

Lösliches P-Selectin und β -Thromboglobulin bei koronarer Herzkrankheit und akutem Myokardinfarkt

Soluble P-Selectin and β -Thromboglobulin in Coronary Artery Disease and Acute Myocardial Infarction

H. M. Stiegler^{1,2}, Yuriko Fischer¹, F.C. Schoebel³, M. Heins¹, B. E. Strauer³, M. Leschke³, H. Reinauer¹

Zusammenfassung: P-Selectin ist ein Adhäsionsmolekül, welches in der Membran der α -Granula von Thrombozyten sowie in „Weibel-Palade-Körpern“ von Endothelzellen lokalisiert ist. Eine lösliche Isoform von P-Selectin, „soluble P-Selectin“ (sP-Selectin), kann enzymimmunometrisch in humanem Plasma nachgewiesen werden. P-Selectin wird im Rahmen der „Release-Reaktion“ von aktivierten Thrombozyten vermehrt exprimiert, während β -Thromboglobulin aus thrombozytären α -Granula sezerniert wird. Aktivierte Thrombozyten und deren Interaktion mit der Gefäßwand spielen eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der koronaren Herzkrankheit und den akuten Koronarsyndromen wie der instabilen Angina pectoris und dem akuten Myokardinfarkt. Um die Relevanz von sP-Selectin und β -Thromboglobulin bei koronarer Herzkrankheit zu evaluieren, wurden bei Patienten mit stabiler Angina pectoris (sAP, n=20), instabiler Angina pectoris (iAP, n=12) und akutem Myokardinfarkt (AMI, n=12) sowie bei Normalprobanden (NP, n=11) die Konzentrationen an sP-Selectin und β -Thromboglobulin enzymimmunometrisch in der systemischen Zirkulation analysiert. Die drei untersuchten Patientengruppen wiesen unabhängig vom klinischen und angiokardiographischen Schweregrad der koronaren Herzkrankheit signifikant erhöhte sP-Selectin Plasmakonzentrationen (Mittelwert \pm SD) verglichen mit Normalprobanden auf [NP: 98 \pm 20 ng/ml vs. sAP: 133 \pm 30 ng/ml, p<0,01; vs. iAP: 128 \pm 28 ng/ml, p<0,01; vs. AMI: 144 \pm 72 ng/ml, p<0,05]. β -Thromboglobulin Konzentrationen waren lediglich bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt signifikant erhöht [NP: 30 \pm 20 IU/ml vs. AMI: 39 \pm 14 IU/ml, p<0,05]. Bei den Patienten mit akutem Myokardinfarkt fand sich darüber hinaus eine positive Korrelation von sP-Selectin mit der maximalen Aktivität der Creatin-Kinase im Serum [r=0,72, p<0,01].

Wir werten diese Ergebnisse als Ausdruck einer verstärkten Aktivierung von Thrombozyten bei koronarer Herzkrankheit.

Schlüsselwörter: Koronare Herzkrankheit; Myokardinfarkt; P-Selectin/Plasma; beta-Thromboglobulin/Plasma.

Summary: P-selectin is an adhesion molecule that is a component of platelet α -granules and Weibel-Palade bodies of endothelial cells. A soluble isoform of P-selectin (sP-selectin) can be determined in human circulation by immunoassay technique. The expression of P-selectin is upregulated during platelet release reaction, whereas β -thromboglobulin is released directly by platelet α -granules following platelet activation. Activation of platelets and their interaction with the vessel wall plays a critical role in the pathogenesis of coronary artery disease and acute coronary syndromes like unstable angina pectoris and acute myocardial infarction. To determine the relevance of sP-selectin and β -thromboglobulin in coronary artery disease, we prospectively analyzed plasma concentrations of sP-selectin and β -thromboglobulin in patients with stable angina pectoris (sAP, n=20), unstable angina pectoris (iAP, n=12) and acute myocardial infarction (AMI, n=12). Data were compared to healthy subjects (NP, n=11). Soluble P-selectin concentrations (mean \pm SD) were significantly increased in all three patient groups with coronary artery disease without correlation to the clinical or angiographic severity of disease [NP: 98 \pm 20 ng/ml vs. sAP: 133 \pm 30 ng/ml, p<0,01; vs. iAP: 128 \pm 28 ng/ml, p<0,01; vs. AMI: 144 \pm 72 ng/ml, p<0,05]. Significantly elevated β -thromboglobulin plasma concentrations were measured only in patients with acute myocardial infarction [NP: 30 \pm 20 IU/ml vs. AMI: 39 \pm 14 IU/ml, p<0,05]. A positive correlation between sP-selectin and the maximum activity of creatine-phosphokinase [r=0,72, p<0,01] could also be detected in patients with acute myocardial infarction. Our findings may indicate increased platelet activation in patients with coronary artery disease.

Keywords: Coronary Artery Disease; Myocardial Infarction; beta-Thromboglobulin/plasma; P-Selectin/plasma.

¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

² Korrespondenzadresse: Dr. med. Hugo M. Stiegler, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Medizinische Einrichtungen der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, D-40225 Düsseldorf. Fax: +49-211- 81-18013. E-mail: stiegler@uni.duesseldorf.de

³ Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Eingegangen: 24. August 1998/Angenommen: 10. November 1998

P-Selectin (GMP-140 / PADGEM) ist ein 140 kD schweres Adhäsionsmolekül, das zur Gruppe der Selectine gehört und im nicht-aktivierten Zustand in der Membran der α -Granula von Thrombozyten [1] sowie in den „Weibel-Palade-Körpern“ [2] von Endothelzellen lokalisiert ist. Nach Aktivierung von Thrombozyten durch verschiedene Agonisten oder physikalische Stimuli wird P-Selectin im Rahmen der thrombozytären „Release-Reaktion“ zur Zelloberfläche transferriert und dort exprimiert [3]. Als Adhäsionsmolekül vermittelt es dabei die Interaktion von aktivierten Thrombozyten sowie Endothelzellen mit Leukozyten, insbesondere mit Monozyten und neutrophilen Granulozyten [4-6]. Monozyten und neutrophile Granulozyten exprimieren neben dem P-Selectin Rezeptor PSGL-1 auch verschiedene kohlenhydratartige Strukturen wie das „sialyl Lewis X“ Oligosaccharid, über die es zur Bindung an Thrombozyten und Endothelzellen kommt [6, 7]. Neben dem an α -Granula gebundenen P-Selectin, welches als Nachweis der Aktivierung von Thrombozyten mittels monoklonaler Antikörper im Durchflußzytometer dient [8], existiert auch eine lösliche Form des Proteins (sP-Selectin) in der Zirkulation [9,10], die sich enzymimmunometrisch quantitativ bestimmen läßt [11]. Derzeit ist jedoch noch nicht hinreichend geklärt, ob es sich bei sP-Selectin um intaktes P-Selectin mit lediglich fehlender transmembraner Domäne oder um Molekülfragmente handelt [12,13]. Endothelzellen über atherosklerotischen Plaques exprimieren P-Selectin vermehrt. Dabei ist P-Selectin als endothelialer Zellrezeptor auch an der vermehrten Akkumulation von Monozyten im atherosklerotischen Plaque beteiligt [14]. Monozyten fördern wiederum die Progression der atherosklerotischen Gefäßläsion [15].

β -Thromboglobulin (β -TG) wird aus thrombozytären α -Granula im Rahmen der „Release-Reaktion“ freigesetzt und ist ein plasmatischer Marker für die in vivo-Aktivierung von Thrombozyten [16]. Aktivierte Thrombozyten und deren Interaktion mit der Gefäßwand spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese der koronaren Herzkrankheit und den akuten Koronarsyndromen wie der instabilen Angina pectoris und dem akuten Myokardinfarkt [17].

Material und Methoden

Patienten und Normalprobanden

Das Patientenkollektiv bestand aus 20 männlichen Patienten mit stabiler Angina pectoris (sAP; Alter: 49-73 Jahre; Median: 62 Jahre), 12 männlichen Patienten mit instabiler Angina pectoris (iAP; Alter: 52-74 Jahre; Median: 70 Jahre) sowie 12 männlichen Patienten mit

akutem Myokardinfarkt (AMI; Alter: 41-79 Jahre; Median: 64 Jahre). Es wurden 11 gesunde männliche Probanden (NP; Alter: 30-82 Jahre; Median: 47 Jahre) als Kontrollkollektiv herangezogen. Patienten und Probanden wurden über den Inhalt der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Unter der Diagnose stabile Angina pectoris wurden Patienten mit angiokardiographisch dokumentierter koronarer Herzkrankheit (mindestens 50%ige Stenose einer Koronararterie) und einer Symptomatik entsprechend Grad I bis IV der Angina pectoris Klassifikation der Canadian Cardiovascular Society [18] eingestuft.

Kriterien der instabilen Angina pectoris waren länger andauernde pectanginöse Ruhebeschwerden (>30 min) in den letzten 24 Stunden vor Aufnahme sowie transiente ST-Strecken Veränderungen im EKG. Eine akute Myokardzellnekrose wurde durch wiederholte Bestimmung der Aktivität der Creatin-Kinase (CK) und des CK-MB Isoenzymen bei Aufnahme bzw. innerhalb der ersten 24 Stunden der Hospitalphase ausgeschlossen (CK <80 U/l, CK-MB <6% der CK).

Kriterien des akuten Myokardinfarktes waren die elektrokardiographische ST-Strecken-Elevation oder neu aufgetretene T-Inversion sowie Zeichen der Myokardzellnekrose mit erhöhter Aktivität der Creatin-Kinase und des MB-Isoenzymen von >6% der Creatin-Kinase schon bei Aufnahme oder aber ein pathologischer Anstieg innerhalb der ersten 12 Stunden der Hospitalphase. Patienten mit generalisierter peripherer Atherosklerose, Niereninsuffizienz sowie malignen Erkrankungen wurden primär ausgeschlossen.

Zur Dokumentation des Koronargefäßstatus und der linksventrikulären Pump-Funktion wurde bei allen Patienten eine Koronarangiographie mit linksventrikulärem Angiogramm nach Judkins [19] durchgeführt. Die Bewertung des Koronarstatus erfolgte nach der 1-bis 3-Gefäß-Klassifikation mit einem minimalen Stenosegrad von 50% mindestens einer epikardialen Koronararterie sowie durch Bestimmung des Koronarscores nach den Kriterien der American Heart Association [20].

Als Normalprobanden dienten 11 Personen mit anamnestischem und ergometrischem Ausschluß einer koronaren Herzkrankheit bei jeweils maximaler Belastung entsprechend den Kriterien der American Heart Association [21].

Präanalytik

Eine peripher-venöse Blutentnahme erfolgte bei den Normalprobanden jeweils morgens zwischen 7 und 10 Uhr in nüchternem Zustand und nach jeweils 30 Minuten in liegender Position. Bei den Patienten mit stabiler Angina pectoris wurde ebenso verfahren, wobei die Blutentnahme einheitlich am Morgen vor elektiver Koronarangiographie erfolgte. Die Blutentnahme bei den Patienten mit instabiler Angina pectoris und den Patienten mit akutem Myokardinfarkt wurde innerhalb der ersten Stunde nach deren Aufnahme auf die interistische Notaufnahmestation, zwischen 6 und 11 Uhr in liegender Position, durchgeführt.

Nicht standardisierte Abkürzungen: AMI, akuter Myokardinfarkt; CTAD, Citrat, Theophyllin, Adenosin, Dipyridamol; kD, Kilodalton; MW, Mittelwert; NP, Normalprobanden; iAP, instabile Angina pectoris; sAP, stabile Angina pectoris; SD, standard deviation.

Die Blutentnahme wurde bei allen Patienten und Probanden von zwei speziell angeleiteten Mitarbeitern unseres Institutes nach modifizierten „Minimalanforderungen zur Gewinnung von Citratplasma für hämostaseologische Untersuchungen“ durchgeführt [22, 23]. Mittels Blutdruckmanschette wurde dazu am Oberarm ein Druck von maximal 60 mmHg (entsprechend 8 kPa) erzeugt und eine epifasziale Vene in der Ellenbeuge oder am Unterarm mit einer Butterfly-Kanüle (19 gauge = 1,1 mm) punktiert. Nach sofortigem Lösen des Staudruckes und Verwerfen der ersten 5 ml wurde mittels Vacutainer-System (Becton Dickinson, Heidelberg) Vollblut zur Bestimmung von sP-Selectin und β -Thromboglobulin in gekühlten und mit CTAD-antikoagulierten Probenentnahmeröhrchen (0,109 molares Natrium-Citrat, Theophyllin, Adenosin, Dipyridamol; Diagnostica Stago, Asnières-Sur-Seine, Frankreich) entnommen. Zur Bestimmung der Thrombozytenkonzentration wurden EDTA-antikoagulierte Probenentnahmeröhrchen sowie zur Bestimmung der Aktivität der Creatin-Kinase mit Serum-Silikat-Trenngel gefüllte Probenentnahmeröhrchen verwendet. Mit Ausnahme des EDTA-antikoagulierten Vollblutes wurden die Proben innerhalb von 30 Minuten nach Entnahme in einer Kühlzentrifuge bei +4 °C für 30 Minuten bei 2000 x g zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde abpipettiert und erneut zentrifugiert. Der mittlere Teil des Plasmas wurde in Polypropylenröhrchen überführt und bei -70 °C bis zur Analyse tiefgefroren. Der Serumüberstand wurde nach Zentrifugation der sofortigen Analyse zugeführt.

Analytik

Die Plasmakonzentrationen von sP-Selectin (sP-Selectin ELISA; Takara Shuzo, Japan) und β -Thromboglobulin (Asserachrom® β -TG ELISA; Boehringer, Mannheim) wurden enzymimmunometrisch nach den Vorgaben der Hersteller und wie bereits beschrieben [11, 24] auf einem ELISA-Prozessor (BEP III; Behringwerke, Marburg) bestimmt. Das bei -70 °C tiefgefrorene CTAD-Plasma wurde innerhalb von vier Wochen nach Probengewinnung analysiert.

Die Enzymaktivität der Creatin-Kinase (CK NAC aktiviert; Boehringer, Mannheim) wurde mittels kinetischem UV-Test nach der optimierten Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie [25] mit einem automatisierten Analysegerät (BM/Hitachi 737 und 747; Boehringer, Mannheim) bestimmt.

Die Thrombozytenzählung erfolgte mittels automatisierten elektronischen Blutzellzählgeräten (Sysmex E-5000; Sysmex, Düsseldorf und Coulter STKS; Coulter Electronics, Krefeld) nach dem Prinzip der Impedanz-Signal-Zählung.

Statistische Auswertung

Mit einem Statistikprogramm (Statistical Package for Social Sciences, SPSS® 6.0 für Windows; SPSS,

München) erfolgte die Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung und Median, der Korrelation mittels des Spearman Rangkorrelationstests sowie der nichtparametrische Vergleich zweier unabhängiger Stichproben mit dem U-Test nach Mann-Whitney. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde das Ergebnis als statistisch signifikant betrachtet.

Ergebnisse

Fünf (42%) Patienten mit akutem Myokardinfarkt hatten einen Vorderwandinfarkt, drei (25%) einen Hinterwandinfarkt und vier (33%) einen Lateralwandinfarkt erlitten. Die maximal erreichte Aktivität der Creatin-Kinase reichte von 140 bis 648 U/l mit einem Median von 422 U/l. Fünf Patienten wurden bereits mit einer pathologischen Creatin-Kinase Aktivität aufgenommen, während die übrigen sieben Patienten erst innerhalb der nächsten 24 Stunden einen pathologischen Anstieg der Creatin-Kinase Aktivität entwickelten. Nach Auswertung der quantitativen Koronarangiographie aller 44 Patienten wiesen 13 eine koronare 1-Gefäß Erkrankung, 17 eine koronare 2-Gefäß Erkrankung und 14 eine koronare 3-Gefäß Erkrankung auf.

Patienten mit koronarer Herzkrankheit wiesen unabhängig von ihrem klinischen und angiokardiographischen Schweregrad, klassifiziert nach koronarer 1- bis 3-Gefäß Erkrankung und Stenosegrad, signifikant erhöhte Plasmakonzentrationen an sP-Selectin verglichen mit den Normalprobanden auf [NP: 98 ± 20 vs. sAP: 133 ± 30 ng/ml, $p < 0,01$; vs. iAP: 128 ± 28 ng/ml, $p < 0,01$; vs. AMI: 144 ± 72 ng/ml, $p < 0,05$] (Abbildung 1 und Tabelle 1).

Beim Vergleich der β -Thromboglobulin Plasmakonzentrationen zeigten nur die Patienten mit akutem Myokardinfarkt höhere Konzentrationen als Normalprobanden [NP: 30 ± 20 vs. AMI: 39 ± 14 IU/ml, $p < 0,05$] (Tabelle 1). Die Patienten mit akutem Myokardinfarkt unterschieden sich insbesondere von Patienten mit instabiler Angina pectoris durch im Mittel deutlich höhere β -Thromboglobulin Plasmakonzentrationen [AMI: 39 ± 14 vs. iAP: 23 ± 6 IU/ml, $p < 0,01$] (Tabelle 1).

Die Thrombozytenkonzentrationen waren bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt im Vergleich zum Kontrollkollektiv und zu den beiden anderen untersuchten Patientengruppen ebenfalls signifikant erhöht [AMI: 292 ± 92 vs. NP: $219 \pm 45 \times 10^3/\mu\text{l}$, $p < 0,05$; vs. sAP: $223 \pm 59 \times 10^3/\mu\text{l}$, $p < 0,01$; vs. iAP: $218 \pm 48 \times 10^3/\mu\text{l}$, $p < 0,01$], wobei die Thrombozytenkonzentration bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit der Plasmakonzentration an β -Thromboglobulin ($r = 0,70$, $p < 0,05$, $n = 12$), jedoch nicht mit der sP-Selectin Plasmakonzentration korrelierte.

Bei den Myokardinfarktpatienten fand sich darüber hinaus eine positive Korrelation von sP-Selectin mit der Aktivität der Creatin-Kinase [$r = 0,72$, $p < 0,01$, $n = 12$] (Abbildung 2). Schwach positiv korrelierten die

Abbildung 1 sP-Selectin Plasmakonzentrationen (MW±SD) in ng/ml bei Normalprobanden (n=11), Patienten mit stabiler Angina pectoris (sAP, n=20), instabiler Angina pectoris (iAP, n=12) und akutem Myokardinfarkt (AMI, n=12). Der an den Normalprobanden bestimmte Konzentrationsbereich (1-fache SD) ist schraffiert. Angegeben sind die jeweils signifikanten Differenzen zwischen den Patienten und den Normalprobanden im U-Test nach Mann-Whitney.

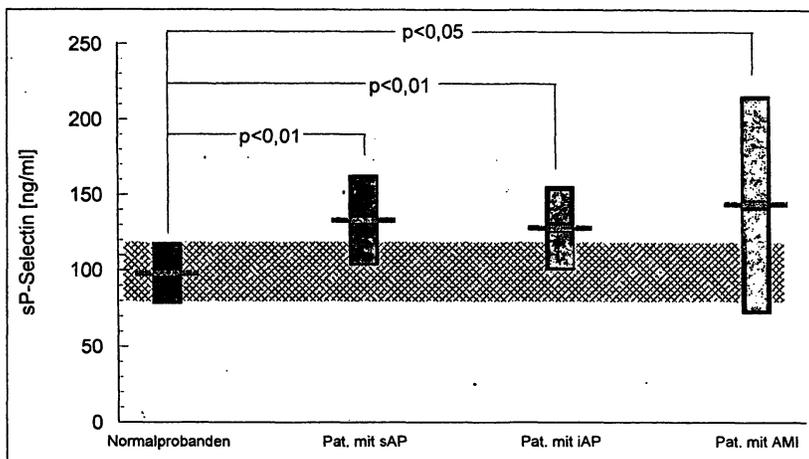


Abbildung 2 Korrelation von sP-Selectin Plasmakonzentrationen in ng/ml und der maximal erreichten Aktivität der Creatin-Kinase in U/l bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (n=12). Es ergab sich eine signifikante positive Korrelation zwischen den aufgeführten Werten im Spearman Rangkorrelationskoeffizient (r=0,72, p<0,01, n=12).

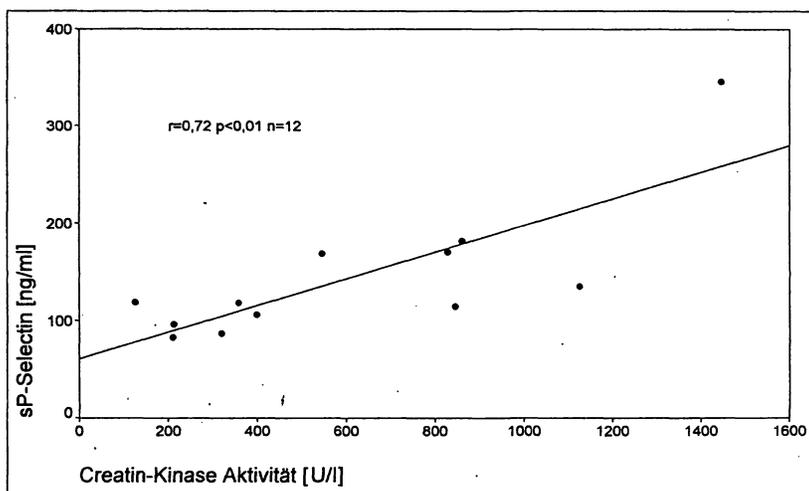


Tabelle 1 Vergleich der sP-Selectin und β -Thromboglobulin Plasmakonzentrationen. Normalprobanden (NP, n=11), Patienten mit stabiler Angina pectoris (sAP, n=20), instabiler Angina pectoris (iAP, n=12) und akutem Myokardinfarkt (AMI, n=12). Angegeben sind die jeweils signifikanten Differenzen zwischen den untersuchten Patientengruppen und Normalprobanden im U-Test nach Mann-Whitney (n.s.= nicht signifikant).

Patienten/ Probanden	NP n=11	sAP n=20	iAP n=12	AMI n=12
NP n=11	∅	p-Selectin: p<0,01 β -TG: n.s.	p-Selectin: p<0,01 β -TG: n. s.	p-Selectin: p<0,05 β -TG: p< 0,05
SAP n=20	p-Selectin: p<0,01 β -TG: n. s.	∅	p-Selectin: n. s. β -TG: n. s.	p-Selectin: n. s. β -TG: n. s.
IAP n=12	p-Selectin: p<0,01 β -TG: n. s.	p-Selectin: n.s. β -TG: n. s.	∅	p-Selectin: n. s. β -TG: p< 0,01
AMI n=12	p-Selectin: p<0,05 β -TG: < 0,05	p-Selectin: n.s. β -TG: n. s.	p-Selectin: n.s. β -TG: p< 0,01	∅

Plasmakonzentrationen von β -Thromboglobulin und sP-Selectin ($r=0.31$, $p<0.05$, $n=55$).

Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, daß sP-Selectin Plasmakonzentrationen unabhängig vom angiokardiographischen Schweregrad und der klinischen Beschwerdesymptomatik bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit in der systemischen Zirkulation erhöht sind. Bisher wurden lediglich von Ikeda und Mitarbeitern sP-Selectin Plasmakonzentrationen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt bestimmt [26]. Dabei fanden sich ebenfalls stark erhöhte Plasmakonzentrationen im Vergleich zu Normalprobanden. Die Autoren deuten dies als Ausdruck einer Thrombozyten- bzw. Endothelzellaktivierung im Rahmen des Myokardinfarktgeschehens. Zu Plasmakonzentrationen von sP-Selectin bei Patienten mit instabiler als auch stabiler Angina pectoris bei koronarer Herzkrankheit lagen bisher keine Publikationen vor. Wir konnten somit erstmals bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit sowohl mit instabiler als auch stabiler pectanginöser Beschwerdesymptomatik erhöhte sP-Selectin Plasmakonzentrationen im Vergleich zu offensichtlich Gesunden dokumentieren.

Das an die Membran der thrombozytären α -Granula gebundene P-Selectin, bzw. die endothelial exprimierte Form werden nach ihrer Expression rasch wieder internalisiert [7]. Daneben existiert die lösliche Form des Proteins in der systemischen Zirkulation [9]. Diese scheint nach derzeit vorliegenden Daten jedoch primär thrombozytären Ursprungs zu sein und nur zu einem geringen Anteil aus dem Endothel zu stammen [10, 27]. Wir interpretieren deshalb die Erhöhung der sP-Selectin Plasmakonzentrationen als Ausdruck einer verstärkten Thrombozytenaktivierung bei koronarer Herzkrankheit. Hierfür spricht ebenfalls die allerdings geringe Korrelation der sP-Selectin Plasmakonzentrationen mit denen von β -Thromboglobulin. Dieser Befund deckt sich mit den Daten von Blann et al, die über eine ähnliche Korrelation von sP-Selectin mit β -Thromboglobulin berichten [27]. Die fehlende Korrelation von sP-Selectin mit dem angiokardiographischen Schweregrad der koronaren Herzkrankheit deutet ebenfalls auf einen eher thrombozytären Ursprung des löslichen Proteins hin. Da Endothelzellen über atherosklerotischen Plaques vermehrt P-Selectin exprimieren [14], sollten sich zumindestens tendenziell erhöhte Plasmakonzentrationen gerade bei Patienten mit schwerer Ausprägung der koronaren Herzkrankheit ergeben. Eine verstärkte Expression von P-Selectin im vaskulären Endothel erfolgt lokalisiert insbesondere bei endothelialer Schädigung und Inflammation. Dabei wird P-Selectin an der endothelialen Oberfläche exprimiert, um die Interaktion von Endothelzellen mit Leukozyten, insbesondere mit Monozyten und neutrophilen Granulozyten zu modulieren [4, 5, 6]. Monozyten und neutrophile Granulozyten exprimieren neben dem P-Selectin Rezeptor PSGL-1 auch verschiedene koh-

lenhydratartige Strukturen wie das „sialyl Lewis X Oligosaccharid“ über die es zur Bindung an Thrombozyten und Endothelzellen kommt [6, 7]. Die dem Blutstrom entzogenen Leukozyten, welche locker an der Gefäßwand adhären, sind dadurch verstärkt chemotaktischen Reizen und Einflußfaktoren aus dem geschädigten Gewebe ausgesetzt und so fähig, in darunterliegende Gewebe zu migrieren [28].

Anzumerken bleibt, daß sich nach klinischen Erfahrungen die Atherosklerose in den selteneren Fällen ausschließlich auf das Koronargefäß beschränkt, sondern häufig gerade den Bereich der aortalen- und Beckengefäße mit betrifft, so daß ein alleiniger Zusammenhang von koronarem Gefäßstatus und thrombozytären Aktivierungsmarkern eher kritisch zu werten ist.

Einschränkend muß ebenfalls hervorgehoben werden, daß derzeit kein einheitlicher Referenzbereich für sP-Selectin existiert. So bewegen sich die von Fijnheer et al. bei gesunden Probanden enzymimmunometrisch, jedoch mit dem Assay eines anderen Herstellers gemessenen Plasmakonzentrationen in einem Konzentrationsbereich ähnlich dem unserer Normalprobanden [10]. Blann und Coautoren fanden dagegen mit dem auch von uns verwandten Assay sowohl bei Normalprobanden als auch bei Patienten mit peripherer Atherosklerose deutlich höhere Plasmakonzentrationen [27]. Die beobachteten Diskrepanzen lassen sich zum Teil durch eine unterschiedliche Präanalytik und differierendes Vorgehen bei der Gewinnung von plättchenarmem Citratplasma erklären [23]. So konnten Fijnheer und Mitarbeiter deutliche Konzentrationsunterschiede von sP-Selectin in Abhängigkeit vom verwendeten Antikoagulant und der Art der Zentrifugation dokumentieren [10]. Trotz sorgfältiger Durchführung einer einheitlichen und schonenden Präanalytik bei allen Patienten und Probanden läßt sich eine iatrogene Aktivierung von Thrombozyten nicht gänzlich ausschließen. Insbesondere die Verwendung von Butterfly-Kanülen und evakuierten Vacutainer-Probengefäßen sowie ein forcierter venöser Stau kann zu einer in vitro Aktivierung von Thrombozyten mit einem artifiziellen Anstieg Plättchen-spezifischer Proteine im Plasma führen [23]. Ebenfalls läßt sich bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt oder instabiler Angina pectoris unter den Bedingungen einer internistischen Notaufnahme und in Anbetracht der Schwere des klinischen Ereignisses eine standardisierte Präanalytik nur bedingt verwirklichen.

Ähnliche präanalytische Probleme sowie eine deutliche analytische Variabilität sind auch für den Parameter β -Thromboglobulin beschrieben, wobei sich der von uns an gesunden Probanden bestimmte Referenzbereich mit dem in der Literatur bzw. vom Hersteller genannten Bereich deckt [23, 29].

Im Falle des akuten Myokardinfarktes jedoch spiegeln eine erhöhte Thrombozytenkonzentration sowie signifikant erhöhte β -Thromboglobulin Plasmakonzentrationen die stattgehabte bzw. persistente thrombotische Aktivität im Rahmen einer akuten Koronar-

thrombose deutlich wider. Die sich bei akuten Myokardinfarkt im Rahmen der Plaqueruptur aufpfropfende Thrombusbildung [14] verursacht eine gesteigerte zelluläre Interaktion zwischen Endothel und Thrombozyten mit überschießender Aktivierung von Thrombozyten und damit Freisetzung von β -Thromboglobulin. Die positive Korrelation der sP-Selectin Plasmakonzentrationen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit der maximal erreichten Creatin-Kinase Aktivität weist weiterhin auf einen Zusammenhang zwischen sP-Selectin und dem Ausmaß der myokardialen Zellschädigung hin.

Die bei Patienten mit instabiler Angina pectoris unerwartet niedrig gemessenen β -Thromboglobulin Plasmakonzentrationen sowie die fehlende Differenzierung zwischen den Patientenkollektiven mittels sP-Selectin ist möglicherweise Ausdruck verschiedener Freisetzungsmechanismen, unterschiedlicher Plasmahalbwertszeiten oder einer medikamentösen Beeinflussung. Im Gegensatz zu P-Selectin ist β -Thromboglobulin in thrombozytären α -Granula als Sekretionsprodukt enthalten [23], während P-Selectin eine Membrankomponente der α -Granula darstellt. Nach Aktivierung von Thrombozyten kommt es im Rahmen der „Release-Reaktion“ zu einer Exocytose von β -Thromboglobulin. P-Selectin muß dagegen aus Membran freigesetzt werden [27]: Eine chronische Thrombozytenaggregationshemmung mittels Acetylsalicylsäure bei einer bereits bekannten und therapierten koronaren Herzkrankheit kann ebenfalls zu niedrigeren Plasmakonzentrationen von β -Thromboglobulin führen [16].

Schlußfolgerungen

Erhöhte sP-Selectin Plasmakonzentrationen können als Hinweis auf das Vorliegen einer thrombozytären Aktivierung im Rahmen der koronaren Herzkrankheit gewertet werden. Lösliches P-Selectin eignet sich jedoch nicht zur Diskriminierung der akuten Koronarsynndrome, da es unabhängig vom angiokardiographischen Schweregrad und der klinischen Symptomatik bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit generell in der systemischen Zirkulation erhöht ist. Die klinische und laboranalytische Anwendung von sP-Selectin beschränkt sich nicht zuletzt wegen einer aufwendigen Präanalytik derzeit ausschließlich auf wissenschaftliche Fragestellungen. β -Thromboglobulin erlaubt den Rückschluß auf eine ausgeprägte Thrombozytenaktivierung beim akuten Infarktgeschehen sowie eine mögliche thrombozytäre Beteiligung an der Pathogenese der Koronarathrombose im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes. Generell wird die Interpretation der Ergebnisse von thrombozytären Aktivierungsmarkern durch eine nicht einheitliche Präanalytik und analytische Probleme erschwert.

Danksagung

Wir danken Frau H. Dauwitz aus unserem Institut für ihre exzellente technische Assistenz.

Literatur

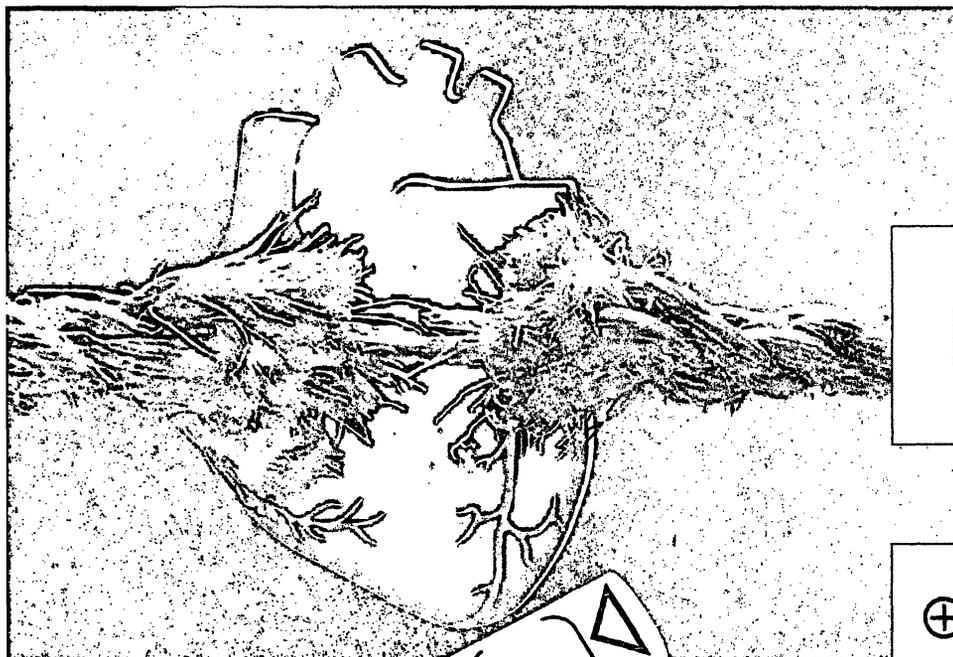
1. Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, Jacques YV, Bainton DF. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol* 1985;101:880-6.
2. Bonfanti R, Furie BC, Furie B, Wagner DD. PADGEM (GMP-140) is a component of Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *Blood* 1989;73:1109-12.
3. McEver RP. Properties of GMP-140, an inducible granule membrane protein of platelets and endothelium. *Blood Cells* 1990;16:73-83.
4. Larsen E, Celi A, Gilbert GE, Furie BC, Erban JK, Bonfanti R, Wagner DD, Furie B. PADGEM Protein: A receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. *Cell* 1989;59:305-12.
5. McEver RP. Selectins: Novel receptors that mediate leukocyte adhesion during inflammation. *Thromb Haemost* 1991;65:223-8.
6. Furie B, Furie BC. Leukocyte crosstalk at the vascular wall. *Thromb Haemost* 1997;78:306-9.
7. McIntyre TM, Modur V, Prescott SM, Zimmerman GA. Molecular mechanisms of early inflammation. *Thromb Haemost* 1997;78:302-5.
8. Tschöpe D, Schauseil S, Roesen P, Kaufmann L, Gries FA. Darstellung von Thrombozytenmembranproteinen mit monoklonalen Antikörpern im durchflußzytometrischen Bio-Assay. *Klin Wochenschr* 1988;66:117-22.
9. Dunlop LC, Skinner MP, Bendall LJ, Favalaro EJ, Castaldi PA, Gorman JJ, Gamble JR, Vadas MA, Berndt MC. Characterization of GMP-140 (P-Selectin) as a circulating plasma protein. *J Exp Med* 1992;175:1147-50.
10. Fijnheer R, Frijns CJ, Korteweg J, Rommes H, Peters JH, Sixma JJ, Nieuwenhuis HK. The origin of P-selectin as a circulating plasma protein. *Thromb Haemost* 1997;77:1081-5.
11. Katayama M, Handa M, Ambo H, Araki Y, Hirai S, Kato I, Kawai Y, Watanabe K, Ikeda Y. A monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for human GMP-140/P-selectin. *J Immunol Methods* 1992;153:41-8.
12. Ishiwata N, Takio K, Katayama M, Watanabe K, Titani K, Ikeda Y, Handa M. Alternatively spliced isoform of P-selectin is present in vivo as a soluble molecule. *J Biol Chem* 1994;269:23708-15.
13. Johnston GI, Cook RG, McEver RP. Cloning of GMP-140, a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved in cell adhesion and inflammation. *Cell* 1989;56:1033-44.
14. Johnson-Tidey RR, McGregor JL, Taylor PR, Poston RN. Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule 1. *Am J Pathol* 1994;144:952-6.
15. Schmitz G, Lachner KJ. The value of cellular markers for the assessment of cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol* 1993;4:461-70.
16. Kaplan KL. Laboratory Markers of Platelet Activation. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, editor. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, Third Edition. Philadelphia (U.S.A.): Lippincott, 1994:1182-7.
17. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (First of two parts). *N Engl J Med* 1992;326:242-50.
18. Campeau L. Grading of angina pectoris. *Circulation* 1976;54:522-530.
19. Judkins MP. Selective coronary arteriography. I. A percutaneous transfemoral technic. *Radiology* 1967;89:815-24.
20. Austen WG, Edwards JE, Frye RL, Gensini GG, Gott VL, Griffith LS, McGoon DC, Murphy ML, Roe BB. A reporting system on patients evaluated for coronary artery disease. Report of the Ad Hoc Committee for Grading of Coronary Artery Disease, Council on Cardiovascular Surgery, American Heart Association. *Circulation* 1975;51(Suppl 4):5-40.

21. Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing). ACC/AHA guidelines for exercise testing: executive summary. *Circulation* 1997;96:345-54.
22. Witt I, Besser H, Müller-Berghaus G. Minimalanforderungen zur Gewinnung von Citratplasma für hämostaseologische Untersuchungen. *Lab Med* 1995;19:143-5.
23. Niewiarowski S, Holt JC, Cook JJ. Biochemistry and physiology of secreted platelet proteins. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, editor. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*, Third Edition. Philadelphia (U.S.A.): Lippincott, 1994:546-56.
24. Amiral J, Trebaol IF, Adam A. Elisa Evaluation of β -Thromboglobulin and Platelet Faktor 4. In: Ulutin ON, Vinazzer H, editor. *Thrombosis and Hemorrhagic Diseases*. Istanbul (Türkei): Götzleren Matbeaschik 1986:376-82.
25. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Standardmethode zur Bestimmung der Aktivität der Creatin-Kinase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1977;15:249-54.
26. Ikeda H, Nakayama H, Oda T, Kuwano K, Muraishi A, Sugi K, Koga Y, Toshima H. Soluble form of P-selectin in patients with acute myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 1994;5:515-18.
27. Bland AD, Lip GYH, Beevers DG, McCollum CN. Soluble P-selectin in atherosclerosis: A comparison with endothelial cell and platelet markers. *Thromb Haemost* 1997;77:1077-88.
28. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion Molecules - Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med* 1996;335:43-5.
29. Curtis AD, Kerry PJ. Standardization of beta-thromboglobulin and platelet factor 4: A collaborative study to investigate the sources and extent of variation in the measurement of platelet specific proteins. *Thromb Haemost* 1983;50:686-9.

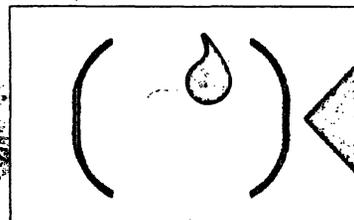
Wenn Sie schnell eine Entscheidung
treffen müssen:

TROPT[®] sensitive - Schnelltest

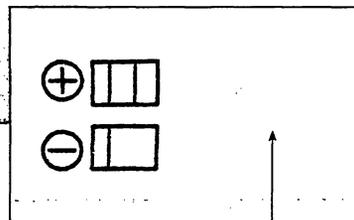
bei Verdacht auf Herzinfarkt
und zur Risikostratifizierung bei instabiler
Angina Pectoris



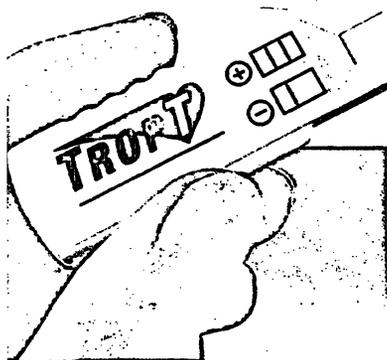
So einfach handhaben
Sie den Test:



150 µl Probe (venöses EDTA-
oder Heparinblut) in die
Auftragsöffnung pipettieren.



Ergebnis ablesen!
Gegebenenfalls die maximal
mögliche Reaktionszeit von
20 min abwarten.



- Führt schnell und ohne apparativen Aufwand zu einem Ergebnis.
- Bestätigt bei positivem Resultat eindeutig eine Myokardläsion.
- Weist zuverlässig auch Mikroinfarzierungen nach.

Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH
D-68300 Mannheim

Roche Diagnostics –
Maßstäbe setzen in Fortschritt
und Service