

## **4. Diskussion**

### **4.1 Therapie des akuten Myokardinfarktes und das Phänomen des Reperfusionsschadens**

Eine Wiedereröffnung des verschlossenen Gefäßes und somit eine Reperfusion des ischämischen Areal ist die einzige Therapieform, welche eine Reduktion der Größe eines akuten Myokardinfarktes erzielen kann. Zwei Therapieformen stehen hierfür zur Verfügung: Thrombolyse und PTCA. Beide sind etablierte und weit verbreitete Methoden. Die Reperfusion des Myokard selbst hat jedoch gleichzeitig anscheinend einen schädigenden Effekt, da sie eine akute Entzündungsreaktion in dem betroffenen Abschnitt induziert, welche zu einem sekundären zusätzlichen Schaden, dem Reperfusionsschaden, führt.

Bedingt durch die Reperfusion und somit Reoxygenierung kommt es zu einer Aktivierung der endothelialen Zellen und einem resultierenden Einstrom von Leukozyten in das Myokard. Adhäsionsmoleküle der Selektin-Familie führen dabei zu einem Rollen der Leukozyten entlang der Gefäßwand, andere Adhäsionsmoleküle der Immunoglobulinfamilie führen anschließend erst zu einer festeren Bindung und abschließend zu der Extravasation in das umliegende Gewebe. Lösliche Formen dieser Adhäsionsmoleküle können im Blut nachgewiesen werden und gelten als Marker für die Aktivierung des Endothels. Diese Arbeit wurde durchgeführt, um der Frage nachzugehen, ob die zur Verfügung stehenden Therapieformen zu unterschiedlichen Mustern der Aktivierung des Endothels führen, welche sich in messbaren Plasmaspiegeln der Adhäsionsmoleküle manifestieren.

Die löslichen Formen der Adhäsionsmoleküle, d. h. die Selektine und die Mitglieder der Immunoglobulin-Superfamilie, werden als Marker für eine Aktivierung endothelialer Zellen sowie einer Aktivierung von Leukozyten und Thrombozyten betrachtet (45,46,68,69). So wurde nachgewiesen, dass diese Adhäsionsmoleküle in veränderter Konzentration im Blut vorliegen bei Patienten, welche an einer akuten koronaren Erkrankung leiden, nach der Ruptur eines atherosklerotischen Plaques sowie in Arealen, welche einer Ischämie ausgesetzt waren und anschließend wieder reperfundiert wurden, d. h. nachdem sie eine Therapie zur Wiedereröffnung des verschlossenen Gefäßes mittels PTCA oder Lyse erhalten haben (45,70-77).

Die Arbeit bestätigt diese Beobachtungen, da auch hier veränderte Serumspiegel der löslichen Adhäsionsmoleküle nachgewiesen werden konnten. Dies resultiert vermutlich aus einer endothelialen Aktivierung als Folge der Reperfusion des ischämischen Myokards. In allen drei Patientengruppen wurde eine Erhöhung der Plasmaspiegel des sP-Selektins verglichen mit unserer Kontrollgruppe verzeichnet. Die Patienten, welche mit t-PA therapiert wurden, wiesen bei vier Parametern Besonderheiten auf. So wurden signifikant erniedrigte sL-Selektin- und sE-Selektin-Spiegel und gleichzeitig signifikant erhöhte sPECAM-1 und sVCAM-1 Werte bei diesen Patienten beobachtet. Hinzu kam, dass zum Ende des Beobachtungszeitraumes hin die Serumspiegel für sVCAM-1 innerhalb der t-PA-Gruppe signifikant anstiegen. Bezüglich des sICAM-1 konnten signifikant erhöhte Werte für die Patientengruppe nachweisen werden, welche eine PTCA erhalten hatten, wohingegen beide Lysegruppen im Normalbereich blieben. Die sE-Selektin-Spiegel für die PTCA-Gruppe hingegen waren während der 24 Stunden des Untersuchungszeitraumes signifikant erniedrigt.

#### **4.2 *in vitro* Inkubationen mit t-PA und Streptokinase**

Die *in vitro* Inkubationen wurden durchgeführt, um eine mögliche direkte Interaktion der Lyse-Therapie mit den ELISA-Kits selbst beurteilen zu können. Überraschenderweise konnten bei fast allen Parametern Unterschiede zwischen den Nativ-Kontrollen und den mit t-PA und Streptokinase inkubierten Proben festgestellt werden. Bei allen Parametern mit Ausnahme des sL-Selektins, bei welchem erhöhte Plasmaspiegel beobachtet wurden, wurden dabei reduzierte Werte für beide Lyse-Medikamente gemessen werden (bei sVCAM-1 nur für t-PA). Interessanterweise waren die Beobachtungen bei den Patienten hingegen fast exakt spiegelbildlich. Beim sL-Selektin wies die t-PA Gruppe erniedrigte Werte auf, bei den anderen Parametern waren die gemessenen Werte in den Patientenproben jeweils erhöht. Lediglich beim E-Selektin waren die Veränderungen in den *in vitro* Inkubationen und bei den Patientenproben gleichgerichtet, d.h. beide waren erniedrigt.

	<b>Veränderungen in den <i>in vitro</i> Inkubationen</b>	<b>Abweichungen der Patientenwerte von der Kontrollgruppe</b>
<b>P-Selektin</b>	=	↑
<b>E-Selektin</b>	↓	↓
<b>L-Selektin</b>	↑	↓
<b>VCAM-1</b>	↓ (nur t-PA)	↑
<b>PECAM-1</b>	↓	↑
<b>ICAM-1</b>	↓	↑

**Tabelle 3: Vergleich der Veränderungen verursacht durch die *in vitro* Inkubationen und den Therapiegruppen**

Sollte auch bei den Patientenproben eine entsprechende Interaktion zwischen den Lyse-Präparaten und den ELISA-Kits stattgefunden haben, dann müssten die eigentlichen Plasmaspiegel noch stärker von den Kontrollwerten abweichen, da sie von der Interaktion jeweils in Richtung der Kontrollwerte modifiziert werden (mit Ausnahme des E-Selektins, siehe S.31) (siehe Tabelle 3). Demzufolge sind die beobachteten Signifikanzen anscheinend nicht das Resultat dieser Interaktion mit den ELISA-Kits selbst.

### **4.3 sP-Selektin**

Das Glykoprotein P-Selektin (GMP-140, CD 62P), Molekulargewicht 140 kDa, befindet sich in  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten sowie in den Weibel-Körperchen endothelialer Zellen (78,79). Von dort wird es nach Stimulation in kurzer Zeit ( Sekunden bis Minuten) an die Zelloberfläche umverlagert, ohne dass eine neue Proteinsynthese notwendig ist. Als Stimulanzen für diese Umverteilung sind Thrombin, freie Sauerstoffradikale, eine Myokardischämie sowie die anschließende Reperfusion identifiziert worden (80,81). Ausgehend von zwei unterschiedlichen cDNA-Formen für P-Selektin konnten zwei Varianten des Moleküls identifiziert werden, welche durch alternatives Splicing der mRNA entstehen (82). Dabei handelt es sich bei der einen Form um die membranständige, bei der zweiten Form um eine lösliche Variante des P-Selektins.

Das membranständige P-Selektin ist ein wichtiger Bestandteil der Kaskade, welche zu einer

Extravasation der Leukozyten in das ischämische Myokard und dem daraus folgenden Reperfusionsschaden führt. In den initialen Phasen des Fangens der Leukozyten spielt es bereits eine Rolle, seine Hauptfunktion erfüllt es aber nach Interaktion mit seinem Liganden (Sialyl Lewis(x)) auf den Leukozyten erst anschließend (61,82,83). Durch diesen Kontakt wird das Phänomen des „Rollens“ eingeleitet (siehe Diagramm 1, S.9), bei dem sich die Leukozyten entlang der Gefäßwand bewegen. Dieser Schritt ist für die Extravasation der Leukozyten essentiell. In Tierversuchen wurde eine z.T. drastisch reduzierte Infarktgröße beobachtet, wenn Antikörper gegen P-Selektin hinzugefügt wurden, oder aber der Ligand (sialyl Lewis(x)) mittels Antikörper geblockt wurde (80,84). Die Reduzierung der Infarktgröße und der geringere Reperfusionsschaden wurden dabei mit dem reduzierten Einstrom von Leukozyten erklärt.

Die Aufgabe der löslichen Form des sP-Selektins liegt vermutlich in einer Regulation der Leukozytenadhäsion. Es konnte gezeigt werden, dass sP-Selektin die Anbindung der Leukozyten blockiert und die resultierende Aktivierung hiermit verhindert. Dies legt nahe, dass diese Form der Limitierung der Thrombosierung und der Entzündungsreaktion dient (85,86). Von einer ähnlichen Funktion geht man auch für das sL-Selektin aus, für sE-Selektin wird es vermutet (70,72,87). Im Gegensatz dazu berichtet eine andere Arbeitsgruppe, dass das Plasma-P-Selektin vermutlich die gleichen Aufgaben erfüllt wie die membranständige Form (88). Patienten nach akutem Myokardinfarkt, instabiler Angina pectoris oder nach Koronarspasmen weisen erhöhte Werte von sP-Selektin auf (74,76,88-90).

Die Beobachtungen dieser Arbeit stimmen mit diesen Ergebnissen gut überein. Das sP-Selektin könnte aus Thrombozyten oder endothelialen Zellen im Bereich des infarzierten Myokards stammen. Die Abnahme der sP-Selektin-Konzentration nach 8 Stunden kann seine Ursache in einer Reduzierung des Stimulus, d.h. der Myokardischämie, als Folge der Therapie haben. Die hämodynamischen Verbesserungen, welche durch die Rekanalisation erreicht wurden, könnten dabei die P-Selektin-Expression beeinflussen. Die Elimination der koronaren atherosklerotischen Läsionen kann die Thrombinproduktion sowie die Thrombozyten- und Endothelaktivierung reduzieren, welche beide potente Stimuli für eine Hochregulierung von P-Selektin darstellen (80). Hingegen stimulieren freie Sauerstoffradikale, welche dank der myokardialen Reoxygenierung erst produziert werden, die P-Selektin-Produktion. Alle diese Faktoren sind beteiligt an der Einleitung und der Beschleunigung der Kaskade, welche zu einer Adhäsion der Leukozyten an die Gefäßwand führt.

Es wurde berichtet, dass eine thrombolytische Therapie mit t-PA selbst, unabhängig von dem lytischen Effekt, durch die Generierung von Plasmin zu einer Freisetzung von Thrombin, PAF, Komplementfaktoren und P-Selektin führt (77,91). In dieser Arbeit konnten diese Beobachtungen nicht bestätigt werden, vielmehr führte die Lysetherapie mit t-PA im Vergleich zu den anderen Gruppen zu einem etwas geringeren Anstieg. In dieser Messreihe konnte kein Unterschied hinsichtlich der sP-Selektin-Konzentrationen zwischen Patienten, welche eine Lysetherapie erhalten hatten, oder Patienten nach mechanischer Rekanalisation, verzeichnet werden. Es scheint daher so, dass die verzeichneten Beobachtungen nicht so sehr ihre Ursache in der Therapie mit einem bestimmten thrombolytischen Medikament haben, sondern vielmehr eine Rekanalisation des oder der verschlossenen Gefäße darstellen.

Die gefundenen erhöhten Serumspiegel innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem akuten Infarkt spiegeln eine Aktivierung der endothelialen Zellen und Thrombozyten als Resultat der Reperfusionstherapie wider. Der zeitliche Verlauf der gemessenen Konzentrationen in dieser Arbeit bestätigt dabei bisherige Beobachtungen, die ebenfalls erst einen Anstieg, dann eine Reduktion der sP-Selektin-Konzentrationen innerhalb der ersten 24 Stunden nach erfolgreicher Reoxygenierung des Myokards verzeichneten (92,93).

#### **4.4 sE-Selektin**

E-Selektin (ELAM-1, CD62E), ein Mitglied der Selektin-Familie, ist ein Zelloberflächen-Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 115 kDa. Es wird ausschließlich von endothelialen Zellen exprimiert, nachdem diese durch Zytokine wie TNF- $\alpha$  (Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  (Interleukin- $\beta$ ) oder bakterielle Endotoxine stimuliert wurden (94). Dabei kommt es im Gegensatz zu P-Selektin zu einer Proteinneusynthese, so dass erst nach 2 – 4 Stunden ein erster Anstieg der E-Selektin-Konzentration zu verzeichnen ist (95).

Wie das P- und L-Selektin so ist auch das E-Selektin in einen frühen Schritt der Leukozyten-Extravasation, in das Rolling, involviert (54,58,61,86). Dabei bindet auch E-Selektin an das o. g. Sialyl Lewis(x) an, zusätzlich hat die Bindung an weitere Rezeptoren für andere Erkrankungen (z.B. Sialyl Lewis(a), welches v. a. von einigen Tumorzellen exprimiert wird) verstärkte Bedeutung (82). So spielt es in Entzündungen der Atemwege, bei entzündlichen Darmerkrankungen sowie beim

septischen Schock mit multiplen Organversagen pathophysiologisch eine Rolle (83,96). Eine lösliche Form, das sE-Selektin, kann im Blut nachgewiesen werden, nachdem es von endothelialen Zellen abgeschilfert wurde.

Die Werte der Patientengruppen unterschieden sich in dieser Arbeit während des Beobachtungszeitraumes nicht signifikant voneinander. Dabei waren die Serumspiegel für sE-Selektin in der t-PA- und PTCA-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt oder im niedrigen Normalbereich. Diese erniedrigten Werte müssen vor dem Hintergrund der Beobachtungen in den *in vitro* Inkubationen betrachtet werden. Auch wenn die Abweichungen in den t-PA Gruppe signifikant deutlicher ausfielen, als in den *in vitro* Inkubationen (Kontrolle  $29.3 \pm 2.2$ , + tPA *in vitro*  $28.1 \pm 2.0$ , t-PA Patientengruppe  $17.6 \pm 2.5 - 21.9 \pm 2.7$ ;  $p < 0.05$ ), so kann ein Einfluss auf die Beobachtungen jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Die Bedeutung von E-Selektin in der frühen Phase der Leukozytenadhäsion wird unterschiedlich beurteilt. Einige Studien zeigten, dass ein ischämisches Geschehen als Folge einer Angina pectoris oder eines Myokardinfarktes zu erhöhten sE-Selektinspiegeln führt und dass Antikörper gegen E-Selektin einen protektiven und myokarderhaltenden Effekt haben (71,97,98). Andere Arbeitsgruppen konnten dagegen zeigen, dass keine erhöhten sE-Selektinspiegel vorlagen und anti-E-Selektin-Antikörper *in vivo* und *in vitro* keinen hemmenden Einfluss auf eine neutrophile Adhäsion an Endothelzellen hatten (93-95,98-100). Auch konnten in diesen Arbeiten keine erhöhten Spiegel an sE-Selektin gefunden werden, vielmehr wurden sogar mit dieser Arbeit vergleichbar niedrige oder sogar reduzierte Werte beschrieben (101-103). Es wurde daher vermutet, dass E-Selektin bei diesen Prozessen keine entscheidende Rolle zukommt, und dass ein Ischämie-Reperfusionereignis keinen potenten Aktivator darstellt (87,99).

Erklärt werden kann das mit einer potentiell nur untergeordneten Rolle des sE-Selektins bei den Vorgängen, welche zum akuten Myokardinfarkt führen, sowie mit einer nur geringen Stimulation der E-Selektin-Synthese durch die Reperfundierung des ischämischen Areals. Andererseits besteht die Vermutung, dass lösliche Adhäsionsmoleküle als eine Art Puffersystem zur Begrenzung und Regulation der Zelladhäsion fungieren, im Zuge dessen die sE-Selektinmoleküle gebunden und damit verbraucht werden (71).

Die z. T. höheren Mittelwerte in der Streptokinase-Gruppe sind hauptsächlich auf einen einzelnen

Patienten zurückzuführen, welcher fünffach erhöhte Werte gegenüber den restlichen Patienten aufwies. Dieser Patient verstarb noch auf der Intensivstation. Warum er derart abweichende sE-Selektin-Werte aufwies, bleibt unklar. Es besteht keine Korrelation zu erhöhten Werten bei den anderen gemessenen Parametern. Die Werte könnten jedoch die Hypothese unterstützen, dass anhand erhöhter Spiegel bei löslichen Adhäsionsmolekülen prognostische Aussagen über den klinischen Verlauf gezogen werden können und dass Adhäsionsmoleküle einen direkten pathophysiologischen Einfluss in die atherosklerotischen Vorgänge haben (104-106).

Diese Ergebnisse und die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen legen nahe, dass sE-Selektin kein sensitiver Marker für eine endotheliale Aktivierung bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt darstellt (86,97,99,102), und es handelt sich vermutlich nicht um einen primären Mediator in der frühen Phase des Ischämie-Reperfusionsschadens (86,103).

#### **4.5 sL-Selektin**

Das dritte Mitglied der Selektin-Familie, das L-Selektin (LAM-1, LECAM-1, CD62L) ist ein Zelloberflächen-Glykoprotein, welches auf einer Vielzahl an Leukozyten exprimiert wird. Je nachdem, ob es auf Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten oder Monozyten gefunden wird, wurde ein unterschiedliches Molekulargewicht von ~75 kDa, ~100 kDa oder ~110 kDa bestimmt (83).

Wie auch die anderen Selektine, so ist auch das L-Selektin in der initialen Phase der Leukozytenadhäsion vor allem zusammen mit P-Selektin von entscheidender Bedeutung. Das Fangen der Leukozyten aus dem Fluss heraus ist dabei die Domäne des L-Selektins (61). Antikörper, welche die Funktion des L-Selektins blockieren, inhibieren das Rollen der Leukozyten entlang der Gefäßwand (siehe Diagramm 1) (107,108). Dieses Konzept der Funktion des L-Selektins wurde weiter unterstützt, als nachgewiesen wurde, dass die Lokalisation von L-Selektin an den Spitzen der Mikrovilli der Leukozyten für eine Adhäsion von entscheidender Bedeutung ist, diese topographische Anordnung aber keine Bedeutung mehr hat, wenn der Kontakt bereits hergestellt wurde (109). Ferner können sich, wenn im Zuge einer Entzündung das mikrovaskuläre Endothel bereits mit Leukozyten bedeckt ist, neu hinzukommende weitere Leukozyten an die bereits adhärenen mittels eines L-Selektin-abhängigen Mechanismus anbinden (110).

Als Folge einer Aktivierung der Leukozyten durch Zytokine können diese L-Selektin mittels einer proteolytischen Spaltung in das Serum abschilfern (83,111). Während mehrere Zytokine, so z.B. TNF- $\alpha$  (Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$ ), einem ähnlichen Mechanismus folgen wie das L-Selektin, so ist dieser Modus innerhalb der Adhäsionsmoleküle einzigartig. Daraus folgt, dass die physiologische Basiskonzentration von sL-Selektin die der anderen löslichen Adhäsionsmoleküle übersteigt. Diese Abspaltung findet nahe der Zellmembran statt, so dass die extrazelluläre Domäne intakt erhalten bleibt und damit auch die Fähigkeit, an die entsprechenden Liganden anzubinden. Gesunde Personen sind in der Lage, schnell große Mengen an sL-Selektin abzuschilfern.

Es konnte gezeigt werden, dass das sL-Selektin eine Leukozytenadhäsion hemmt und Antikörper gegen L-Selektin sich auch an die gelöste Form anheften. Diese Hemmung ist von Bedeutung in Gebieten mit geringer Leukozytenaktivierung, um eine überschießende Adhäsion zu unterbinden (72), und kann Teil einer physiologischen Reaktion auf das ischämische Geschehen sein.

Bei Patienten mit akuten Erkrankungen, wie z. B. Sepsis, sind erhöhte Werte von sL-Selektin gemessen worden. Bei längerfristigen pathologischen Zuständen, wie z. B. dem Kawasaki-Syndrom, ARDS (acute respiratory distress syndrome) und bei einer Reihe beatmeter Intensivpatienten hingegen werden erniedrigte Werte gegenüber gesunden Personen gemessen (112-115). Da auch die ischämische Herzkrankheit ein chronisches Geschehen ist, wurden auf der Basis von niedrigeren L-Selektin-Werten ebenfalls reduzierte sL-Selektin-Spiegel erwartet (116). Dies fand sich bestätigt in den signifikant reduzierten Werten für sL-Selektin in der t-PA-Gruppe während des gesamten Beobachtungszeitraumes. Die gemessenen Werte in der Streptokinase- und PTCA-Gruppe hingegen blieben im Normalbereich.

Die reduzierten Serumspiegel könnten Zeichen einer chronischen Abregulierung des L-Selektins sein. Außerdem ließe sich spekulieren, dass im Zuge des adhäsionsregulierenden Effektes der löslichen Form, welche durch kompetitives Agieren mit der membranständigen Form stattfindet, die sL-Selektin-Moleküle auf Grund einer *de novo*-Synthese von Liganden verbraucht werden. Die deutlich erniedrigten sL-Selektin-Spiegel könnten somit als Indiz für eine derartige Ligandenneusynthese gesehen werden. In beiden Fällen sind die deutlich erniedrigten sL-Selektin-Spiegel Zeichen einer Aktivierung der Leukozyten aufgrund der durch die Therapie ausgelösten Reperfusion des ischämischen Myokards.

## 4.6 sVCAM-1

VCAM-1 (CD 106), ein Mitglied der Immunoglobulin-Superfamilie, ist ein 90 kDA großes Zelloberflächen-Glykoprotein, das auf Endothelzellen gefunden wird. Nach Aktivierung der Endothelzellen durch Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-6, INF- $\gamma$  und Thrombin, wird VCAM-1 auf diesen Zellen exprimiert (117). Da es nicht vorrätig in den Zellen vorliegt, eine Neusynthese von mRNA und Proteinen somit notwendig ist (83), erklärt sich daraus, dass erst nach einer Verzögerung von 6 – 10 Stunden mit einem Anstieg im Serum gerechnet werden kann. Es bindet dann vor allem an mononukleäre Zellen, wie Lymphozyten, Monozyten und eosinophile Granulozyten über deren  $\beta_1$ -Integrin VLA4 (CD 49d/CD29) an (118). Die lösliche Form, das sVCAM-1, entsteht wie auch das sL-Selektin durch eine Abspaltung nahe der Zellmembran (119).

Die biologische Funktion des sVCAM-1 ist bisher nicht vollständig aufgeklärt. Bekannt ist, dass sVCAM-1 eine direkte, potente angiogenetische Komponente hat. Weiterhin könnte es sich zum einen um das Ausschüttungsprodukt nach einer Freigabe von den Endothelzellen aufgrund einer entzündlich bedingten Aktivierung handeln, zum anderen könnte das sVCAM-1 eine ähnliche modulierende Aufgabe für die zytokininduzierte membranständige Form des VCAM-1 als kompetitiv regulierender Faktor für die Zelladhäsion haben, wie es vom sL-Selektin und sICAM-1 bekannt ist.

Der Anstieg in der t-PA-Gruppe deckt sich zeitlich mit dem erwarteten Bereich. Ein früherer Anstieg wäre aufgrund der notwendigen Proteinneusynthese nicht zu erwarten gewesen und korreliert pathophysiologisch mit der erst verspäteten Akkumulation der Monozyten und eosinophilen Granulozyten. Die Beobachtungsergebnisse für das sVCAM-1 deuten ebenfalls auf eine endotheliale Aktivierung als Folge der Reperfusion hin. Für eine weitere Verfolgung des Verlaufes wäre ein längerer Beobachtungszeitraum wünschenswert gewesen.

Die Beobachtungen in dieser Arbeit bezüglich sVCAM-1 stimmen hinsichtlich des Zeitverlaufes gut mit den Ergebnissen früher Arbeiten überein. Generell sind die bisher beobachteten Daten für sVCAM-1 jedoch uneinheitlich. So wurden in einigen Studien von Beginn an erhöhte Werte bei Patienten mit instabiler Angina Pectoris, dokumentierter Koronarerkrankung oder essentiellen

Bluthochdruck gemessen, wohingegen andere Untersuchungen keine von gesunden Spendern abweichenden Werte registrierten (73,101,104,120-122). Nachgewiesen konnte jedoch werden, dass VCAM-1 für die Adhäsion und Transmigration besonders von Monozyten und eosinophilen Granulozyten von Bedeutung ist (123,124).

In der Frühphase der akuten Entzündungsreaktion scheint sVCAM-1 nur eine untergeordnete Rolle zu spielen, es könnte jedoch in einer späteren Phase ebenfalls ein nützlicher Marker für eine endotheliale Aktivierung sein.

#### **4.7 sPECAM-1**

Für die letzte Phase der Extravasation der Leukozyten aus dem Blutgefäß heraus, der Transmigration, ist PECAM-1 (CD 31, hec7, endoCAM) essentiell. Es handelt sich um ein 130 kDa großes transmembranöses Glykoprotein, welches ebenso wie VCAM-1 und ICAM-1 ein Mitglied der Immunglobulin-Superfamilie darstellt. Es wird von einer Vielzahl von Zellen, so u. a. von Thrombozyten, basophilen und neutrophilen Granulozyten, B-Zellen, natürlichen Killerzellen und Monozyten, in größter Dichte jedoch an den interzellulären Verbindungen der Endothelzellen exprimiert (125,126). Bedingt durch ein unterschiedliches Splicing der RNA entstehen verschiedene Isoformen des PECAM-1-Moleküls, was dazu führt, dass es membrangebundene und lösliche Varianten gibt (127). Zu einer Besonderheit dieses CD31 gehört, dass es zu homophilen wie heterophilen Interaktionen fähig ist, d. h. dass es sowohl zu Bindungen zwischen CD31-Molekülen untereinander als auch mit anderen Liganden wie dem  $\alpha_v\beta_3$ -Integrin kommen kann.

Zu den Aufgaben des PECAM-1 gehören die Initiation von interendothelialen Zellkontakten, die Aktivierung von Integrinen auf Leukozyten und, besonders für diese Arbeit von Interesse, die Mediation der Leukozytenmigration durch die Endothelschicht (128,129). Die Bedeutung von PECAM-1 für diese Aufgabe bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt konnte in Antikörperversuchen im Tierversuch eindrucksvoll belegt werden. So war die Infarktgröße bei Tieren, welchen ein Antikörper gegen PECAM-1 gegeben wurde, aufgrund des beeinträchtigten Leukozyteneinstroms deutlich gegenüber den Kontrolltieren reduziert (126,130).

Auch in dieser Studie fanden sich signifikant erhöhte Werte für sPECAM-1. Jedoch waren diese Werte wie auch schon für das sL-Selektin und das sVCAM-1 nur auf die Patientengruppe beschränkt, welche eine Lyse mit t-PA erhalten hatten.

Erhöhte Spiegel der löslichen Form des PECAM-1 gelten u. a. als Zeichen für eine Aktivierung des Endothels. Ob das lösliche PECAM-1 eine ähnliche Rolle spielt wie die anderen beschriebenen löslichen Formen der Adhäsionsmoleküle, nämlich einer Leukozytenadhäsions-Limitierung dient, ist unklar. Bei Patienten mit akutem Infarkt ereignis wurden auch in anderen Studien erhöhte Werte beobachtet (131,132). Dabei wurden Umverteilungen zwischen in Thrombozyten gelagertem PECAM-1 und dem im Plasma gelösten registriert. Dies bietet Anhaltspunkte für eine Interaktion in der Reperfusionssituation, welche die Konzentrationsänderungen durch Umverteilung z. T. erklären können. In einer prospektiven Studie fanden sich bei solchen Patienten derart stark erhöhte Werte, dass die beobachtende Arbeitsgruppe sogar von potentiell diagnostisch verwertbaren Daten bei diesen Patienten ausging (133).

Folgernd aus anderen Studien und diesen Ergebnissen ist sPECAM-1 potentiell ein weiterer nützlicher Marker für eine endotheliale Aktivierung im Zuge der Reperfusionssituation, welche nach akutem Myokardinfarkt durch eine Revaskularisationstherapie ausgelöst wird.

## **4.8 sICAM-1**

Eines der bisher vermutlich am besten untersuchte Adhäsionsmoleküle, das ICAM-1, gehört, wie auch das VCAM-1 und das PECAM-1, zu der Immunoglobulinfamilie. Es wird als Oberflächenglykoprotein von 95 kDA Größe von Endothelzellen, sowie von Lymphozyten, Makrophagen und einigen Tumorzelllinien in geringem Maße basal exprimiert (61,83,134). Im Zuge der Aktivierung der Endothelzellen und der Leukozyten wird eine verstärkte Exprimierung durch Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 und IFN- $\gamma$  induziert (83,135). Mittels Bindung an die Liganden Mac-1 (CD11b/C18 ) und LFA-1 (CD11a/CD18) ist es entscheidend daran beteiligt, die losen Verbindungen zwischen Leukozyten und Endothelzellen, welche durch die Selektine aufgebaut wurden, durch eine festere Adhäsion zu ersetzen (61,136,137). Eine lösliche Form des ICAM-1 kann im Blut in geringer Menge nachgewiesen werden. Es gibt keinen Hinweis auf eine eigene Synthese, und man nimmt an, dass es, wie auch z.B. das L-Selektin, von den Zelloberflächen

abgeschilfert wird (119,138). Dieses sICAM-1 hat anscheinend wie auch die anderen löslichen Adhäsionsmoleküle einen regulierenden und hemmenden Effekt auf die Leukozytenadhäsion (139).

Im Hinblick auf die vorangegangenen vorgestellten Adhäsionsmoleküle sind die Ergebnisse dieser Studie teilweise überraschend. Ausschließlich bei der PTCA-Gruppe konnten erhöhte Werte gemessen werden, jedoch normale Serumspiegel in den beiden Gruppen, welche eine Lysetherapie erhalten hatten und in der Kontrollgruppe.

In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass sICAM-1 in pathologischen Situationen, wie z.B. im septischen Schock, bei Diabetes mellitus und bei Autoimmunerkrankungen, aber vor allem bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt in der Ischämie-Reperfusionssituation in erhöhten Spiegeln im Blut vorliegt (73,74,96-99,102-104,116). Die Bedeutung des ICAM-1 in der Ischämie-Reperfusionssituation nach akutem Myokardinfarkt wird unterstrichen durch Tierversuche, in denen eine Antikörpergabe gegen ICAM-1 zu einer drastischen Reduktion der Infarktgröße, bedingt durch den verminderten Leukozyteneinstrom in das Myokard, führte (70,140).

Es wurde sogar spekuliert, dass erhöhte sICAM-1-Werte ein eigenständiger Risikofaktor für einen Myokardinfarkt sein könnten, und es wurde bei bereits durchlebtem Infarkt eine Korrelation zwischen erhöhten sICAM-1 Werten und einer schlechteren klinischen Prognose für den Patienten beschrieben (74,104,140,141).

Der Anstieg der Serumwerte in der PTCA-Gruppe könnte auch hier für eine Aktivierung des Endothels sprechen. Warum diese Aktivierung nur in der PTCA-Gruppe aufgetreten ist, bleibt unklar. Denkbar wäre, dass das sICAM-1 nicht nur im Gefäßendothel seinen Ursprung hat, sondern hauptsächlich aus dem atherosklerotischen Plaque stammt. Es konnte gezeigt werden, dass diese Plaques, welche im Falle des Rupturierens die Hauptursache für einen akuten Myokardinfarkt darstellen, glatte Muskelzellen enthalten und ICAM-1 exprimieren können (103,142-144). Im Zuge der mechanischen Manipulation des Plaque und des umliegenden Endothels durch die Ballondilatation könnte es dann zu einer Ausschüttung kommen. Jedoch ist dieser Reiz verglichen mit dem Stimulus, welcher das ischämische und dann reperfundierte Areal darstellt, eigentlich zu gering, um eine ausreichende Erklärung zu gestatten.

Im Gegensatz zu anderen Beobachtern (96) deuten die Ergebnisse dieser Studie darauf hin, dass sICAM-1 in die Prozesse, welche durch die PTCA ausgelöst werden, involviert zu sein scheint.

## 4.9 Die besondere Rolle der t-PA-Gruppen

Alle in dieser Studie gemessenen Parameter zeigten signifikant veränderte Werte verglichen mit der Kontrollgruppe, was auf eine endotheliale Aktivierung als Folge der Reperfusionstherapie oder des akuten Myokardinfarktes selbst hinweisen könnte.

Obwohl es bereits eine Reihe von Studien bezüglich löslicher Adhäsionsmoleküle bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt vor dem Hintergrund des Ischämie-Reperfusion-Ereignisses gegeben hat, ist dies die erste Studie, in der diese drei Therapieregime (t-PA-Lyse, Streptokinase-Lyse und PTCA) in separaten Gruppen getrennt dargestellt werden. Interessanterweise konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Serumspiegel von sL-Selektin, sVCAM-1 und sPECAM-1 beobachtet werden in der Gruppe, die mit einer t-PA-Lyse behandelt wurde.

Die Gründe für diese selektiven Anstiege bei dieser Gruppe von Faktoren können sehr unterschiedlicher Genese sein. Möglich wäre ein direkter Einfluss des t-PA auf das Endothel in den betroffenen Arealen oder auf die Zytokinkaskade, die in den gelösten Adhäsionsmolekülen ihren Ausdruck findet. So ist bekannt, dass t-PA unabhängig von seinem lytischen Effekt zu einem Anstieg des P-Selektins führen kann, da vermehrt Thrombin freigesetzt wird. Dieses stellt einen Stimulus für die P-Selektin-Freisetzung dar (77) und kann auch sekundär Auswirkungen auf andere Adhäsionsmoleküle haben (145). Weiterhin wurde beobachtet, dass t-PA als Funktion der Zeit auch einen direkten Einfluss auf die vaskuläre Immunreaktion für E-Selektin, P-Selektin und ICAM-1 zu haben scheint (146). Warum diese drei Faktoren in dieser Arbeit keine Unterschiede bei den Plasmakonzentrationen hinsichtlich der t-PA Gruppen zeigten, bleibt unklar. Für die anderen untersuchten Faktoren gibt es bisher keine diesbezüglichen Untersuchungen.

## 4.10 Grenzen der Arbeit

Das inhomogene Bild der einzelnen Faktoren in der Gesamtdarstellung als Ausdruck einer Endothelaktivierung ist ein schon früher beobachtetes Phänomen. So wurden bei ein und demselben Patienten für einige Adhäsionsmoleküle erhöhte Werte registriert, während andere im Normalbereich blieben (98,99,103,120). Die Gründe für diese ungleichmäßigen und unregelmäßigen Beobachtungen sind bisher ungeklärt. Z. T. können sie ihre Ursache in den verwobenen Zytokinkonstellationen als Folge der Ischämie haben, die zu sehr unterschiedlichen Mustern an aktivierten Adhäsionsmolekülen führen (83). Diese Kaskaden sind erst zu einem Teil aufgeklärt und bedürfen weiterer Untersuchungen.

Eine Limitierung der Aussagefähigkeit der Studie liegt darin, dass keine Werte für einen Zeitpunkt vor Therapiebeginn ermittelt wurden, somit der anzunehmende Einfluss der Therapie auf die gezeigten Unterschiede letztendlich nicht bewiesen werden kann.

Weiterhin kommt bei der Interpretation der Daten hinzu, dass neben der Synthese und dem Abschliffen der Faktoren auch deren Clearance und der Verbrauch durch Liganden für die Plasmakonzentrationen von Bedeutung ist, dies zumal bei Patienten mit reduzierter kardialer Leistung. Hierüber liegen jedoch keine Untersuchungen vor. Da ferner zwischen einzelnen Parametern eine Korrelation bezüglich erhöhter Werte fehlt, könnten diese von dritten Faktoren abhängig sein oder reguliert werden.

Adhäsionsmoleküle, die Leukozyten-Endothel-Interaktionen bei AMI-Patienten modulieren, unterliegen einer Vielzahl komplexer Einflüsse und Veränderungen. Sowohl die post-ischämischen Ereignisse im Zuge der Rekanalisation des verschlossenen Areals als auch die Art der Therapie sind anscheinend von Bedeutung. Weitere Untersuchungen zur Klärung der Unsicherheiten, möglichst in Studien mit einem größeren Patientenkollektiv und späterem Endpunkt, sind daher wünschenswert.

## **4.11 Ausblick auf den klinischen Nutzen von Adhäsionsmolekülen im Zusammenhang des AMI**

Die Diagnose des akuten Myokardinfarktes folgt etablierten und mit der Zeit immer besser erforschten Bahnen. Auch die Therapie war bereits das Ziel zahlloser Forschungsprojekte, ist jedoch nach wie vor einem steten Wandel unterworfen, und es wurde nie aufgehört, nach Verbesserungen oder Zusätzen zu etablierten Therapieschemata zu suchen.

Hier könnte ein Anwendungsgebiet der Ergebnisse zu Adhäsionsmolekülen beim akuten Myokardinfarkt liegen. In Tierversuchen wurde eindrucksvoll der Effekt von Antikörpern gegen Adhäsionsmoleküle und die daraus resultierende Reduktion in der Infarktgröße gezeigt. Besonders dem P-Selektin könnte hier eine wichtige Rolle zukommen (59,80,87). Die Modulation der Entzündungsreaktion, die mit dem ischämischen Geschehen einhergeht, stellt möglicherweise einen neuen Ansatzpunkt in der Behandlung oder sogar Prävention des akuten Koronarsyndroms dar.

Ein weiterer Anwendungsbereich könnte in der Nutzung zur Einschätzung des Erfolges einer rekanalisierenden Therapie liegen. Wenn Plättchen-Leukozyten-Endothel-Interaktionen eine derart entscheidende Rolle im Zuge des pathologischen Geschehens des Myokardinfarktes spielen, dann könnte das Ausmaß der Hochregulation der Adhäsionsmoleküle die Therapie und ihre Wirksamkeit beeinflussen. So wurde z.B. spekuliert, dass sP-Selektin ein nicht-invasiver Indikator für den Erfolg einer Lysetherapie darstellen könnte (92,147).

Ob und welche Adhäsionsmoleküle herangezogen werden können, klinische Langzeitprognosen für Patienten nach durchlebtem Infarkt zu machen, ist noch unklar. Sie gelangten vermehrt in den Mittelpunkt des Interesses, als berichtet wurde, dass erhöhte Plasmakonzentrationen verschiedener Faktoren assoziiert zu sein scheinen mit einem gesteigerten Risiko, in der Zukunft ein kardiales Ereignis zu erleiden (105,106,141,148). Ob bestimmte Adhäsionsmoleküle, sollten sie in erhöhten Konzentrationen im Plasma auftreten, vielleicht sogar einen eigenständigen Risikofaktor darstellen, ist noch nicht zu beurteilen. Die Daten über prädiktive Eigenschaften sind bisher sehr uneinheitlich und bedürfen noch genauerer Evaluation.