

Im Fokus

Für jeden etwas

Siebzehn zündende Ideen für die Zukunft Deutschlands hat das Forschungsministerium in seiner „Hightech-Strategie 2006“ identifiziert, alle nachzulesen unter www.ideen-zuenden.de. Sechs davon betreffen Hauptthemen dieser Zeitschrift, was uns natürlich in unserem Selbstverständnis als Innovationsmagazin bestärkt. Und drei fallen in diese Rubrik Molekulare Medizin; es sind Bio-, Mikro- und Nanotechnologie. Dazu steuern wir gern auf den nachfolgenden Seiten ein paar Ideen bei, zumal es für die zündendsten eine Prämie von 15 Milliarden Euro gibt.

Aber mal ehrlich: Wer kann sich schon von einer so breit gestreuten Förderung Wunder erwarten? 15 Milliarden für 17 anspruchsvolle Hightech-Programme, wobei allein 33% für die Raum- und Luftfahrt und 21% für Energie- und Umwelttechnologien vorgesehen sind! Wir haben kurz nachgerechnet und kamen für Nanotechnologie auf 5%, für Biotechnologie auf 4% und für Mikrosysteme auf 2%.

Mittlerweile ist die erste Bewerbungsphase des sogenannte Spitzenclusterwettbewerbs beendet. Am 10. März wählte die Jury 12 Bewerber für die Finalrunde aus. Immerhin sind Biotech- und Medizinzentren mit vier Kandidaten gut vertreten: Hörgeräte-Systemtechnik (Oldenburg), zellbasierte molekulare Medizin (Heidelberg), Medizintechnik und Gesundheit (Tuttlingen) und Therapeutic Innovation in Germany (München). Insgesamt wer-



Weder von den Biowissenschaften noch von den einschlägigen staatlichen Förderprogrammen darf man sich Wunder erwarten.

den aber nur fünf übrigbleiben, und für sie gibt es zusammen (!) 200 Millionen Euro. Selbst mit noch so raffinierten biotechnologischen Tricks lässt sich aus dieser Mücke kein Elefant züchten.

Genug der Häme: Auch wir kennen das Problem. Wir möchten gern auf wenigen Seiten für jeden etwas bieten und können diesem Anspruch nur bedingt gerecht werden. Wenn Ihnen also zum Beispiel die Titelgeschichte nicht fundiert genug erschien, dann finden Sie ab der nächsten Seite die biochemischen Details dazu, und wenn Sie es nicht so genau wissen wollen, dann empfehlen wir Ihnen das nachstehend besprochene Buch. Viel Spaß.

jg

Gasteditorial

Unter den Modeworten der Hightech-Medizin, die alles und nichts bedeuten, stehen „Nanotechnologie“ und „Nanomedizin“ ganz hoch oben. Hier zerfließen die Grenzen zwischen höchst konservativer Polymerchemie und völlig spekulativen Anwendungen in Diagnostik und Therapie in besonderem Maße.

Der erste Europäische Kongress für Nanomedizin (s.S. 58) versuchte, Klarheit zu schaffen. Aus der Sicht der Labordiagnostik kann und wird die Anwendung typischer Nanotechnologien neue Felder eröffnen. So sind Verfahren wie die Quantum Dots bereits auf dem Sprung in die Routineanwendung. Für andere Methoden wie die Atomic Force Mikroskopie (AFM) ist der Weg in die tägliche Diagnostik noch weit, doch selbst hier zeigte die Tagung bereits interessante praktische Einsatzmöglichkeiten auf, z.B. einen ultrasensitiven Nachweis der Teilung von Bakterien über minimale Gewichtszunahmen von Kolonien.

Fazit: Der Kongress hat aufgezeigt, dass gerade die Interaktion von Chemikern, Physikern und Medizinern auf dem Gebiet der Nanotechnologie fruchtbare neue methodische Ansätze für Diagnostik und Therapie eröffnen kann. Bei aller Euphorie über frühe Erfolge müssen sich diese Verfahren nun im zweiten Schritt an ihren Ergebnissen messen lassen.



Prof. Dr. Karl Lackner
Präsident der DGKL

Sie verstehen die Welt nicht mehr?



Ecwin Verlag 2007
ISBN 978-3-902404-49-7

...Dann lesen Sie am besten Thomas Schallers neuestes Buch über „die berühmtesten Formeln der Welt und wie man sie versteht“. Schaller ist Wissenschaftsredakteur beim österreichischen Rundfunk, studierte alles mögliche von Mathematik bis Philosophie und nahm sich schließlich vor, den Menschen, die mit Formeln nichts anfangen können, die Welt zu erklären. Das ist ihm in diesem knapp 200 Seiten starken Buch auf bemerkenswerte Weise gelungen.

Der Trick, den Schaller anwendet, ist einfach und wirkungsvoll: Er verpackt die Gesetze Newtons, Einsteins und Heisenbergs in die Lebensgeschichten dieser großen Geister, erzählt zum Beispiel von

der Verbrennung des Mathematikers Giordano Bruno (einem Zeitgenossen Galileo Galileis, der behauptet hatte, die Erde stehe nicht im Mittelpunkt des Universums) und mogelt dem Leser ganz nebenbei Galileis Fallgesetz unter: „Weg ist gleich irgendein konstanter Faktor mal Zeit zum Quadrat“ ($s = g/2 \cdot t^2$).

Entscheidend ist für Haller nicht die mathematische Formulierung oder gar Herleitung der Formeln, sondern ihre Bedeutung für das Verständnis der Welt. Für Leser mit guten Physikkenntnissen bleiben dabei womöglich zu viele Details auf der Strecke, aber für alle anderen ist das Buch ein Gewinn.

gh

HIV-Therapien mit Zukunft

Angriff auf ganzer Linie

Im Fall der tödlichen Immunschwächekrankheit AIDS befinden Mensch und Virus buchstäblich in einem „Wettstreit der Ideen“: Beide Seiten modifizieren ihr Repertoire molekularer Waffen in rascher Folge, doch während das Virus nach dem Zufallsprinzip vorgeht, versucht es der Mensch mit Systematik. So wie es aussieht, ist dieser Ansatz der langfristige Überlebende.

Trotz hoher Geldbeträge, die seit Jahren in die AIDS-Forschung fließen, konnten zwei Ziele bisher leider nicht erreicht werden. Erstens: Alle Versuche, eine wirksame Impfung gegen HIV-Infektionen zu entwickeln, waren erfolglos. Zuletzt mussten 2007 Impfstudien wegen erhöhter Infektionsrate und einer grundsätzlichen Wirkungslosigkeit des Antikörper-Prinzips abgebrochen werden. Zweitens: Zum gegenwärtigen Zeitpunkt lässt sich das HI-Virus nicht direkt medikamentös ausschalten, da noch keine Substanz auf dem Markt ist, mit deren Hilfe die eingeschleuste HIV-DNA aus infizierten Zellen wieder herausgelöst werden könnte.

Aber – und ab jetzt folgen nur noch „gute Nachrichten“ – die molekularen Abläufe und Wirkungsmechanismen des HI-Virus sind bereits gut erforscht. Alle einzelnen Stationen der Pathogenese bieten Ansatzpunkte, um die Vervielfältigung der HIV-Viren im Körper zu bremsen und so die Viruslast auf ein Minimum (weniger als 50 Kopien/ml Blut) zu reduzieren. Vom Eintritt des Virus in den menschlichen Körper

über das Andocken an CD4 tragende Zellen, die Bildung von Virus-DNA aus der Virus-RNA mittels reverser Transkriptase, die Einschleusung des Virus-DNA-Doppelstrangs in menschliche Zellen bis hin zur Produktion immer neuer HI-Viren durch die Virus-DNA in den CD4-Wirtszellen bieten Ansatzpunkte, um die Reproduktion der HI-Viren zu stoppen. Gelingt ein Stillstand des Infektionsgeschehens, resultiert eine Erholung des Immunsystems, so dass der Patient sekundäre Erkrankungen wieder besser bewältigen kann.

Erprobte Therapien

Der erste und derzeit noch wichtigste Therapieansatz zielt auf eine Hemmung der molekularen Aktivität der Reversen Transkriptase (RT). Dieses dem menschlichen Körper fremde Enzym des HI-Virus steuert den Prozess der Synthese von Virus-DNA, denn im Virus selbst liegt die Erbinformation nur in Form von RNA vor. Nach einer Infektion mit HIV und dem Übertritt der Virionen in die Wirtszelle generiert das nur 400 Aminosäuren lange Enzym RT am viralen RNA-Strang die virale DNA. Anschließend übernimmt ein anderer Molekülbereich der RT die DNA-Synthese und vervollständigt diese zum DNA-Doppelstrang. Erst in der üblichen Form der Doppelhelix wird die virale Erbinformation ins menschliche Genom der Wirtszelle eingebaut.

Aus der Nukleinsäure-Sequenzierung war bekannt, dass Didesoxynukleotide bei der enzymatischen DNA-Synthese zum Kettenabbruch führen. So lag es Ende der 1980er Jahre nahe, Substanzen für die Hemmung der RT einzusetzen, um einem solchen Kettenabbruch zu provozieren. Mittlerweise sind zwei Substanzgruppen gebräuchlich, um die Bindungsmöglichkeiten der Reversen Transkriptase und damit die Synthese von Virus-DNA zu blockieren. Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) und Nukleotid RTI (NtRTI) fungieren als „falsche Nukleoside“, die von der RT irrtümlich in die DNA-Kette eingebaut werden. Aufgrund der veränderten chemischen Struktur können anschließend keine weiteren Basen eingebaut

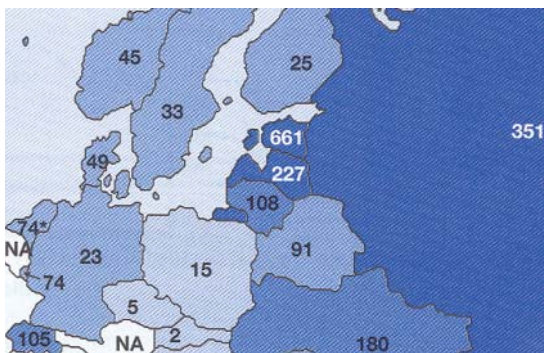
werden, der Strang bricht unvollständig ab und fällt als Informationsträger aus.

Die sogenannten Nicht-Nukleosidischen Reversen Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs) bringen keine falschen nukleosiden Bausteine ins Spiel, sondern binden direkt an das Enzym RT in unmittelbarer Nähe der Substratbindungsstelle für Nukleoside. Dadurch wird die RT für die DNA-Erstellung insgesamt außer Gefecht gesetzt.

Das größte Problem bei der Therapie mit RT-Hemmern besteht darin, dass bei der Synthese von Virus-DNA durch die Reverse Transkriptase eine Vielzahl von Lesefehlern auftritt. Während in menschlichen Zellen u.a. Korrekturenzyme solche Lesefehler bei der DNA-Synthese erkennen und z.T. ausschalten, fehlen beim HI-Virus jegliche Reparaturmechanismen. So entstehen durch simple Lesefehler des Enzyms RT immer neue Mutanten von HIV. Kleinste Veränderungen in der Aminosäurefolge führen dabei zu neuen Bindungsstrukturen, so dass die spezifischen Inhibitoren nicht mehr reagieren können und inaktiv bleiben. Beispielweise reicht bei 3TC und FTC allein die Mutation von Methionin zu Valin in Position 184 aus, um eine komplette Resistenz des Virus gegen diese RT-Inhibitoren zu induzieren. Bei NNRTIs besteht darüber hinaus das besondere Risiko, dass bestimmte Mutationen unter Umständen sogar eine komplette Resistenz des HIV gegen alle Substanzen der NNRTI-Gruppe nach sich ziehen. Insofern garantiert ausgerechnet die Insuffizienz der Reversen Transkriptase das Überleben des Virus.

Die Forschung versucht, auf die HIV-Mutationen mit neuen NRTI- und NNRTI-Substanzen zu reagieren. Gleichzeitig findet in der AIDS-Therapie wegen der Resistenzgefahr nicht ein einzelnes, sondern immer eine Kombination aus Medikamenten unterschiedlicher Enzym-Inhibition Anwendung. Diese Art der Kombination verschiedener Wirkstoffpräparate ist auch bekannt unter der Bezeichnung hochaktive antiretrovirale Therapie, HAART, oder Kombitherapie.

Dabei werden meist zwei NRTIs mit einem NNRTI oder auch zwei NRTIs mit einem Proteasehemmer (PI) kombiniert. Die HI-Protease, deren Molekülmodell als Motiv unseres Titelbilds Verwendung fand, ist im Prozess der HIV-Vervielfältigung dafür zuständig, große Vorläuferproteine



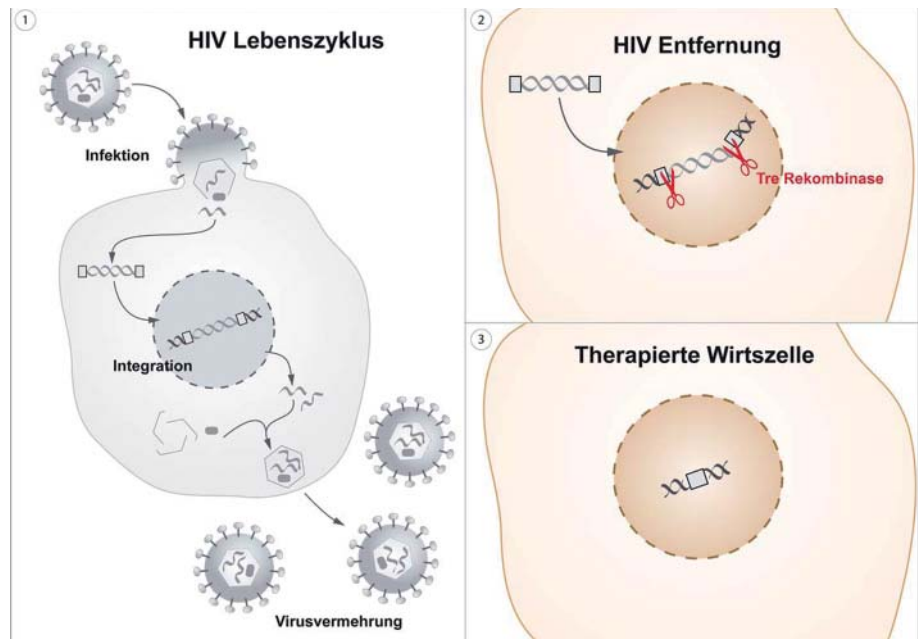
Bedrohung aus dem Osten: Deutschland erscheint mit 23 HIV-Infizierten pro Million fast als Insel der Glückseligen. Die hohe HIV-Prävalenz in den Staaten Osteuropas wird v.a. auf den verbreiteten Drogenkonsum zurückgeführt. Quelle: Centre Europeenne de Lutte contre le SIDA, Paris.

für den Einbau in neue HI-Viren zurecht zu schneiden. Als molekulare Inhibitoren dienen zum Beispiel „falsche“ Peptide, die das aktive Zentrum kompetitiv blockieren. Sie hemmen ebenso wie neuere nicht-peptidische Inhibitoren die Virus-Reifung, weisen aber zum Teil erhebliche Nebenwirkungen wie diabetische Stoffwechsellage oder Interaktion mit anderen Medikamenten auf. Der Mechanismus ist häufig eine Hemmung des menschlichen Cytochrom-Oxidase-Systems (P450/CYP3A4), das körpereigene und körperfremde Substanzen metabolisiert. Den unerwünschten Nebenwirkungen steht aber ein wichtiger Vorteil gegenüber: Sie greifen zu einem relativ späten Zeitpunkt der Virus-Reproduktion ein, wenn RT-Hemmer keinen Zugriff mehr haben, weil die HIV-Erbinformation bereits als Doppelhelix vorliegt. Protease-Hemmer verhindern also auch nach erfolgter DNA-Infiltration die Virionenerzeugung durch die infizierte CD4-Zelle. Leider sind aber auch Proteasehemmer anfällig für Resistenzentwicklungen durch spontane Mutationen. Oft reicht schon der Austausch einer einzigen Aminosäure aus, um vollständige Resistenz zu bewirken, so etwa G48 bei Saquinavir oder D30 bei Nelfinavir.

Trotz aller Erfolge kann die HAART-Therapie AIDS nicht heilen, sondern nur die Überlebenszeit der Patienten verlängern und ihre Lebensqualität verbessern. Infizierte bleiben dauerhaft auf Tabletten mit den beschriebenen Risiken von Nebenwirkungen und Resistenzentwicklungen angewiesen. Je länger ein Patient antiretrovirale Substanzen einnimmt, desto schwieriger gestaltet sich die Suche nach neuen Präparaten, die gleichzeitig wirksam und verträglich sind.

Wettlauf der Ideen

Die hohe Mutationsrate des Virus macht den Entwicklern derzeit am meisten zu schaffen, da häufig solche Mutanten selektiert werden, die auf erfolgreiche Medikamente plötzlich nicht mehr ansprechen. Die Hoffnungen richten sich einerseits auf immer direkter wirkende Enzyminhibitoren der etablierten Substanzklassen (z.B. Etravirin und Tipranavir), andererseits auf Blocker der Integrase, die durch Bindung von doppelsträngiger DNA den Einbau viraler DNA in das Erbgut der menschlichen CD4-Zelle unterstützt. Da dieses Enzym kein Äquivalent in der menschlichen Zelle hat, wird erwartet, dass die neuartigen IN-Inhibitoren kaum Nebenwirkungen haben. Mit Raltegravir und Elvitegravir stehen bereits zwei Substanzen zur Verfügung, die Anfang 2008 auch in Europa zugelassen



Rekombinasen sind Enzyme, die fremde DNA-Sequenzen aus einem Genom herausschneiden. Ein Vertreter namens Cre, der in Bakteriophagen vorkommt, erkennt eine Sequenz, die zu 50% mit derjenigen von HIV übereinstimmt. 2007 berichtete ein deutsches Forscherteam in Science 316:1912-5 über die erfolgreiche „Proteinevolution“ im Labor, die nach 126 Runden eine Modifikation mit 100%iger Erkennung von HIV-LTR erzeugte. Dieser Ansatz gilt zumindest als erster Hoffnungsträger, um bereits infizierte zirkulierende Zellen vom Virus zu befreien.

wurden. Besonders bei HIV-Patienten, die gegen die herkömmlichen RT- und PR-Inhibitoren resistent sind, zeigen die Präparate gute Erfolge.

Noch früher sollen sogenannte Eintrittsinhibitoren den infektiösen Prozess unterbinden, indem sie die Ankopplung der Virionen über Rezeptoren der menschlichen Wirtszelle blockieren. Zunächst koppelt dabei das Oberflächenprotein gp120 der Virusmembran an den CD4-Rezeptor der Körperzelle. Dies ist der Grund, warum grundsätzlich alle CD4-tragenden Zellen (T-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen) von einer Infektion betroffen sein können. Neben den Lymphozyten des Blutes stellen für HIV zum Beispiel die Lymphozyten des Intestinaltraktes mit den anhängenden Peyer'schen Plaques ein großes Reservoir dar sowie die Mikrogliazellen und Astrozyten des Gehirns. Allein im Gehirn finden sich millionenfach mehr empfängliche Zellen für HIV als in allen Lymphknoten des Körpers. Neben der CD4-Rezeptorbindung benötigt das Virus noch eine zweite Verknüpfung, die je nach Subtyp über den Chemokin-Rezeptor CCR-5 oder CXCR4 erfolgt.

Mit der jüngst zugelassenen Substanz Maraviroc (Celsentri®) steht erstmals ein CCR-5-Antagonist zur Verfügung, der eine Infektion unterbindet. Die Erfolge während der Studienphase waren bereits

vielversprechend und die Verträglichkeit hervorragend. Allerdings wirkt Maraviroc nur bei R5-tropen Viren von HIV-1, da nur diese über den CCR-5-Rezeptor binden. Dies trifft immerhin auf etwa 80% der Viren von Neu-Infizierten zu, doch bei den restlichen 20%, die den CXCR4-Rezeptor (X4-trope) bevorzugen, ist Maraviroc wirkungslos. Aus diesem Grund muss vor einer Therapie der sogenannte Rezeptortropismus diagnostiziert werden (siehe Poster auf der nächsten Seite).

Sollte es bereits zu einer Kopplung zwischen Virus und Zelle über die Rezeptoren gekommen sein, beginnt die Verschmelzung. Die Virionen setzen ihr Glycoprotein gp41 frei und stülpen sich in die Lipidschicht der Zelle mit der Folge, dass HIV-Hülle und Lipidschicht der Zelle verschmelzen. Durch hydrophobe Kräfte bildet sich dann eine Pore, die dazu dient, das hüllenlose Virus ins Zytoplasma der Zelle hinein zu transportieren. Fusionshemmer richten sich daher gegen das an der Fusion beteiligte gp41-Protein.

Bisher hat nur eine Substanz, das Peptid T20 (Enfuvirtide), die Zulassung erhalten. Die Compliance bei Dauertherapie ist jedoch eingeschränkt, da das Medikament injiziert werden muss. Bei Patienten mit multiresistenten HIV hat sich T20 trotzdem sehr bewährt. Wie bei den anderen Substanzen auch, reichten aber wenige Muta-

Poster

Vorhersage des HIV-1-Tropismus mittels Hochdurchsatzsequenzierung

Problemstellung

Mit der Zulassung des Korezeptorantagonisten Maraviroc (MVC) Ende 2007 wurde eine neue Wirkstoffklasse zur Behandlung der HIV-Infektion verfügbar. Da jedoch nur sogenannte CCR5-trope (R5) Viren an der Penetration in die Zielzelle gehindert werden, muss vor dem ersten Einsatz von MVC der Korezeptortropismus bestimmt werden. Der bisherige Goldstandard zur

Bestimmung des Korezeptorgebrauchs ist die sehr zeit- und kostenaufwendige Phänotypisierung. Die Vorhersage des Tropismus aus genotypischen Daten erscheint als kostengünstige und schnelle Alternative, ist jedoch in Bezug auf die Detektion von minoreren CXCR4-tropen (X4) Varianten unterlegen.

Technische Lösung

Im Vergleich zur Standard-Direktsequenzierung ist die hochauflösende „454-Sequenzierung“ in der Lage, eine heterogene Viruspopulation mit einem Höchstmaß an Sensitivität darzustellen. Die V3-Regionen aus Viruspopulationen von 14 therapieerfahrenen Patienten mit phänotypisch ermitteltem Tropismus (7 R5, 7 X4) wurden parallel mit dem Standardverfahren und der hoch-

auflösenden 454-Sequenzierung analysiert. Die Vorhersage des Korezeptortropismus erfolgte mit dem Programm geno2pheno_[coreceptor]. Für die quantitative Analyse der R5/X4-Verteilung innerhalb der 454-Sequenzierdaten wurde die vorhergesagte R5/X4-Wahrscheinlichkeit gegen die Häufigkeit in der Gesamtpopulation aufgetragen.

Ergebnisse

Im Bezug zum Phänotyp wurden aus den Daten der Standard-Direktsequenzierung ein R5- und vier X4-trope Isolate falsch vorhergesagt. Mit Hilfe der 454-Technologie wurden pro Isolat durchschnittlich 10.000 V3-Sequenzen erzeugt. Minore Sequenzvarianten mit einer hohen X4-Vorhersagewahrscheinlichkeit konnten in jeder der 14 Viruspopulation nachgewiesen

werden. Bei Verwendung des für den Phänotyp gebräuchlichen „cutoffs“ von 5% für die Detektion von X4-Minoritäten zeigte sich mit Ausnahme eines einzigen Isolats eine hohe Übereinstimmung mit phänotypischen Daten. Die hochauflösenden Sequenzierung ist somit eine schnelle und zuverlässige Alternative zur phänotypischen Analyse.

Schlussfolgerung

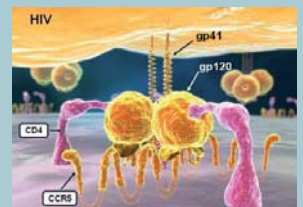
Der Nachweis von X4-Viren in allen Isolaten deutet darauf hin, dass neben dem Tropismus auch die „Fitness“ von minoreren X4-Varianten für das klinische Ansprechen auf CCR5-Korezeptorantagonisten eine wichtige Rolle spielen kann. Die hohe Sensitivität des 454 Sequencings von Roche in Kombination mit einer quantitativen Analyse ermöglicht die Etablierung klinisch re-

levanter Entscheidungsgrenzen zur Vorhersage des Ansprechens auf CCR5-Antagonisten in Gegenwart von X4-Minoritäten. Derartige „cutoffs“ könnten durch Analyse von Rückstellproben (vor Therapieumstellung) unter Einbeziehung des sogenannten „optimized background regimen“ (OBR) retrospektiv bestimmt werden.

Glossar

HIV-1-Tropismus

Unter Tropismus versteht man in der Virologie die Affinität des Erregers zu einem bestimmten Typ von Wirtszelle. Im Fall von HIV-1 bezieht sich der Begriff vor allem auf das Vorhandensein des für T-Helferzellen typischen Oberflächenproteins CD4 sowie der Korezeptoren CCR-5 oder CXCR4.



Ultratiefe Sequenzierung

Ultra-deep sequencing ist der Fachbegriff für eine moderne Sequenzieretechnik zur Detektion von seltenen Mutationen oder Varianten, wie sie z.B. in heterogenen Viruspopulationen vorkommen. Als System der Wahl diente in der vorliegenden Studie das Genome Sequencer FLX Gerät von Roche Applied Science, das neben der hohen Anzahl an Sequenz-Reads auch eine ausreichende Leseweite zur Detektion von verschiedenen Haplotypen erlaubt. Weitere ausführliche Informationen zum Genome Sequencer FLX erhalten Sie unter www.genome-sequencing.com oder bei der Fachlichen Information von Roche Applied Science unter Tel.: 0621/759-8568.



Quellenangabe



XVII International HIV Drug Resistance Workshop: Basic Principles and Clinical Implications von 10.-14. Juni 2008 in Melia Sitges, Spanien. Vortrag Martin Däumer, Institut für Immunologie und Genetik Hellmut-Hartert-Str. 1, 67655 Kaiserslautern www.immungenetik-kl.de

tionen aus, um die Wirkung von Enfurtide zu unterlaufen. Eine Weiterentwicklung unterblieb aus Kostengründen.

Große Hoffnungen auf einen neuen Fusioninhibitor werden derzeit von Wissenschaftlern aus Ulm und Hannover genährt. Bei Blutuntersuchungen von Dialysepatienten fanden sie heraus, dass ein modifiziertes Fragment des körpereigenen Proteins Alpha-1-Antitrypsin die Vermehrung von HIV-1 stoppen kann. Der antiretrovirale Hemmstoff VIRIP (Virus Inhibitory Peptide) blockiert sehr effektiv das Hüllprotein gp41 des Erregers. Nach den überaus erfolgreichen Grundlagenforschungen muss sich in klinischen Tests nun allerdings noch die Anwendbarkeit bei Patienten erweisen.

Relativ neu sind auch Maturationsinhibitoren, die in einem späten Stadium nach der Verschmelzung die Ausreifung neuer Virionen stören sollen. Zeitlich greifen sie damit unmittelbar nach den Protease-Hemmern in die Partikelreifung ein. Die derzeit noch nicht zugelassenen Substanzen PA-457 (Bevirimat) und UK-201844 hemmen die Reifung des Capsid-Proteins und damit die Bildung des für die Infektion wichtigen Viruskerns. Durch ihre lange Halbwertszeit von 60-80 Std. könnten Maturationshemmer in Zukunft als supplementäre Therapie interessant sein.

Flankierend zur Entwicklung antiretroviraler Medikamente sollen noch Bemühungen Erwähnung finden, die sich darauf richten, das geschädigte Immunsystem von HIV-Patienten durch Gabe von Interleukinen, IL-2, IL-6, IL-17 zu regenerieren. Doch ein nachweislicher Erfolg blieb bislang aus. Auch die Gabe von Interferon alpha oder gamma bewirkte keine erkennbare Unterstützung der immunologischen Abwehrlage.

Spiel – Satz – Sieg?

Mit Blick auf die Teilerfolge im Wettlauf zwischen Virus und menschlichem Forschergenius bleibt nur zu wünschen, dass die anfangs erwähnten Rückschläge bei der Entwicklung eines Impfstoffes und bei Versuchen, einmal eingeschleuste Virus-DNA aus infizierten CD4-Zellen wieder zu eliminieren, in Zukunft überwunden werden können. Immerhin sieht Dr. Seth Berkley, Präsident der International AIDS Vaccine Initiative, trotz der Ende 2007 abgebrochenen STEP-Impf-Studie keinen Anlass zu grundsätzlichem Pessimismus; neue Ansätze wie z.B. DNA-Impfstoffe seien ebenso in der Entwicklung wie Ideen für therapeutische statt präventive Impfstoffe.

Selbst eine Eliminierung des Virusgenoms aus infizierten CD4-Zellen ist mit biotechnologisch veränderten Phagenenzyklen wie der Tre-Recombinase vorstellbar. Bei aller Zuversicht sind hier jedoch Zweifel angebracht, ob das Verfahren neben frei zirkulierenden CD4-Zellen auch solche in Lymphknoten erreicht oder gar die Blut-Hirnschranke überwindet, um Astrozyten und Microgliazellen vom Virus zu befreien. Eine Gefahr der Behandlung mit Tre-Recombinase dürften auch DNA-Brüche sein, die zwar HIV ausschalten, aber über die Kaskade der Cytokin-Aktivierung zu Tumoren, wie bei der EBV Infektion zu Burkitt-Lymphom der B-Lymphozyten, führen könnten. Dennoch: Die erfolgreichen Tre-Recombinase-Experimente an menschlichen Kulturzellen sind ein weiterer wichtiger Schritt auf dem langen, steinigen Weg zur Heilung von AIDS.

Prof. Dr. Lutz Gürtler, Frankfurt
lutzg.guertler@vodafone.de
Dr. Katharina Meinel, Berlin
meinel@trillium.de

Alle Substanzen auf einen Blick

1. Inhibitoren der Reversen Transkriptase NRTI/NtRTI

- AZT (Zidovudin, Retrovir®)
- ABC - Abacavir (Ziagen®)
- DDC (Zalcitabin, HIVID®) - wegen schwacher Wirkung 2006 vom Markt genommen
- DDI (Didanosin, Videx®) - wegen hoher Toxizität an Attraktivität verloren
- D4T (Stavudin, Zerit®)
- 3TC (Lamivudin, Epivir)
- FTC (Emtricitabin, Emtriva)
- NtRTI: TDF (Tenofovir, Viread)

NNRTI

- Nevirapin (Viramune®)
- Efavirenz (Sustiva®)
- Delavirdin (Rescriptor®) - nicht mehr im Einsatz
- Etravirin (TMC125) - neueste Entwicklung

Wichtigste HAART-Kombinationen

- TDF+3TC
- TDF+FTC
- ABC+3TC

2. Protease-Inhibitoren (PI)

- PPI, eptidische PI: Indinavir, Saquinavir, Ritonavir, Nelfinavir, Lopinavir, Amprenavir, Fosamprenavir, Atazanavir,
- NPPI, nicht-peptidische PI: Tipranavir - erstes, ganz neu zugelassenes NPPI

3. Integrase-Inhibitor

- Raltegravir, Elvitegravir

4. Eintritts-Inhibitoren

- Chemokin-Rezeptor-Antagonist Maraviroc (Celsentri)
- Fusionsinhibitor: Enfuvirtid

5. Maturationsinhibitoren

- PA-457 (Bevirimat) und UK-201844 - bisher ohne Zulassung

Krieg der Gene

Der Verlust der CD4-Zellen bei AIDS ist ein schleicher Prozess, der wellenförmig – also mit Erholungsphasen und erneuten Verschlechterungen – verläuft, je nachdem, ob gerade die genetischen Faktoren des Virus oder der Wirtszelle die Oberhand gewinnen.

Das HI-Virus enthält neben den bei allen Retroviren vorkommenden Genen *gag*, *pol* und *env* auch Spezialisten wie *vif*, *vpu*, *vpr*, *tat*, *rev* und *nef*, die raffinierte Infektionsmechanismen unterstützen. Beispielsweise entfernt ein Produkt des *nef*-Gens die HLA-Antigene von der Oberfläche infizierter CD4-Zellen und unterläuft damit die Fremd-Selbst-Erkennung. Das von *vif* kodierte Protein richtet sich gegen *APOBEC3G*, ein Enzym der Wirtszelle, das die Synthese von HIV-DNA inhibiert. Bei Mäusen und Affen findet diese blockierende

Verbindung von *vif* mit *APOBEC3G* nicht statt, so dass die *CD4*-Zellen dieser Tiere gegen HIV immun bleiben.

Könnte man also beispielsweise die Ausschaltung von *APOBEC3G* durch *vif* in menschlichen Zellen verhindern, würde dies womöglich zu einer Art natürlicher Immunität mit geringerem Risiko einer Resistenzentwicklung führen.

Wie *APOBEC3G* ist auch *TRIM5 alpha* ein körpereigener Antagonist von Wirtszellen. Es interagiert mit der reversen Transkriptase des Virus und führt so zum Abbruch der DNA-Synthese – allerdings nicht beim Menschen, sondern nur bei Affen. Geringe genetische Differenzen zwischen den Primaten entscheiden also offenbar darüber, ob eine Infektion mit Retroviren abgewehrt werden kann oder nicht.

Selbst innerhalb der menschlichen Spezies gibt es genetische Varianten, die für HIV weniger empfänglich machen. So bewirkt die Deletion von 32 Basen (*Delta 32*) im *Chemokinrezeptor 5*-Gen, dass das G-Molekül des HI-Virus nicht an der Plasmamembran des Lymphozyten haftet. Sie wirkt wie ein natürlicher Entry-Inhibitor vom Typ Maraviroc, bietet Homozygoten weitgehenden Schutz vor AIDS und verzögert das Auftreten selbst bei Heterozygoten um etwa drei Jahre.

Interessanterweise tauchte diese Deletion erst vor etwa 700 Jahren in der Menschheitsgeschichte auf. Damals wütete in Europa die Pest, deren Erreger ebenfalls über den CCR5-Rezeptor bindet. Die Träger der Deletion – immerhin rund 10% aller Europäer – sind also vermutlich Nachfahren der damaligen Pestüberlebenden.

Erster Europäischer Nanomedizin-Kongress in Basel

Kleiner... **geht es nicht mehr**



PD Dr. med. Patrick Hunziker, wissenschaftlicher Direktor und Beat Löffler, MA, geschäftsführender Direktor der Europäischen CLINAM-Stiftung für Klinische Nanomedizin.

Um die Fortschritte der Nanomedizin möglichst rasch nutzbar zu machen, gründeten zwei Schweizer Wissenschaftler vor einem Jahr eine Stiftung für Klinische Nanomedizin und veranstalteten Mitte Mai mit großem Erfolg ihre erste internationale Konferenz.

Viel oder wenig, groß oder klein? Alles ist relativ. Wer 1.000 Euro im Monat verdient wie zum Beispiel eine medizinische Fachangestellte in den ersten drei Berufsjahren, für den sind 10.000 Euro viel und 100.000 „sehr viel“. Was darüber hinausgeht – eine Million oder eine Milliarde – erscheint als unvorstellbarer Reichtum. Andererseits wäre ein Biotech-Unternehmen, das nur eine Million Euro pro Jahr umsetzt, regelrecht arm. Amgen als Nr. 1 setzt z.B. fast 10.000 mal soviel um und macht selbst mit Einzelsubstanzen wie EPO oder Embrel mehr als eine Milliarde Euro Umsatz. Das ist eine 1 mit 9 Nullen.

Mikro- und Nanotechnologie

Ähnliche Probleme haben viele im Gesundheitswesen Tätige, wenn sie in der Nanomedizin mit der Welt der kleinen und kleinsten Dinge konfrontiert werden: Ein Millimeter erscheint klein (z.B. zehn nebeneinander gelegte Kopfhare), ein Mikrometer „sehr klein“ (2 µm Durchmesser hat ein Thrombozyt). Aber was darunter liegt – nano, pico, femto – ist schwer vorstellbar. Ein Nanometer hat 9 Nullen vor der 1, bei pico sind es 12, bei femto 15.

Doch Mikro ist keineswegs „ungefähr dasselbe“ wie Nano. Dazwischen liegen Welten! Die Mikrotechnologie befasst sich immerhin mit Gebilden, die unter dem Mikroskop gut sichtbar sind, z.B. den Spots auf einem DNA-Microarray.

Ihr Durchmesser liegt zwar unter 100 Mikrometern, aber noch weit über dem Auflösungsvermögen des sichtbaren Lichtes. Die Nanotechnologie dringt dagegen in die submikroskopische Welt der Biomoleküle mit Durchmessern von weniger als 100 Nanometern vor. Ein DNA-Molekül ist beispielsweise 3 nm dick. Viel kleiner geht es für die Medizin und andere Biowissenschaften nicht mehr. Unter 100 Picometern beginnt das Reich der Atomphysik.

Keine Zukunftsmusik

In Basel fand vor kurzem die erste Europäische Konferenz für Klinische Nanomedizin statt (www.clinam.org). Mit fast 200 Teilnehmern aus 20 Ländern vermittelte sie vor allem gute Kontakte für Wissenschaftler quer durch Europa. Sie brachte im Vergleich mit anderen einschlägigen Tagungen weniger Zukunftsmusik und mehr konkrete Anwendungen. Über die Hälfte der Redner waren Ärzte, aber auch Chemiker und Physiker und Ingenieure stellten Einsatzgebiete dieser jungen Fachdisziplin in Fächern wie Kardiologie, Onkologie oder Hämatologie vor.

Aus Sicht der Pathophysiologie und Labormedizin liegt laut Prof. Karl Lackner, Präsident der DGKL, das größte Potenzial in der Analyse subzellulärer Strukturen und Vorgänge wie z.B. dem Aktivierungsgrad von Oberflächenrezeptoren und den Signalübertragungswegen zwischen Zellen. Bei den therapeutischen Verfahren interessierte sich das Auditorium vor allem für Produkte in der klinischen Erprobung.

Dazu gehört die bereits vor 15 Jahren an der Charité in Berlin entwickelte Magnetflüssigkeits-Hyperthermie, bei der Eisenoxidpartikel direkt in den Tumor gespritzt und mit einem Magnetwechselfeld (100 kHz, 0-18 kA) erhitzt werden. Laut Dr. Andreas Jordan von Magforce Nanotechnologies, Berlin, ist dieses Verfahren wirksamer und schonender als ungezielte Hyperthermiebehandlung. Es wird seit 2006 in Phase II an über 200 Patienten mit Glioblastom und Prostata-

Hinweis: Vom 26.-29. April 2009 findet bereits die nächste Konferenz mit Fokus auf innovative diagnostische Anwendungen und Sicherheitsfragen der Nanotoxikologie statt. Aktuelle Informationen finden Sie unter www.clinam.org.

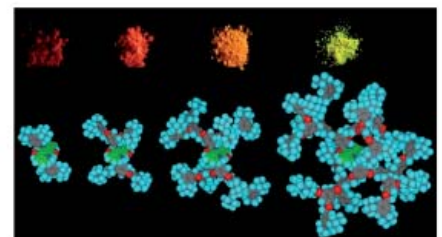
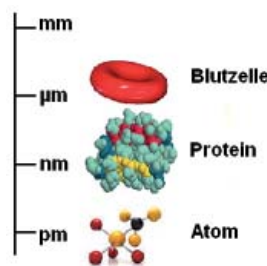
karzinom getestet. Auf großes Interesse stießen auch Liposomen (Prof. Gabizon, Jerusalem) und Polyacryl-Nanopartikel BA-003 (Dr. Attali, Paris), die als Träger des Zytostatikums Doxorubicin dienen. BA-003 befindet sich bei Leberzell-Karzinomen in der Phase III-Erprobung.

Prof. Kostas Kostarelos aus London ging auf die aktuelle, hoch brisante Diskussion über Nanomaterialien aus Kohlenstoff als Träger von diagnostischen und therapeutischen Molekülen ein. Da sie äußerst biokompatibel sind, passieren sie die natürlichen Barrieren ungehindert und dringen bis in die kleinsten Winkel des Körpers vor. Sie gelten deshalb nicht nur als Hoffnungsträger, sondern auch als schwer kalkulierbare Gefahrstoffe. Ähnlich wie Kohlenstoff-Feinstaub aus Dieselmotoren könnten sie Krebs auslösen. Kostarelos betreibt derzeit systematische Studien zur Reduktion dieses Risikos.

Die Diskussion um Risiken und Nutzen der Nanomedizin werde oft zu politisch geführt, sagte der oberste Repräsentant des Kantons Basel-Stadt, Regierungspräsident Guy Morin, der selbst Arzt ist. 10⁻⁹ sei auch nur eine Zahl wie jede andere. Sie wecke aber in der Medizin unrealistische Hoffnungen und zugleich übertriebene Ängste wie einst die Verkündigung von Galileis sonnenzentrischem Weltbild.

Basel sei stolz auf eine aus ihrer Universität stammende wegweisende Entwicklung der Nanotechnologie, das Miniatur-Rasterkraft-Sondenmikroskop, mit dem man winzigste Schäden an der Oberfläche des Gelenkknorpels auf Zellebene darstellen könne. Für den ersten Vorläufer dieses Mikroskops teilten sich Heinrich Rohrer (Schweiz) und Gerd Binnig (Deutschland) 1986 den Nobelpreis für Physik.

gh



„Dendrimere“ (dendros = Baum) sind Nanopartikel in der Größenordnung von Proteinen, die aus identischen Untereinheiten zusammengesetzt werden.

Wirkstoffsuche in Echtzeit

Neben Ionenkanälen und Enzymen gehören G-Protein-gekoppelte Rezeptoren zu den wichtigsten pharmakologischen Angriffspunkten. Ein neues Zell-Analyse-System erlaubt die funktionelle Analyse dieser Rezeptoren über einen längeren Zeitraum hinweg, ohne die Zellen markieren oder zerstören zu müssen.

Etwa die Hälfte aller derzeit vermarkteten Medikamente zielt auf G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) als pharmakologisches Target ab. Der neue xCELLigence Real Time Cell Analyzer von Roche Applied Science ermöglicht es jetzt, die Reaktion einer Zelle auf einen GPCR-abhängigen Wirkstoff in Echtzeit zu beobachten.

Das ursprünglich von ACEA Bioscience (San Diego, USA) entwickelte System nutzt das Auslesen der Impedanz, um zelluläre Zustände nicht-invasiv und in Echtzeit zu quantifizieren. Dazu werden zunächst Zellen in sogenannte E-Plates® im 96-Well-Format ausgesät, in die am Boden jedes Wells ein mikroelektronischer (Gold-) Sensorarray integriert ist. Das Anlegen

einer schwachen Wechselspannung (20 mV) erzeugt eine ionische Umgebung in den Wells der E-Plates, die ein exaktes Maß für die Zahl der Zellen im Well, ihre Zellmorphologie und die Stärke ihrer Zelladhäsion ist.



Werden GPCRs aktiviert, verändert sich im Rahmen der rezeptorvermittelten Signalübertragung das Aktin-Zytoskelett und damit die Struktur der Zelle. Diese Veränderungen sind mit dem System direkt detektierbar.

Basierend auf der elektronischen Zellsensor-Array-Technologie müssen die Zellen

nicht markiert werden und können über einen längeren Zeitraum unter nahezu physiologischen Bedingungen beobachtet werden. So kann man u. a. Messreihen aufnehmen und Wirkstoffkinetiken erstellen. Zudem lassen sich die Zellen mehrfach stimulieren, um beispielsweise Desensibilisierungseffekte oder das Ansprechen anderer Rezeptortypen zu untersuchen. Auch Primärzellen, die GPCRs endogen exprimieren, können mit dem xCELLigence System verwendet werden, die Überexpression exogener GPCRs ist nicht mehr erforderlich.

Das nicht-invasive Testsystem erlaubt das Monitoring und die Quantifizierung dynamischer zellulärer Prozesse wie Zellproliferation, Adhäsion oder Migration und kann zur Qualitätskontrolle von Zelllinien oder für die Beurteilung der Substanz-, Zell- oder Virus-vermittelten Zytotoxizität eingesetzt werden.

Herkömmliche Assays basieren dagegen auf Endpunktbestimmungen, die nur eine Momentaufnahme liefern können.

Dr. Olaf Spörkel
o.spoerkel@labsciences.de

Neue VDPGH-Geschäftsführung

Seit der Gründung des Verbands vor 31 Jahren leitete Dierk Meyer-Lüerßen die Geschäftsstelle und in vielfacher Hinsicht auch die Geschicke des Verbands der Diagnostica-Industrie (VDGH) in Frankfurt. Den Trillium-Lesern ist er kein Unbekannter: Viele Stellungnahmen zu aktuellen politischen, ökonomischen und juristischen Fragen stammten aus seiner Feder. Im April 2009 tritt er in den Ruhestand, und zeitgleich zieht das Büro nach Berlin um.

Meyer-Lüerßens Nachfolger, Dr. Martin Walger, tritt seinen Dienst bereits am 1. September an, um einen nahtlosen Übergang zu gewährleisten. Wir halten Sie auf dem Laufenden.



Dr. Martin Walger
VDGH Verband
der Diagnostica-
Industrie e. V.
vdgh@vdgh.de
www.vdgh.de

Gendiagnostikgesetz

Wenn es um Gendiagnostik geht, dann geraten die politischen Meinungen schnell aneinander – und die Begriffe oft durcheinander. Entgegen landläufiger Meinung kann man mit Gentests zum Beispiel keine richtigen von falschen Vätern unterscheiden; selbst Affen und Menschen sind in 99% ihrer Gene identisch. Man untersucht beim Vaterschaftstest gerade jene DNA-Abschnitte, die keine Gene enthalten, die folglich also kaum dem Evolutionsdruck ausgesetzt sind und deshalb bei jedem Menschen variieren.

Auf einem ähnlichen Missverständnis beruht die Angst vieler Menschen, aus ihren „Genen“ könne der Arzt weit reichende Schlussfolgerungen für den Verlauf des künftigen Lebens ziehen. Die wenigen Beispiele wie Chorea Huntington, in denen das stimmt, sind Raritäten; in allen anderen Fällen besteht ein kompliziertes und von der Medizin weitgehend unverstandenes Wechselspiel zwischen Genen

und Umweltfaktoren, wobei auch hier die nicht-kodierenden DNA-Abschnitte vermutlich als Regulatoren der Genexpression eine viel größere Rolle als die Gene selbst spielen (siehe Encode-Projekt: www.genome.gov/10005107).

Seit 16. April liegt ein Eckpunktepapier der Bundesregierung für ein (längst überfälliges) Gendiagnostikgesetz vor, das leider ebenfalls Gentests und allgemeine DNA-Analysen unkritisch vermischt (www.bmg.bund.de). Zusätzlich wies der VDGH am 18. April darauf hin, dass darin der Persönlichkeitsschutz zu Unrecht auf gendiagnostisch erhobene Ergebnisse begrenzt werde, obwohl gerade die Labordiagnostik auch mit vielen anderen Verfahren Krankheitsrisiken offenbare, die erst in der Zukunft eintreten (www.vdgh.de). Es ist zu hoffen, dass die im Eckpunktepapier angekündigte Expertenkommission hier Klarheit schafft.

gh