

Die Rolle von Magnesium bei der endogenen Aktivierung der Fibrinolyse durch lokale Azidose in Abhängigkeit von prädikativen Parametern des Blutes*

S. Golf¹⁾, D. Kuhn¹⁾, A. Zebelin¹⁾, V. Graef¹⁾, H. Temme¹⁾, L. Róka¹⁾ und J. Cseke²⁾

Zusammenfassung

Körperlicher Streß aktiviert das fibrinolytische System und die Koagulabilität des Blutes. Der Mechanismus, welcher zu diesen Veränderungen führt, ist erst unbefriedigend geklärt. Die dem körperlichen Streß folgenden Zeitverlaufskurven des Laktats, die Konzentration der Lipoproteine hoher Dichte, sowie der Transfer des Magnesiums aus den Zellen könnten ein Teil der Effektoren sein, welche die genannten Störungen des hämostaseologischen Systems auslösen.

70 gesunde Teilnehmer (34 weiblich, 36 männlich), zwischen 15 und 69 Jahre alt, führten einen venösen Stauungstest nach dem ECAT-Protokoll durch: zehnjährige Stauung des linken oder rechten Unterarms mit einem Staudruck von 15 mm Hg über diastolischem Druck, zumindest aber 90 mm Hg. Blut wurde aus kontralateralem Arm vor und nach dem Test aus dem gestauten Bereich entnommen.

Der Gewebe-Plasminogen-Aktivator (tPA) korrelierte vor dem Test mit der Triglyzeridkonzentration im Plasma.

Die streßinduzierte Laktatbildung korrelierte positiv mit dem Anstieg von tPA. Der Anstieg der Fibrinogenkonzentration und von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI) korrelierten mit der Cholesterin- und LDL-Cholesterin-Konzentration im Plasma. Der durch den Stauungstest ausgelöste Anstieg des Plasma-Magnesiums korrelierte positiv mit den entsprechenden Veränderungen der Fibrinogenkonzentration und des PAI.

Körperlicher Streß induziert Störungen des Fibrinolyse- und Gerinnungssystems. Zu diesen Störungen tragen möglicherweise Cholesterin, LDL-Cholesterin, die Laktatbildung und der Transfer zellulären Magnesiums zum Plasma bei. Körperlicher Streß könnte magnesiumabhängige, latente Störungen der Fibrinolyse und Gerinnung anzeigen, die ansonsten nicht evident wären.

perlicher Streß könnte magnesiumabhängige, latente Störungen der Fibrinolyse und Gerinnung anzeigen, die ansonsten nicht evident wären.

Summary

Physical stress has been shown to enhance the fibrinolytic system and to cause an increase of coagulability of blood. The mechanisms of these changes are not completely known. Response curves of blood lactate and high-density lipoprotein concentrations and magnesium release from cells may be part of the stimuli, which induce these perturbations of the hemostatic system.

70 Healthy volunteers (34 female, 36 male persons), 15 to 59 years old, carried out a venous occlusion test using the ECAT protocol: stasis of the left forearm for 10 minutes with at least 90 mm Hg diastolic blood pressure. Blood was obtained before and after the test by a single venipuncture.

Tissue plasminogen activator (t-PA) concentration before the occlusion test correlated positively with triglyceride concentration.

Stress induced lactate formation correlated positively with increase of t-PA. Fibrinogen (FBG) increase and plasminogen activator inhibitor (PAI) increase were correlated with cholesterol and LDL concentration. Increase in plasma magnesium correlated positively with increase in FBG and increase in t-PA inhibitor.

Exercise induces imbalances of fibrinolytic and blood coagulation system. The mechanism of these changes possibly includes cholesterol and LDL concentration, lactate formation, and release of cellular magnesium. Physical stress might visualize magnesium dependent latent fibrinolytic and coagulation disorders, which are not evident otherwise.

Résumé

Le stress physique entraîne une activation du système fibrinolytique et une augmentation de la coagulabilité du sang. Le mécanisme qui préside à ces altérations n'a pas encore été élucidé. Les courbes de réactivité du lactate sanguin, la concentration en lipoprotéines de haute densité ainsi que la libération de magnésium cellulaire semblent constituer autant d'effecteurs qui sont à l'origine de ces troubles du système hémostatique.

70 sujets sains (34 femmes, 36 hommes) âgés de 15 à 59 ans se sont prêtés à un test d'occlusion veineuse selon le protocole ECAT: stase de 10 minutes de l'avant-bras gauche et droit avec augmentation d'au moins 90 mm Hg de la pression diastolique. Du sang a été prélevé avant et après le test par ponction veineuse dans le terrain stasé.

La concentration de l'activateur du plasminogène tissulaire (tPA) corréla, avant le test d'occlusion, avec la concentration en triglycérides dans le plasma.

La formation de lactate induite par le stress corréla bien avec l'augmentation du tPA. L'accroissement de la concentration en fibrinogènes et en tPA corréla avec la concentration de cholestérol et lipoprotéines de basse densité. Il y avait aussi corrélation positive entre l'augmentation du magnésium dans le plasma, entraînée par suite de l'occlusion, et les modifications de concentration en fibrinogènes, l'augmentation du tPA et l'augmentation de l'inhibiteur du tPA.

Le stress physique induit des troubles de la fibrinolyse et de la coagulation. Il apparaît que ces troubles sont à imputer au cholestérol, aux lipoprotéines de basse densité, à la formation de lactate et à la libération de magnésium tissulaire dans le plasma. Le stress physique pourrait être révélateur de perturbations latentes de la fibrinolyse et de la coagulation imputables au magnésium, perturbations qui autrement passeraient inaperçues.

Institut für Klinische Chemie¹⁾ und Betriebsärztliche Untersuchungsstelle²⁾, Klinikum der JLU, D-6300 Gießen

* Die Publikation enthält wesentliche Teile der Dissertation von D. Kuhn.

Die Rolle von Magnesium bei der endogenen Aktivierung der Fibrinolyse durch lokale Azidose in Abhängigkeit von prädikativen Parametern des Blutes

Einführung

Blutgerinnung, Fibrinolyse und Inhibition der Fibrinolyse sind Komponenten eines interaktiven und funktionellen Komplexes, welcher sicherstellt, daß Blut im flüssigen Zustand bleibt.

Selbst unter physiologischen Bedingungen ist die Blutgerinnung ständig aktiviert, indem Fibrin in den Gefäßen abgelagert wird. Durch Fibrinolyse werden die Fibrinablagerungen aufgelöst. Das Potential zur starken Aktivierung der Fibrinolyse wird als „gute Response“, die verminderte Aktivierung der Fibrinolyse als „schlechte Response“ bezeichnet.

Lokale Azidose kann die fibrinolytische Aktivität als Teil der allgemein aktivierten Gerinnung verstärken [1]. Es wurde vermutet, daß die Zunahme des Blutlaktats und die Lipoproteine hoher Dichte (HDL) unter den Faktoren sind, welche diese Störungen des Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systems auslösen [2].

Magnesium ist der physiologische Kalziumantagonist [4]. Da Kalzium zur Aktivierung der Gerinnung benötigt wird, kann eine Verschiebung des Kalzium/Magnesium Verhältnisses im Blut zu einer Gerinnungsstörung, und damit auch zu einer Störung der Fibrinolyse führen. Die gerinnungshemmenden Eigenschaften wurden erstmalig von *Hugel* beschrieben [5]. Darüber hinaus stabilisiert Magnesium der Fibrinolyse und durch die Wirkung auf die Prostazyklinsynthese die Thrombozytenfunktion [3, 6, 7, 8].

In dieser Studie sollten die funktionellen Verbindungen zwischen den prädikativen Parametern im Blut (Lipide, Säuren, Magnesium) und Veränderungen bei der Gerinnung und Fibrinolyse nach venöser Stauung gezeigt werden.

Methoden

Testprotokoll

Der Okklusionstest wurde entsprechend der Empfehlung der

European Concerted Action on Thrombosis (ECAT) durchgeführt: Lokalisation der Okklusion am rechten oder linken Unterarm, Dauer der Okklusion 10

Tab. 1: Stauungstest nach dem ECAT-Protokoll: Veränderungen der angegebenen Parameter im Plasma.

	vor der Stauung	nach der Stauung
Magnesium im Plasma (mmol/l)	0,77 ± 0,06	0,80 ± 0,07
Partielle Thromboplastinzeit (sec)	41,9 ± 7,2	47,2 ± 9,1
Fibrinogen im Plasma (mg/100 ml)	182,2 ± 36,5	220,7 ± 67,0
Antithrombin III im Plasma (% der Norm)	115,9 ± 19,1	146,1 ± 25,7
Plasminogen in Plasma (% der Norm)	97,9 ± 21,3	123,7 ± 30,4
tPA im Plasma (IU/ml)	1,33 ± 0,39	4,45 ± 2,03
Thromboplastinzeit (sec)	13,9 ± 1,16	12,81 ± 1,08
Magnesium in den Erythrozyten (mmol/l)	2,21 ± 0,33	2,10 ± 0,33

Tab. 2: Durch Stauung ausgelöste Differenz für Laktat (mmol/l), Thromboplastinzeit (sec), tPA (IU/ml) und PAI (AU/ml).

	Laktat-Differenz	Thromboplastinzeit-Differenz	tPA-Differenz	PAI-Differenz
Gesamtpool	0,09	-1,04	3,12	-1,24
gute Responder	0,23	-1,58	6,59	-5,70
Complement zu guten Respondern	0,07	-0,95	2,55	-0,50
schlechte Responder	0,03	-0,68	1,42	-0,60
Complement zu schlechten Respondern	0,10	-1,10	3,41	-1,35

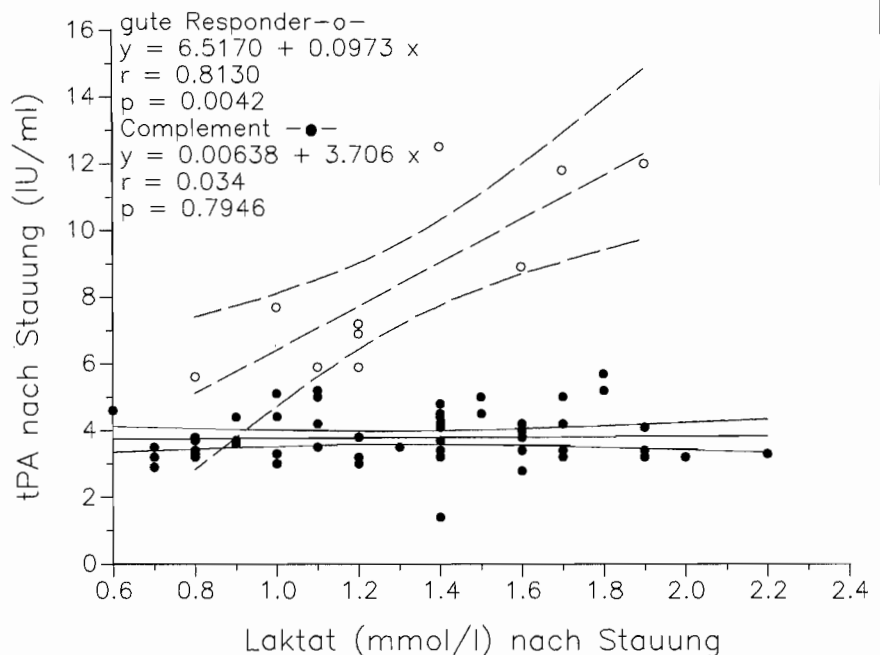


Abb. 1: Korrelation zwischen der Laktatkonzentration und der tPA-Aktivität im Plasma nach einer zehnmütigen venösen Stauung. Dargestellt ist die Gruppe der guten Responder und das entsprechende Complement.

Die Rolle von Magnesium bei der endogenen Aktivierung der Fibrinolyse durch lokale Azidose in Abhängigkeit von prädikativen Parametern des Blutes

Minuten. Der diastolische Druckanstieg betrug 15 mm Hg, als Minimalwert für den diastolischen Druck sollte 90 mm Hg erreicht werden. Blutproben wurden vor der Stauung aus dem kontralateralen Arm und nach dem Test aus dem gestauten Bereich gewonnen. An diesem Test

nahmen 70 gesunde Personen, 34 davon weiblich, 36 männlich, 15 bis 59 Jahre alt, teil.

Klinische Chemie

Die klinisch-chemischen Untersuchungen wurden mit kommerziell erhältlichen Test-Kits und

Gerätschaften durchgeführt. Die statistischen Vergleiche wurden mit dem multiplen Regressionsverfahren, basierend auf Methode der kleinsten Quadrate, sowie dem gepaarten Wilcoxon-Test durchgeführt.

Ergebnisse

Laktat, Magnesium im Plasma, die partielle Thromboplastinzeit, die Fibrinogen- (FBG), Antithrombin-III- (AT-III), Plasminogenkonzentration und tPA im Plasma stiegen signifikant ($P < 0,001$), die Thromboplastinzeit (TZ) und die Magnesiumkonzentration in den Erythrozyten fielen signifikant ($P < 0,05$) während des Stauungstestes ab (Tab. 1).

Die Triglyzeridkonzentration im Plasma und Magnesiumkonzentrationen im Plasma und in den Erythrozyten (x) wiesen signifikante lineare Beziehungen mit mehreren Parametern der Gerinnung und der Fibrinolyse (y) auf:

- Triglyzeride und tPA: $y = 0,003x - 0,99$, $r = 0,505$, $P < 0,0001$.
- Plasma Magnesium und FBG nach Stauung: $y = 0,423x - 119$, $r = 0,438$, $P < 0,0002$.
- Magnesium im Plasma und PAI nach der Stauung: $y = 67x - 36$, $r = 0,45$, $p < 0,0009$.
- Magnesium im Blut und AT-III vor der Stauung: $y = 42x + 58$, $r = 0,392$, $p < 0,0008$.

Eine Separation der Studienteilnehmer in sogenannte gute Responder und schlechte Responder auf der Basis eines Anstiegs des Gewebe-Plasminogen-Aktivators von > 5 IU/ml und < 3 IU/ml führte zu den in Tabelle 2 dargestellten Differenzierungen der genannten Parameter.

Die Laktatkonzentration korrelierte hochsignifikant mit dem tPA-Anstieg nur in der Gruppe der guten Responder (Abb. 1). Die Thromboplastinzeit verkürzte sich in der Gruppe der guten

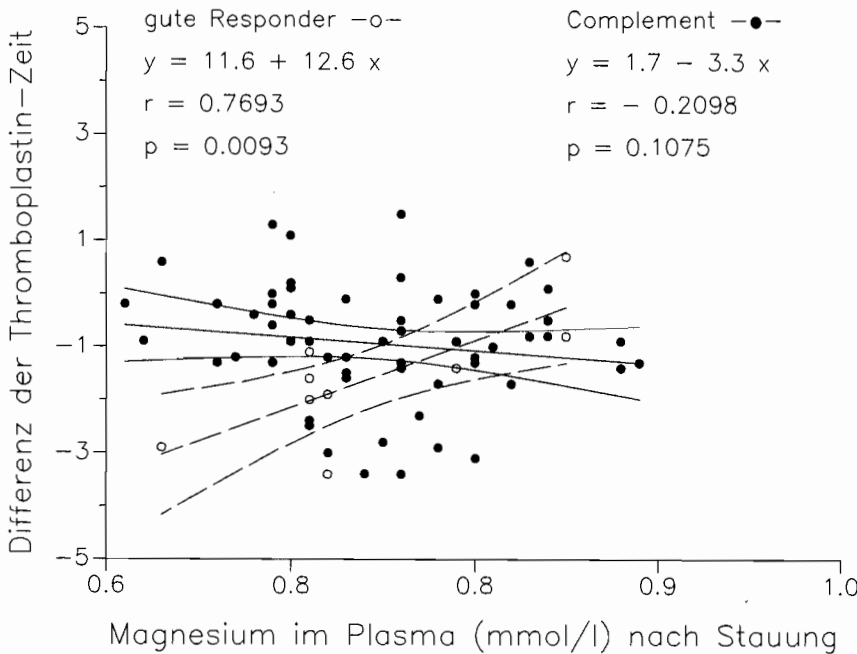


Abb. 2: Korrelation zwischen der Magnesiumkonzentration und der Differenz der Thromboplastinzeit im Plasma nach einer zehnminütigen venösen Stauung. Dargestellt ist die Gruppe der guten Responder und das entsprechende Complement.

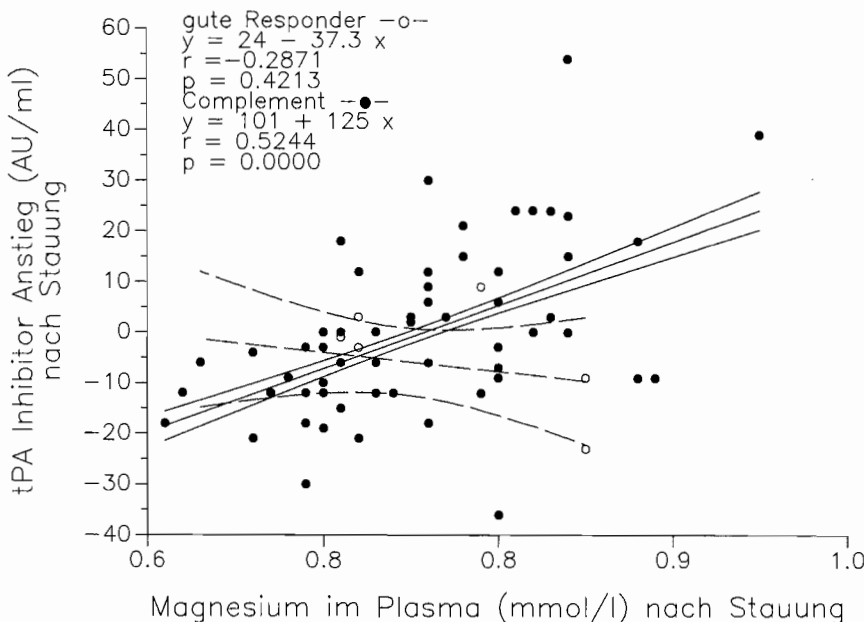


Abb. 3: Korrelation zwischen der Magnesiumkonzentration und der Differenz des tPA im Plasma nach einer zehnminütigen venösen Stauung. Dargestellt ist die Gruppe der guten Responder und das entsprechende Complement.

Die Rolle von Magnesium bei der endogenen Aktivierung der Fibrinolyse durch lokale Azidose in Abhängigkeit von prädikativen Parametern des Blutes

Responder in Abhängigkeit von der Magnesiumkonzentration im Plasma (Abb. 2). Die Freisetzung des PAI zeigte eine Abhängigkeit zur Magnesiumkonzentration im Plasma in der Complementgruppe zu den guten Respondern (Abb. 3).

Diskussion

Körperlicher Streß aktiviert die Blutgerinnung, die Plasminogen-Aktivierung und induziert die Hemmung der Plasminogen-Aktivierung. Metabolische Säuren, Kohlendioxid, die Protonenkonzentration im Plasma und Lipide sollen diese Veränderungen der Gerinnung und Fibrinolyse auslösen.

Bei der streßbedingten Aktivierung der Fibrinolyse beobachtet man die Existenz zweier verschiedenartiger Gruppen: Die guten Responder sind gekennzeichnet durch eine signifikante und deutliche Induktion der Plasminogenaktivierung während der körperlichen Streßsituation; bei den schlechten Respondern fehlt die Aktivierung der Fibrinolyse, bzw. ist nur marginal ausgeprägt.

Der Stauungstest wird als der standardisierte Test für die Simulation einer körperlichen Streßsituation bezeichnet. Die dargestellten Ergebnisse zeigen zumindest für die Gruppe der guten Responder die Reaktionsfolge Anstieg der Laktatkonzentration, die magnesiumabhängige Verkürzung der Thromboplastinzeit — und die laktatabhängige Freisetzung des tPA. Darüber hinaus ist in der Gruppe der guten Responder keine Aktivierung des PAI zu beobachten. Die entsprechende Complementgruppe dagegen weist eine hochsignifikante, magnesiumabhängige Freisetzung des PAI auf.

Die Kontrollmechanismen bei der durch tPA ausgelösten Fibrinolyse schließen a) die Genex-

pression von tPA und PAI, d. h. mRNA-Synthese, mRNA-Transfer und Proteinbiosynthese, b) den Transfer von tPA und PAI aus den Zellen in das Plasma, c) die Wirkung am Plasminogen-, bzw. am tPA-Molekül und schließlich die Aufnahme durch Zellen und Eliminierung, ein (Abb. 4).

Für die Proteinbiosynthese, also auch für die Synthese von tPA und PAI ist Magnesium limitierender Faktor [9]. Darüber hinaus ist anzunehmen, daß der Transfer von tPA und PAI von den Zellen in das Plasma auch magnesiumabhängig ist, wie in Abbildung 3 gezeigt wird. Der streßbedingte Transfer dieser beiden Proteine in das Plasma verläuft sehr schnell und kann daher nur durch einen aktiven Transport, bzw. in Abhängigkeit von energiereichen Substraten ablaufen. Abbildung 4 stellt diese Beziehungen dar. Energiereiche Substrate, z. B. ATP, sind nur in Gegenwart von Magnesium biologisch aktiv.

Obwohl die in das Plasma freige-

setzten PAI- und tPA-Moleküle sehr verdünnt vorliegen, reagieren sie schnell miteinander [11]. Trotzdem kann die vollständige Reaktion beider Proteine bis zu einer Stunde dauern. Die zu einem fixierten Zeitpunkt nach einer Streßsituation gemessenen Aktivitäten von tPA und PAI sind abhängig von den jeweiligen Transferraten aus den Zellen in das Plasma, von der Reaktionsrate zwischen beiden Molekülen, sowie von der Eliminierungsrate.

Die dargelegten Ergebnisse zeigen, daß nur die guten Responder zu einer kontrollierten streßbedingten Aktivierung der Gerinnung und der Fibrinolyse in der Lage sind. Darüber hinaus sind die guten Responder nicht in der Lage, den Inhibitor des tPA in der Zeit der Stauung (10 Minuten) freizusetzen. Die schlechten Responder dagegen scheinen vermehrt den PAI zu bilden, welcher seinerseits das tPA rasch inaktiviert.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß zusätzlich zu den oben

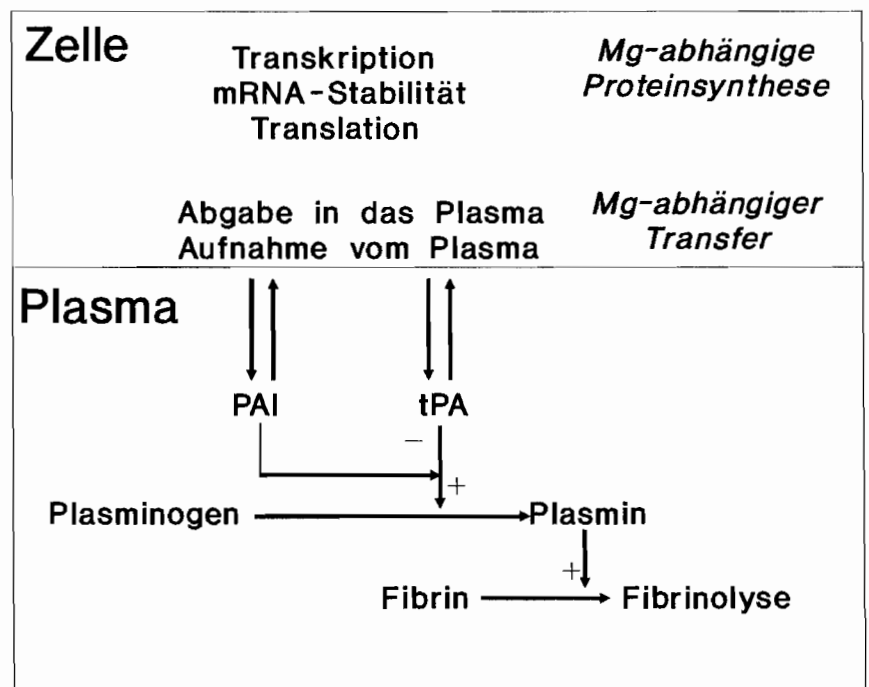


Abb. 4: Kontrollmechanismen bei der durch tPA ausgelösten Fibrinolyse.

Die Rolle von Magnesium bei der endogenen Aktivierung der Fibrinolyse durch lokale Azidose in Abhängigkeit von prädikativen Parametern des Blutes

genannten Stoffwechselmetaboliten weitere Faktoren zu der streßinduzierten Plasminogenaktivierung beitragen. Zu diesen Faktoren gehört Magnesium in der extrazellulären Flüssigkeit, sowie die intrazelluläre Magnesiumkonzentration.

Literatur

- [1] Speiser, W., K. Ihnken, W. Langer, W. Ruf, W. Thiel, M. Schlepper, G. Müller-Berghaus: t-PA und PAI-Kapazität bei Herzinfarktpatienten vor und nach venösem Stau. Zeitschrift Kardiologie. **76** (Suppl. 1) (1987) 105.
- [2] Wheeler, M. E., G. L. Davis, W. J. Gillespie, M. Bern: Physiological changes in hemostasis associated with acute exercise. J. Appl. Physiol. **60** (1986) 986–990.
- [3] Briel, R. C., T. H. Lippert, H. P. Zahradnik: Veränderungen von Blutgerinnung, Thrombozytenfunktion und vaskulärer Prostazyklinsynthese durch Magnesiumsulfat. Geburts- und Frauenheilkunde **47** (1987) 332–336.
- [4] Fleckenstein, A.: Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac parameters, and vascular smooth muscle. Ann. Rev. Pharmacol. **17** (1977) 149–166.
- [5] Hugel, A.: Zur Behandlung der Eklampsie mit hochprozentiger Zuckerlösung. Münch. Med. Wschr. **68** (1921) 916–917.
- [6] Huntsman, R. G., B. A. L. Hurn, H. Lehmann: Observation on the effect of magnesium on blood coagulation. J. Clin. Pathol. **13** (1960) 99–101.
- [7] Zahnert, R., J. Oloffs: Untersuchungen über den Einfluß des Magnesiums auf plasmatische Gerinnungsfaktoren und Thrombelastogramm. Dtsch. Gesundh.-Wes. **15** (1960) 2343–2348.
- [8] Wille, P.: Lassen sich die antithrombotischen Eigenschaften von Magnesium gerinnungsphysiologisch begründen? Zbl. Gynäkol. **82** (1960) 961–966.
- [9] Terasaki, M., H. Rubin: Evidence, that magnesium is present in cells at a regulatory concentration for protein synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **82** (1985) 7324–7326.
- [10] Wiman, B., G. Mellbring, M. Ranby: Plasminogen activator release during venous stasis and exercise as determined by a new and specific assay. Clin. chim. Acta **127** (1985) 279–288.
- [11] Ranby, M., A. Brändström: Biological control of tissue plasminogen activator-mediated fibrinolysis. Enzyme **40** (1988) 130–143.

Für die Verfasser: Dr. Sighart Golf, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums, Justus-Liebig-Universität, Friedrichstr. 24, D-6300 Gießen