- [15] Henke, M., Momm, F., Guttenger, R., in: *Tumor Hypoxia*, P. Vaupel, D. K. Kelleher (eds.), pp. 91–97. Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1999)
- [16] Grau, C., Overgaard, J., in: *Blood perfusion and microenvironment of human tumors*, M. Molls, P. Vaupel (eds.), pp. 101–112. Springer, Berlin–Heidelberg etc. (2000)

Hormone als Anti-Aging- und Life-Style-Medikamente

Bruno Allolio

Abteilung Endokrinologie – Diabetologie – Rheumatologie, Medizinische Universitätsklinik,
Julius-Maximilian-Universität, Würzburg

Der Wunsch Alterungsvorgänge aufzuhalten, der Traum vom Jungbrunnen, ist vermutlich so alt wie die Menschheitsgeschichte selbst. Die Vermutung, daß Hormondefizite für Alterungsvorgänge eine Rolle spielen hat ihre rationale Basis in der Beobachtung, daß altersabhängig die Sekretion vieler Hormone (z. B. Wachstumshormon, Testosteron, Melatonin) abnimmt. Am drastischsten erfahrbar ist dieser Zusammenhang in den Wechseljahren der Frau. Über einen verhältnismäßig kurzen Zeitraum kommt es zum Erlöschen der ovariellen Estrogen-Gestagen-Sekretion. Diese Veränderungen sind mit einem definierten klinischen Erscheinungsbild korreliert, dem perimenopausalen/postmenopausalen Syndrom.

Hintergrund und Therapieziel

Bereits vor mehr als hundert Jahren hat der französische Wissenschaftler Brown-Sequard vor der französischen Akademie berichtet, daß er sich Extrakte von Hundehoden injiziert habe und sich danach um Jahrzehnte jünger gefühlt habe. Diese Selbstbeobachtung eines anerkannten Wissenschaftlers führte zu einem erheblichen Medienecho. Der Einsatz von Testosteron als Anti-Aging-Hormon signalisiert, welche Aspekte des Alterungsprozesses häufig im Vordergrund der Überlegungen stehen: Dies sind physische und psychische Energie (Muskelkraft, Motivation, Leistungsbereitschaft), daneben Sexualität (Potenz und Libido) und schließlich das äußere Erscheinungsbild mit jugendlicher Muskelmasse und einem Weniger an Körperfett. Diese Aspekte sind nicht nur im höheren Alter attraktiv unter der Perspektive der Wiederherstellung von Jugendlichkeit, sondern in einer mediengestalteten Öffentlichkeit auch für die jüngere Generation im Sinne einer Optimierung der Erfolgchancen.

Postmenopausale Hormonsubstitution als Paradigma

Der Einsatz von Hormonen gegen Altersbeschwerden hat als Basisparadigma die Erfahrung mit der postmenopausalen Hormonsubstitution. Mit zunehmender Lebenserwartung verbringen die Frauen einen immer größeren Anteil ihrer Gesamtlebensspanne in der Postmenopause. Es ist unbestritten, daß durch die Hormoner-

satztherapie (HRT) postmenopausale Beschwerden (Hitzewallungen, Schlafstörungen, etc.) deutlich gebessert werden können. In Schweden erhalten 35 % der 55jährigen Frauen eine Hormonersatztherapie, während 88 % der Gynäkologinnen im gleichen Alter eine solche Therapie durchführen. Dies zeigt die Überzeugtheit der informierten Ärzteschaft hinsichtlich der Wirksamkeit dieses Konzeptes. Neben der unmittelbaren Besserung von Beschwerden wurde der HRT in den letzten Jahrzehnten eine Zahl weiterer positiver Effekte zugeordnet: Verhinderung von Osteoporose, deutliche Absenkung der kardiovaskulären Mortalität, Verhinderung der Demenz vom Alzheimer-Typ etc. Das Gesamtergebnis des Einsatzes einer solchen Therapie war damit nicht nur eine Besserung der Beschwerden, sondern auch eine Verlängerung der Lebenszeit. Ziel ist die Kompression der Morbidität am Lebensende („Möglichst spät jung sterben“). In den letzten drei Jahren hat der Optimismus allerdings durch prospektive Studien Rückschläge erlitten. Während die epidemiologische Datenbasis für ein erhöhtes Brustkrebsrisiko für Frauen unter HRT immer eindeutiger wird, konnte in prospektiven Studien die Kardioprotektion nicht verifiziert werden, zum Teil wurden sogar negative Effekte gesehen. Auch eine erste Studie zum Morbus Alzheimer ergab keine positive Daten. Die Erfahrung mit der HRT zeigt damit: Experimentelle prospektive Studien als wichtigstes Instrument des Erkenntnisgewinnes können zu dramatisch anderen Ergebnissen kommen als epidemiologische Beobachtungen.

Das Problem des Normbereichs

Ein grundsätzliches Problem besteht in der Frage, ob ein altersgerecht niedriger Hormonspiegel (z. B. Testosteronkonzentration), der unterhalb des Normbereiches junger erwachsener Männer liegt, als normal oder pathologisch einzustufen ist. In der aktuellen Diskussion geht man davon aus, daß z. B. Testosteron-Werte unterhalb des Normbereiches junger Männer prinzipiell als erniedrigt anzusehen sind. Niedrigere Werte älterer Männer können damit zwar im Referenzbereich für ältere Männer liegen, dieser Bereich wird aber nicht als „Normalbereich“ angesehen. Ist dieses Konzept richtig? Welche Methoden besitzt man, um diese Entscheidung zu validieren? Letztlich erweist sich, daß nur prospektive Studien, die eine Hormontherapie in einem solchen

Kollektiv analysieren und einen Nutzen (oder Schaden) nachweisen, diese Frage entscheiden können. Für die Bewertung von Anti-Aging- und Life-Style-Medikamenten sind wir daher nach der Erfahrung der HRT und aufgrund dieses Entscheidungsdilemmas zwingend auf prospektive, kontrollierte Studien angewiesen. Diese Untersuchungen sind bisher nur ungenügend vorhanden.

Hormondefizit: Pathophysiologie versus Altern

Der Ausgangspunkt für den Einsatz von Hormonen ist stets (und plausiblerweise) die Situation von definierten Hormondefiziten mit einem klaren pathophysiologischen Hintergrund (z. B. ein Wachstumshormonmangel nach Hypophysektomie). Untersuchungen an einem solchen pathologisch definierten Krankheitsbild erlauben es, die Bedeutung des Hormonmangels und die Wirksamkeit einer Hormontherapie abzuschätzen. Dabei zeigt sich eindeutig, daß viele Alterungsvorgänge (Abnahme der Muskelmasse, Zunahme der Fettmasse, Verringerung der Leistungsfähigkeit etc.) mit den Befunden von definierten Hormondefiziten (z. B. Testosteron-Mangel, Wachstumshormonmangel) in vielen Aspekten übereinstimmen. Außerdem kann bei Patienten mit diesen Erkrankungen durch die Therapie eine Wiederherstellung des Normalzustandes erreicht werden. Mehrere Untersuchungen zeigen jedoch, daß das klassische Hormondefizit nicht mit den niedrigen Hormonkonzentrationen im Alter identisch ist: Für Wachstumshormon konnte bei älteren Männern gezeigt werden, daß es ebenso wie beim definierten Wachstumshormonmangel zu einer Abnahme der Fettmasse und zu einer Zunahme der Muskelmasse kommt, eine Verbesserung von Muskelfunktion und Muskelkraft wurde aber nicht gezeigt. Beim Testosteron ergab sich, daß der Knochenzuwachs bei Männern mit Hypogonadismus unter Therapie auftritt, bei älteren Männern mit niedrigem Testosteron nur in sehr viel geringerer Weise (nicht signifikant) zu beobachten war. Für Dehydroepiandrosteron (DHEA) konnte bei Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz gezeigt werden, daß es zu einer deutlichen Verbesserung der Befindlichkeit kommt mit Nachweis von antidepressiven, anxiolytischen und belastbarkeitssteigernden Eigenschaften von DHEA. Bei älteren gesunden Männern mit niedrigem endogenem Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) war dagegen eine solche Befindlichkeitssteigerung in prospektiven Studien nicht nachweisbar.

Tatsächlich ergeben die Studien für unterschiedliche Hormone in übereinstimmender Weise, daß „erniedrigte“ Hormonkonzentrationen älterer Menschen nicht zwangsläufig mit klinischen Defizitsymptomen, die zu einem solchen „Hormonmangel“ passen, einhergehen. Daraus ergeben sich zwei wichtige zwingende Schlußfolgerungen: Erniedrigte Hormonkonzentrationen im Alter können alleine keinen ausreichenden Behandlungsgrund zur Therapie mit Hormonen liefern. Es muß stets eine passende klinische Symptomatik hinzukommen. Zum anderen ist klar, daß es sich nicht um klassische Substitutionsbehandlung handelt, sondern um Pharmakotherapie.

Hormonwirkprofil und Beschwerden

Für einen optimalen Einsatz von Hormonen im Alter ist daher ein Wechsel der Betrachtungsweise geboten: Entscheidend ist nicht der Nachweis einer erniedrigten peripheren Hormonkonzentration (im Vergleich zum jungen Erwachsenenalter). Wichtiger ist das Beschwerdebild des Patienten. Dieses Beschwerdebild muß in Beziehung gesetzt werden zum pharmakologischen Wirkprofil der zur Verfügung stehenden Hormone. Dieses Wirkprofil wird aus der klassischen Substitutionstherapie erkennbar. Es ist in der Zwischenzeit gut erkennbar für Testosteron und Wachstumshormon, es beginnt erkennbar zu werden für DHEA und Melatonin. Große Defizite bestehen noch für die Estrogen-Anwendung beim Mann und die Androgen-Anwendung bei der Frau und zahlreiche weitere Steroidhormone (z. B. Pregnenolon, Androstendion etc.). Es ist insgesamt plausibler, vom klinischen Defizit auszugehen (z. B. Sarkopenie beim älteren Mann) als vom Hormonspiegel. So sind antidepressive Eigenschaften von DHEA unabhängig vom Ausgangs-DHEA-Spiegel nachgewiesen worden. Als Pharmakotherapie ist die Behandlung mit Hormonen im Alter zwingend auf prospektive kontrollierte Studien angewiesen. Der Begriff Substitutionstherapie von Hormonen im Alter suggeriert eine Sicherheit, die diese Therapie nicht besitzt, nicht besitzen kann und nicht besitzen muß. Es sind unerwünschte Wirkungen zu erwarten (und teilweise plausibel) und diese Nebenwirkungen müssen erforscht werden. Wenn dieser Prozeß erfolgreich abgeschlossen ist, ist zu erwarten, daß manche der derzeit als Anti-Aging-Hormone gehandelten Substanzen das therapeutische Arsenal des Arztes sinnvoll erweitern werden.

Prävention des Typ 1-Diabetes mellitus: Immunsuppression, Immunmodulation, Immuntoleranz

Hubert Kolb

Deutsches Diabetes-Forschungsinstitut, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Während in den 80er Jahren die Immunintervention nach Manifestation des Typ 1-Diabetes in einer Vielzahl von Studien getestet wurde, wurde in den 90er Jahren die Früherkennung und Immuntherapie zur Prävention der klinischen Manifestation des Insulinmangels betrieben.

Durch die Interventionsstudien mit dem immunsuppressiven Medikament Cyclosporin A konnte 1987 ein direkter Beweis der Beteiligung von Immunreaktionen an der β -Zelldestruktion erbracht werden, da im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe bei frisch manifesten Diabetikern, die mit Cyclosporin A behandelt wurden, eine signifikant besser erhaltene β -Zellfunktion innerhalb des ersten Jahres nach Diagnose beobachtet wurde (The Canadian European Diabetes Study Group 1988). Jedoch kam es nach Absetzen der Immuntherapie innerhalb weniger Wochen zu einem Verlust der so erhaltenen β -Zellfunktion. Da das Nebenwirkungsprofil von Cyclosporin A, keine Dauerbehandlung bei Typ 1-Diabetes zuläßt, haben sich aus diesen Studien keine therapeutischen Konsequenzen für die Behandlung von frisch manifestierten Diabetikern ergeben.

Kuhmilch-freie Säuglingsnahrung

Als ein möglicher Auslöser der chronischen Inselentzündung wurden in epidemiologischen Studien die Länge der Stillzeit und eine frühe Kuhmilchernährung identifiziert. Diese Hypothese wird in einer diätetischen Interventionsstudie in Finnland geprüft. Dabei wird untersucht, ob eine Kuhmilch-freie Ernährung (> 6 Monate) die Entwicklung von Diabetes-spezifischer Autoimmunität im Vergleich zur Gruppe mit üblicher Kuhmilch-haltiger Säuglingsnahrung verzögert oder verhindert.

Studien zur Identifikation von Personen mit subklinischen Krankheitsgeschehen und erhöhtem Risiko der Manifestation eines Insulinmangels haben sich überwiegend auf die Gruppe der erstgradig Verwandten (Geschwister, Kinder oder Eltern) von Patienten mit Typ 1-Diabetes konzentriert. Werden bei diesen Personen Diabetes-spezifische Autoantikörper nachgewiesen, ist das Risiko in Abhängigkeit von der Anzahl der positiven Autoantikörper erhöht.

Nikotinamid

Die bisher größten Placebo-kontrollierten doppelblinden Interventionsstudien bei Inselzellantikörper-positiven erstgradig Verwandten von Typ 1-Diabetikern prüften das B-Vitamin Nikotinamid. Die Deutsche Nikotinamid-Interventionsstudie (DENIS) begann im Februar 1993 und wurde im April 1997 beendet. Die European Nicotinamid Diabetes Intervention Trial (ENDIT) begann im Juni 1994. In der DENIS-Studie konnte in einer Hochrisikogruppe, Inselzellantikörper (ICA)-positive ($ICA \geq 20$ Internationale Einheiten) Geschwister im Alter zwischen 4 und 12 Jahren von Typ 1-Diabetikern, kein protektiver Effekt von Nicotinamid nachgewiesen werden. In der ENDIT-Studie wird die Wirkung von Nicotinamid auf eine Gruppe mit durchschnittlich geringerem Diabetesrisiko und vermutlich langsamerer Progression geprüft. Ergebnisse werden für 2003 erwartet.

Prophylaktische Insulingabe

Innerhalb von mehreren Studien wird der Einsatz von Insulin entweder in parenteraler, oraler oder nasaler Administration geprüft. In der amerikanischen DPT-1-Studie (Diabetes Prevention Trial 1) wird ein Teil der Probanden mit positiver Familienanamnese (überwiegend erstgradige Verwandte von Typ 1-Diabetikern) und positivem Autoantikörperbefund mit parenteralem Insulin, ein weiterer Teil mit oral verabreichtem Insulin behandelt.

Hsp60-Peptid

Zusätzlich zu den genannten Diabetes-spezifischen Autoantigenen scheinen Streßproteine an der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 1 beteiligt zu sein. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden verschiedene Phase-I-Studien mit dem Peptid p277 des Streßproteins hsp60 bei frisch manifestierten Diabetikern initiiert.

Proteasen

Bei Autoantikörper-positiven erstgradig Verwandten von Typ 1-Diabetikern wird zur Zeit in Deutschland eine Studie (PRO-DIAB-Studie) mit oraler Gabe von Proteasen durchgeführt, für die kürzlich ebenfalls eine immunmodulierende Wirkung nachgewiesen wurde.

Bei der multiplen Sklerose, der Rheumatoiden Arthritis und dem Morbus Bechterew laufen zur Zeit analoge multizentrische Plazebo-kontrollierte Doppelblindstudien. In die PRO-DIAB-Studie werden erstgradig Verwandte von Patienten mit Typ 1-Diabetes im Alter von 3–40 Jahren aufgenommen, bei denen GAD- und IA2-Autoantikörper nachgewiesen werden.

Neues Konzept: Die destruktive Insulitis in eine benigne umwandeln

In den letzten Jahren wurde durch die Identifikation von unterschiedlichen Insulitisformen (Th1- bzw. Th2-Insulitis) ein neues pathogenetisches Konzept des Diabetes mellitus Typ 1 entwickelt, aus dem sich neue therapeutische Interventionsmöglichkeiten ergeben. Eine Vielzahl von Populationsstudien, Studien bei Angehörigen von Typ 1-Diabetikern und frisch-manifest Erkrankten, die zur Zeit weltweit durchgeführt werden, versuchen die destruktive Th1-Insulitis in eine benigne Th2-Insulitis umzuwandeln oder eine β -Zell-spezifische Immuntoleranz zu reaktivieren. Damit könnte bei Be-

handlung nach Manifestation des Typ 1-Diabetes eine langfristige partielle Remission erreicht werden. Ebenso besteht die Hoffnung, daß wir in absehbarer Zeit dem Ziel der Verhinderung oder zumindest Verzögerung der klinischen Manifestation des Diabetes mellitus Typ 1 entscheidend näher kommen.

Ein ermutigendes Beispiel, wie neu entwickelte Methoden der Immunintervention einen Durchbruch in klinischer Wirksamkeit ermöglichen können, liefern aktuelle Ergebnisse zu Inseltransplantationen beim Menschen. Hier gelang es, durch die Kombination neuer Immunsuppressiva (Tacrolimus, Sirolimus und Antikörper gegen CD25) und den Verzicht auf Glukokortikoide, transplantierte allogene Inseln vor der Abstoßung zu bewahren und die insulinpflichtigen Empfänger für bisher 1 Jahr von exogenem Insulin unabhängig zu machen. Wegen der signifikanten Risiken einer jahrelangen immunsuppressiven Therapie ist eine exakte Übernahme dieses Therapieschemas zur möglichen Prävention des Typ 1-Diabetes nicht begründbar. Aus den bei Inseltransplantatempfängern gemachten Erfahrungen lassen sich aber vermutlich Therapieprotokollen ableiten, die ein adäquates Nutzen/Risiko-Profil aufweisen.

Neue Insuline: Stellenwert in der Therapie des Typ 1- und Typ 2-Diabetes mellitus

Rüdiger Landgraf

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

Die Regulation der Blutglukose ist unter physiologischen Bedingungen in ganz engen Grenzen reguliert (Tages-Mittelwert und Standardabweichung: 77 ± 11 mg/dl). Eine Vielzahl großer prospektiver Studien, wie z. B. die DCCT, DCCT-Nachfolgestudie, UKPDS; KUMAMOTO-Studie haben gezeigt, daß die Rate von Diabetes-spezifischen und Diabetes-assoziierten Komplikationen weitgehend von der Güte der langfristigen Stoffwechseleinstellung abhängig ist. Dabei spielt wahrscheinlich nicht nur die integrierte Höhe der Blutglukose gemessen am HbA_{1c} , sondern auch die Stabilität der Blutglukosekontrolle also die Vermeidung von hypoglykämischen und vor allem hyperglykämischen Entgleisungen eine entscheidende Rolle. Dies gilt nicht nur für den absoluten Insulinmangeldiabetes (Typ 1 Diabetes), sondern in gleicher Weise auch für die Typ 2 Dia-

beteserkrankung, bei der sich mit zunehmender Dauer der Erkrankung ein Insulinmangel entwickelt. Der möglichst physiologische Ersatz des Insulinmangels unter basalen und prandialen Bedingungen ist daher eine der wichtigsten therapeutischen Herausforderungen in der Betreuung des insulinpflichtigen Diabetes. Die bisher zur Verfügung stehenden Insuline können eine Reihe von Problemen bei der Insulintherapie nur unzureichend lösen. So ist mit Normalinsulin – zeitlich und quantitativ – die prandiale Kohlenhydratzufuhr nur unzureichend abdeckbar, und es resultiert daraus häufig eine postprandiale Hyperglykämie, die vermutlich eine wichtige Rolle bei der Entscheidung von Diabetes-Komplikationen spielt. Schneller vom sukutanen Fettgewebe ins Blut transportierte Insuline und damit ein rascherer Eintritt der biologischen Wirkungen von Insulin wäh-

rend und unmittelbar nach einer Mahlzeit, wie Glukotransport in die Muskulatur und ins Fettgewebe und die Suppression der hepatischen Gluconeogenese sind daher wünschenswert. Die zur Verfügung stehenden lang-wirkenden Insuline (NPH-Insuline und zinkverzögerte Insuline) zeigen drei wesentliche Probleme: sie haben eine Peakwirkung, ihre Wirkung ist relativ kurz und ihre Absorption aus den subkutanen Depots ist extrem variabel. (intraindividuell: ca. $\pm 25\%$; interindividuell: ca. $\pm 50\%$). Daraus resultieren metabolische Konsequenzen wie stärkere Blutglukoseschwankungen, Neigung zu Hypoglykämien längere Zeit nach Injektion, wenn keine Kohlenhydratzufuhr erfolgt und frühabendliche (sog. Dust-Phänomen), sowie morgendliche (sog. Dawn-Phänomen) Hyperglykämien. Diese Probleme in der Insulintherapie hat man seit einigen Jahren erkannt und hat mit Hilfe gentechnologischer Verfahren Insulinanaloga entwickelt, um den individuellen Insulinbedarf optimaler anzupassen.

Jede Modifikation des Insulinmoleküls muß sich jedoch am Goldstandard Humaninsulin bezüglich biologischer Wirkung, kurz- wie langfristiger Sicherheit (Immunogenität, Mutagenität und Karzinogenität) und Kosten-Nutzen-Analyse messen lassen.

Kurzwirkende Insulinanaloga

Insulin lispro (Humalog®) ist ein Analogon, bei dem die Aminosäuresequenz in der B-Kette des Insulinmoleküls an den Positionen B28 und B29 vertauscht wurde. Beim Design dieses Moleküls war die natürlich vorkommende Sequenz der Aminosäuren an homologer Position im Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)- Molekül beispielhaft. Insulin lispro ist äquipotent zu regulärem Human-Insulin, wird aber deutlich schneller aus den subkutanen Injektionsdepots absorbiert. Die physikochemischen Analysen dieses Moleküls ergaben den gleichen isoelektrischen Punkt wie Humaninsulin, es besteht bei Insulin lispro jedoch eine deutlich verminderte Selbstassoziation zu Hexameren. Dies bedeutet, daß unmittelbar nach subkutaner Injektion das in Hexamerform vorliegende Insulin in Di- und Monomere zerfällt. Da vorwiegend monomeres Insulin transkapillär absorbiert wird, ist dieser Transport bei Insulin lispro im Vergleich zu Human-Insulin wesentlich schneller. Die Folge ist eine signifikant schnellere pharmakodynamische Wirkung. Insulin lispro ist somit besser als Human-Insulin geeignet postprandiale Blutglukosespitzen abzufangen ohne den für Human-Insulin meist notwendigen Spritz-Eß-Abstand von 20–30 Min. zu benötigen. Unmittelbar vor, während oder sogar nach einer Mahlzeit injiziertes Insulin lispro ist auf Grund seiner Pharmakokinetik in der Lage den postprandialen Blutglukoseanstieg optimaler zu kontrollieren. Dies ist insbesondere bei Kindern und Jugendlichen und bei alten Menschen mit unzuverlässiger Vorhersage der Essenszusammensetzung und -zufuhr und bei Patienten aller Altersklassen, die einen Spritz-Eß-Abstand nicht einhal-

ten wollen und/oder können, von entscheidendem Vorteil. Insulin lispro ist daher dem regulärem Human-Insulin in der mahlzeitenbezogenen Glukose-Kontrolle deutlich überlegen, wie umfangreiche Studien belegen. Darüber hinaus ist die Variabilität der Absorption geringer. Intensive in vitro und in vivo Studien, sowie sorgfältige Beobachtungen am Menschen haben gezeigt, daß Insulin lispro ein sicheres Pharmakon ist und es keine Hinweise für eine gesteigerte Immuno-, Mito-, Muta- und Carcinogenität gibt. Wegen seiner noch besseren Steuerbarkeit ist Insulin lispro auch ein optimales Insulin als die bisher zur Verfügung stehenden Insuline für den Einsatz in der Insulinpumpentherapie.

Die Vorteile von Insulin lispro im Vergleich zu Human-Insulin sind für die Therapie des Typ 1 Diabetes daher wie folgt:

- geringere postprandiale Hyperglykämien
- weniger Hypoglykämien (Reduktion im Mittel um 20 %) und eine bessere Hypoglykämiewahrnehmung
- flexiblere Essensanpassung und damit eine Verbesserung der Lebensqualität
- optimalere Stoffwechselkontrollen gemessen am HbA_{1c} , jedoch nur dann wenn das notwendige Basalinsulin (meist NPH Insulin) in größerer Menge (ca. 60–70 % der Insulin-Gesamttagsdosis) und häufiger (2 besser 3 Injektionen pro Tag) injiziert wird.

Letzterem Problem wurde kürzlich Rechnung getragen und es wurden Fertigmischungen von Insulin (Protamin-gekoppeltes Insulin lispro = NPL) mit Insulin lispro in einer Zusammensetzung von 25 : 75 % und 50 : 50 % = Insulin lispro: NPL; Humalog Mix25™ und Humalog Mix50™) auf den Markt gebracht, die zu einer wesentlichen Vereinfachung der Insulintherapie mit Insulinanaloga, insbesondere bei den Patienten, die keine „freie“ Mischung von schnell-wirkendem Insulin und Verzögerungsinsulin wünschen.

Bei der Behandlung des Typ 2 Diabetes hat Insulin lispro Vorteile, da es besser das bei dieser Erkrankung typischerweise nachweisbare Insulinsekretionsdefizit (Fehlen der ersten schnellen Phase der Insulinsekretion nach Beginn des Glukoseanstieges im Blut) ersetzen kann und die postprandiale Hyperglykämie bei diesen Patienten deutlich reduziert.

Insulin aspart (Novo Rapid®) ist ein Insulinanalogon bei dem die Aminosäure Prolin in der Position B28 durch die negativ-geladene Aminosäure Asparaginsäure ersetzt wurde. Die Reduktion der Selbstaggregation dieses Analogons zu Hexameren ist ähnlich der von Insulin lispro. Kurz nach s.c. Injektion dieses Insulins kommt es ebenfalls zu einer raschen Dissoziation zu Di- und Monomeren als unabdingbare Voraussetzung für eine rasche Absorption des subkutanen Insulindepots ins Blut. Insulin aspart hat auf molarer Basis die gleiche biologische Potenz wie reguläres Human-Insulin sowohl in vitro als in vivo. Toxikologische Studien an Mäusen, Ratten und Hunden haben keine Differenzen zwischen Human-Insulin aspart gezeigt: Mitogenität, Mutagenität und Insulin-Antikörperbildung waren für

beide Insuline sehr ähnlich. Alle bisher für Insulin aspart vorliegenden pharmakokinetischen und -dynamischen Studien, sowie die kontrollierten klinischen Kurzzeit- und Langzeitstudien haben gezeigt, daß die Absorption von Insulin aspart mindestens doppelt so schnell und die Serumkonzentration um einen Faktor von 2 höher ist als die von Human-Insulin. Die Bioverfügbarkeit beider Insuline ist jedoch gleich, obwohl die Wirkdauer von Insulin aspart etwa nur halb so lang ist.

Insulin lispro und Insulin aspart sind in ihren Wirkungen vergleichbar und es gibt keine klinisch relevanten Vorteile des einen Insulins gegenüber dem anderen.

Langwirkende Insulinanaloga

Die Substitution von Basalinsulin ist schwierig. Dies gilt insbesondere während der Nacht und bei Patienten ohne Insulinrestsekretion (Typ 1 Diabetiker). Daher gibt es intensive Bemühungen der insulinproduzierenden pharmazeutischen Industrie gut verträgliche Insulinanaloga mit besserer und reproduzierbarer Langzeitwirkung herzustellen.

Insulin glargine (HOE 901; Lantus®) ist das erste langwirkende Insulin, das kürzlich die Zulassung erhielt. Bei diesem Insulin wurden folgende Molekülveränderungen mittels rDNA Technologie erzeugt: am C-Terminus der B-Kette des Insulinmoleküls in Position B30 wurden zwei positiv geladene Arginine angekoppelt (30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg-). Zusätzlich erfolgte ein Aminosäuren-Austausch in Position 21 der A-Kette: Asparaginsäure gegen Glycin (A21-Gly-). Die Verlängerung der B-Kette im Insulin glargine führt zu einem Shift des isoelektrischen Punktes von einem pH von 5,4 zu einem pH von 6,7. Dies führt zu einer besseren Löslichkeit des Moleküls im sauren pH und einer geringeren Löslichkeit im physiologischen pH. Zur Verhinderung einer Deamidierung und Dimersisierung der säureempfindlichen Asparaginsäure-Residuen im sauren pH ist die Substitution an Position A21 (A21-Gly-) der A-Kette notwendig. Injiziert bei einem pH von 4,0 als klare Lösung, formt Insulin glargine Mikropräzipitate bei neutralem pH im subkutanem Gewebe. Die Stabilisierung der Insulin Hexamere und größere Aggregate beeinflussen die Eigenschaften der Präzipitate zusätzlich, was zu einer deutlichen Verzögerung der Rate der Auflösung und Absorption an der Injektionsstelle führt. Da Insulin glargine in einer klaren, sauren Lösung zur Verfügung steht, kann es mit Insulinen-Galeniken mit neutralen pH (z. B. reguläres Insulin) nicht gemischt werden.

Änderungen der molekularen Struktur des Insulin kann zu Änderungen der Interaktion dieses Insulinanalogs mit dem Insulinrezeptor und/oder dem IGF-1-Rezeptor führen. In verschiedenen Zellmodellen, wie Cardiomyoblasten (Ratte), Fibroblasten (Ratte) Skelettmuskelzellen (Mensch) waren Insulinrezeptorbindung, Rezeptorautophosphorylierung, Phosphorylierung der Signalelemente und Mitogenität von Insulin glargine mit regulärem Insulin sehr ähnlich. Lediglich in huma-

nen Osteosarkomzellen mit hoher Dichte von IGF-1-Rezeptoren und sehr geringer Insulin-Rezeptordichte wurde eine deutlich erhöhte Mitogenität gefunden.

Tierexperimentelle Untersuchungen sowie klinische Studien bei Gesunden und Diabetikern haben gezeigt, daß die Aktivität von Insulin glargine ohne Peak ist, ca. 50 % niedriger ist und die Dauer der biologischen Wirkung doppelt so lang ist wie die von NPH Insulin. Bei einmaliger Gabe von Insulin glargine am Spätabend konnte eine relativ gleichbleibende blutglukosesenkende Wirkung über 24 h nachgewiesen werden. Die längere Wirkung ohne ein Maximum einige Stunden nach Injektion führte in den klinischen Studien zu einer signifikanten Reduktion der Nüchternblutglukose mit gleichzeitiger Reduktion (50 %) von nächtlichen Hypoglykämien (Blutglukose < 36 mg/dl) sowohl bei Typ 1 als auch Typ 2 Diabetikern. Falls sich diese Beobachtungen auch außerhalb von kontrollierten Studien nachweisen lassen, hätte Insulin glargine deutliche Vorzüge bei einer Reihe von Patienten mit Dawn- und Duskphänomen (s. o.) und würde die Notwendigkeit von Mehrfachgaben von NPH Insulin tagsüber und vor der Nacht eliminieren.

Acyliertes Insulin (NN 304; (LysB29 Tetradecanoyl-Des(B30)-Insulin); Detemir™; Novo Nordisk) ist ein Insulinanalog bei dem die Aminosäure in Position B30 eliminiert und die e-Aminogruppe von Lysin in Position B29 mit einer gesättigten Fettsäure acyliert wurde. Dieses Insulinmolekül wird deutlich langsamer aus dem Subkutangewebe absorbiert als NPH Insulin. Das besondere an dem Verzögerungsprinzip dieses Insulinanalogs ist jedoch seine starke Bindung an Albumin sowohl im subkutanen Gewebe als insbesondere im Serum. Dies ließ sich an der deutlich protrahierten Wirkung von Insulin Detemir im Vergleich zu NPH Insulin nach intravenöser Injektion dieser Insuline zeigen. Substanzen, die zu einer signifikanten Erhöhung der Plasmakonzentration von nicht-veresterten Fettsäuren führen (Heparin, β -Rezeptoragonisten) und Pharmaka mit hoher Affinität für Serum-Albumin (Sulphonylharnstoffe, Valproate, Diazepam, etc.) sollen die Albuminbindung von NN304 nicht wesentlich beeinflussen. Im Vergleich zu NPH Insulin zeigen pharmakokinetische Studien eine deutliche Verzögerung und Verlängerung der blutglukosesenkenden Wirkung.

Ein zweites *acyliertes Insulinanalogon ist N^c-Palmitoyl LysB29-Insulin (C16-HI; Eli Lilly)*. Die bisher vorliegenden tierexperimentellen Studien an Hunden und Schweinen zeigen, daß C16-HI ein flacheres und protrahierteres Wirkprofil besitzt als NPH Insulin. Die biologische Wirksamkeit von C16-HI ist etwa nur 20–25 % von NPH Insulin nach subkutaner Gabe (Studie bei gesunden Freiwilligen).

Wesentlich mehr Forschung ist notwendig um die Pharmakokinetik und -dynamik der acylierten Insuline zu charakterisieren und deren potentiellen Stellenwert als Basalinsulin zu definieren.

Insulinanaloga (ultrakurzwirkende und sehr langsam wirkende Insulinmoleküle) werden in Zukunft eine immer größere Rolle bei der individuell maßgeschneiderten Insulintherapie des Typ 1 und Typ 2 Diabetikers spielen. Ziele sind möglichst normale HbA_{1c}-Werte, weniger Hypoglykämien und geringe Blutglukosetageschwankungen mit verbesserter Lebensqualität der Betroffenen. Diese Ziele lassen sich wahrscheinlich mit Human-Insulin verschiedener Galenik in Kombination mit Insulinanaloga eher verwirklichen, insbesondere wenn das notwendige Training der Ärzte und Be-

troffenen als wesentlichste Voraussetzung optimiert wird. Neben Insulinanaloga werden in Zukunft auch alternative Insulinapplikationswege (inhalatives Insulin, transdermales Insulin) zur Verfügung stehen, die das Instrumentarium der Insulintherapie bereichern, aber auch verkomplizieren und verteuern. Sorgfältige Kosten-Nutzen-Analysen und Langzeituntersuchungen über potentielle Gefahren von Insulinanaloga und Insulinen, die nicht subkutan oder intravenös appliziert werden, sind unbedingt erforderlich.

Die PPAR (Peroxisome Proliferator-activated Receptor)-Familie

Michael Stumvoll

Abteilung Innere Medizin IV, Medizinische Klinik und Poliklinik, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen

Die Peroxisomen-Proliferator-aktivierten Rezeptoren (PPAR) gehören zur gleichen Familie von nukleären Rezeptoren wie die Steroid- und Schilddrüsenhormon-Rezeptoren. Bislang wurden 3 Isoformen identifiziert: PPAR α , PPAR γ und PPAR δ . Während die Isoformen PPAR α und PPAR δ und deren Rolle als molekulares Target von Fibraten und Fettsäuren schon seit einiger Zeit bekannt ist, hat die Identifizierung gerade der Isoform PPAR γ in den letzten Jahren das Verständnis von transkriptioneller Genregulation zellulärer Differenzierung und Crosstalk-Mechanismen zwischen Fett- und Muskelgewebe erheblich bereichert. Insbesondere die Identifizierung von PPAR γ als Rezeptor für die neue Insulin-sensitizer-Klasse der Thiazolidindione bedeutete einen Quantensprung in der Insulinresistenzforschung. Bis dahin galt PPAR γ als sogenannter „orphan“-Rezeptor, da seine endogenen Liganden, nämlich Prostaglandin J₂ und andere Prostanoiden, erst später entdeckt wurden. In der folgenden Abhandlung wird vor allem auf die zelluläre und metabolische Rolle von PPAR γ eingegangen.

Mit den Thiazolidindionen Rosiglitazon und Pioglitazon als synthetischen Liganden von PPAR γ stehen den Diabetologen in Deutschland seit diesem Jahr, in USA mit dem inzwischen vom Markt genommenen Troglitazon seit 1997, eine neue Substanzklasse für die Behandlung des Typ 2-Diabetes zur Verfügung. Die ursprünglich als Antioxidantien entwickelten Verbindungen erwiesen sich als äußerst wirksam in der Verbesserung

der Insulinresistenz jeglicher Genese. Mit diesen Substanzen lassen sich nicht nur beim Typ 2-Diabetiker der Blutzucker verbessern, sondern auch die Insulinresistenz bei adipösen, nicht-diabetischen Freiwilligen, bei einem Patienten mit Werner-Syndrom (genetische Erkrankung mit beschleunigtem Alterungsprozeß) und bei nicht-diabetischen Patientinnen mit polyzystischem Ovarsyndrom reduzieren.

Die derzeitige Vorstellung zum zellulären Wirkmechanismus der Thiazolidindione beinhaltet deren Bindung an den nukleären PPAR γ , der mit dem Retinoid X-Rezeptor (RXR) heterodimerisiert. Der so aktivierte Rezeptorkomplex interagiert mit spezifischen DNA-Sequenzen in thiazolidinedioneresponsiven Genen und aktiviert (oder unterdrückt) deren Transkription. Die resultierenden, translatierten Proteine stellen in verschiedenen Geweben Schlüsselproteine dar, die Insulin-abhängige und -unabhängige Prozesse wie Glukosetransport, Lipidsynthese und Fettsäurestoffwechsel regulieren. Warum verschiedene PPAR γ -Agonisten die Expression verschiedener Gene regulieren wird noch nicht verstanden. Durch diese transkriptionelle Regulation werden aber nicht nur Stoffwechsel aktiviert, sondern auch das Differenzierungsprogramm von Vorläuferzellen beeinflusst. So wurde beispielsweise gezeigt, daß sich Prädipozyten unter Troglitazon sehr viel stärker zu reifen Adipozyten umwandeln und sich sogar myogene Zellen nach Inkubation mit einem Thiazolidindion in

adipozytenähnliche Zellen differenzieren lassen. Sorge macht in diesem Zusammenhang neben der Gefahr der Gewichtszunahme bei längerer Therapiedauer, die Muskelverfettung und der Fettvermehrung im Knochenmark, die ein Korrelat der gelegentlich unter Thiazolidindion-Therapie beobachteten Anämie darstellen könnte.

Während ihr Effekt an Fettzellen relativ gut verstanden wird, ist es augenblicklich unklar wie PPAR γ -Agonisten letztendlich die Insulinempfindlichkeit verbessern. Während in Muskelzellen deutlich weniger PPAR γ als in Fettzellen exprimiert wird, kommt gerade der Muskulatur der Hauptanteil der insulinstimulierten Glukoseverwertung zu. Daraus ergibt sich die Frage, welches Gewebe – Fett oder Muskel – primär für die metabolische Wirkung der Thiazolidindione verantwortlich ist. Zum einen könnte die Wirkung der Thiazolidindione tatsächlich auf das Fettgewebe beschränkt sein und die Verbesserung der muskulären Insulinwirkungen geschieht durch eine Modulation von insulinresistenzauslösenden Fettgewebefaktoren. So konnte gezeigt werden, daß Thiazolidindione die Expression des Zytokins TNF α oder des kürzlich identifizierten Hormons Resistin im Fettgewebe hemmen. Ferner vermindern Thiazolidindione die Produktion des Fettgewebshormons Leptin, das wie TNF α mit der Insulin-Signalkaskade interferiert. Eine weitere Erklärungshypothese stellt das Fettsäure- „steal“-Phänomen dar, wonach es durch PPAR γ -Stimulation zu einer selektiven Zunahme der Fettsäureaufnahme in die Fettzelle kommen soll, so daß weniger für die Aufnahme in die Muskelzelle zur Verfügung steht. Dies würde über eine Abnahme des muskulären Fettstoffwechsels gemäß dem Randle-Mechanismus zu einer Zunahme der muskulären Glukoseutilisation und damit einer Verbesserung der Insulinresistenz führen. Zum anderen gibt es aber durchaus Hinweise sowohl auf relevante PPAR γ -Expression als auch auf eine direkte Thiazolidindion-Wirkung im Muskel. In einem transgenem lipatrophischen Mäusemodell konnten pathologische Glykämieparameter durch Troglitazon-Therapie normalisiert werden. Wir haben an einem fettzellfreien humanen Myoblasten/Myotuben-Kultursystem

einen stimulierenden Effekt von Troglitazon auf PI3-kinase-Aktivität und Glykogensynthese beobachtet. Damit ließe sich zumindest ein Teil der klinischen Thiazolidindion-Wirkung mit einem direkten Effekt am Muskel erklären.

Neben den Thiazolidindionen als synthetischen Liganden gibt es weitere experimentelle Ansätze, um die Funktion von PPAR γ zu untersuchen. Dabei handelt es sich einerseits um prävalente Mutationen im PPAR γ -Gen mit veränderter transkriptioneller Aktivität führen und andererseits um PPAR γ -Knockout-Tiere. Interessanterweise ist die PPAR $\gamma^{+/-}$ -Maus insulinempfindlicher als der Wildtyp. Dies führte zur Modellvorstellung, daß die physiologische Rolle des mit endogenen Liganden besetzten PPAR γ in Wirklichkeit eine Drosselung überschießender Insulinsensitivität sei und heterozygoter Knock-out sowie synthetische Liganden zu einer Abschwächung dieser Drosselung führen. Dazu passend findet sich bei Menschen mit der Pro12Ala-Mutation in PPAR γ_2 (reduzierte transkriptionelle Aktivität) ein geringeres Diabetesrisiko und eine verbesserte Insulinempfindlichkeit. Mit Hilfe eines stabilen Isotopenansatz haben wir in Trägern des Ala-Allels auch eine bessere antilipolytische Insulinwirkung beobachtet, die zudem mit der Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme korrelierte. Möglicherweise liegt dieser Beobachtung eine PPAR γ -abhängige Verteilung von kleinen versus großen Adipozyten zugrunde.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß sich mit Thiazolidindionen über Beeinflussung PPAR γ -abhängiger Genexpression jeglicher Art von Insulinresistenz verbessern läßt. Unter Berücksichtigung der klinischen Verträglichkeit und Sicherheit, bietet sich mit diesen Substanzen beziehungsweise weiterentwickelten Verbindungen ein neuartiges Therapiekonzept, das auch präventiv einsetzbar wäre. Eine mutationsbedingte verminderte transkriptionelle Aktivität von PPAR γ in vivo scheint über eine verbesserte Insulin-Antilipolyse ebenfalls die Insulinsensitivität zu verbessern.

Extrapancreatic Effects of Antidiabetic Sulfonylurea Drugs

Günter Müller

Aventis Pharma Germany, DG Metabolic Diseases, Frankfurt/Main (Germany)

Introduction

It is now evident from numerous biochemical, genetic and clinical studies that multiple gene defects and polymorphisms in combination with physiological consequences of the typical western life style (nutrition, fitness, obesity, environmental factors) impair functionality of the triad, β -cell, muscle/adipose cell and liver cell, regulating glucose and lipid metabolism. This results in reduced insulin secretion, reduced insulin sensitivity (insulin resistance) and increased hepatic glucose output. The hallmarks of increased blood glucose levels, inadequate plasma insulin levels, impaired glucose tolerance and misregulated lipid metabolism fuel a vicious cycle which over decades leads to the development of frank diabetes with the consequence of diabetic late complications (neuropathy, retinopathy, nephropathy, micro- and macroangiopathies, cardiovascular diseases). Sulfonylureas have been introduced into the therapy of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) with great success. It is now generally accepted that these hypoglycemic drugs cause reduction of blood glucose predominantly via stimulation of insulin release from pancreatic β -cells. In addition, during long-term treatment an insulin-independent blood glucose-decreasing mechanism may operate, the physiological role of which in diabetes therapy remains a matter of intense debate and seems to be rather limited with conventional sulfonylureas. The predominant β -cell inherent mode of conventional sulfonylurea action may be responsible for some of the well-established as well as hypothetical problems with sulfonylurea therapy so far. The high plasma insulin levels may accelerate the pathogenesis of metabolic syndrome and NIDDM via a combination of pancreatic (exhaustion of the β -cell) and peripheral mechanisms (insulin resistance, lipid disorders, obesity, increased blood pressure, atherosclerosis) and in conjunction with limited selectivity for the β -cell may cause cardiovascular side effects. Furthermore, conventional sulfonylureas have to be administered several times per day. In the following I want to demonstrate that the novel sulfonylurea, Amaryl (glimepiride), despite harboring the typical sulfonylurea moiety operates at cells of peripheral tissues via molecular mechanisms which differ fundamentally from those of conventional sulfonylureas, such as the golden standard, glibenclamide.

The insulin-independent blood-glucose decreasing activity of Amaryl in animals

To reevaluate the possibility of an insulin-independent blood glucose-decreasing activity of sulfonylureas, in general, and of Amaryl, in particular, we reasoned that the ratio of the sulfonylurea-induced mean plasma insulin release and mean blood glucose decrease measured over the total study period should be identical for structurally different sulfonylureas, provided the time response curves for the insulin release and blood glucose decrease exhibit similar shapes and the blood glucose decrease is based solely on the stimulation of insulin release. Different ratios for structurally different sulfonylureas would argue in favour of the operation of an additional insulin-independent blood glucose-decreasing activity. To test this hypothesis, in four different experiments, Amaryl and the sulfonylureas, glibenclamide, gliclazide and glipizide, were tested in normal fasted beagle dogs at submaximal about equivalent single oral or i.v. nadir blood glucose-decreasing doses for their blood glucose-lowering and plasma insulin-releasing activity. For instance, after single oral administration of different doses of these sulfonylureas, Amaryl (90 $\mu\text{g}/\text{kg}$) had the highest total blood glucose-lowering activity and the lowest insulin-releasing activity during the 36-h posttreatment period, whereas glipizide (180 $\mu\text{g}/\text{kg}$) had the lowest total blood glucose-lowering activity and highest insulin-releasing activity and glibenclamide (90 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and gliclazide (1.8 mg/kg) ranking between these extremes of pharmacological profiles. For calculation of the plasma insulin/blood glucose ratio by means of the trapezoidal rule for each animal, the mean plasma insulin increase and mean percentage blood glucose decrease over the whole study period in fasted male beagle dogs after a single oral or i.v. dose of the different sulfonylureas were determined. Single-dose studies over periods of 0–8 h to up to 0–51 h were preferred to exclude possible indirect effects of prolonged sulfonylurea treatment secondary to the decreased basal blood glucose and plasma insulin levels via improvement of the metabolic overall situation and/or insulin sensitivity. In these studies, the shapes of the blood glucose and plasma insulin curves and the blood glucose nadirs were approximately identical. However, for a given experiment the ratios differed for different sulfonylureas (e.g. Amaryl, 0.03; gliclazide, 0.07; glipizide, 0.11; glibenclamide, 0.16) and within each experiment there was an identical ranking of the ratios of the

mean plasma insulin release/mean blood glucose decrease between the various sulfonylureas. Amaryl exhibited the lowest ratio in each experiment. This was primarily due to a statistically significantly lower plasma insulin release (with respect to both maximal and mean plasma insulin levels) induced by Amaryl compared to that induced by the other drugs (e.g. mean plasma insulin levels: Amaryl, 0.6 $\mu\text{U}/\text{ml}$; gliclazide, 1.3; glipizide, 1.6; glibenclamide, 3.3). The differences and the ranking observed in the plasma insulin/blood glucose ratios suggest that sulfonylureas have insulin-independent blood glucose-decreasing activity and that this is more pronounced for Amaryl than for conventional sulfonylureas [1].

Insulin-mimetic signaling of Amaryl in adipose cells

The demonstrated stimulatory effects of Amaryl on non-oxidative glucose metabolism, i.e. glucose transport, glucose transporter 4 (GLUT4) translocation, lipid and glycogen synthesis, glycerol-3-phosphate acyltransferase and glycogen synthase including their dephosphorylation resemble the pleiotropic metabolic insulin actions which are mediated by the insulin signal transduction cascade. The insulin signal generated by insulin receptor tyrosine kinase-mediated tyrosine phosphorylation of the insulin receptor substrate (IRS) proteins is thought to diverge to the various terminal metabolic effector systems, such as GLUT4, glycerol-3-phosphate acyltransferase and glycogen synthase, at sites downstream of phosphatidylinositol-3'kinase (PI-3K). Therefore we studied a possible interference of Amaryl within insulin signaling components located upstream of PI-3K. Interestingly, in rat adipocytes Amaryl caused concentration-dependent tyrosine phosphorylation of IRS-1 and 2 and association of PI-3K with IRS-1 and 2 as revealed by immunoblotting with antibodies against anti-phosphotyrosine and the regulatory subunit, p85, of PI-3K, respectively, of IRS-1 and 2 immunoprecipitated from sulfonylurea-treated cells. Tyrosine phosphorylation of IRS-1 and 2 and their association with p85 of PI-3K were more pronounced with Amaryl (EC_{50} about 3 $\mu\text{mol}/\text{l}$) compared to glibenclamide, whereas tolbutamide was ineffective.

Insulin provokes tyrosine phosphorylation of IRS proteins by activation of the insulin receptor tyrosine kinase β -subunit. In contrast, Amaryl has no direct effect on the insulin receptor. Kobayashi and coworkers did not find any significant effect of Amaryl on the number and binding affinity of skeletal muscle insulin receptor in KK- A^{Y} mice as well as tyrosine auto- and substrate phosphorylation of the human insulin receptor heterologously expressed in rat fibroblasts. This raised the question how Amaryl manages to induce tyrosine phosphorylation of the IRS proteins in adipose and muscle cells. Interestingly, we identified another protein, caveolin, which becomes tyrosine-phosphorylated

in isolated rat adipocytes in response to concentrations of Amaryl which are effective in stimulating glucose transport. Tyrosine phosphorylation of this 29-kDa plasma membrane protein was increased to up to 4.2-fold above basal (at 5 $\mu\text{mol}/\text{l}$) as shown by anti-phosphotyrosine immunoblotting of caveolin immunoprecipitates from total membranes of drug-treated cells. Caveolin is the structural/marker component of caveolae [2].

Molecular model of Amaryl action in adipose cells involving caveolae

Taken the biochemical studies with isolated adipose and muscle cells together, we propose the following hypothetical model for the direct insulin-mimetic signaling and metabolic action by Amaryl in a non-saturable and time-dependent fashion thereby causing redistribution of specific caveolar components. This may be accomplished by a direct physical interference of Amaryl with the structure/organisation of caveolae and/or lipolytic release of glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) lipids/proteins from caveolae via Amaryl-induced activation of the GPI-specific phospholipase (PLC). As a consequence, an acylated non-receptor tyrosine kinase, e.g. pp $^{59\text{L}^{\text{yn}}}$, dissociates from caveolin and migrates into other areas of the plasma membrane and is thereby relieved from inhibition [3]. These events are supported by tyrosine phosphorylation of caveolin, which may further destabilize the interaction or inhibit the reassociation between pp $^{59\text{L}^{\text{yn}}}$ and caveolin. The activated non-receptor tyrosine kinase phosphorylates IRS proteins at specific tyrosine residues and thereby initiates metabolic insulin-mimetic signaling to the lipid and glycogen synthesis pathways and the GLUT4 translocation apparatus along the insulin signaling cascade downstream of IRS via the PI-3K pathway [4]. In contrast, mitogenic insulin-mimetic signaling to DNA synthesis, transcription and translation via the Ras/MAPK pathway presumably involves tyrosine phosphorylation of the Shc proteins which have been demonstrated to act as substrates for the insulin receptor kinase but which may not be accepted by pp $^{59\text{L}^{\text{yn}}}$. The caveolae-dependent mode of insulin-mimetic signaling critically depends of the presence of high amounts of caveolae in the target cell, which is certainly true for adipocytes and myocytes. Other dividing cell types use distinct mechanisms for regulation of non-receptor tyrosine kinases thereby ensuring the required degree of specificity.

Conclusions [5]

- 1) Sulfonylureas appear to decrease blood glucose by induction of insulin release and apparently in conjunction with an extrapancreatic activity even after single oral administration to normal animals.

- 2) Amaryl exhibits more pronounced extrapancreatic blood glucose-lowering activity compared to conventional sulfonylureas.
- 3) In vitro this extrapancreatic activity can be explained by direct stimulation of glucose transport (via GLUT4 translocation) and non-oxidative metabolism in fat and muscle cells.
- 4) At the molecular level Amaryl seems to intercalate spontaneously into caveolae of fat and muscle cells thereby (i) activating a GPI-PLC, (ii) causing redistribution of caveolar components, such as GPI lipids, GPI proteins and non-receptor tyrosine kinases, (iii) triggering tyrosine phosphorylation of caveolin and (iv) inducing downstream cross-talk to the insulin signaling cascade via insulin receptor-independent tyrosine phosphorylation of IRS-1.
- 5) The concentrations of Amaryl required for stimulating these signaling events and glucose transport/metabolism in adipose cells in vitro were higher than the reported therapeutic plasma drug levels.
- 6) Provided that the observed time-dependent accumulation of Amaryl in caveolae of peripheral cells represents the initial trigger for the described cross-talk from caveolae to the insulin signaling cascade and would also occur in vivo, due to the longer exposure times even at lower drug concentrations the insulin-independent blood glucose-lowering activity of Amaryl might become effective in vivo.
- 7) In light of the discussion of hyperinsulinism as a concern in the pathogenesis and therapy of NIDDM, the higher insulin-independent blood glucose-lowering activity of Amaryl may be of therapeutic relevance.

References

- [1] Müller, G., Geisen, K., *Horm. Metab. Res.* **28**, 469 (1996)
- [2] Anderson, R. G. W., *Annu. Rev. Biochem.* **67**, 199 (1998)
- [3] Müller, G., Frick, W., *Cell. Mol. Life Sci.* **56**, 945 (1999)
- [4] Müller, G. et al., *Mol. Cell. Biol.* **20**, 4708 (2000)
- [5] Müller, G., *Mol. Med.* **6**, 907 (2000)

Genetische Defekte bei verschiedenen Formen des Diabetes mellitus: Therapie-Implikationen?

Dirk Müller-Wieland, Birgit Knebel und Jörg Kotzka

Klinik II und Poliklinik für Innere Medizin der Universität zu Köln (Direktor: Prof. Dr. W. Krone)

Die genetischen Grundlagen multifaktorieller Erkrankungen, wie z. B. des Diabetes mellitus, der Hypertonie, koronaren Herzkrankheit etc. sind außerordentlich komplex. Ein Grund für die Schwierigkeiten der Analysen ist, daß das klinische Bild dieser Erkrankungen sehr heterogen ist und häufig nur über die Höhe einer physiologischen Variablen, z. B. Blutzucker oder Blutdruck, definiert ist. Daher sind die meisten untersuchten Patientenkollektive klinisch und wahrscheinlich auch pathogenetisch nicht homogen. Dementsprechend sind bis heute im wesentlichen nur die Erbdefekte seltener klinisch gut charakterisierter Krankheiten beschrieben worden. Bei Erkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 2 hingegen sind nur einzelne Gene in geringen Subkollektiven (< 5 %) gefunden worden. Wenn diese genetisch charakterisierten Patienten jedoch kli-

nisch genau beschrieben wurden, zeigten sich doch einzelne pathognomonische Charakteristika. Dies bedeutet, daß bei so komplexen und heterogenen Erkrankungen klinische Subkollektive möglicherweise nach Identifikation eines Genlokus charakterisiert werden können.

Ein pathogenetisches Schlüsselphänomen des Typ 2-Diabetes ist die Insulinresistenz. Durch die Fortschritte in der molekularen Aufklärung der Signaltransduktion von Insulin in den letzten Jahren verstehen wir zwar die „ersten Wirkmechanismen“, z. B. Rezeptoraktivierung und Substrat-Phosphorylierung, sowie die Endpunkte, z. B. Regulation verschiedener Enzyme und Gene, aber die dazwischenliegenden Verbindungs- und Vernetzungswege sind im wesentlichen noch unklar. Verschiedenste genetische Forschungsansätze zur Identifikation

von Genloki bei multifaktoriellen Erkrankungen führen potentiell nur zum Erfolg, wenn einzelne pathogenetisch bedeutsame Genloki für mehr als 10 % der Erkrankungsmanifestation verantwortlich sind. Hierfür gibt es zur Zeit beim Typ 2-Diabetes keinen Anhaltspunkt.

Verschiedene Kandidatengene sind in Assoziations- und Linkage-Studien sowie in Tiermodellen und transgenen Mäusen analysiert und verifiziert worden. Insgesamt ist die Prävalenz von genetischen Defekten dieser Kandidatengene aber bei der heterogenen Population des Typ 2-Diabetes selten.

Insofern ist ein sicherer paralleler Weg der genetischen Analyse die Identifizierung und dann weitere Charakterisierung neuer Kandidatengene in definierten biochemischen Systemen. Demzufolge meinen wir, daß die genaue Charakterisierung von Signaldefekten bei Patienten mit genetischen Syndromen der Insulinresistenz u. a. Beispiele für neue Kandidatengene geben können.

Genetische Defekte können in jedem Signalschritt der Insulinwirkung bei einer Insulinresistenz auftreten. Dementsprechend unterscheiden wir z. Z. Syndrome der Insulinresistenz, bei denen genetische Defekte des Insulinrezeptors beschrieben sind von solchen, bei denen der Insulinrezeptor normal ist, d. h. Postrezeptordefekte vorliegen. Die Kombination beider mögen auch zum klinischen Bild dieser Erkrankungen beitragen. Das klinische Bild einer genetisch bedingten Insulinresistenz wird im wesentlichen durch das Ausmaß der Störung der Insulinsignaltransduktion bestimmt.

Bei einer Reihe von Patienten mit anderen seltenen Formen des Diabetes mellitus sind Mutationen gefunden worden, z. B. in Assoziation mit Mitochondriopathien. Da die mitochondriale DNA nur mütterlichseits vererbt wird, haben diese Patienten einen charakteristischen Stammbaum. Ferner scheinen genetische Störungen der Mitochondrien überwiegend in den Zellen zu einem Funktionsverlust zu führen, in denen sie relativ zahlreich vorhanden sind, z. B. Nervenzellen. Charakteristischerweise haben diese Patienten eine vermin-

derte Hörleistung. Andere klinische Störungen, die mit einer identischen Veränderung der Mitochondrien assoziiert sind, wie z. B. das MELAS-Syndrom (mitochondriale Myopathie, Enzephalopathie, Laktatazidose und Schlaganfall-ähnliches Syndrom) haben keinen klinisch manifesten Diabetes. Interessanterweise haben Patienten mit einer Friedrich-Ataxie, die häufig auch einen Typ 2-Diabetes haben, genetische Störungen des Frataxins. Dieses Gen codiert für ein Eiweißmolekül, das ebenfalls eine entscheidende Rolle im mitochondrialen Stoffwechsel spielt. Veränderungen dieses Gens sind auch mit einem erhöhten Risiko des Typ 2-Diabetes assoziiert. Seit vielen Jahren ist das klinische Bild eines Typ 2-Diabetes, der bereits bei Jugendlichen auftritt, bekannt. Diese Art des „Alters-Diabetes“ bei Jugendlichen (MODY: Maturity-Onset-Diabetes of the Young) wird autosomal dominant vererbt und ist durch eine Störung der Insulinsekretion, nicht jedoch der Insulinwirkung charakterisiert. MODY ist selten. Die häufigste Form des MODY beruht auf einer genetischen Störung der Glukokinase. Die Glukokinase scheint dem „Glukosensensor“ der β -Zelle zu entsprechen. Dementsprechend korreliert die Aktivität der Glukokinase mit der Insulinsekretion. Es sind zahlreiche Defekte der Glukokinase identifiziert worden, die zu einer veränderten Aktivität und Aktivierbarkeit der Glukokinase führen. Dementsprechend haben diese Patienten eine für die Blutzuckerwerte relativ verminderte Insulinsekretion. Diese Form des Diabetes ist zumeist diätetisch oder durch orale Antidiabetika führbar.

Da das diagnostische Kriterium derzeit sich ausschließlich an der physiologischen Variable Blutzuckerwert orientiert, ist es wahrscheinlich, daß unterschiedliche genetische Störungen zu einer Blutzuckererhöhung führen können. Die genaue genetische Charakterisierung wird eines Tages dazu führen, daß zahlreiche unterschiedliche klinische Verlaufsformen besser differenziert und damit verschiedene Subtypen des Diabetes mellitus klassifiziert und therapiert werden können.

Pathogenese und Differentialtherapie der diabetischen Neuropathien

Dieter Luft

Abteilung Innere Medizin IV, Endokrinologie, Stoffwechsel und Pathobiochemie, Medizinische Klinik und Poliklinik, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen

Nervenschädigungen bei Diabetikern sind vielgestaltig: akute werden von chronischen Verläufen, symptomatische von asymptomatischen, schmerzhaft von schmerzlosen getrennt. Der Befall kann symmetrisch oder asymmetrisch sein, sensible, motorische und autonome Nerven sind in unterschiedlicher Ausprägung betroffen. Einigkeit über die nosologische Systematik ließ sich deshalb bislang nicht erzielen. Darüber hinaus läßt die Vielfalt vermuten, daß es keine einheitliche Pathogenese für alle diabetischen Nervenschäden gibt. Eine kausale Behandlung würde aber die Kenntnis der Pathomechanismen voraussetzen. Hypothesen zur Pathogenese wurden bislang fast ausschließlich für die chronische, senso (-motorische), periphere, symmetrische Polyneuropathie entwickelt, die bei etwa 30 % aller Diabetiker nachweisbar ist und den wesentlichen Risikofaktor für die Entstehung eines diabetischen Fußsyndroms mit all seinen Folgen darstellt. Die Vermeidung oder Besserung von Nervenschäden wäre deshalb weit über die Linderung neuropathischer Symptome und Beschwerden hinaus von größter Bedeutung.

Grundsätzlich sind zwei Wege denkbar, wie diabetische Stoffwechselstörungen nervale Strukturen schädigen können: einmal durch direkte Einflüsse auf Myelin, Schwann'sche Zellen und Axon, zum anderen indirekt über pathologische Veränderungen der Vasa nervorum. Am wahrscheinlichsten ist die Kombination beider Mechanismen, die sich darüber hinaus gegenseitig beeinflussen können.

Als entscheidende primäre Stoffwechselstörung gilt die Hyperglykämie, die zu einer Vielzahl von sekundären biochemischen Alterationen führt, die sich gegenseitig beeinflussen und bedingen können. Als erstes wurden Veränderungen des Sorbitol-myo-Inositol-Phosphoinositid-Stoffwechsels und der Na^+K^+ -ATPase beobachtet. Weitere wichtige Teilhypothesen beschäftigen sich mit der vermehrten Bildung von „advanced glycation end products“ (AGE), die möglicherweise über RAGE (Rezeptor für AGE) zu einer Aktivierung von NF- κ B führt. Oxidativer Streß – die Zunahme von Sauerstoffradikalen durch vermehrten Anfall und/oder verminderte Beseitigung –, die Einschränkung der Aktivität der $\Delta 6$ -Desaturase, die zur verminderten Bildung von γ -Linolensäure und Folgeprodukten (Prostaglandine) führt, die reduzierte Produktion von NO und Änderungen im Diacylglycerol/Proteinkinase C- β -Stoffwechsel sind ebenfalls Teilaspekte, über deren relative Bedeutung diskutiert wird. Ob die „gemeinsame Endstrecke“

all dieser Mechanismen die Mikroangiopathie der neuralen Gefäße mit Hypoxie ist, die zunächst funktionelle, später morphologische Störungen hervorruft, ist umstritten. Diabetische Nerven werden nicht nur vermehrt geschädigt, sie regenerieren auch schlechter, was auf Störungen der Trophik (verminderte Bildung, Transport und Wirkung von Nervenwachstumsfaktoren) zurückgeführt wird. Für autonome Neuropathien könnten zusätzlich immunologische Phänomene (Antikörper gegen Nervenbestandteile) und ein Mangel an C-Peptid eine Rolle spielen. Bei Mononeuropathien wurden vasculitische Veränderungen beobachtet.

Letztlich kann die Bedeutung der erwähnten Mechanismen für die menschliche diabetische Polyneuropathie nur durch entsprechende klinische Studien zur Prophylaxe oder Therapie abgeschätzt werden. Dies ist bis jetzt nur sehr begrenzt gelungen. Der Stellenwert der Stoffwechsel-Verbesserung zur Prophylaxe und Therapie ist – für Typ 1-Diabetiker, nicht für Typ 2-Diabetiker – belegt. Das Ausmaß der möglichen Wirkung scheint vom Neuropathie-Stadium abzuhängen. Die Hemmung der Sorbitol-Bildung durch Aldose-Reduktase-Inhibitoren hat auch nach mehr als 20jähriger Erprobung noch keine klaren Erkenntnisse geliefert. Die Substitution von myo-Inositol war wirkungslos. Aminoguanidin, ein Hemmer der AGE-Bildung, konnte wegen Nebenwirkungen nicht weiter untersucht werden. Versuche, über eine Durchblutungsverbesserung die Neuropathie zu beeinflussen, liegen noch nicht in ausreichender Zahl vor. Die Ergebnisse der Behandlung mit Antioxidantien, z. B. α -Liponsäure, sind widersprüchlich. Auch der Ersatz von γ -Linolensäure hat nur marginale Verbesserung erbracht. Die Substitution von rekombinantem Nervenwachstumsfaktor hatte keine Wirkung. Insgesamt sollen mindestens 30 Substanzen bis zu Phase III Studien entwickelt worden sein, ohne daß dann die Wirksamkeit gesichert werden konnte. Als mögliche Ursachen dieser enttäuschenden Studienlage werden diskutiert: Unterschiede Neuropathie-Pathogenese in Tiermodellen und beim Menschen und inadäquates Design der klinischen Studien, was die Auswahl der Patienten, die untersuchten Endpunkte und die Neuropathiestadien angeht. Möglicherweise können nur frühe, funktionelle, noch reversible Einschränkungen der neuralen Funktionen mit Erfolg behandelt werden und nicht – wie in Studien bislang üblich – Neuropathieformen, bei denen morphologische – und damit kaum reversible – Veränderungen im Vordergrund stehen.

Adipositas: Pathogenese und medikamentöse Therapie

Hans Hauner

Klinische Abteilung, Deutsches Diabetes-Forschungsinstitut, Düsseldorf

Übergewicht bzw. Adipositas im engeren Sinne (Body Mass Index $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) ist heute in den Industrieländern nahezu epidemisch verbreitet. Jeder dritte erwachsene Deutsche sollte sein Gewicht aus medizinischen Gründen senken. Adipositas wird heute als chronische Erkrankung gesehen, die mit einem hohen Gesundheitsrisiko einhergeht und letztlich mit einer deutlichen Beeinträchtigung von Lebensqualität und Lebenserwartung verbunden ist.

Obwohl in den letzten Jahren bei Menschen zunehmend auch monogenetische Formen beschrieben wurden, sind diese insgesamt nur für einen kleinen Teil der Betroffenen verantwortlich. In der Regel liegt wahrscheinlich eine polygenetische Prädisposition vor, die in Interaktion mit Lebensstilfaktoren erst zur klinischen Manifestation der Störung führt. Der genetische Anteil wird auf der Grundlage von Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien auf 30 bis 50 % geschätzt! Über die endgültige Manifestation der Adipositas entscheidet die Lebensweise. In diesem Kontext ist der Bewegungsmangel und die, gemessen am Bedarf, inadäquat hohe Energiezufuhr von herausragender Bedeutung. Der Energieverbrauch für Muskelarbeit war in den letzten Jahrzehnten deutlich rückläufig, auf der anderen Seite stieg die Fettaufnahme kontinuierlich an, was letztlich eine passive Überkonsumtion und damit eine Gewichtszunahme begünstigt.

Die Erfahrungen der letzten Jahrzehnte zeigen, daß die konventionelle, nicht-pharmakologische Behandlung der Adipositas, die vor allem auf eine langfristige Änderung des Lebensstils zielt, trotz eines hohen Aufwands nur in Grenzen erfolgreich ist, so daß die Suche nach Pharmaka mit gewichtssenkender Wirkung in den letzten Jahren stark intensiviert wurde. Kürzlich wurden zwei neue Medikamente in die Behandlung eingeführt,

die eine zusätzliche, allerdings ebenfalls begrenzte Gewichtssenkung erlauben.

Sibutramin ist ein selektiver Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer, der einerseits zu einer schnellen und anhaltenden Sättigung und andererseits über eine zentrale Sympathikusaktivierung zu einer Erhöhung des peripheren Energieverbrauchs führt. Die damit erreichbare zusätzliche Gewichtssenkung liegt in einer Größenordnung von 3 bis 6 kg. Orlistat ist dagegen ein peripherer Lipaseinhibitor, der die Fettverdauung und -resorption im Dünndarm stört und auf diese Weise das Körpergewicht um durchschnittlich 2 bis 4 kg senkt. Während bei Orlistat als unerwünschte Wirkung gastrointestinale Beschwerden im Vordergrund stehen, werden unter Sibutramin-Behandlung insbesondere Obstipation und Mundtrockenheit häufig beobachtet. Es kommt daneben auch zu einem geringen Herzfrequenzanstieg um 3 bis 5 Schläge/min. Eine medikamentöse Zusatztherapie ist nur dann indiziert, wenn die nicht-pharmakologischen Behandlungsmaßnahmen zuvor zu keiner ausreichender Gewichtssenkung geführt haben und bei der Nutzen-Risiko-Abwägung ein deutlicher Vorteil zu erwarten ist. Beide Medikamente werden insgesamt gut toleriert, schwere Komplikationen wurden bei richtiger Indikationsstellung bislang nicht beobachtet.

Daneben sind derzeit weitere pharmakologische Wirkprinzipien in der klinischen Prüfung, so daß in Zukunft weitere Substanzen zur Verfügung stehen werden und möglicherweise auch durch Kombinationstherapie eine stärkere Gewichtssenkung möglich ist. Langfristig am erfolgreichsten dürfte eine Strategie sein, sowohl mit den nicht-pharmakologischen wie mit den medikamentösen Behandlungsoptionen eine möglichst individuelle und damit maßgeschneiderte Therapie zu realisieren.

Physiologie und Pathophysiologie von Leptin und seines Rezeptors: Therapeutische Perspektiven?

Wolfgang Rascher

Klinik für Kinder und Jugendliche der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Die Entdeckung von Leptin im Jahre 1994 war aus verschiedenen Gründen bemerkenswert:

1. markiert sie den Beginn der Suche nach einer genetischen Ursache der Adipositas,
2. führte sie zur Entdeckung eines neuen bedeutsamen hormonellen Prinzips und
3. zeigte sie, daß die Fettgewebszelle nicht inert, sondern eine wichtige Rolle in der Regulation der Nahrungsaufnahme und des Energieverbrauchs spielt.

Das Protein Leptin wird vom ob-Genprodukt in den Adipozyten in Abhängigkeit von der Masse der Fettzellen sezerniert. Eine erhöhte Leptinkonzentration wirkt als Sättigungssignal, hemmt die Nahrungsaufnahme und eine steigert den Energieverbrauch. Es gibt zahlreiche Hinweise, daß Leptin neben seiner zentralen Wirkung auf den Hypothalamus auch Wirkungen auf periphere Organe über lokale Leptinrezeptoren entfaltet, physiologische Funktionen z. B. bei der Fertilität, der endokrinen Regulation und der Streßreaktion besitzt, aber auch Eigenschaften als Wachstumsfaktor entwickelt. Während der körperlichen Entwicklung steigt Leptin in Abhängigkeit von der Fettzellmasse an und erreicht einen Höchstwert zu Beginn der Pubertät. Es ist wahrscheinlich, daß Leptin die Pubertät beim Menschen triggert.

Leptin wirkt über eine Bindung an spezifische Cytokin-ähnliche Leptinrezeptoren im Hypothalamus. Dadurch werden die Sekretion von Neuropeptiden (z. B. Neuropeptid Y, Proopiomelanocortin), die Energieaufnahme und -abgabe sowie neuroendokrine Funktionen beeinflusst. Zudem sind Leptinrezeptoren in vielen peripheren Geweben nachzuweisen, deren physiologische Funktionen zunehmend beschrieben werden.

Die initiale Hoffnung, daß Leptin ein ideales Medikament für Gewichtsreduktion und zur Behandlung der Adipositas darstellt, war zu optimistisch und hat sich bisher nicht erfüllt. Leptinmangel als Ursache menschlicher Adipositas ist extrem selten. Bisher wurden nur wenige Patienten mit inaktivierenden Mutationen des Leptingens beschrieben. Die Patienten kamen mit normalem Geburtsgewicht zur Welt, entwickelten aber innerhalb der ersten Lebensjahre eine extreme Adipositas.

Die Adipositas des jugendlichen bzw. erwachsenen Menschen ist in der Regel mit erhöhten Leptinkonzentrationen assoziiert. Die Tatsache, daß Leptin überpro-

portional zur Fettgewebsmasse gesteigert ist, weist auf eine Leptinresistenz hin. Mutationen im Leptinrezeptor sind selten, jedoch ist die Identifizierung von möglichen Rezeptor- oder Postrezeptordefekten als Ursache der relativen Leptinresistenz bei den meisten Adipösen von großer klinischer Bedeutung. Die wenigen Patienten mit inaktivierenden Mutationen des Leptinrezeptors sind stark adipöse, bleiben präpubertär und haben einen hypogonadotropen Hypogonadismus.

Im Tierversuch (Ratte, Hund, Affe) reduziert Leptin das Körpergewicht. Leptin senkt im Gegensatz zum Fasten ausschließlich die Masse an Fettgewebe. Fasten führt zu einem Verlust von Fettgewebe, aber auch der fettfreien Körpermasse.

Die subkutane Gabe von Leptin bei einem Kind mit einem kongenitalen Leptinmangel führte über 9 Monate zu einer Gewichtsabnahme von 14,7 kg. Erhöhte Konzentrationen von Insulin und freien Fettsäuren verbesserten sich und die basalen und stimulierten Follicle-stimulating Hormone (FSH)- und Luteinizing Hormone (LH)-Konzentrationen in Serum stiegen sukzessive über einen Zeitraum von 12 Monaten an. Eine pulsatile Sekretion zeigte den Beginn der Pubertät.

Studien zur Wirksamkeit und Sicherheit einer subkutanen Leptintherapie (rekombinantes Methionyl-Leptin in einer Dosis von 0,01 bis 0,3 mg/kg pro Tag) ergaben bisher keine überzeugenden Befunde. Die Behandlung war bis auf die Ausbildung lokaler Erytheme am Injektionsort (86 % milde, 14 % starke Reaktion) sicher und gut verträglich. In Verbindung mit einer kalorienarmen Kost (500 kcal/Tag) nahmen Adipöse verglichen mit einer Placebokontrolle nur in einer hohen Dosis (0,3 mg/kg pro Tag) unter 24wöchiger Leptintherapie statistisch signifikant im Mittel 5,4 kg (0,7–7,1 kg) an Gewicht ab. Zwei Patienten unterbrachen die Therapie wegen schwerer lokaler Komplikationen am Injektionsort.

Die bisherigen Therapieergebnisse mit Leptin bei normalen und erhöhten Konzentrationen von Leptin im Serum sind nicht zufriedenstellend. Es bleibt abzuwarten, ob eine kontinuierliche subkutane Infusion des nicht gut wasserlöslichen Leptins der subkutanen Injektion in relativ hohen Dosen einmal pro Tag überlegen ist. Ein Therapieansatz der Leptinresistenz steht noch aus. Entgegen den großen Erwartungen hat Leptin bisher die Hoffnungen als neuen Therapieansatz bei Adipositas nicht erfüllt.

Anschriften der Referenten

Prof. Dr. Bruno Allolio
Klinikum der Bayerischen
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Medizinische Universitätsklinik
Abteilung Endokrinologie – Diabetologie –
Rheumatologie
Josef-Schneider-Straße 2
97080 Würzburg

Prof. Dr. R. Arnold
Philipps-Universität
Zentrum für Innere Medizin
Baldingerstraße
35033 Marburg

PD Dr. Dr. Reinhold G. Erben
Ludwig-Maximilians-Universität München,
Institut für Tierphysiologie,
Veterinärstr. 13
80539 München

Prof. Dr. Herbert Fleisch
Avenue Désertes 5
CH – 1009 Pully/Schweiz

Prof. Dr. Karl-Heinrich Fritzscheier
Schering AG
SGE FK/HAT Forschung
13342 Berlin

Prof. Dr. med. Dr. Roland Gärtner
Klinikum der Universität München
Medizinische Klinik – Innenstadt
Endokrinologie
Ziemssenstraße 1
80336 München

Prof. Dr. Alexander L. Gerbes
Medizinische Klinik II im Klinikum der
Ludwig-Maximilians-Universität Großhadern
Marchionistraße 15
81377 München

Prof. Dr. Burkhard Göke
II. Medizinische Klinik im Klinikum der
Ludwig-Maximilians-Universität Großhadern
Marchionistraße 15
81377 München

Prof. Dr. med. Hans Hauner
Deutsches Diabetes-Forschungsinstitut
Klinische Abteilung
Auf'm Hennekamp 65
40225 Düsseldorf

Prof. Dr. H.-U. Häring
(in diesem Jahr statt dessen Dr. Michael Stumvoll)
Eberhard-Karls-Universität
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik und Poliklinik
Abt. Innere Medizin IV
Otfried-Müller-Straße 10
72076 Tübingen

Prof. Dr. Hubertus Jarry
Universitäts-Frauenklinik
Abt. Klinische und experimentelle Endokrinologie
Robert-Koch-Straße 40 37075 Göttingen

Prof. Dr. Hubert Kolb
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Deutsches Diabetes-Forschungsinstitut
Auf'm Hennekamp 65
40225 Düsseldorf

Prof. Dr. Rüdiger Landgraf
Klinikum der Universität München-Innenstadt,
Medizinische Klinik
Ziemssenstraße 1
80336 München

Prof. Dr. Dieter Luft
Eberhard-Karls-Universität
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik und Poliklinik
Abteilung Innere Medizin IV
Endokrinologie, Stoffwechsel und Pathobiochemie
Otfried-Müller-Straße 10
72076 Tübingen

PD Dr. Günter Müller
Aventis Pharma Deutschland GmbH
DG Metabolic Diseases, Bldg. H825
Head Biochemistry
65926 Frankfurt/Main

Prof. Dr. Dirk Müller-Wieland
Klinik II und Poliklinik für
Innere Medizin der Universität zu Köln
Lehrstuhl II für Innere Medizin,
Medizinische Klinik II,
Klinikum Köln-Merheim
Joseph-Stelzmann-Straße 9
50931 Köln

Prof. Dr. Peter P. Nawroth
Neue Anschrift:
Innere Medizin I,
Bergheimer Str. 58,
69115 Heidelberg

Prof. Dr. Wolfgang Rascher
Klinik mit Poliklinik für Kinder und Jugendliche
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
Loschgestr. 15
91054 Erlangen

PD Dr. Christian J. Strasburger
Klinikum der Universität München
Medizinische Klinik – Innenstadt
Ziemssenstraße 1
80336 München

Univ.-Prof. Dr. med. Peter Vaupel
Johannes Gutenberg Universität Mainz
Institut für Physiologie & Pathophysiologie
Fachbereich Mainz
Duesbergweg 6
55099 Mainz

Prof. Dr. Martin Wehling
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Institut für Klinische Pharmakologie
Theodor-Kutzer-Ufer
68167 Mannheim