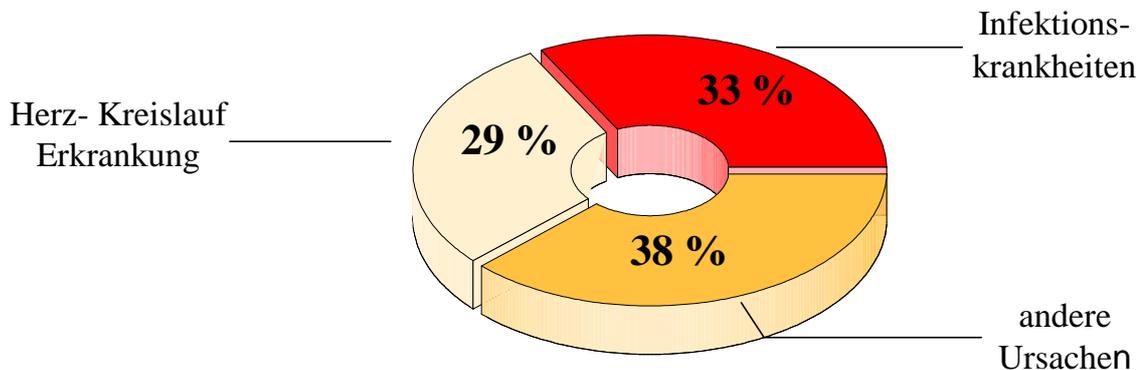


## Kapitel 1 Einleitung

## 1 Einleitung

### 1.1 Bedeutung von Infektionserkrankungen

In der Medizin wurde durch Pasteurs Entdeckung, Mikroorganismen seien *Ursache* und nicht *Produkt* der Gärung (1863), sowie durch Robert Kochs Züchtung des Milzbranderreger (1876) als Nachweis, daß Milzbrand eine experimentell übertragbare Krankheit sei, eine grundlegende Wende eingeleitet. Die Erkenntnis, daß Mikroorganismen, bzw. Ausscheidungen von Mikroben ursächlich für viele schwere und oft auch tödliche Erkrankungen sind, veränderte die Medizin fundamental. Diese Entdeckung stellte erstmals einen Kausalzusammenhang zwischen einer Erkrankung und ihrer Ursache her und ermöglichte eine zielgerichtete Therapie, anstelle einer rein symptomatischen Behandlung.



**Abbildung 1** Ursachen aller weltweit erfaßten Todesfälle (insgesamt 52 Mil. Tote) für das Jahr 1996 [1]. Infektionskrankheiten sind zusammen mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen für 2/3 aller Todesfälle weltweit verantwortlich. Berücksichtigt man, daß möglicherweise bakterielle Infektionen ursächlich für einige Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind [2, 3, 4, 5, 6], wird deutlich, daß bakterielle Infektionskrankheiten mit großem Abstand die häufigste Todesursache darstellen.

Obwohl durch die Entwicklung der Impfung erste große Erfolge gegen Wundstarrkrampf und Diphtherie erzielt werden konnten, stellten bakterielle Infektionen bis zur Entdeckung des Penicillins durch Fleming (1928) immer noch eine lebensbedrohende Gefahr dar [7, 8]. Die Bedeutung von Antibiotika in der heutigen Zeit läßt sich kaum hoch genug einschätzen. Als unmittelbare Folge des Einsatzes von Antibiotika ist die durchschnittliche Lebenserwartung in den Industriestaaten um fast 10 Jahre gestiegen [9].

## Kapitel 1 Einleitung

Die Suche nach neuen und verbesserten Antibiotika ist auch in der heutigen Zeit nach wie vor eine sehr ernst zu nehmende Aufgabe. Verschiedene Faktoren begünstigen die Resistenzentwicklung der Bakterien gegen unterschiedliche Antibiotika [11]. Neben der pharmakologisch falschen Einnahme von Antibiotika führt die viel zu häufige - meistens schon prophylaktische - Verschreibung seitens der Ärzte zu einer Begünstigung der Resistenzentwicklung bei den Bakterien. Die Fähigkeit der Bakterien, auch über völlig verschiedene Spezies hinweg, erworbene Resistenzen untereinander auszutauschen, spielt ebenfalls eine sehr wichtige Rolle [9, 11].

Entgegen der noch 1969 selbstbewußten Äußerung seitens der US-Gesundheitsbehörde »das Buch der Infektionskrankheiten zu schließen«, wurde Mitte der achtziger Jahre der Begriff des *Postantibiotischen Zeitalters* geprägt. Mit diesem Begriff soll eine mögliche Entwicklung umschrieben werden, in deren Verlauf aufgrund von Resistenzentwicklungen der Bakterien, die uns zur Zeit bekannten Antibiotika völlig wirkungslos wären. Die Folgen wären fast unabsehbar, da bei jeder Entzündung Lebensgefahr bestehen würde, da kein medikamentöses Eingreifen mehr möglich wäre.

### **1.2 Zielsetzung dieser Arbeit**

Die letzte Entwicklung eines vom Wirkungsmechanismus her neuen Antibiotikums liegt ca. 30 Jahre zurück [11]. Seitdem sind lediglich Derivate bekannter Substanzen entwickelt worden. Es besteht daher die Gefahr, daß aufgrund der hohen Anpassungsfähigkeit der Bakterien diese in den vergangenen 30 Jahren im Prinzip gegen alle bekannten Antibiotika Resistenzen entwickeln konnten und diese zwischen den Bakterien ausgetauscht werden können.

Vaara schlug Mitte der achtziger Jahre vor, das von ihm durch enzymatische Spaltung entwickelte Polymyxin B-Nonapeptid (PmBN) als Hilfsstoff zu verwenden [12, 13], um die Permeabilität der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien gegenüber Antibiotika zu erhöhen und damit die Anwendung von hochpotenten Antibiotika zu ermöglichen, die ansonsten nicht in der Lage sind, die äußere Membran gramnegativer Bakterien zu überwinden.

Die Klasse der Polymyxine gehört zu einer verhältnismäßig kleinen Gruppe von amphiphilen Oligopeptiden [14], die in der Natur gefunden werden. In der Pharmazie finden nur das Polymyxin B und das eng verwandte Polymyxin E (Colistin) eine sehr begrenzte Ver-

## 1.2 Zielsetzung dieser Arbeit

wendung, da der Einsatz als Antibiotikum aufgrund der hohen Neuro- und Nephrotoxizität sehr schwierig ist. Über den molekularen Wirkungsmechanismus dieser Substanz ist nur sehr wenig bekannt [14, 15, 16, 17, 18, 19, 20]. Man weiß allerdings, daß Polymyxin B unter anderem eine sehr große Affinität gegenüber LPS, dem Hauptbestandteil der äußeren Membran gramnegativer Bakterien, aufweist.

Der Ausgangspunkt für diese Arbeit stellen die von Barnickel et al. und Kastowsky et al. entwickelten dreidimensionalen Strukturmodelle für LPS bzw. LPS-Aggregate [21, 22, 23] und der Strukturvorschlag für PmB [24] dar. Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, ob sowohl die hohe Affinität des PmB gegenüber Endotoxinen, als auch die massive Beeinflussung der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien mit der räumlichen Struktur des Polymyxin B zu erklären ist. Ausgehend von der molekularen Wechselwirkung wurde versucht, den Aufbau der Zellmembran gramnegativer Bakterien auf molekularer Ebene zu analysieren und zu klären, ob bestimmte biologisch relevante Eigenschaften einer Lipopolysaccharid-Membran, wie z.B. die Permeabilität, gezielt durch die Wechselwirkung mit anderen Substanzen moduliert werden können.

Die Wechselwirkung zwischen Polymyxin B und LPS wurde mit verschiedenen experimentellen und theoretischen Verfahren analysiert. Die Affinität von Polymyxin B zu LPS-Monoschichten ist anhand von Monofilmmessungen untersucht worden. Die Monofilmmexperimente liefern auch Erkenntnisse über den Einbau des Polymyxins in eine Monoschicht und die daraus resultierende Beeinflussung des Phasenverhaltens. Weitere Ergebnisse zum molekularen Aufbau von ReLPS / PmB-Mischsystemen lieferten Röntgendiffraktionsmessungen an reinen multilamellaren Lipopolysaccharid-Proben sowie an Mischsystemen mit Polymyxin B.

In Zusammenarbeit mit Dr. J. Jaeger (Cryo-Elektronenmikroskopie), Dr. J. Frank (DSC, ITC) und J. Schüler (dynamische Lichtstreuung) wurden biophysikalische Methoden eingesetzt, um strukturelle Aspekte und physikalische Daten der Wechselwirkung zwischen Polymyxin B und LPS zu ermitteln. Die aus den unterschiedlichen Ergebnissen abgeleiteten Modellvorstellungen sind mit umfangreichen Simulationsrechnungen an verschiedenen Modellmembranen verglichen worden. Anhand dieser Simulationsrechnungen konnte die aus den experimentellen Daten entwickelte allgemeine Modellvorstellung auf atomarer Ebene überprüft werden. Darüber hinaus sind diese MD-Simulationen die ersten, die an LPS-

## Kapitel 1 Einleitung

Aggregaten durchgeführt worden sind. Diese Rechnungen haben wichtige Informationen über den Aufbau und die Randbedingungen der Simulation von komplexen Lipid- und Lipidmischsystemen geliefert, die bereits in andere Arbeiten einfließen konnten [25].

Die Arbeit gliedert sich wie folgt: In Kapitel 2 wird zunächst der Aufbau gramnegativer Bakterien unter Berücksichtigung der Themenstellung dieser Arbeit erläutert. Es schließen sich einige kurze Bemerkungen zum Phasenverhalten von Lipiden sowie die theoretischen Grundlagen der verwendeten Methoden an.

In Kapitel 3 sind Informationen zu den verwendeten Substanzen zusammengefaßt. Anschließend werden die experimentellen Verfahren beschrieben. Es folgt in Kapitel 4 eine Darstellung der Ergebnisse der einzelnen Methoden, die dann in Kapitel 5 erst nach Methoden getrennt und dann in Hinblick auf ein Struktur-Wirkungsmodell diskutiert werden.

Kapitel 6 faßt die Ergebnisse dieser Arbeit zusammen. Die Literaturangaben sind in Kapitel 7 aufgeführt.