

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Van Aken-

C-terminales Pro-Endothelin-1
als Verlaufsmarker bei herzchirurgischen
Operationen mit kardiopulmonalem Bypass

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Jörn Köster

aus Münster

2009

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
WESTFÄLISCHEN WILHELMS-UNIVERSITÄT MÜNSTER

Dekan: Prof. Dr. med. W. Schmitz

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. W. Gogarten

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. J. Sindermann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.07.2009

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für

Anästhesiologie und operative Intensivmedizin

-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. H. Van Aken-

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. W. Gogarten

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. J. Sindermann

Zusammenfassung

Köster, Jörn

C-terminales Pro-Endothelin-1 als Verlaufsmarker bei herzchirurgischen Operationen mit kardiopulmonalem Bypass

Fragestellung: Endothelin-1 ist Teil des pressorischen Endothelin-Systems. Dieses spielt in verschiedensten physiologischen wie auch pathophysiologischen Vorgängen im Körper eine wichtige Rolle. Bei herzchirurgischen Operationen mit kardiopulmonalem Bypass beeinflusst eine Erhöhung des Endothelin-1 nachweislich die kardiozirkulatorische und pulmonale Funktionen des Körpers negativ. Das C-terminale Pro-Endothelin-1 besteht aus den Aminosäuren 168-212 des Prä-Pro-Endothelins-1, das eine Synthesevorstufe des Endothelin-1 ist. Es wurde der Verlauf des C-terminalen Pro-Endothelin-1 zu verschiedenen Messzeitpunkten bis 72h nach herzchirurgischen Eingriffen mit kardiopulmonalem Bypass sowie mögliche Assoziationen mit dem Langzeitüberleben untersucht.

Material, Methoden: Nach Zustimmung der zuständigen Ethikkommission, Aufklärung und Einwilligung wurden 123 herzchirurgische (87 aortokoronare Bypass-OP, 23 Aorten-, 13 Mitralklappenersatz) Patienten in dieser prospektiven klinischen Verlaufsbeobachtung untersucht. An 12 Messzeitpunkten prä-, intra- und bis zu 72h postoperativ erfolgten arterielle Blutentnahmen. Das C-terminale Pro-Endothelin-1 wurde mittels eines immunoluminometrischen Assays (B.R.A.H.M.S. SEVACON LIA[®], B.R.A.H.M.S. AG, Hennigsdorf) in den Untergruppen des Patientenkollektivs gemessen. Nach 2 Jahren wurde die Überlebensrate bestimmt.

Ergebnisse: C-terminales Pro-ET-1 zeigte im untersuchten Patientenkollektiv einen spezifischen Verlauf: nach Einleitung der Allgemeinanästhesie fielen die Konzentrationen ab, während des Eingriffes blieben sie konstant, postoperativ stiegen sie kontinuierlich an, wobei die maximale Konzentration viermal so hoch war wie die nach Narkoseeinleitung. Die Verläufe der Konzentrationen von Überlebenden und Verstorbenen unterscheidet sich nicht signifikant

Schlussfolgerung: Aufgrund des spezifischen Verlaufs könnte der Biomarker für die postoperative, nicht jedoch zur intraoperativen Überwachung von Interesse sein. Pro-Endothelin-1 erscheint nicht als Langzeitoutcomeparameter geeignet.

Tag der mündlichen Prüfung: 10.07.2009

Meinen Eltern

Es gibt nichts Gutes
außer: Man tut es.
(Erich Kästner)

Kapitel 1: Einleitung	1
1.1 Endothelin	1
1.2 Historischer Überblick	1
1.3 Isoformen und Vorkommen des Endothelins.....	3
1.3.1 Endothelin-1	3
1.3.2 Endothelin-2	4
1.3.3 Endothelin-3	5
1.3.4 Sarafotoxin	6
1.4 Biosynthese.....	6
1.5 Endothelinrezeptoren	8
1.5.1 Signaltransduktion des ET _A -Rezeptors	9
1.5.2 Signaltransduktion des ET _B -Rezeptors	11
1.6 Physiologische Rolle des Endothelins in Organsystemen.....	12
1.7 Rolle des Endothelins bei verschiedenen Krankheitsbildern.....	13
1.7.1 Chronische Herzinsuffizienz und Myokardinfarkt	13
1.7.2 Hypertonien.....	14
1.7.3 Arteriosklerose	15
1.8 Bedeutung des Endothelins nach herzchirurgischen Eingriffen mit kardiopulomonalem Bypass	16
1.9 Analytik.....	17
1.10 Fragestellung	18

Kapitel 2: Methodik	20
2.1 Patientenkollektiv und Kriterien	20
2.1.1 Studiendesign	20
2.1.2 Aufklärung und Einwilligung	20
2.1.3 Patientenkollektiv	20
2.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien	21
2.2 Anästhesiologisches und operatives Vorgehen.....	22
2.2.1 Prämedikation und Narkoseeinleitung.....	22
2.2.2 Anästhesie	22
2.2.3 Kardiopulmonaler Bypass und operatives Vorgehen	23
2.2.4 Intensivbehandlung	24
2.3 Messzeitpunkte	25
2.4 Probenbehandlung und Gewinnung.....	25
2.5 Variablen	26
2.6 Bestimmung der C-terminalen Pro-ET-Konzentration	26
2.7 Statistik.....	26
Kapitel 3: Ergebnisse	27
3.1 Patienten	27
3.1.1 Überlebensraten.....	28
3.2 C-terminales Pro-Endothelin-1	29

3.2.1 Analyse des Zeitverlaufs alle Patienten	29
3.2.2 Vergleichende Analyse der Gruppe 1 versus Gruppe 2 im zeitlichen Verlauf	30
3.2.3 Vergleichende Analyse der Verstorbenen versus Überlebende im zeitlichen Verlauf.....	32
Kapitel 4: Diskussion.....	34
4.1 Diskussion.....	34
4.2 Zusammenfassung.....	36
Kapitel 5: Literaturverzeichnis	37
Anhang	41
Abkürzungen	41
Danksagung	42
Lebenslauf.....	43

1. Einleitung

1.1 Endothelin

Im Jahr 1985 wurde ein bis dahin unbekanntes pressorisches System, das Endothelin-System, entdeckt. Im Zuge vieler darauf folgender Studien wurde deutlich, dass Endothelin (ET) eine bedeutende Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus beizumessen ist. Endothelin ist ein Peptid, welches aus 21 Aminosäuren (AS) besteht. Es liegt bei Säugetieren in den drei Isoformen ET-1,-2,-3 vor, die sich jeweils nur durch den Austausch einiger weniger AS voneinander unterscheiden. ET wird zum größten Teil in Endothelzellen des gesamten Körpers produziert, aber auch andere Gewebe, wie z.B. Nieren, Gehirn oder Teile des Gastrointestinaltrakts, synthetisieren die unterschiedlichen ET-Isoformen. ET ist jedoch nicht nur der stärkste der bis jetzt identifizierten natürlichen Vasokonstriktoren der glatten Gefäßmuskulatur, sondern es hat auch Einfluss auf die Zellproliferation und Hormonproduktion [1]. ET hat zahlreiche Auswirkungen auf pathophysiologische Prozesse im kardiovaskulären System wie auch in anderen Organsystemen des Körpers. Endothelin wird in den Gefäßendothelzellen über verschiedene Vorstufen mit Hilfe eines Converting-Enzyms gebildet und intrazellulär nicht gespeichert. Es sind zwei G-Proteingekoppelte ET-Rezeptoren bei Säugetieren bekannt, über die sich mittlerweile pharmakologisch Einfluss auf das ET-System ausüben lässt.

1.2 Historischer Überblick

Seit Anfang der 80iger Jahre des letzten Jahrhunderts verdichteten sich die Hinweise auf ein bis zu diesem Zeitpunkt noch unbekanntes pressorisches System. Dieses schien in den Endothelzellen produziert und sezerniert zu werden und einen vasodilatatorischen Effekt auf das Gefäßendothel selbst oder andere Gefäßzellen zu haben. Furchgott beschrieb dieses System 1980 als endothelium-derived relaxing factor (EDRF) [2]. Nach intensiver Forschung gelang es 1985 Hickey und Kollegen einen potenten

Vasokonstriktor aus dem Endothel der KoronargefäÙe von Rindern, Hunden und Schweinen zu isolieren [3]. Dieser Vasokonstriktor wurde Endothelin (ET) genannt. Bald nach der Entdeckung des ET konnten zwei weitere Peptide isoliert werden, die, wie auch das ET selbst, aus 21 Aminosäuren bestehen und sich nur geringfügig in ihrer Struktur voneinander unterscheiden [4]. Diese ET-like peptides wurden ET-2 und ET-3 genannt.

1990 gelang es, zwei Endothelin Rezeptoren durch die Isolierung und Vervielfältigung zweier cDNA nachzuweisen. Die Rezeptoren wurden ET_A und ET_B genannt. Mittlerweile wird ein dritter Rezeptor ET_C bei Säugetieren vermutet, welcher jedoch bis jetzt nur bei Amphibien sicher nachgewiesen werden konnte.

Aufgrund der zahlreichen Einflüsse des ET-Systems auf die verschiedensten Organsysteme suchte man infolge der Entdeckung spezifischer ET-Rezeptoren mit Nachdruck nach einem Weg, diese Rezeptoren zu steuern. 1993 gelang die Entwicklung des Rezeptor-Antagonisten Bosentan, der 2001 von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) als Therapeutikum bei pulmonaler Hypertension zugelassen wurde [4]. Grundfragen, wie z.B. Struktur, Biosynthese oder Rezeptoreigenschaften des ET, sind heute in entscheidenden Punkten beantwortet. Genauere Funktionsmechanismen des ET-Systems innerhalb pathophysiologischer Prozesse sind jedoch in vielen Aspekten noch unklar und bedürfen weiterer Forschung.

1.3 Isoformen und Vorkommen des Endothelins

1.3.1 Endothelin-1

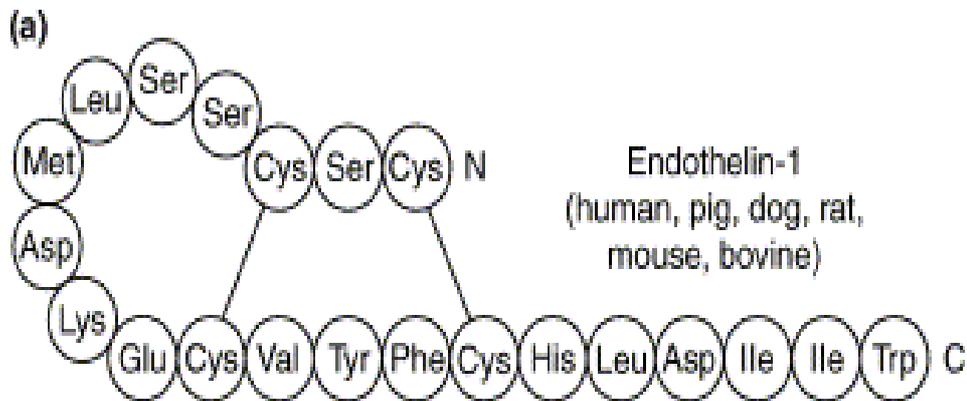


Abbildung 1: ET-1 mit seinen 21 AS und zwei Disulfidbrücken zwischen Cys₁-Cys₁₅ und Cys₃-Cys₁₁ (Abbildung (Ausschnitt) aus [4]).

Endothelin-1 ist ein Polypeptid und besteht aus 21 AS. Sein Molekulargewicht beträgt 2492 Dalton [5]. ET-1 wird als einzige Isoform in Endothelzellen gebildet, wobei diese auch als sein Hauptbildungsort anzusehen sind. Darüber hinaus wird ET-1 von Neuronen und Astrozyten im zentralen Nervensystem, in den Mesangiumzellen der Nieren, den Brustepithelzellen, den Sertolizellen und den Leberzellen produziert. Das ET-1 kodierende Gen befindet sich auf Chromosom 6p23-24 [6]. Nach der Biosynthese kann ET-1 intrazellulär nicht in Sekretgranula gespeichert werden. Produktion und Freisetzung von ET-1 wird daher auf der Ebene von Genexpression und Peptidsynthese reguliert. Die Plasmahalbwertszeit ist mit 4-7 Minuten kurz [1]. Ca. 75% des produzierten ET-1 werden in unmittelbarer Nähe des Bildungsortes, den Gefäßendothelzellen, von glatten Muskelzellen der Gefäße über ET-spezifische Rezeptoren wieder aufgenommen. Somit ist ET mehr als ein parakrines und weniger als ein endokrines Hormon zu werten [1, 7]. Die Lunge hat einen sehr starken first-pass-effect auf das ET-1. 80- 90% des Polypeptids werden dort neutralisiert.

1.3.2 Endothelin-2

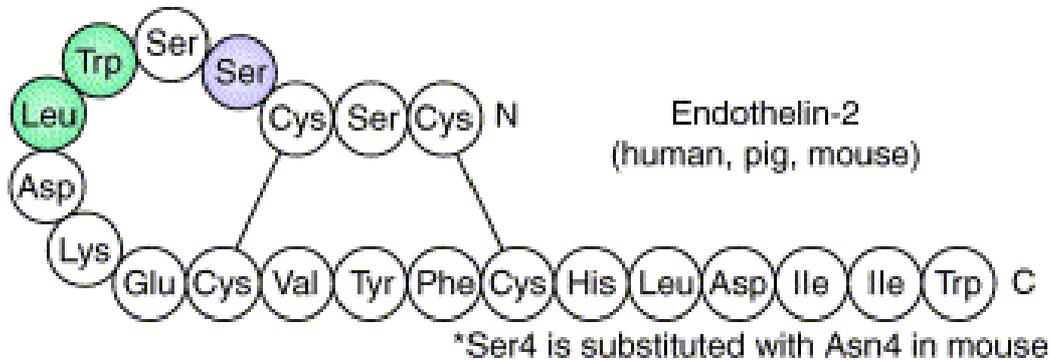
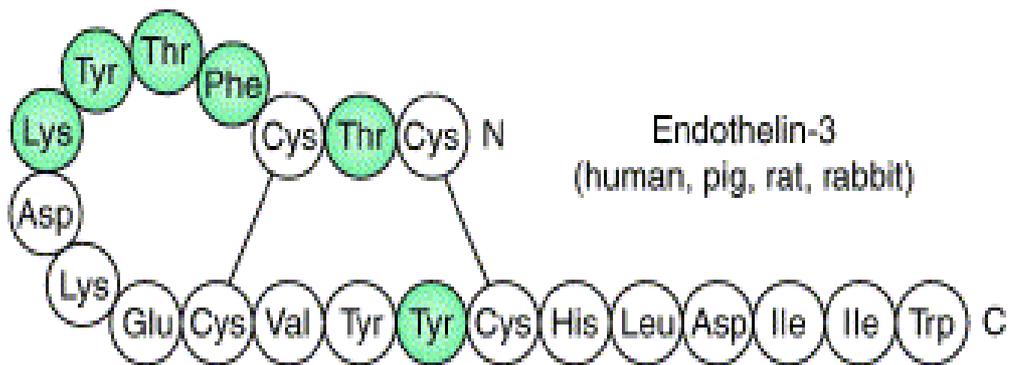


Abbildung 2: ET-2 mit seinen 21 AS. Die Disulfidbrücken befinden sich an den gleichen Positionen wie beim ET-1. Zwei AS (grün unterlegt) sind ausgetauscht (Abbildung (Ausschnitt) aus [4]).

ET-2 unterscheidet sich in seiner AS-Sequenz von ET-1 durch den Austausch von zwei AS. Ansonsten sind sie in Struktur und spezifischem Molekulargewicht identisch. Das für ET-2 kodierende Gen befindet sich auf Chromosom 1p34 [6] und wird vorwiegend in der Niere und im Gastrointestinaltrakt produziert [8]. Zu sehr geringen Teilen kann es auch im Myokard, in der Plazenta und im Uterus synthetisiert werden, wobei die synthetisierenden Zellen hierbei noch unbekannt sind [1]. Die Funktion des ET-2 ist bis dato wenig erforscht und in großen Teilen unbekannt. Allgemein wird ET-2 eine weniger bedeutende Rolle in physiologischen und pathophysiologischen Prozessen zugeschrieben als ET-1.



1.3.3 Endothelin-3

Abbildung 3: ET-3 mit seinen 21 AS. Im Vergleich zu ET-1 sind 6 AS ausgetauscht (grün unterlegt). Auch hier finden sich an gleicher Stelle wie bei den anderen Isoformen des ET zwei Disulfidbrücken (Abbildung (Ausschnitt) aus [4]).

ET-3 unterscheidet sich durch den Austausch von 6 AS von ET-1. Das kodierende Gen befindet sich auf Chromosom 20q13.2-13.3 [6]. ET-3 zirkuliert wie auch ET-1 im Plasma. In höheren Konzentrationen ist es jedoch im Gehirn zu finden. Dort scheint es eine Rolle bei Entwicklungs- und Wachstumsprozessen der Neurone und Astrozyten zu spielen[1]. Eine spezifische Wirkung auf das kardiovaskuläre System hat ET-3 wie auch ET-2 nicht.

1.3.4 Sarafotoxin

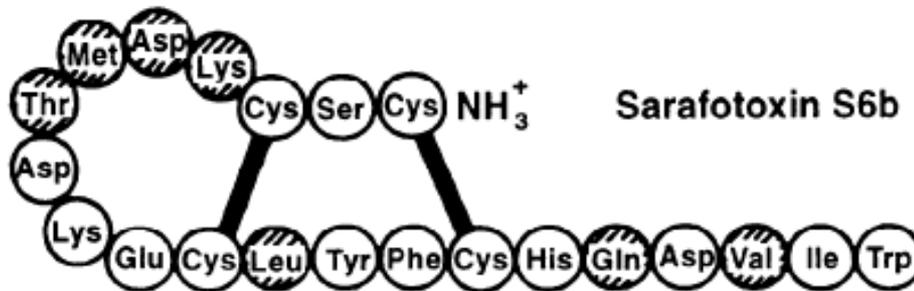


Abbildung 4: Sarafotoxin S6b weist eine ähnliche Struktur wie ET auf. Es sind 7 AS im Vergleich zu ET-1 ausgetauscht (Abbildung (Ausschnitt) aus [5]).

Der Vollständigkeit halber sei an dieser Stelle das Schlangengift Sarafotoxin der Spezies *Atractaspis engaddensis* erwähnt. Es ist dem ET-1 in Struktur und Wirkung ähnlich. Es liegt in 4 Isoformen vor. Eine Intoxikation bei einem Biss mit Sarafotoxin bewirkt AV-Blöcke und kann zum Herzstillstand führen [9].

1.4 Biosynthese

ET sind die Produkte verschiedener Gene (s.o.), die unterschiedliche mRNA kodieren. Die Promoterregion von ET-1 besitzt eine typische CAAT- und TATA-Sequenz [1]. Unterschiedliche Substanzen können die Genexpression inhibieren oder steigern (s. Abb. 5). Eine Expressionssteigerung erfolgt u.a. durch Vasopressin, Katecholamine, Thrombin, die Lipoproteine HDL und LDL, Insulin, TNF-Alpha, Immunglobulin-1, Angiotensin-II und Transforming growth factor beta [10]. Inhibierend wirken Prosta-zykline, atriales natriuretisches Peptid (ANP), Prostaglandin E₂, ET-3 oder auch Heparin.

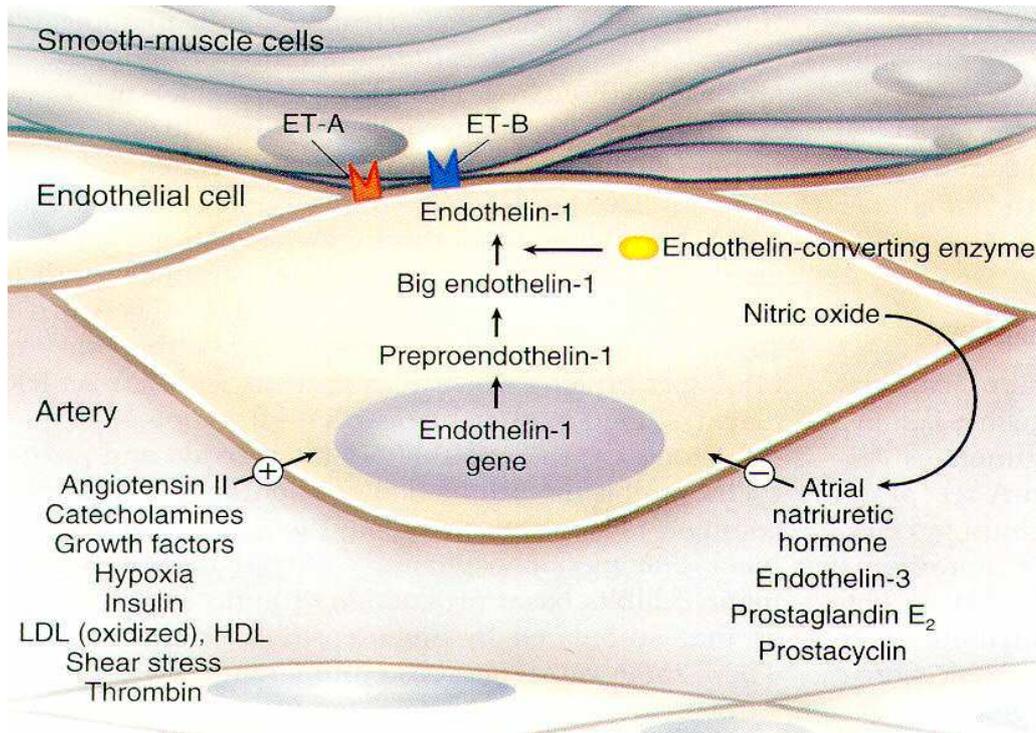


Abbildung 5: Synthese, Sekretion und regulierende Faktoren von ET-1 in Endothelzellen (aus [1]).

ET-1 wird aus einer Vorstufe, dem Präproendothelin-1, synthetisiert, das aus einer Kette von 212 AS besteht [11]. Von diesem wird zunächst die Signalsequenz (AS 1-17) abgespalten. Danach kommt es zu einer zwei-stufigen proteolytischen Spaltung.

In der ersten Stufe entsteht über eine furine-like Peptidase das Big-Endothelin (Big-ET), welches sich aus 39 AS zusammensetzt. Big-ET wird bereits in geringen Mengen in das Blut freigesetzt, wobei eine biologische Funktion bis dato nicht nachgewiesen werden konnte.

In der zweiten Stufe wird das Big-ET vom fertigen ET durch ein Endothelin-Converting-Enzyme (ECE) zwischen den AS Tryptophan (Trp) 21 und Valin (Val) 22 getrennt. Das ECE ist eine membrangebundene Metalloprotease [12]. Die ET 1-3 werden durch eigene Metalloproteasen aus den unterschiedlichen Big-ET 1-3 abgespalten. ECE-1 ist hierbei am besten erforscht und weist vier Untertypen auf: ECE-1a,-1b,-1c und -1d [4]. Diese

vier Isoformen zeigen eine ähnliche Enzymkinetik, unterscheiden sich aber hinsichtlich ihrer Gewebeverteilung und ihrer subzellulären Lokalisation. Die Codierung der vier Unterformen erfolgt durch das gleiche Gen. Dass dennoch vier Unterformen gebildet werden, lässt sich durch unterschiedliche Promotoren und alternatives Spleißen erklären [13]. ECE-1a wird hauptsächlich auf der Zellmembran, ECE-1b dagegen intrazellulär exprimiert. ECE-1c befindet sich auf der Zelloberfläche und wird neben anderen Geweben vor allem in Lunge, Herz, Niere, Leber und Plazenta exprimiert und stellt die wichtigste und größte der Isoformen dar [14]. ECE-1 hat außerdem eine hohe entwicklungstechnische Relevanz. In double-knockout mice Versuchen konnten bei Mäusen mit einer homozygoten Nullmutation für das ECE-1-Gen neben kraniofazialen und kardialen Anomalien auch kongenitale intestinale Aganglionosen (vergleichbar dem Morbus Hirschsprung beim Menschen) und das Fehlen epidermaler Melanozyten beobachtet werden [15].

ECE-1 ist bei der Umwandlung von allen Big-ET die bedeutendste Rolle beizumessen. Es wird vor allem in Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen des kardiovaskulären Systems exprimiert [12]. ECE-1 spaltet proteolytisch alle drei Formen des Big-ET, hat jedoch die höchste Affinität zu Big-ET 1. ECE-2 wird vorwiegend im ZNS exprimiert und stimmt in seiner AS-Sequenz zu 59% mit ECE-1 überein. ECE-2 behält seine Funktionalität auch in für Metalloproteasen ungewöhnlichen Milieus zwischen pH 5 >8 [16].

1.5 Endothelinrezeptoren

Bereits 1990 konnten Sakurai und Arai [17, 18] unabhängig voneinander zwei Endothelinrezeptoren nachweisen. Die DNA für die Rezeptoren ET_A und ET_B befindet sich auf den Chromosomen 4 und 13. Die Rezeptoren stimmen in mehr als 50% der AS-Sequenzen miteinander überein und gehören zur Gruppe der Guanninnukleotid-bindenden Protein (G-Protein)

Rezeptoren. Mit einer Größe zwischen 45 bis 50 kDa gehören sie zur Familie 1a der G-Proteine und unterscheiden sich in der Gewebsverteilung, der Ligandenbindung und Signaltransduktion.

1.5.1 Signaltransduktion des ET_A-Rezeptors

ET_A-Rezeptoren binden ET1 und ET2 gleich stark, jedoch mit einer 10fach höheren Affinität als ET3 [4] und werden vor allem in glatter Gefäßmuskulatur und in Myozyten exprimiert [18].

Der ET_A-Rezeptor vermittelt die vasokonstriktorische Komponente des ET1 durch einen Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration. Nach Aktivierung des ET_A-Rezeptors durch ET1 kommt es durch ein G-Protein zur Aktivierung der PhospholipaseC.

Durch zweifache Phosphorylierung des membranständigen Phosphatidyl-Inositol durch die ATP-abhängige Phosphatidyl-Inositol-Kinase entsteht das Phosphatidyl-Inositol-4,5-bisphosphat (PIP₂). Dieses PIP₂ wird nun durch die PhospholipaseC gespalten, wodurch Diacylglycerin (DAG) und Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP₃) entstehen. Das IP₃ löst sich von der Zellmembran und bindet sich an spezifische Rezeptoren des endoplasmatischen Retikulums (siehe folgende Abb. 6). Dadurch kommt es zu einer Entleerung der intrazellulären Kalziumspeicher und somit zu einer kurzfristigen, schnellen Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration. Die elektromechanische Kopplung führt zur Kontraktion der Muskelzelle.

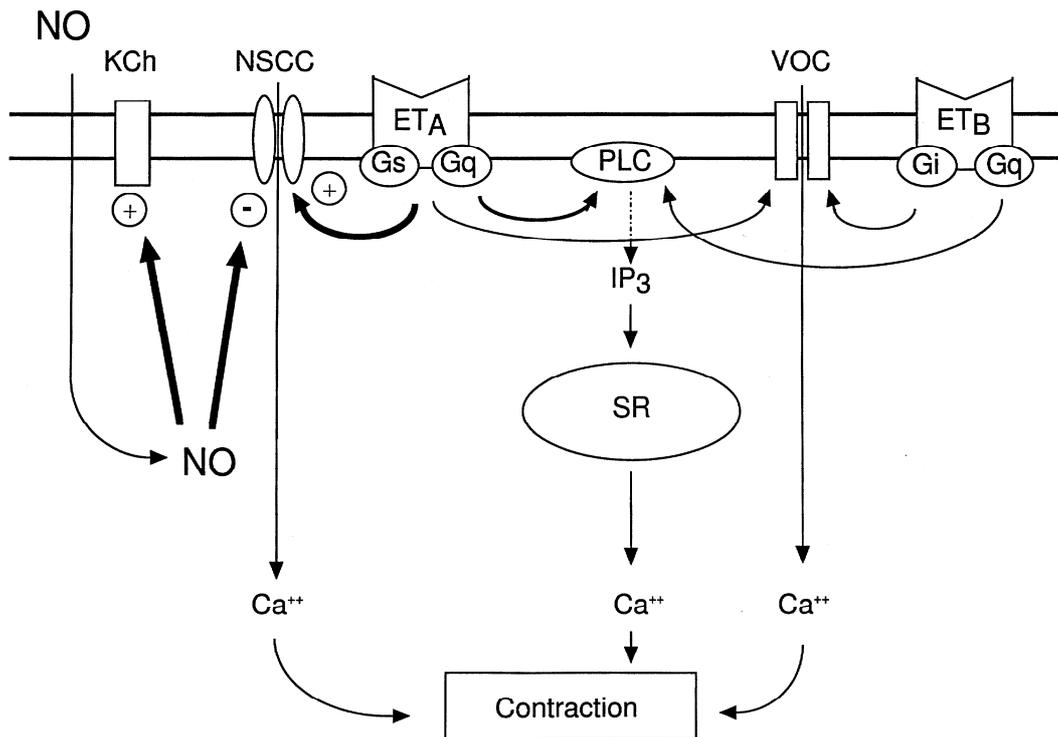


Abbildung 6: NSCC: nicht-selektiver Kationenkanal, KCh: kalziumsensitiver Kaliumkanal, PLC: PhospholipaseC, VOC: Spannungabhängiger Kalziumkanal, IP₃: Inositol-trisphosphat, SR: sarcoplasmatisches Reticulum, + : fördernd, - : inhibierend (aus [19])

Neben dem beschriebenen kurzfristigen, durch die PhospholipaseC bedingten Kalziumanstieg, ist jedoch zu beobachten, dass die Kalziumkonzentration über einen längeren Zeitraum (30-60 min) intrazellulär erhöht bleibt. Dies ist durch einen Einstrom von Kalziumionen aus dem Extrazellulärraum zu erklären. Kalzium strömt durch nicht-selektive Kationenkanäle (NSCC) und spannungsabhängige Kalziumkanäle (VOC) in die Zelle ein. Unter physiologischen ET₁-Konzentrationen sind jedoch nur die NSCC aktiv. Erst bei sehr hohen ET₁-Konzentrationen konnte das Öffnen von 3 unterschiedlichen VOC beschrieben werden [20].

ET₁ hat einen fördernden Einfluss auf die Zellproliferation. Dies geschieht bei Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Astrozyten ebenfalls über den ET_A-Rezeptor.

Dieser wird, im Gegensatz zum ET_B-Rezeptor, über einen speziellen Recyclingweg aufbereitet und wieder in die Zellmembran eingebaut [21].

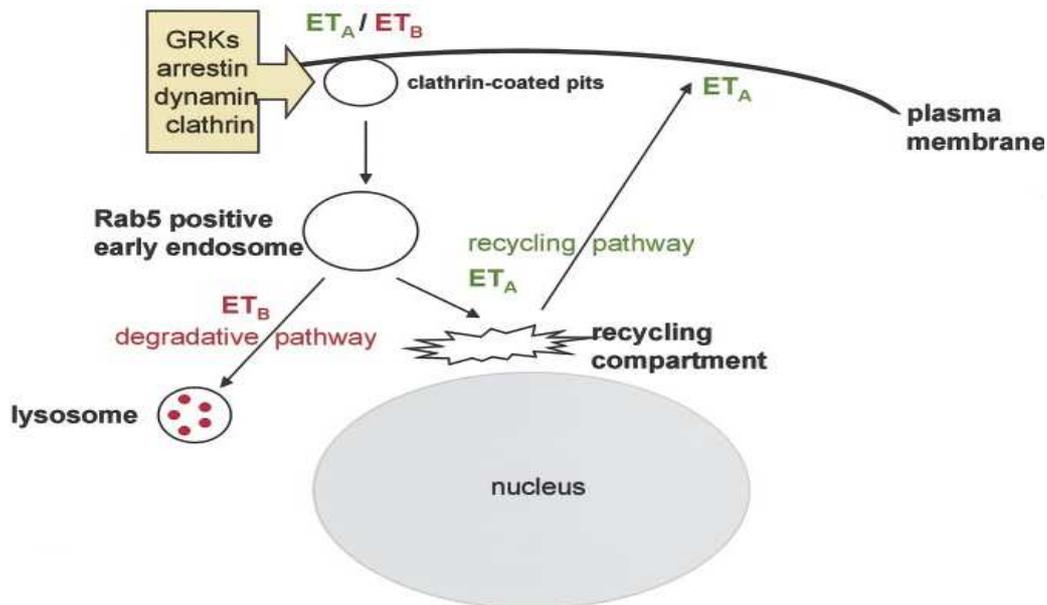


Abb. 7: Unterschiedliche Wege des Endothelinrezeptoren nach der Signaltransduktion (aus [21]).

1.5.2 Signaltransduktion des ET_B-Rezeptors

Der ET_B-Rezeptor wird hauptsächlich auf Endothelzellen und zu einem kleineren Anteil in glatter Gefäßmuskulatur exprimiert. Er bindet ET₁ und ET₃ mit ungefähr gleicher Affinität. ET₁ bindet quasi irreversibel an den ET_B-Rezeptor und bildet mit ihm einen widerstandsfähigen Komplex [22]. Der Grund für diese starke Liganden-Rezeptor-Bindung ist bis dato noch nicht hinlänglich erklärt. Die Liganden-Rezeptor-Komplexe werden im Zellinneren lysosomal abgebaut und könnten somit eine Rolle bei der Eliminierung von frei zirkulierendem ET spielen (so genannter Scavengereffekt) [21]. Nach Aktivierung des ET_B-Rezeptors verläuft die Signaltransduktion ähnlich wie beim ET_A-Rezeptor. Die Bindung von ET₃ an den ET_B-Rezeptor kann zur vorübergehenden Vasodilatation führen. Dies könnte, wie in der Forschung derzeit diskutiert wird, durch das Öffnen von Kaliumkanälen, einströmendes Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazykline verursacht werden [23].

1.6 Physiologische Rolle des Endothelins in unterschiedlichen Organsystemen

Wie bereits oben erwähnt, vermittelt ET seine vasokonstriktorische Wirkung hauptsächlich über den ET_A-Rezeptor. Die lang anhaltende intrazelluläre Erhöhung der Kalziumkonzentration und der damit verbundenen Vasokonstriktion dient der Aufrechterhaltung des Grundtonus der Gefäßmuskulatur. Der ET_B-Rezeptor an den Endothelzellen vermittelt die verstärkte Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazyklinen. NO erhöht die intrazelluläre Kalziumresorption in das endoplasmatische Retikulum und verkürzt somit die Konstriktionsdauer und führt zu einer Vasodilatation.

Organ	Zellart	physiolog. Effekt	ET-Rezeptor
Gehirn	<ul style="list-style-type: none"> • Endothel • Astrozyten 	<ul style="list-style-type: none"> • Vasokonstriktion • Inhibierung der Second messenger Synthese, Zellwachstum 	ET _A ET _B
Herz	<ul style="list-style-type: none"> • Endothel • Myozyten • Fibroblasten 	<ul style="list-style-type: none"> • erhöhter Gefäßwiderstand • Zellhypertrophie • Zellhypertrophie 	ET _A ET _A ET _A
Niere	<ul style="list-style-type: none"> • Endothel • Mesangium 	<ul style="list-style-type: none"> • renale Vasokonstriktion • Zellproliferation • Natriurese, Diurese • erhöhter Na-Transport im prox. Tubulus 	ET _A ET _A ET _A , ET _B ET _A , ET _B
Lunge	<ul style="list-style-type: none"> • Endothel 	<ul style="list-style-type: none"> • Vasokonstriktion • Bronchokonstriktion 	ET _A ET _B
Gefäße	<ul style="list-style-type: none"> • Endothel 	<ul style="list-style-type: none"> • kurzfristige Vasodilatation • lang anhaltende Vasokonstriktion 	ET _B ET _A

Tab. 1: Auswahl physiologischer Effekte der ET-Rezeptoren in unterschiedlichen Organsystemen.

In der Niere finden sich ET_A-Rezeptoren vor allem in den Vasae rectae und den Aa. arcuatae und regulieren somit die renale Perfusion, wohingegen ET_B-Rezeptoren an Natriu- und Diurese beteiligt sind [24].

In der Lunge vermittelt der ET_A-Rezeptor eine Vasokonstriktion und der ET_B-Rezeptor eine Bronchokonstriktion.

In Astrozyten stimuliert der ET_B-Rezeptor die DNA-Synthese und inhibiert die Synthese von second messengern [25].

1.7 Rolle des Endothelins bei verschiedenen Krankheitsbildern

ET-1 spielt eine wichtige Rolle bei unterschiedlichsten pathophysiologischen Prozessen und Krankheitsbildern. Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, pulmonale und arterielle Hypertonie, Arteriosklerose, Eklampsie, chronische Niereninsuffizienz oder Sepsis sind nur einige der im Zusammenhang mit ET erforschten Felder.

1.7.1 Chronische Herzinsuffizienz und Myokardinfarkt

Bei Patienten mit einer chronischen Herzinsuffizienz sind erhöhte ET-1-Spiegel im Serum zu beobachten [26]. Hierbei korreliert der ET-1-Serumspiegel positiv mit dem enddiastolischen, linksventrikulären Druck und dem Grad der Herzinsuffizienz positiv. Um die unzureichende kardiale Funktion zu kompensieren, wird das ET-System hochreguliert. Die Mechanismen, die zu dieser Upregulation führen, sind noch nicht gänzlich verstanden. Ursachen könnten eine periphere Hypoxie, eine erhöhte myokardiale Synthese oder ein verlangsamter ET- Abbau sein [27]. ET-1-Spiegel korrelieren besser mit dem Grad der Herzinsuffizienz als ANP-Spiegel und scheinen zur Verlaufskontrolle von β -Blockertherapien geeignet zu sein [27, 28].

ET-1-Spiegel sind ebenfalls bei transmuralen Myokardinfarkten erhöht [29]. Im hypoxischem Infarktareal steigt die ET-1-Konzentration und Syn-

these an, welche gut mit der linksventrikulären Funktionseinschränkung korrelieren [30]. Bei der Reperfusion von irreversibel geschädigtem Myokard lässt sich, im Gegensatz zu reversibel geschädigtem Myokard, eine ET-1 induzierte Vasokonstriktion feststellen [31]. ET-1 kann somit das Infarktgebiet in den Grenzbereichen des irreversibel geschädigten Gewebes noch vergrößern. Durch die Gabe eines ET-Antikörpers kann das Infarktgebiet teilweise um über 30% verkleinert werden [32, 33].

1.7.2 Hypertonien

Pulmonale Hypertonie

Bei Patienten mit einer pulmonalen Hypertonie werden erhöhte ET-1-Spiegel gemessen. Die Höhe des ET-Spiegels korreliert positiv mit dem Schweregrad der Hypertonie [34]. ET-1 wird physiologisch bei der pulmonalen Passage eliminiert. Dieser Mechanismus scheint bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie, unabhängig der Ätiologie, gestört zu sein. Bei Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie lässt der Vergleich von arteriellen mit venösen ET-1-Spiegeln auf eine erhöhte ET-1-Produktion innerhalb der Lunge schließen [35]. Dieses führt wiederum über sekundäre Mediatoren wie Thromboxan und den Platelet Activating Factor (PAF) zu einer Bronchokonstriktion [36]. Die ebenfalls erhöhte Produktion von ET_A-Rezeptoren wird sich bei einem Behandlungsansatz der pulmonalen Hypertonie mit dem nicht-selektiven Rezeptorantagonist Bosentan zunutze gemacht (s.u.) [37]. Der Benefit des Therapiekonzepts mit Bosentan wurde in follow-up Studien bestätigt [38].

Arterielle Hypertonie

Ein deutlich erhöhter Endothelinspiegel konnte bei (Prä-) Eklampsie nachgewiesen werden. Dieser lag während der akuten Phase um über 70% über dem Ausgangswert [39, 40]. Patienten, die unter einem Raynaud-Syndrom leiden, weisen ebenfalls erhöhte ET-1-Spiegel auf [41].

Patienten mit einem leichten bis mittleren Hypertonus hatten keinen oder nur leicht erhöhten ET-1-Spiegel [42]. Erst bei sehr schweren Verlaufsformen, wie z.B. der malignen Hypertonie ist ein deutlich erhöhter ET-1-Spiegel zu beobachten [43].

Es bestehen enge Wechselwirkungen zwischen ET-1 und dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) [44].

Die Ausschüttung von ET-1 wird durch Angiotensin II und Noradrenalin gefördert [45]. Endothelin wiederum erhöht die Synthese von Aldosteron, was zu einer Natriumchloridretention führt. Aufgrund dieses Zusammenhangs kann der Endothelinspiegel durch ACE-Hemmer gesenkt werden [46]. ET-1 erhöht durch reduzierten renalen Plasmafluss und eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate die Kochsalz- und Wasserretention [47], was zu einer zusätzlichen Erhöhung des Blutdrucks führt [48].

1.7.3 Arteriosklerose

Patienten mit sklerotischen Dysfunktionen des koronararteriellen Endothels zeigen bereits in einem frühen Stadium der Erkrankung einen erhöhten ET-Spiegel in der Koronar- und Systemzirkulation [49].

Bei fortgeschrittenen arteriosklerotischen Prozessen korreliert die Höhe des ET-1-Spiegels mit der Ausdehnung der Läsionen. Zusätzlich scheint durch den erhöhten Plasmaspiegel eine reduzierte Bioverfügbarkeit von NO zu bestehen. NO wirkt dilatorisch auf die Gefäße und somit antagonistisch zu ET-1. Zeiher und Mitarbeiter fanden in Artherektomiepräparaten eine deutlich erhöhte ET-1-Konzentration im Gewebe in der Nähe von Plaquerupturen. [50]. Dies kann in Zusammenhang mit anderen Vaso-konstriktoren zu einem lokalen Spasmus führen.

Durch eine ET_A-Rezeptor-Blockade konnte bei hyperlipämischen Hams-tern die Anzahl und Ausdehnung von Schaumzellen deutlich gesenkt werden [51]. Schaumzellen sind lipidreiche Makrophagen und Muskelzellen, die als eine frühe Läsion der Intima und Media bei Arteriosklerose gelten.

1.8 Bedeutung des Endothelins nach herzchirurgischen Eingriffen mit kardiopulmonalem Bypass

Die Ischämie- und Reperfusionphasen bei der Anwendung eines kardiopulmonalen Bypass (CPB) führen zu einem generalisierten Endothelschaden. Diese Endothelveränderungen lassen sich funktionell und histologisch in einer Vielzahl von Geweben in unterschiedlichen Organen feststellen. Neben Gewebsschäden an Myokard, Lunge, Gehirn, Leber, Niere und Darmwand weist auch die Gefäßmuskulatur des großen und kleinen Körperkreislaufs Veränderungen auf [52, 53].

ET-1 wird nach ischämischen Phasen im Zuge der Reperfusion vermehrt gebildet und führt am Herzen zu einer Konstriktion der Koronargefäße [54]. Gleichzeitig wird die Effektivität von NO als Vasodilatator herabgesetzt, was zu einer Vergrößerung von Gewebsschäden führt. Diese Effekte sind natürlich auch bei Reperusionsphasen nach CPB zu beobachten [55]. Der Reperfusionsschaden ist eine der Hauptursachen für das Acute Low Cardiac Output Syndrom (ALCOS). Als solches wird eine postoperativ auftretende linksventrikuläre Funktionsstörung ohne stärkere Zeichen eines Rückwärtsversagens nach CPB bezeichnet. Ein postoperatives ALCOS manifestiert sich in einer zunehmenden systolischen und diastolischen Dysfunktion des Myokards. Hierbei spielen verschiedene pathophysiologische Faktoren eine Rolle, u.a. sind im Endothel interstitielle und zelluläre Ödeme, vermehrte Zellapoptosen und nekrotische Prozesse histologisch nachweisbar. Der Endothelzellschaden führt zu einer ET-1 Ausschüttung und damit zu einer Kontraktion der Koronargefäße, womit eine Verminderung der Mikrozirkulation einhergeht, die sich wiederum negativ auf die Myokardkontraktilität auswirkt. Wie bei Myokardinfarkten konnte der Reperfusionsschaden durch ET-Rezeptor-Blocker deutlich verkleinert werden [56, 57].

Der CPB schädigt auch das Lungengewebe. Die Lungencompliance wird herabgesetzt, die Oxygenierung wird verschlechtert und der pulmonalvaskuläre Widerstand wird erhöht, was zu einer verstärkten pulmovaskulären Reagibilität führt [58]. Die Ätiologie des CPB-bedingten Lungenschaden

dens ist multifaktoriell und umfasst Komplementaktivierung, Akkumulation von Neutrophilen und oxidativen Stress durch freie Sauerstoffradikale. Der Endothelschaden der Lungengefäße führt zu einer gesteigerten ET-1 Ausschüttung und vermehrter Expression von ET-Rezeptoren. Aufbauend auf diese Endothelveränderungen kommt es zur Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie und pulmonaler Hyperreagibilität [59-61]. Die Folgen des CPB können durch den Einsatz von ET_A- oder ET_{A/B}-Rezeptor-Antagonisten signifikant gemildert oder ganz vermieden werden [62, 63]. Sie verbessern Oxygenierung, Lungencompliance, den pulmonalvaskulären Widerstand und beeinflussen somit die Rechtsherzfunktion positiv. Auch die übrigen Organsysteme leiden unter den Folgen des CPB und führen zu gesteigerter perioperativer Morbidität und Mortalität. Ebenso konnten die renalen, hepatischen, gastrointestinalen und vor allem neurologische Nebenwirkungen durch den Einsatz von ET-Antagonisten und die damit verbundene ET-1-Spiegelsenkung gemildert werden [64-66].

1.9 Analytik

ET-1 besitzt eine sehr kurze Halbwertszeit. Nach intravenöser Applikation sind im Rattenmodell nach der ersten Minute bereits über 60% des ET-1 abgebaut [67]. Die Halbwertszeit beim Menschen liegt bei ca. 5 min [68] und lässt sich darum schwer für analytische Verfahren verwenden. Somit wurde kürzlich untersucht, ob während des Syntheseprozesses des ET-1 stabile Peptidfragmente gebildet werden, die durch einen Sandwich-Immunoassay quantifiziert werden können [69]. Struck und Kollegen konnten neben dem Big-ET-1 und ET-1 sechs weitere Regionen des Prä-Pro-Endothelins-1 nachweisen. Von diesen sechs erwiesen sich drei als stabil und durch Immunoassays detektierbar und zwar die AS 18-53, 94-148 und 168-212. Alle drei Peptide zeigten bei gesunden, als auch septischen Probanden eine ähnliche Plasmakonzentration. Daraus lässt sich schließen,

dass keines der drei Peptidfragmente einen schnellen Turnover oder eine biologische Funktion hat.

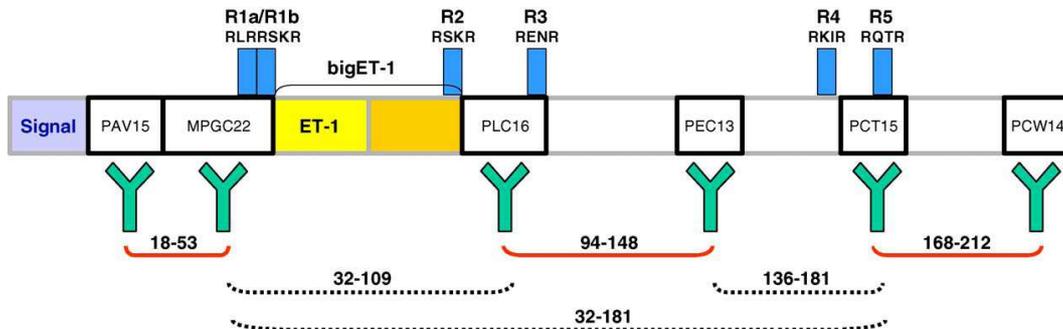


Abbildung 8: Struktur des Prä-Pro-Endothelin-1. Dargestellt sind neben dem ET-1 und dem Big-ET-1 die sechs stabilen Peptidfragmente und deren Antikörper (grün). Die roten Linien zwischen zwei Antikörpern stellen eine positive Immunreaktivität dar. Die gepunktete Linie bezeichnet eine fehlende Immunreaktivität. Die Zahlen auf den Linien geben die Positionen des einzelnen AS innerhalb des Proteins an. Für diese Untersuchung wurde das C-terminale Pro-ET-1 (AS168-212) ausgewählt (aus [69]).

Aufgrund der langen Halbwertszeit dieser drei Peptidfragmente lässt sich die Menge des gebildeten ET-1 erstmals indirekt abschätzen. Das Prinzip, durch die Messung von stabilen Präkursorfragmenten zur Quantifizierung eines aktiven Peptids zu gelangen, wurde bereits mehrfach erfolgreich durchgeführt, z.B. bei natriuretischen Peptiden oder Adrenomedullin [70, 71].

1.10 Fragestellung

Wie weiter oben deutlich wird, spielt ET-1 in der Pathophysiologie der Funktionsstörungen unterschiedlicher Organsysteme eine bedeutende Rolle. Insbesondere nach chirurgischen Eingriffen mit kardiopulmonalem Bypass (CPB) scheint es wünschenswert, eine Methode für eine perioperative ET-1 Kontrolle zu entwickeln, da die Steigerung des ET-1-Spiegels bei CPB nachweislich die kardiozirkulatorische und pulmonale Funktion des Körpers negativ beeinflusst. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von

ET-1 bietet sich ein indirektes Nachweisverfahren über ein biologisch inaktives Präkursorfragment an.

Für diese Untersuchung wurde das C-terminale Pro-ET-1 (AS 168-212) ausgewählt. Ziel war es, zu klären, ob dieses Peptidfragment geeignet ist, als Biomarker in der perioperativen Phase bis zu 72 h nach herzchirurgischen Eingriffen mit CPB den Zustand der Patienten zu beschreiben und somit eine Aussage über Prognose und Outcome zu machen.

Der Verlauf von C-terminalem Pro-ET-1 wurde intra- und postoperativ mit Hilfe eines Immunoassays analysiert. Darüber hinaus wurde untersucht, ob Unterschiede der C-terminalen Pro-ET-1-Konzentration bei Patienten mit operationspflichtigen koronaren Herzerkrankungen und erworbenen Herzklappenvitien bestanden. Zuletzt sollte untersucht werden, ob eine mögliche Assoziation der C-terminalen Pro-ET-1 mit dem Langzeitüberleben von Patienten nach Herzoperationen bestand.

Zusammenfassend wurden schließlich folgende Arbeitshypothesen formuliert:

1. Die C-terminalen Pro-ET-1-Konzentrationen unterscheiden sich zu den einzelnen Messzeitpunkten (MZP) vor, während und nach herzchirurgischen Eingriffen.
2. Die perioperativen C-terminalen Pro-ET-1-Konzentrationen bei Patienten mit koronaren Herzerkrankungen unterscheiden sich von denen mit Klappenvitien.
3. Die C-terminalen Pro-ET-1-Konzentrationen sind mit dem Langzeitüberleben nach herzchirurgischen Eingriffen, sowohl mit als auch ohne CPB, assoziiert.

2.1 Patientenkollektiv und Kriterien

2.1.1 Studiendesign

Die vorliegende klinische Studie wurde als eine prospektive Verlaufsbeobachtung durchgeführt.

2.1.2 Aufklärung und Einwilligung

Vor Beginn der Studie wurde die Genehmigung der Ethikkommission der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster eingeholt. Alle an der Studie teilnehmenden Patienten wurden eingehend über Ziele und Risiken der Untersuchung aufgeklärt und ihr Einverständnis schriftlich dokumentiert.

2.1.3 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 123 Patienten beiderlei Geschlechts in die Studie eingeschlossen, die sich aufgrund einer koronaren Herzerkrankung einer elektiven koronaren Bypassoperation (CABG = coronary artery bypass graft) bzw. wegen eines erworbenen Aorten- oder Mitralklappenvitiums einer Klappenersatzoperation (VR) in der Klinik und Poliklinik für Thorax-Herz- und Gefäßchirurgie (Direktor: Univ.-Prof. Dr. H.H. Scheld) des Universitätsklinikum Münster unterziehen mussten. Das Patientenkollektiv wurde in zwei Gruppen mit jeweils zwei Untergruppen eingeteilt.

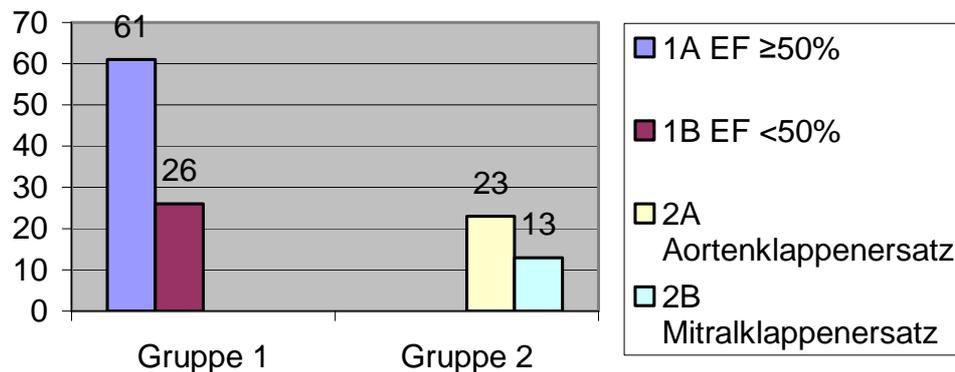


Abbildung 9: Einteilung des Patientenkollektivs in Gruppen.

Gruppe 1 setzte sich aus 87 Patienten zusammen, die sich einer CABG unterziehen mussten. Von dieser Gruppe hatten 61 Patienten eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) von \geq 50%. Sie wurden in der Gruppe 1A zusammengefasst. Gruppe 1B bestand aus 26 Patienten mit einer EF von $<$ 50%. Die VR-Gruppe (Gruppe 2) umfasste 36 Patienten. Differenziert wurde in dieser zwischen 23 Patienten mit einer Aortenklappenersatzoperation (Gruppe 2A) und 13 Patienten mit einer Mitralklappenersatzoperation (Gruppe 2B).

2.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die das 18. Lebensjahr erreicht hatten und geschäftsfähig waren. Ausschlusskriterien waren klinisch relevante Lungen-, Leber- und/oder Nierenerkrankungen sowie neurologische Ausfallerscheinungen. Kam es im präoperativen Verlauf zu Infektionen, einer instabilen Hämodynamik und/oder Katecholamintherapie führte dies zum Ausschluss von der Studie.

2.2 Anästhesiologisches und operatives Vorgehen

2.2.1 Prämedikation und Narkoseeinleitung

Am Vorabend der Operation und am Operationstag erhielten die Patienten jeweils 0,03 mg/kg Körpergewicht (KG) Flunitrazepam per os als Prämedikation. Die Narkoseeinleitung erfolgte nach Klinikstandard. Im Einleitungsraum wurde allen Patienten ein 7-Kanal-EKG zur Überwachung der Herzaktivitäten angelegt. Mittels Pulsoxymetrie wurde die Sauerstoffsättigung des Bluts überwacht. Der Blutdruck wurde primär nicht invasiv oszillometrisch mittels einer Blutdruckmanschette gemessen. Jeder Patient erhielt vor Einleitung der Narkose zunächst 10ml/kg KG physiologische Kochsalzlösung über einen periphervenösen Zugang infundiert. In Lokalanästhesie wurde eine Verweilkanüle zur kontinuierlichen intravasalen Blutdruckmessung in der Arteria radialis gelegt.

2.2.2 Anästhesie

Auch die Anästhesie wurde bei allen Patienten nach Klinikstandard durchgeführt. Nach Präoxygenierung mit 100% Sauerstoff und Einleitung der Narkose mit 0,15 – 0,2 mg/kg KG Midazolam, 7-10 µg/kg KG Fentanyl und 0,1 mg/kg KG Pancuroniumbromid erfolgte die orotracheale Intubation mit einem Magill-Tubus. Anschließend wurde eine transösophageale Echokardiographiesonde (TEE) in den Ösophagus sowie ein Multilumenkatheter in die rechte Vena jugularis gelegt. Während der gesamten Operationsdauer wurde die Anästhesie durch intravenöse Repetitionsdosen von Midazolam, Fentanyl und Pancuroniumbromid je nach klinischer Notwendigkeit aufrechterhalten.

Vor Beginn des CPB wurden 400 IE/kg KG Heparin injiziert und die Wirkung durch Messung der Activated clotting time (ACT) überprüft. Nach Sternotomie und Eröffnung des Perikards wurden 2.500.000 IE Aprotinin

intravenös innerhalb eines Zeitraums von 20 Minuten infundiert. Während des CPB wurden weitere 2.000.000 IE Aprotinin verabreicht. Die weitere Antikoagulation mittels zusätzlicher Heparin-Bolusgaben während der Operation erfolgte unter engmaschiger ACT-Kontrolle, wobei eine ACT von \geq 400 Sekunden angestrebt wurde. Nach Beendigung des CPB wurde die Heparinwirkung mit 0,3ml/kg KG Protamin antagonisiert. Darüber hinaus wurden in regelmäßigen Abständen Werte und Konzentrationen von Hämoglobin, Hämatokrit, Elektrolyte, Laktat, Blutglukose, arterielle Blutgase sowie die Urinausscheidung gemessen.

2.2.3 Kardiopulmonaler Bypass und operatives Vorgehen

Nach Freilegung des Herzens über eine mediane Sterno- und Perikardiotomie wurden Aorta ascendens und rechtes Atrium kanüliert und die Herzlungenmaschine angeschlossen. Die Beatmung wurde vorübergehend eingestellt. Bei CABG-Patienten (Gruppe 1A und 1B) wurde nach Abklemmung der Aorta über eine Inzision in die Aorta ascendens antegrad eine gekühlte Kardioplegielösung in den koronaren Kreislauf infundiert. Hierdurch wurde die Ischämietoleranzzeit des Herzens während der aortalen Abklemmphase erhöht. Bei Klappenpatienten (Gruppe 2A und 2B) erfolgte eine retrograde Blutkardioplegie über einen Koronarsinuskatheter. Die Operation erfolgte in moderater Hypothermie (ca. 34°C). Eine Hämodilution wurde bis zu einem Hämatokrit von 20-25% akzeptiert, um die Sauerstoffversorgung der peripheren Gewebe auf Mikrozirkulationsebene zu gewährleisten.

Nach Anlage der distalen Gefäßanastomosen bzw. Beendigung des Klappenersatzes und Verschluss der Herzhöhle oder der Aortotomie wurde die myokardiale Ischämie durch Öffnen der Aortenklemme mit Entlüftungsmanöver unter Kopftieflage und Blähen der Lungen beendet. Während der Reperfusion wurde die Beatmung wieder normalisiert. Durch einen Wärmetauscher der Herzlungenmaschine wurde eine Normothermie wieder-

hergestellt. Nach ausgiebiger Reperfusion (mindestens 30% der kardialen Ischämiephase) erfolgte das Weaning vom CPB unter sorgfältiger transösophagealer echokardiographischer Überwachung, Beachtung der aktuellen Hämodynamik und nach interdisziplinärer Absprache, falls erforderlich, unter Einsatz von Katecholaminen.

Das Sternum wurde mit Drahtzerklagen adaptiert und die Wunde schichtweise verschlossen. Nach Beendigung der Operation erfolgte bei stabiler hämodynamischer Situation die Verlegung des beatmeten Patienten auf die Intensivtherapiestation.

2.2.4 Intensivbehandlung

Nach Verlegung auf die Intensivtherapiestation erfolgte dort die postoperative Überwachung. Unter Analgosedierung mit Propofol und intermittierender Gabe von Piritramid wurden die Patienten für einige Stunden beatmet. Eine Extubation wurde angestrebt, wenn die Vigilanz ausreichend, die Hämodynamik stabil, Gasaustausch und Atmung adäquat waren.

Bei einer Hämoglobinkonzentration von ≤ 8 g/dl wurden zusätzlich Erythrozytenkonzentrate transfundiert. In Abhängigkeit von den hämodynamischen Parametern wurden vasoaktive Substanzen zur Stabilisierung der Kreislaufverhältnisse eingesetzt.

2.3 Messzeitpunkte

C-terminales Pro-ET-1 wurde jeweils zu folgenden prä-, intra- und postoperativen Messzeitpunkten (MZP) bestimmt:

Prä-/intraoperativ:

MZP 1	Ausgangsmessung präoperativ (Baseline, vor Narkoseeinleitung)
MZP 2	nach Narkoseeinleitung
MZP 3	20 min vor Anschluss an den CPB
MZP 4	Reperfusionphase / vor Abgang vom CPB
MZP 5	20 min nach Abgang vom CPB
MZP 6	Aufnahme auf die Intensivtherapiestation

Postoperativ:

MZP 7	4h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation
MZP 8	8h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation
MZP 9	12h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation
MZP 10	24h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation
MZP 11	48h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation
MZP 12	72h nach Aufnahme auf die Intensivtherapiestation

2.4 Probengewinnung und –behandlung

Die Proben wurden über den standardmäßig gelegten arteriellen Verweilkatheter abgenommen. Hierzu wurden Serummonovetten verwendet. Das koagulierte Blut wurde zentrifugiert (10 min bei 2000 U/min). Das sich separierende Blutserum wurde abpipettiert und in Eppendorfgefäßen bei -70 C° tiefgefroren gelagert.

2.5 Variablen

Die Konzentration des C-terminalen Pro-ET wurde zu zwölf Messzeitpunkten bestimmt. Die Zweijahresüberlebensquote wurde mittels Telefoninterview ermittelt.

2.6 Bestimmung der C-terminalen Pro-ET-1 Konzentration

Für die Bestimmung der Pro-ET-1-Konzentrationen wurde ein neuer Lumineszenz-Immunoassay der Firma Brahms verwendet. Der Immunoassay B.R.A.H.M.S. SEVACON LIA[®] (B.R.A.H.M.S. AG, Hennigsdorf/Berlin, Germany) [69] misst eines der oben bereits erwähnten stabilen und biologisch nicht aktiven Präcursorfragmente. Dieses Fragment besteht aus den AS 168-212 und befindet sich am C-terminalen Ende des Pro-ET-1.

2.7 Statistik

Die deskriptive Statistik umfasste die Berechnung folgender Größen: Mittelwert, Standardabweichung, standard error of the mean und 95 %-Konfidenzintervall.

Die C-terminalen-Pro-ET-1-Spiegel zu den einzelnen Messzeitpunkten wurden zunächst von allen Patienten mittels Kruskal-Wallis one-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) on Ranks jeweils mit Dunn-post-hoc-Test auf statistisch signifikante Unterschiede getestet. Mit dem gleichen Testverfahren wurden dann die Zeitverläufe der Untergruppen analysiert. Anschließend wurden die C-terminalen Pro-ET1-Spiegel der CABG- gegenüber den VR-Patienten, sowie die nach zwei Jahren überlebenden gegenüber den verstorbenen Patienten an den einzelnen Messzeitpunkten mittels Mann-Whitney rank sum test auf statistisch signifikante Unterschiede getestet.

3. Ergebnisse

3.1 Patienten

Die demographischen und perioperativen Daten der zu differenzierenden Gruppen unterscheiden sich wenig, was die Gruppenvergleichbarkeit hervorhebt. Mit 22,7% liegt der prozentuale Frauenanteil deutlich unter dem prozentualen Anteil männlicher Studienteilnehmer mit insgesamt 77,3%.

Tab. 2: Demographische und perioperative Daten der einzelnen Gruppen (Mittelwerte und Standardabweichung) KOF=Körperoberfläche; CPB=Dauer des kardiopulmonalen Bypass; X-Clamp=Aortenabklemmzeit; ICU=Intensive Care Unit-Aufenthalt

	<i>Gesamt</i> (n=123)	Gruppe 1A (n=61)	Gruppe 1B (n=26)	Gruppe 2A (n=23)	Gruppe 2B (n=13)
Geschlecht (m/w)	95/28	51/10	21/5	17/6	6/7
Gewicht (kg)	76,5±12,9	79,4±9,5	72,4±15,6	77,3±14,6	69,0±14,4
Größe (cm)	169,9±8,8	172±7,7	168±8,8	172±9,2	164±11,4
Alter (Jahre)	63,4±9,8	63,3±8,9	65,4±9,4	64,6±12,1	59,1±8,7
KOF (cm²)	1,9±0,2	1,9±0,14	1,8±0,2	1,9±0,2	1,8±0,2
CPB (min)	74,1±22,0	65,9±17,3	74,9±24,7	91,6±19,5	81,0±20,5
X-Clamp (min)	47,7±15,7	42,4±12,5	45,4±16,3	62,1±15,9	51,3±14,1
ICU-Liegedauer (h)	23,4±17,3	20,4±5,1	28,8±26,3	21,8±16,9	22,6±11,7

3.1.1 Überlebensraten

Tab. 3: Postoperative Überlebensdauer der verstorbenen Patienten (in Tagen) in den jeweiligen Gruppen (Mittelwerte und Standardabweichung), ID = Patientenidentifikationsnummer

Gruppe	ID	Überlebensdauer (Tage)	Überlebensdauer/ Gruppe (Tage)
Gruppe 1	1	745	209,9 ± 253,1
	10	2	
	25	16	
	39	14	
	44	11	
	47	441	
	53	423	
	76	35	
	87	173	
	98	239	
Gruppe 2	45	579	303 ± 312,4
	55	32	
	61	568	
	82	33	

In Gruppe 1 verstarben 10 Patienten (11,5%). Die kürzeste Überlebensdauer hatte Patient ID 10 mit 2 Tagen. In der Gruppe 2 verstarben 4 Patienten (11,1%).

3.2 C-terminales Pro-ET-1

3.2.1 Analyse des Zeitverlaufs aller Patienten

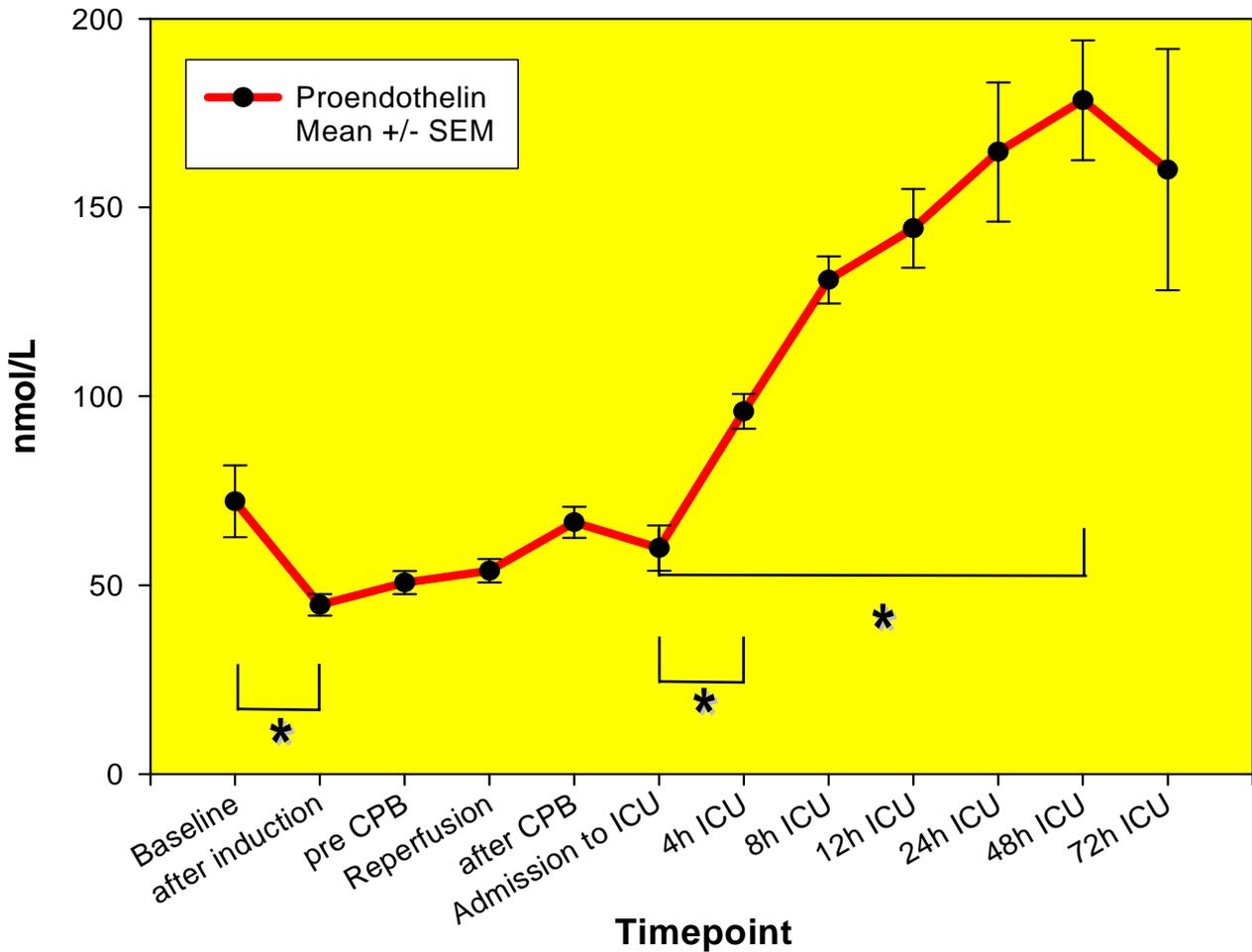


Abbildung 10: Verlauf der C-terminalen-Pro-Endothelin -1-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte \pm Standardabweichung; * = $p < 0,05$ gegenüber vorherigem Messzeitpunkt)

Die Analyse der Daten mittels ANOVA ergab, dass die Differenzen der Mittelwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten nicht zufallsbedingt und somit statistisch signifikant ($p = < 0,001$) sind. Die post-hoc-Analysen der einzelnen Datenpaare ergab, dass die Pro-ET-1-Konzentration nach Einleitung der Allgemeinanästhesie signifikant abfiel. Intraoperativ blieben die Konzentrationen konstant. Nach der Verlegung auf die Intensivüber-

wachungsstation stieg die Konzentration kontinuierlich an und erreichte 48 Stunden postoperativ den Peak. Zwischen dem 2. und 3. postoperativen Tag ist ein Abfall der Konzentration zu beobachten, der jedoch nicht signifikant ist.

3.2.2 Vergleichende Analyse der Gruppe 1 versus Gruppe 2 im zeitlichen Verlauf

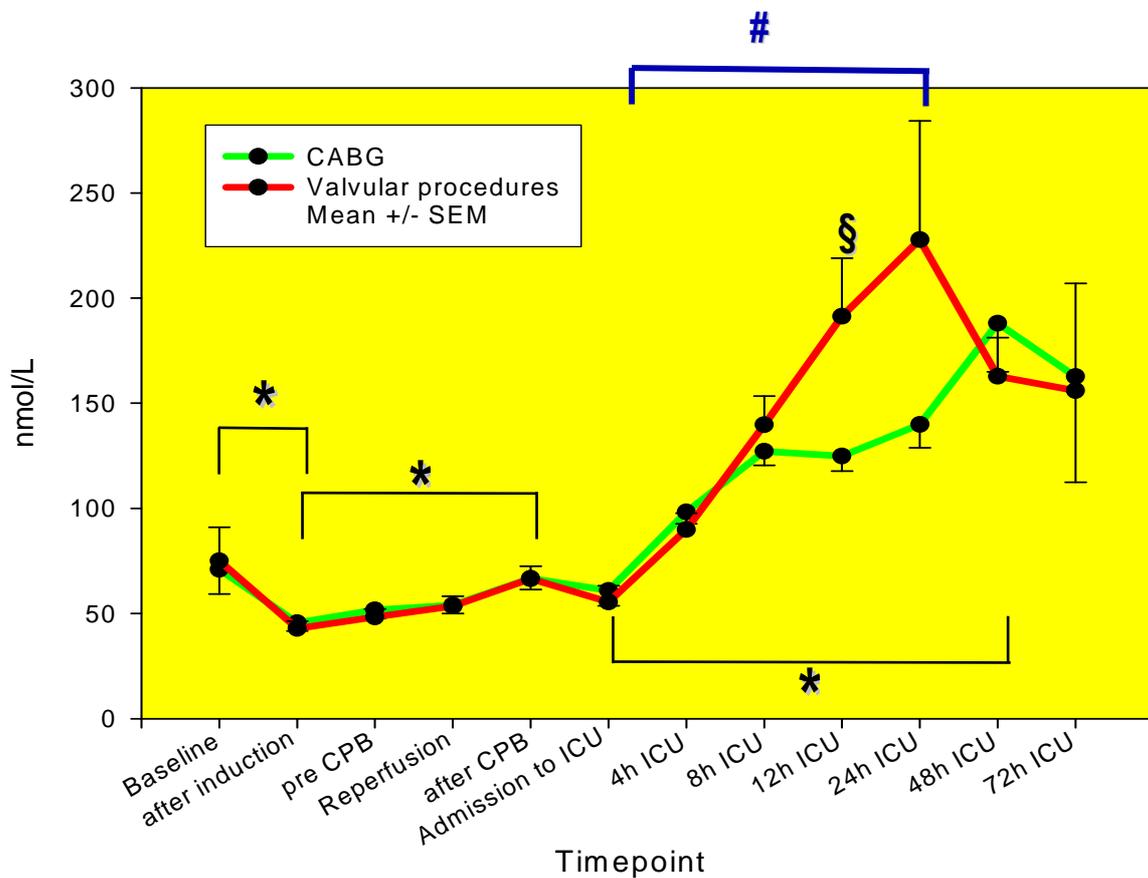


Abbildung 11: Verlauf der C-terminalen-Pro-Endothelin-1-Konzentrationen der CABG- und der Klappenersatzpatienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte \pm Standardfehler; * = $p < 0,05$ gegenüber vorherigem Messzeitpunkt bei CABG-Patienten, # = $p < 0,05$ gegenüber vorherigem Messzeitpunkt bei Klappen-Patienten, § = $p < 0,05$ vs. CABG)

Die entsprechende statistische Analyse ergab einen signifikanten Zeiteffekt innerhalb jeder einzelnen Gruppe (p jeweils $< 0,001$).

Zwischen der CABG- und der Klappenpatienten-Gruppe konnte ein signifikanter Unterschied lediglich 12 Stunden nach Aufnahme auf der Intensivstation nachgewiesen werden. Der Abfall der C-terminalen Pro-ET-1-Konzentrationen zwischen Baseline und nach Anästhesieeinleitung war nur in der CABG-Gruppe signifikant. Intraoperativ zeigte sich ein signifikanter Anstieg nur in der CABG-Gruppe nach Abgehen vom CPB gegenüber den Spiegeln nach Einleitung der Allgemeinanästhesie. In beiden Teilkollektiven stiegen die Pro-ET-1-Konzentrationen erst nach Aufnahme auf der Intensivstation bis zum zweiten (CABG) bzw. ersten Tag (Klappen) an. In der Zeit zwischen der achten Stunde und 48 Stunden nach Aufnahmen klafften die beiden Kurven auseinander, wobei der Unterschied — wie erwähnt — nur bei 12 Stunden signifikant war. Auffällig ist eine große Standardabweichung insbesondere bei 24 Stunden in der Klappengruppe.

3.2.3 Vergleichende Analyse der Überlebenden versus Verstorbenen im zeitlichen Verlauf

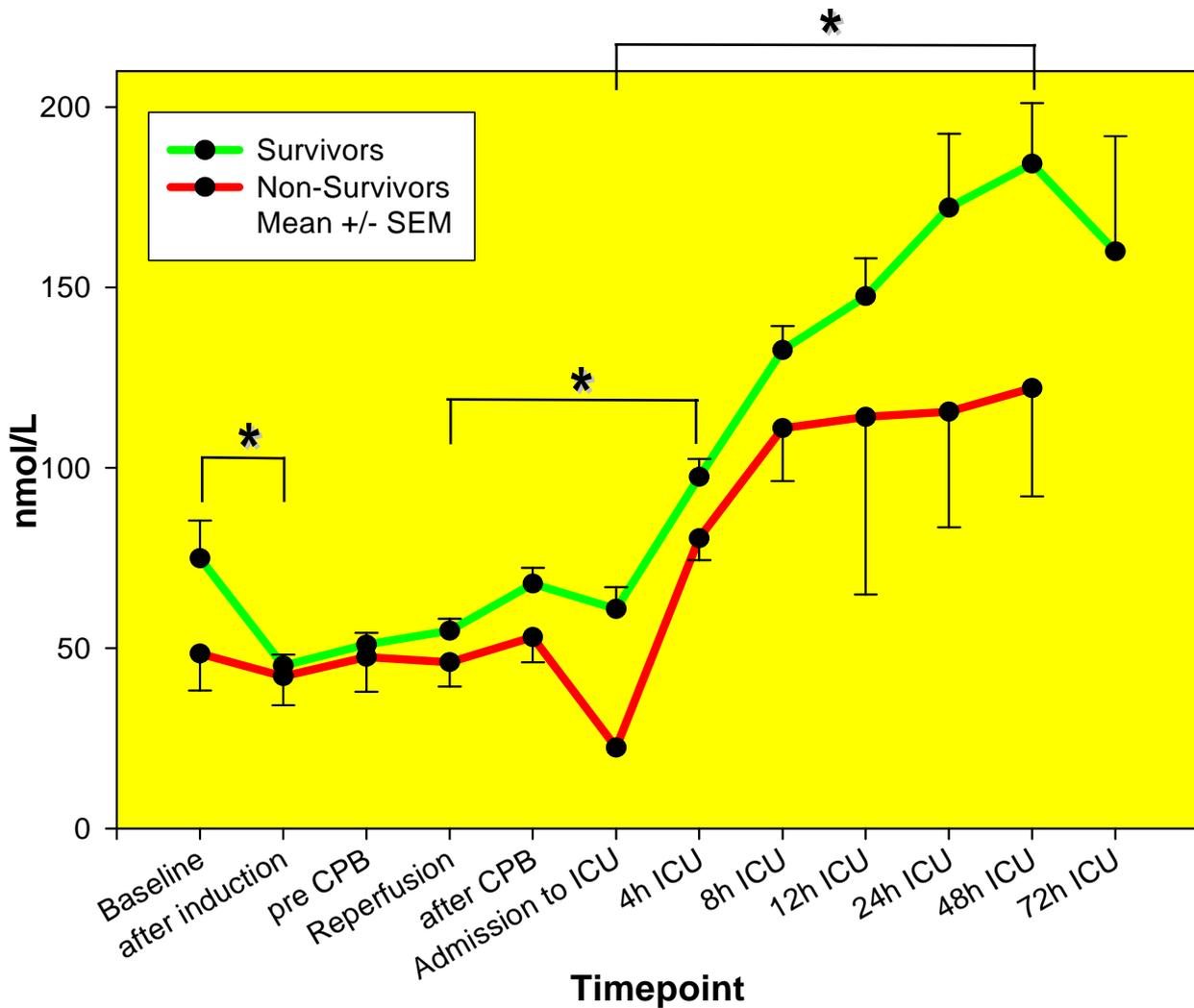


Abbildung 12: Verlauf der C-terminalen Pro-Endothelin-1-Konzentrationen der Verstorbenen und der Überlebenden nach zwei Jahren (Mittelwert \pm Standardabweichung; * = $p < 0,05$ gegenüber vorherigem Messzeitpunkt bei den überlebenden Patienten)

Die Analyse des Zeiteffektes zeigt für beide Gruppen einen signifikanten ($p < 0,001$) Unterschied der Mittelwerte. Zu keinem Messzeitpunkt konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Pro-ET-1-Konzentrationen der Patienten nachgewiesen werden, die zwei Jahre

Überlebten, und den Patienten, die während dieses Zeitraums verstarben. Ein Konzentrationsabfall nach Anästhesieeinleitung fand sich nur in der Gruppe der Überlebenden. Auch wenn der Kurvenverlauf über den Untersuchungszeitraum im Übrigen parallel verlief, war der Anstieg in den frühen postoperativen Phasen nur im Teilkollektiv der Überlebenden signifikant.

4.1 Diskussion

In dieser Untersuchung wurde das C-terminale Pro-ET-1 in einem kardiochirurgischen Patientenkollektiv untersucht. Als stabiles Präkursorfragment des ET-1 läßt es eine Quantifizierung des aktiven ET-1 zu. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von präoperativ bis 72h postoperativ.

Das C-terminale Pro-Et-1 zeigt einen spezifischen Verlauf. Nach der Narkoseeinleitung fielen die Konzentrationen ab. Intraoperativ blieben die Konzentrationen weitgehend konstant, wohingegen im postoperativen Verlauf ein stetiger Konzentrationsanstieg beobachtet werden konnte. In seinem Maximum war er um das Vierfache höher als der Baselinewert. Auch andere Studien konnten einen 200% Anstieg des ET-1 im Vergleich zum Ausgangswert bei kardiochirurgischen Operationen feststellen [72].

Aus der Analyse des Zeitverlaufs des Pro-ET-1 lässt sich die Schlussfolgerung ziehen, dass Pro-ET-1 nicht für eine Patientenüberwachung *während* einer kardiochirurgischen Operation geeignet ist. Aufgrund der Aufteilung des Patientenkollektivs in zwei Hauptgruppen gilt diese Beobachtung sowohl für Bypass- als auch für Herzklappenpatienten.

Unmittelbar nach dem Operationsende stiegen die ET-1-Konzentrationen signifikant an. Dieser Anstieg setzte sich bis zum zweiten postoperativen Tag kontinuierlich fort. Eine eindeutige Erklärung für diesen spezifischen Verlauf in der postoperativen Phase gibt es bis dato nicht. Die aktuelle Datenlage erlaubt jedoch die Vermutung, dass der Anstieg der ET-1-Konzentration im Anschluss einer CPB-Operation die Häufung typischer Organstörungen widerspiegelt. Vor allem die Lunge, die insbesondere in den ersten postoperativen Tagen in ihrer Funktion in erheblichem Maße eingeschränkt ist und zugleich der Ort mit dem größten first-pass-effect auf das ET-1 ist, sei hier erwähnt [54].

Erkennbar ist, dass sich in der frühen postoperativen Phase verstärkt vasoaktive Aktivitäten abspielen, wie der Anstieg des vasokonstriktorisches ET-1 zeigt. Auffallend ist auch der oben beschriebene Konzentrationsab-

fall direkt nach Narkoseeinleitung. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Reduktion des Sympathikotonus und der entsprechenden Vasodilatation sein.

In anderen Studien, deren Patienten sich einer korrekativen Operation eines angeborenen Herzfehlers unterziehen mussten, wurden postoperativ erhöhte ET-1-Konzentrationen beobachtet. Die Konzentrationen waren besonders bei Patienten mit einer schweren pulmonalen Hypertonie auffällig [62, 73]. ET-1 Konzentrationen sind bei Patienten, die sich einer Bypassoperation in moderater Hypothermie unterziehen mussten, signifikant höher als bei normothermen Operationen. Sie korrelieren signifikant mit höheren systemischen vaskulären Widerständen bei Patienten mit geringerer rektaler Temperatur [74].

Ebenso stiegen die postoperativen ET-1-Konzentrationen bei Herzoperationen mit einem Off-Pump-Verfahren signifikant weniger stark an als bei einem CPB [72].

All diese Studien weisen darauf hin, dass die postoperativen ET-Erhöhungen durch negative Einflüsse des CPB verursacht sein dürften. Sie stehen im Zusammenhang mit einer meist komplikationsreicheren und komplexeren postoperativen Verlaufsform und Genesung nach CPB.

Als Ergebnis dieser Studie lässt sich festhalten, dass Pro-ET-1 einen spezifischen Konzentrationsverlauf in der postoperativen Phase nach herzchirurgischen Operationen mit CPB zeigt. Aus diesem Grunde könnte dieser Biomarker für die postoperative Überwachung von Bedeutung sein. Bis jetzt ist jedoch noch unklar, ob ein Zusammenhang zwischen der Einschränkung einzelner Organsysteme, wie insbesondere der Lunge und den Pro-ET-1-Konzentrationen in der postoperativen Phase nach CPB, besteht. In weiteren Studien wäre der Zusammenhang zwischen dem ET-1-Verlauf und Störungen unterschiedlicher Organsysteme zu untersuchen. Sollte sich ein vermuteter Zusammenhang bestätigen, wäre es von Interesse, durch welche Behandlungsmaßnahmen diese zu beeinflussen sind.

In dieser Studie konnte kein wesentlicher Unterschied zwischen Patienten der Gruppe 1 (CBAG-Patienten) und der Gruppe 2 (Klappenpatienten) festgestellt werden. Signifikante Unterschiede der Pro-ET-1-Konzentrationen konnten nur vor Narkoseeinleitung, 12h nach Verlegung auf das ICU, festgestellt werden. Nach 24h war der Unterschied der beiden Verläufe ebenfalls groß, jedoch nicht signifikant. Ob diese Unterschiede eine Relevanz haben, bleibt unklar.

Die Konzentrationsverläufe von Überlebenden und Verstorbenen unterscheiden sich lediglich zum MZP 1, also präoperativ, signifikant. Daraus lässt sich folgern, dass die Pro-ET-1-Konzentration keinen Rückschluss auf das Langzeitoutcome der Patienten zulässt.

4.2 Zusammenfassung

Das C-terminale Pro-ET-1, welches als inaktiver Präkursorfragment einen indirekten quantitativen Rückschluss auf ET-1 liefern kann, zeigt während herzchirurgischer Operationen einen relativ konstanten Verlauf. Aus diesem Grund eignet sich dieser Biomarker nicht zur intraoperativen Überwachung. Auch als Parameter für das Langzeitoutcome scheint sich Pro-ET-1 nicht zu eignen.

Weitere Studien könnten den spezifischen Verlaufs in der postoperativen Phase und die Korrelation zu unterschiedlichen Organfunktionen näher untersuchen, um mögliche Behandlungsmaßnahmen zu ergreifen, die eine starke Konzentrationserhöhung des ET-1-Spiegels verhindern.

1. Levin, E.R., *Endothelins*. N Engl J Med, 1995. 333(6): p. 356-63.
2. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. Nature, 1980. 288(5789): p. 373-6.
3. Hickey, K.A., et al., *Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells*. Am J Physiol, 1985. 248(5 Pt 1): p. C550-6.
4. Masaki, T., *Historical review: Endothelin*. Trends Pharmacol Sci, 2004. 25(4): p. 219-24.
5. Grossman, J. and J. Morgan, *Cardiovascular Effects of Endothelin*. News Physiol Sci, 1997. 12(3): p. 113-117.
6. Inoue, A., et al., *The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. 86(8): p. 2863-7.
7. Wagner, O.F., et al., *Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells*. J Biol Chem, 1992. 267(23): p. 16066-8.
8. Karet, F.E. and A.P. Davenport, *Localization of endothelin peptides in human kidney*. Kidney Int, 1996. 49(2): p. 382-7.
9. Takasaki, C., et al., *Sarafotoxins S6: several isotoxins from Atractaspis engadensis (burrowing asp) venom that affect the heart*. Toxicon, 1988. 26(6): p. 543-8.
10. Emori, T., et al., *Cellular mechanism of thrombin on endothelin-1 biosynthesis and release in bovine endothelial cell*. Biochem Pharmacol, 1992. 44(12): p. 2409-11.
11. Bloch, K.D., et al., *Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin*. J Biol Chem, 1989. 264(18): p. 10851-7.
12. Xu, D., et al., *ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1*. Cell, 1994. 78(3): p. 473-85.
13. Funke-Kaiser, H., et al., *Characterization of the c-specific promoter of the gene encoding human endothelin-converting enzyme-1 (ECE-1)*. FEBS Lett, 2000. 466(2-3): p. 310-6.
14. Schweizer, A., et al., *Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): three isoforms with distinct subcellular localizations*. Biochem J, 1997. 328 (Pt 3): p. 871-7.
15. Yanagisawa, H., et al., *Dual genetic pathways of endothelin-mediated intercellular signaling revealed by targeted disruption of endothelin converting enzyme-1 gene*. Development, 1998. 125(5): p. 825-36.
16. Emoto, N. and M. Yanagisawa, *Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum*. J Biol Chem, 1995. 270(25): p. 15262-8.
17. Sakurai, T., et al., *Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor*. Nature, 1990. 348(6303): p. 732-5.
18. Arai, H., et al., *Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor*. Nature, 1990. 348(6303): p. 730-2.
19. Masaki, T., et al., *Subcellular mechanisms of endothelin action in vascular system*. Eur J Pharmacol, 1999. 375(1-3): p. 133-8.
20. Miwa, S., et al., *Ca²⁺ entry channels in rat thoracic aortic smooth muscle cells activated by endothelin-1*. Jpn J Pharmacol, 1999. 80(4): p. 281-8.
21. Bremnes, T., et al., *Regulation and intracellular trafficking pathways of the endothelin receptors*. J Biol Chem, 2000. 275(23): p. 17596-604.

22. Akiyama, N., et al., *Biotin derivatives of endothelin: utilization for affinity purification of endothelin receptor*. *Protein Expr Purif*, 1992. 3(5): p. 427-33.
23. Hirata, Y., et al., *Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells*. *J Clin Invest*, 1993. 91(4): p. 1367-73.
24. Ferrario, R.G., et al., *Hemodynamic and tubular effects of endothelin and thromboxane in the isolated perfused rat kidney*. *Eur J Pharmacol*, 1989. 171(1): p. 127-34.
25. Levin, E.R., H.J. Frank, and A. Pedram, *Endothelin receptors on cultured fetal rat diencephalic glia*. *J Neurochem*, 1992. 58(2): p. 659-66.
26. McMurray, J.J., et al., *Plasma endothelin in chronic heart failure*. *Circulation*, 1992. 85(4): p. 1374-9.
27. Krum, H., et al., *Changes in plasma endothelin-1 levels reflect clinical response to beta-blockade in chronic heart failure*. *Am Heart J*, 1996. 131(2): p. 337-41.
28. Pacher, R., et al., *Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 1996. 27(3): p. 633-41.
29. Stewart, D.J., et al., *Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction*. *J Am Coll Cardiol*, 1991. 18(1): p. 38-43.
30. Yasuda, M., et al., *Circulating immunoreactive endothelin in ischemic heart disease*. *Am Heart J*, 1990. 119(4): p. 801-6.
31. Neubauer, S., et al., *Effects of endothelin-1 in the isolated heart in ischemia/reperfusion and hypoxia/reoxygenation injury*. *J Mol Cell Cardiol*, 1991. 23(12): p. 1397-409.
32. Kusumoto, K., et al., *Role of endogenous endothelin in extension of rabbit myocardial infarction*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1993. 22 Suppl 8: p. S339-42.
33. Maxwell, L., W.R. Harrison, and J.B. Gavin, *Endothelin antagonists diminish postischemic microvascular incompetence and necrosis in the heart*. *Microvasc Res*, 2000. 59(2): p. 204-12.
34. Ishikawa, S., et al., *Influence of pulmonary blood pressure and flow on endothelin-1 production in humans*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995. 26 Suppl 3: p. S429-33.
35. Stewart, D.J., et al., *Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease?* *Ann Intern Med*, 1991. 114(6): p. 464-9.
36. Black, S.M., M.J. Johengen, and S.J. Soifer, *Coordinated regulation of genes of the nitric oxide and endothelin pathways during the development of pulmonary hypertension in fetal lambs*. *Pediatr Res*, 1998. 44(6): p. 821-30.
37. Rubin, L.J., et al., *Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension*. *N Engl J Med*, 2002. 346(12): p. 896-903.
38. Sitbon, O., et al., *Effects of the dual endothelin receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary arterial hypertension: a 1-year follow-up study*. *Chest*, 2003. 124(1): p. 247-54.
39. Khetsuriani, T., N. Chabashvili, and T. Sanikidze, *[Role of endothelin-1 and nitric oxide level in pathogenesis preeclampsia.]* *Georgian Med News*, 2006(141): p. 17-21.
40. Florijn, K.W., et al., *Elevated plasma levels of endothelin in pre-eclampsia*. *J Hypertens Suppl*, 1991. 9(6): p. S166-7.
41. Stoyneva, Z., et al., *Current pathophysiological views on vibration-induced Raynaud's phenomenon*. *Cardiovasc Res*, 2003. 57(3): p. 615-24.
42. Kohno, M., et al., *Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension*. *Am J Med*, 1990. 88(6): p. 614-8.

43. Kohno, M., et al., *Plasma immunoreactive endothelin-1 in experimental malignant hypertension*. Hypertension, 1991. 18(1): p. 93-100.
44. Rakugi, H., et al., *Endothelin activates the vascular renin-angiotensin system in rat mesenteric arteries*
Biochem Int, 1990. 21(5): p. 867-72.
45. Dohi, Y., et al., *Endothelin stimulated by angiotensin II augments contractility of spontaneously hypertensive rat resistance arteries*. Hypertension, 1992. 19(2): p. 131-7.
46. Deng, L.Y. and E.L. Schiffrin, *Effect of antihypertensive treatment on response to endothelin of resistance arteries of hypertensive rats*. J Cardiovasc Pharmacol, 1993. 21(5): p. 725-31.
47. King, A.J., B.M. Brenner, and S. Anderson, *Endothelin: a potent renal and systemic vasoconstrictor peptide*. Am J Physiol, 1989. 256(6 Pt 2): p. F1051-8.
48. Miller, W.L., et al., *Endothelin-mediated cardiorenal hemodynamic and neuroendocrine effects are attenuated by nitroglycerin in vivo*. Am J Hypertens, 1993. 6(2): p. 156-63.
49. Lerman, A., et al., *Endothelin in Coronary Endothelial Dysfunction and Early Atherosclerosis in Humans*. Circulation, 1995. 92(9): p. 2426-2431.
50. Zeiher, A.M., et al., *Increased tissue endothelin immunoreactivity in atherosclerotic lesions associated with acute coronary syndromes*. Lancet, 1994. 344(8934): p. 1405-6.
51. Kowala, M.C., et al., *Selective blockade of the endothelin subtype A receptor decreases early atherosclerosis in hamsters fed cholesterol*. Am J Pathol, 1995. 146(4): p. 819-26.
52. Murphy, G.J. and G.D. Angelini, *Side effects of cardiopulmonary bypass: what is the reality?* J Card Surg, 2004. 19(6): p. 481-8.
53. Mathieu, P., et al., *Pulmonary metabolism of endothelin 1 during on-pump and beating heart coronary artery bypass operations*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001. 121(6): p. 1137-42.
54. Begeheti, M., S.M. Black, and J.R. FINEMAN, *Endothelin-1 in Congenital Heart Disease*. Pediatr. Res., 2005. 57(5_Part_2): p. 16R-20.
55. Pernow, J. and Q.D. Wang, *Endothelin in myocardial ischaemia and reperfusion*. Cardiovasc Res, 1997. 33(3): p. 518-26.
56. Mohara, J., et al., *The optimal pressure for initial flush with UW solution in heart procurement*. J Heart Lung Transplant, 2002. 21(3): p. 383-90.
57. Pearl, J.M., et al., *Endothelin receptor blockade reduces ventricular dysfunction and injury after reoxygenation*. Ann Thorac Surg, 2001. 72(2): p. 565-70.
58. Shafique, T., et al., *Altered pulmonary microvascular reactivity after total cardiopulmonary bypass*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993. 106(3): p. 479-86.
59. Yoshiyoshi, M., et al., *Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation*. Circulation, 1991. 84(6): p. 2280-5.
60. Komai, H., et al., *Increased plasma levels of endothelin-1 after cardiopulmonary bypass in patients with pulmonary hypertension and congenital heart disease*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993. 106(3): p. 473-8.
61. Carteaux, J.P., et al., *Acute pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass in pig: the role of endogenous endothelin*. Eur J Cardiothorac Surg, 1999. 15(3): p. 346-52.

62. Petrossian, E., et al., *Endothelin receptor blockade prevents the rise in pulmonary vascular resistance after cardiopulmonary bypass in lambs with increased pulmonary blood flow*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999. 117(2): p. 314-23.
63. Schulze-Neick, I., et al., *The endothelin antagonist BQ123 reduces pulmonary vascular resistance after surgical intervention for congenital heart disease*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2002. 124(3): p. 435-41.
64. Greenberg, D.A., J. Chan, and H.A. Sampson, *Endothelins and the nervous system*. Neurology, 1992. 42(1): p. 25-31.
65. Simonson, M.S. and M.J. Dunn, *Endothelin peptides and the kidney*. Annu Rev Physiol, 1993. 55: p. 249-65.
66. Ricciardi, R., et al., *Bosentan, an endothelin antagonist, augments hepatic graft function by reducing graft circulatory impairment following ischemia/reperfusion injury*. J Gastrointest Surg, 2001. 5(3): p. 322-9.
67. Anggard, E., et al., *The fate of radioiodinated endothelin-1 and endothelin-3 in the rat*. J Cardiovasc Pharmacol, 1989. 13 Suppl 5: p. S46-9; discussion S74.
68. Weitzberg, E., G. Ahlborg, and J.M. Lundberg, *Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of endothelin-1 in human splanchnic and renal tissues*. Biochem Biophys Res Commun, 1991. 180(3): p. 1298-303.
69. Struck, J., N.G. Morgenthaler, and A. Bergmann, *Proteolytic processing pattern of the endothelin-1 precursor in vivo*. Peptides, 2005.
70. Struck, J., et al., *Identification of an Adrenomedullin precursor fragment in plasma of sepsis patients*. Peptides, 2004. 25(8): p. 1369-72.
71. Morgenthaler, N.G., et al., *Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma*. Clin Chem, 2004. 50(1): p. 234-6.
72. Dorman, B., et al., *A prospective, randomized study of endothelin and postoperative recovery in off-pump versus conventional coronary artery bypass surgery*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2004. 18(1): p. 25-9.
73. Hiramatsu, T., et al., *Time Course of Endothelin-1 and Nitrate Anion Levels After Cardiopulmonary Bypass in Congenital Heart Defects*. Ann. Thorac. Surg., 1997. 63(3): p. 648-652.
74. Tonz, M., et al., *Postoperative hemodynamics depend on cardiopulmonary bypass temperature: the potential role of endothelin-1*. Eur. J. Cardiothorac. Surg., 1997. 11(1): p. 157-161.

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AS	Aminosäuren
CABG	coronary artery bypass grafting
CPB	kardiopulmonaler Bypass
dl	Deziliter
EF	Ejektionsfraktion
ET	Endothelin
g	Gramm
IL-6	Interleukin-6
ICU	Intensivtherapiestation
KHK	Koronare Herzkrankheit
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
HZV	Herzzeitvolumen (l/min)
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht (kg)
MZP	Messzeitpunkt
n	Stichprobenumfang
p	Signifikanzniveau
Tab.	Tabelle

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Patienten bedanken, die sich trotz schwerer Krankheit und Not zur Teilnahme an dieser Studie bereit erklärt haben.

Mein Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. Wiebke Gogarten für die freundliche und unbürokratische Unterstützung. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken, Direktor der Klinik und Poliklinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin in Münster, und Herrn Universitätsprofessor Dr. med. H.H. Scheld, Direktor der Klinik und Poliklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie in Münster, bedanken, die es mir ermöglicht haben, die Untersuchung an den Patienten ihrer Klinik durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Stefan Wirtz, durch den diese Arbeit erst möglich wurde. Vielen Dank für die effektive Betreuung.

Besonders meinen Eltern Marianne Knauer-Köster und Karl Köster sowie Gerlinde Dahlke und Gerd Knauer gilt es zu danken, die mir das Medizinstudium – und nicht nur das- ermöglicht haben.

Zuletzt danke ich Nicole Samberg für all die Kraft, Liebe und Zuspruch, welche ich erfuhr und täglich neu erfahre.

