

Aus der
Klinik für Anaesthesiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. B. Zwißler

**Akute Schädigung der endothelialen Glykokalyx bei
Kindern während kardiochirurgischen Eingriffen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Isabel Suckart geb. Roßberg
aus Bochum

2017

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Daniel Chappell

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Stephan Kellnar
PD Dr. med. Antje Habicht

Mitbetreuung durch
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Florian Brettner

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 09.11.2017

meiner Familie gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht in:

Bruegger D., Brettner F., Rossberg I., Nussbaum C., Kowalski C., Januszewska K., Becker B.F., Chappell D. Acute Degradation of the Endothelial Glycocalyx in Infants Undergoing Cardiac Surgical Procedures. *The Annals of Thoracic Surgery*, 99(3):926-931, 2015.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Die Glykokalyx	2
1.1.1 Struktur der Glykokalyx	2
1.1.2 Funktion der Glykokalyx	10
1.2 Das Glykokalyxshedding	16
2 Patienten und Methoden	19
2.1 Studiendesign	19
2.2 Patienten und Gruppen	19
2.3 Herzfehler und Operationen	20
2.3.1 Azyanotische kongenitale Anomalien	20
2.3.2 Zyanotische kardiale Anomalien	23
2.4 Narkoseeinleitung und präoperatives Management	26
2.5 Blutentnahmen	27
2.5.1 CPB-Gruppe	27
2.5.2 CPB+AC-Gruppe	28
2.5.3 CBP+AC+DHCA-Gruppe	29
2.6 Labortechnische Untersuchungen	31
2.7 Statistik	31
3 Ergebnisse	33
3.1 Epidemiologische Daten	33
3.2 Untersuchung des intraoperativen EG-Sheddings	37
3.2.1 Syndecan-1	37
3.2.2 Hyaluronan	41
3.3 Einfluss weiterer Faktoren auf das EG-Shedding	45
3.3.1 Präoperative Hypoxie	45
3.3.2 Präoperative Hydrocortisongabe	47

3.3.3 Hypothermie-Dauer	48
4 Diskussion	50
5 Zusammenfassung	61
Literaturverzeichnis	62
Danksagung	76
Eidesstattliche Erklärung	77

Abbildungsverzeichnis

1.1	Schematischer Aufbau der EG	2
1.2	Schematische Struktur der Syndecane	7
1.3	Chemische Struktur des Hyaluronans	8
1.4	Schematischer Aufbau der vaskulären Barriere nach Starling	11
1.5	Schematischer Aufbau der vaskulären Barriere unter Berücksichtigung des ESL	12
2.1	Protokoll Blutentnahmen	30
3.1	Übersicht über die Häufigkeit der operierten Herzfehler.	35
3.2	Zeitlicher Verlauf der gewichtsbezogenen SDC-1-Serumkonzentration	38
3.3	Serumkonzentration Syndecan-1 in den drei Studiengruppen zu den verschiedenen Messzeitpunkten.	40
3.4	Zeitlicher Verlauf der gewichtsbezogenen HA-Serumkonzentration	42
3.5	Serumkonzentration Hyaluronan in den drei Studiengruppen zu den verschiedenen Messzeitpunkten.	44
3.6	Serumkonzentration von SDC-1 und HA in Abhängigkeit der präoperativen Hypoxämie.	46
3.7	Serumkonzentration von SDC-1 und HA in Abhängigkeit der präoperativen Hydrocortisongabe.	48
3.8	Maximale Serumkonzentration von SDC-1 und HA in Abhängigkeit der Hypothermiedauer.	49

Tabellenverzeichnis

1.1	Überblick der Core-Proteine der Proteoglykane	3
1.2	Dissaccharide der Glykosaminoglykane	4
1.3	Vorkommen der Syndecan-Subtypen in unterschiedlichen Geweben	5
3.1	Übersicht über die epidemiologischen Daten und Operationszeiten in den drei Gruppen.	33
3.2	Übersicht der Häufigkeit präoperativer Hypoxie in den verschiedenen Gruppen. .	34
3.3	Übersicht der Häufigkeit präoperativer Hydrocortisongabe in den verschiedenen Gruppen.	34
3.4	Verteilung der Herzfehler in den drei Studiengruppen	36
3.5	Übersicht Serumkonzentration von Syndecan-1 aller Studienteilnehmer	37
3.6	Zeitlicher Verlauf der Serumkonzentration von Syndecan-1 in den verschiedenen Gruppe.n	39
3.7	Übersicht der Serumkonzentration von Hyaluronan aller Studienteilnehmer. . . .	41
3.8	Zeitlicher Verlauf der Serumkonzentration von Hyaluronan in den verschiedenen Gruppen.	43
3.9	SDC-1- /HA-Serumkonzentration in Abhängigkeit präoperativer Hypoxie.	45
3.10	SDC-1- /HA-Serumkonzentration in Abhängigkeit präoperativer Hydrocortisongabe.	47

Abkürzungsverzeichnis

AC	Aortenklemmung
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ApoE	Apolipoprotein E
ASD	Atriumseptumdefekt
AT-III	Antithrombin III
AVSD	Atrio-ventrikulärer Septumdefekt
CCH	Criss-Cross-Herz
CISV	Common inlet single ventricle
CPB	Kardiopulmonaler Bypass
CS	Chondroitinsulfat
DHCA	deep hypothermic cardiacirculatory arrest
DORV	Double Outlet Right Ventricle
DS	Dermatansulfat
EG	Endotheliale Glykokalyx
ESL	Endothelial surface layer
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktor
FGF-1	Fibroblasten-Wachstumsfaktor-1
FR	FGF-Rezeptor
GAG	Glykoasaminoglykane
GalA	Galakturonsäure
GalNAc	N-Acetylgalaktosamin
GlcA	Glucuronsäure
GlcNAc	N-Acetylglucosamin
HA	Hyaluronan
HAS	Hyaluronan-Synthetase
HCS	Hydrocortison
HLHS	Hypoplastisches Linksherzsyndrom
HRHS	Hypoplastisches Rechtsherz-Syndrom
HS	Heparansulfat
IAA	Unterbrochener Aortenbogen
ICP	Ischämische Präkonditionierung
IdoA	Irudonsäure
IL-6	Interleukin-6
I/R	Ischämie/ Reperfusion
IQR	Interquartils-Abstand

LPS	Lipopolysaccharid
kDA	Kilodalton
KOD	Kolloidosmotischer Druck
KS	Keratinsulfat
MMP	Matrix-Metalloproteasen
MW	Molekulargewicht
NS	N-sulfatiert
NO	Stickstoffmonoxid
Ox-LDL	Oxidiertes LDL-Cholesterin
Pa	Pascal (SI-Einheit des Drucks / mechanische Spannung)
PA	Pulmonalklappenatresie
PAH	Pulmonalarterielle Hypertonie
PDA	Persistierender Ductus arteriosus
PDZ2	PSD-95/Dlg/ZO-1 2 (wichtige Domäne der Signaltransduktion)
PG	Proteoglykane
PIP2	Phosphaditylinositol-4,5-bisphosphat
PR39	Peptid zur Regulation der Angiogenese
PS	Pulmonalstenose
Qp:Qs-Verhältnis	Verhältnis Lungen-/Systemdurchfluss
SDC	Syndecan
SDC-1	Syndecan-1
SDC-2	Syndecan-2
SDC-3	Syndecan-3
SDC-4	Syndecan-4
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	Superoxid-Dismutase
TAPVC	Totale Lungenvenenfehlmündung
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TGA	Transposition der großen Arterien
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TOF	Fallot-Tetralogie
VSD	Ventrikelseptumdefekt
WBS	Williams-Beuren-Syndrom
Wtn	Signalprotein für Entwicklung für Zellen
2S	2-O-sulfatiert
3S	3-O-sulfatiert
4S	4-O-sulfatiert
6S	6-O-sulfatiert

1 Einleitung

Während kardiochirurgischen Eingriffen kommt es bei Erwachsenen zu einem Shedding der endothelialen Glykokalyx. Dies ist sowohl Folge der Inflammation als auch der Ischämie/Reperfusion (I/R), welche unter Verwendung eines kardiopulmonalen Bypasses auftreten. In einer Untersuchung an erwachsenen Patienten konnten Brügger et al. [7] zeigen, dass eine Zunahme der Ischämie/ Reperfusion zu einem ausgeprägteren Shedding der endothelialen Glykokalyx führt.

Trotz Zunahme pädiatrischer, kardiochirurgischer Eingriffe liegen bisher keine Daten zum Shedding der endothelialen Glykokalyx bei Kindern vor. Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, das Shedding unter Berücksichtigung des Umfangs der Ischämie/Reperfusionsphase bei Kindern zu untersuchen.

In der Einleitung wird zunächst die Struktur der endothelialen Glykokalyx beschrieben und auf ihre wichtigsten physiologischen Funktionen eingegangen. Im Anschluss daran erfolgt die Beschreibung verschiedener Faktoren, die ein Shedding der endothelialen Glykokalyx auslösen können.

Kapitel 2, Patienten und Methoden, beschreibt das Studiendesign und gibt einen Einblick in die häufigsten kardialen Anomalien sowie die Operationsverfahren, die in dieser Studie betrachtet wurden.

Die Ergebnisse werden in Kapitel 3 vorgestellt und im Anschluss in der Diskussion in Bezug zum Stand der Forschung gesetzt.

1.1 Die Glykokalyx

1.1.1 Struktur der Glykokalyx

Die endotheliale Glykokalyx (EG) ist eine kohlenhydratreiche Schicht, welche luminalseitig in den Endothelzellen verankert ist [20]. Das Grundgerüst der EG, das überwiegend aus Proteoglykanen, Glykoproteinen und Glykosaminoglykanen besteht, ist unter physiologischen Bedingungen in der Lage im Blut vorhandene Plasmaproteine an sich zu binden [105]. Durch diese Bindungen entsteht ihre funktionsfähige Struktur, der sog. endothelial surface layer (ESL) [13]. Abb. 1.1 zeigt den schematischen Aufbau der EG.

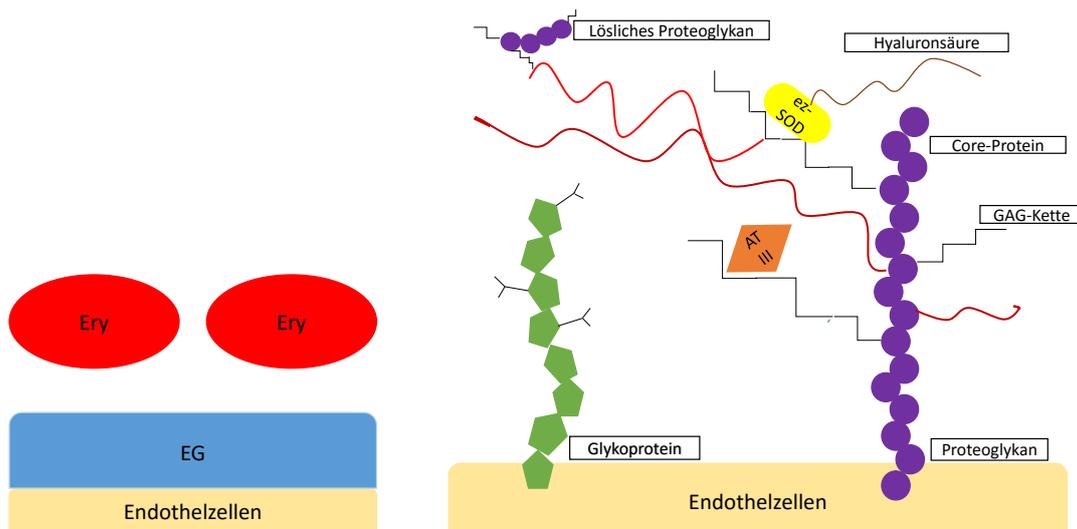


Abbildung 1.1: Schematischer Aufbau der EG, links: Übersicht Endothelzellen mit endothelialer Glykokalyx, rechts: schematischer Aufbau der endothelialen Glykokalyx. Ery: Erythrozyt, ATIII: Antithrombin-III, Ez-SOD: Extrazelluläre Superoxid-Dismutase, GAG: Glykosaminoglykan, modifiziert nach [78].

Die Proteoglykane (PG) bilden den Hauptstrang der EG. Sie bestehen aus Core-Proteinen und den daran gebundenen Glykosaminoglykanen (GAG) [78]. Insgesamt gibt es sieben verschiedene Core-Proteine. Unterscheidungsmerkmale sind Größe, Anzahl der Subtypen, Art und

Anzahl der an sie gebundenen GAG sowie ihre Bindungsart an die Membran der Endothelzelle.

Tab 1.1 gibt einen Überblick über die verschiedenen Core-Proteine der PG sowie deren Eigenschaften.

Protein \ Merkmal	Größe (kDa)	Zahl d. Subtypen	Zahl d. GAGs	Art der GAGs	Art der Bindung
Syndecan	19-35	4	5	HS/CS	TM-Domäne
Glypican	57-69	6	3	HS/CS	DPI-Anker
Perlecan	400	1	3	HS/CS	Sekretion
Versican	370	1	10-30	CS/DS	Sekretion
Decorin	40	1	1	CS/DS	Sekretion
Biglycan	40	1	2	CS/DS	Sekretion
Mimecan	35	1	2-3	KS	Sekretion

Tabelle 1.1: Überblick der Core-Proteine der Proteoglykane sowie deren Eigenschaften. HS = Heparansulfat, CS = Chondroitinsulfat, KS = Keratinsulfat, TM-Domäne = transmembranäre Domäne, GPI = Glykosylphosphatidylinositol kDa = Kilodalton. Modifiziert nach [78].

Die große Anzahl an Core-Proteinen, ihrer Subtypen und der Art der an sie gebundenen GAG führen zu einer großen Vielfalt an Proteoglykanen (PG).

So gibt es neben den Core-Proteinen fünf verschiedene GAG, wobei die häufigsten Arten der GAG, Heparansulfat (HS) und Chondroitinsulfat (CS), in einem Verhältnis von 4:1 (HS:CS) an die PG gebunden werden [75]. Alle GAG sind aus mehreren linearen Disaccharidketten variabler Länge aufgebaut. Typischerweise besteht ein Disaccharid aus einer Einheit Uronsäure und einem Molekül Hexosamin mit D-Glucosamin bzw. Galactosamin [78]. Zusätzlich kön-

nen unterschiedliche N- und O-Sulfatierungen auftreten [44]. Wichtige Klassifikationsmerkmale der GAG sind neben dem Sulfatierungsmuster ihrer Dissacharide deren Monosaccharidbausteine [78]. Die Komposition der GAG und deren Aufbau sind in Tab 1.2 dargestellt.

GAG \ Spezielles	HS	CS	DS	HA	KS
Uronsäure	GlcA(2S)3 IdoA(2S)	GlcA	GlcA IdoA(2S)	GlcA	Gal(6S)
Disaccharid-seitenkette	1β4	1β3	1β3	1β3	1β4
Hexosamin	GlcNAc(NS)(3S) (6S)	GalNAc4Sa3 GalNAc6Sa	GalNAc(4S)(6S)	GlcNAc	GlcNAc(6S)
Polymerisation	1β4	1β4	1β4	1β4	1β3

Tabelle 1.2: Zusammenfassung der unterscheidlichen Dissaccharidkomponenten der verschiedenen Glykosaminoglykane. HS = Heparansulfat, CS = Chondroitinsulfat, DS = Dermansulfat, HA = Hyaluronan, KS = Keratinsulfat, GlcA = Glucuronsäure, IdoA = Irudonsäure, GalA = Galakturonsäure, GlcNAc = N-Acetylglucosamin, GalNAc = N-Acetylgalaktosamin, 2S = 2-O-sulfatiert, 3S = 3-O-sulfatiert, 4S = 4-O-sulfatiert, 6S = 6-O-sulfatiert, NS = N-sulfatiert. Modifiziert nach [78].

Wie bereits erwähnt sind GAG ein wesentlicher Bestandteil der EG und unter anderem für die Bindung von Plasmaproteinen verantwortlich [78]. Die Interaktion der GAG mit Plasmaproteinen ist stark von ihrer Umgebung abhängig [105]. So wirken sich u. a. der pH-Wert und die Anzahl der Kationen auf das Bindungsverhalten der GAG aus [38]. Des Weiteren beeinflussen diese Faktoren stark ihre Dehnbarkeit. Seog et al. [86] haben herausgefunden, dass GAG in einer isotonen Natriumchloridlösung ihre maximale Dehnbarkeit besitzen und sich auf 80% ihres Umfangs ausdehnen können. So kann ein GAG, bestehend aus 100 Dissacharideinheiten, eine Länge von 80 nm erreichen.

In dieser Arbeit werden zur Bestimmung des Ausmaßes des Glykokalyxshedding das beim Menschen am meisten verbreitete Core-Protein Syndecan-1 sowie das GAG Hyaluronan bestimmt. Daher sollen diese im Folgenden genauer beleuchtet werden.

Syndecan

Syndecan (SDC) ist ein Core-Protein, das die GAG Heparansulfat (HS) und Chondroitinsulfat (CS) bindet, s. a. Abb. 1.1. Bei Wirbeltieren, einschließlich dem Menschen, sind vier verschiedene Subtypen des SDC (SDC-1, SDC-2, SDC-3, SDC-4) bekannt. Diese werden gewebeabhängig unterschiedlich exprimiert [94]. Beispielsweise finden sich die Subtypen SDC-1, SDC-2 und SDC-4 auf Endothelzellen [105]. SDC-1 ist das am meisten im Menschen vorkommende SDC [87]. Einen Überblick über Vorkommen und Funktion gibt Tab. 1.3.

Subtyp \ Kategorie	Vorkommen	Regulation der Expression
SDC-1	epithelial u. mesenchymal	Wundheilung, PR39 ↑ TNF-alpha* , TGF-beta# ↓
SDC-2	mesenchymal, neuronal u. epithelial	TNF-alpha* , Umwandlung Lipozyt > Myofibroblast ↑
SDC-3	neuronal, muskuloskelettal	während d. Entwicklung d. Nervensystems ↑
SDC-4	ubiquitär	TGF-beta#, Atherosklerose, Wundheilung, PR39 ↑

Tabelle 1.3: Vorkommen der SDC-Subtypen in verschiedenen Geweben sowie bestimmte Einflussfaktoren auf deren Expression. PR39 = inflammatorisches Peptid, * in endothelialen Zellen, # in epithelialen Zellen. Modifiziert nach [94].

Alle SDC-Subtypen ähneln sich in ihrem Aufbau. So besitzt jedes Molekül drei Komponenten: eine zytoplasmatische Seite, eine transmembranäre Domäne sowie eine extrazelluläre Seite, s. a. Abb. 1.2. An der extrazelluläre Seite können drei bis fünf GAG-Ketten (HS und CS) gebunden werden [94].

Die zytoplasmatische Seite besitzt drei verschiedene Domänen: C1, C2 und die V-Einheit. Die Domänen C1 und C2 sind in allen vier Subtypen vorhanden und zeigen keine sichtbaren Unterschiede zwischen den verschiedenen Subtypen. In der C1-Domäne zeigen sich Unterschie-

de in der posttranslationalen Modifikation bzw. im Bindungsverhalten zwischen den Subtypen. Dies führt zur Bindung unterschiedlicher intrazellulärer Proteine. So ist C1 für die Polymerisation der Syndecankette und die Bindung zytoplasmatischer Proteine wie z. B. Tubulin verantwortlich [94].

Die C2-Domäne bildet das C-terminale Ende und ist in allen Subtypen identisch ausgeprägt. Sie besitzt eine postsynaptische PDZ2-Bindungsstelle sowie zwei Tyrosinreste. Es gibt vier Proteine, die mit der PDZ2-Bindungsstelle interagieren. Dies sind Syntenin, Synectin, Synbindin und Calcium/Calmodulin-abhängige Serinproteinkinase [94].

Die V-Einheit zeigt die größte Heterogenität zwischen den SDC-Subtypen. In SDC-4 besitzt sie eine Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat(PIP₂)-Bindungsstelle. Über diese können zwei SDC-4-Moleküle antiparallel miteinander verbunden werden. Sie ist damit für die Dimerisation der SDC-4-Moleküle verantwortlich. Außerdem konnte mithilfe einer Kernspinresonanz-Strukturanalyse gezeigt werden, dass sich die Ausrichtung der PDZ2-Bindungsstelle der C-Domäne in Abhängigkeit der PIP₂-Bindung in SDC-4 verändert [94].

In Abb. 1.2 sind im unteren Drittel die verschiedenen Domänen der zytoplasmatischen Seite mit den für sie typischen Aminosäuresequenzen skizziert. Der transmembranäre Anteil ist stark konserviert [94]. Die extrazelluläre Seite besteht hauptsächlich aus gebundenen GAG, v. a. HS und CS. Durch posttranslationale Modifikation entstehen ihre individuellen Sulfatierungsmuster, die zu einer unterschiedlichen Affinität für bestimmte Proteine führen. So kann sie mit extrazellulären Matrixproteinen interagieren und diversen Wachstumsfaktoren an sich binden [94].

In dieser Arbeit wird das SDC-1 wegen des häufigen Vorkommens zur Untersuchung des Glykokalyxsheddings herangezogen, weswegen dieser Subtyp noch einmal speziell beleuchtet werden soll.

SDC-1 hat ein Molekulargewicht von 33 kDa [105]. Insgesamt besitzt SDC-1 fünf Serin-Glycin-Sequenzen, drei am N-terminalen und zwei am C-terminalen Ende der zytoplasmatischen Seite. Diese Aminosäuresequenzen sorgen für die Bindung der GAG an das Core-Protein. Ko-

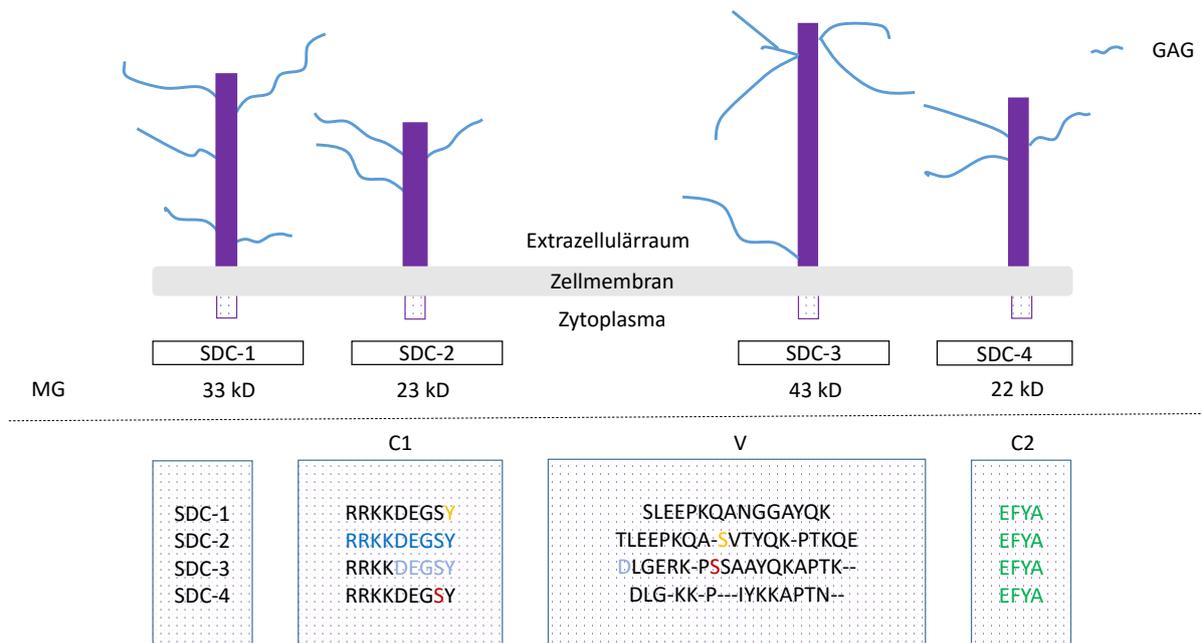


Abbildung 1.2: Schematische Struktur der Syndecane. Oben: Darstellung der vier SDC-Subtypen, MG entspricht dem Molekulargewicht. Unten: Abbildung der verschiedenen zytoplasmatischen Domänen der Syndecan-Subtypen einschließlich der Aminosäure (AS)-sequenzen. C1 und C2 beschreiben die konstante Domäne, V beschreibt die variable Domäne. Rot: AS mit in situ Phosphorylierung, orange: AS mit Phosphorylierung im synthetisierten Protein, dunkelblau: Cortactinbindungsstelle, hellblau: Ezrin-Bindungsstelle, grün: PDZ-4-Bindungsstelle. Modifiziert nach [94].

kenyesi et al. [56] konnten am Mausmodell zeigen, dass am N-terminalen Ende des SDC-1 stets HS und am C-terminalen Ende CS gebunden wird. Da sich dieses Muster für verschiedenen Zelltypen wiederholt, scheinen strukturelle Eigenschaften des Core-Proteins unabhängig vom Zelltyp entscheidend für die Bindung der GAG zu sein [56]. Das gebundene HS kann mit einer Reihe von extrazellulären Matrixmolekülen interagieren, beispielsweise mit Kollagen vom Typ 1, 3 und 5. Des Weiteren bindet HS eine Reihe von Wachstumsfaktoren, u. a. den Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2 (FGF-2). Dem Core-Protein SDC-1 kommt demnach eine wichtige Rolle in der Zelladhäsion sowie in der Regulation des Zellwachstums zu [56].

Hyaluronan

Das GAG Hyaluronan (HA) soll an dieser Stelle beispielhaft für die anderen GAG besprochen werden. HA ist das quantitativ am häufigsten vorkommende, nicht sulfatierte GAG und besteht aus repetitiven Dissaccharidketten (D-Glucuronsäure und N-Acetyl-glucosamin) [50], s. a. Abb 1.3.

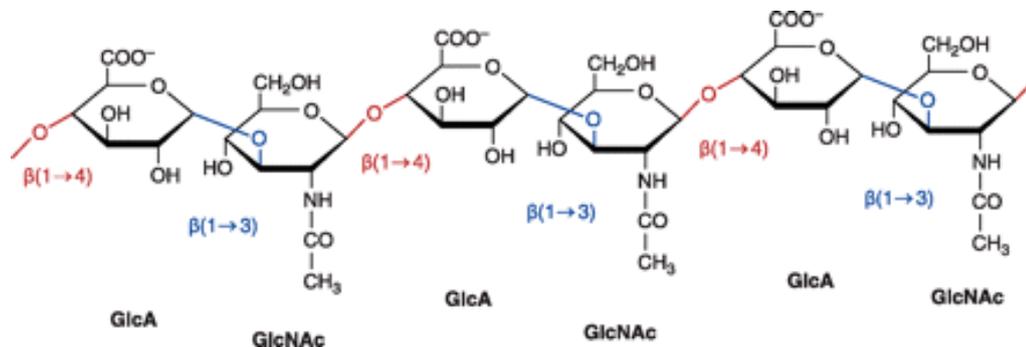


Abbildung 1.3: Struktur des HA. Chemisch entspricht es ((1,4)-beta-N-acetyl-Glukosamin)-beta(1,3)-D-Glucuronan [50].

Das in vivo am häufigsten vorkommende HA, das sog. "HA mit hohem Molekulargewicht (HMW-HA)", hat ein mittleres Molekulargewicht von über einer Million Dalton (Da) [29].

Die Quartärstruktur des HA ist stark von dessen Umgebung abhängig. In wässriger Umgebung bildet es wabenartige Stränge, wobei die Dicke der Stränge abhängig von der HA- Konzentra-

tion ist. In gelartiger Umgebung, wie z. B. in der Synovialflüssigkeit in Gelenken, bildet es hingegen ein ungeordnetes, aufgewickelter Knäuel [85]. Durch diese elastischen Eigenschaften kann sich das HA ideal an seine Umgebung anpassen.

HA wird in den Endothelzellen, wie auch in anderen Zelltypen, von der Hyaluronan-Synthetase (HAS) gebildet. Hierbei unterscheidet man drei verschiedenen HAS-Subtypen, die sich v. a. durch ihre Produktionskinetik sowie durch die Länge ihrer Produkte unterscheiden [43]. So produzieren HAS-1 und HAS-2 HA-Moleküle mit einem Molekulargewicht von mehr als 500 kDa, HAS-3 hingegen Moleküle mit einem Molekulargewicht kleiner 500 kDa [29]. Welche Zelle welches HAS-Isoenzym bildet, hängt u. a. vom Einfluss verschiedener Zytokine auf die Zelle ab. Außerdem werden bestimmte Expressionsmuster bereits in der Embryonalentwicklung festgelegt. Die Eigenschaften und Ausprägungen der HA sind demnach von der unterschiedlichen Aktivität der Isoenzyme abhängig [43].

Des Weiteren unterliegt HA einem starken Metabolismus im menschlichen Körper. So werden täglich 5g von den insgesamt im Körper befindlichen 15g umgewandelt [29]. Hauptort der Metabolisation ist die Leber, hier werden 85-90% des HA eliminiert, die restliche Elimination erfolgt in den Nieren. Bei manchen Spezies erfolgt die Elimination zusätzlich in der Milz, wobei hier die Kapazität deutlich von der HA-Konzentration sowie der Milzperfusion abhängig ist [30].

Wie bei allen GAG liegt die Aufgabe des HA u. a. in der Bindung von Plasmaproteinen aus dem zirkulierenden Blutstrom. HA wird außerdem für Zellinteraktionen benötigt [29].

Zusammenfassung

Durch die oben beschriebene Struktur des ESL, der Vielfalt der EG sowie dem ständigen Austausch mit dem umgebenden Blutplasma wird deutlich, dass der ESL durch die gebundenen Proteine stark variieren kann. In Abhängigkeit von der Art des Gefäßes und des Gefäßdurchmessers reicht die Dicke des ESL von 0,5 μm in Muskelkapillaren bis zu 4,5 μm in der Arteria carotis [78]. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass Angaben über die Dicke

der ESL in der Literatur aufgrund verschiedener Messtechniken stark variieren. Es wird von einer ungefähren Dicke von $1\mu\text{m}$ ausgegangen [72].

1.1.2 Funktion der Glykokalyx

Bevor im Folgenden die Hauptaufgaben der EG und die Auswirkungen des EG-Sheddings beschrieben werden, werden für ein besseres Verständnis die physiologischen Wechselwirkungen der EG mit ihrer Umgebung betrachtet.

Frühe Untersuchungen zum Flüssigkeitsaustausch zwischen dem Intravasalraum und dem Interstitium gehen auf Ernest Starling zurück [13]. Hiernach existiert in einer Kapillare ein Druckgradient aus hydrostatischen und kolloidosmotischem Druck. Während der hydrostatische Druck vom arteriellen zum venösen Schenkel hin abnimmt, bleibt der kolloidosmotische Druck intravasal konstant hoch. Dies sorgt dafür, dass es nach einer primären Filtration mit nachlassendem hydrostatischen Druck zu einer Reabsorption von Flüssigkeit in die Kapillare kommt. Folglich verbleibt Flüssigkeit gemäß dem Gradienten intravasal [13], s. Abb. 1.4.

Nach Weinbaum et al. [105] beschreibt folgende Formel dieses Phänomen:

$$J_v/A = L_p[(P_c - P_t) - \sigma(\pi_c - \pi_t)]$$

Darin bezeichnet P_c den hydrostatischen Druck im Gewebe und P_t den Druck im kapillären Lumen. π_c entspricht dem kolloidosmotischen Druck im Gewebe und π_t dem korrespondierenden kolloidosmotischen Druck in den Kapillaren. J_v/A beschreibt die Filtrationsrate über die Kapillarwand, L_p die hydraulische Leitfähigkeit und σ den Reflektionsfaktor der Plasma-proteine [105].

Allerdings kommt es auch zu einem Flüssigkeitsaustausch zwischen dem Interstitium und den Kapillaren, wenn sich der interstitielle und kapilläre KOD angleichen. So zeigten Quinn und Shannon [74], dass der interstitielle KOD in einem Lymphknoten größer ist als jener der

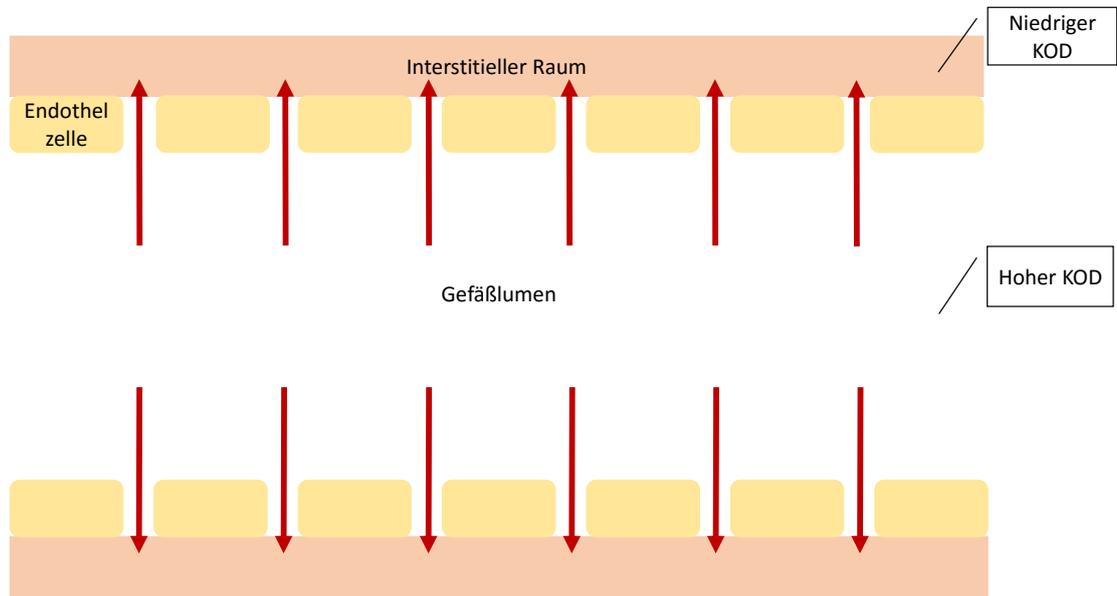


Abbildung 1.4: Darstellung der Druckverhältnisse und der vaskulären Barriere nach Vorstellungen Starlings. Die roten Pfeile stellen die Richtung des kolloidosmotischen Druckgefälles dar. KOD = kolloidosmotischer Druck. Modifiziert nach [13].

zuführenden Arterie, was den Vorstellungen Starlings widerspricht. 1981 entdeckten Staub und Kollegen [74] aufgrund weiterer Untersuchungen, dass die intranodalen Kapillarmembranen wenig permeabel für Plasmaproteine sind und somit ein Übertritt von Plasmaproteinen über die Membran unwahrscheinlich erscheint. 1983 fanden Knox und Pflug [55] heraus, dass die zuführende Nodalarterie eine niedrigere Plasmaproteinkonzentration aufweist als die efferente Nodalarterie. Es konnte nachgewiesen werden, dass es intranodal zu einer Flüssigkeitsverschiebung zwischen dem Interstitium und den Kapillaren kommt. Somit lässt sich die KOD-Differenz in den Gefäßen erklären [58]. Zugleich bedeutet diese Erkenntnis aber auch, dass Starlings Gleichung die vaskuläre Barrierefunktion nur unzureichend beschreibt [13]. Weinbaum [104] gelangte zu der These, dass der KOD-Gradient nicht zwischen dem intravasalen und dem interstiellen Raum entsteht, sondern vielmehr über einem Proteinfilter an der Oberfläche der Endothelzellen, dem ESL. In Studien an isoliert schlagenden Meerschweinchenherzen konnten die Arbeitsgruppen um Rehm und Jacob zeigen, dass eine deut-

liche Abnahme des ESL die Permeabilität der vaskulären Barriere erhöht [5, 46, 77]. Die Vorstellungen Starlings müssen also um die Bedeutung des ESL ergänzt werden. Neueste Studien gehen davon aus, dass sich der notwendige KOD-Gradient zwischen der EG und dem darunter liegenden Spalt ausbildet [13].

Abb. 1.5 veranschaulicht dieses modifizierte „Starling-Modell“.

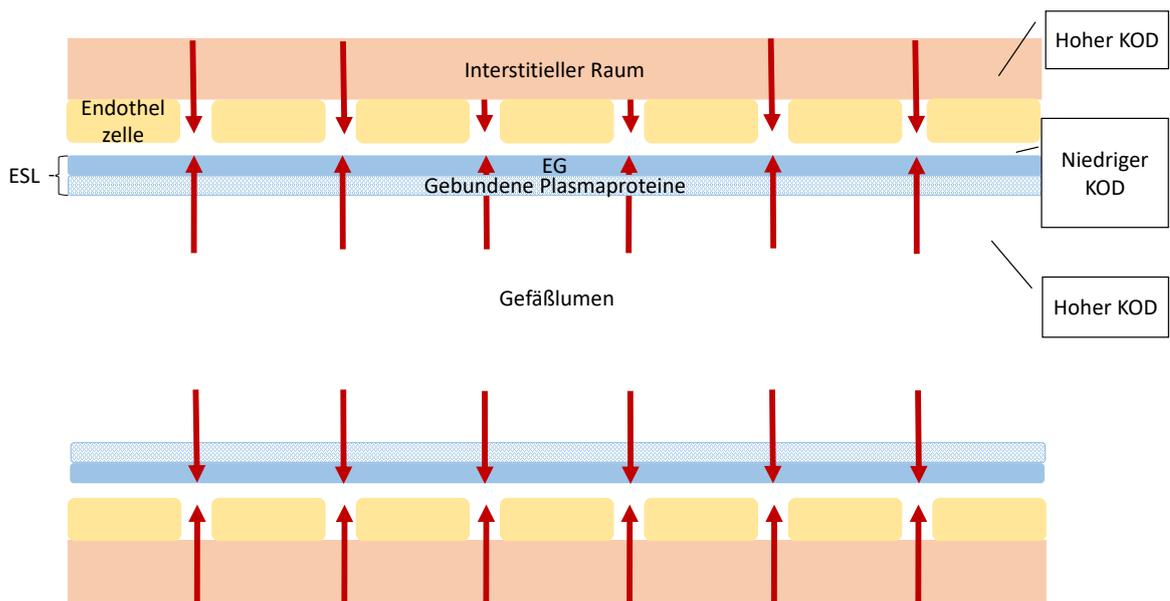


Abbildung 1.5: Darstellung der Druckverhältnisse zwischen dem Gefäßlumen, den interstitiellen Räumen sowie dem ESL und der EG. Die roten Pfeile geben die Richtung des KOD-Gefälles an. ESL = endothelial surface layer, EG = Endotheliale Glykokalyx, KOD = kolloidosmotischer Druck. Modifiziert nach [13].

Der ESL stellt demnach eine vaskuläre Barriere zwischen Intra- und Extravasalraum dar.

Henry et al. [36] zeigten in einer Untersuchung an Cremastermuskeln bei Hamstern, dass die Abspaltung von HA durch Zugabe von aktivierter Hyaluronidase zunimmt und Moleküle bestimmter Größe den ESL überwinden können. Daraus lässt sich folgern, dass die Permeabilität des ESL von den an die EG gebundenen GAG bestimmt wird und Hyaluronidase dessen Permeabilität vergrößern kann.

Nach van Haaren et al. [98] spielt die Molekülgröße für deren Permeabilität durch die Zellmembran eine entscheidene Rolle. Bei einer Untersuchung an isolierten Arterien stellten sie

fest, dass kleine Moleküle mit einer Größe von 4,4 kDa den ESL problemlos überwinden können. 50 kDa große Moleküle können diese zwar penetrieren, allerdings die Gefäßwand nicht mehr überwinden. Ab einer Größe von 148 kDa ist keine Penetration möglich. Moleküle dieser Größe sind sogar in einem bestimmten Abstand vom ESL luminal gelegen [98].

Da die EG aus einer Reihe von sulfatierten GAG besteht und daher eine insgesamt negativ geladene Oberfläche bildet, ist neben der Molekülgröße auch die Ladung der Moleküle entscheidend für deren Permeabilität [78].

Wie Rehm et al. [77] an isolierten Meerschweinchenherzen zeigen konnten, ist ein intakter ESL Voraussetzung für die Vermeidung von Ödemen, die durch eine gesteigerte Permeabilität entstehen können.

Des Weiteren fanden Vink et al. [100] in einer Untersuchung an isolierten Kapillaren des Cremastermuskels von Hamstern heraus, dass der ESL und somit die EG einen Einfluss auf die Mikrozirkulation und v. a. auf das Fließverhalten der Erythrozyten hat. Nach dem sog. Fahraeus-Lindqvist-Effekt, der die abnehmende Viskosität des Blutes bei kleinerem Gefäßdurchmesser aufgrund der Verformbarkeit der Erythrozyten beschreibt, befinden sich die Erythrozyten vornehmlich in einem Axialstrom in der Gefäßmitte. In Endothelnähe findet sich hingegen eine Randschicht mit sehr wenigen Erythrozyten [71, 89]. Pries und Secomb [73] fassen in ihrer Arbeit die komplexen Mechanismen der Mikrozirkulation zusammen und heben den Einfluss des ESL auf den Fließwiderstand in den Blutgefäßen hervor.

Weiterhin konnten Constantinescu et al. [19] den Einfluss des intakten ESL auf die Leukozytenadhäsion nachweisen. An isolierten Venen des Hamsters konnten sie beobachten, dass es nach der Zerstörung des ESL durch Heparinase zu einem signifikanten Anstieg der Leukozytenadhäsion an den Endothelzellen kommt. Der gleiche Effekt kann durch die Gabe von oxidiertem LDL-Cholesterin (ox-LDL) erzielt werden. Durch Verabreichen von Heparin und HS, die sich an die Gefäßwand anlagern, kann dieser Anstieg abgeschwächt werden [19].

Eine weitere Untersuchung von Vink et al. [99] bestätigte, dass die Zerstörung des ESL durch ox-LDL zu einer vermehrten Adhäsion von Thrombozyten an die Gefäßwand führt. Dieser

Vorgang kann durch die Gabe von Superoxid-Dismutase und Katalase vollständig aufgehoben werden [99].

Experimente von van den Berg et al. [97] bestätigten die Annahme, dass eine verminderte Dicke des ESL durch eine atherogene, LDL-reiche Diät bei Mäusen zu einer Zunahme der Intima-Media-Dicke in zu Artherosklerose neigenden Gefäßen führt.

Untersuchungen von Nagy et al. [67] an Apolipoprotein E-defizienten Mäusen verdeutlichen die besondere Bedeutung des HA innerhalb des obigen Prozesses. Eine Hemmung der HA-Synthese führt zu einem Anstieg der Leukozytenadhäsion in den Carotis-Arterien und hat damit direkten Einfluss auf die Entstehung der Artherosklerose [67].

Aufgrund dieser Ergebnisse kann der Schluss gezogen werden, dass ein geschädigter ESL in Zusammenspiel mit weiteren Risikofaktoren eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Artherosklerose einnimmt und die Entstehung proinflammatorischer Prozesse unter bestimmten Umständen fördern kann.

Zudem leistet der ESL einen wichtigen Beitrag zur Stabilisierung der Endothelzellen, indem er bei einer hohen Schubspannung in den Gefäßen dazu beiträgt, die Flussrate zu minimieren [80]. Die Herabsetzung der Schubspannung basiert auf der Produktion von vasodilatierenden Substanzen wie Prostaglandinen und Stickstoffmonoxid (NO) [48, 80]. In einer Untersuchung von Florian et al. [28] zeigte sich, dass es an kultivierten Endothelzellen sowohl unter dauerhafter als auch periodisch auftretender Schubspannung zu einem signifikanten Anstieg der NO-Produktion kommt. Durch Schädigung der EG kann die NO-Produktion allerdings vollständig aufgehoben werden. Untersuchungen von Mochizuki et al. [64] bestätigen dieses Annahme. In ihrer Studie an Femoralarterien von Kaninchen untersuchten sie die NO-Produktion in Abhängigkeit der Schädigung der EG, wobei die Schädigung der EG durch Zugabe von Hyaluronidase herbeigeführt wurde. Es zeigte sich, dass die durch Schubspannungen induzierte NO-Produktion bei intakter EG höher ist, als diejenige bei beschädigter EG. Dies lässt auf einen Zusammenhang zwischen der NO-Produktion und der EG schließen. Weiterhin zeigte sich, dass die EG ausschließlich Einfluss auf die durch Schubspannungen

ausgelöste NO-Produktion hat und sich nicht auf die Acetylcholin-induzierte NO-Produktion auswirkt [64]. Eine besondere Rolle scheint hierbei dem HA zuzukommen, denn laut Gouverneur et al. [33] fördert eine erhöhte Schubspannung die HA-Synthese und dessen Einlagerung in die EG.

Wegen ihrer heterogenen Oberfläche, welche sich auf die PG mit der an sie gebundenen GAG und ihrer großen Vielfalt an Sulfatierungsmustern und Kettenelongationen zurückführen lässt, kann die EG verschiedenste Moleküle an sich binden [78]. So kann z. B. der Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF) mit HS, einem GAG der EG, interagieren [31]. Die Bindung von FGF und seinem Rezeptor, dem FGF-Rezeptor (FR), an HS erfolgt gewebsspezifisch, d. h. ein gewebetypischer FGF und sein FR können nur von einem HS mit einem bestimmten Sulfatierungsmuster gebunden werden. Diese spezifische Bindung ist entscheidend für die Aktivierung der Signalkaskade des FGF [1]. Die EG nimmt somit Einfluss auf die Angiogenese und Zellteilung. Perrimon et al. [69] zeigten außerdem, dass wichtige Signalwege, wie z. B. der Wtn-Signalweg, von der Bindung bestimmter Signalmoleküle an spezifische GAG der EG abhängig sind. Somit kann die EG Einfluss auf die Entwicklung der Zellen nehmen. Dies bestätigte sich in einer Studie von Li [60].

Zudem kann die EG auch verschiedene antikoagulatorisch wirkende Mediatoren an sich binden und damit Einfluss auf die Blutgerinnung nehmen [78]. Beispielsweise kann durch die strukturelle Ähnlichkeit des in der EG gebundenen HS zu Heparin auch HS an AT-III binden und dessen antikoagulatorische Wirkung verstärken. Wird demzufolge die EG beschädigt bzw. nimmt die HS-Synthese ab, nimmt auch die antikoagulative Wirkung des AT-III ab und es besteht ein erhöhtes Risiko für Thrombosen und die Entstehung einer Atherosklerose [88]. Neben dem AT-III kann HS auch den sog. tissue factor pathway inhibitor (TFPI) binden. Dieser ist ein wichtiger Inhibitor der extrinsischen Gerinnungskaskade [54]. Weiterhin wird der Heparin-Cofaktor II, der spezifisch für die Spaltung des Thrombins ist, erst durch die Bindung an DS aktiviert und kann seine antikoagulatorische Wirkung entfalten [95].

Der EG kommt daher eine entscheidende Rolle in der Antikoagulation und somit in der Prä-

vention einer Thrombose zu.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der ESL neben der Funktion als vaskuläre Barriere weitere wichtige Aufgaben, wie z. B. die Kontrolle der Rheologie und der Antikoagulation, inne hat und durch ihre Beschädigung die Entstehung bestimmter Krankheiten, wie z. B. einer Thrombose, begünstigt wird. Deshalb beleuchtet das folgende Kapitel Mechanismen, die zur Schädigung der EG und somit des ESL führen.

1.2 Das Glykokalyxshedding

Unter Shedding versteht man die Abspaltung der einzelnen Bestandteile der EG von der Endothelzellmembran oder dem Grundgerüst [13]. Dies führt zu einer Beschädigung der EG und sorgt dafür, dass der ESL seine o. g. Funktionen nicht mehr vollständig erfüllen kann.

Durch die große Anzahl an PG und GAG sowie die gebundenen Plasmaproteine sind viele Proteine in den ESL eingelagert. Diese stellen einen Angriffsort für zahlreiche Proteasen dar [9, 18, 22, 41, 70]. Ebenso kann die Gabe von Hyaluronidase bzw. Heparinase ein EG-Shedding bewirken [9, 22]. Des Weiteren können Thrombin und bestimmte Wachstumsfaktoren einen solchen Prozess auslösen [92].

Weiterhin kann ein EG-Shedding durch Endotoxine ausgelöst werden [18]. Dies ist v. a. im Rahmen eines inflammatorischen Prozesses zu beachten, wenn vermehrt Endotoxine ausgeschüttet werden. So zeigte eine Untersuchung von Marechal et al. [63], dass eine Endotoxinämie, in der Studie durch das Lipopolysaccharid (LPS) ausgelöst, zu einer Abnahme der Wirkung von vasoaktiven Substanzen sowie zu einem vermehrten Flüssigkeitsverlust führt. Ebenso wurden in dieser Untersuchung vermehrt HA ins Plasma freigesetzt und eine Abnahme der EG-Dicke gemessen [63]. Eine Endotoxinämie führt somit zu einer Beschädigung der EG v. a. durch Shedding von HA. So lässt es sich erklären, dass die Hyperpermeabilität der Gefäßwände und die damit einhergehenden Komplikationen ein typisches Merkmal des sog. SIRS (systemic inflammatory response syndrome) und der Sepsis sind [106].

Neben einer Sepsis kann auch eine Ischämie Veränderung der Endothelzelloberfläche und des ESL zur Folge haben. Erstmals wurden diese Veränderungen von Ishiharajima [42] durch Untersuchungen an Rattenherzen, die durch Gefäßligation einer Ischämie ausgesetzt waren, beschrieben. In Experimenten an isoliert schlagenden Meerschweinchenherzen von Chappell et al. [14] zeigte sich, dass eine durch Ischämie und Reperfusion induzierte Schädigung der EG eine Erhöhung des Perfusionsdruck in den Koronararterien sowie eine erhöhte vaskuläre Permeabilität nach sich zieht. Diese Phänomene lassen sich, wie in Kap. 1.1.2 beschrieben, erklären. Eine Ischämie kann demnach wie auch ein SIRS bzw. eine Sepsis zu einem EG-Shedding und damit zu einer Schädigung des ESL führen. Laut Mulivor et al. [65] basieren sowohl das o. g. durch Inflammation als auch das durch Ischämie/Reperfusion (I/R) ausgelöstes EG-Shedding auf einem G-Protein sensitiven Prozess.

Welche biochemischen Prozesse hinter dem I/R-getriggertem EG-Shedding stecken, sind noch nicht eindeutig identifiziert. Nach einer Untersuchung von Chen et al. [16] sind u. a. freie Sauerstoffradikale daran beteiligt. Diese Annahme wird durch eine Untersuchung von Beresewicz et al. [4] bekräftigt. Als weitere mögliche Shedding-Ursache kommt die Tryptase- β , welche, wie eine Studie von Annecke et al. [2] zeigt, während der Reperfusion durch Purin-induzierte Degranulation aktivierter Mastzellen freigesetzt wird, in Betracht.

Neben diesen in vitro Untersuchungen zeigen neuere Studien aber auch, dass es in vivo beim Menschen zu einem I/R-getriggerten EG-Shedding kommen kann.

So konnten Rehm et al. [76] nachweisen, dass eine Ischämie mit nachfolgender Reperfusion auch beim Menschen in vivo zu einem Shedding der EG führt. Hierbei ließen sich v. a. in der frühen Phase der Reperfusion signifikante Anstiege der Plasmakonzentrationen von SDC-1 und HS, zwei Hauptbestandteile der EG, messen. Dies war insbesondere bei Operation mit kardiopulmonalem Bypass (CBP), die mit einer regionalen Ischämie einhergehen, zu beobachten. Ebenso zeigte sich, dass eine globale Ischämie mit Operation in tiefer Hypothermie ebenfalls zu einem I/R-getriggerten EG-Shedding führt [76].

Eine weitere in vivo Studie von Bruegger et al. [7] ergab, dass es während einer kardiochir-

urgischen Operation, unabhängig vom Einsatz eines CPB, bei Erwachsenen durch I/R und Hypervolämie und der dadurch resultierenden ANP-Freisetzung zu einem gesteigerten Shedding der EG kommt.

Vor dem Hintergrund, dass jedes Jahr ca. 6000 Kinder mit einer angeborenen kardialen Anomalie geboren werden [57] stellen pädiatrische, kardiochirurgische Eingriffe heutzutage keine Ausnahme mehr dar. Zudem verbesserten Fortschritte in der Diagnostik, der pädiatrischen Intensivmedizin sowie der pädiatrischen Kardiochirurgie die Lebenserwartung deutlich. So überlebten z. B. 85% der zwischen 1980 und 1989 operierten Kinder mit einem angeborenen Herzfehler das 1. LJ, 80% wurden mindestens 18 Jahre alt [102]. Dennoch existieren bislang, obwohl in der pädiatrischen Kardiochirurgie häufig Operationen an der Herz-Lungen-Maschine und in Hypothermie durchgeführt werden, keine Untersuchungen zum intraoperativen EG-Shedding bei Kindern.

Aufgrund der o. g. vielfältigen Aufgaben des ESL soll in dieser Arbeit deshalb der Frage nachgegangen werden, ob es auch bei Kindern während kardiochirurgischen Eingriffen zu einem Shedding der EG kommt. Falls ein Shedding zu beobachten ist, soll des Weiteren untersucht werden, ob das EG-Shedding vom Ausmaß der I/R abhängig ist. Hierzu wird das EG-Shedding in drei verschiedenen Gruppe (regionale Lungenischämie vs. Herz-Lungen-Ischämie vs. globale Ischämie) untersucht. Als Parameter des EG-Shedding dienen dabei die Serumkonzentrationen der EG-Bestandteile SDC-1 und HA.

Des Weiteren soll ein Augenmerk auf weitere Faktoren, welche das EG-Shedding beeinflussen, gelegt werden. Hierbei stehen der Einfluss präoperativer Hydrocortisongabe, chronischer Hypoxämie und intraoperativer, tiefer Hypothermie im Vordergrund.

2 Patienten und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine monozentrische Observationsstudie. Sie ist durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität unter der Antragsnummer 359-11 genehmigt worden. Einschlusskriterien waren eine kardiochirurgische Operation unter Benutzung eines CPB sowie die schriftliche Einwilligung der Eltern zur Studienteilnahme. Ausschlusskriterien waren das Widersprechen der Eltern an der Teilnahme, lebensbedrohliche Erkrankungen, die nicht mit dem Herzfehler vergesellschaftet sind, sowie eine akute Verschlechterung des Gesundheitszustandes (Notfalloperationen). Bei der Studie handelt es sich um Forschung an körpereigenem Material, da für die Bestimmung des Ausmaßes des Glykokalyxsheddings Blutproben (1ml Serum pro Messzeitpunkt) zu definierten Messzeitpunkten entnommen werden müssen. Diese Zeitpunkte sind so gewählt, dass die Blutproben im Rahmen der routinemäßig abgenommenen Blutgasanalysen aus einer bereits liegenden arteriellen Kanüle entnommen werden.

2.2 Patienten und Gruppen

In die Studie wurden Kinder im Alter von null Monaten bis fünf Jahren aufgenommen. Die Rekrutierung erfolgte im Zeitraum von November 2011 bis Juni 2012 am Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Die Einteilung der Studienteilnehmer zu der entsprechenden Studiengruppe erfolgte anhand der Art des kardiochirurgischen Eingriffs, wobei Operationen mit kardiopulmonalem Bypass

ohne Aortenklammung (CPB-Gruppe), Operationen mit kardiopulmonalem Bypass mit Aortenklammung (CPB+AC-Gruppe) sowie Operationen in tiefer Hypothermie mit totalem Kreislaufstillstand (CPB+AC+DHCA-Gruppe) unterschieden wurden.

Durch diese Zuteilung differenzieren sich die Gruppen in Dauer und Ausmaß der Ischämie/Reperfusion. So kommt es in der CPB-Gruppe, in der die Operation am schlagenden Herzen durchgeführt wird, zu einer regionalen Lungenischämie.

In der CPB+AC-Gruppe, in der während der Dauer der CPB-Zeit zusätzlich eine Abklemmung der Aorta ascendens erfolgt, tritt eine regionale Ischämie der Lunge und des Herzes auf.

Im Gegensatz dazu führt der Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie in der CPB+AC+ DHCA-Gruppe zu einer globalen Ischämie des Körpers.

2.3 Herzfehler und Operationen

Im Folgenden sollen kurz die wichtigsten angeborenen kardialen Anomalien, die als Krankheitsbilder in der Studie auftraten, erläutert werden. Für weiter reichende Informationen, auch zu hier nicht erwähnten Anomalien, sei bspw. das Buch "Herzchirurgie" von Ziemer und Haverich, 3. Auflage [108] empfohlen.

2.3.1 Azyanotische kongenitale Anomalien

Ventrikelseptumdefekt

Der isolierte Ventrikelseptumdefekt (VSD) ist mit einer Häufigkeit von 31% der häufigste angeborene Herzfehler, wobei 2/3 kleine bzw. muskuläre Defekte sind [24, 25]. Beim VSD kommunizieren der rechte und linke Ventrikel über einen Defekt im Bereich der Kammerscheidewand [108]. Hierdurch entsteht aufgrund der sich in den ersten Wochen entwickelnden Druckdifferenzen ein Shuntfluss vom linken in den rechten Ventrikel.

Es werden verschiedene Formen des VSD unterschieden. Bei einem membranösen VSD (>80% aller VSD) wird das membranöse Septum mangelhaft ausgebildet, wohingegen der Defekt bei

einem muskulären VSD im trabekularisierten Anteil der Kammerscheidewand des rechten Ventrikels vorkommt. Hierbei besteht v. a. bei apikal gelegenen Defekten eine hohe Spontanverschlussrate [108].

Die Klinik eines VSD hängt vom Verhältnis Lungen- zu Systemdurchblutung ab (Qp:Qs-Verhältnis). Bei einem Verhältnis $< 1,5:1$ spricht man von einem kleinen, restriktiven VSD. Qp:Qs-Verhältnisse $> 3:1$ führen schnell zu einer Herzinsuffizienz, die sich bei Säuglingen durch Tachypnoe, Schwitzen, Trinkschwäche bis zum Gedeihstillstand äußert [108].

Falls eine operative Korrektur notwendig ist, sollte der Zeitpunkt frühzeitig gewählt werden, sodass es zu keiner manifesten Herzinsuffizienz mit resultierender pulmonaler Hypertonie kommt. Übersteigt der pulmonale Gefäßwiderstand durch Umbauprozesse den des Systemkreislaufes entsteht eine Shunt-Umkehr mit der Folge einer Zyanose. Dieser Prozess, auch Eisenmenger-Syndrom genannt, ist irreversibel. Einzige Therapieoption ist dann die Herz-Lungen-Transplantation [108].

Das Eisenmenger-Syndrom kann bei jeder unbehandelten Anomalie mit Links-Rechts-Shunt auftreten. Um dies zu vermeiden ist eine Intervention mit Defekt-Verschluss notwendig.

Ein Qp:Qs-Verhältnis $> 1,5:1$ oder eine pulmonalarterielle Hypertonie (PAH > 25 mmHg) stellen bei großen VSD eine Indikation zur Intervention dar. Diese sollte im ersten Lebenshalbjahr angestrebt werden [24]. Mittelgroße und kleine Defekte sollten aufgrund des erhöhten Endokarditisrisikos sowie der Gefahr paradoxer Embolien nach dem 1. LJ elektiv verschlossen werden [24].

Therapie der Wahl ist die offene Operation mit CPB. Nach erfolgter medianer Sternotomie und Anschluss an den CPB sowie dem kardioplegischen Herzstillstand mit Aortenklammung (AC) wird über einen transatrialen/transtrikuspidalen Zugang der VSD mit einem Patch (meist Dacron) verschlossen [24, 108]. Alternative Verschlussmethoden nutzen die interventionelle Kathetertechnik. Da sich die vorliegende Arbeit ausschließlich auf kardiochirurgische Eingriffe konzentriert, soll hierauf nicht weiter eingegangen werden. Zur weiteren Vertiefung ist die Leitlinie der pädiatrischen Kardiologie - Ventrikelseptumdefekt [24] empfohlen.

Vorhofseptumdefekt

Bei einem Vorhofseptumdefekt (ASD) besteht ein Defekt des atrialen Septums, der zu einem Links-Rechts-Shunt zwischen den Vorhöfen führt [51]. Er ist mit 7% aller angeborenen kardialen Anomalien ein häufiges Herzvitium [25].

Es werden abhängig von der Lokalisation verschiedene ASD-Typen unterschieden. Der ASD I liegt unmittelbar oberhalb der AV-Klappen-Ebene, er wird auch Primum-Typ genannt [51]. Der ASD II ist auf die Fossa ovalis beschränkt, er wird auch Secundum-Typ genannt und tritt in 60% d. F. auf [108]. Von ihm abzugrenzen ist das persistierende Foramen Ovale (PFO), das eine kleine intratriale Verbindung ohne Fehlen von Septumgewebe darstellt. Weitere Sonderformen sind der obere und untere Sinus-Venosus-Defekt sowie der Sinus-Coronarius-Defekt [108].

Therapie der Wahl ist ein Verschluss des ASD, welcher bei Volumenbelastung des rechten Vorhofs/Ventrikels vor Einsetzen der Eisenmenger-Reaktion erfolgen sollte. Das ideale Behandlungsalter ist das Vorschulalter [51]. In der Regel wird die interventionelle Kathetertechnik v. a. beim ASD II bevorzugt. Sollte dies aufgrund der Lage oder begleitender Anomalien nicht möglich sein, erfolgt der Verschluss mittels direkter Naht oder Patch-Plastik im CPB mit AC [51].

Atrioventrikulärer Septumdefekt

Der atrioventrikuläre Septumdefekt (AVSD) entsteht durch eine Fehlentwicklung des atrioventrikulären Septums und dem Endokardkissen [61]. Dieser Herzfehler tritt in 4,8% d. F. auf [25] und ist häufig mit der Trisomie 21 assoziiert [61, 108]. Es wird zwischen einem partiellen AVSD, bei dem ein ASD I, zwei getrennte AV-Klappen in zwei gesonderten Klappenringen sowie einer variablen AV-Klappeninsuffizienz vorliegen, und dem kompletten AVSD unterschieden. Letzterer besteht aus einem ASD I, einem Inlet-VSD, einer gemeinsamen AV-Klappe mit einem gemeinsamen Klappenring sowie einer AV-Klappeninsuffizienz, die links meist stärker als rechts ausgeprägt ist [61].

Beim partiellen AVSD besteht ein intraatrialer Links-Rechts-Shunt mit rechtsatrialer/-ventri-

kulärer Volumenbelastung. In der Regel ist eine Korrektur im Vorschulalter angezeigt, eine Ausnahme bilden schwere AV-Klappeninsuffizienzen, die eine frühzeitigere Korrektur nötig machen. Therapie der Wahl ist wie beim VSD ein Patch-Verschluss, eine Spaltbildung an der AV-Klappe wird mit einer Naht korrigiert [61].

Beim kompletten AVSD besteht ein großer Shuntfluss, weshalb eine Korrektur im ersten Lebenshalbjahr erfolgen sollte. Beim Operationsverfahren werden abhängig von der Anzahl der verwendeten Patches zwischen einer Single-Patch-Technik, einer modifizierten Single-Patch-Technik und einer Double-Patch-Technik unterschieden. Die beiden letztgenannten Verfahren verringern das Risiko eines Segelausrisses [61]. Alle Operationsverfahren werden mit CPB mit AC durchgeführt.

2.3.2 Zyanotische kardiale Anomalien

Fallot-Tetralogie

Die Fallot-Tetralogie (TOF) beschreibt eine komplexe kardiale Anomalie bestehend aus VSD, Pulmonalklappenstenose (PS), dextroponierter Aorta und Hypertrophie des rechten Ventrikels [108]. Sie stellt mit 5,5% eine häufige zyanotische kardiale Anomalie dar [25]. Weitere Anomalien der Aorta, ein ASD sowie Anomalien der Koronarien, die eine operative Korrektur erschweren, können vorkommen [103].

Aufgrund der PS herrscht ein erhöhter Druck im rechten Ventrikel, sodass ein Rechts-Links-Shunt über dem begleitenden VSD besteht. Dies führt zu einer zentralen Zyanose. Bei ausgeprägter Obstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstraktes ist der offene Ductus arteriosus bei Neugeborenen lebensnotwendig, da hierüber die einzige Möglichkeit der Lungenperfusion besteht. Liegt eine schwere Obstruktion oder sogar ein funktionell atretischer rechtsventrikulärer Ausflusstrakt vor, ist eine zügige Diagnostik und Behandlung entscheidend. Zunächst ist eine medikamentöse Therapie mit Prostaglandinen bis zur Intervention indiziert [103]. Therapie der Wahl ist die chirurgische Korrektur mit Erweiterung des rechtsventrikulären Ausflusstraktes und Patch-Verschluss des VSD. Hierzu ist eine Operation im CPB mit AC not-

wendig. In schweren Fällen ist eine operative Korrektur in der Neugeborenenperiode nötig, was allerdings mit einer erhöhten Mortalität vergesellschaftet ist [53]. Der ideale Zeitpunkt wird nach wie vor kontrovers diskutiert, wobei generell zu einer Operation im Säuglingsalter tendiert wird [103].

Zur Überbrückung des Zeitraums bis zur Korrektur-Operation kann eine Stentimplantation in den Ductus arteriosus sowie eine interventionelle Ballonvalvuloplastie der stenosierten Pulmonalklappe angewendet werden. Die Anlage eines palliativen Blalock-Taussig-Shunt ist heute nur noch in Einzelfällen indiziert [103].

Transposition der großen Arterien

Bei der Transposition der großen Arterien (TGA) besteht eine ventrikulo-arterielle Diskordanz, d. h. die Aorta entspringt aus dem rechten Ventrikel und die Pulmonalarterie aus dem linken Ventrikel. Bei physiologischer Anlage der Venen bestehen zwei voneinander getrennte Kreisläufe [84]. Die relative Häufigkeit liegt bei etwa 4,5% der kongenitalen Anomalie [25]. Durch die getrennten Kreisläufe sind die Neugeborenen von Beginn an zyanotisch und eine operative Korrektur sollte innerhalb der ersten zwei Lebenswochen erfolgen.

Es wird die einfache TGA (75% d. F.) von der komplexen TGA unterschieden. Bei der einfachen TGA kommen außer einem persistierenden Ductus arteriosus (PDA), einem ASD oder einem kleinen, hämodynamisch nicht relevanten VSD keine weiteren Fehlbildungen vor [79]. Diese Anomalien sind für das Leben der Kinder essentiell, da nur über sie eine Vermischung von oxygeniertem und desoxygeniertem Blut überhaupt möglich ist. Besteht eine isolierte TGA mit restriktivem ASD ist eine interventionelle Ballonatrioseptotomie in den ersten Lebensstagen essentiell [79].

Bei der komplexen TGA hingegen finden sich zusätzlich ein großer, hämodynamisch relevanter VSD (20% d. F.) oder eine Obstruktion des Ausflusstraktes (5% d. F.).

Therapiemethode der Wahl ist die arterielle Switch-Operation. Hierbei werden die großen Arterien zurückgetauscht und die Koronararterien umgepflanzt, sodass eine anatomische Kor-

rektur besteht [79].

Für alle Operationsverfahren ist der Einsatz eines CPB mit AC und Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie (DHCA) notwendig.

(Funktionell)univentrikuläre Herzen

Hierunter versteht man Herzen mit funktionell nur einem vorhandenen Ventrikel [35]. Neben dem Hypoplastischen Linksherzsyndrom (HLHS), das hier bei beispielhaft besprochen werden soll, zählen eine Trikuspidalatresie (sog. Herzen mit Fehlen einer atrioventrikulären Verbindung) und der Double Inlet Single Ventricle zu dieser Gruppe [35, 108].

Das HLHS macht 3,8% aller angeborenen kardialen Anomalien aus und stellt die häufigste kardiale Todesursache innerhalb der ersten Lebenswoche dar [25, 34].

Beim HLHS kommt es zu einer Hypoplasie des linken Ventrikels in Vergesellschaftung mit einer Mitralatresie/ -stenose und Aortenatresie/ -stenose sowie einer Hypoplasie der Aorta ascendens und des Aortenbogens [34].

Das in den Lungen oxygeniertem Blut fließt über einen Links-Rechts-Shunt über das offene Foramen ovale über den rechten Vorhof und rechten Ventrikel und wird über einen Rechts-Links-Shunt über den Ductus arteriosus dem Systemkreislauf zugeführt. Nimmt der Blutfluss über den Ductus arteriosus ab, kommt es einer Dekompensation des Systems mit kardiogenem Schock. Um dies zu vermeiden, ist eine frühzeitige Therapie notwendig. Erstmaßnahmen sind die Prostaglandingabe sowie eine intensivmedizinische Überwachung.

Das HLHS kann nicht kurativ operiert werden, es wird eine palliative Operation angewendet, deren Ziele ein stenosefreier Zufluss zum rechten Herzen sowie ein stenosefreier Abfluss in den Systemkreislauf sind [34]. Hierzu sind drei Operationen nötig, wobei in der ersten Lebenswoche die sog. Norwood-Operation durchgeführt wird. Hierbei wird eine sog. "Neo-Aorta" aus dem Pulmonalarterienstamm, der hypoplastischen Aorta und einem Homograftparch gebildet. Diese entspringt aus dem rechten Ventrikel und stellt die Versorgung des Systemkreislaufes sicher. Zudem wird ein Shunt vom rechten Ventrikel zur Pulmonalarterie angelegt, über

den die Lunge perfundiert wird. Dieser Operationsschritt wird im CPB mit AC und DHCA durchgeführt.

Im zweiten Schritt, der sog. bidirektionalen Glenn-Operation wird eine obere cavo-pulmonale Anastomose hergestellt, d. h. die obere Hohlvene direkt mit der Pulmonalarterie verbunden. Zudem wird der Shunt zwischen rechten Ventrikel und der Pulmonalarterie entfernt [34]. Die Lungenperfusion erfolgt jetzt passiv über die obere Hohlvene, wobei der ZVD die treibende Kraft darstellt.

Bei der Glenn-Operation wird eine End-zu-Seit-Anastomose hergestellt, dies ist mithilfe eines CPB am schlagenden Herzen ohne AC möglich. Dieser Operationsschritt erfolgt zwischen dem 4. und 6. Lebensmonat [34].

Der letzte Schritt, die sog. Fontan-Komplettierung, hat die endgültige Trennung der beiden Kreisläufe und somit die Beendigung der Zyanose zum Ziel. Hierzu wird eine Anastomose zwischen der unteren Hohlvene und der Pulmonalarterie hergestellt. Diese kann extrakardial mithilfe einer Kunststoff-Gefäßprothese (extrakardiales Conduit) oder durch einen intraatrialen Tunnel angelegt werden [34]. Bei letztgenanntem Verfahren ist ein CPB mit Kardioplegie wegen der Vorhoferöffnung notwendig, wohingegen beim extrakardialen Conduit ggf. sogar auf ein CPB verzichtet werden kann. Vorteil des intraatrialen Tunnels ist ein potentielles Wachstum durch die Vorhofwand, sodass es auch bei kleineren Kindern angewendet werden kann. Dem stehen allerdings häufiger auftretende Herzrhythmusstörungen gegenüber [34].

In der Regel findet die Fontan-Komplettierung zwischen dem zweiten und dritten Lebensjahr statt [34].

2.4 Narkoseeinleitung und präoperatives Management

Zur Narkosevorbereitung wurde jedem Studienteilnehmer 0,1mg/kg KG Midazolam i.v verabreicht. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Thiopental (3 bis 5 mg/kg), Sufentanil (1µg/kg) und Rocuronium (0,6 mg/kg). Nach erfolgreicher nasotrachealer Intubation mittels entspre-

chendem Tubus wurde die Narkose mit inhalativ verabreichtem Sevofluran in einer mittleren Dosierung von 1,5 bis 2,5 Vol% endtidal aufrecht erhalten. Bei der Beatmung der Kinder war der expiratorisch gemessene Kohlendioxid-Partialdruck (exCO₂) ein wichtiger Überwachungsparameter. Er sollte üblicherweise bei ca. 35 mmHg liegen. Nach Narkoseeinleitung wurde das Kind mit einem zentralen Venenkatheter über die rechte V. jugularis interna zur Medikamenten- und Volumensubstitution sowie zur Überwachung des zentralvenösen Drucks versorgt. Weiterhin wurde eine arterielle Kanüle in der rechten oder linken A. radialis zur intraarteriellen Blutdruck- und regelmäßigen Blutgaskontrolle angelegt. Des Weiteren waren ein Blasenverweilkatheter und eine nasale Magensonde notwendig. Zum intraoperativen Monitoring diente ein 5-Kanal-EKG.

Nach sachgemäßer Lagerung des Kindes begann die Operation.

2.5 Blutentnahmen

2.5.1 CPB-Gruppe

In dieser Gruppe wurde die Operation im partiellen kardialen Bypass der Herz-Lungen-Maschine (HLM) ohne zusätzliches Abklemmen der Aorta durchgeführt. Dies bedeutet, dass das weiterhin schlagende Herz während des Eingriffes mit einer kleinen Menge Blut versorgt wurde und es durch die extrakorporale Blutzirkulation zu einer isolierten Ischämie der Lunge kam. Zu vier definierten Zeitpunkten T0 bis T3 wurde jeweils 1 ml Vollblut aus dem bereits liegenden arteriellen Katheter in ein Serum-Röhrchen entnommen, s. a. Abb. 2.1.

Die erste Blutentnahme zum Zeitpunkt T0 erfolgte unmittelbar nach Narkosebeginn.

Nach medianer Sternotomie und Präparation der zu operierenden Strukturen wurde unfraktioniertes Heparin (400 IE/kg KG) zur effektiven Antikoagulation während des kardiopulmonalen Bypasses (CPB) verabreicht. Eine effektive Antikoagulation ist bei einer sog. activated clotting time (ACT) > 400 sec gewährleistet. Die Blutentnahme zur Bestimmung der ACT diente zugleich der Blutentnahme für diese Studie und entspricht dem Zeitpunkt T1.

Die HLM wurde zunächst mit 1000 IE Heparin sowie 5%iger Humanalbuminlösung befüllt und danach durch Kanülierung der beiden Venae cavae bzw. des rechten Vorhofs und der Aorta ascendens angeschlossen. Die extrakorporale Blutzirkulation begann. In der CPB-Gruppe fand kein kardialer Arrest statt, die Körperkerntemperatur war normotherm und wurde über eine Temperatursonde in der Blase kontinuierlich überwacht.

Im Anschluss an die extrakorporale Blutzirkulation fand die Reperfusion statt. Es erfolgte die Antagonisierung des Heparins durch Protamin (1 ml Protaminsulfat pro 1000 IE Heparin). Um eine ausreichende Antagonisierung sicherzustellen, erfolgte nach 5 bis 10 Minuten die Kontrolle der ACT, welche etwa dem Wert vor der Heparingabe entsprechen sollte. Dies war zugleich der Zeitpunkt T2 der Blutentnahme.

Es schlossen sich nun die Blutstillung und eine transösophageale Echokardiographie (TEE) an. Zusätzlich wurden alle Blutbestandteile der extrakorporalen Zirkulation nach Aufreinigung in einem Cellsaver retransfundierte.

Nach Wundverschluss wurde das Kind beatmet und analgosediert auf die pädiatrische Intensivstation zur weiteren Überwachung verlegt. Hier erfolgte die Blutentnahme zum Zeitpunkt T3.

2.5.2 CPB+AC-Gruppe

In dieser Gruppe unterschieden sich die durchgeführten Operationen durch eine zusätzliche Abklemmung der Aorta ascendens von denen der o. g. CPB-Gruppe. Die Aortenabklemmung (AC) führte zur Ischämie im Herzen und in der Lunge. Diese Operationen wurden in milder Hypothermie (Körpertemperatur = 32°C) durchgeführt.

Der Operationsablauf war bis zum Anschluss an den CPB zur CPB-Gruppe identisch. Die Blutentnahme zu den Messzeitpunkten T0 und T1 wurden wie oben beschrieben durchgeführt. Nach erfolgreichem Anschluss an den CPB wurde die Aorta mittels einer für die Größe des Gefäßes entsprechenden Aortenklemme abgeklemmt und eine Bretschneider-Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung in die herznahe Aorta infundiert. Diese sorgte für den kar-

dioplegischen Arrest.

Nach Öffnen der Aortenklemme fand die Reperfusion des Körpers statt. Ebenso wurde das Heparin antagonisiert und die Blutentnahme zum Zeitpunkt T2 wie in der CPB-Gruppe beschrieben durchgeführt. Die Operation wurde wie bereits beschrieben beendet.

Nach Verlegung auf die pädiatrische Intensivstation fand die letzte Blutentnahme zum Zeitpunkt T3 statt.

2.5.3 CBP+AC+DHCA-Gruppe

Im Gegensatz zu den anderen beiden Gruppen wurden die Operationen dieser Gruppe im totalen Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie (Körpertemperatur = 18°C) (DHCA) durchgeführt, sodass es zu einer globalen Ischämie des gesamten Körpers kam.

Die standardisierte Narkoseeinleitung und die Operation bis zum Anschluss des CPB liefen wie bei den anderen Gruppen ab. Daher fanden die Blutentnahmen bei T0 und T1 identisch zu den anderen Gruppen statt.

Nach Anschluss der HLM erfolgte das AC und der kardioplegische Arrest mit o.g. Bretschneider-Lösung. Die Körpertemperatur wurde auf 18° Celsius gesenkt und es begann der totale Kreislaufstillstand (DHCA).

Nach Beendigung des Kreislaufstillstandes wurde das extrakorporal zirkulierende Blut wieder bis zur Normothermie erwärmt (0,5° Celsius/ min). Die Aortenklemme wurde geöffnet und es begann die standardisierte Reperfusion einschließlich der Blutentnahme zum Zeitpunkt T2. Das Operationsende war identisch zu denen der anderen Gruppen inklusive des Messzeitpunktes T3.

Abb. 2.1 veranschaulicht den Verlauf der Blutprobengewinnung in den einzelnen Gruppen.

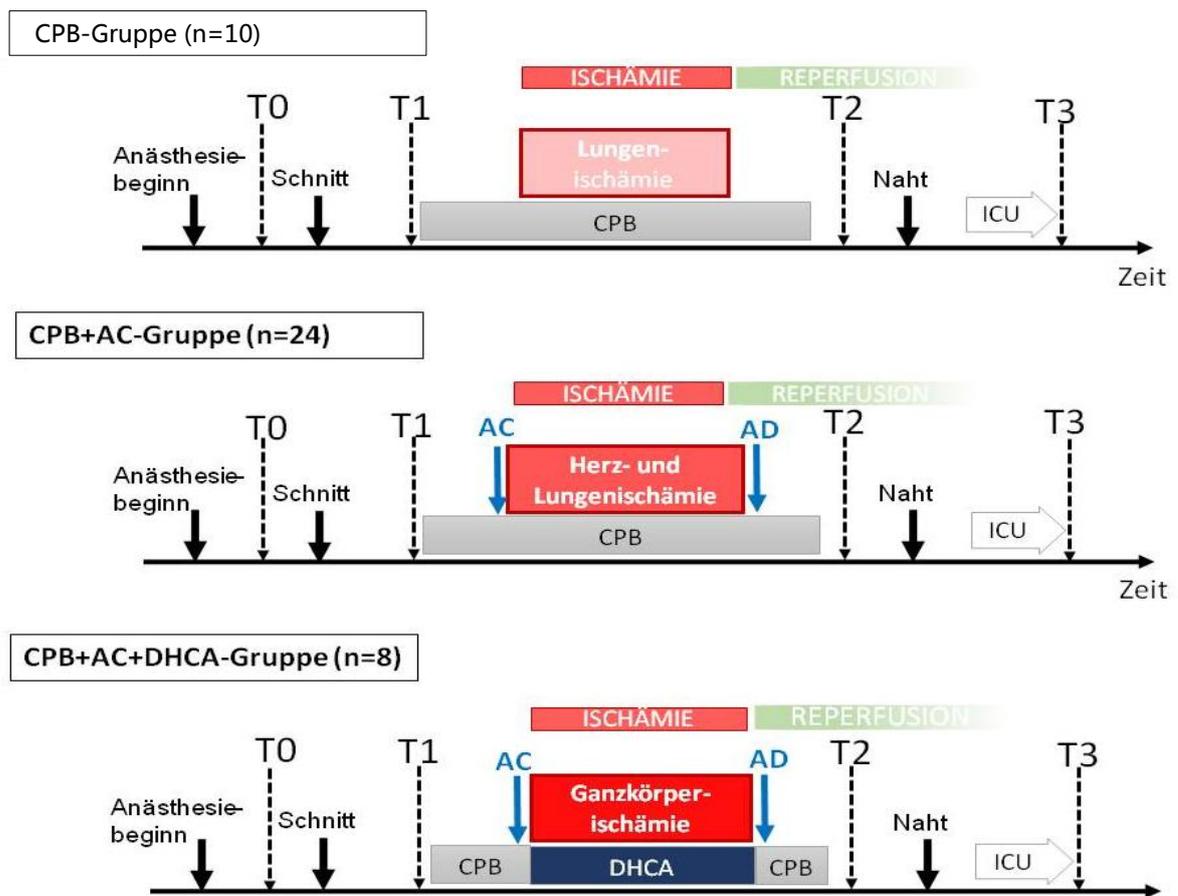


Abbildung 2.1: Protokoll Blutentnahmen. CPB: kardiopulmonaler Bypass, AC: Aortenklammern, AD: Öffnen der Aortenklammern, DHCA: kardiopulmonaler Arrest in tiefer Hypothermie, T0- T3: Zeitpunkt der Blutentnahmen, ICU: Transport auf die pädiatrische Intensivstation

2.6 Labortechnische Untersuchungen

Unmittelbar nach der Entnahme wurde das Vollblut für 5 Minuten bei 2,000 g zentrifugiert und das gewonnene Serum bis zum Operationsende im Operationssaal bei -30° C eingefroren. Nach Operationsende wurde das Serum bis zur weiteren Bearbeitung bei -80°C eingefroren. Zur Ermittlung des Ausmaßes des EG-Sheddings wurden jeweils die Serumkonzentrationen von SDC-1 und HA bestimmt.

Für die Untersuchung des SDC-1 kam ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, das sog. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), zum Einsatz. Das Kit, das auch schon in anderen Studien des Instituts verwendet wurde, wurde von der Firma Diaclone Research, Besancon, France hergestellt [40, 76]. Dieses Kit besitzt den monoklonalen Antikörper BB4, der sich gegen eine extrazelluläre Domäne des menschlichen SDC-1 richtet.

Auch zur Bestimmung der HA-Serumkonzentration wurde das ELISA-Verfahren genutzt. Hierzu wurde ein Kit der Firma Echelon Biosciences, Salt Lake City, Utah verwendet. Es wurde die Gesamtmenge des HA, einschließlich klein- und großmolekularer Moleküle, bestimmt [7, 40]. Alle gemessenen Werte wurden auf das Körpergewicht der Kinder normiert und in ng/ml/ kg KG angegeben. Diese Normierung war notwendig, da die basal gemessenen Konzentrationen von SDC-1 und HA vom Körpergewicht der Kinder abhängig waren.

2.7 Statistik

In dieser Arbeit werden der Median sowie der Interquartils-Abstand (IQR) angegeben. Unterschiede zwischen zu vergleichenden Werten wurden als signifikant gewertet, wenn $p < 0,05$ galt.

Um verbundene Werte zu vergleichen, wurden der Friedman's Test bzw. der Wilcoxon-Test durchgeführt. Zum Vergleich unverbundener Stichproben fanden der Kruksal-Wallis- bzw. Mann-Whitney-U-Test Verwendung.

Beim multiplen Testen mit verbundenen Stichproben wurde eine Post-hoc-Korrelation nach

Holm-Bonferroni durchgeführt.

Für alle statistischen Analysen wurde IBM SPSS Statistics, Version 21.0, Armonk, New York, benutzt.

3 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel wird zunächst auf die epidemiologischen Daten eingegangen, bevor die Ergebnisse des Einflusses von I/R auf das EG-Shedding präsentiert werden. Den Abschluss des Kapitels bildet die Betrachtung weiterer Faktoren, die das EG-Shedding beeinflussen können.

3.1 Epidemiologische Daten

Kategorie Gruppe	Geschlecht (m vs. w)	Alter (Monate)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Anästhesie- dauer (min)	Operations- dauer (min)	CPB-Zeit (min)	AC-Zeit (min)	DHCA-Zeit (min)
CPB	6 vs. 4	15,0 (6,1/28,0)	76,5 (67,8/87,8)	9,0 (6,1/11,8)	227,0 (202,0/242,0)	137,0 (124,0/191,3)	47,0 (37,0/70,0)	-	-
CPB+AC	14 vs. 10	10,0 (5,0/21,3)	66,0 (62,0/84,0)	6,9 (5,0/9,8)	248,0 (212,5/284,0)	154,0 (134,5/190,8)	87,5 (67,5/112,8)	45,0 (31,5/62,8)	-
CPB+AC+ DHCA	2 vs. 6	0,4 (0,3/3,6)	52,5 (20,3/57,8)	3,6 (2,9/4,6)	317,0 (288,0/352,3)	244,0 (215,3/268,5)	145,5 (94,5/162,0)	40,0 (8,0/82,3)	29,0 (19,5/51,5)
Gesamt	22 vs. 20	7,0 (2,9/23,0)	66,0 (58,8/84,0)	6,1 (4,7/10,1)	248,0 (218,5/300,5)	170,0 (134,3/212,5)	87,0 (50,3/117,3)	34,5 (0,0/59,8)	-
p-Wert	-	0,002	< 0,001	0,002	0,003	0,001	0,003	-	-

Tabelle 3.1: Übersicht über die epidemiologischen Daten und Operationszeiten in den drei Gruppen. Gegeben sind die Mediane sowie in Klammern stehend die IQR. p-Werte < 0,005 gelten als signifikant. CPB: Kardiopulmonaler Bypass, AC: Aortenklammung, DHCA: Kreislaufstillstand mit tiefer Hypothermie.

Insgesamt wurden 42 Kinder, davon 22 männlich und 20 weiblich, in die Studie eingeschlossen. Die Studiengruppen unterscheiden sich durch Anzahl der Studienteilnehmer und das Geschlechterverhältnis. Ebenso variieren die Gruppen signifikant in Alter, Größe und Gewicht

der Studienteilnehmer. Einen Überblick gibt Tab. 3.1. Weitere signifikante Differenzen zeigen sich auch in der Anästhesie- und Operationsdauer sowie die Zeit des kardiopulmonalen Bypasses, s. a. Tab. 3.1. Zudem unterscheiden sich die drei Gruppen durch die Anzahl der Kinder mit zyanotischen und azyanotischen kardialen Anomalien, wobei eine Zyanose als präoperative Hypoxämie mit einer peripheren Sauerstoffsättigung < 90% definiert ist, s. a. Tab. 3.2.

Gruppe Vitium	CPB	CPB+AC	CPB+AC+DHCA	Gesamt
Normoxie	0	13	3	33
Hypoxie	10	11	5	9
Gesamt	10	24	8	42

Tabelle 3.2: Übersicht der Häufigkeit präoperativer Hypoxie in den verschiedenen Gruppen. CPB: Kardiopulmonaler Bypass, AC: Aortenklammung, DHCA: Kreislaufstillstand mit tiefer Hypothermie.

Außerdem gibt es eine ungleiche Verteilung der präoperativen Hydrocortison (HCS)-Gabe sowohl im Gesamtkollektiv als auch innerhalb der Gruppen, s. Tab. 3.3.

Gruppe HCS	CPB	CPB+AC	CPB+AC+DHCA	Gesamt
Ohne HCS	9	21	3	33
Mit HCS	1	3	5	9
Gesamt	10	24	8	42

Tabelle 3.3: Übersicht der Häufigkeit präoperativer Hydrocortisongabe in den verschiedenen Gruppen. CPB: Kardiopulmonaler Bypass, AC: Aortenklammung, DHCA: Kreislaufstillstand mit tiefer Hypothermie.

Ein letzter Unterschied zwischen den Gruppen sind die Herzfehler, die operiert wurden.

Einen Überblick über die Häufigkeit der operierten kardialen Anomalien gibt Abb. 3.1.

In der CPB-Gruppe wurden ausschließlich (funktionell) univentrikuläre Herzen mit Glenn-/Fontan-Operationen versorgt, s. Tab 3.4 .

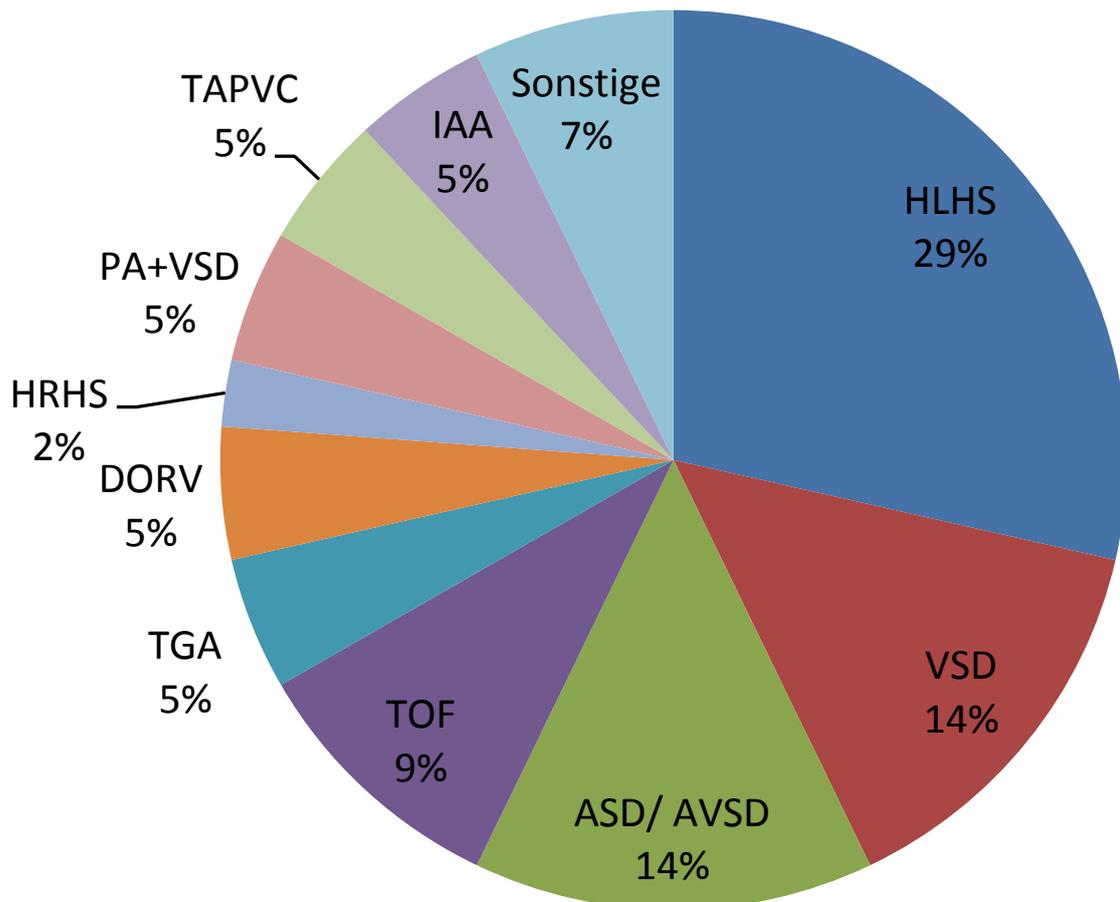


Abbildung 3.1: Übersicht über die Häufigkeit der operierten Herzfehler. ASD: Vorhofseptumdefekt, AVSD: Atrioventrikulärer Septumdefekt, DORV*: Double outlet right ventricle, HLHS*: Hypoplastisches Linksherz-Syndrom, HRHS*: Hypoplastisches Rechtsherz-Syndrom, IAA*: Unterbrochener Aortenbogen, PA*: Pulmonalklappenatresie, TAPVC*: Totale Lungenvenenfehlöffnung, TGA*: Transposition der großen Arterien, TOF*: Fallot-Tetralogie, VSD: Ventriculärer Septumdefekt, Sonstige: Williams-Beuren-Syndrom (WBS), Common inlet single ventricle (CISV)*, Criss-Cross-Herz (CCH)*, * zyanotische Anomalien.

Herzfehler	CPB-Gr.	CPB+AC-Gr.	CPB+AC+DHCA-Gr.	Gesamt
HLHS	7	3	2	12
VSD	-	6	-	6
ASD/ AVSD	-	6	-	6
TOF	-	4	-	4
TGA	-	-	2	2
DORV	-	2	-	2
HRHS	1	-	-	1
PA+VSD	-	2	-	2
TAPVC	-	-	2	2
IAA	-	-	2	2
Sonstige	2	1	-	3

Tabelle 3.4: Aufteilung der Herzfehler in den drei Studiengruppen. ASD: Vorhofseptumdefekt, AVSD: Atrioventrikulärer Septumdefekt, DORV: Double outlet right ventricle, HLHS: Hypoplastisches Linksherz-Syndrom, HRHS: Hypoplastisches Rechtsherz-Syndrom, IAA: Unterbrochener Aortenbogen, PA: Pulmonalklappenatresie, TAPVC: Totale Lungenvenenfehlmündung, TGA: Transposition der großen Arterien, TOF: Fallot-Tetralogie, VSD: Ventriculärer Septumdefekt, Sonstige: Williams-Beuren-Syndrom (WBS), Common inlet single ventricle (CISV), Criss-Cross-Herz (CCH).

Die CPB+AC-Gruppe weist eine Heterogenität der operierten kardialen Anomalien und der angewendeten Operationstechnik auf, eine genaue Aufteilung ist Tab. 3.4 zu entnehmen.

In der CPB+AC+DHCA-Gruppe gibt es eine gleichmäßige Verteilung univentrikulärer Herzen mit Norwood-Operation sowie komplexer Gefäßfehlbildungen/-mündungen, die durch einen arteriellen Switch (TGA), einer Korrektur-Operation (TAPVC) oder einer Anastomose (IAA) korrigiert wurden.

3.2 Untersuchung des intraoperativen EG-Sheddings

3.2.1 Syndecan-1

Zeitliche Änderung der SDC-1-Serumkonzentration bei allen Studienteilnehmern

[SDC-1] \ Zeit	T0	T1	T2	T3
Absolut	37,4 (22,5/97,4)	53,0 (22,2/146,7)	109,8 (56,2/229,2)	80,7 (43,3/193,2)
Normiert	5,7 (3,5/17,0)	8,5 (3,6/20,5)	16,8 (8,3/28,6)	15,0 (5,6/26,2)

Tabelle 3.5: [SCD-1]: SDC-1-Serumkonzentration. Absolut: Mediane der absoluten SDC-1-Serumkonzentrationen (ng/ml) aller Studienteilnehmer zu den Messzeitpunkten T0-T3. Normiert: Mediane der gewichtsbezogenen SDC-1-Serumkonzentrationen (ng/ml/kg KG) aller Studienteilnehmer zu den Messzeitpunkten T0-T3. Werte in Klammern geben die IQR an.

Die Auswertung der Daten zeigte eine signifikante Korrelation zwischen dem Körpergewicht und der gemessenen basalen SDC-1-Serumkonzentration ($p < 0,05$). Daher wurden zum Ausschluss dieses Effekts die SDC-1- Serumkonzentration normiert, s. Tab. 3.5.

Der präoperative, absolute Wert der SDC-1-Serumkonzentration beträgt 37,4 ng/ml (22,5/97,4), normiert auf das Körpergewicht entspricht dies 5,7 ng/ml/kg KG (3,5/17,0).

Wie Abb. 3.2 veranschaulicht, steigt die gewichtsbezogene SDC-1- Serumkonzentration zwischen T0 und T1 auf 8,5 ng/ml/kg KG (3,6/20,5) an ($p > 0,05$). Ein weiterer Anstieg der gewichtsbezogenen SDC-1-Serumkonzentration erfolgt zwischen den Messzeitpunkten T1 und

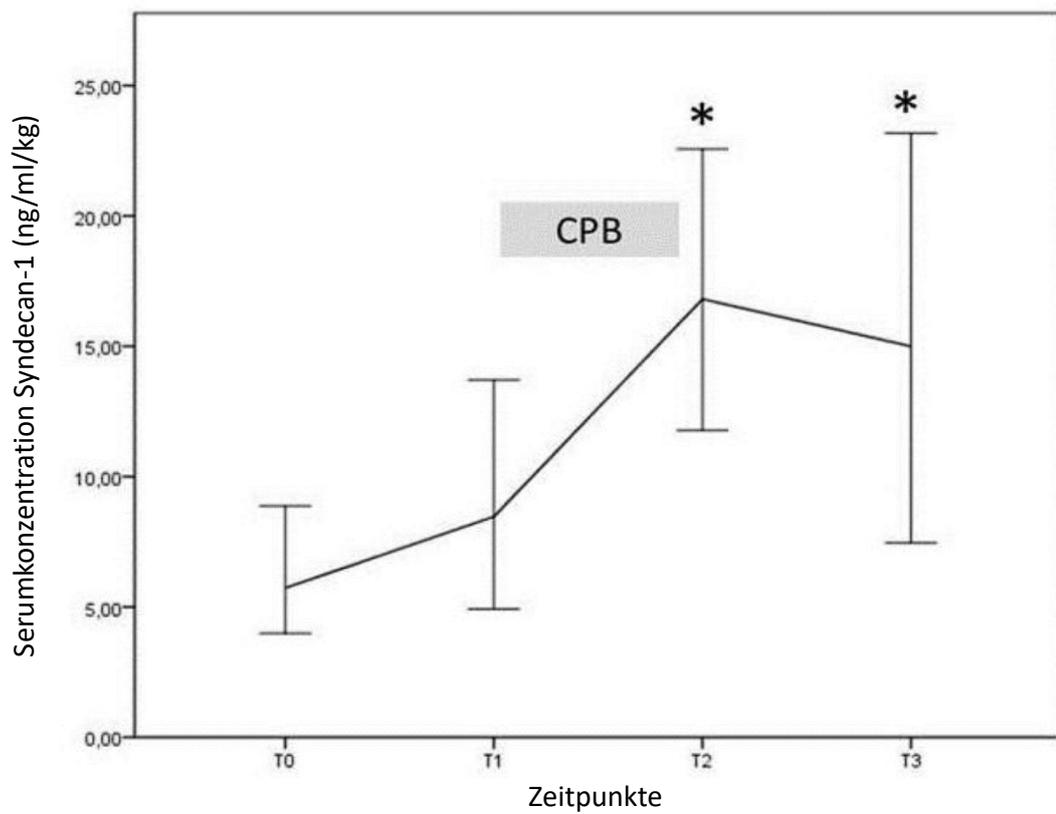


Abbildung 3.2: SDC-1-Serumkonzentration normiert auf das Körpergewicht (ng/ml/kg) der Kinder (n=42) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3, Median und 95%-Konfidenzintervall sind angegeben. CPB: kardiopulmonaler Bypass.* signifikanter Unterschied zu T0, $p < 0,05$.

T2 auf einen Wert von 16,8 ng/ml/kg KG (8,3/28,6), ($p < 0,05$). Zwischen den Messzeitpunkten T2 und T3 fällt die SDC-1-Konzentration gegenüber des Wertes bei T2 leicht auf 15,0 ng/ml/kg KG (5,60/26,2) ab, bleibt aber gegenüber des Ausgangswertes T0 signifikant erhöht ($p < 0,05$). Insgesamt kommt es im Gesamtkollektiv ($n=42$) zu signifikanten Anstiegen der SDC-1- Serumkonzentration während der Reperfusion (T2, $p < 0,05$) sowie unmittelbar postoperativ (T3, $p < 0,05$).

Zeitliche Änderung der SDC-1-Konzentration in Abhängigkeit von der Ischämie/ Reperfusion

Gruppe \ Zeit	T0	T1	T2	T3
CPB	5,3 (3,0/13,8)	7,0 (2,6/12,3)	11,7 (6,7/17,3)	7,5 (3,7/16,5)
CPB+AC	5,6 (3,4/17,3)	8,5 (3,4/19,6)	16,7 (8,4/28,3)	13,2 (5,5/30,5)
CPB+AC+DHCA	7,7 (3,9/23,3)	18,5 (5,1/27,6)	28,7 (17,6/62,9)	24,1 (21,4/67,6)

Tabelle 3.6: SDC-1-Serumkonzentrationen (ng/ml/kg) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0-T3 in den verschiedenen Gruppen, Werte in Klammern geben die IQR an. CPB: Kardio-pulmonaler Bypass, AC: Aortenklemmung, DHCA: Kreislaufstillstand mit tiefer Hypothermie.

Im weiteren Verlauf soll die zeitliche Änderung der SDC-1-Serumkonzentration in den verschiedenen Studiengruppen in Abhängigkeit der I/R betrachtet werden.

Tab. 3.6 sind die basalen SDC-1-Serumkonzentrationen in den drei Studiengruppen zu entnehmen.

In der CPB-Gruppe steigt bei T1 und T2 die SDC-1-Serumkonzentration an (T1: 7,0 ng/ml/kg KG (2,6/12,3), T2: 11,7 ng/ml/kg KG (6,7/17,3), $p > 0,05$). Beim Zeitpunkt T3 fällt die SDC-1-Serumkonzentration nicht signifikant auf 7,5 ng/ml/kg KG (3,7/16,5) ab.

Insgesamt sind in der CPB-Gruppe die Anstiege der SDC-1-Serumkonzentration während des Beobachtungszeitraumes analog zu dem in Abb.3.2 beschriebenem Verlauf, allerdings sind die Veränderungen allesamt nicht signifikant ($p > 0,05$), s. a. Abb. 3.3.

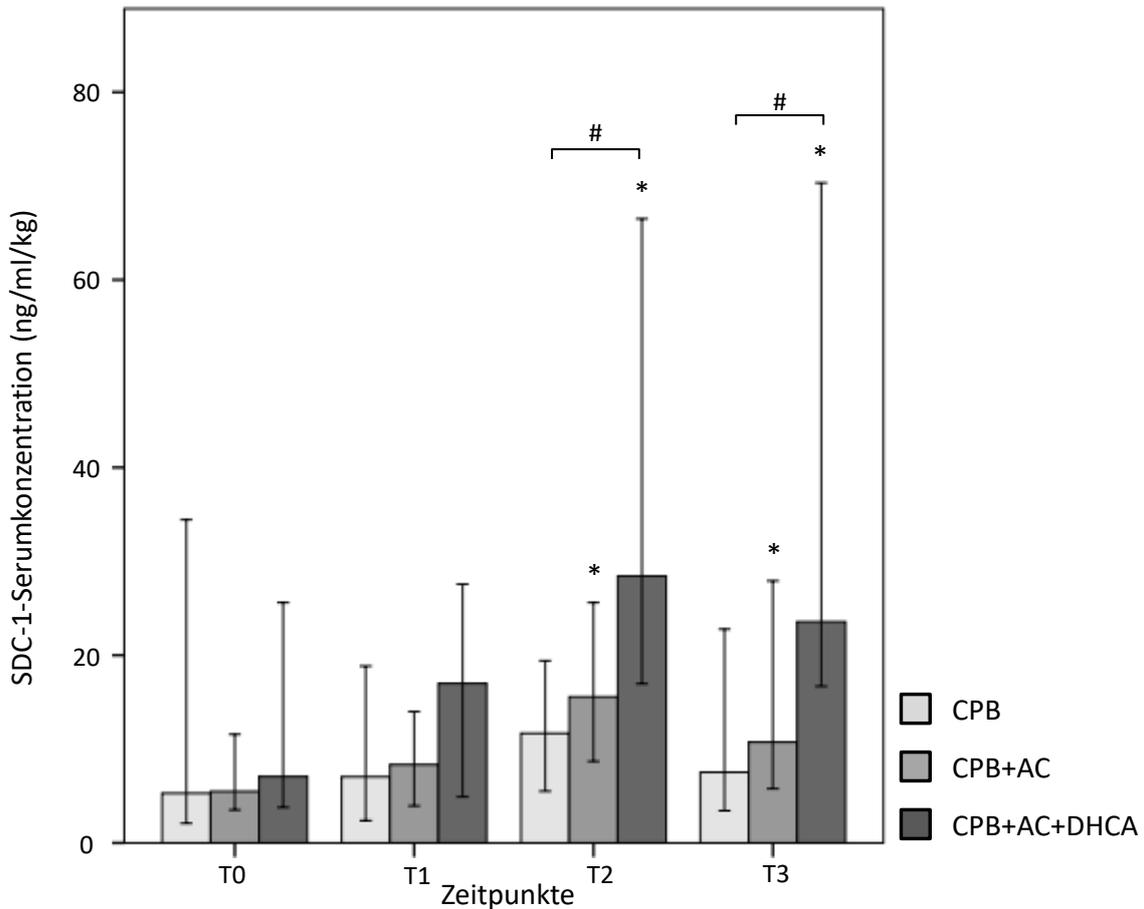


Abbildung 3.3: Mediane und 95%-Konfidenzintervall der Serumkonzentration von Syndecan-1 bezogen auf das Körpergewicht der Kinder (n=42) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3 in den drei Vergleichsgruppen: CPB (n=10, regionale Lungenischämie), CPB+AC (n=24, regionale Herz- und Lungenischämie), CPB+AC+DHCA (n=8, Ganzkörperischämie und Kreislaufstillstand). * signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppe zu T0, $p < 0,05$, # signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, $p < 0,05$. AC: Aortenklemmung, CPB: Kardionpulmonaler Bypass, DHCA: Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie.

In der CPB+AC-Gruppe kommt es ebenfalls zu einem Anstieg der SDC-1- Serumkonzentration zu den Zeitpunkten T1 und T2, wobei das gemessene SDC-1 bei T2 gegenüber jenem bei T0 signifikant erhöht ist (T1: 8,5 ng/ml/kg KG (3,4/19,6), $p > 0,05$, T2: 16,7 ng/ml/kg KG (8,4/28,3), $p < 0,05$). Bei T3 zeigt sich ein Rückgang der SDC-1-Serumkonzentration auf 13,2 ng/ml/kg KG (5,7/30,5). Dennoch bleibt die SDC-1-Konzentration signifikant erhöht gegenüber dem Basalwert ($p < 0,05$), s. a. Abb. 3.3.

In der CPB+AC+DHCA-Gruppe steigt die SDC-1-Serumkonzentration bei T1 und T2 an, es zeigt sich eine signifikante Änderung bei T2 gegenüber T0 (T1: 18,5 ng/ml/kg KG (5,1/27,6), $p > 0,05$, T2: 28,7 ng/ml/kg KG (17,6/62,9), $p < 0,05$). Zum Zeitpunkt T3 sinkt zwar die SDC-1-Serumkonzentration auf 24,1 ng/ml/kg KG (21,41/67,6), ist aber signifikant erhöht gegenüber dem Ausgangswert ($p < 0,05$).

Des Weiteren sind in dieser Gruppe die Werte bei T2 und T3 signifikant erhöht gegenüber den Werten bei T2 und T3 der CPB-Gruppe ($p < 0,05$)(s. Abb. 3.3).

3.2.2 Hyaluronan

Zeitliche Änderung der HA-Serumkonzentration bei allen Studienteilnehmern

[HA] \ Zeit	T0	T1	T2	T3
Absolut	147,2 (123,2/179,4)*	121,1 (108,5/136,8)	222,1 (163,5/355,2)*	173,6 (127,5/229,6)
Normiert	22,7 (13,3/35,3)*	20,3 (11,8/29,1)	33,1 (19,1/74,7)*	25,8 (15,6/44,8)

Tabelle 3.7: [HA]: HA-Serumkonzentration. Absolut: Mediane der absoluten HA-Serumkonzentrationen (ng/ml) aller Studienteilnehmer zu den Messzeitpunkten T0-T3. Normiert: Mediane der gewichtsbezogenen HA-Serumkonzentrationen (ng/ml/kg KG) aller Studienteilnehmer zu den Messzeitpunkten T0-T3. Werte in Klammern geben die IQR an. * hier gilt $n = 41$, da von einem Patienten zu wenig Probenmaterial zu den jeweiligen Messzeitpunkten vorhanden war.

Analog zu oben beschriebenen Ergebnissen der SDC-1-Serumkonzentrationen werden im Folgenden die Veränderungen der HA-Serumkonzentrationen erläutert. Da diese ebenfalls gewichtsabhängig, werden wiederum auf das Gewicht normierte Werte angegeben. Die ab-

soluten Basalwerte dienen dem späteren Vergleich mit den in der Literatur angegebenen basalen HA-Serumkonzentrationen bei Erwachsenen.

Absolut beträgt die basale HA-Serumkonzentration 147,2ng/ml (123,3/179,4), (s. 3.7). Auf das Körpergewicht normiert entspricht dies 22,7 ng/ml/kg KG (13,3/35,3).

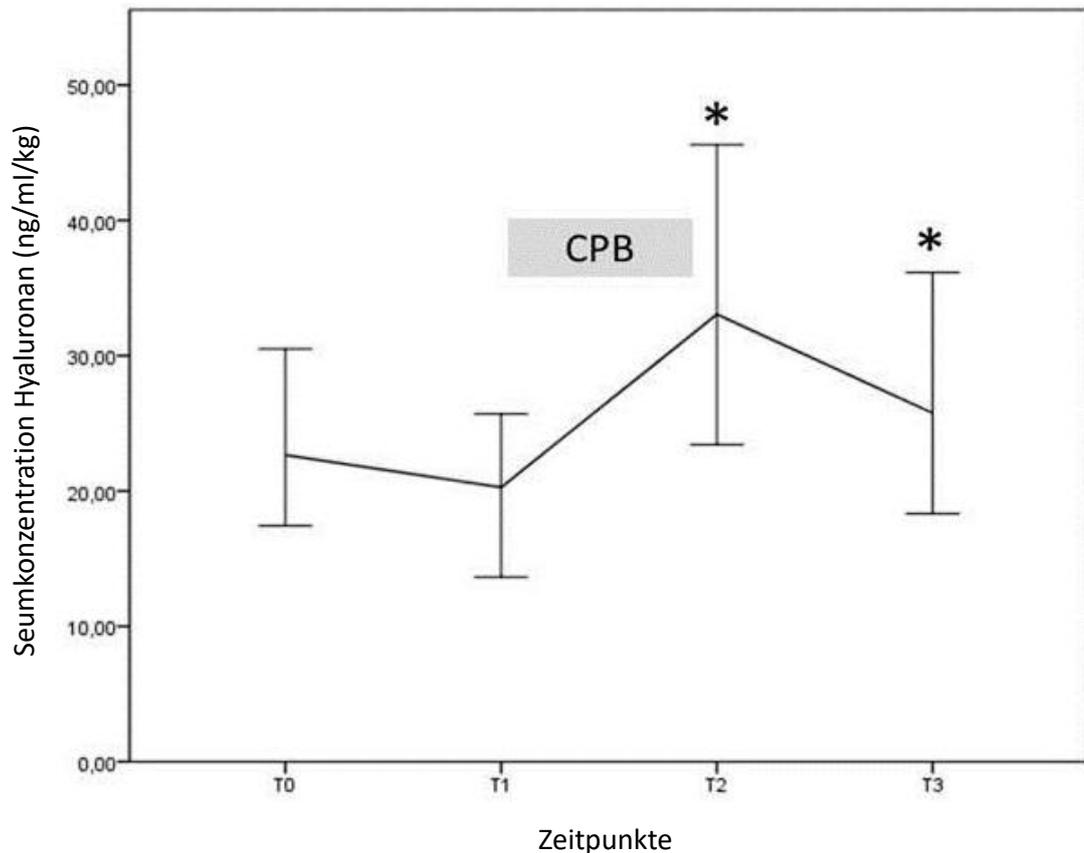


Abbildung 3.4: HA-Serumkonzentration bezogen auf das Körpergewicht (ng/ml/kg) der Kinder (n=42) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3, es finden sich der Median der Werte sowie das 95%-Konfidenzintervall CPB: kardiopulmonaler Bypass,* signifikanter Unterschied zu T0, $p < 0,05$.

Wie Abb. 3.4 zeigt, fällt bei T1 die normierte HA-Serumkonzentration auf 20,3 ng/ml/ kg KG (11,8/29,1)($p > 0,05$) ab. Bei T2 wird ein Anstieg der HA-Serumkonzentration auf 33,1 ng/ml/kg KG (19,1/74,7) gemessen. Bei T3 sinkt diese leicht auf 25,8 ng/ml/kg KG (15,7/44,8) ab, bleibt aber erhöht gegenüber der basalen HA-Serumkonzentration T0.

Im Gesamtkollektiv (n=42) steigt die HA-Serumkonzentration während der Reperfusion (T2,

p < 0,05) sowie unmittelbar danach (T3, p < 0,05) signifikant an, s. Abb. 3.4 .

Zeitliche Änderung der HA-Konzentration in Abhängigkeit von der Ischämie/ Reperfusion

Gruppe \ Zeit	T0	T1	T2	T3
CPB	16,4 (12,0/21,1)	12,8 (9,1/23,0)	20,0 (13,7/26,5)	18,0 (14,4/28,4)
CPB+AC	23,5 (13,2/30,9)	20,0 (11,1/25,4)	33,1* (18,8/57,4)	24,3 (13,7/45,1)
CPB+AC+DHCA	59,5* (36,1/83,9)	36,8 (28,4/42,7)	102,8 (49,1/119,9)	65,1 (29,3/91,7)

Tabelle 3.8: Mediane der HA-Serumkonzentrationen (ng/ml/kg) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0-T3 in den verschiedenen Gruppen, sowie in Klammern die IQR. * hier gilt n-1 zu berücksichtigen. CPB: Kardiopulmonaler Bypass, AC: Aortenklammung, DHCA: Kreislaufstillstand mit tiefer Hypothermie.

Im Folgenden soll nun auf die Änderung der HA-Serumkonzentrationen in den drei verschiedenen Studiengruppen eingegangen werden. Wie die basalen SDC-1-Serumkonzentrationen unterscheiden sich auch die basalen HA-Serumkonzentrationen (T0) in den drei Gruppen nicht signifikant (CPB 16,4 ng/ml/kg (12,0/21,1), CPB+AC 23,5 ng/ml/kg (13,2/30,9), CPB+AC+DHCA 59,5 ng/ml/kg (36,1/84,0), p >0,05) (3.5).

Nach einem Abfall der HA-Serumkonzentration auf 12,8 ng/ml/kg KG (9,1/23,0) zum Zeitpunkt T1 steigt in der CPB-Gruppe die HA-Serumkonzentration bei T2 auf 20,0 ng/ml/kg KG (13,6/26,5) (p < 0,05). Bei T3 sinkt die HA-Serumkonzentration auf 18,0 ng/ml/kg KG (14,4/28,4), s. a. Abb. 3.5.

In der CPB+AC-Gruppe fällt die HA-Serumkonzentration bei T1 ab (20,0 ng/ml/kg KG (11,1/25,4) und zeigt einen signifikanten Anstieg auf 33,1 ng/ml/kg KG (18,8/57,4) bei T2 (p < 0,05). Dieser Wert ist signifikant gegenüber dem Zeitpunkt T2 der CPB-Gruppe, s. a. Abb. 3.5.

Zum Zeitpunkt T3 kommt es zu einem Abfall der HA-Serumkonzentration auf 24,3 ng/ml/kg KG (13,7/45,1).

Die CPB+AC+DHCA-Gruppe weist bei T1 einen Abfall der HA-Serumkonzentration auf (36,9 ng/ml/kg KG (28,4/42,8)). Bei T2 steigt die HA-Serumkonzentration auf ihren Maximalwert an

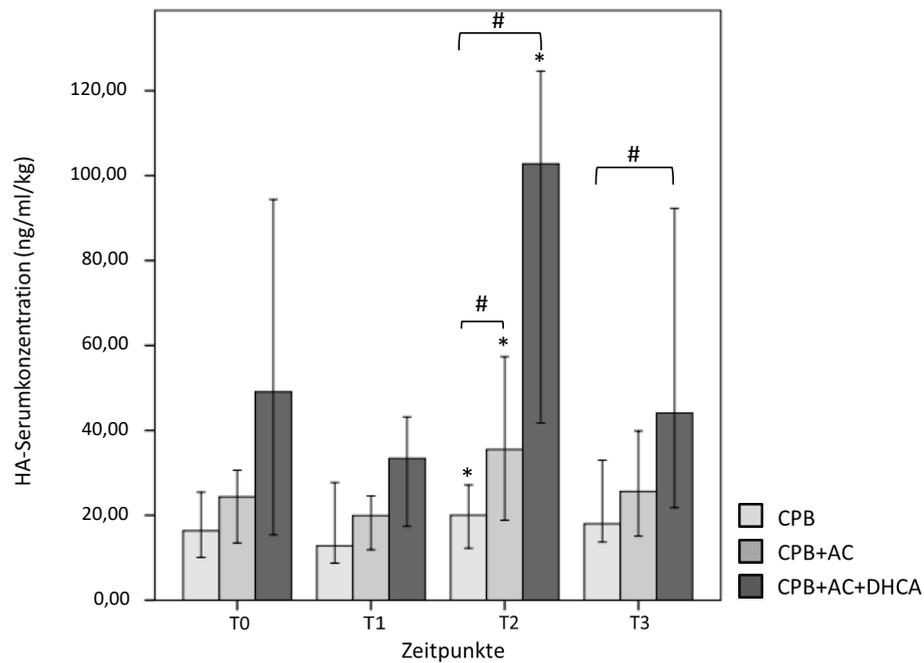


Abbildung 3.5: HA-Serumkonzentration bezogen auf das Körpergewicht (ng/ml/kg) der Kinder (n=42) zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3 in den drei Vergleichsgruppen: CPB (n=10, regionale Lungenischämie), CPB+AC (n=24, regionale Herz- und Lungenischämie), CPB+AC+DHCA (n=8, Ganzkörperischämie und Kreislaufstillstand). Gegeben sind der Median sowie das 95%-Konfidenzintervall, * signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppe zu T0, $p < 0,05$, # signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, $p < 0,05$. AC: Aortenklammung, CPB: Kardiopulmonaler Bypass, DHCA: Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie.

(102,8 ng/ml/kg KG (49,1/119,9)) ($p < 0,05$) und sinkt bei T3 auf 65,1 ng/ml/kg KG (29,3/91,7) ab.

In dieser Gruppe sind die Veränderungen der HA-Serumkonzentration bei T2 und T3 signifikant erhöht gegenüber den entsprechenden HA-Serumkonzentrationen der CPB-Gruppe ($p < 0,05$), s. Abb. 3.5.

3.3 Einfluss weiterer Faktoren auf das EG-Shedding

3.3.1 Präoperative Hypoxie

Zeit [SDC-1]	T0	T1	T2	T3
Normoxie (n=16)	39,6 (23,8/75,1)	68,9 (30,8/169,9)	195,1 (78,5/265,9)	191,0 (54,8/235,2)
Hypoxie (n=26)	36,1 (21,4/106,6)	45,6 (21,1/123,1)	81,0 (55,8/180,2)	70,6 (34,7/169,5)
Zeit [HA]	T0	T1	T2	T3
Normoxie (n=33)	149,9 (121,4/217,9)*	116,2 (89,7/136,0)	260,8 (178,5/361,4)*	180,1 (117,5/246,2)
Hypoxie (n=9)	146,4 (125,5/179,0)	123,0 (113,5/139,4)	206,8 (157,7/353,1)	28,0 (15,3/88,1)

Tabelle 3.9: [SDC-1]:Mediane der absoluten SDC-1-Serumkonzentrationen (ng/ml) sowie die IQR bei Normoxie bzw. Hypoxie. [HA]:Mediane der absoluten HA-Serumkonzentration (ng/ml) sowie die IQR bei Normoxie bzw. Hypoxie. n = Anzahl der Patienten ohne/mit Hypoxie, *: n = n-1 ein nicht gültiger Teilnehmer aufgrund zu geringen Probenmaterials.

Wie in Tab. 3.2 aufgeführt, ist die Anzahl der Kinder mit präoperativer Normoxie (n=16) und präoperativer Hypoxie (n=26) unterschiedlich. Ebenso variiert die Verteilung der präoperativ hypoxischen Kinder in den drei Studiengruppen. Wichtig zu beachten ist außerdem, dass in der CPB-Gruppe alle Patienten eine präoperative Hypoxie aufweisen.

Aus diesem Grund werden im Folgenden die Veränderungen der SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit der präoperativer Hypoxie im Gesamtkollektiv untersucht.

Wie Tab. 3.9 und Abb. 3.6 zu entnehmen ist, sind die absoluten, basalen Medianwerte (T0) der SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen annähernd gleich (SDC-1: 39,6 vs. 36,1 ng/ml Nor-

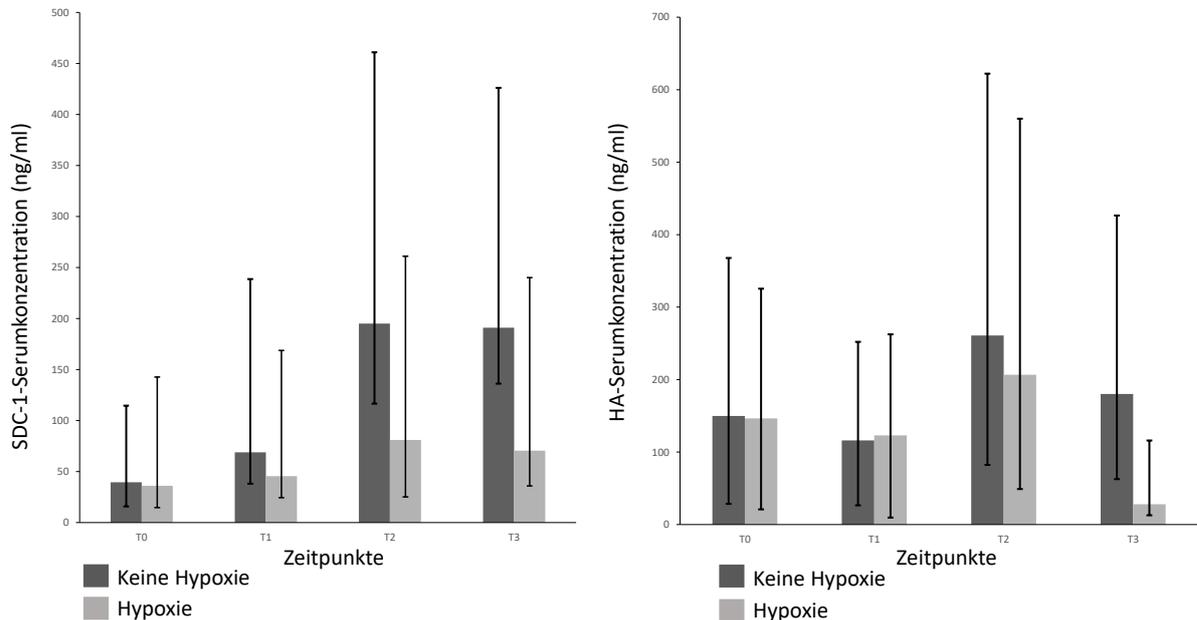


Abbildung 3.6: Median und IQR der absoluten SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3 bei allen Studienteilnehmern in Abhängigkeit der präoperativen Hypoxie ($SpO_2 < 90\%$).

moxie vs. Hypoxie), HA: 149,9 vs. 146,6 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)). Zum Zeitpunkt T1 steigt die SDC-1-Konzentration sowohl bei Hypoxie als auch bei Normoxie an. Dieser Anstieg fällt bei präoperativer Normoxie quantitativ stärker aus als bei präoperativer Hypoxie (68,9 vs. 45,55 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)). Die HA-Konzentration fällt im gleichen Zeitraum sowohl bei Normoxie als auch bei Hypoxie ab (116,2 vs. 122,95 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)) ab, wobei hier zwischen den präoperativen hypoxischen und den normoxischen Kindern nur geringe Unterschiede vorhanden sind. Die maximalen SDC-1- und HA-Serumkonzentration wurde sowohl bei Normoxie als auch bei Hypoxie zum Zeitpunkt T2 gemessen, wobei es hier bei beiden EG-Bestandteilen zu einem quantitativ höheren Anstieg bei präoperativer Normoxie kommt (SDC-1: 195,05 vs. 80,95 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie), HA: 260,8 vs. 206,75 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)). Zum Zeitpunkt T3 fallen die Serumkonzentrationen von SDC-1 und HA sowohl bei Normoxie als auch bei Hypoxie wieder ab (SDC-1: 101 vs. 70,55 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie), HA: 180,1 vs. 169,2 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)). Wegen der ungleichmä-

ßigen Verteilung der präoperativ hypoxischen Studienteilnehmer auf die drei Gruppen wird der Einfluss der präoperativen Hypoxie nur deskriptiv betrachtet.

3.3.2 Präoperative Hydrocortisongabe

Zeit		T0	T1	T2	T3
[SDC-1]					
	ohne HCS (n=33)	5,5 (3,3/14)	7,6 (3,1/13,8)	13,5 (8,2/24,6)	9,2 (5,1/23,9)
	mit HCS (n=9)	6,5(4/30,8)	20,5(8,3/27,6)	29 (19,6/59,2)	24,6 (1,7/64,9)
Zeit		T0	T1	T2	T3
[HA]					
	ohne HCS (n=33)	22,3 (12,9/30,8)	19,9 (11,7/27,6)	29 (18,9/55,4)*	25,6(15,4/39,3)
	mit HCS (n=9)	29,4 (14/63,8)*	31 (11,5/42,3)	45,1 (27,7/113,7)	30 (15,3/88,1)

Tabelle 3.10: Mediane der SDC-1-/ HA-Serumkonzentrationen (ng/ml/kg) sowie die IQR in Abhängigkeit präoperativer Hydrocortisongabe im Gesamtkollektiv. n = Anzahl der Patienten ohne/mit Hypoxie, *: n = n-1 wegen eines nicht gültigen Teilnehmers aufgrund zu geringen Probenmaterials.

Wie in Tab. 3.3 beschrieben, hat die Mehrzahl der Studienteilnehmer kein Hydrocortison (HCS) erhalten. Zudem variieren die Fallzahlen in den einzelnen Gruppen. Deshalb wird im Folgenden das Gesamtkollektiv betrachtet. Zum Zeitpunkt T0 sind die medianen SDC-1/ HA- Serumkonzentrationen bei den Studienteilnehmern ohne HCS vergleichbar mit denen, die präoperativ HCS erhalten haben (SDC-1: 6,5 vs. 5,5 ng/ml/kg (mit HCS vs ohne HCS), HA: 29,4 vs. 22,3 ng/ml/kg (mit HCS vs. ohne HCS)), s. Tab. 3.10. Bei T1 steigt die SDC-1-Serumkonzentration unter präoperativer HCS-Gabe quantitativ stärker an als bei Kindern, die kein HCS erhalten haben (20,5 vs. 7,6 ng/ml/kg), die HA-Serumkonzentration fällt bei T1 mit und ohne HCS ab (31,0 vs. 20,0 ng/ml/kg). Das Maximum der SDC-1- und HA-Serumkonzentration wird mit und ohne HCS-Gabe bei T2 gemessen, wobei unter HCS-Gabe insgesamt höhere SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen gemessen werden (SDC-1: 29,0 vs. 13,5 ng/ml/kg, HA: 45,1 vs. 29,0 ng/ml/kg). Die SDC-1- und HA-Serumkonzentration fällt mit und ohne HCS zum Zeitpunkt T3 ab (SDC-1: 24,7 vs. 9,2 ng/ml/kg, HA: 28,0 vs. 25,6 ng/ml/kg), s. Abb. 3.7. Wegen der unter-

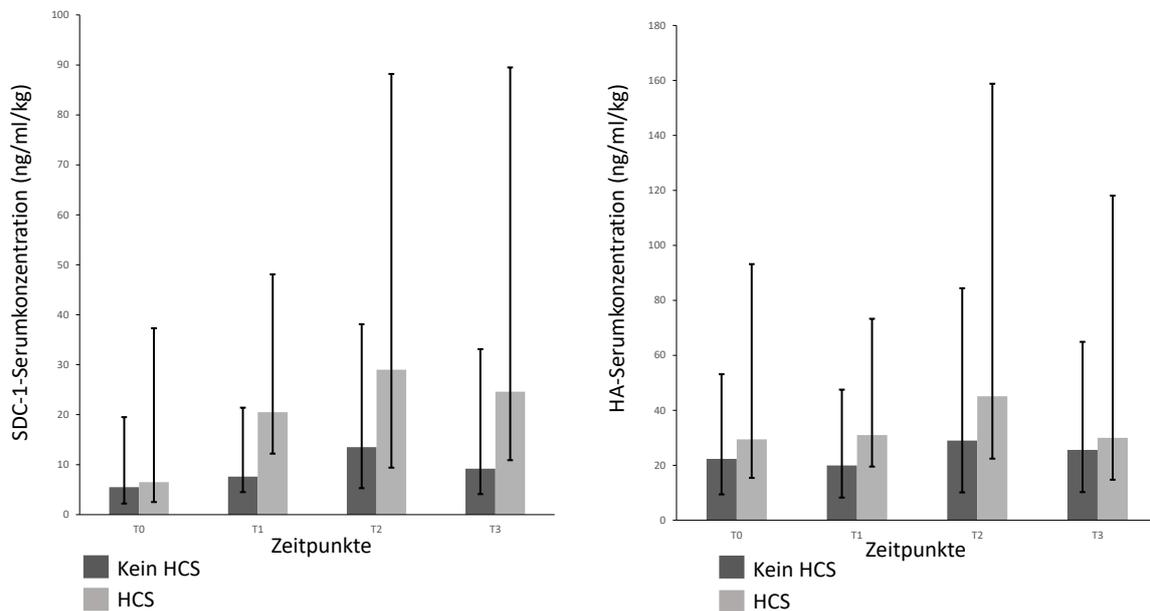


Abbildung 3.7: Nomierte Werte für den Median sowie die IQR der SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen zu den verschiedenen Messzeitpunkten T0 bis T3 bei allen Studienteilnehmern in Abhängigkeit der präoperativen Hydrocortisongabe.

schiedlichen Fallzahlen wurde der HCS-Effekt nur deskriptiv beschrieben.

3.3.3 Hypothermie-Dauer

Um den Einfluss der tiefen Hypothermie (Körpertemperatur = 18°) auf das Ausmaß des EG-Sheddings in der CPB+AC+DHCA-Gruppe zu untersuchen, kann die Korrelation zwischen der maximalen SDC-1- und der HA-Konzentration (T2) mit der Dauer der Hypothermie herangezogen werden. Wie Abb. 3.8 veranschaulicht, ergibt sich hierbei keine Korrelation zwischen dem Ausmaß des EG-Sheddings und der Dauer der tiefen Hypothermie (SDC-1: $R^2=0,05$, HA: $R^2=0,04$).

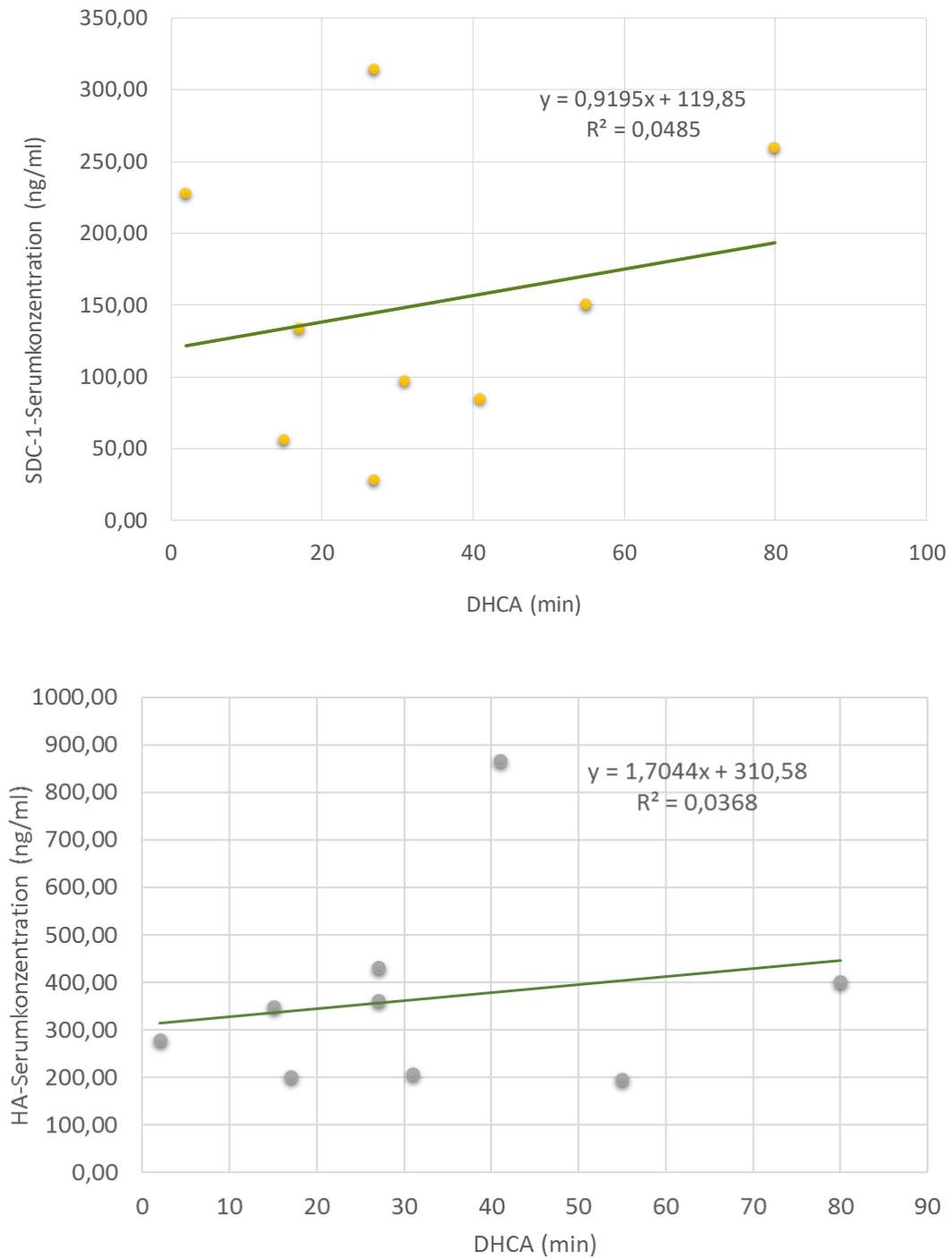


Abbildung 3.8: Punktdiagramm. Oben: max. Serumkonzentrationen von SDC-1 (T2) in Abhängigkeit von der Hypothermiedauer, unten: max. Serumkonzentration von HA (T2) in Abhängigkeit von der Hypothermiedauer, R^2 ist das Bestimmtheitsmaß.

4 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, das EG-Shedding vor, während und nach einem kardiochirurgischen Eingriff in vivo bei Kindern zu untersuchen. Als Parameter zur Bestimmung des Sheddings dienten die ins Serum freigesetzten EG-Hauptbestandteile SDC-1 und HA.

Im Gesamtkollektiv zeigte sich ein signifikanter Anstieg der SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen nach Beendigung des CPB sowie bei der SDC-1-Serumkonzentration postoperativ gegenüber den gemessenen Basalwerten, s. Abb. 3.2, 3.4.

In vivo-Studien von Rehm et al. und Brügger et al. [7, 76] zeigten bereits, dass es bei kardiochirurgischen Eingriffen mit und ohne HLM intraoperativ zu einem Shedding der EG bei Erwachsenen kommt.

Um einen Vergleich der in dieser Arbeit gemessenen Serum-Konzentrationen von SDC-1 und HA bei Kindern mit denen von Erwachsenen herstellen zu können, wurden absolute Basalwerte ermittelt. Ein Vergleich zu anderen Untersuchungsergebnissen bei Kindern ist aufgrund fehlender Studien nicht möglich. Die gemessenen Basalwerte zum Zeitpunkt T0 für SDC-1 (37,4 ng/ml) und HA (147,2ng/ml) in der vorliegenden Studie sind mit den angegebenen Basalwerte für Erwachsene (SDC-1: 29,5 ng/ml, HA: 126,0 ng/ml [7,93]) vergleichbar, sodass von einer gleichen Ausgangssituation bei Kindern und Erwachsenen ausgegangen werden kann. Bereits frühere in vitro-Studien haben gezeigt, dass eine myokardiale Ischämie mit anschließender Reperfusion zu einem Shedding der EG führt [14, 42]. Erste Beobachtungen zu Ischämie getriggerten Veränderungen der EG gehen auf Untersuchungen an Rattenherzen von Ishiharajima zurück [42]. In Experimenten an isoliert schlagenden Meerschweinchenherzen von Chappell et al. [14] zeigte sich, dass die durch I/R induzierte Schädigung der EG eine Erhöhung des Perfusionsdruck in den Koronararterien sowie eine erhöhte vaskuläre Permea-

bilität nach sich zieht. Rehm et al. [76] konnten erstmals nachweisen, dass eine Ischämie mit nachfolgender Reperfusion auch beim Menschen in vivo zu einem Shedding der EG führt. Hierbei zeigt sich v. a. in der frühen Phase der Reperfusion, insbesondere bei regionaler Ischämie, ein signifikanter Anstieg der Plasmakonzentrationen von SDC-1 und HS. Eine neuere Studie konnte diesen Effekt auch in vivo bei koronaren Bypass-Operationen bei Erwachsenen nachweisen [7]. In letztgenannter Untersuchung werden in der Gruppe mit CPB die maximalen SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen nach Beendigung des CPB gemessen. In der vorliegenden Arbeit (s. Abb. 3.2, 3.4) finden sich die maximalen SDC-1- und HA-Konzentrationen ebenfalls nach erfolgter I/R. Die EG von Kindern reagiert demnach ähnlich sensibel auf I/R wie die der Erwachsenen.

Um die Auswirkungen der Dauer und des Ausmaßes der I/R in der vorliegenden Arbeit zu untersuchen, wurde das Gesamtkollektiv in drei Studiengruppen mit unterschiedlicher I/R-Dauer unterteilt (CPB-, CPB+AC-, CPB+AC+DHCA-Gruppe). Das zeitliche Ausmaß der I/R wurde durch die Operationstechnik bestimmt, s. Kap. 2.2.

Die CPB+AC+DHCA-Gruppe, in der eine globale Ischämie während der Operation stattfindet, wies die maximalen SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen auf (SDC-1: 28,7 ng/ml/kg KG (17,6/62,9), HA: 102,8 ng/ml/kg KG (49,1/119,9), T2). Die Serumkonzentrationen zum gleichen Messzeitpunkt (T2) der anderen beiden Gruppen waren niedriger, s. Abb. 3.3 und 3.5. In der Arbeit von Brügger et al. [7] wurde bei den Patienten mit CPB, die einer ausgeprägteren Ischämie als die der Vergleichsgruppe ohne CPB ausgesetzt waren, deutlich höhere SDC-1- und HA-Serumkonzentrationen gemessen. Somit lässt sich folgern, dass die Dauer und das Ausmaß der I/R sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern einen entscheidenden Einfluss auf das EG-Shedding haben.

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich in der CPB-Gruppe keine signifikanten Veränderungen der SDC1-Serumkonzentrationen über alle Messzeitpunkte hinweg, die HA-Serumkonzentration stieg in dieser Gruppe zu dem Messzeitpunkt T2 signifikant an. In der CPB+AC- und der CPB+AC+DHCA-Gruppe stiegen sowohl die SDC-1- als auch die HA-Serumkonzentrationen

bei T2 gegenüber den Basalwerten signifikant an. Zudem fanden sich zu den Messzeitpunkten T2 und Z3 signifikante Unterschiede zwischen der CPB-Gruppe und der CPB+ AC+ DHCA-Gruppe, s. Abb. 3.3, 3.5. Eine globale I/R führt somit zu einem vermehrten Shedding der EG als eine regionale Lungenischämie..

Interessanterweise existierten keine signifikanten Unterschiede zwischen der CPB+AC- und der CPB+AC+DHCA-Gruppe, obwohl in Letzterer eine globale Ischämie stattfand und dadurch signifikante Unterschiede erwartbar gewesen wären.

Ein Grund hierfür könnte die in der CPB+AC+DHCA-Gruppe angewendete tiefe Hypothermie sein, die den Einfluss der globalen Ischämie gegen die regionale Ischämie bei nur milder Hypothermie teilweise aufwiegen könnte. Ein Hinweis hierfür ist, dass innerhalb der CPB+AC+DHCA-Gruppe keine Korrelation zwischen den gemessenen Serumkonzentrationen und der Dauer der Hypothermie gefunden werden konnte, s. Abb. 3.8. Ob die fehlende Korrelation Ausdruck eines protektiven Effekts auf die Glykokalyx ist oder die Ergebnisse durch andere Einflussfaktoren verzerrt wurden, lässt sich wegen der fehlenden Randomisierung nicht klären. In-vitro-Studien an isolierten Meerschweinchenherzen haben gezeigt, dass eine vierstündige globale Ischämie bei 4°C zu weniger EG-Shedding führt als eine 20-minütige Ischämie bei einer Temperatur von 37°C [10, 45]. Eine hypotherme Ischämie bietet also prinzipiell einen protektiven Effekt auf das EG-Shedding, zumindest in vitro. Dass in dieser Studie trotz tiefer Hypothermie die höchsten SDC-1- und HA- Serumkonzentrationen in der CPB+AC+DHCA-Gruppe gemessen wurden, unterstreicht die vorrangige Bedeutung der Ischämie auf das EG-Shedding in vivo. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch die in-vivo Studie von Rehm et al. [76].

In verschiedenen in-vitro Studien werden vielseitige Maßnahmen zur Vermeidung des I/R-getriggerten EG-Sheddings diskutiert. Beresewicz et al. [4] und Chen et al. [16] konnten beispielsweise zeigen, dass die Zugabe von Superoxid-Dismutase (SOD) präventiv auf das postischämische EG-Shedding wirkt. Zudem wird von Beresewicz die sog. ischämische Präkonditionierung (ICP) genannt. Dabei werden kurzzeitige Intervalle aus I/R der eigentlichen, länger an-

dauernden Ischämie vorgeschaltet. Dies kann laut Beresewicz et al. [4] die postischämische Beschädigung der EG verhindern. Laut Rubio-Gayosso et al. [81] wirkt sich außerdem die Gabe von Allopurinol sowie von Heparin präventiv auf die Entstehung von Sauerstoffradikalen und somit positiv auf das I/R getriggerte Shedding der EG aus. Ein weiterer präventiver Effekt wird der intravasalen Gabe von exogenem HA zugesprochen [81]. Es ist allerdings wichtig zu betonen, dass es sich bei o. g. Studien um rein experimentelle Untersuchungen handelt und ähnliche Effekte bisher beim Menschen noch nicht nachgewiesen werden konnten.

Zudem konnte Bruegger et al. [6] zeigen, dass die Gabe von NO an isolierten Meerschweinchenherzen eine Abschwächung der Beschädigung der EG herbeiführt und damit die Extravasation in den Koronargefäßen abnimmt. Außerdem brachte die schon o.g. Studie von Chappell et al. [14] die Erkenntnis, dass die Gabe von Hydrocortison (HCS) die postischämische Erhöhung des koronaren Perfusionsdruck und die Ödementstehung vermindern kann.

Zusätzlich gibt es Vermutungen, dass das Ausmaß des I/R induzierten EG-Sheddings von der Art des Anästhesieverfahrens abhängt. So konnten Annecke et al. [3] an in vivo Untersuchungen mit Schweinen zeigen, dass durch Sevofluran, im Gegensatz zu Propofol, das Shedding zumindest in der Reperfusionphase vermindert werden kann und somit Sevofluran zur Abmilderung des I/R-getriggerte Shedding genutzt werden kann. Ähnliche Ergebnisse erzielten Experimente von Chappell et al. [11]. Hierbei konnte in vitro durch Vorbehandlung mit Sevofluran eine deutliche Reduktion der Beschädigung der EG durch I/R in den Koronargefäßen erzielt werden. Zudem zeigte sich eine verminderte Adhäsion sowohl von Leuko- als auch von Thrombozyten an die Endothelzellmembran [11]. Ob die unterschiedlichen Narkoseverfahren auch beim Menschen das intraoperative EG-Shedding beeinflussen können, ist bisher nicht untersucht, sollte aber unbedingt Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Für die Beurteilung der Daten in der vorliegenden Arbeit muss zudem beachtet werden, dass ein exakter Vergleich zwischen den Gruppen aufgrund der inhomogenen Verteilung nicht möglich ist. Die Studiengruppen variieren stark im medianen Alter und Gewicht der Studien-

teilnehmer. Die Patienten der CPB+AC+DHCA-Gruppe sind mit einem medianen Gewicht von 3,6 kg und einem medianen Alter von 0,4 Monaten die leichtesten und jüngsten Kinder. Dies ist auf die Komplexität der in dieser Gruppe operierten Herzfehler, die zu den sog. kritischen Herzfehlern zählen und einer zeitnahen kardiochirurgischen Intervention bedürfen, zurückzuführen, s. a. Kap. 2.3. Alle Ergebnisse müssen also vor dem Hintergrund dieser Inhomogenität betrachtet und bewertet werden.

Weiterhin ist unklar, ob der Metabolismus von EG-Bestandteilen nicht nur vom Gewicht, sondern auch vom Alter und Geschlecht des Kindes abhängig ist. Durch ungleiche Alters- und Geschlechtsverteilung der Kinder auf die drei Studiengruppen kann der Einfluss der I/R auf das EG-Shedding verzerrt werden. Zur Klärung dieser Frage wäre eine randomisierte Studie notwendig, in der Alter, Größe, Gewicht und Geschlecht in allen drei Gruppen gleich verteilt sind. Die Verteilung der Kinder in die Gruppen ist von der Operationstechnik, die durch die kardiale Anomalie bedingt wird, abhängig, weshalb eine solche Randomisierung bei diesem hochsensiblen Patientengut nicht möglich war.

Des Weiteren wurde bereits von Rehm et al. [76] diskutiert, dass die gemessene Serumkonzentration von SDC-1 von interindividuellen Unterschieden abhängig ist.

Durch Unterschiede in der EG-Dicke, der basalen Umsatzrate der freigesetzten EG-Bestandteile und der Geschwindigkeit der Abnahme der SDC-1-Serumkonzentrationen zwischen den Studienteilnehmern kann trotz festgelegtem Studienprotokoll nicht sicher bei jedem Teilnehmer die maximale Serumkonzentration erfasst werden. Ebenso wird in [29] und [30] beschrieben, dass der Umsatz von HA abhängig von den individuellen Umsatzraten in Leber, Nieren und Milz ist, sodass dies auch für die gemessenen HA-Serumkonzentrationen gilt. Diese Arbeit kann daher nur eine Tendenzaussage über die Auswirkungen einer unterschiedlichen I/R-Zeit auf das EG-Shedding liefern.

Eine weitere Diskrepanz zwischen den Gruppen ergibt sich aus der Verteilung hypoxischer Herzfehler und Kindern mit Normoxie. Dies ist ebenfalls eine Folge der in den einzelnen Gruppen operierten Herzfehler.

In der CPB-Gruppe finden sich ausschließlich Kinder mit präoperativer Hypoxie, was dem Umstand geschuldet ist, dass in dieser Gruppe ausschließlich Glenn- bzw. Fontan- Operationen durchgeführt wurden (Tab. 3.1). Wie bereits in Kap. 2.3 erläutert wurde, wird diese Operation hauptsächlich bei univentrikulären Anomalien wie dem HLHS durchgeführt. Da erst die sog. Fontan-Komplettierung eine Vermischung von arteriellem und venösen Blut verhindert, ist es nachvollziehbar, dass alle Kinder, die eine Glenn- bzw. Fontan-Operation erhalten, eine präoperative Hypoxie aufweisen. Eine gleichmäßige Verteilung der Anzahl hypoxischer Patienten und solchen mit einer Normoxie ist beim vorliegenden Studiendesign demnach nicht möglich gewesen.

Inwieweit sich die präoperative Hypoxie auf das EG-Shedding auswirkt, soll im Folgenden betrachtet werden. In einer *in vitro* Studie von Ward et al. [101] wird beschrieben, dass eine Hypoxie eine Destruktion der EG der kardialen Gefäße bewirkt. Eine weitere *in vitro* Studie von Annecke et al. [2] bestätigte diesen Effekt, wobei angenommen wird, dass hierfür eine durch freigesetzte Purine vermittelte Mastzell-Degranulation mit Freisetzung einer beta-Tryptase verantwortlich ist. In einer Studie von Rubio-Gayosso et al. [81] zeigte sich weiterhin, dass das I/R-getriggerte EG-Shedding auf der Bildung von freien Sauerstoffradikalen beruht.

Es bleibt zu untersuchen, ob bei einer chronischen Hypoxie ebenfalls eine vermehrte Bildung von freien Sauerstoffradikalen stattfindet und so ein erhöhter Basalwert der SDC-1- und HA-Konzentrationen der Studienteilnehmer mit präoperativer Hypoxie erwartbar wäre.

In vorliegender Arbeit lag das maximale EG-Shedding gruppenübergreifend sowohl bei Normoxie als auch bei Hypoxie zum Zeitpunkt T2 vor. Anders als vor dem Hintergrund der o.g. *in vitro*-Studien erwartbar gewesen wäre, waren die Serumkonzentrationen von SDC-1 und HA bei Normoxie größer als die bei präoperativ hypoxischen Kindern (SDC-1: 195,05 vs. 80,95 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie), HA: 260,8 vs. 206,75 ng/ml (Normoxie vs. Hypoxie)), s. 3.3.1. Woher der Grund dieser Diskrepanz in der vorliegenden Studie zu den in der Literatur beschrieben Annahmen rührt, lässt sich nicht verifizieren. Allerdings muss dabei unbedingt beachtet werden, dass wegen der fehlenden Randomisierung der Gruppen zahlreiche Einflüsse

die Ergebnisse beeinflussen. Zudem kann aufgrund der kleinen Fallzahl nur das Gesamtkollektiv und nicht die einzelnen Gruppen betrachtet werden, was dazu führt, dass das Ergebnis durch andere Einflüsse stark verzerrt wird und somit keine eindeutige Aussage über den Einfluss der präoperativen Hypoxie auf das EG-Shedding getroffen werden kann.

Als ein weiterer Faktor soll die präoperative Gabe von HCS als möglicher protektiver Faktor auf das EG-Shedding untersucht werden. Da sich während der Durchführung dieser Arbeit der anästhesiologische Standard bzgl. der präoperativen HCS-Gabe bei Kindern mit angeborenen kardialen Anomalien geändert hat, kann hierzu in dieser Arbeit keine eindeutige Aussage getroffen werden. Insgesamt haben gruppenübergreifend 33 Studienteilnehmer kein HCS erhalten, 9 Patienten hingegen haben HCS erhalten. Die Verteilung der Kinder mit präoperativer HCS-Gabe ist sehr inhomogen, s. Tab. 3.3.

Es zeigt sich, dass tendenziell höhere SDC-1- / HA-Serumkonzentrationen nach HCS-Gabe gemessen wurden (SDC-1: 29,0 vs. 13,5 ng/ml/kg, HA: 45,1 vs. 29,0 ng/ml/kg (HCS vs. ohne HCS)). Da dies allerdings eine gruppenübergreifende Tendenz darstellt und andere wichtige Einflussfaktoren wie I/R nicht berücksichtigt werden, ist dieses Ergebnis rein deskriptiv.

In der Literatur wird HCS ein protektiver Effekt auf das EG-Shedding zugeschrieben. So konnte Chappell et al. [14] an isolierten Meerschweinchenherzen eine Abnahme des I/R-getriggerten EG-Sheddings EG durch prophylaktische HCS-Gabe erzielen. Dieser Effekt beruht vermutlich *in vitro* auf der Stabilisierung myokardialer Mastzellen durch das HCS [14].

Zudem zeigte eine *in-vitro*-Untersuchung von Cho et al. [17], dass der Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α) die Aktivität der Matrix-Metalloprotease 9 (MMP) steigert. Weitere Untersuchungen von Fitzgerald et al. [27] und Lipowsky [62] bestätigten, dass aktivierte MMP das Shedding der EG auslösen können. MMP gehören zu den sog. Zink-abhängigen Proteasen, die in der Gewebsdifferenzierung während des Knochenwachstums, in der Wundheilung, der Reproduktion, der Krebsentstehung, Entzündungsprozessen und kardiovaskulären Erkrankungen eine Rolle spielen [90]. Normalerweise werden MMP von ihren Gewebeinhibitoren gehemmt,

welche wie MMP auch HS und CS in der EG binden können [107]. Mulivor et al. [66] zeigten, dass die Aktivität der an der Oberfläche der Endothelzellen gelegenen MMP wesentlich verantwortlich für das EG-Shedding ist. Diese in situ Untersuchung wird durch weitere Studien gestützt [8,23,26,59]. Laut Lipowsky spielen sowohl membrangebundene als auch zytosolisch gelegene MMP eine wesentliche Rolle beim Shedding der EG [62]. Um ein Shedding der EG durch MMP zu vermeiden, ist es demnach wichtig, die Freisetzung von TNF- α zu reduzieren. Zudem steigert TNF- α nicht nur die Aktivität der MMP, sondern löst nach einer Untersuchung von Henry et al. [37] selbst ein Shedding der EG aus. TNF- α wird v. a. im Rahmen einer Sepsis freigesetzt. Dass ein septischer Prozess ähnlich wie eine I/R zu einem EG-Shedding führt, wird durch eine Studie von Hofmann-Kiefer et al. [39] deutlich. Sie zeigten, dass sich bei septischen Schweinen im Vergleich zu einer gesunden Vergleichsgruppe ein signifikanter Anstieg der HS-Konzentration im Plasma findet. Ähnliche Untersuchungsergebnisse erbrachten Untersuchungen von Chappell et al. [15] und Henry et al. [37].

Nach einer aktuellen Studie von Wiesinger et al. [106] existieren neben dem TNF- α weitere Mediatoren, die bei einer Sepsis vermehrt vorhanden sind, wie das o.g. LPS und Thrombin, welche zumindest ex vivo und in vitro eine Beschädigung der EG herbeiführen können.

In einer Studie von Sallisalmi et al. [82] zeigte sich in vivo darüber hinaus eine Korrelation zwischen der Plasmakonzentration von SDC-1 und der Aktivität der sog. vascular adhesion protein-1 (VAP-I). VAP-I wird in der Sepsis freigesetzt und ist hierbei mitverantwortlich für die Leukozytenadhäsion [83]. Dies legt die Vermutung nahe, dass das Shedding der EG einen septischen Prozess sogar noch weiter verstärken kann, was bisher allerdings noch nicht bestätigt werden konnte.

Weitere Untersuchungen von Nelson et al. [68] und Stepan et al. [91] ergaben, dass die Letalität eines SIRS bzw. einer Sepsis mit dem Ausmaß des Sheddings der EG korreliert.

Daraus lässt sich die Notwendigkeit ableiten, die EG während eines septischen Schocks zu schützen und entsprechende therapeutische Ansätze zu entwickeln.

Erste Erfolge konnten durch den prophylaktischen Einsatz von HCS und Antithrombin bei

drohender Sepsis erzielt werden. Grund hierfür ist ein präventiver Effekt auf das durch TNF- α induzierte EG-Shedding [12].

HCS reduziert die Wirkung von TNF- α , weshalb die Gabe von HCS eine wichtige Therapieoption bei einer Sepsis ist. Denn eine intakte EG kann Gewebsödemen und -hypoxie, Leukozyten- und Thrombozytenaggregation und somit einer weiteren Inflammation vorbeugen [12].

Eine neue Studie von Gao et al. [32] zeigte zudem, dass der protektive Effekt von HCS nicht nur an myokardialen Gefäßen gilt, sondern auch an Mesenterialgefäßen von Ratten das inflammatorisch-getriggerte EG-Shedding reduziert.

Des Weiteren belegte eine Studie von Cui et al. [21] an Rattenherzen, dass Dexamethason hemmend auf durch Lipopolysaccharide aktivierte MMP wirkt und zu einer vermehrten Bildung von SDC-1 führt. Dexamethason wirkt protektiv auf die EG während eines inflammatorischen Prozesses. Ein solcher Effekt wird auch Doxycyclin zugeschrieben [21].

Zukünftige in-vivo Studien sollten sich auf die klinische Wirkung von HCS konzentrieren, damit die HCS-Therapie ein wesentlicher Bestandteil zur Behandlung inflammatorischer Prozesse bleibt. Zudem sollte weiterhin erforscht werden, inwiefern HCS auch direkten Einfluss auf das I/R-getriggerte EG-Shedding hat.

Neben diesen Einflussfaktoren, die in dieser Arbeit aufgrund einer sehr kleinen Studiengröße nur in Grundzügen betrachtet werden konnten, müssen auch noch weitere Einflüsse mit berücksichtigt werden.

So ist z. B. eine vermehrte Ausschüttung von ANP, v. a. durch intravasale Hypervolämie, die sowohl in vitro als auch in vivo zu einem vermehrten EG-Shedding führt, zu beachten [5, 7].

Dass das bei Hypervolämie freigesetzte ANP Einfluss auf das EG-Shedding hat, untersuchten mehrere Arbeitsgruppen der Klinik für Anaesthesiologie der LMU an isoliert schlagenden Meer-schweinchenherzen (Langendorff-Modell) [5]. Hierbei zeigte sich, dass ANP in vitro zu einem schnellen Shedding verschiedener Bestandteile der EG führt und dass es zu einer Zunahme der vaskulären Permeabilität kommt. Ob die Permeabilitätserhöhung tatsächlich durch

ANP ausgelöstes Shedding der EG zustande kommt, blieb dabei offen [5]. In weiteren Untersuchungen konnte dieser Effekt des ANP bestätigt werden [49]. Darüber hinaus konnte in [49] gezeigt werden, dass auch die anderen natriuretischen Peptide, BNP und CNP, zu diesen Effekten führen und dass die intravasale ANP-Konzentration mit dem Ausmaß des EG-Sheddings positiv korreliert. Als ein möglicher Therapieansatz für Herzschwäche, Entzündungen und Sepsis wurde die Hemmung von MMP vorgeschlagen, da diese präventiv auf das ANP-getriggerte Shedding wirken [49].

Neben diesen beiden in vitro Studien zeigte die schon mehrfach erwähnte in vivo-Studie von Brügger et al. [7], dass es durch die vermehrte Ausschüttung von ANP, hier bei Patienten während einer koronaren Bypass-OP sowohl mit als auch ohne CPB, zu einem vermehrten Shedding der humanen EG kommt. Außerdem kam es während der Operationen in beiden Gruppen zu einem Anstieg verschiedener Zytokine, wie z. B. Interleukin-6 (IL-6), sodass auch diese im Zusammenhang mit dem EG-Shedding stehen könnten [7].

Bei Erwachsenen sollte aufgrund der obenstehenden Erkenntnisse auf eine bedarfsorientierte Flüssigkeitstherapie geachtet werden [52].

Ob es auch bei Kinder intraoperativ durch intravasale Hypervolämie zu einer vermehrten ANP-Freisetzung und damit einhergehendem EG-Shedding kommt, kann im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden. Gerade vor dem Gesichtspunkt einer intravenösen Volumentherapie in der Pädiatrie, sollten zukünftige Studien diesen Zusammenhang berücksichtigen, denn die intravasale Hypervolämie führt nicht nur zu einer Schädigung der EG, sondern zieht eine Erhöhung der vaskulären Permeabilität nach sich. So wird eine Flüssigkeitsverschiebung in das Interstitium begünstigt [13].

Weitere experimentelle Ansätze zur Reduktion des EG-Sheddings bestehen in der Gabe von Albumin. In einer Studie von Ueda et al. [96] konnte beobachtet werden, dass eine starke Schubspannung (3 Pa über 48 Stunden) die Albuminaufnahme in die EG beeinflusst. Weiterhin zeigte sich in einer Studie an isolierten Meerschweinchenherzen von Jacob et al. [47], dass Albumin mehr als künstlich hergestellte Kolloide einen Flüssigkeitsverlust aus den Gefäßen

verringern kann. Dabei ist der Flüssigkeitsverlust unabhängig vom KOD, was zur Schlussfolgerung führt, dass die präventive Wirkung des Albumins durch seine Interaktion mit dem ESL entsteht [47]. Albumin scheint also einen protektiven Effekt auf die EG zu nehmen und sollte in seiner Wirksamkeit v. a. bei Kindern zukünftig weiter untersucht werden.

Abschließend lässt sich sagen, dass die vorliegende Arbeit erste Hinweise dafür liefert, dass die EG von Kindern in ähnlicher Weise bei einem kardiochirurgischen Eingriff geschädigt werden kann wie bei Erwachsenen. Ausschlaggebend hierfür scheint die I/R zu sein, deren Ausmaß entscheidend für die Zerstörung der EG verantwortlich ist. Im Hinblick auf die Bedeutung der pädiatrischen Kardiochirurgie sollte zukünftig die Forschung über weitere Einflüsse auf das EG-Shedding sowie über protektive Faktoren vorangetrieben werden.

5 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es, das Shedding der EG in vivo während eines kardiochirurgischen Eingriffes in Abhängigkeit der I/R bei Kinder zu untersuchen. Hierzu wurden die Serumkonzentrationen von HA und SDC-1 zu vier verschiedenen Messzeitpunkten bestimmt.

Die EG bildet als zuckerreiche Zellschicht der Endothelzellen gemeinsam mit an sie gebundenen Plasmaproteinen den sog. ESL [13, 20]. Der ESL erfüllt eine Reihe physiologischer Aufgaben, wie z. B. Regulation der Permeabilität der Gefäßwände, Zelladhäsionen und Koagulation (Kap. 1.1.2). Bisherige experimentelle Untersuchung und in vivo-Studien bei Erwachsenen haben gezeigt, dass es durch I/R zu einem Shedding der EG kommt (Kap. 1.2). Bei Erwachsenen nahm mit zunehmender Dauer der I/R das EG-Shedding zu [7]. In der Arbeit von Bruegger et al. [7] wurden die höchsten SDC-1-Serumkonzentrationen nach der Ischämie zu Beginn der Reperfusion gemessen. In der vorliegenden Arbeit wurden die höchsten Serumkonzentrationen von SDC-1 und HA in der CPB+AC+DHCA-Gruppe mit globaler Ischämie gemessen. Die höchsten Serumkonzentration fanden sich ebenfalls nach der Ischämie zu Beginn der Reperfusion, s. a. Kap. 3.2. Es ist also von einer gleichen Ausgangslage bzgl. des I/R-getriggerten EG-Sheddings bei Erwachsenen und bei Kindern auszugehen.

Andere Einflussfaktoren auf das Shedding der EG wie HCS, präoperative Hypoxämie und tiefe intraoperative Hypothermie konnten in der vorliegenden Arbeit aufgrund der geringen Gruppengröße und prozedural bedingter Komponenten nur im Ansatz betrachtet werden (Kap. 3.3). Aufgrund der Bedeutung kardiochirurgischer Eingriffe in der Pädiatrie sollten diese Punkte in Zukunft weiterhin im Fokus der Forschung stehen.

Literaturverzeichnis

- [1] Allen B.L., Filla M.S., Rapraeger A.C. Role of heparan sulfate as a tissue-specific regulator of FGF-4 and FGF receptor recognition. *The journal of cell biology*, 155:845–858, 2001.
- [2] Annecke T., Fischer J., Hartmann H., Tschoep J., Rehm M., Conzen P., Sommerhoff C.P., Becker B.F. Shedding of the coronary endothelial glycocalyx: effects of hypoxia/reoxygenation vs ischaemia/reperfusion. *British journal of anaesthesia*, 107(5):679–686, 2011.
- [3] Annecke T., Rehm M., Bruegger D., Kubitz J.C., Kemming G.I., Stoekelhuber M., Becker B.F., Conzen P.F. Ischemia-reperfusion-induced unmeasured anion generation and glycocalyx shedding: sevoflurane versus propofol anesthesia. *Journal of Investigative Surgery*, 25(3):162–168, 2012.
- [4] Beresewicz A., Czarnowska E., Maczewski M. Ischemic preconditioning and superoxide dismutase protect against endothelial dysfunction and endothelium glycocalyx disruption in the postischemic guinea-pig hearts. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 186:87–97, 1998.
- [5] Bruegger D., Jacob M., Rehm M., Loetsch M., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 289(5):1993–1999, 2005.

- [6] Bruegger D., Rehm M., Jacob M., Chappell D., Stoeckelhuber M., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. Exogenous nitric oxide requires an endothelial glycocalyx to prevent post-ischemic coronary vascular leak in guinea pig hearts. *Critical Care*, 12(3), 2008.
- [7] Bruegger D., Schwartz L., Chappell D., Jacob M., Rehm M., Vogeser M., Christ F., Reichart B., Becker B.F. Release of atrial natriuretic peptide precedes shedding of the endothelial glycocalyx equally in patients undergoing on- and off-pump coronary artery bypass surgery. *Basic research in cardiology*, 106:1111–1121, 2011.
- [8] Brule S., Charnaux N., Sutton A., Ledoux D., Chaigneau T., Saffar L., Gattegno L. The shedding of syndecan-4 and syndecan-1 from HeLa cells and human primary macrophages is accelerated by SDF-1/CXCL12 and mediated by the matrix metalloproteinase-9. *Glycobiology*, 16:488–501, 2006.
- [9] Cabrales P, Vazquez BY, Tsai AG, Intaglietta M. Microvascular and capillary perfusion following glycocalyx degradation. *Journal of Applied Physiology*, 102:2251–2259, 2007.
- [10] Hofmann-Kiefer K. Rehm M. Welsch U. Conzen P. Becker B. F. Chappell D., Jacob M. Antithrombin reduces shedding of the endothelial glycocalyx following ischaemia/reperfusion. *Cardiovascular Research*, 83(2):78–89, 2009.
- [11] Chappell D., Heindl B., Jacob M., Annecke T., Chen C., Rehm M., Conzen P., Becker B.F. Sevoflurane reduces leukocyte and platelet adhesion after ischemia-reperfusion by protecting the endothelial glycocalyx. *Anaesthesiology*, 115(3):483–491, 2011.
- [12] Chappell D., Hofmann-Kiefer K., Jacob M., Rehm M., Briegel J., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. TNF-alpha induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic research in cardiology*, 104(1):78–89, 2009.
- [13] Chappell D., Jacob M., Becker B.F., Hofmann-Kiefer K., Conzen P., Rehm M. Expedition Glykokalyx. *Anaesthetist*, 57:959–969, 2008.

- [14] Chappell D., Jacob M., Hofmann-Kiefer K. et al. Hydrocortisone Preserves the Vascular Barrier by Protecting the Endothelial Glycocalyx. *Anesthesiology*, pages 776–784, 2007.
- [15] Chappell D., Westphal M., Jacob M. The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Current opinion in anaesthesiology*, 22(2):155–162, 2009.
- [16] Chen E.P., Bittner H.B., Davis R.D., Folz R.J., Van Trigt P. Extracellular superoxide dismutase transgene overexpression preserves postischemic myocardial function in isolated murine hearts. *Circulation*, 94(9 Suppl):412–417, 1996.
- [17] Cho A., Graves J., Reidy M. A. Mitogen-Activated Protein Kinases Mediate Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Vascular Smooth Muscle Cells. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20:2527–2532, 2000.
- [18] Colburn P., Kobayashi E., Buonassisi V. Depleted level of heparan sulfate proteoglycan in the extracellular matrix of endothelial cell cultures exposed to endotoxin. *Journal of Cellular Physiology*, 159:121–130, 1994.
- [19] Constantinescu A.A., Vink H., Spaan J.A. Endothelial cell glycocalyx modulates immobilization of leukocytes at the endothelial surface. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*, 23(9):1541–1547, 2003.
- [20] Cruz-Chu E.R., Malafeev A., Pajarskas T., Pivkin I.V., Koumoutsakos P. Structure and response to flow of the glycocalyx layer. *Biophys J*, 106(1):232–243, 2014.
- [21] Cui N., Wang H., Long Y., Su L., Liu D. Dexamethasone Suppressed LPS-Induced Matrix Metalloproteinase and Its Effect on Endothelial Glycocalyx Shedding. *Mediators of Inflammation.*, 2015.

- [22] Desjardins C., Duling B.R. Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. *American journal of physiology*, 258:647–654, 1990.
- [23] Ding K., Lopez-Burks M., Sanchez-Duran J.A., Korc M., Lander A.D. Growth factor-induced shedding of syndecan-1 confers glypican-1 dependence on mitogenic responses of cancer cells. 171:729–738, 2005.
- [24] Dittrich S., Ewert P., Lê T.-P., Schirmer K.S., Hörer J. *11 Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Ventrikelseptumdefekt*. 2010.
- [25] Kompetenznetz Angeborene Herzfehler e. V. Kompetenznetz Angeborene Herzfehler-Häufigkeit, 2016.
- [26] Endo K., Takino T., Miyamori H., Kinsen H., Yoshizaki T., Furukawa M., Sato H. Cleavage of syndecan-1 by membrane type matrix metalloproteinase-1 stimulates cell migration. *The Journal of Biological Chemistry*, 278:40764–40770, 2003.
- [27] Fitzgerald M.L., Wang Z., Park P.W., Murphy G., Bernfield M. Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase. *Journal of Cellular Physiology*, 148:811–824, 2000.
- [28] Florian J.A., Kosky J.R., Ainslie K., Pang Z., Dull R.O., Tarbell J.M. Heparan Sulfate Proteoglycan Is a Mechanosensor on Endothelial Cells. *Circulation Research*, 93:136–142, 2003.
- [29] Frances D. Lennon, Patrick A. Singleton. Hyaluronan regulation of vascular integrity. *Am J Cardivasc Dis*, 1(3):200–213, 2011.
- [30] FRASER J.R.E., LAURENT T.C., LAURENT U.B.G. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*, 242:27–33, 1997.

- [31] Fromm J.R., Hileman R.E., Weiler J.M., Linhardt R.J. Interaction of fibroblast growth factor-1 and related peptides with heparan sulfate and its oligosaccharides. *Archives of biochemistry and biophysics*, 346:252–262, 1997.
- [32] Zhang S.Y. Liang Z.Y. Yu W.Q. Liang T.B. Gao S.L., Zhang Y. The hydrocortisone protection of glycocalyx on the intestinal capillary endothelium during severe acute pancreatitis. *Shock* 2015 May;43(5):512-7, 43(5):512–517, 2015.
- [33] Gouverneur M., Spaan J.A.E., Pannekoek H., Fontijn R.D., Vink H. . Fluid shear stress stimulates incorporation of hyaluronan into endothelial cell glycocalyx. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 290:452–458, 2006.
- [34] Haas N. A., Jux Ch., Photiadis J., Kramer H.-H. *Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Hypoplastisches Linksherzsyndrom (HLHS)*. Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2013.
- [35] Hager A., Ovroutski S., Cesnjevar R. *Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Univentrikuläres Herz*. Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2011.
- [36] Henry C.B.S., Duling B.R. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 277:508–514, 1999.
- [37] Henry C.B.S, Duling B.R. TNF- α increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 279:2815–2823, 2000.
- [38] Hileman R.E., Fromm J.R., Weiler J.M., Linhardt R.J. Glycosaminoglycan-protein interactions: definition of consensus sites in glycosaminoglycan binding proteins. *BioEssays*, 20:156–167, 1998.

- [39] Hofmann-Kiefer K.F, Kemming G.I., Chappell D., Flondor M., Kisch-Wedel H., Hauser A., Pallivathukal S., Conzen P., Rehm M. Serum heparan sulfate levels are elevated in endotoxemia. *European journal of medical research*, 14:526–531, 2009.
- [40] Hofmann-Kiefer K.F, Knabl J., Martinoff N., Schiessl B., Conzen P., Rehm M., Becker B.F., Chappell D. Increased serum concentrations of circulating glycocalyx components in HELLP syndrome compared to healthy pregnancy: an observational study. *Reproductive Sciences*, 20(3):318–25, 2013.
- [41] Ihrcke N.S., Platt J.L. Shedding of heparan sulfate proteoglycan by stimulated endothelial cells: evidence for proteolysis of cell-surface molecules. *Journal of Cellular Physiology*, 168:625–637, 1996.
- [42] Ishiharajima S., Aida T., Nakagawa R., Kameyama K., Sugano K., Oguro T., Asano G. Early membrane damage during ischemia in rat heart. *Experimental and Molecular Pathology*, 44(1):1–6, 1986.
- [43] Itano N., Kimata K. Mammalian Hyaluronan Synthases. *IUBMB, Life*54:195–199, 2002.
- [44] Jackson R.L., Busch S.J., Cardin A.D. Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiological Reviews*, 71(2):481–539, 1991.
- [45] Mehringer L. Chappell D. Rehm M. Welsch U. Kaczmarek I. Conzen P. Becker B. F. Jacob M., Paul O. Albumin augmentation improves condition of guinea pig hearts after 4 hr of cold ischemia. *Transplantation*, 87(7):956–965, 2009.
- [46] Jacob M., Bruegger D., Rehm M., Stoeckelhuber M., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovascular Research*, 73:575–586, 2007.

- [47] Jacob M., Bruegger D., Rehm M., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability. *Anaesthesiology*, 104(6):1223–1231, 2006.
- [48] Jacob M., Rehm M., Loetsch M., Paul J.O., Bruegger D., Welsch U., Conzen P., Becker B.F. The Endothelial Glycocalyx Prefers Albumin for Evoking Shear Stress-Induced, Nitric Oxide-Mediated Coronary Dilatation. *J Vasc Res*, 44:435–443, 2007.
- [49] Jacob M., Saller T., Chappell D., Rehm M., Welsch U., Becker B.F. Physiological levels of A-, B- and C-type natriuretic peptide shed the endothelial glycocalyx and enhance vascular permeability. *Basic research in cardiology*, 108(3):347, 2013.
- [50] Jiang D., Liang J., Noble P.W. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiological Reviews*, 91:221–264, 2011.
- [51] Jux C., Vogel M., Scheewe J. *10 Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Vorhofseptumdefekt*. 2010.
- [52] Kamp-Jensen M., Olesen K.L., Bach V., Schütten H.J., Engquist A. Changes in serum electrolyte and atrial natriuretic peptide concentrations, acid-base and haemodynamic status after rapid infusion of isotonic saline and Ringer lactate solution in healthy volunteers. *British journal of anaesthesia*, 64(5):606–610, 1990.
- [53] Karl T.R. Tetralogy of Fallot: Current surgical perspective. *Annals of Pediatric Cardiology*, 1(2):93–100, 2008.
- [54] Kato H. Regulation of functions of vascular wall cells by tissue factor pathway inhibitor: basic and clinical aspects. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*, 22(4):539–548, 2002.
- [55] Knox P., Pflug J.J. The effect of the canine popliteal node on the composition of lymph. *Journal of Physiology*, 345:1–14, 1983.

- [56] Kokenyesi R., Bernfield M. Core Protein Structure and Sequence Determine the Site and Presence of Heparan Sulfate and Chondroitin Sulfate on Syndecan-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 269:12304–12309, 1994.
- [57] Kompetenznetz Angeborene Herzfehler. <http://www.kompetenznetz-ahf.de/kompetenznetz/>. gefunden am 21.08.2015.
- [58] Levick J.R. CAPILLARY FILTRATION-ABSORPTION BALANCE RECONSIDERED IN LIGHT OF DYNAMIC EXTRAVASCULAR FACTORS. *Experimental Physiology*, pages 825–857, 1991.
- [59] Li Q., Park P.W., Wilson C.L., Parks W.C. Matrilysin shedding of syndecan-1 regulates chemokine mobilization and transepithelial efflux of neutrophils in acute lung injury. *Cell*, 111:635–646, 2002.
- [60] Lin X. Functions of heparan sulfate proteoglycans in cell signaling during development. *Development*, 131:6009–6021, 2004.
- [61] Lindinger A., Haas N.A., Sachweh J. *Krankheitsbezeichnung: Atrioventrikulärer Septumdefekt (AVSD) im Kindes- und Jugendalter*. 2013.
- [62] Lipowsky H.H. The Endothelial Glycocalyx as a Barrier to Leukocyte Adhesion and Its Mediation by Extracellular Proteases. *Annals of Biomedical Engineering*, 40(4):840–848, 2012.
- [63] Marechal X1, Favory R, Joulin O, Moutaigne D, Hassoun S, Decoster B, Zerimech F, Neviere R. Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. *Shock*, 29(5):572–576, 2008.
- [64] Mochizuki S., Vink H., Hiramatsu O., Kajita T., Shigeto F., Spaan J.A.E., Kajiya F. Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide

- de release. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 285:722–726, 2003.
- [65] Mulivor A.W., Lipowsky H.H. Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 286:1672–1680, 2004.
- [66] Mulivor A.W., Lipowsky H.H. Inhibition of Glycan Shedding and Leukocyte-Endothelial Adhesion in Postcapillary Venules by Suppression of Matrixmetalloprotease Activity with Doxycycline. . *Microcirculation*, 16(8):657–666, 2009.
- [67] Nagy N., Freudenberger T., Melchior-Becker A., Röck K., ter Braak M., Jastrow H., Kinzig M., Lucke S., Suvorava T., Kojda G., Weber A.A., Sörgel F., Levkau B., Ergün S, Fischer J.W. Inhibition of Hyaluronan Synthesis Accelerates Murine Atherosclerosis. *Circulation*, 122:2313–2322, 2010.
- [68] Nelson A., Berkestedt I., Schmidtchen A., Ljunggren L., Bodelsson M. Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock*, 30(6):623–627, 2008.
- [69] Perrimon N., Bernfield M. Specificities of heparan sulphate proteoglycans in developmental processes. *Nature*, 404(6779):725–728, 2000.
- [70] Platt J.L., Dalmaso A.P., Lindman B.J., Ihrcke N.S., Bach F.H. The role of C5a and antibody in the release of heparan sulfate from endothelial cells. *European Journal of Immunology*, 21:2887–2890, 1991.
- [71] Gaehtgens P. Pries A.R., Neuhaus D. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol.*, 263:1770–1778, 1992.
- [72] Pries A.R., Kuebler W.M. Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol.*, (176 Pt 1):1–40, 2006.

- [73] Pries A.R., Secomb T.W. Rheology of the microcirculation. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 29:143–148, 2003.
- [74] Quin J.W., Shannon A.D. The influence of the lymph node on the protein concentration of efferent lymph leaving the node. *Journal of Physiology*, 264:307–321, 1977.
- [75] Rapraeger A. Transforming growth factor (type beta) promotes the addition of chondroitin sulfate chains to the cell surface proteoglycan (syndecan) of mouse mammary epithelia. *The Journal of Cell Biology*, 109:2509–2518, 1989.
- [76] Rehm M., Bruegger D., Christ F., Conzen P., Thiel M., Jacob M., Chappell D., Stoeckelhuber M., Welsch U., Reichart B., Peter K., Becker B.F. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation*, 116(17):1896–1906, 2007.
- [77] Rehm M., Zahler S., Lötsch M., Welsch U., Conzen P., Jacob M., Becker B.F. Endothelial Glycocalyx as an Additional Barrier Determining Extravasation of 6Coronary Vascular Bed. *Anesthesiology*, 100:1211–1223, 2004.
- [78] Reitsma S., Slaaf DW., Vink H., van Zandvoort AM, oude Egbrink MG. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch - Eur J Physiol*, pages 345–359, 2007.
- [79] Rickers C., Horke A., Paul T. *Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: D-Transposition der großen Arterien*. 2013.
- [80] Rubanyi G.M., Romero J.C., Vanhoutte P.M. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 250:1145–1149, 1986.

- [81] Rubio-Gayosso I., Platts S.H., Duling B.R. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 290:2247–2256, 2006.
- [82] Sallisalmi M., Tenhunen J., Yang R., Oksala N., Pettilä V. Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock. *Acta anaesthesiologica Scandinavia*, 56(3):316–322, 2012.
- [83] Salmi M1, Kalimo K, Jalkanen S. Induction and function of vascular adhesion protein-1 at sites of inflammation. *The journal of experimental medicine*, 178(6):2255–2260, 1993.
- [84] Schmaltz A.A., Bauer U., Baumgartner H., Cesnjevar R., de Haan F, Franke C., Gabriel H., Gohlke-Bärwolf C., Hagl S., Hess J., Hofbeck M., Kaemmerer H., Kallfelz H.C., Lange P.E. , Nock H., Oechslin E., Schirmer K.R., Tebbe U., Trigo Trindade P, Weyand M., Breithardt G. *Medizinische Leitlinie zur Behandlung von Erwachsenen mit angeborenen Herzfehlern (EMAH) der deutsch-österreichisch-schweizerischen kardiologischen Fachgesellschaften (Herausgegeben vom Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung e.V.)*. 2008.
- [85] Scott J.E., Heatley F. Hyaluronan forms specific stable tertiary structures in aqueous solution: A ¹³C NMR study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(9):4850–4855, 1999.
- [86] Seog J., Dean D., Rolaufts B., Wu T., Genzer J. et al. Nanomechanics of opposing glycosaminoglycan macromolecules. *Journal of Biomechanics*, 38:1789–1797, 2005.
- [87] Shafti-Keramat S., Handisurya A., Kriehuber E., Meneguzzi G., Slupetzky K., Kirnbauer R. Different Heparan Sulfate Proteoglycans Serve as Cellular Receptors for Human Papillomaviruses. *J. Virol.*, 77(24):13125–13135, 2003.
- [88] Shimada K., Kobayashi M., Kimura S., Nishinaga M., Takeuchi K., Ozawa T. Anticoagulant heparin-like glycosaminoglycans on endothelial cell surface. *Japanese circulation journal*, 55(10):1016–1021, 1991.

- [89] Makhanev A. A. Shul'man Z. P., Markova L. V. Rheological factor and Fahraeus-Lindqvist effect. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 68(3):353–363, 1995.
- [90] Spinale F.G. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiology Review*, 87:1285–1342, 2007.
- [91] Steppan J., Hofer S., Funke B., Brenner T., Henrich M., Martin E., Weitz J., Hofmann U., Weigand M.A. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *The journal of surgical research*, 165(1):136–141, 2011.
- [92] Subramanian S.V., Fitzgerald M.L., Bernfield M. Regulated shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains by thrombin and growth factor receptor activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 272:14713–14720, 1997.
- [93] Svennevig K., Hoel T., Thiara A., Kolset S., Castelheim A., Mollnes T., Brosstad F., Fosse E., Svennevig J. Syndecan-1 plasma levels during coronary artery bypass surgery with and without cardiopulmonary bypass. *Perfusion.*, 23(3):165–171, 2008.
- [94] Tkachenko E., Rhodes J.M., Simons M. Syndecans: new kids on the signaling block. *Circulation Research*, pages 488–500, 2005.
- [95] Tovar A.M., de Mattos D.A., Stelling M.P., Sarcinelli-Luz B.S., Nazareth R.A., Mourão P.A. Dermatan sulfate is the predominant antithrombotic glycosaminoglycan in vessel walls: implications for a possible physiological function of heparin cofactor II. *Biochimica et biophysica acta*, 1740(1):45–53, 2005.
- [96] Ueda A., Shimomura M., Ikeda M., Yamaguchi R., Tanishita K. Effect of glycocalyx on shear-dependent albumin uptake in endothelial cells. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 287:2287–2294, 2004.
- [97] van den Berg B.M, Spaan J.A.E., Rolf T.M., Vink H. . Atherogenic region and diet diminish glycocalyx dimension and increase intima-to-media ratios at murine carotid ar-

- tery bifurcation. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 290:915–920, 2006.
- [98] van Haaren P.M.A., VanBavel E., Vink H., Spaan J.A.E. . Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 285:2848–2856, 2003.
- [99] Vink H., Constantinescu A.A., Spaan J.A. Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation*, 101(13):1500–1502, 2000.
- [100] Vink H., Duling B.R. Identification of Distinct Luminal Domains for Macromolecules, Erythrocytes, and Leukocytes Within Mammalian Capillaries. *Circulation Research*, 79:581–589, 1996.
- [101] Donnelly J.L. Ward B.J. Hypoxia induced disruption of the cardiac endothelial glycocalyx: implications for capillary permeability. *Cardiovascular Research*, 27:384–389, 1993.
- [102] Webb G.D., Williams R.G. BETHESDA CONFERENCE REPORT 32nd Bethesda Conference:“Care of the Adult With Congenital Heart Disease”*. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(5):1161–1198, 2001.
- [103] Weil J., Bertram H., Sachweh J.S. *Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Fallot’sche Tetralogie*. Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie, 2013.
- [104] Weinbaum S. 1997 Whitaker Distinguished Lecture: Models to Solve Mysteries in Biomechanics at the Cellular Level; A New View of Fiber Matrix Layers. *Annals of Biomedical Engineering*, 26:627–643, 1998.
- [105] Weinbaum S., Tarbell J.M., Damiano E.R. The Structure and Function of the Endothelial Glykokalyx Layer. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 9:121–167, 2007.

LITERATURVERZEICHNIS

- [106] Wiesinger A., Peters W., Chappell D., Kentrup D., Reuter S., Pavenstädt H., Oberleithner H., Kämpers P. Nanomechanics of the Endothelial Glycocalyx in Experimental Sepsis. *PLoS One*, 8(11), 2013.
- [107] Yu W.H., Woessner J.F. Heparan sulfate proteoglycans as extracellular docking molecules for matrilysin (matrix metalloproteinase 7). *The Journal of Biological Chemistry*, 275:4183–4191, 2000.
- [108] Ziemer G., Heverich A. *Herzchirurgie- Die Eingriffe am Herzen und an den herznahen Gefäßen*. Springer-Verlag GmbH, 2009.

Danksagung

Mein Dank gilt im Besonderen Herrn Prof. Dr. Daniel Chappell sowie Herrn Dr. Florian Brettnner, die mich während der Studienphase und der Ergebnisauswertung in allen Belangen mit ihrem breiten Wissen und langjähriger Erfahrung auf diesem Gebiet jederzeit unterstützt haben.

Mein weiterer Dank gilt dem ganzen Team der Kardioanästhesie, v. a. Herrn Dr. Christian Kowalski, die mich in ihr Team aufgenommen und mir die Blutentnahmen allzeit ermöglicht haben. Zudem konnte ich in dieser Zeit viel über die Anästhesie und Kardiochirurgie lernen. Ebenso danke ich dem anästhesiologischen Forschungslabor, hier stellvertretend Frau Gaby Gröger für die Unterstützung und Durchführung der labortechnischen Untersuchungen.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau PD Dr. Katarzyna Januszewska aus der Kardiochirurgie und Frau Dr. Claudia Nussbaum aus der Pädiatrie dafür bedanken, dass sie geeignete Studienteilnehmer rekrutiert und die Einverständniserklärung durchgeführt haben.

Mein letzter Dank gilt meinen Eltern, die mich immer bedingungslos unterstützt haben, sowie meinem Ehemann Dominik, der mir während der Erstellung der vorliegenden Arbeit verständnisvoll und geduldig zur Seite stand.

Eidesstattliche Erklärung

Suckart, Isabel

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Akute Schädigung der endothelialen Glykokalyx bei Kindern während kardiochirurgischen Eingriffen

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 17. November 2017

Ort, Datum

Unterschrift