

Oleg Turovets  
Dr. med.

Einfluß von unfraktioniertem und niedermolekularem Heparin auf Serumkonzentration von Hepatocyte Growth Factor (HGF) bei gesunden männlichen Probanden.

Geboren am 19.04.1968 in Orenburg/ Rußland  
1975-1985 Mittelschule Moskau/Rußland  
1985-1991 6 Jahre Studium der Humanmedizin am  
Medizinischen Institut Moskau/Rußland  
29.06.1991 Abschluß als Arzt  
06.10.1992 Abschluß als Arzt für Kardiologie

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. J. Brachmann

In unseren beiden prospektiven placebo-kontrollierten cross-over Studien untersuchten wir Effekte von niedermolekularem und unfraktioniertem Heparin bei verschiedenen Applikationsmodi auf die Freisetzung und Dynamik von Hepatocyte-Growth-Factor. An beiden Studien nahmen jeweils 9 gesunde männliche Probande im Alter von 22 bis 34 für die Liquemin - Studie und 25 bis 36 für die Fragmin-Studie teil. Vor Beginn jeder Applikation wurden bei allen Probanden physiologische HGF-Konzentration (Zeitpunkt 0) gemessen. Diese zeigten zwar deutliche individuelle Unterschiede, lagen aber bei allen Personen im physiologischen Normbereich. Dies ermöglichte uns neben absoluten Änderungen der HGF-Plasmakonzentration auch relative Änderungen im Bezug auf den Ausgangswerte zu evaluieren. Die Effekte wurden in allen Fällen mit entsprechenden i.v. Placebo-Gaben verglichen.

Die Ergebnisse unserer Studien haben gezeigt, daß Heparin, sowohl unfraktioniertes als auch niedermolekulares, in therapeutischer Dosierung zu einer ausgeprägten Freisetzung des Wachstums- und Angiogenesefaktors HGF führt.

Die intravenöse Gabe von unfraktioniertem Heparin rief bei allen Probanden einen raschen und heftigen Anstieg des HGF-Spiegels im Plasma mit einem maximalen Wert von 12675 pg/ml. Bereits nach 10 min. nach der Applikation erreichten die Werte bei den meisten Probanden ihren Höhepunkt mit einem Mittelwert von  $10515,8 \pm 1658$  pg/ml). Ab der zwanzigsten Minute begannen die Werte langsam abzufallen (Mittelwert zu diesem Zeitpunkt  $10125,4 \pm 1975$  pg/ml) und erreichten binnen 2 bis 6 Stunden wieder das physiologische Niveau. Die relative Änderungen der HGF-Plasmakonzentrationen zeigten eine identische Zeitdynamik und lagen zwischen 2800% und 9900%, im Schnitt bei 4700 %. Es wurde kein Einfluß des Körpergewichts auf die Höhe der HGF-Plasmakonzentration festgestellt.

Bei der subcutanen Gabe von unfraktioniertem Heparin kam es ebenfalls zur Steigerung der HGF-Plasmakonzentration, wobei hier der maximale Wert 1724 pg/ml betrug. Die höchsten Konzentration wurden in diesem Falle im Schnitt nach 2 Stunden erreicht (Mittelwert  $973,7 \pm 433$  pg/ml). Im weiteren

Verlauf sanken die Werte kontinuierlich ab und erreichten im Zeitraum von 12 bis 24 Stunden nach Applikation den Normbereich. Der Mittelwert der relativen Änderungen der HGF-Plasmakonzentration nach s.c. Gabe von unfraktioniertem Heparin lag bei 410 %, mit minimalen Wert von 283% und maximalen Wert von 746%. Der Zeitverlauf entsprach der Zeitkurve der absoluten Änderung. In einer Linie mit den gesehenen Besonderheiten der Kinetik der HGF-Freisetzung ins Plasma in Abhängigkeit vom Applikationsmodus beobachteten wir einige Unterschiede quantitativer Reaktionsparameter in Korrelation mit der intravenösen und subcutanen Injektion. Der Vergleich von den Flächen unter den Kurven (AUC) der dynamischen HGF-Veränderungen in 24 h zeigte einen wesentlich höheren mittleren Netto-Wert ( $AUC_{\text{gesamt}} - AUC_{\text{placebo}}$ ) bei der Probanden-gruppe mit i.v. appliziertem unfraktioniertem Heparin als bei der s.c. Gabe: entsprechend  $13228,65 \pm 5780$  und  $1755,37 \pm 2108$  pg/ml. Trotz der relativ niedrigen Glaubwürdigkeit der Unterschiede dieser mittleren Werte ( $p=0,05$ ), was auf die begrenzte Probandenzahl zurückzuführen wäre, vermittelt die i.v. Injektion von Heparin eine zweifellos intensivere Mobilisation biochemischer Basiskomponente und Substrate und dadurch eine mehr produktive Freisetzung von HGF. In diesem Falle findet die Hauptaktivität der HGF-Freisetzung in den ersten 6 Stunden ab dem Zeitpunkt der i.v. Gabe von Heparin statt: die mittlere Fläche unter der Kurve in der Zeit zwischen der Injektion und sechsten Stunde ( $AUC_{0-6}$ ) betrug 82 % der Reaktionsfläche innerhalb der ganzen 24-stündigen Beobachtungsperiode. Nach der sub-cutanen Gabe erreichte  $AUC_{0-6}$  nur 48 % der Gesamtfläche. Mit großer Wahrscheinlichkeit spielt dabei eine verlängerte Freisetzung von Heparin aus dem s.c. Depot entscheidende Rolle.

In der zweiten Studie untersuchten wir den Einfluß von niedermolekularem Heparin auf die Freisetzung von HGF ins Plasma.

Die mittlere HGF-Plasmakonzentration von  $8281,3 \pm 1046$  pg/ml nach i.v. Applikation von niedermolekularem Heparin wurde bereits nach 10 Minuten erreicht. Dabei lag der absolute maximale Wert bei 10208,3%. Im weiteren Verlauf sanken die Werte ab und lagen nach 20 Minuten im Schnitt bei  $5640,8 \pm 977$  pg/ml. Der relative Anstieg der HGF-Plasma-konzentration wurde von uns mit 2773 % gemessen. Dabei betrug der minimale relative Änderung 2026% und maximale 3719%.

Nach der subcutanen Gabe von unfraktioniertem Heparin erreichte die mittlere HGF-Plasmakonzentration ihr Maximum bereits nach einer Stunde und betrug in diesem Falle  $1673,9 \pm 770$  pg/ml. Der höchste Wert wurde dabei mit 2193 pg/ml gemessen. Nach 12 Stunden sanken die Werte kontinuierlich bis auf das physiologische Ausgangsniveau. Die mittlere relative Änderung der HGF-Plasmakonzentration betrug 458 % und lag zwischen 284 % und 933 %.

Trotz bestimmter Besonderheiten der Kinetik der HGF-Freisetzung in Abhängigkeit von der Applikationsform von niedermolekularem Heparin waren die Unterschiede der AUC-Parameter nach i.v. und s.c. Gabe wenig ausgeprägt. Beim Vergleich der AUC-Netto-Werte ( $AUC_{\text{gesamt}} - AUC_{\text{placebo}}$ ) nach

i.v. Applikation ( $6398 \pm 2746$  pg/ml) mit entsprechenden Parametern nach s.c. Gabe ( $4082 \pm 2577$  pg/ml) während der 24-stündigen Beobachtung stellte sich der Unterschied als statistisch nicht signifikant heraus ( $p < 0,05$ ). So wie nach Injektion von unfraktioniertem Heparin fand der größere Teil der Freisetzung von HGF binnen ersten sechs Stunden (64,3%) statt. Bei der s.c. Gabe von niedermolekularem Heparin betrug der AUC-Wert im gleichen Zeitraum 50,2% der Gesamtfläche unter der Kurve. Die intravenöse Gabe vom Placebo-Präparat rief keine Änderungen der HGF-Plasmakonzentration. Dabei läßt sich schließen, daß in allen Fällen gemessene mehr oder weniger ausgeprägte Änderung der HGF-Plasmakonzentration eindeutig mit Applikation von Heparin-Derivaten korreliert. Der Unterschied der Freisetzung von HGF auf intravenöse und subcutane Gabe von unfraktioniertem Heparin und niedermolekularem Heparin entspricht den allgemeinen Gesetzmäßigkeiten der Bioverfügbarkeit, d.h. die intravenösen Applikationen rufen eine schnelle und heftige Mobilisierung des Substrates aus dem Zielgewebe hervor, und bei den subcutanen Gaben entsteht ein gewisser Depoteffekt mit langsamer und länger andauernder Anflutphase.