

Cornelia Pahle
Dr. med.

Unterschiedliche Rolle von Ligandenbindungsaffinität und Zytoskelettverankerung in der $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa)-vermittelten Zellaggregation und -adhäsion

Geboren am 09.04.1970 in Landau i.d. Pfalz
Reifeprüfung am 18.05.1989 in Bad Dürkheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1993 bis WS 1999/2000
Physikum am 28.03.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Mannheim und Heidelberg
Praktisches Jahr in Mannheim
Staatsexamen am 16.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. C. Bode

In den Industrieländern nimmt der Myokardinfarkt in der Liste der Todesursachen eine führende Position ein. Die hierbei meist vorliegende Okklusion von Koronararterien entsteht am häufigsten durch Thrombosierung nach Ruptur eines arteriosklerotischen Plaques. Entscheidend für die Thrombenbildung ist die Fähigkeit der Thrombozyten zur Aggregation sowie zur Adhäsion. Hauptvermittler dieser Eigenschaften ist der Thrombozytenoberflächenrezeptor $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb/IIIa).

Unter der bisherigen antithrombotischen Therapie mit ASS, Heparin, Ticlopidin und Clopidogrel kam es zu einer Reduktion der Mortalitäts- und (Re)Infarktrate bei Angina pectoris und Myokardinfarkt. Im Gegensatz zu diesen herkömmlichen Antithrombotika greifen $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Antagonisten wie ReoPro[®] direkt am Rezeptor an und zeigen eine stärkere Inhibition der Thrombozytenaggregation sowie einen schnelleren Wirkungseintritt.

Obwohl die Inhibition des $\alpha_{IIb}\beta_3$ in der Klinik sehr erfolgreich angewandt wird, ist über die Regulationsmechanismen relativ wenig bekannt. Zwei Mechanismen, die Veränderung der Ligandenaffinität und die Veränderung der Zytoskelettverankerung, können die Funktion des Integrinrezeptors verändern. Insbesondere ist die relative Bedeutung dieser Mechanismen für die Thrombozytenaggregation und Thrombozytenadhäsion nicht definiert.

In der vorliegenden Arbeit wurden die unterschiedliche Rolle der Ligandenbindungsaffinität sowie die Rolle der Zytoskelettverankerung in der $\alpha_{IIb}\beta_3$ -vermittelten Zellaggregation und -adhäsion untersucht. Hierzu wurden stabile Zelllinien von $\alpha_{IIb}\beta_3$ in vier verschiedenen Funktionszuständen hergestellt: 1) Wildtyp von $\alpha_{IIb}\beta_3$ (niedrige Rezeptoraffinität und intakte Zytoskelettverankerung), 2) $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit VGFFKR-Deletion in α_{IIb} (erhöhte Rezeptoraffinität), 3) $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit Trunkierung von β_3 (Verlust der Zytoskelettverankerung), 4) $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit VGFFKR-Deletion in α_{IIb} und Trunkierung von β_3 (erhöhte Rezeptoraffinität und Verlust der Zytoskelettverankerung). Die Untersuchung der Rezeptoraffinität erfolgte mittels Durchflußzytometrie nach Zugabe des aktivationspezifischen $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Antikörpers PAC-1. Zur Untersuchung der Interaktion zwischen Integrin und Zytoskelett wurde die Immunfluoreszenzmikroskopie angewandt. Die Zellaggregation wurde durch Aggregometrie nach Zugabe von Fibrinogen geprüft.

Bei VGFFKR-deletiertem $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit Verlust der Zytoskelettverankerung zeigte sich eine verstärkte PAC-1-Bindung, die durch das Fibrinogen imitierende Peptid GRGDSP inhibiert wurde. Beim Wildtyp zeigte sich weder eine Zunahme der PAC-1-Bindung noch eine Inhibition durch GRGDSP. Bei Wildtyp und VGFFKR-deletiertem $\alpha_{IIb}\beta_3$ konnte man auf immobilisiertem Fibrinogen die Bildung von Adhäsionsplaques sowie eine Umorganisation des Zytoskeletts beobachten. Dies zeigte sich nicht beim trunkierten $\alpha_{IIb}\beta_3$. Verglichen mit dem Wildtyp war die Aggregation deutlich stärker bei Zellen, die den VGFFKR-deletierten Rezeptor exprimierten. Beim trunkierten $\alpha_{IIb}\beta_3$ konnte man eine beeinträchtigte Zellaggregation mit geringer Aggregatgröße feststellen.

Zusammenfassend läßt sich sagen: Für die Zellaggregation spielt der Affinitätszustand des Rezeptors die entscheidende Rolle. Die für die Regulation der adhäsiven Funktionen des Rezeptors wichtige Fähigkeit zur Zellausbreitung und Adhäsion ist abhängig von der Intaktheit der Zytoskelettverankerung.

Die Ergebnisse dieser Versuche implizieren die Möglichkeit einer selektiven Blockade von Thrombozytenaggregation ohne Inhibition der Thrombozytenadhäsion. Im Gegensatz zu herkömmlichen $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Antagonisten wie ReoPro[®], die den Rezeptor in hohem und niedrigem Affinitätszustand blockieren, könnte eine selektive Blockade von $\alpha_{IIb}\beta_3$ in hohem Affinitätszustand zu einer Verringerung des Blutungsrisikos in der antithrombotischen Therapie führen.