

Journal für Kardiologie

Austrian Journal of Cardiology

Österreichische Zeitschrift für Herz-Kreislaferkrankungen

Thrombolyse - neue Thrombolytika neue Begleittherapie: Update 1999

Gulba D, Dechend R, Dietz R

Moll S, Praus M

Journal für Kardiologie - Austrian

Journal of Cardiology 1999; 6 (3)

142-153

Homepage:

www.kup.at/kardiologie

Online-Datenbank
mit Autoren-
und Stichwortsuche



Offizielles
Partnerjournal der ÖKG



Member of the ESC-Editor's Club



Offizielles Organ des
Österreichischen Herzfonds



ACVC
Association for
Acute CardioVascular Care

In Kooperation
mit der ACVC

Indexed in ESCI
part of Web of Science

Indexed in EMBASE

Krause & Pachernegg GmbH • Verlag für Medizin und Wirtschaft • A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031105M,

Verlagsort: 3003 Gablitz, Linzerstraße 177A/21

Preis: EUR 10,-

Veranstaltungskalender

Hybrid-Veranstaltungen der Herausgeber des **Journals für Kardiologie**

Finden Sie alle laufend aktualisierten Termine
auf einem Blick unter

www.kup.at/images/ads/kongress.pdf

Thrombolyse – neue Thrombolytika, neue Begleittherapie: Update 1999

Dietrich C. Gulba, Michael Praus, Ralf Dechend, Stefan Moll, Rainer Dietz

Nachdem die Etablierung der Thrombolyse als Therapieoption bei den unterschiedlichen thromboembolischen Erkrankungen als weitgehend abgeschlossen gelten kann, gilt heute das Hauptinteresse der Entwicklung neuer Thrombolytika und der Verbesserung der adjuvanten Therapie. Mit dem Gewebe-Plasminogenaktivator steht ein Medikament zur Verfügung, das im Vergleich zu Streptokinase und Urokinase eine erhöhte Fibrinselektivität und eine verbesserte Wirksamkeit aufweist. Weiterentwicklungen dieses Plasminogenaktivators stellen die Deletionsmutanten Reteplase und Lanoteplase sowie die durch mehrfache gezielte Mutagenese entstandene TNK-Mutante dar. Ihnen allen ist bei marginal weiter verbesserten thrombolytischen Eigenschaften eine verbesserte Halbwertszeit zu eigen, die eine Applikation als Einfach- oder Doppelbolus möglich macht. Diese Eigenschaft macht die neuen Substanzen besonders für den Einsatz in der Notfallmedizin und im Rettungswesen geeignet. Mit Pro-Urokinase steht darüber hinaus ein weiterer physiologischer, humaner Plasminogen-Aktivator zur Verfügung. Pro-Urokinase wirkt jedoch erst nach Aktivierung zur Urokinase und weist somit keine Fibrinselektivität auf. Mit der Einführung dieser Substanzen wird in Kürze gerechnet. Weitere Substanzen mit noch günstigeren pharmakologischen Profilen stellen die Staphylokinase und der Plasminogenaktivator der Vampirfledermaus dar. Diese Substanzen stehen jedoch erst am Anfang ihrer klinischen Prüfung. Unabhängig von der Weiterentwicklung der thrombolytischen Substanzen werden wesentliche Fortschritte in der Thrombolyse jedoch auch auf dem Gebiet der adjuvanten gerinnungshemmenden Therapie erwartet. Besonderes Augenmerk gilt hier den spezifischen Thrombininhibitoren (z. B. Hirudin) und den Inhibitoren der Plättchenaggregation durch Blockade des Plättchen GP IIb/IIIa Rezeptors. Hierzu stehen derzeit drei unterschiedliche Substanztypen zur Verfügung: chimäre Antikörperfragmente (z. B. abciximab), Oligopeptide (z. B. Eptifibatide) und niedermolekulare peptidomimetische Substanzen (z. B. Tirofiban), die derzeit überwiegend bei der Behandlung der instabilen Angina und in der periinterventionellen Therapie ihren Einsatz finden. Diese Substanzen können jedoch – auch als Adjuvantien zu Thrombolytika verabreicht – deren Wirksamkeit wesentlich verbessern. Ihre Rolle zur Verhinderung der frühen Reokklusion nach Thrombolysetherapie ist hingegen bisher noch nicht definiert.

Now that we can consider thrombolysis as a therapeutic option in various thrombo-embolic disorders to be more or less established, the main focus is on the development of new thrombolytic drugs and the improvement of adjuvant therapy. With the tissue plasminogen activator, a drug is now available that offers enhanced fibrin selectivity and improved thrombolytic efficacy as compared with streptokinase and urokinase. Further developments of this plasminogen activator are the deletion mutants reteplase and lanoteplase, as well as the TNK mutant produced by multiple selective mutagenesis. Endowed with marginally improved thrombolytic properties, they all have in common an improved half-life, making their application as a single or double bolus possible. This property makes the new substances particularly suitable for the use out of hospital and in emergency care. In addition, a further physiological, human plasminogen activator is available in the form of pro-urokinase. However, pro-urokinase is inactive until converted into urokinase and does not demonstrate any fibrin selectivity. The introduction of these substances is expected in the near future. Further substances with an even more favorable pharmacological profile are staphylokinase and the plasminogen activator of the vampire bat. However, these substances are still in the early stages of clinical testing. Independent of the further development of thrombolytic substances, major progress in thrombolysis is also expected from the field of adjuvant anticoagulant therapy. The main focus here is on the specific thrombin inhibitors (eg, hirudin) and platelet aggregation inhibitors via blockade of the platelet GP IIb/IIIa receptor. Here, three different substance types are currently available: chimeric antibody fragments (eg, abciximab), oligopeptides (eg, eptifibatide) and low-molecular peptide mimetics (eg, tirofiban), which are currently used primarily in the treatment of unstable angina and in peri-interventional therapy. However, when administered as adjuvant therapy with thrombolytic drugs, these substances can considerably enhance the effectiveness of the latter. However, their role in the prevention of early reocclusion after thrombolytic therapy remains to be defined. **J Kardiol 1999; 6: 142–53.**

Die stürmische Entwicklung der Thrombolysetherapie hat erst mit den neuen Erkenntnissen zur Pathophysiologie des akuten Herzinfarktes zu Beginn der 80iger Jahre begonnen [1, 2]. Heute, nur eineinhalb Dekaden nach Veröffentlichung der ersten großen multizentrischen Studien [3, 4], läßt sich die intravenöse Thrombolysetherapie aus den Behandlungskonzepten der modernen Kardiologie nicht mehr wegdenken (Übersicht bei Gulba [5]). Trotz in großen Studien vielfach gesicherter Wirksamkeit sind die klassischen Thrombolytika – Streptokinase und Urokinase – mit wesentlichen Nachteilen behaftet. Wenngleich ihre mangelnde Fibrinselektivität heute nicht mehr für die hämorrhagischen Nebenwirkungen verantwortlich gemacht werden, bewirken die Fibrinogen-Spaltprodukte durch ihre intensive antikoagulatorische Wirkung doch eine schlechte Antagonisierbarkeit [6–9]. Darüber hinaus weist Streptokinase in hohen Dosen einen starken hypotensiven Effekt und als nicht humanes Protein einen starken allergenen Effekt auf [10]. All diese Nachteile haben dazu geführt, daß parallel zur klinisch-therapeutischen Entwicklung auch eine stürmische Suche nach neuen Thrombolytika mit idealeren pharmakologischen Profilen eingesetzt hat. Diese Entwicklung wird in jüngster Zeit von einer ebenso stürmischen Entwicklung bei den adjuvanten antithrombotischen

Therapien flankiert. Der folgende Artikel soll eine Übersicht über die neuen fibrinolytischen und antithrombotischen Substanzen geben.

Der Gewebe-Plasminogenaktivator und seine Derivate

Gewebe-Plasminogen-Aktivator (rt-PA, Alteplase)

Pharmakologische Eigenschaften

Der Gewebe-Plasminogen-Aktivator ist ein einkettiges Glykoprotein, das aus 527 Aminosäuren aufgebaut ist und ein Molekulargewicht von ca. 70.000 D aufweist [11–14]. Das einkettige Molekül wird durch limitierte Proteolyse in eine zweikettige Form gespalten [11, 12, 14]. Die beiden Teilketten, die N-terminale Teilkette, die zwei Kringel-Strukturen, eine epidermale Wachstumsfaktordomäne und eine Fingerdomäne enthält, welche Fibrinbindungseigenschaften vermitteln, und die C-terminale Kette, die das aktive Zentrum (His 322, Asp 371 und Ser 478) enthält, werden dann nur noch durch eine einzige Disulfidbrücke zwischen Serin 264 und Serin 395 zusammengehalten [11, 12, 14]. Physiologischerweise werden im Blut Konzentrationen von ca. 5 µg/l gefunden, lokal können die Konzentrationen jedoch,

Von der Charité der Humboldt-Universität zu Berlin, Franz-Volhard-Klinik, Berlin.

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. med. Dietrich C. Gulba, Charité, Humboldt-Universität zu Berlin, Franz-Volhard-Klinik am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Wiltbergstraße 50, D-13125 Berlin, e-mail: gulba@fvk-berlin.de

insbesondere nach entsprechender thrombotischer Stimulation, beträchtlich höher sein [15–18].

Gewebe-Plasminogen-Aktivator (t-PA, Alteplase) kann Plasminogen zu Plasmin aktivieren. Aus den kinetischen Konstanten geht hervor, daß t-PA zirkulierendes Plasminogen nur mit schwacher Aktivität aktiviert. Das einkettige Muttermolekül und die zweikettige Tochterform weisen dabei beide prinzipiell die gleichen pharmakologischen Eigenschaften auf. Fibrin-gebundenes Plasminogen wird demgegenüber mit um drei Zehnerpotenzen verbesserter katalytischer Potenz aktiviert [14, 19, 20]. Durch die Anwesenheit von Fibrin werden somit die thrombolytischen Eigenschaften des Gewebe-Plasminogen-Aktivators außerordentlich verstärkt. Die relative Fibrinselektivität wird demzufolge mit dem Faktor 500 bis 1000 angegeben [19, 21, 22]. Eine ähnliche Steigerung der katalytischen Wirkung kann jedoch auch an der Oberfläche von vernetztem β -Amyloid erfolgen [23].

Die spezifische Aktivität von Alteplase liegt bei ca. 80.000–90.000 E/mg Protein [12, 24]. Die Wirkung des Plasminogenaktivators wird physiologisch durch Inhibitoren kontrolliert, der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I (PAI-1) stellt dabei den wesentlichen Gegenspieler des Gewebe-Plasminogen-Aktivators dar [15, 16]. Durch Bindung von PAI-1 an die leichte Teilkette des t-PA-Moleküls wird die Struktur des katalytischen Zentrums so verändert, daß keine Aktivierungsreaktion mit dem Plasminogen mehr erfolgen kann [25–27]. Der Gewebe-Plasminogen-Aktivator wird rasch über die Leber metabolisiert [28]. Insbesondere bei Leberinsuffizienz des Patienten ist mit einer Verlängerung der Plasma-Halbwertszeit der Substanz zu rechnen, welche bei gesunden Probanden und bei Patienten mit akutem Herzinfarkt mit 4–9 min. bestimmt wurde [29–32].

Klinische Ergebnisse

Der Gewebe-Plasminogen-Aktivator wurde in *in vitro* Modellen [14, 33, 34] ebenso wie in zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen im Vergleich zu Streptokinase und Urokinase erprobt [35–39]. Im Gegensatz zu Streptokinase weist er eine strenge Dosisabhängigkeit der thrombolytischen Wirkung auf. Erst bei hohen Dosen verliert der Plasminogen-Aktivator einen Teil seiner Fibrinspezifität, wobei es zur systemischen Aktivierung bis hin zum vollständigen Verbrauch von Plasmin kommt [40] (Plasminogen Steal).

In dem effektivsten von der FDA zugelassenen Dosisregime zur Thrombolyse des akuten Herzinfarktes (Neuhaus-Regime) [41, 42] werden heute 15 mg Alteplase als Bolus gegeben, woraufhin eine kontinuierliche 30minütige Infusion von 50 mg Alteplase erfolgt. In der darauffolgenden Stunde werden weitere 35 mg Alteplase kontinuierlich infundiert. Mit diesen Dosen werden Blutspiegel des Gewebe-Plasminogen-Aktivators erzeugt, die um den Faktor 10^2 bis 10^3 über den physiologischen Konzentrationen liegen. Unter diesen Dosen tritt bereits ein partieller Verlust der Fibrinspezifität auf [42, 45–49]. Insbesondere bei Lyseprotokollen, die lange Infusionszeiten vorsehen, muß daher mit einem weitgehenden Verlust der Fibrinspezifität gerechnet werden. Aus klinischen Studien ergeben sich jedoch auch Hinweise, daß durch weitere Optimierungen der Dosisregime des Gewebe-Plasminogen-Aktivators die thrombolytische Effizienz der Substanz noch weiter gesteigert werden kann [43, 44].

Die thrombolytische Überlegenheit des Gewebe-Plasminogen-Aktivators (Alteplase) kann nach Vorliegen der Er-

gebnisse der GUSTO-Studie als hinreichend belegt gelten [50, 51]. Dieser thrombolytische Vorteil wird jedoch durch eine leicht erhöhte Rate an intrazerebralen Blutungen erkauft. Es muß offen bleiben, ob die der Fibrinstimulation vergleichbare Stimulation der Plasminogen-Plasmin-Konversion durch Gewebe-Plasminogen-Aktivator durch vernetztes β -Amyloid, wie es beispielsweise bei der zerebralen Amyloid-Angiopathie und der Alzheimer Erkrankung gefunden wird [52–54], als ein Substanz-spezifischer Mechanismus an der Erhöhung der zerebralen Blutungsrate mitwirkt [23].

r-PA (Reteplase)

Pharmakologische Eigenschaften

Die rasche Elimination des Gewebe-Plasminogen-Aktivators aus dem Blut erfolgt durch Metabolismus in der Leber [28]. Sie setzt die Rezeptorbindung des t-PAs am Kringel 1 voraus [55]. Die Deletion des Kringels 1 aus der Substanz, insbesondere wenn sie gemeinsam mit der Fingerdomäne erfolgt, eröffnet somit die Möglichkeit, die Plasma-Halbwertszeit wesentlich zu beeinflussen. Reteplase ist eine solche Deletionsmutante des Gewebe-Plasminogen-Aktivators, bei der die Aminosäuren 4-176 des Muttermoleküls deletiert wurden [56]. Es entsteht dabei eine Deletionsmutante mit einer Kettenlänge von 355 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 39.000 D. Gegenüber dem nativen Gewebe-Plasminogen-Aktivator fehlt ihr neben dem Kringel 1 auch die Finger- und die epidermale Wachstumsfaktor-Domäne.

In Abwesenheit von Fibrin weisen Reteplase und t-PA ungefähr vergleichbare kinetische Konstanten auf [57]. In Anwesenheit von Fibrin wird die fibrinolytische Wirkung von Reteplase um den Faktor 25–35, die der Alteplase um den Faktor 40–55 gesteigert [57, 58]. Auf äquipotente Lyseverhältnisse bezogen ist die spezifische Aktivität der Reteplase gegenüber Alteplase um mindestens den Faktor 4 vermindert. Aufgrund der deutlich verlängerten Halbwertszeit (11–14 min) [24, 59, 60] kommt dieser Aktivitätsverlust *in vivo* nicht zum Tragen. Die Inaktivierung beider Substanzen durch den Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I erfolgt dabei in gleicher Weise und in gleichem Umfang wie bei der Muttersubstanz [57]. Reteplase wird überwiegend durch die Niere ausgeschieden, während der Lebermetabolismus nur eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint [59].

Klinische Ergebnisse

Aufgrund der derzeit vorliegenden Ergebnisse wird eine Dosis von 2 Boli von je 10 arbiträren Einheiten ($\approx$ 3,6 mg) in 30minütigem Abstand empfohlen [61, 62]. Mit Reteplase lassen sich vergleichbare oder geringfügig bessere und schnellere Offenheitsraten als mit den Kontrollsubstanzen Streptokinase oder Alteplase erzielen [61–63]. Gegenüber der Alteplase muß jedoch ein erheblich höherer systemischer Effekt mit Verbrauch von α -2-Antiplasmin, Plasminogen und Fibrinogen in Kauf genommen werden. Die Thrombolyse mit Reteplase erfordert die gleichzeitige Gabe von hochdosiertem intravenösem Heparin [64, 65]. Zwischenzeitlich liegen die Ergebnisse der GUSTO III Studie vor, in der Reteplase die Infarktsterblichkeit im Vergleich zu Alteplase nicht senken konnte [66].

Lanoteplase (nPA)

Pharmakologische Eigenschaften

Lanoteplase stellt wie Reteplase eine Deletionsmutante des Gewebe-Plasminogenaktivators dar. Im Vergleich zu Alteplase fehlt der Lanoteplase die Finger- und die epider-

male Wachstumsfaktor-Domäne [67]. Durch diese Deletion wird die Bindung an die Rezeptoren der Leber wesentlich vermindert und die Halbwertszeit auf ca. 37 min. verlängert [68].

Klinische Ergebnisse

Die InTIME I Studie stellt eine Dosisfindungsstudie dar, in der die Patency-Raten 60 und 90 Minuten nach einmaliger Bolusgabe von 15, 30, 60 oder 120 kU/kg Lanoteplase im Vergleich zu Alteplase (nach dem GUSTO-Regime verabreicht) getestet wurde. Die adjuvante Therapie bestand aus Aspirin sowie aPTT adjustiertem intravenösem Heparin. Die TIMI III Patency-Rate stieg dabei dosisabhängig von 24 % auf 47 % (Alteplase 37 %) nach 60 Minuten an. Nach 90 Minuten wiesen 57 % der mit 120 kU/kg Lanoteplase, aber nur 46 % der mit 100 mg Alteplase behandelten Patienten eine TIMI III Patency-Rate im infarktbezogenen Koronargefäß auf ($p = 0,11$) [69]. Die Blutungsraten waren dabei mit beiden Substanzen vergleichbar (Lanoteplase 5 % vs. Alteplase 11 %; n.s.), schwerwiegende Blutungen wurden nicht beobachtet. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde zwischenzeitlich eine große, multizentrische, randomisierte Mortalitätsstudie durchgeführt, die InTIME II Studie, die einen singulären Bolus Lanoteplase mit dem GUSTO-Alteplase-Regime vergleicht. Die Patientenrekrutierung in diese Studie ist zwischenzeitlich abgeschlossen, die Ergebnisse stehen jedoch noch aus.

TNK Variante des Gewebe-Plasminogen-Aktivators (rt-PA-TNK)

Pharmakologische Eigenschaften

Durch gerichtete Mutagenese lassen sich spezifische Varianten des nativen Plasminogenaktivators erzeugen, die sich nur in einzelnen Aminosäuren von der Muttersubstanz unterscheiden. Auf diesem Wege können die Eigenschaften des Gewebe-Plasminogen-Aktivators gezielt modifiziert werden. Durch drei gerichtete Mutationen an der Bindungsstelle des Plasminogen-Aktivator-Inhibitors einerseits und an der Bindungsstelle, über die t-PA an die Leberzellen bindet, ist die TNK-Mutante des t-PA entstanden [70]. Die im Vergleich zum nativen Gewebe-Plasminogen-Aktivator auf das Doppelte erhöhte katalytische Aktivität und die zusätzlich auf ein Zehntel verminderte PAI-Inaktivierbarkeit bewirken, daß die TNK-Variante eine 100fach erhöhte katalytische Konversionskonstante k_{cat}/K_m aufweist [70]. Darüber hinaus weist sie eine auf 15–19 Minuten verlängerte Plasmahalbwertszeit auf [71]. Dies alles bewirkt, daß sich die TNK-Mutante ebenso wie Lanoteplase zur einmaligen Bolusapplikation bei Infarktpatienten eignet.

Klinische Ergebnisse

In einer ersten Pilotuntersuchung zeigte die TNK-Mutante eine erstaunlich hohe Fibrinselektivität [71]. Erste Daten zum Einsatz bei Patienten mit akutem Herzinfarkt zeigten die besten Ergebnisse bei der Applikation eines Doppelbolus von insgesamt 2 mg/kg KG im Abstand von 30 Minuten [72]. Unter diesem Regime kam es nicht zu verstärkten Blutungen. Die TIMI IXa Studie stellt eine systematische Dosisfindungsstudie für die TNK-Mutante bei Infarktpatienten dar [73]. In dieser Studie zeigten Dosen von 30 bis 50 mg – als Einmalbolus gegeben – konstant TIMI III Koronarflußraten in den infarktbezogenen Koronargefäßen nach 90 Minuten bei über 50 % der Patienten. Die nachfolgende ASSENT Studie hat zwei TNK-Dosen (30 mg und 50 mg) jeweils als Einmalbolusgabe mit Alteplase (nach dem GUSTO Regime gegeben) verglichen. Erhöhte intrazerebrale Blutungsraten mit der höheren Dosis der TNK-Mutante haben jedoch im Verlauf der Studie eine Dosis-

reduktion in dieser Gruppe auf 40 mg erforderlich gemacht. Zwischenzeitlich konnte die Patientenrekrutierung der ASSENT Studie beendet werden, die Auswertung der Daten ist jedoch bisher noch nicht vorgestellt worden.

Andere Plasminogenaktivatoren

Pro-Urokinase (scu-PA; Saruplase)

Pharmakologische Eigenschaften

Wie der Gewebe-Plasminogen-Aktivator ist der einkettige Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ eine Substanz, der eine physiologische Rolle im menschlichen Organismus zukommt [15], wenngleich diese bis heute noch nicht vollständig verstanden wird. Pro-Urokinase ist ein aus 411 Aminosäuren aufgebautes Protein, das ein Molekulargewicht von ca. 54.000 D aufweist [74–77]. Darüber hinaus existiert eine niedermolekulare Form mit einer Kettenlänge von 276 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 32.000 D, welche aus der hochmolekularen Form durch limitierte Proteolyse hervorgeht [74, 78, 79], und bei der die epidermale Wachstumsfaktor-Domäne und die Kringle-Domäne deletiert sind. Im übrigen weist die niedermolekulare Form der Pro-Urokinase jedoch ähnliche pharmakologische Eigenschaften wie die hochmolekulare Form auf. Beide molekularen Formen der Pro-Urokinase sind, solange sie als einkettige Substanzen vorliegen, im Plasma weitgehend inaktiv, durch limitierte Proteolyse werden diese inaktiven Formen in Urokinase überführt [53, 80–82]. In dieser Form entfaltet Pro-Urokinase ihre fibrinolytische Wirkung. 1 mg der Reinsubstanz weist nach Aktivierung eine spezifische Aktivität von 170.000 Urokinase Einheiten auf [83, 84]. Pro-Urokinase wird durch die Leber rasch metabolisiert und ausgeschieden [85]. Die Ausscheidung der Substanz aus dem Blut erfolgt mit einer Plasmahalbwertszeit von ca. 7–8 min [86, 87]. Die hohe Abhängigkeit der Substanz von der Metabolisation und der Ausscheidung durch die Leber läßt eine Kumulation bei Patienten mit schwerer Leberinsuffizienz erwarten.

Klinische Ergebnisse

Pro-Urokinase wurde bisher vorwiegend bei Patienten mit akutem Herzinfarkt erprobt. Zwei unterschiedliche Strategien kamen bisher zur Anwendung: Die Präaktivierung mittels niedrigen t-PA- [88] oder Urokinase-Dosen [17, 89–93] und der hochdosierte Einsatz ohne Präaktivierung [83, 84, 94]. Beide Therapiewege sind ganz wesentlich von einer begleitenden hochdosierte Heparin-Therapie abhängig [92, 94]. Die niedrig dosierten, präaktivierten Dosisregime haben in Pilotstudien beim akuten Herzinfarkt der Therapie mit Gewebe-Plasminogenaktivatoren vergleichbare Offenheitsraten bei einer vergleichbaren Fibrinspezifität erbracht [89–91, 95]. Dieser Therapieansatz ist zwischenzeitlich jedoch wieder verlassen worden. Am weitesten entwickelt ist ein Thrombolyse-Regime, das 80 mg Pro-Urokinase (20 mg Bolus plus 60 mg, die über 60 Minuten infundiert werden) ohne Präaktivierung einsetzt. Durch dieses Dosisregime werden günstigere Offenheitsraten als mit Streptokinase erreicht [146], jedoch muß ein zwar verzögert einsetzender, jedoch nicht weniger vollständiger Verbrauch von Plasminogen, alpha-2-Antiplasmin und Fibrinogen in Kauf genommen werden. Die Ursache für diesen hohen systemischen Effekt liegt darin begründet, daß die Pro-Urokinase auch *in vivo* langsam in Urokinase überführt wird [96]. Diese Ergebnisse werden zwischenzeitlich durch weitere, multizentrische und randomisierte Untersuchungen unterstützt, in denen Pro-Urokinase im Vergleich zu Streptokinase oder Alteplase getestet wurde [97–99]. Pro-

Urokinase scheint sich darüber hinaus trotz der kurzen Halbwertszeit für den Einsatz als Einmalbolus-Regime zu eignen [100].

Staphylokinase

Pharmakologische Eigenschaften

Neben einigen Streptokokken-Stämmen verfügen auch selektierte Staphylokokken-Arten über ein Enzymsystem mit Plasminogen-aktivierenden Eigenschaften: die Staphylokinase [101]. Staphylokinase konnte erst kürzlich als ein 163 Aminosäuren langes Protein mit einem Molekulargewicht von 16.500 D [102, 103] isoliert und rekombinant hergestellt werden [102]. Ähnlich der Streptokinase vermag Staphylokinase Plasminogen nicht in einer direkten katalytischen Reaktion zu aktivieren [104]. Staphylokinase formt mit Plasminogen einen 1:1 Komplex, welcher in einer Folgereaktion weitere Plasminogenmoleküle zu Plasmin aktivieren kann. In der Abwesenheit von Fibrin ist Staphylokinase nicht in der Lage, die Konversion von Plasminogen zu Plasmin zu katalysieren [104]. Die außerordentliche Fibrinspezifität der Staphylokinase wird von Lijnen durch einen direkten inhibitorischen Effekt des Alpha-2-Antiplasmin auf den Plasminogen-Staphylokinase-Komplex erklärt [104]. Die pharmakokinetische Analyse bei Patienten ergab für Staphylokinase eine Halbwertszeit von 6 min [105]. Die Elimination erfolgt überwiegend renal [105]. Hieraus geht hervor, daß Staphylokinase mutmaßlich nicht als Bolusapplikation gegeben werden kann.

Klinische Ergebnisse

In ersten Pilotuntersuchungen wurde Staphylokinase erfolgreich für die Thrombolysetherapie des akuten Herzinfarktes eingesetzt [106]. Bei den ersten 10 Patienten, die mit einer 30minütigen Infusion von 10 mg rekombinanter Staphylokinase behandelt wurden, gelang die vollständige Rekanalisation (TIMI III) bei 8 Patienten, ohne daß ein systemischer Begleiteffekt beobachtet wurde [106]. In einer randomisierten Phase-II-Studie wurden daraufhin 10 mg und 20 mg Staphylokinase als 30minütige Dauerinfusion im Vergleich zu Alteplase (akzeleriertes Dosisschema nach Neuhaus) an 100 Patienten erprobt [107]. Bei mit Staphylokinase und Alteplase vergleichbaren Offenheitsraten war die Wirkung der Staphylokinase insofern bemerkenswert, als ihre Wirkung durch eine besonders schnelle Eröffnungs-kinetik gekennzeichnet ist. Auch unter der erhöhten Staphylokinasedosis wurde kein verstärkter systemischer fibrinolytischer Effekt beobachtet.

Als Fremdprotein trägt Staphylokinase die Möglichkeit der Immunogenität in sich. Tatsächlich wird bei der überwiegenden Zahl der Patienten, die mit Staphylokinase behandelt wurden, nach einer Latenzphase von 10–12 Tagen die Entwicklung von Antikörpern gegen Staphylokinase beobachtet [108, 109]. Diese Antikörper bleiben für mindestens 7 Monate im Blut nachweisbar. Staphylokinase stellt somit einen neuen, nicht physiologischen Plasminogen-Aktivator dar, der sehr günstige Eigenschaften aufzuweisen scheint. Diese machen die Fortführung der klinischen Prüfung in hohem Maße erstrebenswert. Bevor nicht andere Ergebnisse vorliegen, wird die Staphylokinase jedoch auf eine einmalige Kurzzeitanwendung beschränkt bleiben.

Plasminogen-Aktivator der Vampirfledermaus (DSPA Alpha-I)

Pharmakologische Eigenschaften

Bei dem Plasminogen-Aktivator der Fledermaus handelt es sich um ein Gemisch von vier strukturell nahe verwandten Proteinen [110]. Obwohl von unterschiedlichem Ur-

sprung, weisen der Gewebe-Plasminogenaktivator und der Plasminogenaktivator der Vampirfledermaus eine sehr hohe > 70%ige strukturelle Homologie auf. Trotz dieser hohen strukturellen Ähnlichkeit unterscheiden sich die Plasminogen-Aktivatoren der Vampirfledermaus ganz grundsätzlich von den endogenen Plasminogen-Aktivatoren t-PA und Pro-Urokinase, als sie für ihre Aktivierung nicht in eine zweikettige Form überführt werden müssen [21]. Somit ist DSPA der einzige Plasminogen-Aktivator, der ausschließlich in der einkettigen Form wirksam ist. Anders als der Gewebe Plasminogenaktivator ist der Plasminogenaktivator der Vampirfledermaus im Blut nahezu inert, durch Fibrin wird seine Aktivität jedoch um den Faktor 100.000 gesteigert [56]. Somit verfügt DSPA alpha 1 im Vergleich zum Gewebe-Plasminogen-Aktivator über eine ca. 100fach höhere Fibrinspezifität. Die Gewinnung der Substanz erfolgt heute mittels Biotechnologie aus COS-1 Zellen [110, 111].

Präklinische Ergebnisse

In den präklinischen Thrombose-Modellen an Ratten, Hunden, Kaninchen und Primaten [112–116] bestätigt die Substanz ihre überlegenen thrombolytischen Eigenschaften. In äquimolaren Dosen verabreicht, ruft DSPA-alpha-1 im Gegensatz zu t-PA keinerlei systemischen thrombolytischen Effekt hervor. Die Eröffnung der Gefäße erfolgt im Gegensatz zu t-PA in der Regel dauerhaft, Reokklusionen werden während der Untersuchungszeit nur in Ausnahmefällen beobachtet [112]. In Blutungsmodellen zeigte sich eine deutliche Verlängerung der Blutungszeit bei den behandelten Tieren. Diese ist vergleichbar mit der Blutungszeit-Verlängerung, wie sie durch t-PA hervorgerufen wurde [113, 117]. Die Blutungen sind jedoch in der Regel mild und im Gegensatz zu t-PA nur von vorübergehender Natur. Ob DSPA-alpha-1 tatsächlich einen günstigen Effekt auf die Anzahl der Blutungen nach Thrombolysetherapie hat, kann jedoch erst in großen Untersuchungen an einer Vielzahl von Patienten geklärt werden.

Die pharmakokinetischen Eigenschaften von DSPA-alpha-1 wurden in einer Probandenstudie an 8 Probanden mit Dosen zwischen 0,03 und 0,05 mg/kg Körpergewicht ermittelt. Die dominante Halbwertszeit wurde mit 2,8 h ermittelt [118]. Diese lange Halbwertszeit läßt erwarten, daß mit DSPA-alpha-1 eine Therapie mittels einer Einmaldosierung durch Bolusapplikation möglich ist. Somit scheint DSPA-alpha-1 alle günstigen Eigenschaften der Staphylokinase und der TNK-Variante des t-PA auf sich zu vereinen. Zwischenzeitlich liegen Erfahrungen bei sechs Patienten mit akutem Herzinfarkt vor, bei denen die Thrombolysetherapie mit 0,5 mg/kg als Einmalbolus durchgeführt wurde (Gulba et al., unveröffentlichte Ergebnisse). Vier der sechs so behandelten Patienten wiesen bei der Angiographie nach 90 Minuten einen TIMI III Blutfluß im infarktbezogenen Koronargefäß auf. Andererseits wurden auch zwei schwere Blutungsnebenwirkungen (davon eine intrakranielle Blutung) bei diesen Patienten beobachtet. Als nicht humanes Protein kann DSPA-alpha-1 als Antigen fungieren und somit prinzipiell trotz der hohen Homologie mit dem Gewebe-Plasminogenaktivator die Bildung von Antikörpern hervorrufen. Eine solche Antikörperbildung ist jedoch bisher bei keinem der behandelten Patienten oder Probanden beobachtet worden.

Adjuvante Therapien

Die Auflösung der Koronarthromben verläuft in der Regel inkomplett, so daß am Ort des ursprünglichen Koronarverschlusses mehr oder weniger ausgedehnte Residualthromben zurück bleiben [119]. Diese können den koronaren

Blutfluß behindern oder neue Apositionsthromben hervorrufen und damit zum frühen Reverschluß führen [120–122]. Darüber hinaus wird mit der Infusion der Thrombolytika das hämostatische Gleichgewicht erheblich zugunsten einer thrombophilen Gerinnungslage gestört [123–129], welche die Patienten zusätzlich zur Reokklusion prädisponiert [123–127]. Um der Reokklusion zu begegnen, wurden die Patienten lange Zeit der frühen Koronarangioplastie zugeführt. Drei große, multizentrische, randomisierte Studien haben diese Frage aufgegriffen und in randomisierter Weise die Prognose der Patienten mit Frühangioplastie mit jener von Patienten verglichen, die konservativ behandelt wurden [130–132]. In keiner dieser Studien konnte ein Vorteil zugunsten der frühen Intervention gezeigt werden.

Die Reokklusionsprophylaxe zielt heute im allgemeinen ausschließlich auf die Verminderung der lokalen Prokoagulation im Infarktgefäß. Da eine konsequente Überwachung der spezifischen Gerinnungsindikatoren (z. B. TAT, F₁₊₂, FPA) [123–127, 129] weder technisch noch finanziell durchführbar erscheint, spielt ein gezieltes Gerinnungsmonitoring zur Erkennung thrombophiler Konstellationen bei der Reokklusionsprophylaxe heute (noch) keine wesentliche Rolle. Statt dessen muß man sich im allgemeinen auf eine standardisierte medikamentöse Reokklusions-Präventionsstrategie verlassen. Dies legt die Verbesserung der adjuvanten Thrombolysetherapie nahe. Hier bieten sich zwei gänzlich unterschiedliche Ansatzpunkte an: a) ein wirksamerer Eingriff in die Gerinnungskaskade und b) eine wirksame Unterbindung der Plättchenaggregation. Beide Ansatzpunkte sind heute Gegenstand intensiver Forschungsbemühungen.

Neue Antikoagulantien: Hirudin

Pharmakologische Eigenschaften

Thrombin ist das Schlüsselenzym der Gerinnungskaskade und stellt somit ein attraktives Ziel der antithrombotischen Therapie dar. Hirudin ist eine aus Blutegeln gewonnene Substanz, die ein Molekulargewicht von ca. 17.000 D aufweist und die eine monoselektive inhibitorische Spezifität für Thrombin besitzt [133–135]. Sie stellt einen reversiblen Thrombininhibitor mit hoher Spezifität und kurzer Halbwertszeit von 4–7 Minuten dar, der heute in großen Mengen mittels rekombinanter Technologie hergestellt werden kann.

Klinische Ergebnisse

Hirudin wurde in Pilotstudien in Kombination mit Streptokinase (TIMI 6 und HIT-SK) [136, 137] und rt-PA (TIMI 5) [138] eingesetzt. Aufgrund der verheißungsvollen Ergebnisse der TIMI 5 und 6 Studien sind drei große multizentrische Studien initiiert worden, bei denen Hirudin in hohen Dosen (0,6 mg/kg als i.v. Bolus plus 0,2 mg/kg pro h als i.v. Dauerinfusion) im Vergleich zu einer konventionellen intravenösen Heparin-Therapie (aPTT 60–90 sec) in Kombination mit Thrombolytika (Streptokinase oder rt-PA) geprüft wurden (TIMI-9A, GUSTO 2A und HIT-3) [139–141]. Bereits nach Einschluß eines Bruchteiles der Zielpopulation ist in diesen Studien eine deutlich erhöhte intrazerebrale Blutungsrate offenbar geworden. Die Fortsetzung dieser Studien mit niedrigeren Hirudin-Dosen (0,1 mg/kg als i.v. Bolus plus 0,1 mg/kg pro h als i.v. Dauerinfusion) hat dann nur noch eine grenzwertige Überlegenheit von Hirudin gegenüber Heparin zeigen können (8,9 % vs. 9,8 %, kumulative Endpunkte: Tod, (Re-) Infarkt oder erneute Intervention; $p = 0,06$) [142]. Demgegenüber scheinen mit intermediären Hirudindosen, wie sie in der OASIS-Pilotstudie angewendet wurden, günstigere Ergebnisse als mit Heparin

erreichbar (Kumulative Endpunkte: Heparin 6,5 % vs. 3,0 % mit intermediären Hirudindosen, $p = 0,047$). Diese Ergebnisse werden durch die OASIS II-Studie bestätigt (S. Yusuf, Vortrag anlässlich des European Congress of Cardiology, Wien, 1998).

Neue Plättchen-Hemmstoffe

Acetyl-Salicylsäure vermag ebenso wie andere Plättchen-Aggregationshemmer nur in einen einzelnen Aktivierungsmechanismus der Plättchen einzugreifen, nicht aber die Plättchenaggregation zu unterbinden. Darüber hinaus können andere Agonisten als Thromboxan z. B. Kollagen, ADP und/oder Thrombin trotz ausreichender Blockade der Thromboxansynthese eine unverminderte Aktivierungs- und Adhäsionsreaktion hervorrufen [143, 144]. Die Plättchenadhäsion wird dabei von spezifischen Rezeptoren vermittelt, die sich auf der Zelloberfläche befinden, darunter auch der Fibrinogenrezeptor (GP IIb/IIIa) [144–147]. Im Verlauf der Aktivierung werden auch diese Fibrinogen-Rezeptoren an der Plättchenmembran aktiviert [144, 147–149] und können dann Fibrinogen binden. Fibrinogen als in großer Menge im Blut vorhandenes divalentes Molekül kann in der Folge an Fibrinogen-Rezeptoren von zwei Plättchen binden und so die Vernetzung von Plättchen bewirken (Aggregationsreaktion). Diese Aggregationsreaktion ist die pathogenetische Ursache für die Entstehung von arteriellen Thromben. Die Blockade der Plättchen-Fibrinogen-Rezeptoren stellt somit ein attraktives Ziel zur Vermeidung von Reokklusionen dar.

Bereits 1985 wurde von Collier ein Antikörper gegen den Plättchenrezeptor GP IIb/IIIa entwickelt und erfolgreich im Tiermodell zur Blockade der Aggregationsreaktion der Plättchen eingesetzt [150]. Auf diese Untersuchungen aufbauend sind zwischenzeitlich chimäre (humanisierte) Fab'-Antikörper (c7E3) entwickelt worden, die erfolgreich bei akuten koronaren Syndromen (akuter Herzinfarkt, instabile Angina pectoris und Risiko-PTCA) eingesetzt wurden [151–155]. Da die Fibrinogen-bindende Sequenz dieser Rezeptoren als das Tripeptid Arginin-Glycin-Asparagin identifiziert werden konnte, kann prinzipiell jede Substanz, die diese Bindungssequenz simuliert, an den GP IIb/IIIa-Rezeptor binden und diesen ebenfalls blockieren (z. B. Peptide: Eptifibatide, oder Peptidanaloga: Tirofiban). In Tiermodellen vermag die Kombination der rt-PA Lyse mit diesen Plättchen-Fibrinogenrezeptor-Antagonisten nicht nur die Reperfusion zu beschleunigen, sondern die Reperfusionsdauer auch substantiell zu verlängern [156]. Klinische Pilotstudien der Kombination von rt-PA mit diesen Substanzen haben ebenfalls vielversprechende Ergebnisse hervorgebracht [157, 158].

GP IIb/IIIa Rezeptorenblocker vom Antikörpertyp (c7E3, abciximab)

Pharmakologische Eigenschaften

Das c7E3 Fab Antikörperfragment (abciximab), bindet mit hoher Bindungsenergie an die β_3 -Glykoprotein-Komponente des Fibrinogenrezeptors. Hierzu ist kaum ein molarer Überschuß im Plasma erforderlich, um eine weitgehende Sättigung des Rezeptors zu erreichen. In tierexperimentellen Thrombose-Modellen konnte gezeigt werden, daß erst die > 80 %ige Blockade des GP IIb/IIIa-Rezeptors eine zuverlässige Thrombosehemmung bewirkt. Um eine initiale Sättigung von im Mittel > 80 % aller GP IIb/IIIa Rezeptoren bei den meisten Patienten zu erreichen, wird heute eine Dosierung von 0,25 mg/kg initial als Bolus sowie eine ca. 12 stündige Erhaltungsinfusion von 10–12,5 µg/min

empfohlen. Die initiale Halbwertszeit von abciximab (c7E3 Fab) ist mit initial < 30 min relativ kurz [159]. Diese Halbwertszeit beruht auf der raschen Bindung an die Plättchen. Die renale Elimination des frei zirkulierenden Antikörpers erfolgt hingegen mit einer Halbwertszeit von Stunden. Bei akzidenteller Überdosierung von abciximab muß daher mit einer Verlängerung der Aggregationshemmung gerechnet werden. Demgegenüber bedingt die lange Residenzzeit auf den Plättchen, daß die Plättchen-Aggregationshemmung trotz der initial kurzen Plasmahalbwertszeit von abciximab nur sehr langsam abklingt [160]. Auch danach ist noch über mehrere Tage (bis zu 15 Tagen) mit einer partiellen Plättchenblockade zu rechnen [161].

Klinische Ergebnisse

In der EPIC-Studie wurde das Risiko einer Hochrisiko-Koronarangioplastie durch die Gabe von abciximab als Bolus plus 12 stündige Erhaltungsinfusion um 35 % gesenkt [162]. Der Nutzen der Therapie blieb über einen Nachbeobachtungszeitraum von bis zu drei Jahren in vollem Umfang erhalten [154, 163]. Aufgrund dieser positiven Ergebnisse wurde abciximab auch mit dem Ziel eingesetzt, die thrombolytische Therapie zu optimieren. In der SPEED Studie konnten die erforderlichen Reteplase-Dosen durch die Kombination mit abciximab halbiert werden (E. M. Ohman: Vortrag anlässlich der Jahrestagung der American Heart Association; Dallas, 1998). Ähnliche Ergebnisse wurden in der TIMI XIV Studie mit der Kombination von abciximab mit Alteplase erhalten [164]. Die besten Ergebnisse wurden dann erzielt, wenn die Alteplasedosis über einen Zeitraum von 60 Minuten gegeben wurde. Diese Effizienzsteigerung geht nicht zu Lasten erhöhter schwerwiegender hämorrhagischer Nebenwirkungen. Eine ähnliche Effizienzsteigerung durch Verlängerung des Infusionsplateaus wurde jedoch auch für Alteplase ohne begleitende Therapie mit einem GP IIb/IIIa Rezeptorantagonisten beschrieben [165]. Im Gegensatz hierzu ist die Kombination von abciximab mit Streptokinase weniger erfolgreich und mit einer wesentlichen Steigerung des hämorrhagischen Risikos behaftet. Aufgrund guter Erfahrungen auch bei „bail out“-Situationen während Koronarangioplastien ist abciximab darüber hinaus auch erfolgreich als Mittel zur Desaggregation von frischen Koronarthromben eingesetzt worden [164, 166]. Die so erreichbaren TIMI III Offenheitsraten erreichen jedoch allenfalls die Offenheitsraten, die mit Streptokinase erzielt werden. Abciximab kann somit bei diesen Patienten keinesfalls ein modernes Thrombolyse-Regime ersetzen.

GP IIb/IIIa Rezeptorenblocker vom Peptidtyp (Eptifibatide)

Pharmakologische Eigenschaften

Das zyklische Heptapeptid Eptifibatide (Integrilin®) ist ein kompetitiver, reversibler Hemmstoff der Plättchenaggregation. Zur Therapie wird heute die Gabe eines intravenösen Bolus von 180 µg/kg als Bolus mit einer Erhaltungsdosis von 2,0 µg/kg als konstante Dauerinfusion über 72–76 Stunden empfohlen. Die Elimination von Eptifibatide erfolgt renal mit einer Plasmahalbwertszeit von ca. 1 Stunde [167]. Bei einer vorhandenen Nierenfunktionsstörung ist daher eine Anpassung der Dosierung an die Rest-Clearance unbedingt erforderlich.

Klinische Ergebnisse

Wie abciximab ist auch Eptifibatide gemeinsam mit Alteplase zur Reperfusionstherapie des akuten Herzinfarktes eingesetzt worden. In der IMPACT-AMI Studie [168] wurde die TIMI III Offenheitsrate der infarktbezogenen Koronargefäße 90 Minuten nach Therapiebeginn im Ver-

gleich zur alleinigen Alteplasetherapie von 39 % auf 66 % erhöht ($p = 0,006$; Gesamtoffenheit TIMI II & III: 69 vs 87 %; $p = 0,01$).

GP IIb/IIIa Rezeptorenblocker vom Typ der niedermolekularen Peptidomimetika (Tirofiban)

Pharmakologische Eigenschaften

Die peptidomimetische Substanz Tirofiban (Agrastat®) stellt einen niedermolekularen, kompetitiven, reversiblen Hemmstoff der Plättchenaggregation dar. Zur Therapie wird heute eine Dosierung von 0,4 µg/kg/min über 30 Minuten mit anschließender Erhaltungsinfusion von 0,1 µg/kg/min empfohlen. Die Elimination von Tirofiban aus der Zirkulation erfolgt zu etwa gleichen Teilen renal und hepatisch mit einer Plasmahalbwertszeit von ca. 1,5 Stunden [169]. Trotz der bi-modalen Elimination muß bei schwerer renaler Insuffizienz eine Dosisanpassung erfolgen.

Klinische Ergebnisse

Für Tirofiban liegen bisher keine in großen Studien gewonnenen Ergebnisse zum Einsatz in der adjuvanten Thrombolysetherapie vor. Aufgrund der prinzipiellen Gleichartigkeit der Ergebnisse der unterschiedlichen GP IIb/IIIa Rezeptorantagonisten in ihren Standardindikationen (instabile Angina pectoris und periinterventionelle Prävention unerwünschter kardialer Ereignisse) kann jedoch auch für Tirofiban eine Wirkungsverstärkung der Alteplasetherapie angenommen werden.

Andere Ansätze der Reokklusionsprophylaxe

In den frühen randomisierten Studien zur Reokklusionsprävention war kein Vorteil für die Frühangioplastie der Infarktgefäße gesehen worden [130–132]. Seit Ende der 80er Jahre ist die Technik der Koronarangioplastie jedoch ganz wesentlich weiter entwickelt worden. Beispielsweise sind die Stents nach Einführung neuer Implantationstechniken nicht mehr mit dem hohen Risiko subakuter Thrombosen behaftet [170–173], auch dann nicht, wenn sie bei Rekanalisationen der Infarktgefäße von Patienten mit akutem Herzinfarkt eingesetzt werden [174]. Darüber hinaus sind wesentliche Fortschritte in der adjuvanten Therapie erreicht worden. So gehört heute die Hemmung der ADP-vermittelten Plättchenaktivierung mittels Ticlopidin in Kombination mit Acetyl-Salicylsäure zum unverzichtbaren Bestandteil der adjuvanten Therapie nach Stent-Implantation [170, 171]. Die verbesserte Plättchenhemmung dieser Kombinationstherapie sollte auch günstig zur Reokklusionsprophylaxe nach Thrombolysetherapie eingesetzt werden können. Mit den GP IIb/IIIa Plättchen-Rezeptorantagonisten könnte darüber hinaus das hohe Rethromboserisiko im unmittelbar perithrombolytischen Zeitraum nahezu vollständig aufgehoben werden [156–158]. Mit beiden Verfahren sollte auch die exazerbierte Prothrombose, die durch die Frühangioplastie und oder Thrombolyse hervorgerufen wird [125], vollständig beherrschbar sein. Dies alles könnte die Frühangioplastie heute möglicherweise wieder in das Zentrum der Entwicklung der begleitenden Therapien stellen.

Literatur:

1. DeWood MA, Spores J, Nortske R, Mouser LT, Burroughs R, Golden MS, Lang HT. Prevalence of total coronary occlusion during early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303: 897–902.
2. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. I. myocardial infarct size vs. duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977; 56: 786–94.
3. Gruppo italiano per lo studio della streptochinasi nell'infarto miocardico (GISSI). Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in myocardial infarction. *Lancet* 1986; II: 397–401.

4. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17 187 cases of suspected myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet* 1988; II: 349–60.
5. Gulba DC, Sosada M, Lichtlen PR. Intravenöse Thrombolysetherapie des akuten Herzinfarktes – Aktueller Stand 1992. *Hämostaseologie* 1992; 12: 73–81.
6. Topol EJ, Bell WR, Weisfeldt ML. Coronary thrombolysis with recombinant tissue-type plasminogen activator. A hematologic and pharmacologic study. *Ann Intern Med* 1985; 103: 837–43.
7. Claus G, Gulba DC. Unerwünschte Begleitwirkungen der Thrombolysetherapie. *Z Gesamte Inn Med* 1993; 48: 296–303.
8. Barthels M, Gulba D, Engel MJ. Systemic fibrinolysis as an effect of intracoronary thrombolysis. In: Davidson JF, Donati MB, Cocchieri S (eds). *Progress in fibrinolysis VII*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1985; 49–51.
9. Renkin J, Col-de Beys C, Lavenne-Pardonge E, Pintens H, Col J. analysis of coagulation and fibrinolysis after intravenous anisoylated plasminogen streptokinase activator complex or heparin in patients with acute myocardial infarction. A Belgian multicenter study. *Drugs* 1987; 33: 253–60.
10. Marder VJ, Sherry S. Thrombolytic therapy: current status (second of two parts). *N Engl J Med* 1988; 318: 1585–95.
11. Pennica D, Holmes WE, Kohr W, Harkins RN, Vehar GA, Ward CA, Bennett WF, Yelverton E, Seeburg PH, Heyneker HL, Goeddel DV, Collen D. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. *Nature* 1983; 301: 214–21.
12. Rijken DC, Collen D. Purification and characterization of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture. *J Biol Chem* 1981; 256: 7035–41.
13. Ny T, Elgh F, Lund B. The structure of human tissue-type plasminogen activator gene: correlation of intron and exon structures to functional and structural domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5355–9.
14. Rijken DC, Hoylaerts M, Collen D. Fibrinolytic properties of one-chain and two-chain human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator. *J Biol Chem* 1982; 257: 2920–5.
15. Bachmann F. Fibrinolysis. In: Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen R, Arnout J (eds). *Thrombosis and Haemostasis* 1987. University Press Leuven, 1987; 227–65.
16. Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb Haemostas* 1980; 43: 77–89.
17. Bode C, Schönermark S, Schuler G, Zimmermann R, Schwarz F, Kübler W. Efficacy of intravenous pro-urokinase and a combination of pro-urokinase and urokinase in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988; 61: 971–4.
18. Rijken DC, Wijngaards G, Collen D. Tissue-type plasminogen activator from human tissue and cell cultures and its occurrence in plasma. In: Collen D, Lijnen HR, Verstraete M (eds). *Thrombolysis, biological and therapeutic properties of new thrombolytic agents*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1985; 15–30.
19. Hoylaerts M, Rijken DC, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin. *J Biol Chem* 1982; 257: 2912–9.
20. Zamarron C, Lijnen HR, Collen D. Kinetics of the activation of plasminogen by natural and recombinant tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1983; 259: 2080–3.
21. Bringmann P, Gruber D, Liese A, Toschi L, Krätzschar J, Schleuning W-D, Donner P. Structural features mediating fibrin selectivity of vampire bat plasminogen activator. *J Biol Chem* 1995; 270: 25596–603.
22. Williams GT, Neuberger MS. Production of antibody-tagged enzymes by melanoma cells: application to DNA polymerase I Klenow fragment. *Gene* 1986; 43: 319–24.
23. Kingston IB, Castro MJM, Anderson S. In vitro stimulation of tissue-type plasminogen activator by Alzheimer amyloid β -peptide analogues. *Nature Medicine* 1995; 1: 138–42.
24. Martin U, Fischer S, Kohnert U, Rudolph R, Sponer G, Stern A, Strein K. Coronary thrombolytic properties of a novel recombinant plasminogen activator (BM 06.022) in a canine model. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 18: 111–9.
25. Bennett WF, Paoni NF, Keyt BA, Botstein D, Jones AJS, Presta L, Wurm FM, Zoller MJ. High resolution analysis of functional determinants on human tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1991; 266: 5191–201.
26. Eastman D, Wurm FM, van Reis R, Higgins DL. A region of tissue plasminogen activator that effects plasminogen activation differentially with various fibrin(ogen)-related stimulators. *Biochemistry* 1992; 1: 419–22.
27. Paoni NF, Refino CJ, Brady K, Pena LC, Nguyen HV, Kerr EM, Johnson AC, Wurm FM, van Reis R, Botstein D, Bennett WF. Involvement of residues 296–299 in the enzymatic activity of tissue-type plasminogen activator. *Protein Engineering* 1992; 5: 259–66.
28. Emeis JJ, van den Hoogen CM, Jense D. Hepatic clearance of tissue-type plasminogen activator in rats. *Thromb Haemostas* 1985; 54: 661–4.
29. Tiefenbrunn AJ, Robison AK, Kurnik PB, Ludbrook PA, Sobel BE. Clinical pharmacology in patients with evolving myocardial infarction of tissue plasminogen activator produced by recombinant DNA technology. *Circulation* 1985; 71: 110–6.
30. Verstraete M, Bounameaux H, de Cock F, van de Werf F, Collen D. Pharmacokinetics and systemic fibrinolytic effects of recombinant human tissue-type plasminogen activator (rt-PA) in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 235: 506–12.
31. Verstraete M, Su CAPF, Tanswell P, Feuerer W, Collen D. Pharmacokinetics and effects on fibrinolytic and coagulation parameters of two doses of recombinant tissue-type plasminogen activator (rt-PA) in healthy volunteers. *Thromb Haemostas* 1986; 56: 1–5.
32. Tanswell P, Tebbe U, Neuhaus KL, Gläse-Schwarz L, Wojcik J, Seifried E. Pharmacokinetics and fibrin specificity of alteplase during accelerated infusions in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 1071–5.
33. Matsuo O, Rijken DC, Collen D. Comparison of the relative fibrinolytic, fibrinolytic and thrombolytic properties of tissue plasminogen activator and urokinase in vitro. *Thromb Haemostas* 1981; 45: 225–9.
34. Lijnen HR, Marafino BJ, Collen D. In vitro fibrinolytic activity of recombinant tissue-type plasminogen activator in the plasma of various primate species. *Thromb Haemostas* 1984; 52: 308–10.
35. Matsuo O, Bando H, Okada K, Tanaka K, Tsukada M, Iga Y, Arimura H. Thrombolytic effect of single-chain pro-urokinase in a rabbit jugular vein thrombosis model. *Thromb Res* 1986; 42: 187–94.
36. Matsuo O, Rijken DC, Collen D. Thrombolysis by human tissue plasminogen activator and urokinase in rabbits with experimental pulmonary embolus. *Nature* 1981; 291: 590–1.
37. Korninger G, Matsuo O, Suy R, Stassen JM, Collen D. Thrombolysis with human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator in dogs with femoral thrombosis. *J Clin Invest* 1982; 69: 573–80.
38. Collen D, Stassen JM, Verstraete M. Thrombolysis with human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator in rabbits with experimental jugular vein thrombosis. Effect of molecular form and dose of activator, age of the thrombus, and route of administration. *J Clin Invest* 1982; 71: 368–76.
39. Bergmann SR, Fox AA, Ter-Pogossian MM, Sobel BE, Collen D. Clot-selective coronary thrombolysis with tissue-type plasminogen activator. *Science* 1983; 220: 1181–3.
40. Sobel BA, Nachowiak DA, Fry ETA, Bergmann SR, Torr SR. Paradoxical attenuation of fibrinolysis attributable to “plasminogen steal” and its implication for coronary thrombolysis. *Coronary Artery Dis* 1990; 1: 111–9.
41. Neuhaus K-L, Feuerer W, Jeep-Tebbe S, Niederer W, Vogt A, Tebbe U. Improved thrombolysis with a modified dose regimen of recombinant tissue-type plasminogen activator. *JACC* 1989; 14: 1566–9.
42. Neuhaus K-L, von Essen R, Tebbe U, Vogt A, Roth M, Riess M, Niederer W, Forycki F, Wirtzfeld A, Maueur W, Limbourg P, Merx W, Haerten K. Improved thrombolysis in acute myocardial infarction with front-loaded administration of alteplase: results of the rt-PA APSAC patency study (TAPS). *JACC* 1991; 19: 885–91.
43. Purvis JA, McNeill AJ, Siddiqui RA, Roberts MJ, McClements BM, McEaney D, Campbell NP, Khan MM, Webb SW, Wilson CM, and the GREAT Study Group. Efficacy of 100 mg of double-bolus alteplase in achieving complete perfusion in the treatment of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 6–10.
44. Gulba DC, Dechend R, Hauck S, Osterziel KJ, Barthels M, Lichtlen PR, Dietz R. An accelerated “frontloaded” rt-PA thrombolysis regimen achieves higher TIMI III patency rates in acute myocardial infarction. *Fibrinolysis* 1994; 8 (Suppl. 1): 100 (Abstract).
45. Topol EJ, Califf RM, George BS, Kereiakes DJ, Rothbaum D, Candela RJ, Abbottsmith CW, Pinkerton CA, Stump DC, Collen D, Lee KL, Pitt B, Kline EM, Boswick JM, O'Neill WW, Stack RS, and the TAMI Study Group. Coronary arterial thrombolysis with combined infusion of recombinant tissue-type plasminogen activator and urokinase in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1988; 77: 1100–7.
46. Baron A, Loirand G, Pacaud P, Mironneau C, Mironneau J. Dual effect of thrombin on voltage-dependent Ca^{2+} channels of portal vein smooth muscle cells. *Circ Res* 1993; 72: 1317–25.
47. Eisenberg PR, Sobel BE, Jaffe AS. Characterization in vivo of the fibrin specificity of activators of the fibrinolytic system. *Circulation* 1988; 78: 592–7.
48. Smalling RW, Schumacher R, Morris D, Harder K, Fuentes F, Valentine RP, Batty LL, Merhige M, Pitts DE, Lieberman HA, Nishikawa A, Adyanthaya A, Hopkins A, Grossbard E. Improved infarct-related arterial patency after high dose, weight adjusted, rapid infusion of tissue-type plasminogen activator in myocardial infarction: results of a multicenter randomized trial of two dosage regimens. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 915–21.
49. Topol EJ, George BS, Kereiakes DJ, Candela RJ, Abbottsmith CW, Stump DC, Boswick JM, Stack RS, Califf RM, and the TAMI Study Group. Comparison of two dose regimens of intravenous tissue plasminogen activator for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988; 61: 723–8.
50. The GUSTO Angiographic Investigators. The effect of tissue plasminogen activator, streptokinase, or both on coronary-artery patency, ventricular function, and survival after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993; 329: 1615–22.

51. The GUSTO Investigators. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993; 329: 673–82.
52. Gurewich V, Pannell R. Inactivation of single-chain urokinase (pro-urokinase) by thrombin and thrombin-like enzymes: relevance of the findings to the interpretation of fibrin-binding experiments. *Blood* 1987; 67: 769–72.
53. Binnema DJ, Dooijewaard G, Turion PNC. An analysis of the activators of single-chain urokinase-type plasminogen activator (scu-PA) in the dextran sulphate euglobulin fraction of normal plasma and of plasmas deficient in factor XII and prekallikrein. *Thromb Haemostas* 1991; 65: 144–8.
54. Lijnen HR, de Wreede K, Demarsin E, Collen D. Biological and thrombolytic properties of preenzyme and active forms of human urokinase – IV. Variability in fibrinolytic response of plasma of several mammalian species. *Thromb Haemostas* 1984; 52: 31–3.
55. Rijken DC, Otter M, Kuiper J, van Berkel TJC. Receptor-mediated endocytosis of tissue-type plasminogen activator (t-PA) by liver cells. *Thromb Res* 1990; Suppl. X: 63–71.
56. Martin U, Bader R, Böhm E, Kohnert U, von Möllendorf E, Fischer S, Sponer G. BM 06.022: a novel recombinant plasminogen activator. *Cardiovascular Drug Reviews* 1993; 11: 299–311.
57. Kohnert U, Rudolph R, Verheijen JH, Jacqueline E, Weening-Verhoeff D, Stern A, Opitz U, Martin U, Lill H, Prinz H, Lechner M, Gress G-B, Buckel P, Fischer S. Biochemical properties of the kringle 2 and protease domains are maintained in the refolded t-PA deletion variant BM 06.022. *Protein Engineering* 1992; 5: 93–100.
58. Martin U, Sponer G, Strein K. Differential fibrinolytic properties of the recombinant plasminogen activator BM 06.022 in human plasma and blood clot systems in vitro. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1992; 4: 235–42.
59. Martin U, Sponer G, Strein K. Influence of hepatic and renal failure on pharmacokinetic properties of the novel recombinant plasminogen activator BM 06.022 in rats. *Drug Metabol Disposition* 1993; 21: 236–41.
60. Martin U, Köhler J, Sponer G, Strein K. Pharmacokinetics of the novel recombinant plasminogen activator BM 06.022 in rats, dogs, and non-human primates. *Fibrinolysis* 1992; 6: 39–43.
61. Smalling RW, Bode C, Kalbfleisch J, Sen S, Limbourg P, Forycki F, Habib G, Feldman R, Hohnloser S, Seals A, and the RAPID Investigators. More rapid, complete, and stable coronary thrombolysis with bolus administration of reteplase compared with alteplase infusion in acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 91: 2725–32.
62. International Joint Efficacy Comparison of Thrombolytics. Randomised, double-blind comparison of reteplase double-bolus administration with streptokinase in acute myocardial infarction (INJECT): trial to investigate equivalence. *Lancet* 1995; 346: 329–36.
63. Bode C, Smalling RW, Berg G, Burnett C, Lorch G, Kalbfleisch JM, Chernoff R, Christie LG, Feldman RL, Seals AA, Weaver WD. Randomized comparison of coronary thrombolysis achieved with double-bolus reteplase (recombinant plasminogen activator) and front-loaded, accelerated alteplase (recombinant tissue plasminogen activator) in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1996; 94: 891–8.
64. Martin U, Fischer S, Sponer G. Influence of heparin and systemic lysis on coronary blood flow after reperfusion induced by the novel recombinant plasminogen activator BM 06.022 in a canine model of coronary thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 914–20.
65. Martin U, Sponer G, Strein K. Heparin and solutroban improve coronary blood flow after reperfusion induced by the novel recombinant plasminogen activator BM 06.022 in a canine model of coronary artery thrombosis. *Int J Hematol* 1992; 56: 143–53.
66. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO III) Investigators. A comparison of reteplase with alteplase for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1997; 337: 1118–23.
67. Larsen GR, Timony GA, Horgan PG, Barone KM, Henson KS, Angus LB, Stoudemire JB. Protein engineering of novel plasminogen activators with increased thrombolytic potency in rabbits relative to activase. *J Biol Chem* 1991; 266: 8156–61.
68. Smalling RW. Molecular biology of plasminogen activators: what are the clinical implications of drug design? *Am J Cardiol* 1996; 78 (suppl. 12): 2–7.
69. Kostis JB, Liao WC, Beierle FA, Ens GE, Tracy RP, Hauck CJ, Abbud ZA, Smith RA. Single bolus regimen of lanoteplase in acute myocardial infarction: hemostatic evaluation vs t-PA in the InTIME-I study. *Eur Heart J* 1998; 19 (suppl.): 160 (Abstract).
70. Paoni NF, Keyt BA, Refino CJ, Chow AM, Nguyen HV, Berleau LT, Badillo J, Pena LC, Brady K, Wurm FM, Ogez J, Bennett WF. A slow clearing, fibrin-specific, PAI resistant variant of t-PA (T103N, KHRP 296–299 AAAA). *Thromb Haemostas* 1993; 70: 307–12.
71. Cannon CP, Love TW, McCabe CH, Kirshenbaum JM, Henry T, Sequira R, Schweiger M, Breed J, Cutler D, Tracy R, for the TIMI 10 investigators. TNK-tissue plasminogen activator in myocardial infarction (TIMI) 10: results of the initial patients in the TIMI 10 pilot – a phase I, pharmacokinetics trial. *Circulation* 1995; 92 (suppl.): I-415 (Abstract).
72. Garabedian HD, Svizzero TA, Guerrero JL, Pena LC, Love TW, Leinbach RC, Gold HK. A new dosing strategy for TNK variant of tissue plasminogen activator eliminates heparin and reduces bleeding without loss of thrombolytic efficacy. *Circulation* 1995; 92 (suppl.): I-740 (Abstract).
73. Cannon CP, McCabe CH, Gibson M, Ghali M, Sequeira RF, McKendall GR, Breed J, Modi NB, Fox NL, Tracy RP, Love TW, Braunwald E, and the TIMI 10A Investigators. TNK-tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. Results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 10. A dose-ranging trial. *Circulation* 1997; 95: 351–6.
74. Holmes WE, Pennica D, Blaber M, Rey MW, Guenzler WA, Steffens GJ, Heyneker HL. Cloning and expression of the gene of pro-urokinase in *Escherichia coli*. *Bio/Technology* 1985; 3: 923–9.
75. Wun T-C, Schleuning W-D, Reich E. Isolation and characterization of urokinase from human plasma. *J Biol Chem* 1982; 257: 3276–83.
76. Wun T-C, Ossowski L, Reich E. A proenzyme form of human urokinase. *J Biol Chem* 1982; 257: 7262–8.
77. Husain SS, Gurewich V, Lipinski B. Purification and partial characterization of a single-chain high-molecular weight form of urokinase from human urine. *Arch Biochem Biophys* 1982; 220: 31–8.
78. Flohé L, Steffens GJ, Günzler WA, Ötting F, Heyneker H, Holmes WE, Rey M, Seeburg P, Hayflick J, Vehar G. Insight into biosynthesis of human urokinase forms. In: Davidson JF, Donati MB, Cocchieri S (eds). *Progress in fibrinolysis VII*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1985; 213–6.
79. Steffens GJ, Günzler WA, Hennies H-H, Henninger W, Kim S-MA, Ötting F, Frankus E, Blaber M, Winkler M, Flohé L. Molecular characterization of human low molecular mass urokinase obtained from recombinant *E. coli* bacteria. In: Davidson JF, Donati MB, Cocchieri S (eds). *Progress in fibrinolysis VII*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1985; 217–20.
80. Gurewich V, Pannell R, Louie S, Kelley P, Suddith RL, Greenlee R. Effective and fibrin-specific clot lysis by a zymogen precursor form of urokinase (pro-urokinase). A study in vitro and in two animal species. *J Clin Invest* 1984; 73: 1731–9.
81. Lijnen HR, Collen D. Stimulation by heparin of the plasmin mediated conversion of single-chain to two-chain urokinase type plasminogen activator. *Thromb Res* 1986; 43: 687–90.
82. Ichinose A, Fujikawa K, Suyama T. The activation of pro-urokinase by plasma kallikrein and its inactivation by thrombin. *J Biol Chem* 1986; 261: 3486–9.
83. PRIMI Trial Study Group. Randomised double-blind trial of recombinant pro-urokinase against streptokinase in acute myocardial infarction. *Lancet* 1989; I: 863–8.
84. Diefenbach C, Erbel R, Pop T, Mathey D, Schofer J, Hamm C, Ostermann H, Schmitz-Hübner U, Bleifeld W, Meyer J. Recombinant single-chain urokinase-type plasminogen activator during acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988; 61: 966–70.
85. Collen D, de Cook F, Lijnen HR. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of human urokinase. II. Turnover of natural and recombinant urokinase in rabbits and squirrel monkeys. *Thromb Haemostas* 1984; 52: 24–6.
86. Köhler M, Sen S, Hermes R, Miyashita C, Pindur G, Heiden M, Mörsdorf S, Zeppezauer M, Schönberger A, Hollemeyer K. Pharmacokinetics of single-chain urokinase-type plasminogen activator (scu-PA) and two-chain urokinase-type plasminogen activator (tcu-PA) in patients with acute myocardial infarction. *Ann Haematol* 1991; 62 (suppl. A): A75 (Abstract).
87. van de Werf F, Vanhaecke J, de Geest H, Verstraete M, Collen D. Coronary thrombolysis with recombinant single-chain urokinase-type plasminogen activator in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 1986; 74: 1066–70.
88. Zarich SW, Kowalchuk GJ, Weaver WD, Loscalzo J, Sassower M, Manzo K, Byrnes C, Muller JE, Gurewich V, for the PATENT Study Group. Sequential combination thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of the Pro-urokinase and t-PA enhancement of thrombolysis (PATENT) trial. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 374–9.
89. Bode C, Schuler G, Nordt T, Schönermark S, Baumann H, Richardt G, Dietz R, Gurewich V, Kübler W. Intravenous thrombolytic therapy with a combination of single-chain urokinase-type plasminogen activator in acute myocardial infarction. *Circulation* 1990; 81: 907–13.
90. Loscalzo J, Wharton T, Kirshenbaum JM, Levine HJ, Flaherty JT, Topol EJ, Ramaswamy K, Kosowsky BD, Salem DN, Ganz P, Brinker JA, Gurewich V, Muller JE, and the Pro-urokinase for myocardial infarction study group. Clot-selective coronary thrombolysis with pro-urokinase. *Circulation* 1989; 79: 776–82.
91. Gulba DC, Bode C, Sen S, Topp J, Fischer K, Wolf H, Hecker H, and the German Preactivated Pro-Urokinase Study Group. Multicenter dose-finding trial for thrombolysis with urokinase preactivated Pro-urokinase (TCL 598) in acute myocardial infarction. *Cath Cardiovasc Diagn* 1992; 26: 177–84.
92. Gulba DC, Fischer K, Barthels M, Jost S, Möller W, Frombach R, Reil G-H, Daniel WG, Lichtlen PR. Potentiation effect of heparin in thrombolytic therapy of evolving myocardial infarction with natural pro-urokinase. *Fibrinolysis* 1989; 3: 165–73.
93. Gulba DC, Bode C, Sen S, Topp J, Fischer K, Daniel WG. Coronary thrombolysis with urokinase preactivated intravenous pro-urokinase. *JACC* 1989; 13: 193A (Abstract).

94. Tebbe U, Windeler J, Boesel I, Hoffmann H, Wojcik J, Ashmawy M, Schwarz ER, von Loewis of Menar P, Rosemeyer P, Hopkins G, Barth H, on behalf of the LIMITS Study Group. Thrombolysis with recombinant unglycosylated single-chain urokinase-type plasminogen activator (Saruplase) in acute myocardial infarction: influence of heparin on early patency rate (LIMITS Study). *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 365–73.
95. Gulba DC, Fischer K, Barthels M, Polensky U, Reil G-H, Daniel WG, Welzel D, Lichtlen PR. Low dose urokinase preactivated natural pro-urokinase for thrombolysis in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1989; 63: 1025–31.
96. Gulba DCL, Gaffney P, Creighton L, Gallimore MJ, Rees W, Lichtlen PR. The fate of single chain urokinase (SCUPA) during its use for the treatment of myocardial infarction (AMI). *Thromb Haemostas* 1989; 62: 230 (Abstract).
97. Bär FW, Meyer J, Vermeer F, Michels R, Charbonnier B, Haerten K, Spieker M, Macaya C, Hanssen M, Heras M, Boland JP, Morice M-C, Dunn FG, Uebis R, Hamm C, Ayzenberg O, Strupp G, Withagen AJ, Klein W, Windeler J, Hopkins G, Barth H, von Fisenne MJM, for the SESAM Study Group. Comparison of Saruplase and Alteplase in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997; 79: 727–32.
98. Michels R, Hoffmann H, Windeler J, Barth H, Hopkins G, on behalf of the SUTAMI Investigators. A double-blind multicenter comparison of the efficacy and safety of Saruplase and Urokinase in the treatment of acute myocardial infarction: report of the SUTAMI Study Group. *J Thrombos Thrombolys* 1995; 2: 117–24.
99. Diefenbach C, on behalf of the PRIMI Study Group. One-year follow-up in a randomized double-blind trial of saruplase versus streptokinase in acute myocardial infarction: long-term results of the PRIMI trial. *Coronary Artery Dis* 1992; 3: 925–31.
100. Bär FW, Spanjers MHA, Hopkins G. Bolus administration of thrombolytic therapy. *Rev Contemp Pharmacother* 1998; 9: 379–84.
101. Lack CH. Staphylokinase: an activator of plasma protease. *Nature* 1948; 161: 559–60.
102. Collen D, Silence K, Demarsin E, De Mol M, Lijnen HR. Isolation and characterisation of natural and recombinant staphylokinase. *Fibrinolysis* 1992; 6: 203–13.
103. Lijnen HR, van Hoef B, Vandenbossche L, Collen D. Biochemical properties of natural and recombinant staphylokinase. *Fibrinolysis* 1992; 6: 214–25.
104. Lijnen HR, van Hoef B, de Cock F, Okada K, Ueshima S, Matsuo O, Collen D. On the mechanism of fibrin-specific plasminogen activation by staphylokinase. *J Biol Chem* 1991; 266: 11826–32.
105. Collen D, van de Werf F. Coronary thrombolysis with recombinant staphylokinase in patients with evolving myocardial infarction. *Circulation* 1993; 87: 1850–3.
106. Vanderschueren S, Lijnen HR, Collen D. Properties of staphylokinase and its potential as a thrombolytic agent. *Fibrinolysis* 1995; 9 (suppl. 1): 87–90.
107. Vanderschueren S, Barrios L, Kerdinachai P, van den Heuvel P, Hermans L, Vrolix M, De Man F, Benit E, Muyldermans L, Collen D, van de Werf F, for the STAR Trial Group. A randomized trial of recombinant staphylokinase versus alteplase for coronary artery patency in acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 2044–9.
108. Collen D, de Cock F, Vanlinthout I, Declerck PJ, Lijnen HR, Stassen JM. Comparative thrombolytic and immunogenic properties of staphylokinase and streptokinase. *Fibrinolysis* 1992; 6: 232–42.
109. Collen D, de Cock F, Stassen JM. Comparative immunogenicity and thrombolytic properties toward arterial and venous thrombi of streptokinase and recombinant staphylokinase in baboon. *Circulation* 1993; 87: 996–1006.
110. Krätzschmar J, Haendler B, Langner G, Boidol W, Bringmann P, Alagon A, Donner P, Schleuning W-D. The plasminogen activator family from salivary gland of the vampire bat *Desmodus rotundus*: cloning and expression. *Gene* 1991; 105: 229–37.
111. Gardell SJ, Dupe RJ, Diehl RE, York JD, Hare TR, Register RB, Jacobs JW, Dixon RAF, Friedman PA. Isolation, characterization, and cDNA cloning of a vampire bat salivary plasminogen activator. *J Biol Chem* 1989; 264: 17947–52.
112. Witt W, Maass B, Baldus B, Hildebrand M, Donner P, Schleuning W-D. Coronary thrombolysis with desmodus salivary plasminogen activator in dogs – fast and persistent recanalization by intravenous bolus administration. *Circulation* 1994; 90: 421–6.
113. Gardell SJ, Ramjit DR, Stabilito II, Fujita T, Lynch JJ, Guca GC, Jain D, Wang S, Tung J, Mark GE, Shebuski RJ. Effective thrombolysis without marked plasminemia after bolus intravenous administration of a vampire bat salivary plasminogen activator in rabbits. *Circulation* 1991; 84: 244–53.
114. Witt W, Baldus B, Bringmann P, Cashion L, Donner P, Schleuning W-D. Thrombolytic properties of desmodus rotundus (vampire bat) salivary plasminogen activator in experimental pulmonary embolism in rats. *Blood* 1992; 79: 1213–7.
115. Mellott MJ, Stabilito II, Holahan MA, Cuca GC, Wang S, Li P, Gardell SJ. Vampire bat salivary plasminogen activator promotes rapid and sustained reperfusion without concomitant. *Arterioscleros Thrombos* 1992; 12: 212–21.
116. Muschick P, Zeggert D, Donner P, Witt W. Thrombolytic Properties of Desmodus (Vampire Bat) Salivary Plasminogen Activator DSPA-Alpha-1, Alteplase and Streptokinase Following Intravenous Bolus Injection in a Rabbit Model of Carotid Artery Thrombosis. *Fibrinolysis* 1993; 7: 284–90.
117. Burton G, Graichen G, Witt W. Effect of the novel thrombolytic DSPA alpha 1 on venipuncture bleeding time in the rat: Comparison to Anistreplase and t-PA. *Thromb Haemostas* 1993; 69: 842.
118. Gulba DC, Praus M, Dechend R, Hauck S, Mahler M, Zirtz R, Baldus B, Müller N, Dietz R. Update on the toxicology and pharmacology of rDSPA alpha 1 (Bat-PA) in animals and humans. *Fibrinolysis Proteolysis* 1997; 11 (suppl. 2): 55–62.
119. Gulba DC, Bode C, Topp J, Höpp H-W, Westhoff-Bleck M, Rafflenbeul W, Lichtlen PR. Die Häufigkeit von Residualthromben nach erfolgreicher Thrombolysetherapie bei akutem Herzinfarkt und ihre Bedeutung für die Rate früher Reokklusionen. Ein Bericht der multizentrischen Dosisfindungsstudie zur Thrombolysetherapie mit Urokinase-präaktivierter natürlicher Prourokinase (TCL 598). *Z Kardiol* 1990; 79: 279–85.
120. Gash AK, Spann JF, Sherry S, Belber AD, Carabello BA, McDonough MT, Mann RH, McCann WD, Gault JH, Gentzler RD, Kent RL. Factors influencing reocclusion after coronary thrombolysis for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1986; 57: 157–77.
121. Gold HK, Leinbach RC, Garabedian HD, Yasuda T, Johns JA, Grossbard EB, Palacios I, Collen D. Acute coronary reocclusion after thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator: prevention by a maintenance infusion. *Circulation* 1986; 73: 347–52.
122. Harrison DG, Ferguson DW, Collins SM, Skorton DJ, Erickson EE, Kioschos M, Marcus ML, White CW. Retrombosis after reperfusion with streptokinase: importance of geometry of residual lesions. *Circulation* 1984; 69: 991–9.
123. Gulba DC, Barthels M, Westhoff-Bleck M, Jost S, Rafflenbeul W, Daniel WG, Hecker H, Lichtlen PR. Increased thrombin levels during thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. Relevance for the success of therapy. *Circulation* 1991; 83: 937–44.
124. Gulba DC, Barthels M, Reil G-H, Lichtlen P. Thrombin-antithrombin-III-complex level as early predictor of reocclusion after successful thrombolysis. *Lancet* 1988; 2: 97.
125. Gulba DC, Daniel WG, Simon R, Jost S, Barthels M, Amende I, Rafflenbeul W, Lichtlen PR. Role of thrombolysis and thrombin in patients with acute coronary occlusion during percutaneous transluminal coronary angioplasty. *JACC* 1990; 80: 1–5.
126. Rapold HJ, Kuemmerli H, Weiss M, Baur H, Haerberli A. Monitoring of fibrin generation during thrombolytic therapy of acute myocardial infarction with recombinant tissue-type plasminogen activator. *Circulation* 1989; 79: 980–9.
127. Eisenberg PR, Sherman L, Rich M, Schwartz D, Schectman K, Geltman EM, Sobel BE, Jaffe AS. Importance of continued activation of thrombin reflected by fibrinopeptide A to the efficacy of thrombolysis. *JACC* 1986; 7: 1255–62.
128. Eisenberg PR, Sherman LA, Jaffe AS. Paradoxical elevation of fibrinopeptide A after streptokinase: evidence for continued thrombosis despite intensive fibrinolysis. *JACC* 1987; 10: 527–9.
129. Seitz R, Blanke H, Prätorius G, Strauer B-E, Egbring R. Increased thrombin activity during thrombolysis. *Thromb Haemostas* 1988; 59: 541–2.
130. Topol EJ, Califf RM, George BS, Kereiakes DJ, Abbot-Smith CW, Candela RJ, Lee KL, Pitt B, Stack RS, O'Neill WW, and the Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group. A randomized trial of immediate versus delayed elective angioplasty after intravenous tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1987; 317: 581–8.
131. Simoons ML, Arnold AER, Betriu A, DeBono DP, Col J, Dougherty FC, von Essen R, Lambert H, Lubsen J, Meier B, Michel PL, Raynaud P, Rutsch W, Sanz GA, Schmidt W, Serruys PW, Thery C, Uebis R, Vahanian A, van de Werf F, Willems GM, Wood D, Verstraete M. Thrombolysis with tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction: no additional benefit from immediate percutaneous coronary angioplasty. *Lancet* 1988; 1: 197–203.
132. The TIMI Study Group. Comparison of invasive and conservative strategies after treatment with intravenous tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. Results of the thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) phase II trial. *N Engl J Med* 1989; 320: 618–27.
133. Kaiser B, Markwardt F. Antithrombotic and haemorrhagic effects of synthetic and naturally occurring thrombin inhibitors. *Thromb Res* 1986; 47: 613–20.
134. Walsmann P, Kaiser B. Biochemical and pharmacological properties of recombinant hirudin. *Drugs of Today* 1989; 25: 473–85.
135. Markwardt F. Hirudin: the promising antithrombotic. *Cardiovasc Drug Rev* 1992; 10: 211–32.
136. Lee LV, for the TIMI 6 Investigators. Initial experience with hirudin and streptokinase in acute myocardial infarction: results of the

- Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 6 trial. *Am J Cardiol* 1995; 75: 7–13.
137. Molhoek GP, Laarman GJ, Lok DJA, Luz M, Kingma JH, van den Bos AA; Bosma AH, den Heijer P. Effects of recombinant hirudin (HBW 023) on early and late coronary patency in myocardial infarction patients treated with streptokinase (the HIT-SK Study). *Eur Heart J* 1995; 16: 177 (Abstract).
138. Cannon CP, McCabe CH, Henry TD, Schweiger MJ, Gibson RS, Mueller HS, Becker RC, Kleiman NS, Haugland JM, Anderson JL, Sharaf BL, Edwards SJ, Rogers WJ, Williams DO, Braunwald E. A pilot trial of recombinant desulfato-hirudin compared with heparin in conjunction with tissue-type plasminogen activator and aspirin in acute myocardial infarction: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 5 trial. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 993–1003.
139. Antman EM, for the TIMI 9A Investigators. Hirudin in acute myocardial infarction. Safety report from the thrombolysis and thrombin inhibition in myocardial infarction (TIMI) 9A trial. *Circulation* 1994; 90: 1624–30.
140. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO) IIa Investigators. Randomized trial of intravenous heparin versus recombinant hirudin for acute coronary syndromes. *Circulation* 1994; 90: 1631–7.
141. Neuhaus K-L, v. Essen R, Tebbe U, Jessel A, Heinrichs H, Mäurer W, Döring W, Harmjan D, Kötter V, Kalhammer E, Simon H, Horacek T. Safety observations from the pilot phase of the randomized r-hirudin for improvement of thrombolysis (HIT-III) study. A study of the Arbeitsgemeinschaft Leitender Kardiologischer Krankenhausärzte (ALKK). *Circulation* 1994; 90: 1638–42.
142. The global use of strategies to open occluded coronary arteries (GUSTO) IIb investigators. A comparison of recombinant hirudin with heparin for the treatment of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335: 775–82.
143. Born GVR. Platelets in atherogenesis and thrombogenesis. In: Kakkar VV (ed). *Atheroma and Thrombosis*. Pitman Publishing Ltd., London, 1985; 143–52.
144. Firkin BG. The platelet and its disorders. MTP Press, Lancaster, 1984.
145. Benett JS. The molecular biology of the platelet membrane proteins. *Semin Haematol* 1990; 27: 186–204.
146. Nurdan AT, George JN, Phillips DR. Platelet membrane glycoproteins: their structure, function and modification in disease. In: Phillips DR, Shuma MA (eds). *Biochemistry of platelets*. Academic Press, New York, 1986; 159–224.
147. Peerschke EI. The platelet fibrinogen receptor. *Semin Haematol* 1985; 22: 241–59.
148. Niewiarowski S, Holt JC. Platelet alpha granule proteins. *Biochemical and physiological aspects*. In: Langenecker GL (ed). *Biochemistry of platelets*. Academic Press, New York, 1985; 49–83.
149. Collier B. Antiplatelet agents in the prevention and therapy of thrombosis. *Annu Rev Med* 1992; 43: 171–80.
150. Collier BS, Scudder LE. Inhibition of dog platelet function by in vivo infusion of F(ab')₂ fragments of a monoclonal antibody to the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. *Blood* 1985; 66: 1456–9.
151. Ellis SG, Tscheng JE, Navetta FI, Muller DWM, Weisman HF, Smith C, Anderson KM, Califf RM, Topol EJ. Safety and antiplatelet effect of murine monoclonal antibody 7E3 Fab directed against platelet glycoprotein IIb/IIIa in patients undergoing elective coronary angioplasty. *Coronary Artery Dis* 1993; 4: 167–75.
152. Tscheng JE, Ellis SG, George BS, Kereiakes DJ, Kleiman NS, Talley JD, Wang AL, Weisman HF, Califf RM, Topol EJ. Pharmacodynamics of chimeric glycoprotein IIb/IIIa integrin antiplatelet antibody Fab 7E3 in high-risk coronary angioplasty. *Circulation* 1994; 90: 1757–64.
153. The EPIC Investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 330: 956–61.
154. Topol EJ, Califf RM, Weisman HF, Ellis SG, Tscheng JE, Worley S, Ivanhoe R, George BS, Fintel D, Weston M, Sigmon K, Anderson K, Lee KL, Willerson JT, on behalf of the EPIC investigators. Randomized trial of coronary intervention with antibody against platelet GP IIb/IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months. *Lancet* 1994; 343: 881–6.
155. Topol EJ, Califf RM, Weisman HF, Ellis SG, Tscheng JE, Worley S, Ivanhoe R, George BS, Fintel D, Weston M, Sigmon K, Anderson KM, Lee KL, Willerson JT. Randomised trial of coronary intervention with antibody against platelet IIb/IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months. *Lancet* 1994; 343: 881–6.
156. Yasada T, Gold HK, Leinbach RC. Lysis of plasminogen activator resistant platelet rich coronary artery thrombus with combined bolus injection of recombinant tissue-type plasminogen activator and antiplatelet GP IIb/IIIa antibody. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1728–35.
157. Ohman EM, Kleiman N, Talley D, Gacioch G, Navetta FI, Carney RJ, Worley S, Anderson HV, Cohen M, Kereiakes D, Joseph D, Sigmon KN, Topol EJ, for the IMPACT-AMI study group. Simultaneous platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin blockade with accelerated tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. *Circulation* 1994; 90 (suppl.): I-564 (Abstract).
158. Kleiman NS, Ohman EM, Califf RM, George BS, Kereiakes D, Aguirre FV, Weisman H, Schaible T, Topol EJ. Profound inhibition of platelet aggregation with monoclonal antibody 7E3 fab after thrombolytic therapy. *JACC* 1993; 22: 381–9.
159. Collier BS. GP IIb/IIIa-antagonism: pathophysiology and therapeutic insights from studies on c7E3-Fab. *Thromb Haemostas* 1997; 78: 730–5.
160. Topol EJ, Plow EF. Clinical trials of platelet receptor inhibitors. *Thromb Haemostas* 1993; 70: 94–8.
161. Mascelli MA, Lance ET, Damaraju L, Wagner CL, Weisman HF, Jordan RE. Pharmacodynamic profile of short-term abciximab treatment demonstrates prolonged platelet inhibition with gradual recovery from GP IIb/IIIa receptor blockade. *Circulation* 1998; 97: 1680–8.
162. The EPIC Investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 330: 956–61.
163. Topol EJ, Ferguson JJ, Weisman HF, Tcheng JE, Ellis SG, Kleiman NS, Ivanhoe RI, Wang AL, Miller DP, Anderson KM, Califf RM, for the EPIC Investigator Group. Long-term protection from myocardial ischemic events in a randomized trial of brief integrin β_3 -blockade with percutaneous coronary intervention. *J Am Med Assoc* 1997; 278: 479–84.
164. Antman EM, Giugliano RP, McCabe CH, Gibson M, Adgey AJJ, Ghali M, Coussement P, Scherer J, van de Werf F, Braunwald E, for the TIMI 14 Investigators. Abciximab (ReoPro) potentiates thrombolysis in ST elevation myocardial infarction: results of TIMI 14 trial. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31 (suppl A): A-191 (Abstract).
165. Gulba DC, Tanswell P, Dechend R, Sosada M, Weis A, Waigand J, Uhlich F, Hauck S, Jost S, Rafflenbeul W, Lichtlen PR, Dietz R. Sixty minutes alteplase protocol: a new accelerated recombinant tissue-type plasminogen activator regimen for thrombolysis in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1611–7.
166. Gold HK, Garabedian HD, Dinsmore RE, Guerrero LJ, Cigarroa, J.E., Palacios IF, Leinbach RC. Restoration of coronary flow in myocardial infarction by intravenous chimeric 7E3 antibody without exogenous plasminogen activator. *Circulation* 1997; 95: 1755–9.
167. Ohman EM, Harrington RA, Lincoff AM, Kitt MM, Kleiman NS, Tcheng JE. Early clinical experience with integrilin, an inhibitor of the platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin receptor. *Eur Heart J* 1995; 16 (suppl.): 50–5.
168. Ohman EM, Kleiman NS, Gacioch G, Worley SJ, Navetta FI, Talley JD, Anderson HV, Ellis SG, Cohen MD, Spriggs D, Miller M, Kereiakes D, Yakubov S, Kitt MM, Sigmon KN, Califf RM, Krucoff MW, Topol EJ, for the IMPACT-AMI Investigators. Combined accelerated tissue-plasminogen activator and platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin receptor blockade with integrilin in acute myocardial infarction. Results of a randomized, placebo-controlled dose-ranging trial. *Circulation* 1997; 95: 846–54.
169. Deckelbaum LI, Sax FL, Grossman W. Tirofiban, a nonpeptide inhibitor of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor. In: Sasahara AA, Loscalzo J (eds). *New therapeutic agents in thrombosis and thrombolysis*. Marcel Dekker, New York; 1997; 355–65.
170. Schömig A, Neumann FJ, Kastrati A, Schuhlen H, Blasini R, Hadamitzky M, Walter H, Zitzmann-Roth EM, Richardt G, Alt E, Schmitt C, Ulm K. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med* 1996; 334: 1084–9.
171. Colombo A, Nakamura S, Almagor Y, Maiello L, Martini G, Caglione A, Goldberg SL, Tobis J. Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. *Circulation* 1995; 91: 1676–88.
172. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P, Belardi J, Sigwart U, Colombo A, Goy JJ, van den Heuvel P, Delcan J, Morel M-A, for the BENESTENT Study Group. A comparison of balloon-expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 489–95.
173. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, Cleman M, Heuser R, Almond D, Teirstein PS, Fish RD, Colombo A, Brinker J, Moses J, Shanknovich A, Hirshfeld J, Bailey S, Ellis S, Rake R, Goldberg S, for the Stent Restenosis Study Investigators. A Randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 496–501.
174. Ahmad T, Webb JG, Carere RR, Dodek A. Coronary stenting for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995; 76: 77–80.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung