

Georg W. Mayr

Inositolphosphate spielen eine zentrale Rolle bei der Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration durch „kalziummobilisierende“ Neurotransmitter, Hormone, Mediatoren und Wachstumsfaktoren. Die Kenntnis von Struktur und Funktion der bei diesen Signalübertragungsmechanismen beteiligten Proteine und Metaboliten und die Entwicklung von hier spezifisch angreifenden Wirkstoffen läßt in naher Zukunft wesentliche Fortschritte in Therapie und Diagnostik erwarten.

Inositolphosphate und Inositolphospholipide

Hokin & Hokin zeigten 1955 erstmals, daß gewisse Hormone den Stoffwechsel der Inositol-Phospholipide, einer Klasse von Membranlipiden, spezifisch steigern (1). Aber erst 1975 erkannte Bob Michell (2), daß all jene Agonisten, die den Inositolphospholipid-Stoffwechsel steigern, auch eine intrazelluläre Ca^{2+} -Erhöhung bewirken. Seine bahnbrechende Hypothese besagte, daß das eine Produkt der Spaltung von Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat (PIP_2 , *Abbildung 1*), das Inositol 1,4,5-trisphosphat (IP_3), für die Mobilisierung von Ca^{2+} verantwortlich sei. Diese Hypothese wurde 1983 durch die Arbeiten von Streb et al. an permeabilisierten Zellen bestätigt (3). Sie setzen nach Zugabe von exogenem IP_3 Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern frei. Hierbei handelt es sich um spezielle Vesikel des endoplasmatischen Reticulums (ER), die neuerdings „Calsiosomen“ (4) genannt werden (*Abbildung 2*).

Zweites Spaltprodukt des PIP_2 ist das Diacylglycerol (DAG); es verbleibt in der Plasmamembran. Die Entdeckung der Ca^{2+} - und phospholipidaktivierten Proteinkinase (Proteinkinase C) 1981 und ihrer spezifischen Aktivierung durch DAG machte klar, daß dieses PIP_2 -Spaltprodukt ebenfalls ein sekundärer Botenstoff ist (5). Das durch IP_3 freigesetzte Ca^{2+} kann das Enzym zusätzlich aktivieren (*Abbildung 2*).

Folge der Aktivierung dieser membranständigen Kinase ist die

Aktuelle und zukünftige Bedeutung in der Medizin

Phosphorylierung einer Reihe hier lokalisierter Proteine. Die resultierenden Funktionsänderungen von Transportproteinen werden derzeit untersucht. Die Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+} aktiviert zahlreiche weitere Ca^{2+} -abhängige Systeme und Enzyme der Zelle. Immer sind hierbei Ca^{2+} -Calmodulin-aktivierte Proteinkinasen beteiligt, welche eine Reihe intrazellulärer Proteine phosphorylieren und hierdurch in ihrer Funktion verändern (6).

Einem ebenfalls Ca^{2+} -Calmodulin-aktivierten Enzym, der IP_3 -Kinase, scheint eine Schlüsselfunktion für die weitere Stimulation der Zelle zuzukommen: Ein Teil des gebildeten IP_3 wird nicht sofort dephosphoryliert, sondern durch dieses Enzym zu Inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphat (IP_4) phosphoryliert (7). IP_4 scheint nun zusammen mit IP_3 die Öffnung von Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanälen und von Ca^{2+} -Kanälen der Plasmamembran (8) zu induzieren (*Abbildung 2*). Durch diesen „Verstärkungsmechanismus“ resultiert ein viel größerer Ca^{2+} -Anstieg als alleine durch die IP_3 -Wirkung auf „Cal-

ciosomen“ möglich. Die Aktivität der Proteinkinase C scheint hierbei ein Überschießen des Ca^{2+} -Anstiegs zu verhindern (9). Darüber hinaus könnte IP_4 bei der Steuerung der Zellteilung eine Rolle spielen (10).

Zentrales Enzym des Signaltransduktionsmechanismus ist die PIP_2 -spaltende Phospholipase C. Sie scheint in vielen Zelltypen analog wie die Adenylat-Cyclase durch ein spezifisches GTP-Bindungsprotein, genannt N_p oder G_p , aktiviert zu werden (11). Daneben kommt auch einer Aktivierung durch Ca^{2+} eine mögliche Bedeutung zu. Durch eine Serie von Enzymreaktionen an Golgi-Membranen und an der Plasmamembran wird aus dem freigesetzten DAG über Phosphatidat und CDP-DAG wieder Phosphatidylinositol (PI) resynthetisiert. PI wird schließlich durch zwei spezifische Kinasen (PI-Kinase, PIP -Kinase) am 4- und 5-OH des Inositols zum PIP_2 rephosphoryliert (PI-Zyklus, Überblick in 12). IP_3 und IP_4 werden durch spezifische Phosphatasen schrittweise dephosphoryliert bis zum Inositol, welches so ebenfalls wieder für die PI-Synthese zur Verfügung steht (12).

Derzeit sind zahlreiche Arbeitsgruppen damit befaßt, den molekularen Mechanismus der Signaltransduktion durch Phospholipase C in

Abteilung für Biochemie Supramolekulare Systeme (Leiter: Professor Dr. Ludwig M. G. Heilmeyer), Medizinische Fakultät der Ruhr-Universität Bochum

weiteren Details aufzuklären und die Rezeptoren, die über diesen Mechanismus wirken, molekular zu charakterisieren. Die Liste solcher Rezeptoren (Tabelle 1), die ständig anwächst, umfaßt zum einen die ubiquitär bedeutsamen α_1 -adrenergen und die muskarinischen (Typ M2) Acetylcholinrezeptoren, aber der Rezeptoren für Peptidmediatoren, biogene Amine, einige Wachstumsfaktoren, Thrombin Purine, PAF und zelltypspezifische „Agonisten“ wie zum Beispiel Antigen bei T-Lymphozyten und Spermien bei Oozyten (12, 13, 14). Praktisch jedes menschliche Organ enthält einen oder mehrere Vertreter dieser Rezeptoren. Eine herausragende Stellung scheint dieser Signaltransduktionsmechanismus auch im ZNS zu besitzen.

Phosphatidyl-Inositol-Stoffwechsel und Onkogenese

Bei einer ganzen Reihe neoplastischer Prozesse wurde eine signifikante Steigerung des PI-Stoffwechsels beobachtet. Es gibt direkt oder indirekt den PI-Signaltransduktionsweg stimulierende Onkogene, zum Beispiel *ras*, *src*, *erbB* (9, 15–18). Die Mitogene platelet-derived growth factor (PDGF), epidermal growth

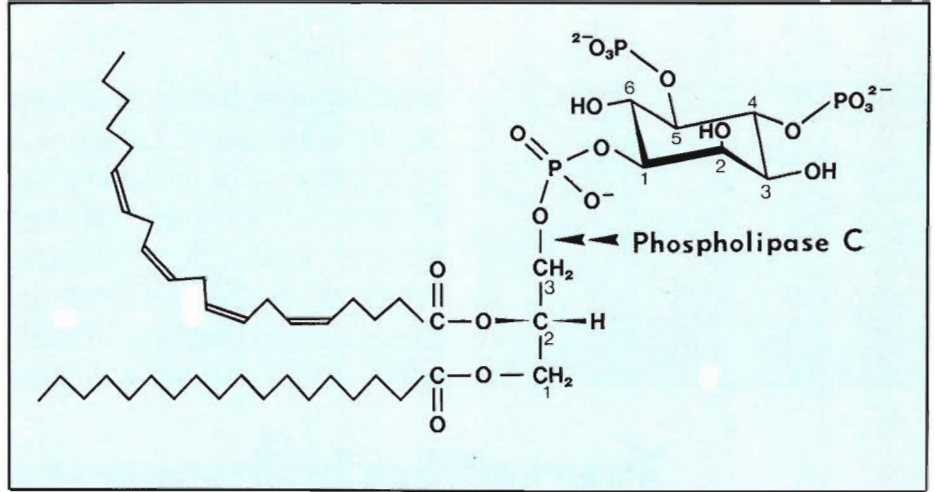


Abbildung 1: Struktur von Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat (PIP₂). D-Myo-Inositol 1,4,5-trisphosphat (IP₃) wird aus PIP₂ durch eine von Phospholipase C katalysierte Hydrolyse der Phosphodiesterbindung an der markierten Position freigesetzt. Die charakteristischen Fettsäuren von PIP₂ sind Stearinsäure an *sn*-1-, Arachidonsäure an *sn*-2-Position

factor (EGF), Bombesin und Endothelin bewirken ebenfalls ausgeprägte PI-Stoffwechselsteigerungen (9, 15, 19). Jüngste biochemische Experimente konnten nun zeigen, daß bei PDGF und EGF – beide binden an Rezeptoren mit intrinsischer Tyrosinkinase-Aktivität – eine direkte Tyrosin-Phosphorylierung von Phospholipase C hierfür ursächlich ist (20, 21). Schließlich konnten durch direkte Mikroinjektion höherer Konzentrationen von Phospholipase C ruhende Fibroblasten zur Initiation der Zellteilung und zur Zelltransformation veranlaßt werden (22). Die Kenntnisse der offensichtlichen Zusammen-

hänge des PI-Stoffwechsels mit proliferativen Zellvorgängen verspricht einen wesentlichen Nutzen für das Verständnis der Onkogenese und für die Tumordiagnostik und -therapie.

Inositol-Phosphoglycane – Membrananker und sekundäre Botenstoffe

Tierische Zellen besitzen Glucosamin, Mannose-6-phosphat und Äthanolamin enthaltende Phosphatidylinositol-Glycane im äußeren Blatt ihrer Plasmamembran. Diese bilden Ankerstrukturen für zahlreiche sogenannte Ektoproteine, in der Zellmembran verankerte extrazelluläre Proteine und Enzyme (23). Durch die Wirkung einer spezifischen Phospholipase C können diese Proteine mitsamt dem Inositol-Phosphoglycan (IPG) rasch „abgeworfen“ werden. Ein oder mehrere IPGs ähnlicher Struktur scheinen auch durch Insulin freigesetzt zu werden. Sie können mehrere intrazelluläre insulinsensitive Enzyme spezifisch akti-

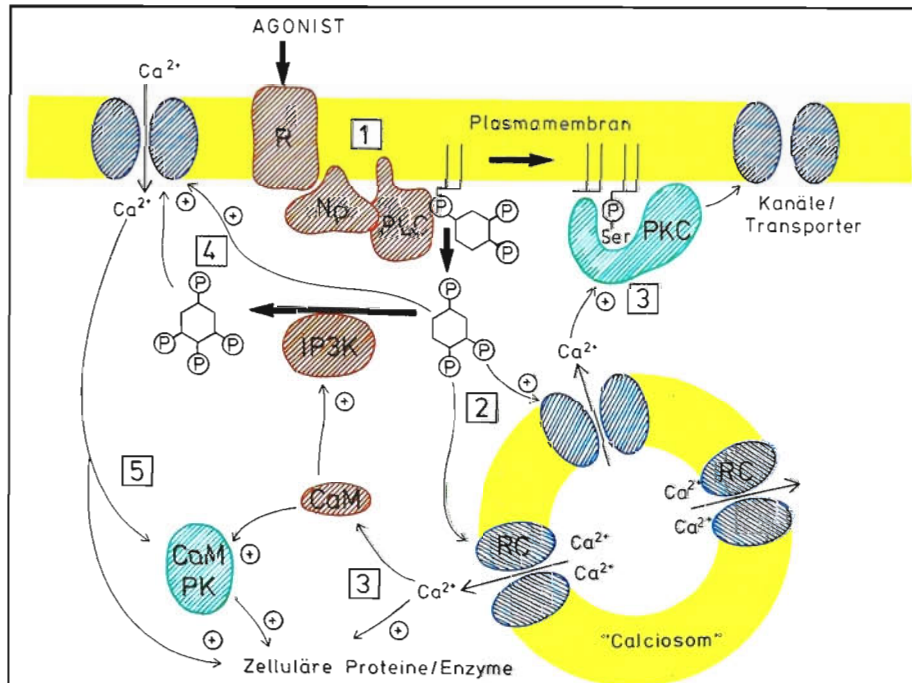


Abbildung 2: Mechanismus der Inositol-phosphat-mediierten zellulären Kalzium-Mobilisierung. Abkürzungen: R, Membranrezeptor; Np, GTP-Bindungsprotein; PLC, Phospholipase C; PKC, Proteinkinase C; RC, Release Kanal der „Calciosomen“; IP₃K, IP₃-Kinase; CaM, Calmodulin; CaMK, calmodulinaktivierte Proteinkinase. Die dicken Pfeile markieren den Weg der Bildung der beteiligten sekundären Botenstoffe IP₃, DAG und IP₄, die Zahlen in Kästchen geben die zeitliche Abfolge der Schritte des Kalzium-Mobilisierungsmechanismus an

Tabelle 1: Rezeptoren mit Ca²⁺-Mobilisierung durch PIP₂-Spaltung

Agonist	Rezeptor (Subtyp)	Zielgewebe, Zelltyp
Transmitter: Acetylcholin Noradrenalin Glutamat	muskarinisch (M2) adrenerg (alpha 1) glutaminerg (QA)	ZNS, exokrine Drüsen, Inselzellen, chromaffine Zellen, sympathische Ganglien, Parietalzellen glatte Muskulatur, Herz, Leber, ZNS u. a. ZNS
biogene Amine: Serotonin Histamin Dopamin	serotoninerger (S2) histaminerg (H1) dopaminerg (DA ₁)	ZNS, Thrombozyten ZNS, chromaffine Zellen, Mesangialzellen Niere
Peptidmediatoren/-hormone: Vasopressin (AVP) Angiotensin II Bradykinin Substanz P TRH GnRH VIP CCK (Pankreozymin) Sekretin Gastrin chemotaktische Peptide Endothelin	Vasopressin (V1)	glatter Muskel, sympathische Ganglien, Mamma-Drüsenepithel, Fibroblasten Leber, NNR (Glomerulosazellen), HVL-Zellen, Gefäßmuskulatur, Mesangialzellen ZNS, Fibroblasten, Karzinomzellen u. a. ZNS, glatte Muskulatur, exokrine Drüsen HVL-Zellen HVL-Zellen chromaffine Zellen Pankreas, ZNS Pankreas Parietalzellen Granulozyten, Monozyten Gefäßmuskulatur, Fibroblasten
andere Mediatoren: Platelet activating factor (PAF) Leukotrien B ₄ Purine (ATP/ADP)	purinerg (P ₂)	Thrombozyten, exokrine Drüsen, Leber, Mesangialzellen, Makrophagen u. a. Granulozyten, Monozyten, Leber, Endothelzellen, Granulozyten u. a.
Wachstumsfaktoren: PDGF (platelet derived growth factor) Endothelin EGF (epidermal growth factor)		Fibroblasten, Gefäßmuskel-, Mesangialzellen Fibroblasten, Gefäßmuskel-, Mesangialzellen Epidermiszellen, Fibroblasten u. a.
andere „Agonisten“: Glukose Thrombin Spermien Antigen		Inselzellen Thrombozyten, Gefäßmuskelzellen u. a. Oozyten Markophagen, Mastzellen, T-Lymphoblasten, T-Lymphozyten

vieren beziehungsweise hemmen (Tabelle 2), weshalb ihnen die Rolle sekundärer Botenstoffe des Insulins zugeschrieben wird (24). Hier könnte ein Ansatzpunkt für die Entwicklung insulinomimetischer Therapeutika liegen.

Für das seit langem in der Therapie manisch-depressiver Psychosen erfolgreich eingesetzte Lithium

scheint nun einer von mehreren postulierten molekularen Wirkorten gefunden zu sein. Zwei Inositol-Phosphatasen werden effektiv durch Li⁺ gehemmt. Es wurde in vitro und in vivo gezeigt, daß hierdurch im Gehirn der Umsatz der Inositol-Phospholipide gehemmt und chronisch die IP₃- und DAG-Freisetzung reduziert wird (25).

Ähnlich wie es heute bereits mit Phosphodiesterasehemmern, Nitroxiden und Forskolin ein Spektrum von in den Stoffwechsel von cAMP und cGMP eingreifenden Wirkstoffen gibt, wird derzeit an der Entwicklung von in den PI-Stoffwechsel eingreifenden Wirkstoffen gearbeitet. Interessant erscheinen spezifische Modulatoren der Phospholipase C,

Tabelle 2: Durch insulinomimetische IPG modulierte Enzyme

Enzym	Zelltyp
Aktivierung: PDE4 (low K_m cAMP-Phosphodiesterase) Phospholipid-Methyltransferase Glykogen-Phosphorylase Pyruvatkinase Pyruvat-Dehydrogenase	Hepatozyten, myogene Zellen Adipozyten Hepatozyten Hepatozyten Adipozyten
Hemmung: Adenylat-Zyklase cAMP-abhängige Proteinkinase	Hepatozyten Hepatozyten

der Proteinkinase C und weiterer Enzyme des PI-Zyklus (IP₃-Kinase, PI- und PIP-Kinase, IP-Phosphatase, DAG-Kinase) wie auch Stoffe mit Wirkungen auf Effektorenzyme (Ca²⁺-aktivierte Enzyme, calmodulinaktivierte Proteinkinasen). Da viele dieser Enzyme in gewebsspezifischen Isoformen vorliegen (zum Beispiel die Proteinkinase C, die Phospholipase C und die calmodulinaktivierten Proteinkinasen), könnten hierauf durch „target specific drug design“ maßgeschneiderte Wirkstoffe eine sehr hohe Organspezifität erreichen. In Japan und USA ist die Entwicklung solcher Wirkstoffe und die Erarbeitung von Wirkprofilen besonders auf dem Gebiet der Proteinkinase-C-Hemmer bereits weit fortgeschritten (26–33). Vielleicht die interessantesten pharmakologischen Wirkungen hierbei sind die tumorostatischen (29, 33).

Inositolphosphate als Diätetika und mögliche Therapeutika

Inositolpolyphosphate sind in nahezu allen pflanzlichen Nahrungsmitteln vorhanden. Vor allem Getreide, aber auch Ölsamen, Hülsenfrüchte und Kartoffeln sind reich an Phytinsäure (IP₆). Dieses sechsfach phosphorylierte Inositol ist ein Metallkomplexbildner. In Samen und Wurzelknollen liegt es in Form unlöslicher Ca/Mg-Phytat-Speicherkomplexe vor. Durch endogene sogenannte Phytasen kann die Phytinsäure dephosphoryliert werden. Dies geschieht beim Backen von Getreideprodukten (hier spielt auch die Phytase der Hefe eine Rolle) und beim Keimen oder Quellen der Samen.

Es gibt ein diätetisches Optimum der Degradation des Phytats (34). Zu viel undegradierete Phytinsäure in der Nahrung verhindert die Resorption von Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ und Fe³⁺ durch Bildung unlöslicher Phytate. Partiiell dephosphorylierte Phytinsäure bildet lösliche Chelate mit diesen Kationen und wirkt im Gegensatz zu IP₆ als Resorptionsvermittler. Volle Dephosphorylierung bewirkt den Verlust dieser Funktion. Eine konsequente Anwendung die-

ser Erkenntnisse dürfte bei der Therapie und Prävention von Kationenmangelzuständen von Nutzen sein. Interessant ist auch der kürzlich erhobene Befund einer tumorostatischen Funktion von diätetischen IP₆ beim Dickdarmkrebs (35).

Neben ihrer diätetischen Bedeutung könnte einigen Isomeren dieser Substanzgruppe auch spezielle pharmazeutische Relevanz zukommen.

In Vogelerthrozyten hat ein IP₅-Isomer die Funktion des bei Säugern vorhandenen 2,3-Bisphosphoglycerats: Als allosterischer Effektor des Hämoglobins (Hb) reduziert es dessen O₂-Affinität. Säuger-Hb bindet IP₅ und IP₆ ebenso hochaffin und zeigt einen analogen allosterischen Effekt (36). Mit modernen Hämodialysatoren kann man diese Verbindungen durch hypotone Hämolyse und anschließendes hypertones „resealing“ auch in Erythrozyten einschleusen (37). Bei Versuchstieren (Miniaturschweinen) mit experimenteller Herzinsuffizienz wurden nun die endogenen Erythrozyten gegen (stöchiometrisch zum Hb) mit IP₆ beladene Erythrozyten ausgetauscht (38). Über eine verbesserte O₂-Abgabe des Hb (Anstieg des AVDO₂) konnte hierdurch eine tagelang persistierende, signifikante Reduktion des Herzzeitvolumens erzielt werden (38). Die lang anhaltende Wirkung basiert auf der extremen Stabilität des IP₆-Hb-Komplexes.

Eine analoge Austauschtransfusionstherapie könnte bei Patienten mit akuter schwerster Herzinsuffizienz eine lebensrettende Minderung der Nachlast ermöglichen. Inositolphosphate hemmen die Throm-

bozytenaggregation in vitro. Ihre Anwendung als intravenös applizierbare kurz wirksame Thrombozytenaggregationshemmer wird derzeit untersucht. Auch die orale Gabe eines IP₃-Isomers scheint die durch Rauchen gesteigerte Thrombozytenaggregation zu hemmen (39).

Ausblick

Dieser notwendigerweise unvollständige Überblick zeigt ein rasch expandierendes, bedeutendes biologisches Forschungsgebiet auf, aus dem die Medizin in naher Zukunft wesentliche Fortschritte erwarten kann. Innovationshemmnisse der pharmakologischen Forschung hierzulande drohen jedoch dazu zu führen, daß nur andernorts daraus Neuentwicklungen in Diagnostik und Therapie entstehen. Die öffentliche Forschungsförderung sollte weitsichtig zu verhindern wissen, daß unsere medizinische Forschung auf solchen zukunftsweisenden Gebieten ihre traditionelle Spitzenstellung verliert.

Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Literaturverzeichnis im Sonderdruck, anzufordern über den Verfasser.

Anschrift des Verfassers:

Privatdozent
 Dr. med. Georg W. Mayr
 Institut für Physiologische Chemie, Abteilung für Biochemie Supramolekularer Systeme
 Ruhr-Universität Bochum
 Universitätsstraße 150
 4630 Bochum 1