

Corinna Johanna Waskow
Dr. med.

Untersuchungen zur Entwicklung und Wirkung eines fibrinspezifischen DSPA α 1-Konjugates

Geboren am 15.03.1969 in Rüsselsheim
Reifeprüfung am 21.06.1988 in Rüsselsheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1988/1989 bis WS 1995/1996
Physikum am 25.09.1990 an der Universität Mainz
Klinisches Studium in Heidelberg und Lyon/Frankreich
Praktisches Jahr in Galveston/USA, Genf/Schweiz und Heidelberg
Staatsexamen am 22.11.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Christoph Bode

In der Therapie des akuten Myokardinfarktes hat sich die thrombolytische Therapie etabliert. Sie ist in der Lage, thrombotisch verschlossene KoronargefäÙe wieder zu öffnen, das Infarkt-areal zu verkleinern, die Ventrikelfunktion zu erhalten und dadurch letztlich die Mortalität zu senken. Eine primäre MiÙerfolgsrate (15-25 %), eine frühe Reokklusion und das Auftreten signifikanter Blutungen (0,5-1 %) stellen jedoch weiterhin Probleme dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst die Möglichkeit untersucht, im Rahmen des Konzeptes der Antikörper-vermittelten Thrombolyse, einen fibrinspezifischen monoklonalen Antikörper an einen neuen in diesem Rahmen noch nicht verwendeten Plasminogenaktivator zu koppeln. Der Antikörper wurde in seiner Fab'-Form verwendet. Das 59D8-Fab'-Antikörper-Fragment wurde über ein Quervernetzungsreagenz kovalent an DSPA α 1, einen rekombinanten Plasminogenaktivator, der einem natürlichen aus dem Speichel von Vampirfledermäusen extrahierbaren Plasminogenaktivator entspricht, gekoppelt. Nach affinitätschromatographischer Reinigung konnte die strukturelle Intaktheit des Konjugates mittels SDS-PAGE gezeigt werden. Im Western-Blot konnte 59D8-Fab' als Bestandteil des Konjugates immunologisch identifiziert werden. Im S-2288-Aktivitätstest zeigte sich das Konjugat enzymatisch aktiv. Dies beweist, daß die Herstellung eines strukturell intakten und enzymatisch aktiven Konjugates mit den beiden Ausgangssubstanzen möglich ist. Die Herstellung des DSPA α 1-59D8-Fab'-Konjugates war allerdings mit einer geringen Ausbeute weiter einsetzbarer Aktivität verbunden.

Es wurde anschließend der Frage nachgegangen, ob dieses biochemische Konjugat durch verbesserte Fibrinspezifität infolge zielgerichteter Bindung an Fibrin im Thrombus eine erhöhte thrombolytische Potenz im Vergleich zu ungekoppeltem DSPA α 1 aufweisen würde. Dabei wurde in zwei Schritten vorgegangen. Zunächst zeigten Bindungsversuche an das zur Immuni-sierung verwendete Antigen B β -15-22-Peptid im β -Peptid-Assay konzentrationsabhängig im Vergleich zu ungekoppeltem DSPA α 1 eine bis um den Faktor 41 erhöhte, an die 96-Loch-Platten-Oberfläche gebundene enzymatische Aktivität des Konjugates. Diese Ergebnisse sprechen für ein funktionell intaktes Molekül, das über seine Antikörperkomponente an sein Zielepitop gebunden hat. In Annäherung an die Verhältnisse in vivo wurde im Clot-Assay die Lyse künstlich hergestellter radioaktiv markierter Thromben aus FFP in humanem Plasmabad durch DSPA α 1, DSPA α 1-59D8-Fab' und tPA untersucht.

Dabei zeigten DSPA α 1 und tPA eine gleich hohe Lyse. Mit dem Konjugat konnte jedoch keine Erhöhung der lytischen Potenz im Vergleich zu nativem DSPA α 1 erzielt werden. DSPA α 1 konnte aus der Erhöhung der Fibrinspezifität keinen Nutzen bezüglich einer verbesserten in-vitro-Lyse ziehen. Somit läßt sich sagen, daß die Kopplung von DSPA α 1 an 59D8-Fab' möglich ist aber das Konjugat keine erhöhte thrombolytische Potenz im Vergleich zu ungekoppeltem DSPA α 1 aufweist.