

Meike Schwarz
Dr.med.

Durchflusszytometrisches Monitoring der Effekte von c7E3 und Heparin auf die Integrinrezeptoren GP IIb/IIIa auf Thrombozyten und Mac-1 auf Monozyten.

Geboren am 08.12.1971 in Stuttgart
Reifeprüfung am 10.06.1991 in Wiesbaden
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991 bis SS 1998
Physikum am 06.09.1993 in Mainz
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Schwäbisch-Hall und Houston/USA
Staatsexamen am 11.05.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Professor Dr. med. Christoph Bode

Integrinrezeptoren, insbesondere der Fibrinogenrezeptor Glykoprotein IIb/IIIa auf Thrombozyten, haben in den letzten Jahren eine große Bedeutung in der Erforschung der grundlegenden Mechanismen kardiovaskulärer Erkrankungen und deren Therapie erhalten.

Die Blockade des GP IIb/IIIa-Rezeptors, durch monoklonale Antikörper wie c7E3 (Abciximab, ReoPro[®]) oder synthetische RGD-Analoga, ist ein vielversprechender Ansatzpunkt in der antithrombotischen Therapie. Hierdurch wird direkt in den Endpunkt der Thrombozyten-aktivierung eingegriffen und eine Bindung des bivalenten Fibrinogenmoleküls, welche Voraussetzung für die Thrombozytenaggregation und die fibrinogenvermittelte Adhäsion ist, verhindert.

Die Methode der Durchflusszytometrie steht im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit. Mittels dieser Technik kann die Expression von Oberflächenrezeptoren, deren Konformationszustand und deren Fähigkeit verschiedene Liganden zu binden untersucht werden. Hierdurch konnten neue Wirkungsmechanismen von c7E3 und Heparin aufgedeckt werden:

Es wurde nachgewiesen, daß c7E3 durch Imitation der Ligandenbindung, einen Konformationswechsel im Sinne eines intrinsisch aktivierenden Effektes am GP IIb/IIIa-Rezeptor auslösen kann. Dadurch wird der Rezeptor in einen für Fibrinogen hochaffinen Zustand überführt. Bei hohen c7E3-Konzentrationen ist dieser Effekt durch die gleichzeitige Blockade des Rezeptors maskiert. Diese Blockade kann jedoch experimentell, durch Waschen in Pufferlösung aufgehoben werden, woraus eine vermehrte Fibrinogenbindung an GP IIb/IIIa resultiert. Bei niedrigen Konzentrationen überwiegt der aktivierende Effekt gegenüber der GP IIb/IIIa-Blockade. Dies kann durch Dissoziation des kompetitiv bindenden Inhibitors erklärt werden. Dieser Effekt wäre eine mögliche Erklärung für die unter ReoPro[®] Therapie auftretenden, bislang unklaren, Thrombopenien, denn aktivierte Thrombozyten könnten im retikuloendothelialen System sequestriert werden. Diese Ergebnisse sind richtungsweisend für die Entwicklung neuer Substanzen dieser Wirkstoffgruppe: Aktivierungsspezifisch bindende Inhibitoren, die also am niedrig-affinen Rezeptor nicht binden könnten, können diesen auch nicht intrinsisch aktivieren, wie auch die Experimente mit dem aktivierungsspezifischen monoklonalen Antikörper Pac-1 beweisen.

Der mit GP IIb/IIIa verwandte, ebenfalls Fibrinogen bindende Integrinrezeptor Mac-1, auf Mono- und Granulozyten ist unter anderem in die biologischen Abläufe von Entzündungsreaktionen, Komplementaktivierung, Chemotaxis, Phagozytose aber auch Blutgerinnung beteiligt.

Hier wurde nun c7E3, ursprünglich zur Blockade des Thrombozytenintegrins GP IIb/IIIa konzipiert, als neuer Ligand an aktiviertem und nicht aktiviertem Mac-1 beschrieben. Hierdurch wird eine Blockade der Fibrinogen- und Faktor X-Bindung erreicht. Die funktionelle Bedeutung dieser Blockade wurde durch die Inhibition der Fibrinogen vermittelten Monozytenaggregation und Adhäsion, sowie der ICAM-1 vermittelten Monozytenadhäsion auf Endothelzellen, nachgewiesen.

Heparin besitzt zahlreiche Wirkungsmechanismen, auch außerhalb des Gerinnungssystems. So wurde unter anderem die Mac-1 vermittelte Leukozytenadhäsion auf immobilisiertem Heparin beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurde Heparin als neuer Ligand an Mac-1 dargestellt und weiterhin wurde eine Blockade der Bindung von Faktor X, Fibrinogen und ICAM-1 gezeigt. Die klinische Bedeutung dieser Wirkung wurde durch die negative Korrelation zwischen PTT und Fibrinogenbindung an Monozyten von, mit Heparin behandelten Patienten, nachgewiesen.

Die Blockade von Mac-1 könnte zusätzliche günstige therapeutische Effekte von c7E3 und Heparin bedeuten, da zusätzlich die monozytenvermittelte Aktivierung der Gerinnungskaskade über Faktor X inhibiert wird. Weiterhin werden zahlreiche Entzündungsreaktionen behindert: so könnte c7E3 eventuell durch die Mac-1-Blockade eine Inhibition der Monozyten Extravasation und Chemotaxis bewirken, was günstige Auswirkungen auf den Myokardschaden im Verlauf von Infarkt und Reperfusionsschaden hätte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen neue Aspekte in der Rezeptor-Liganden-Interaktion von Integrinrezeptoren auf, die eine zentrale Bedeutung in Gerinnungsprozessen besitzen. Somit ergeben sich neue Ansatzpunkte in der Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen und innovative Perspektiven in der Entwicklung von Integrin-Rezeptoren blockierenden Therapeutika.