

I) Einleitung

Innerhalb der letzten drei Jahrzehnte hat sich eine grundlegende Veränderung im Bereich der Erforschung chronischer internistischer Erkrankungen vollzogen. Während zuvor die physiologische Charakterisierung von Organdysfunktionen im Vordergrund stand, eroberte die heute als „Molekulare Medizin“ bekannte Forschungsrichtung in zunehmendem Maße die Labore sowohl auf universitärer Ebene als auch im Bereich der Pharmaindustrie. Dabei lassen sich grob zwei vor allem methodisch voneinander trennbare Richtungen unterscheiden:

- 1) Die Untersuchung zellulärer Signalkaskaden im Zellmodell oder bei transgen veränderten Mäusen diente zunächst einem verbesserten pathophysiologischen Verständnis. Inzwischen wird dieser Ansatz erfolgreich zur Identifizierung neuer molekularer Zielproteine für die medikamentöse Behandlung bestimmter Krankheiten eingesetzt.

- 2) Die medizinische Genetik, die durch eine vergleichende Analyse des Genoms einer Familie oder größerer Patientenkohorten die genetische Ursache oder die Prädisposition vererbbarer Leiden aufspürt. Eine Vielzahl monogenetischer Erkrankungen wurde auf diese Weise identifiziert.

Die hier vorgestellten Arbeiten entstammen der erstgenannten Forschungsrichtung. Diese wurde jedoch jüngst im Hinblick auf ihren Nutzen für die Patientenversorgung kritisch hinterfragt. So kommt eine Analyse des medizinischen Fortschritts im Bereich neurodegenerativer Erkrankungen zu dem Ergebnis, dass keinerlei neue Therapiekonzepte durch die rein molekulare Forschung zur klinischen Reife gebracht wurden. Hingegen haben im gleichen Zeitraum Zufallsbeobachtungen mit klinisch in anderen Indikationsbereichen getesteten Medikamenten durchaus zu neuen Ansätzen geführt (z.B. nicht-steroidale Antiphlogistika bei der Behandlung des Morbus Alzheimer) (Lansbury, 2004). Als Erklärung vermutet der Autor, dass die im molekularen Bereich verwendeten Zell- und Tiermodelle ungeeignet waren die Komplexität der Erkrankungen abzubilden. Nur die klinische Beobachtung war rückblickend geeignet, die Wirksamkeit neuer Ansätze mit hinlänglicher Genauigkeit zu überprüfen; der

Wirkungsmechanismus konnten anschließend in den verfügbaren Zellkulturmodellen geklärt werden.

An Hand weiterer Beispiele zieht der Autor die Schlussfolgerung, dass für die erfolgreiche Suche nach neuen Therapiekonzepten eine enge Verknüpfung klinischer Informationen mit molekularen Fragestellungen notwendig ist. Eine rein molekular gesteuerte Forschung hat mit Ausnahmen wie dem Tyrosinkinase- Inhibitor Imatinibe (Gleevec™) wenige Erfolge bei der Entwicklung neuer Therapieoptionen vorzuweisen. Die Ursache hierfür ist am ehesten in der Komplexität und Redundanz molekularer Signalkaskaden sowie der meist nicht vollständigen Spezifität neuer Substanzen zu suchen.

Auf Grund dieser Überlegungen erscheint der Ansatz legitim, an den Anfang molekularer Fragestellungen klinische Beobachtungen zu stellen. Diese Habilitationsschrift enthält verschiedene Arbeiten, bei denen molekulare Wirkungsmechanismen klinisch erprobter Medikamente aus den Krankheitsbereichen Asthma bronchiale (stellvertretend für andere chronisch entzündliche Erkrankungen wie der Arteriosklerose) und Herzinsuffizienz untersucht wurden. Im Bereich chronisch entzündlicher Erkrankungen beschäftigen sich die Untersuchungen mit dem Wirkprinzip von Glukokortikoiden (Bergmann et al., 2004b; Bergmann et al., 2004c). Vor dem Hintergrund der Herzinsuffizienz wurden die molekularen Grundlagen einzelner Aspekte der Wirkung von Antagonisten der β -Adrenorezeptoren (β -Blocker) sowie der HMG CoA Reduktase Inhibitoren („Statine“) betrachtet (Bergmann et al., 2004a; El Jamali et al., 2004). Im Rahmen dieser Studien wurde darüber hinaus die Bedeutung des Transkriptionsfaktors NF- κ B als vermutetes Zielprotein von Glukokortikoiden in alveolären Epithelzellen überprüft. Vor dem Hintergrund der Herzinsuffizienz wurde die Bedeutung der Transkriptionsfaktoren NF- κ B, GATA-4, CREB und β -catenin im Zusammenhang mit β -Blockern und Statinen in Kardiomyozyten untersucht (Bergmann et al., 1998; Bergmann et al., 2001).

Das Asthma bronchiale kann als Prototyp einer chronisch entzündlichen Erkrankung angesehen werden. Ein Übergewicht an T-Helfer Zellen in der Bronchialarterienwand führt zu erhöhten Spiegeln an pro-inflammatorischen Zytokinen, die wiederum die Aktivierung von alveolären Makrophagen und eosinophilen Granulozyten steuern. Die Freisetzung von eosinophilen Granulozyten aus dem Knochenmark wird über das Zytokin IL-5 reguliert, welches bei

Asthmapatienten erhöht ist (Staples et al., 2001; Staples et al., 2003). Der Wachstumsfaktor „granulocyte macrophage colony stimulating factor“ (GM-CSF) wiederum steuert die Einwanderung dieser Zellen in die Bronchialarterienwand und fördert dort ihr Überleben (Newton et al., 2001). Neben diesen beiden genannten pro-inflammatorischen Zytokinen existiert noch eine Vielzahl weiterer Faktoren, die über ein Zytokinnetzwerk die chronische Entzündungsreaktion unterhalten. Dieses Netzwerk weist eine erhebliche Redundanz auf, so dass die Inhibition eines einzelnen Faktors zum überwiegenden Teil keine oder eine unerwartete Wirkung auf das Krankheitsgeschehen hat. Diese Beobachtung musste mehrfach im Rahmen verschiedener klinischer Studien mit TNF- α Antagonisten gemacht werden. Weder bei der Sepsis noch im Rahmen der Herzinsuffizienz ließ sich der erwartete positive Effekt nachweisen, obwohl die TNF- α Freisetzung wesentlich an der Pathogenese dieser Krankheitsbilder beteiligt ist. Es lag daher auf der Hand nach Faktoren zu suchen, die verschiedene Signaltransduktionswege integrieren. Diese Vorgabe erfüllen Transkriptionsfaktoren wie z.B. NF- κ B. So integriert NF- κ B die Freisetzung von Wachstumsfaktoren wie GM-CSF nach so unterschiedlichen Stimuli wie TNF- α , IL1- β , LPS und UV-Licht. Die Signaltransduktionswege dieses Faktors sind daher von besonderem Interesse, da sie mögliche Ansatzpunkte für eine spezifische NF- κ B Inhibition liefern.

Klinisch sind Glukokortikoide wie Dexamethason Grundpfeiler der Behandlung des Asthma bronchiale. Dexamethason inhibiert in einer Vielzahl von Zellmodellen die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine. Darüber hinaus finden sich in einer Vielzahl von Promotorregionen pro-inflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren Bindungsstellen für den Transkriptionsfaktor NF- κ B (Barnes and Karin, 1997). Die Hypothese lag daher nahe, dass Glukokortikoide über die Inhibition dieses Transkriptionsfaktors ihre breite anti-inflammatorische Wirksamkeit erreichen (Barnes and Karin, 1997). Diese Hypothese konnte auch nach Überexpression des Glukokortikoid-Rezeptors in einigen Zellmodellen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse konnten jedoch in anderen Zellmodellen nicht reproduziert werden (Newton et al., 1998). Da insbesondere die hoch dosierte und dauerhafte Anwendung von Glukokortikoiden eine Vielzahl von schweren Nebenwirkungen induziert, ist das Verständnis des molekularen Wirkmechanismus dieser Substanzklasse jedoch mit der Aussicht auf eine erhebliche Verbesserung der pharmakologischen Behandlungsmöglichkeiten verknüpft. Es wurden daher in primären T-Zellen eine Reihe von Versuchen durchgeführt, um am Beispiel der

Regulation des Wachstumsfaktors GM-CSF den molekularen Wirkmechanismus der Glukokortikoide zu klären (Bergmann et al., 2004c). Darüber hinaus wurden die Aktivierungspfade von NF- κ B in Lungenepithelzellen untersucht, um gegebenenfalls neue Ansatzpunkte für eine Inhibition dieses Transkriptionsfaktors zu identifizieren (Bergmann et al., 1998).

Verschiedene Grunderkrankungen können eine chronische Herzinsuffizienz auslösen: rezidivierende ischämische Ereignisse induzieren ebenso eine eingeschränkte Pumpfunktion wie auch eine chronische Druck- oder Volumenüberlastung bei arterieller Hypertonie oder Herzklappenvitien. Dabei wird auf zellulärer Ebene der Verlust an kontraktilen Elementen zunächst durch die Hypertrophie der verbliebenen Myozyten ausgeglichen. Dieser Anpassungsprozeß führt jedoch zu einer abnehmenden Dehnbarkeit des Ventrikels. Die erhöhte Druckbelastung des Ventrikels führt zum weiteren Untergang von Zellen des kontraktilen Apparates. Für den Untergang von Kardiomyozyten spielt in dieser Phase der Prozess des programmierten Zelltodes, Apoptose, eine große Rolle (Haunstetter and Izumo, 2000). In transgenen Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass die Unterdrückung der zellulären Hypertrophie nicht zu einer früheren Dekompensation, sondern dauerhaft zu einer besseren Ventrikelfunktion führt (Esposito et al., 2002). Die Unterdrückung der Hypertrophie von Kardiomyozyten sowie die Aktivierung von Antagonisten der Apoptose, sogenannter Überlebensfaktoren, erscheint daher auf molekularer Ebene als vielversprechender Ansatz einer weiter verbesserten Therapie der Herzinsuffizienz.

Klinisch werden bei ischämisch bedingter Herzinsuffizienz wie auch bei arterieller Hypertonie β -Blocker eingesetzt. Diese Medikamente sind in der Lage, die Mortalität von Herzinsuffizienzpatienten erheblich zu senken (Hjalmarson et al., 2000). Bei Patienten mit einer Arteriosklerose als Grunderkrankung kommen Inhibitoren der Cholesterinsynthese (Statine) hinzu, die in dieser Population eine bedeutende Reduktion der Mortalität bewirken. Darüber hinaus haben klinische Untersuchungen auf eine Verbesserung des linksventrikulären Remodellings nach ischämischen Ereignissen durch Statine hingewiesen (Serruys et al., 2002). Wir haben daher die Wirkung von β -Blockern und Statinen auf isolierte primäre Kardiomyozyten im Rahmen von Hypertrophie- und Apoptosemodellen untersucht (Bergmann et al., 2004a; El Jamali et al., 2004). Darüber hinaus wurde die Rolle des Transkriptionsfaktors NF- κ B bei der

Apoptose und Hypertrophie von Kardiomyozyten *in vitro* und *in vivo* untersucht (Bergmann et al., 2001). NF- κ B ist für viele Zellen ein Überlebensfaktor, da die Expression einer Reihe von Inhibitoren der Apoptose durch diesen Transkriptionsfaktor gesteuert wird (Kucharczak et al., 2003). Auch hier wurde initial vermutet, dass NF- κ B ein Targetprotein der genannten Medikamente sein könnte.

Neben NF- κ B sind eine Reihe von weiteren Transkriptionsfaktoren mit der Pathogenese der Herzinsuffizienz verknüpft. So haben Untersuchungen an genetisch veränderten Mauslinien eine entscheidende Rolle für die Calcium-abhängig regulierten Faktoren NF-AT, GATA und MEF2 nachgewiesen (Liu et al., 2001; Molkentin et al., 1998). Allerdings führte die Umsetzung dieser Erkenntnisse in pharmakologische Therapieansätze zu widersprüchlichen Ergebnissen (Ding et al., 1999; Yang et al., 2001). Die prinzipielle Eignung von Transkriptionsfaktoren als molekulare Zielproteine im Rahmen der Herzinsuffizienz kann jedoch als erwiesen gelten. Es bleibt hingegen unklar, welcher Faktor am ehesten geeignet ist den Circulus vitiosus von Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz zu durchbrechen. Die Identifikation von Histon Deacetylasen als herzspezifische Regulatoren der myokardialen Hypertrophie könnte einen neuen Weg aufweisen, da diese Faktoren die Gentranskription einer Zelle global beeinflussen (Zhang et al., 2002). Erneut zeigte jedoch die Übertragung dieser Ergebnisse auf einen pharmakologischen Ansatz überraschende, diametral entgegengesetzte Ergebnisse (Antos et al., 2003). Daher könnten jüngste Arbeiten bezüglich anderer Transkriptionsfaktoren wie den STAT's („signal transducer of activated T-cells“) neue Ansätze liefern (Hilfiker-Kleiner et al., 2004). Auch die Deletion des Transkriptionsfaktors CREB führte zu einem kardialen Phänotyp, in diesem Fall mit dem Bild einer dilatativen Kardiomyopathie (Fentzke et al., 1998). Nach Identifikation eines geeigneten Transkriptionsfaktors liegt die nächste Herausforderung in der Charakterisierung herzspezifischer Aktivierungspfade. Darüber hinaus können neue Erkenntnisse bezüglich der durch etablierte Medikamente wie β -Blocker und Statine beeinflussten Signalkaskaden und Transkriptionsfaktoren mögliche Erweiterungen der Indikationsstellung nahelegen, die auf Grund des bekannten Nebenwirkungsprofils bedeutend zügiger einer klinischen Prüfung unterzogen werden können als vollständig neue Substanzen und Wirkprinzipien.