

Aus der

Universitätsklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie Tübingen

**Inflammation, oxidativer Stress und endotheliale
Dysfunktion bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Traub, Franziska

2022

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. P. Wendel
2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. F. Konrad

Tag der Disputation: 11.01.2022

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung	7
1.1 Herz-Lungen-Maschine und ECMO	8
1.1.1 Herz-Lungen-Maschine	8
1.1.2 ECMO	10
1.1.3 Vergleich	12
1.2 Pathophysiologie der extrakorporalen Zirkulation	13
1.2.1 Inflammation und oxidativer Stress	13
1.2.2 Endotheliale Dysfunktion	15
1.3 Untersuchung der Endothelfunktion	17
1.3.1 Bestimmung zirkulierender Marker	18
1.3.2 Untersuchung von Blutgefäßen ex vivo	18
1.3.3 Katheterverfahren	18
1.3.4 Venenverschlussplethysmografie	19
1.3.5 Fluss-medierte Dilatation	19
1.3.6 Periphere arterielle Tonometrie	19
1.3.7 Stellenwert nicht-invasiver Untersuchungsmethoden	20
1.4 Ziele der vorliegenden Arbeit	21
1.4.1 Fragestellung	22
2 Probanden und Methoden	23
2.1 Studienaufbau	23
2.2 Probanden	24
2.2.1 Bypass-Patienten	24
2.2.2 Gesunde Probanden	24
2.2.3 ECMO-Patienten	25
2.3 Interventionen	25
2.3.1 ONCAB	25
2.3.2 OPCAB	26
2.3.3 ECMO-Anlage	27

2.4	Untersuchung der Endothelfunktion _____	27
2.4.1	Endothel-abhängige Vasodilatation _____	28
2.5	Laborchemische Analysen _____	31
2.5.1	Gewinnung der Proben _____	31
2.5.2	Marker für Inflammation _____	32
2.5.3	Marker für oxidativen Stress _____	36
2.6	Klinische und demografische Daten _____	37
2.6.1	Bypass-Patienten _____	37
2.6.2	Gesunde Probanden _____	38
2.6.3	ECMO-Patienten _____	38
2.7	Statistische Auswertung _____	38
3	Ergebnisse _____	41
3.1	Probanden _____	41
3.1.1	Bypass-Patienten _____	41
3.1.2	Gesunde Probanden _____	42
3.1.3	ECMO-Patienten _____	42
3.2	Klinische und demografische Daten _____	43
3.2.1	Bypass-Patienten _____	43
3.2.2	Gesunde Probanden _____	45
3.2.3	ECMO-Patienten _____	46
3.3	Endothel-abhängige Vasodilatation _____	47
3.3.1	Bypass-Patienten und gesunde Probanden _____	47
3.3.2	ECMO-Patienten _____	48
3.4	Marker für Inflammation _____	49
3.4.1	Bypass-Patienten und gesunde Probanden _____	49
3.4.2	ECMO-Patienten _____	56
3.5	Marker für oxidativen Stress _____	60
3.5.1	Bypass-Patienten und gesunde Probanden _____	60
3.5.2	ECMO-Patienten _____	61
3.6	Korrelation _____	61
3.6.1	Bypass-Patienten _____	61
4	Diskussion _____	63

4.1	Diskussion der Ergebnisse	63
4.1.1	Endothelfunktion bei ONCAB und OPCAB	64
4.1.2	Inflammation bei ONCAB und OPCAB	65
4.1.3	Oxidativer Stress bei ONCAB und OPCAB	66
4.1.4	Korrelation bei ONCAB und OPCAB	66
4.1.5	Aspekte bei va-ECMO und vv-ECMO	67
4.2	Limitationen	68
4.3	Schlussfolgerungen	69
5	Zusammenfassung	71
6	Literaturverzeichnis	73
7	Erklärung zum Eigenanteil	82
	Danksagung	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Herz-Lungen-Maschine	9
Abbildung 2: ECMO-System.....	11
Abbildung 3: Untersuchungen im Rahmen der Studie.....	23
Abbildung 4: Versuchsaufbau beim EndoPAT-Test	29
Abbildung 5: EndoPAT-Signalkurve	30
Abbildung 6: Patientenfluss (ONCAB und OPCAB)	41
Abbildung 7: RHI (ONCAB und OPCAB).....	47
Abbildung 8: RHI (va-ECMO und vv-ECMO).....	48
Abbildung 9: Leukozyten (ONCAB und OPCAB).....	49
Abbildung 10: IL-6 (ONCAB und OPCAB).....	50
Abbildung 11: TNF- α (ONCAB und OPCAB).....	51
Abbildung 12: MCP-1 (ONCAB und OPCAB).....	52
Abbildung 13: SDF-1 α (ONCAB und OPCAB)	53
Abbildung 14: ICAM-1 (ONCAB und OPCAB).....	54
Abbildung 15: VCAM-1 (ONCAB und OPCAB)	55
Abbildung 16: Leukozyten (va-ECMO und vv-ECMO).....	56
Abbildung 17: IL-6 (va-ECMO und vv-ECMO).....	57
Abbildung 18: TNF- α (va-ECMO und vv-ECMO).....	57
Abbildung 19: MCP-1 (va-ECMO und vv-ECMO).....	58
Abbildung 20: SDF-1 α (va-ECMO und vv-ECMO).....	58
Abbildung 21: ICAM-1 (va-ECMO und vv-ECMO).....	59
Abbildung 22: VCAM-1 (va-ECMO und vv-ECMO)	59
Abbildung 23: MDA (ONCAB und OPCAB)	60
Abbildung 24: MDA (ONCAB und OPCAB)	61
Abbildung 25: Streudiagramm RHI und VCAM-1	62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Demografische Daten und Morbidität (ONCAB und OPCAB).....	43
Tabelle 2: Therapie und klinischer Verlauf (ONCAB und OPCAB).....	44
Tabelle 3: Demografische Daten, Morbidität, Therapie und klinischer Verlauf (va-ECMO und vv-ECMO).....	46

Abkürzungsverzeichnis

HLM	Herz-Lungen-Maschine
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
A.	Arteria
V.	Vena
ACT	Activated Clotting Time
Vv	Venovenös
Va	Venoarteriell
ECPR	Extrakorporale kardiopulmonale Reanimation
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
NO	Stickstoffmonoxid
ONCAB	On-Pump Coronary Artery Bypass
OPCAB	Off-Pump Coronary Artery Bypass
FMD	Fluss-medierte Dilatation
PAT	Periphere arterielle Tonometrie
IL-6	Interleukin 6
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
SDF-1 α	Stromal Cell Derived Factor 1 α
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
MDA	Malondialdehyd
RHI	Reactive Hyperemia Index
lnRHI	Natürlicher Logarithmus des RHI
nparLD	nonparametric Longitudinal Data
BMI	Body Mass Index
KHK	Koronare Herzkrankheit
CCS	Canadian Cardiovascular Society
NYHA	New York Heart Association
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
PCI	Perkutane Koronarintervention

ASS	Acetylsalicylsäure
P2Y ₁₂	Thrombozytärer Adenosindiphosphatrezeptor
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
BPZ	Bypasszeit
AKZ	Aortenklemmzeit
IMC	Intermediate Care
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome

1 Einleitung

Der Begriff „extrakorporale Zirkulation“ beschreibt einen Blutkreislauf außerhalb des Körpers. Mit seiner Hilfe kann die Funktion von Organen wie etwa des Herzens oder der Lunge vorübergehend durch medizinische Geräte ersetzt werden. Dies ist in verschiedenen Situationen notwendig.

Für Eingriffe am Herzen oder an großen Gefäßen muss der Herzschlag häufig unterbrochen werden. Damit der Körper in dieser Zeit weiterhin mit Sauerstoff versorgt wird, kommt eine Herz-Lungen-Maschine (HLM) zum Einsatz. Sie übernimmt während der Operation die Funktion von Herz und Lunge, indem sie venöses Blut aufnimmt, mit Sauerstoff anreichert und zurück in den Körper pumpt. Ein ähnliches Verfahren, die Extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO), wird in der Intensiv- und Notfallmedizin verwendet. Die ECMO unterstützt die Funktion des Herzens und / oder der Lunge bei schweren Erkrankungen, die zu einem Kreislaufschock, Lungenversagen oder Herzstillstand geführt haben.

In den vergangenen Jahren sind die globale Morbidität und Mortalität durch kardiovaskuläre Erkrankungen deutlich gestiegen. So wurden im Jahr 2016 weltweit über 17 Millionen Todesfälle registriert, die auf Herz- und Gefäßerkrankungen zurückzuführen sind. Im Vergleich zum Jahr 2006 entspricht dies einer Zunahme um 14,5% (Naghavi et al., 2017). Die Anzahl der Lebensjahre mit Krankheit erhöhte sich im gleichen Zeitraum um 29,4% auf mehr als 33 Millionen Jahre (Vos et al., 2017). Es ist wahrscheinlich, dass diese Entwicklung in Zukunft auch zu einem verstärkten Einsatz von Herz-Lungen-Maschine und ECMO führen wird.

Um die medizinische Versorgung der Patienten zu optimieren, muss die extrakorporale Zirkulation weiter untersucht werden. Denn neben ihrem Nutzen ist die Anwendung einer Herz-Lungen-Maschine oder ECMO auch mit Problemen verbunden. Der Kontakt des Blutes zu Fremdoberflächen, der bei den Verfahren auftritt, stellt für den Körper eine pathologische Situation dar. Es kommt zu einer Entzündungsreaktion, die verschiedene Gewebe schädigen und in ihrer Funktion beeinträchtigen kann. Neuere Erkenntnisse weisen darauf hin,

dass auch das Endothel hiervon betroffen ist (Angdin et al., 2001, Lanzarone et al., 2010, Schmid et al., 2006a, Schmid et al., 2006b, Ruel et al., 2005). Dies könnte eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Komplikationen spielen und sich auf die Prognose der Patienten auswirken.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, wie sich Herz-Lungen-Maschine und Extrakorporale Membranoxygenierung auf das Endothel auswirken. Der Fokus liegt dabei auf einer möglichen Beeinträchtigung der Endothelfunktion durch proinflammatorische Zytokine und reaktive Sauerstoffspezies, die im Rahmen der Entzündungsreaktion freigesetzt werden. Zur Beurteilung des Endothels wurde das Endo-PAT-System (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) eingesetzt, welches eine nicht-invasive Untersuchung der Endothelfunktion ermöglicht (Patvardhan et al., 2010).

1.1 Herz-Lungen-Maschine und ECMO

Zunächst werden Aufbau und Funktion der Herz-Lungen-Maschine und der ECMO erläutert.

1.1.1 Herz-Lungen-Maschine

Die Herz-Lungen-Maschine ersetzt während einer Operation kurzzeitig die Funktion des Herzens und der Lunge. Dem Patienten wird kontinuierlich venöses Blut entnommen, außerhalb des Körpers oxygeniert und decarboxyliert und über die Aorta wieder in den Körperkreislauf gepumpt. So kann auch bei Herzstillstand und fehlender Atmung die Sauerstoffversorgung im Gewebe gewährleistet werden. Dies ist bei verschiedenen Eingriffen notwendig, die nur am ruhenden Herzen durchgeführt werden können oder bei denen Herzhöhlen oder große Gefäße eröffnet werden. Dazu gehören Koronararterienbypässe, Herzklappenersatz und -Rekonstruktion, Korrektur von Herzfehlern, Herz- und Lungentransplantation sowie Eingriffe an der Aorta ascendens.

Aktuell werden in Deutschland über 70.000 Operationen pro Jahr unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine durchgeführt (Beckmann et al., 2020).

Abbildung 1 zeigt den Aufbau einer modernen Herz-Lungen-Maschine. Die wichtigsten Bestandteile der Herz-Lungen-Maschine sind Kanülen und

Schläuche, ein venöses Reservoir, ein Membranoxygenator, Wärmetauscher und mehreren Pumpen.

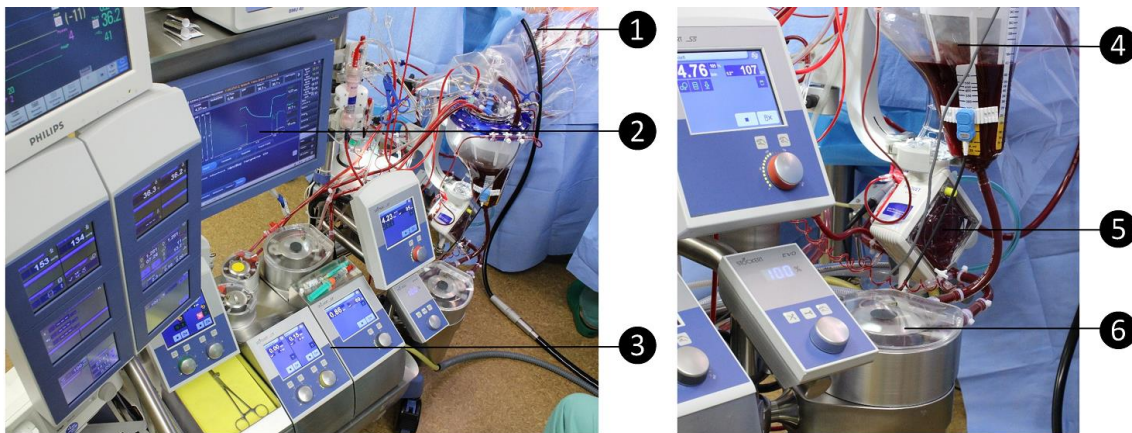


Abbildung 1: Herz-Lungen-Maschine

Mit freundlicher Genehmigung von Walter Jost, Universitätsklinikum Tübingen, Kardiotechnik. Übersicht (links) und Details (rechts). 1 = Schlauchsystem, 2 = Monitor, 3 = Steuereinheit, 4 = venöses Reservoir, 5 = Membranoxygenator mit Wärmetauscher, 6 = Pumpe

Je nach Operation wird eine venöse Kanüle in den Vv. cavae superior und inferior oder im rechten Vorhof platziert. Von dort strömt das Blut passiv über Schläuche in ein venöses Reservoir. Auch abgesaugtes Blut aus dem Operationsgebiet, zum Beispiel aus den Ventrikeln oder der Perikardhöhle, wird in das Reservoir eingespeist. Das Blut wird nun von einer Rollerpumpe beschleunigt, sodass ein kontinuierlicher, nicht-pulsatiler Fluss entsteht. Seltener werden Pumpen verwendet, die einen pulsatilen Fluss erzeugen können. Im Oxygenator erfolgt der Gasaustausch. Das Blut strömt über eine großflächige, semipermeable Membran, die auf der anderen Seite mit Frischgas umspült wird. Dabei diffundiert Sauerstoff entlang des Partialdruckgradienten aus der Gasphase ins Blut und Kohlenstoffdioxid aus dem Blut in die Gasphase. Ein integrierter Wärmetauscher gleicht Wärmeverluste aus und reguliert die Temperatur. Über weitere Schläuche und eine arterielle Kanüle in der Aorta wird das oxygenierte Blut schließlich zurück in den Körperkreislauf gepumpt. Filter und Detektoren im Schlauchsystem stellen sicher, dass keine größeren Thromben, Luftblasen oder andere Partikel mit eingeschwemmt werden.

Währenddessen wird die Funktion der Herz-Lungen-Maschine engmaschig überwacht und angepasst. Dazu werden wichtige Parameter wie das

Minutenvolumen, der arterielle Blutdruck und die Körpertemperatur auf Monitoren angezeigt. Blutgassensoren im venösen und arteriellen Schenkel der Herz-Lungen-Maschinen messen den Sauerstoffpartialdruck, Kohlenstoffdioxid-Partialdruck und pH-Wert und ermöglichen so eine Beurteilung des Gasaustauschs. Zentralvenöse Sauerstoffsättigung und Laktatwert geben Aufschluss über die Kreislaufsituation.

Um die Entstehung von Thromben zu verhindern, wird vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation eine Antikoagulation mit Heparin eingeleitet und im Verlauf regelmäßig anhand der Activated Clotting Time (ACT) kontrolliert. Sobald der Patient nicht mehr an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen ist, kann die Heparinisierung mit Protamin aufgehoben werden.

1.1.2 ECMO

Die Extrakorporale Membranoxygenierung wird in der intensivmedizinischen Therapie des Lungenversagens und des kardiogenen Schocks eingesetzt. Das ECMO-System entlastet Herz und / oder Lunge und kann so die Zeit bis zur Wiederherstellung der Organfunktion, der Implantation eines permanenten Unterstützungssystems oder einer Transplantation überbrücken. Je nachdem, ob nur die Lungenfunktion oder auch die kardiale Funktion unterstützt werden soll, unterscheidet man zwischen venovenöser (vv-) und venoarterieller (va-) ECMO.

Eine Sonderform der va-ECMO ist die Extrakorporale kardiopulmonale Reanimation (ECPR), die bei Patienten mit Herzstillstand eingesetzt wird. Hier ersetzt das System die manuelle Thoraxkompression und erhält den Kreislauf aufrecht. Die ECPR kann durch spezialisierte Teams auch bei präklinischen Notfällen eingesetzt werden (Hutin et al., 2018).

Insgesamt wurde die Extrakorporale Membranoxygenierung in den vergangenen Jahren häufiger eingesetzt. Vor allem die Fallzahlen der va-ECMO haben zugenommen. Sie stiegen in Deutschland zwischen 2007 und 2014 von 96 auf über 2800 Fälle pro Jahr an. Mit einer vv-ECMO wurden im Jahr 2014 mehr als 1900 Patienten behandelt (Karagiannidis et al., 2016).

Wie Abbildung 2 zeigt, gleicht das ECMO-System in Aufbau und Funktion einer vereinfachten Herz-Lungen-Maschine. Es besteht aus Kanülen und Schläuchen, einem Membranoxygenator, einem Wärmetauscher und einer Pumpe. Mit ihnen wird kontinuierlich venöses Blut aus dem Körper entnommen, oxygeniert und decarboxyliert und wieder in das Gefäßsystem gepumpt.

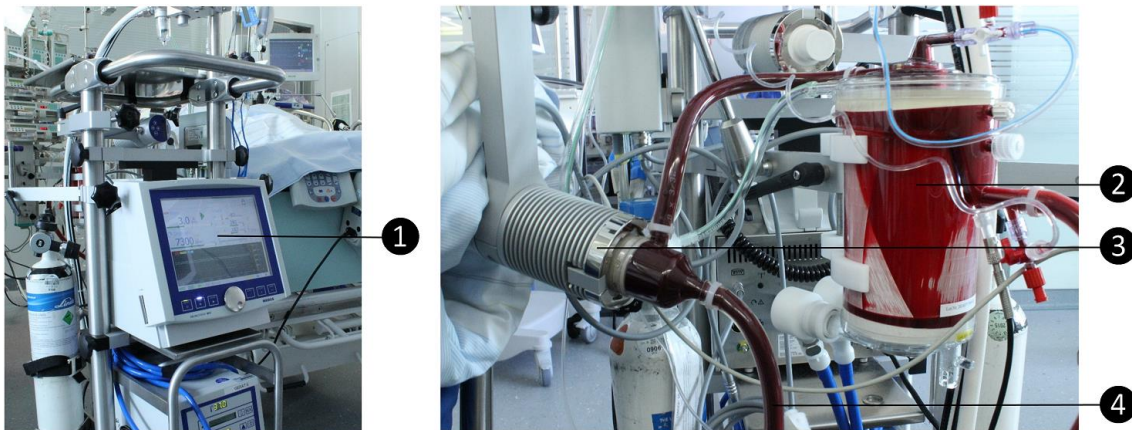


Abbildung 2: ECMO-System

Mit freundlicher Genehmigung von Walter Jost, Universitätsklinikum Tübingen, Kardiotechnik. Übersicht (links) und Details (rechts). 1 = Monitor und Steuereinheit, 2 = Membranoxygenator mit Wärmetauscher, 3 = Pumpe, 4 = Schlauchsystem

Bei der vv-ECMO wird das Blut über die V. femoralis aus der V. cava inferior entnommen und über die V. jugularis in die V. cava superior zurückgegeben. Das Herz pumpt das oxygenierte Blut ohne Unterstützung durch den Lungenkreislauf und den Körperkreislauf. Das ECMO-System übernimmt nur die Funktion der Lunge, den Gasaustausch. Die kardiale Funktion des Patienten muss daher erhalten sein. Im Gegensatz dazu wird bei der va-ECMO auch die Pumpfunktion des Herzens durch das Gerät unterstützt. Hier wird die Rückgabekanüle über die A. femoralis oder A. subclavia eingebracht, sodass das oxygenierte Blut ins arterielle Gefäßsystem gepumpt wird. Das ECMO-System kann das benötigte Minutenvolumen teilweise oder auch vollständig aufbringen. So wird der Kreislauf aufrechterhalten und das Herz entlastet.

Die Funktion des Systems wird engmaschig kontrolliert und es erfolgt, teils abhängig vom individuellen Blutungs- und Thromboserisiko des Patienten, eine Antikoagulation mit Heparin.

1.1.3 Vergleich

Herz-Lungen-Maschine und ECMO zeigen große Ähnlichkeiten in Aufbau und Funktion. Doch es gibt auch einige Unterschiede zwischen den beiden Systemen. Die Herz-Lungen-Maschine hebt sich unter anderem durch

- Eine kürzere Anwendungsdauer
- Das chirurgische Trauma durch die Operation
- Die eingeschränkte Durchblutung von Herz und Lunge
- Einen kontinuierlichen, nicht-pulsatilen Blutfluss und
- Das Patientenkollektiv

von der ECMO ab. Die Herz-Lungen-Maschine wird typischerweise nur für wenige Stunden bei einer Operation verwendet, die ECMO hingegen über mehrere Tage bis Wochen. Weiterhin entsteht bei herzchirurgischen Eingriffen, bei denen der Thorax eröffnet wird, ein Gewebeschaden. Ein solches chirurgisches Trauma tritt bei der ECMO-Therapie nicht auf. Die Durchblutung von Herz und Lunge ist bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine eingeschränkt, da diese Organe weitgehend aus dem Kreislauf ausgeschlossen sind. Dies kann zu Ischämie-Reperfusion-Schäden führen. Im Gegensatz dazu wird die Durchblutung von Herz und Lunge bei der ECMO-Therapie nicht unterbrochen. Auch der Blutfluss unterscheidet sich zwischen den Verfahren. Bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine ist er aufgrund des intraoperativen Herzstillstands in der Regel kontinuierlich. Eine Herz-Lungen-Maschine mit pulsatilem Fluss wird nur selten verwendet. Patienten mit ECMO hingegen zeigen aufgrund der verbliebenen Pumpfunktion einen teilweise pulsatilen Blutfluss, auch wenn das ECMO-System einen kontinuierlichen Fluss erzeugt. Schließlich gibt es relevante Unterschiede zwischen den Patientenkollektiven. Patienten, bei denen eine Operation mit Herz-Lungen-Maschine durchgeführt wird, weisen in der Mehrzahl eine chronische Erkrankung auf. Im Gegensatz dazu sind Patienten mit ECMO akut durch ein Lungenversagen oder einen kardiogenen Schock bedroht und in kritischem Zustand (Millar et al., 2016).

Diese Unterschiede wirken sich möglicherweise auch auf pathophysiologische Vorgänge bei der Anwendung von Herz-Lungen-Maschine und ECMO aus.

1.2 Pathophysiologie der extrakorporalen Zirkulation

Wie bereits beschrieben wird bei der extrakorporalen Zirkulation ein Kreislauf außerhalb des Körpers hergestellt. Dabei kommt Blut in Kontakt mit Biomaterialien wie etwa Schläuchen, Filtern und Oxygenator. Dies hat verschiedene Folgen. Die Fremdoberflächen verursachen eine Hämolyse, aktivieren die Blutgerinnung und lösen zusammen mit anderen Faktoren eine Entzündungsreaktion aus.

Im Folgenden wird beschrieben, wie es bei der extrakorporalen Zirkulation zu Inflammation und oxidativem Stress kommen kann. Anschließend wird auf die Auswirkungen auf das Endothel eingegangen.

1.2.1 Inflammation und oxidativer Stress

Operationen mit Herz-Lungen-Maschine führen zu einer komplexen Entzündungsreaktion. Diese wird in erster Linie durch das angeborene Immunsystem vermittelt. Das Komplementsystem wird in Gang gesetzt, Monozyten und neutrophile Granulozyten werden aktiviert und große Mengen proinflammatorischer Zytokine und Sauerstoffradikale freigesetzt. Daneben tragen auch Gerinnungsfaktoren, Thrombozyten und Endothelzellen zur Inflammation bei (Paparella et al., 2002). In der Folge entwickeln bis zu 58% der Patienten postoperativ ein Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), das sich in einer veränderten Körpertemperatur, Tachykardie, Atmungsstörung und auffälligen Leukozytenzahlen äußert (Dieleman et al., 2017).

Ausgelöst wird diese Entzündungsreaktion durch mehrere Faktoren. Dazu gehören neben dem Kontakt zu Fremdoberflächen (Edmunds, 1993) auch das chirurgische Trauma (Gu et al., 1999), Ischämie-Reperfusion-Schäden an Myokard und Lunge (Zahler et al., 1999, Massoudy et al., 2001) und ins Blut aufgenommene Endotoxine (Jansen et al., 1992).

Welchen Beitrag die einzelnen Faktoren zu der beobachteten Entzündungsreaktion leisten, ist schwer abzuschätzen. Die extrakorporale Zirkulation scheint jedoch eine wichtige Rolle zu spielen. Mehrere klinische Studien haben gezeigt, dass bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine

signifikant höhere Entzündungsparameter messbar sind als bei solchen ohne Herz-Lungen-Maschine. Unter anderem wurden höhere Konzentrationen von Komplementfaktoren und Zytokinen, eine stärkere Expression von Adhäsionsmolekülen und eine vermehrte Freisetzung der von neutrophilen Granulozyten gebildeten Elastase bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine nachgewiesen. Auch Marker für oxidativen Stress waren bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine signifikant höher. In einer systematischen Übersichtsarbeit kommen Raja et al. daher zu dem Schluss, dass bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine insgesamt eine stärkere Inflammation auftritt (2007).

Die Extrakorporale Membranoxygenierung ist ebenfalls mit einer systemischen Entzündungsreaktion verbunden. Bei Kindern haben Graulich et al., Hirthler et al. und Fortenberry et al. zu Beginn der ECMO-Therapie einen signifikanten Anstieg von Komplementfaktoren, Zytokinen und Sauerstoffradikalen sowie eine Aktivierung von neutrophilen Granulozyten nachgewiesen (Graulich et al., 2002, Hirthler et al., 1992, Fortenberry et al., 1996). Für Erwachsene liegen nur wenige Daten vor. Eine klinische Studie von Burrell et al. spricht jedoch dafür, dass die Entzündungsreaktion in dieser Altersgruppe stark durch die zugrunde liegende Erkrankung beeinflusst wird. Hier fiel die Konzentration verschiedener Zytokine in den ersten Tagen der ECMO-Therapie ab (2017).

Wie die Ursachen der Inflammation sind auch ihre Auswirkungen vielfältig. Verschiedene Organe, beispielsweise die Lunge und die Nieren, können durch die Entzündung geschädigt werden. Die Einwanderung neutrophiler Granulozyten und die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies durch Respiratory Burst gelten dabei als besonders kritische Schritte (Tonz et al., 1995, Partrick et al., 1999). In der Lunge kann die Entzündungsreaktion Ödeme und alveoläre Infiltrate hervorrufen, die den Gasaustausch behindern (Wasowicz et al., 1999). Bei einer Schädigung der Nieren wird die Ausscheidungsfunktion beeinträchtigt (Rinder et al., 2003).

Im nächsten Abschnitt wird erläutert, wie sich Inflammation und oxidativer Stress auf das Endothel auswirken.

1.2.2 Endotheliale Dysfunktion

Das Endothel bildet die innerste Schicht eines Blutgefäßes. Im gesunden Zustand erfüllt es mehrere Funktionen: Es grenzt Intravasalraum und Gewebe voneinander ab, interagiert mit Leukozyten und Thrombozyten und ist an der Regulation des Gefäßtonus beteiligt. Hierfür sezerniert es vasoaktive Substanzen wie Stickstoffmonoxid (NO), Prostacyclin und Endothelin. NO wirkt vasodilatativ, das heißt es relaxiert die glatte Muskulatur und führt zu einer Gefäßerweiterung. Dieser Vorgang wird als Endothel-abhängige Vasodilatation bezeichnet. Daneben beeinflusst es auch die Bindungseigenschaften des Endothels, sodass die Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten reduziert wird (De Caterina et al., 1995, Radomski et al., 1987). Ein Mangel an Stickstoffmonoxid führt zu einer Vasokonstriktion und erleichtert die Entstehung von Thromben, wodurch es zu einer Minderperfusion des Gewebes kommen kann.

In verschiedenen Zuständen ist die NO-Produktion des Endothels vermindert. Dies wird als endotheliale Dysfunktion bezeichnet. Eine solche Störung tritt bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie der Arteriellen Hypertonie (Vanhoutte, 1996), Koronaren Herzkrankheit (Kinlay und Ganz, 1997) und Herzinsuffizienz (Bauersachs und Widder, 2008) auf, aber auch bei metabolischen Störungen wie Diabetes mellitus (De Vriese et al., 2000) und Hypercholesterinämie (Hermida und Balligand, 2014) sowie beim Rauchen (Messner und Bernhard, 2014). Neuere Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine endotheliale Dysfunktion auch bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation vorliegt.

Hingorani et al. haben gezeigt, dass eine akute Inflammation die Endothel-abhängige Vasodilatation signifikant reduziert (2000). Dies kann unter anderem auf freigesetzte Zytokine und Sauerstoffradikale zurückgeführt werden. Zhang et al. haben festgestellt, dass proinflammatorische Zytokine die Expression der endothelialen NO-Synthase hemmen, was dazu führt, dass weniger Stickstoffmonoxid gebildet wird (1997). Parallel kann es zu einer Hochregulierung der induzierbaren NO-Synthase in glatter Muskulatur kommen, die im Gegensatz zur endothelialen NO-Synthase jedoch keine protektive Funktion für das Kreislaufsystem besitzt (MacNaul und Hutchinson, 1993). Zusätzlich

beeinträchtigen reaktive Sauerstoffspezies die Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid. Das vom Endothel gebildete NO wird durch ihre Einwirkung schneller inaktiviert und es kann zu einer Entkopplung der NO-Synthese kommen (Karbach et al., 2014). Dass eine Entzündungsreaktion sich so auswirkt, legt nahe, dass die Endothelfunktion auch durch die Inflammation bei der extrakorporalen Zirkulation beeinträchtigt wird.

In mehreren Tierversuchen mit simulierter Herz-Lungen-Maschine konnte eine endotheliale Dysfunktion bereits nachgewiesen werden. Beispielsweise haben Park et al. gezeigt, dass die Expression der endothelialen NO-Synthase bei Schweinen nach extrakorporaler Zirkulation signifikant abnimmt (1999). Eine Beeinträchtigung der Endothel-abhängigen Vasodilatation wurde in Gefäßen des Herzens (Sellke et al., 1993b), der Lunge (Kirshbom et al., 1996) und anderer Organe beobachtet (Wagerle et al., 1998, Doguet et al., 2004, Stamler et al., 1997). Durch eine Leukozyten-Depletion (Schmidt et al., 1996) sowie die Gabe von Anti-C5a-Antikörpern (Tofukuji et al., 1998, Park et al., 1999), Antioxidanten (Sellke et al., 1993a, Morita et al., 1996) und Tetrahydrobiopterin, einem wichtigen Kofaktor bei der NO-Synthese (Szabo et al., 2011), konnte die Endothelfunktion stabilisiert werden. Darüber hinaus haben Nakano et al. gezeigt, dass ein pulsatiler Fluss die NO-Produktion im Vergleich zum kontinuierlichen Fluss steigert und mit einem geringeren Gefäßwiderstand assoziiert ist (2000).

Klinische Studien gibt es indes nur wenige. Angdin et al. haben Patienten mit verschiedenen Operationsverfahren in der Koronararterienchirurgie untersucht und gezeigt, dass die Endothel-abhängige Vasodilatation in der Lunge nach einer konventionellen Bypassoperation mit Herz-Lungen-Maschine (On-Pump Coronary Artery Bypass, ONCAB) signifikant beeinträchtigt ist. Während eine Infusion von Acetylcholin den pulmonalen Gefäßwiderstand präoperativ um 25% senkte, wurden postoperativ nur noch 6% erreicht. Bei Patienten, die ohne Herz-Lungen-Maschine operiert wurden (Off-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB), war die Endothel-abhängige Vasodilatation besser erhalten (2001). Im Gegensatz dazu fanden Johansson-Synnergren et al. an peripheren Gefäßen der Arme keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit ONCAB und

OPCAB. Sie haben die Endothel-abhängige Vasodilatation ausschließlich postoperativ untersucht, sodass Veränderungen innerhalb der Gruppen nicht beurteilt werden konnten (2004). In einer Arbeit von Lanzarone et al. wurde die endotheliale NO-Produktion bei herzchirurgischen Patienten anhand der Konzentration von Metaboliten wie Nitrit und Nitrat beurteilt. Dabei führten Eingriffe mit Herz-Lungen-Maschine zu einem signifikanten Abfall der NO-Bioverfügbarkeit, der bei Eingriffen ohne Herz-Lungen-Maschine nicht auftrat (2010). Vermeulen et al. haben gezeigt, dass vom Endothel gebildetes NO bei Patienten mit Herz-Lungen-Maschine vermehrt durch Hämoglobin inaktiviert wird, das bei der Hämolyse von Erythrozyten anfällt (2014). Dies könnte neben einer gestörten NO-Synthese zusätzlich zum Mangel an Stickstoffmonoxid beitragen.

Neben der Endothelfunktion scheint auch die Vitalität des Endothels bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation beeinträchtigt zu sein. Aebert et al. haben gezeigt, dass kultivierte Endothelzellen, die mit Serum von Patienten mit Herz-Lungen-Maschine inkubiert werden, vermehrt in Apoptose gehen (2000). Schmid et al. haben bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine einen Anstieg zirkulierender Endothelzellen im Blut nachgewiesen. Dies wird von den Autoren auf eine Schädigung des Endothels in vivo zurückgeführt (2006a). In einer weiteren Studie haben Schmid et al. Patienten mit ONCAB und OPCAB verglichen und konnten in der ONCAB-Gruppe signifikant mehr zirkulierende Endothelzellen und eine stärkere proapoptotische Wirkung des Serums auf kultivierte Endothelzellen feststellen (2006b). Ruel et al. fanden weiterhin eine beeinträchtigte Funktion und Vitalität endothelialer Progenitorzellen (2005). Auch hier stellen Zytokine und Sauerstoffradikale, die im Rahmen der Entzündungsreaktion freigesetzt werden, eine mögliche Ursache dar.

1.3 Untersuchung der Endothelfunktion

Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Methoden zur Untersuchung der Endothelfunktion entwickelt. Die folgenden Verfahren werden verwendet, um die NO-Produktion des Endothels und die Endothel-abhängige Vasodilatation zu beurteilen.

1.3.1 Bestimmung zirkulierender Marker

Bei der Metabolisierung von Stickstoffmonoxid fallen verschiedene Produkte an. Ein Beispiel hierfür ist Nitrit. Diese Produkte zirkulieren im Blut und können durch laborchemische Untersuchungen quantifiziert werden. Ihre Konzentration spiegelt die NO-Bioverfügbarkeit wider und kann als Marker für die Endothelfunktion genutzt werden (Dejam et al., 2004).

1.3.2 Untersuchung von Blutgefäßen ex vivo

In Laborversuchen werden präparierte Abschnitte von Blutgefäßen untersucht. Es werden vor allem Gefäße von Tieren verwendet. Diese werden zunächst mit einem Katecholamin umspült, um eine Vasokonstriktion zu erreichen. Dann wird ein Endothel-abhängiger Vasodilatator wie beispielsweise Acetylcholin appliziert, der die Freisetzung von NO aus dem Endothel stimuliert. Es kommt zu einer Endothel-abhängigen Vasodilatation, die anhand der Zunahme des Gefäßdurchmessers beurteilt werden kann (Stamler et al., 1997).

1.3.3 Katheterverfahren

Die Endothelfunktion der Herzkranzgefäße kann mithilfe einer Koronarangiografie untersucht werden. Dazu wird ein Katheter über die Aorta bis in die Koronararterien vorgeschoben und Kontrastmittel injiziert, sodass die Gefäße im Röntgen darstellbar sind. Mit Acetylcholin oder einer anderen Substanz wird eine Endothel-abhängige Vasodilatation ausgelöst. Die Zunahme des Gefäßdurchmessers kann angiografisch ermittelt werden (Vita et al., 1990).

Eine Katheter-gestützte Untersuchungsmethode ist auch für Gefäße der Lunge beschrieben. Hier wird ein Pulmonalarterienkatheter über eine zentrale Vene eingeführt und mit dem Blutstrom über den rechten Vorhof und Ventrikel in die A. pulmonalis eingeschwenkt. Es werden verschiedene Drücke gemessen, mit denen der pulmonale Gefäßwiderstand berechnet werden kann. Anschließend wird ein Endothel-abhängiger Vasodilatator appliziert und die Messungen werden wiederholt. Die Abnahme des Gefäßwiderstandes kann als Maß für die erfolgte Vasodilatation verwendet werden (Conraads et al., 1994).

1.3.4 Venenverschlussplethysmografie

Die Endothel-abhängige Vasodilatation peripherer Gefäße kann mit der Venenverschlussplethysmografie beurteilt werden. Bei diesem Verfahren wird der venöse Abfluss eines Unterarms unterbunden und der Umfang des Arms plethysmografisch gemessen. Da das venöse Blut nicht abfließt, führt der pulsatile arterielle Einstrom zu einer Umfangszunahme. Diese ist umso ausgeprägter, je höher der arterielle Blutfluss ist. Eine Vasodilatation äußert sich daher in einem Anstieg des plethysmografischen Signals. Typischerweise wird die Gefäßerweiterung auch bei diesem Verfahren durch die intraarterielle Injektion von Acetylcholin oder einem anderen Endothel-abhängigen Vasodilatator ausgelöst. Zusätzlich kann eine Endothel-unabhängiger Vasodilatator wie Nitroprussid gegeben werden, der kein NO aus dem Endothel freisetzt, sondern direkt an der glatten Muskulatur wirkt. Dies ermöglicht eine Differenzierung zwischen Veränderungen der Endothelfunktion und der Sensitivität der Gefäßmuskulatur (Wilkinson und Webb, 2001).

1.3.5 Fluss-medierte Dilatation

Die Fluss-medierte Dilatation (FMD) beschreibt eine Gefäßerweiterung infolge einer kurzzeitigen Ischämie. Diese entsteht durch eine Zunahme der Scherkräfte am Endothel bei der Wiederherstellung des Blutflusses und wird durch NO vermittelt. Zur Bestimmung der FMD wird die Durchblutung einer Extremität für wenige Minuten unterbrochen, meist mithilfe einer Blutdruckmanschette, die auf Werte oberhalb des systolischen Blutdrucks aufgepumpt wird. Vor und nach der Unterbrechung wird eine Arterie der Extremität duplexsonographisch dargestellt und vermessen. Die Zunahme des Gefäßdurchmessers wird berechnet und als absoluter und relativer Wert angegeben (Thijssen et al., 2011).

1.3.6 Periphere arterielle Tonometrie

Eine weitere, nicht-invasive Methode zur Beurteilung der Endothel-abhängigen Vasodilatation ist die Periphere arterielle Tonometrie (PAT, Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel). Hier wird der Gefäßtonus anhand des Pulsvolumens beurteilt. Für die Untersuchung werden plethysmografische Sensoren an den Fingern des Probanden angebracht. Sie registrieren periodische Volumenschwankungen, die

durch den pulsatilen Blutfluss entstehen. Die Amplitude des plethysmografischen Signals ist umso größer, je höher der Blutfluss in der Extremität ist. Wenn sich die Blutgefäße erweitern, führt dies zu einem Signalanstieg. Auch bei diesem Verfahren wird die Endothel-abhängige Vasodilatation durch eine kurzzeitige Ischämie ausgelöst. Wie bei der FMD wird der Blutfluss in einem Arm mithilfe einer Manschette für wenige Minuten unterbrochen. Die Wiederherstellung des Blutflusses erzeugt Scherkräfte am Endothel und führt zu einer NO-vermittelten Gefäßerweiterung.

Das digitale Pulsvolumen wird sowohl in Ruhe als auch nach Unterbrechung des Blutflusses aufgezeichnet. Der relative Anstieg des plethysmografischen Signals wird ermittelt und als Maß für die Vasodilatation angegeben. Zusätzlich kann der Wert auf die Gegenseite normiert werden, um systemische Veränderungen auszuschließen. Hierfür werden beide Arme simultan untersucht. Auf einer Seite wird eine Endothel-abhängige Vasodilatation ausgelöst, die andere Seite dient als Kontrolle (Patvardhan et al., 2010).

1.3.7 Stellenwert nicht-invasiver Untersuchungsmethoden

Katheterverfahren wie die Koronarangiografie gelten als Goldstandard in der Diagnostik einer endothelialen Dysfunktion. Bei ihrer Durchführung können jedoch verschiedene Komplikationen auftreten. Hierzu gehören allergische Reaktionen, Kontrastmittel-induzierte Nierenschädigung, Verletzung von Blutgefäßen mit nachfolgendem Hämatom oder einer Dissektion der Gefäßwand, Herzrhythmusstörungen, Thrombosen und Embolien (Tavakol et al., 2012). Daher sollte die Indikation zu einem solchen Verfahren nur gestellt werden, wenn der erwartete Nutzen die Risiken überwiegt.

Seit einigen Jahren werden zur Untersuchung der Endothelfunktion zunehmend auch nicht-invasive Untersuchungsmethoden eingesetzt. Diese können aufgrund des geringen Komplikationspotentials breiter eingesetzt werden, beispielsweise auch bei gesunden Probanden, bei denen eine invasive Untersuchung nicht indiziert ist. Studien belegen, dass sowohl die Fluss-medierte Dilatation als auch die Periphere arterielle Tonometrie geeignet sind, um eine endotheliale Dysfunktion nachzuweisen. Die Ergebnisse beider Untersuchungsmethoden

zeigen große Übereinstimmungen mit denen einer Koronarangiografie (Broxterman et al., 2019, Bonetti et al., 2004). Zusätzlich ist die nicht-invasive Untersuchung der Endothelfunktion auch in der Lage, zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse vorherzusagen (Ras et al., 2013, Rubinshtein et al., 2010).

1.4 Ziele der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit soll neue Erkenntnisse über die extrakorporale Zirkulation und ihren Auswirkungen auf den Körper liefern. Dabei konzentriert sie sich auf eine mögliche Störung der Endothelfunktion im Zusammenhang mit Inflammation und oxidativem Stress bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine und bei der ECMO-Therapie.

Der aktuelle Stand der Forschung wurde in den vorhergehenden Kapiteln bereits beschrieben. Die Entzündungsreaktion, die bei der extrakorporalen Zirkulation auftritt, wurde vielfach untersucht und ist gut dokumentiert. Auch Hinweise auf eine funktionelle und strukturelle Schädigung des Endothels liegen bereits vor. In Tierversuchen und ersten klinischen Studien konnte nach Operationen mit Herz-Lungen-Maschine eine endotheliale Dysfunktion nachgewiesen werden, es gibt jedoch auch gegensätzliche Ergebnisse. Bei Patienten mit ECMO-Therapie wurde die Endothelfunktion nach unserer Kenntnis bisher nicht untersucht.

Zahlreiche Fragen sind daher noch offen. Es ist unklar, wie häufig eine endotheliale Dysfunktion bei der extrakorporalen Zirkulation auftritt, wann sich diese im zeitlichen Verlauf manifestiert und welche Unterschiede zwischen Herz-Lungen-Maschine und ECMO bestehen. Wir wissen nicht, wie genau das Endothel bei der extrakorporalen Zirkulation geschädigt wird, welche Rolle Inflammation und oxidativer Stress spielen und welche anderen Faktoren möglicherweise zur Schädigung beitragen. Auch ob eine endotheliale Dysfunktion zu Komplikationen beiträgt und wie sie die Prognose der Patienten beeinflusst, ist nicht bekannt.

Gleichzeitig stehen neue Methoden wie beispielsweise die Periphere arterielle Tonometrie zur Verfügung, mit denen die Endothelfunktion nicht-invasiv

untersucht werden kann. Dies ermöglicht einen Einsatz in größeren Studien und möglicherweise auch in der regulären Versorgung der Patienten.

Die Erkenntnisse aus unserer Studie sollen dazu beitragen, die Pathophysiologie der extrakorporalen Zirkulation besser zu verstehen. Dies bildet eine Grundlage für neue diagnostische und therapeutische Entwicklungen.

In Zukunft könnte die Endothelfunktion zum Beispiel als prognostischer Marker bei der ECMO-Therapie dienen und Therapieentscheidungen erleichtern. Diese Anwendungsmöglichkeit wurde bereits an anderen Patientenkollektiven untersucht. Duffy et al. haben gezeigt, dass eine Störung der Endothelabhängige Vasodilatation bei Patienten auf Intensivstation mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (2011). Dies spricht dafür, dass die Endothelfunktion auch bei ECMO-Patienten einen Einfluss auf die Prognose haben könnte.

Zusätzlich stellt das Endothel ein potenzielles Ziel für neue Therapieansätze dar. Seine Funktion bei der Regulation des Gefäßtonus kann möglicherweise therapeutisch genutzt werden. So ist es denkbar, dass durch eine Stabilisierung der Endothelfunktion eine bessere Durchblutung wichtiger Organe bei der ECMO-Therapie und bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine erreicht werden könnte.

Um derartige Anwendungen zu ermöglichen, müssen zunächst grundlegende Daten erhoben werden, die das Zusammenspiel zwischen Inflammation, oxidativem Stress und endothelialer Dysfunktion bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation näher beleuchten.

1.4.1 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden,

- Wie sich die extrakorporale Zirkulation auf die Endothelfunktion auswirkt
- Wie sie die Konzentration von Markern für Inflammation und oxidativen Stress beeinflusst und
- Ob eine Korrelation zwischen Markern für Inflammation und oxidativen Stress und der Endothelfunktion besteht.

2 Probanden und Methoden

In diesem Kapitel folgt eine methodische Beschreibung der Studie.

2.1 Studienaufbau

Die hier präsentierte Studie wurde nach Genehmigung durch die zuständige Ethikkommission (Nr. 851/2017BO2) im Zeitraum von Februar 2018 bis April 2019 am Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt. Es handelt sich um eine mehrarmige, prospektive Beobachtungsstudie. Untersucht wurden drei Gruppen mit extrakorporaler Zirkulation und zwei Vergleichsgruppen ohne extrakorporale Zirkulation. Diese bestanden aus:

- Patienten mit konventioneller Bypassoperation (ONCAB-Gruppe)
- Patienten mit Bypassoperation ohne HLM (OPCAB-Gruppe)
- Gesunden Probanden (Kontrollgruppe)
- Patienten mit venoarterieller ECMO-Therapie (va-ECMO-Gruppe) und
- Patienten mit venovenöser ECMO-Therapie (vv-ECMO-Gruppe).

Abbildung 3 gibt einen Überblick über den Ablauf der Studie.

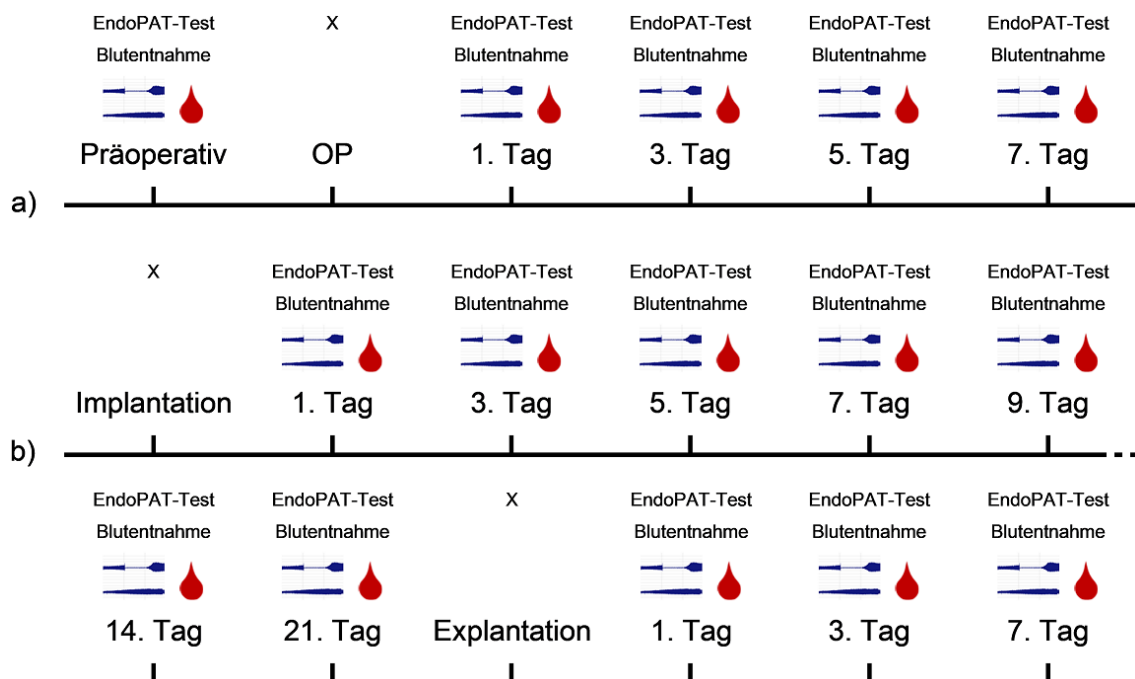


Abbildung 3: Untersuchungen im Rahmen der Studie

Bypass-Patienten (a) und ECMO-Patienten (b). X = Keine Untersuchung, OP = Operation

Bypass-Patienten wurden präoperativ und mehrmals nach der Operation untersucht, ECMO-Patienten mehrmals nach Implantation und Explantation des Systems. Bei gesunden Probanden wurde nur eine Untersuchung durchgeführt. Jede Untersuchung bestand aus einem EndoPAT-Test zur Beurteilung der Endothel-abhängigen Vasodilatation und einer Blutentnahme. Weitere Informationen wurden der elektronischen Patientenakte entnommen.

Auf die Auswahl der Probanden, die einzelnen Untersuchungsschritte und die statistische Auswertung wird im Folgenden näher eingegangen.

2.2 Probanden

Für die Aufnahme in die Studie wurden bestimmte Ein- und Ausschlusskriterien definiert, die von den Probanden erfüllt werden mussten.

2.2.1 Bypass-Patienten

In die ONCAB-Gruppe und die OPCAB-Gruppe wurden erwachsene Patienten mit geplanter, elektiver oder dringlicher Koronarer Bypassoperation eingeschlossen. Da das Operationsverfahren durch die behandelnden Ärzte festgelegt wurde, erfolgte die endgültige Zuordnung zu einer der beiden Gruppen erst postoperativ. Patienten, die eine Bypassoperation mit Herz-Lungen-Maschine erhielten, wurden in die ONCAB-Gruppe aufgenommen, Patienten, die eine Operation ohne Herz-Lungen-Maschine erhielten, in die OPCAB-Gruppe. Minimalinvasive Eingriffe oder Kombinationseingriffe, beispielsweise mit Klapperersatz oder -Rekonstruktion, führten zum Ausschluss.

2.2.2 Gesunde Probanden

In die Kontrollgruppe wurden gesunde Probanden mit einem Alter von mindestens 18 Jahren eingeschlossen. Eine leichtgradige arterielle Hypertonie mit systolischen Werten $< 160\text{mmHg}$ und diastolischen Werten $< 100\text{mmHg}$ wurde toleriert, Ausschlusskriterien waren eine mittel- oder hochgradige arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Koronare Herzkrankheit und sonstige chronische Erkrankungen.

2.2.3 ECMO-Patienten

In die va-ECMO-Gruppe und die vv-ECMO-Gruppe wurden erwachsene Patienten mit venoarterieller bzw. venovenöser Extrakorporaler Membranoxygenierung eingeschlossen. Bei beiden Gruppen war eine geplante Therapiedauer von mindestens 3 Tagen Voraussetzung. Die Implantation anderer Unterstützungssysteme, wie einer intraaortalen Ballonpumpe oder einer Mikroaxialpumpe im Herzen (zum Beispiel Impella, Abiomed Europe GmbH, Aachen Deutschland) stellte ein Ausschlusskriterium dar.

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte durch persönliche Ansprache während des stationären Krankenhausaufenthalts am Universitätsklinikum Tübingen. Bei fehlender Einwilligungsfähigkeit wurde ein Gespräch mit dem gesetzlichen Vertreter des Patienten geführt. Vor Einschluss in die Studie wurde das informierte Einverständnis der Studienteilnehmer oder das ihrer gesetzlichen Vertreter eingeholt.

2.3 Interventionen

Alle Patienten wurden gemäß den geltenden medizinischen Standards behandelt. Die Indikation zur Bypassoperation oder zur ECMO-Anlage wurde von den behandelnden Ärzten gestellt und ebenso wie die Wahl des Verfahrens und die weitere Therapie nicht durch die Studienteilnahme beeinflusst.

Im Folgenden wird der Ablauf der jeweiligen Interventionen kurz beschrieben.

2.3.1 ONCAB

Die konventionelle Bypassoperation wird unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine in Kardioplegie, d.h. am ruhenden Herzen, durchgeführt.

Der Eingriff erfolgt in Vollnarkose am intubierten und beatmeten Patienten. Zunächst wird das Operationsgebiet desinfiziert und steril abgedeckt. Der Thorax wird über eine mediane Sternotomie eröffnet. Als Bypassgefäße können die linke und rechte A. mammaria, die A. radialis, die V. saphena magna oder V. saphena parva verwendet werden. Die Gefäße werden präpariert und für die Anastomosierung vorbereitet. Dann wird das Perikard inzidiert und mit Haltenähten fixiert.

Nach Heparin-Gabe werden der rechte Vorhof und die Aorta ascendens kanüliert und an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen. Die extrakorporale Zirkulation beginnt. Die Aorta ascendens wird abgeklemmt und es wird kardioplegische Lösung infundiert, sodass es zum Herzstillstand kommt. In Kardioplegie werden die Bypassgefäße an die Koronararterien und gegebenenfalls an die Aorta anastomosiert. Alle verwendeten Gefäße werden auf Dichtheit und eine ausreichende Flussrate kontrolliert.

Sobald die Anlage der Bypässe abgeschlossen ist, wird die Aortenklemme entfernt. Der Herzschlag beginnt spontan oder wird falls notwendig durch eine Defibrillation wiederhergestellt. Im rechten Vorhof und Ventrikel werden passagere Schrittmacherelektroden angebracht. Myokard und Lunge werden reperfundiert und die extrakorporale Zirkulation wird, teilweise unterstützt durch kreislaufwirksame Medikamente, schrittweise beendet. Die venöse und arterielle Kanüle werden nacheinander entfernt und die Heparinisierung wird durch Protamin-Gabe aufgehoben.

Zur Ableitung von Wundsekret werden Drainagen in Pleura und Mediastinum eingebracht. Schließlich wird der Thorax schichtweise mit Drahtcerclagen und Nähten verschlossen und ein steriler Verband angelegt.

2.3.2 OPCAB

Beim OPCAB-Verfahren wird die Operation ohne Herz-Lungen-Maschine am schlagenden Herzen durchgeführt.

Die Vorbereitung des Patienten entspricht der beim konventionellen Operationsverfahren. Der Thorax wird desinfiziert, steril abgedeckt und über eine mediane Sternotomie eröffnet. Anschließend werden die linke A. mammaria und gegebenenfalls weitere Bypassgefäße vorbereitet. Das Perikard wird inzisiert und hochgenäht und es werden passagere Schrittmacherelektroden im rechten Vorhof und Ventrikel platziert. Es folgt eine Heparin-Gabe.

Dann wird das Herz unter hämodynamischem Monitoring und angepasster Katecholamintherapie aus dem Perikard luxiert. An der Vorder-, Hinter- oder Seitenwand wird ein Stabilisator angebracht, der den jeweiligen Wandabschnitt

des Herzens ruhigstellt. So können die Bypassgefäße am schlagenden Herzen an die Koronararterien anastomosiert werden. Nach Anlage und Funktionskontrolle der Bypässe wird die Heparinisierung mit Protamin aufgehoben.

Wie beim konventionellen Verfahren werden Drainagen in Pleura und Mediastinum eingebracht, der Thorax wird verschlossen und mit einem sterilen Verband abgedeckt.

2.3.3 ECMO-Anlage

Die Implantation einer ECMO wird auf der Intensivstation oder im Operationssaal durchgeführt. Je nach Situation ist der Patient sediert oder in Vollnarkose.

Soll nur die Lungenfunktion unterstützt werden, wird eine vv-ECMO angelegt. Hierzu werden nach sterilem Abwaschen die V. femoralis und V. jugularis interna punktiert. In Seldinger-Technik werden Kanülen eingebracht und bis in die V. cava inferior und superior vorgeschoben.

Ist eine Unterstützung der kardialen Funktion notwendig, wird eine va-ECMO implantiert. Diese unterscheidet sich von der bereits beschriebenen Form durch die Kanülierung einer Vene und einer Arterie, in der Regel der V. femoralis und der A. femoralis. Die A. subclavia kann ebenfalls kanüliert werden, hier ist jedoch die operative Anlage einer Prothese für die Armperfusion notwendig. Eine weitere Möglichkeit im Rahmen eines herzchirurgischen Eingriffs ist die zentrale Kanülierung des rechten Vorhofs und der Aorta ascendens, ähnlich wie bei einer Herz-Lungen-Maschine.

Sobald die Kanülen platziert sind, wird das Schlauchsystem mit Elektrolytlösung geprimt und angeschlossen. Die extrakorporale Zirkulation beginnt.

Um eine Dislokation zu vermeiden, werden die Kanülen an der Punktionsstelle fixiert und mit einem sterilen Verband abgedeckt.

2.4 Untersuchung der Endothelfunktion

Vor und nach den Interventionen wurde die Endothelfunktion der Probanden regelmäßig untersucht.

2.4.1 Endothel-abhängige Vasodilatation

Das Endothel setzt als Antwort auf verschiedene Reize Vasodilatoren wie Stickstoffmonoxid frei und vermittelt so eine Endothel-abhängige Vasodilatation. Diese kann durch mehrere Verfahren beurteilt werden, die in Kapitel 1.3 thematisiert wurden.

2.4.1.1 Prinzip des EndoPAT-Tests

Der von uns verwendete EndoPAT-Test (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) basiert auf dem Prinzip der Peripheren arteriellen Tonometrie. Wie bereits beschrieben wird das Pulsvolumen der Finger bei dieser Methode mithilfe von plethysmografischen Sensoren aufgezeichnet. Während der Messung wird der Blutfluss in einem Arm für wenige Minuten unterbrochen. Die Wiederherstellung des Blutflusses löst eine NO-vermittelte Vasodilatation aus, die mit einem Signalanstieg einhergeht. Der Reactive Hyperemia Index (RHI) spiegelt das Verhältnis der Signale bei reaktiver Hyperämie und in Ruhe wider und dient als Maß für die Vasodilatation (Patvardhan et al., 2010).

Der EndoPAT-Test bietet mehrere Vorteile. Die Vasodilatation wird durch einen physiologischen Reiz, die auf das Endothel wirkenden Scherkräfte, ausgelöst. Es ist keine intraarterielle Injektion von Medikamenten notwendig. Auch die Messung des digitalen Pulsvolumens ist nicht-invasiv. Zusätzlich ist der Test aufgrund einer automatisierten Analyse nicht untersucherabhängig.

Der EndoPAT-Test wurde bereits in zahlreichen klinischen Studien verwendet. Für den RHI und seinen natürlichen Logarithmus, den lnRHI, wurden je nach Studienpopulation verschiedene Grenzwerte publiziert. In einer Studie von Bonetti et al. konnten Patienten mit koronarer Endotheldysfunktion anhand eines RHI unter 1.35 identifiziert werden (2004). Rubinshtein et al. haben gezeigt, dass ein lnRHI unter 0.40 (entsprechend RHI unter 1.49) bei Patienten mit unklarem Thoraxschmerz mit zukünftigen kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist (2010). Patienten mit Herzinsuffizienz hatten in einer Studie von Matsue et al. eine schlechtere Prognose, wenn ihr lnRHI unter 0.49 (entsprechend RHI unter 1.63) lag (2013).

2.4.1.2 Versuchsprotokoll

Der Endo-PAT-Test wurde gemäß Herstellerinformationen mit dem EndoPAT2000 (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) und der zugehörigen Software (Version 3.7.2, Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) durchgeführt.

Der Versuchsaufbau bei der Untersuchung ist in Abbildung 4 dargestellt.



Abbildung 4: Versuchsaufbau beim EndoPAT-Test

Nicht-invasive-Untersuchung der Endothel-abhängigen Vasodilatation mittels EndoPAT (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel). Probandin mit plethysmografischen Fingersensoren und Blutdruckmanschette, Unterarme zur Vermeidung von Artefakten auf Stützen gelagert

Vor jedem Test wurde der aktuelle Blutdruck der Probanden erhoben. Bei Patienten mit arteriellem Gefäßzugang wurde die invasive Blutdruckmessung benutzt, ansonsten wurde der Blutdruck auskultatorisch gemessen. Um eine Verfälschung des EndoPAT-Testergebnisses zu vermeiden, wurde die Blutdruckmessung an dem im Test nicht okkludierten Arm und mit ausreichendem Zeitabstand von mindestens 5 min durchgeführt.

Für den EndoPAT-Test wurde die Blutdruckmanschette bevorzugt am linken Oberarm platziert. Wenn dies nicht möglich war (zum Beispiel aufgrund von arteriellen Gefäßzugängen oder nach Entnahme eines Gefäßes bei der

Bypassoperation), wurde die rechte Seite verwendet. Die plethysmografischen Fingersensoren wurden an beiden Zeigefingern der Probanden angebracht und fixiert. Der Membrandruck in den Sensoren wurde durch das EndoPAT-System blutdruckabhängig reguliert. Um Artefakte zu vermeiden, wurden beide Unterarme auf Stützen oder Kissen gelagert, sodass die Sensoren keinen Kontakt zur Unterlage hatten. Die Probanden wurden gebeten, während der gesamten Untersuchung ruhig liegen zu bleiben und insbesondere die Hände nicht zu bewegen.

Nach einer Überprüfung der Signalqualität wurde die Aufzeichnung begonnen. Jeder Test bestand aus einer 5-minütigen Messung im Ruhezustand (Baseline), einer 5-minütigen Unterbrechung des Blutflusses in einem Arm (Okklusion) und einer 5-minütigen Messung bei reaktiver Hyperämie (Dilatation). Abbildung 5 zeigt beispielhaft die EndoPAT-Signalkurve eines gesunden Probanden.

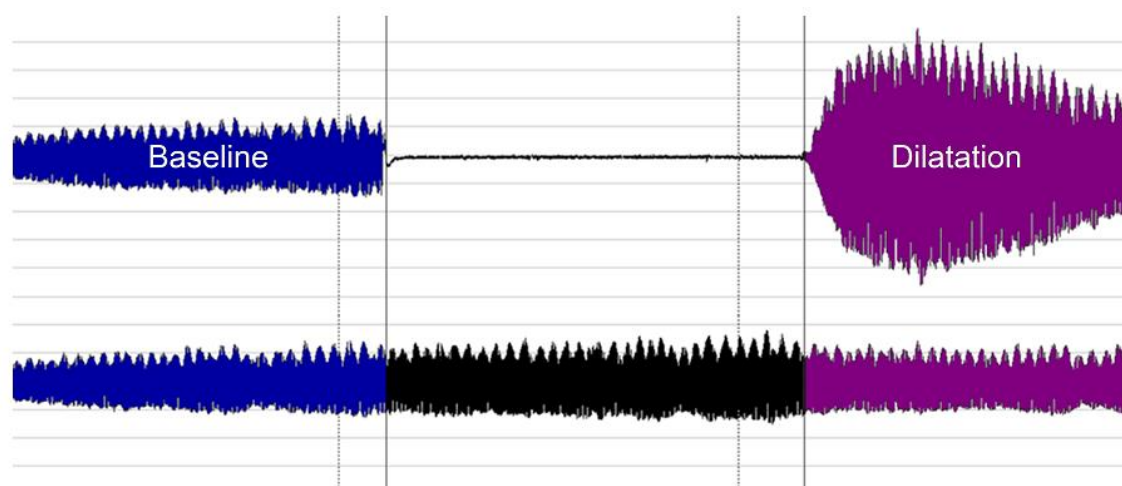


Abbildung 5: EndoPAT-Signalkurve

Beispiel eines EndoPAT-Tests (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) bei einem gesunden Probanden. Signal des untersuchten Arms mit Baseline, Okklusion und Dilatation (oben), Signal der Gegenseite als Kontrolle (unten)

Zu Beginn der Okklusionsphase wurde die Blutdruckmanschette auf 60 mmHg über dem systolischen Blutdruck, mindestens jedoch auf 200 mmHg, aufgepumpt. Während der gesamten Phase wurde sichergestellt, dass der Druck in der Blutdruckmanschette ausreichend hoch bleibt und dass im Signal des okkludierten Arms keine Pulswellen auftauchen. Nach Ablauf von 5 min wurde der Druck in der Blutdruckmanschette zügig wieder abgelassen. Das

plethysmografische Signal der Fingersensoren wurde während Baseline-, Okklusions- und Dilatationsphase kontinuierlich erfasst.

Die aufgezeichneten Signalkurven wurden mithilfe der EndoPAT™2000 Software automatisch analysiert. Nur wenn eine automatische Analyse aufgrund eingeschränkter Signalqualität nicht möglich war, wurden Beginn und Ende der Okklusionsphase manuell festgelegt. Bei der Analyse wurde der RHI automatisch als Verhältnis zwischen Dilatation und Baseline des okkludierten Arms berechnet und auf das Signal des Kontrollarms normiert.

2.5 Laborchemische Analysen

Laborchemische Marker für Inflammation und oxidativen Stress wurden zu mehreren Zeitpunkten im Blut der Probanden bestimmt.

2.5.1 Gewinnung der Proben

Die Blutentnahme erfolgte, soweit vorhanden, aus arteriellen oder zentralvenösen Gefäßzugängen. Bei Probanden ohne Gefäßzugang wurde eine periphere Vene in der Ellenbeuge, am Unterarm oder am Handrücken mit einer sterilen 21G-Kanüle punktiert (Safety-Multifly-Kanüle, SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland). Jede Blutprobe umfasste eine 9 ml K3EDTA-Monovette, eine 10ml Citrat-Monovette und eine 7,5 ml Serum-Monovette mit Gerinnungsaktivator (S-Monovetten, SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland).

Alle Proben wurden so rasch wie möglich, spätestens jedoch innerhalb von 4 Stunden nach Abnahme weiterverarbeitet.

Aus der K3EDTA-Monovette wurden 200µl Vollblut in ein 1,5ml Eppendorf-Cup abpipettiert. Mithilfe eines vollautomatischen Analysegeräts (ABX Micros 60, HORIBA ABX SAS, Montpellier, Frankreich) wurden die Anzahl der Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten, die Hämoglobinkonzentration und der Hämatokrit bestimmt.

Die K3EDTA-Monovetten wurden bei +4° C und 2000g für 20min zentrifugiert. Citrat- und Serum-Monovetten wurden bei +22° C und 1800g für 18min

zentrifugiert (Rotanta 460R, ANDREAS HETTICH GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Das gewonnene Plasma bzw. Serum wurde in beschriftete 1,5ml Eppendorf-Cups aliquotiert und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur weiteren Verwendung wurde EDTA-Plasma bei -80° C gelagert, Citrat-Plasma und Serum wurden bei -20°C aufbewahrt.

2.5.2 Marker für Inflammation

Als Marker für Inflammation wurden die Zytokine Interleukin 6 (IL-6), Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) und Stromal Cell Derived Factor 1 α (SDF-1 α) sowie die endothelialen Adhäsionsmoleküle Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) und Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) verwendet.

IL-6 und TNF- α zählen zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen, die im Rahmen einer Entzündungsreaktion freigesetzt werden. IL-6 wirkt pyrogen und induziert die Synthese von Akute-Phase-Proteinen in der Leber, während TNF- α unter anderem die Apoptose fördert. Mehrere Studien haben gezeigt, dass beide Zytokine bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine signifikant ansteigen (Celik et al., 2004, Khabar et al., 1997, Wan et al., 2004). Die Ergebnisse von Bhagat et al. und Zhang et al. weisen zudem darauf hin, dass hohe Konzentrationen von TNF- α die Endothelfunktion beeinträchtigen (Bhagat und Vallance, 1997, Zhang et al., 1997).

MCP-1 wirkt chemotaktisch auf Monozyten (Ugucioni et al., 1995) und triggert deren Adhäsion am Endothel (Gerszten et al., 1999). Es wird unter anderem von Zytokin-stimulierten Endothelzellen produziert. Weber et al. haben gezeigt, dass MCP-1 bei einer Schädigung des Endothels vermehrt freigesetzt wird (1999).

SDF-1 α ist ebenfalls an der Rekrutierung von Leukozyten beteiligt. Es wirkt chemotaktisch auf Monozyten und Lymphozyten (Bleul et al., 1996). Daneben spielt es eine wichtige Rolle bei der Angiogenese, indem es endotheliale Progenitorzellen mobilisiert (Zheng et al., 2007) und vor Apoptose schützt (Zheng et al., 2008). Kim et al. haben gezeigt, dass SDF-1 α bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine während der myokardialen Ischämie signifikant ansteigt. Hohe

Konzentrationen von SDF-1 α waren dabei mit einer besseren Organfunktion assoziiert, was für eine protektive Wirkung des Zytokins spricht (2016).

Die Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 werden von Endothelzellen exprimiert und sind an der Leukozytenextravasation beteiligt. Sie vermitteln eine feste Bindung der auf dem Endothel rollenden Leukozyten, bringen diese zum Arrest und ermöglichen so die nachfolgende Transmigration. Die Expression von ICAM-1 und VCAM-1 wird durch den Transkriptionsfaktor NF- κ B reguliert und kann unter anderem durch proinflammatorische Zytokine und Sauerstoffradikale gesteigert werden (Christman et al., 1998). NO hingegen hemmt die Expression der Adhäsionsmoleküle (De Caterina et al., 1995). Andresen et al. haben bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine einen signifikanten Anstieg von VCAM-1 im Serum der Patienten nachgewiesen, was auf eine Aktivierung des Endothels hindeutet (2002).

2.5.2.1 Prinzip des Multiplex-Immunoassays

Die Bestimmung erfolgte mit einem Multiplex-Immunoassay. Das Testprinzip basiert ähnlich wie das des ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) auf der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen. Während dieser Vorgang beim ELISA auf einer Festphase stattfindet, werden beim Multiplex-Immunoassay suspendierte Beads als Reaktionsoberfläche verwendet. Dabei handelt es sich um Mikrosphären, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und mit spezifischen Antikörpern beschichtet sind. Diese Technik ermöglicht die simultane Bestimmung mehrerer Analyte in einem Ansatz. Im Versuch werden die Antikörper-gekoppelten Beads in mehreren Schritten mit der untersuchten Probe, Detektionsantikörpern und einem Fluoreszenzfarbstoff als Reporter inkubiert. Auf der Oberfläche entstehen dabei Sandwich-Komplexe aus Antikörper, Antigen und Detektionsantikörper mit Fluoreszenzfarbstoff. Zur Analyse werden die suspendierten Beads einzeln durch eine Messkammer geleitet und von verschiedenen Lasern angeregt. Sowohl die Beads selbst als auch der Reporter-Fluoreszenzfarbstoff emittieren Licht einer bestimmten Wellenlänge. Anhand dieses Fluoreszenzsignals werden die Antikörper-

gekoppelten Beads identifiziert und die Menge an gebundenem Antigen bestimmt (Khalifian et al., 2015).

2.5.2.2 Versuchsprotokoll

Die Konzentration von IL-6, TNF- α , MCP-1, SDF-1 α , ICAM-1 und VCAM-1 wurde mit dem Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) ermittelt. Aufgrund von Konzentrationsunterschieden wurden zwei separate Assays durchgeführt, ein 4-Plex-Assay für IL-6, TNF- α , MCP-1 und SDF-1a sowie ein 2-Plex-Assay für ICAM-1 und VCAM-1. Zur Auswertung wurden das Bio-Plex 200 System (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) und die zugehörige Software (Bio-Plex Manager 6.1, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) verwendet. Beide Assays wurden gemäß Herstellerinformation durchgeführt.

Vor Versuchsbeginn wurden das Bio-Plex 200 System und die Bio-Plex Manager Software gestartet und kalibriert. Die Waschstation wurde vorbereitet und Waschpuffer mit destilliertem Wasser auf einfache Konzentration verdünnt. Die verwendeten Citrat-Plasma-Proben wurden aufgetaut und bei 4 °C und 1000 g für 15 min zentrifugiert. Proben für den 4-Plex-Immunoassay wurden mit Sample Diluent im Verhältnis 1:4 verdünnt, Proben für den 2-Plex-Immunoassay im Verhältnis 1:100. Die Standards wurden in 250 μ l Standard Diluent aufgelöst, bei mittlerer Geschwindigkeit 5 s gevortext und für 30 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurde durch mehrere Schritte vierfacher Verdünnung mit Standard Diluent eine Verdünnungsreihe angelegt. Als Blank wurde Standard Diluent verwendet.

Im nächsten Schritt wurden die Antikörper-gekoppelten Beads vorbereitet. Für das 4-Plex-Assay wurden Beads mit Antikörpern gegen IL-6, TNF- α , MCP-1 und SDF-1 α verwendet, für das 2-Plex-Assay solche mit Antikörpern gegen ICAM-1 und VCAM-1. Sie wurden 30 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext und mit Assaypuffer auf eine einfache Konzentration verdünnt. Die Lösung wurde mit Aluminiumfolie vor Licht geschützt. Nach erneutem Vortexen wurden je 50 μ l in die Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Platte wurde zweimal mit je 100 μ l Waschpuffer pro Well gewaschen.

Die verdünnten Proben, Standards und Blanks wurden für 5 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext und je 50 µl in die entsprechenden Wells pipettiert. Die Platte wurde mit Sealing Tape abgedeckt und bei Raumtemperatur für 30 min auf einem Shaker mit 850 rpm inkubiert.

Die Detektions-Antikörper wurden 5 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext, gespinnnt und mit Detection Antibody Diluent HB auf einfache Konzentration verdünnt.

Die Mikrotiterplatte wurde aufgedeckt und dreimal mit 100 µl Waschpuffer pro Well gewaschen. Die verdünnten Detektions-Antikörper wurden 5 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext und 25 µl in jedes Well pipettiert. Die Platte wurde mit Sealing Tape abgedeckt und bei Raumtemperatur für 30 min auf einem Shaker mit 850 rpm inkubiert.

Streptavidin-PE wurde 5 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext und mit Assaypuffer auf eine einfache Konzentration verdünnt. Die Lösung wurde mit Aluminiumfolie vor Licht geschützt.

Die Mikrotiterplatte wurde aufgedeckt und dreimal mit 100 µl Waschpuffer pro Well gewaschen. Das verdünnte Streptavidin-PE wurde 5 s bei mittlerer Geschwindigkeit gevortext und je 50 µl in die Wells pipettiert. Die Platte wurde mit Sealing Tape abgedeckt und bei Raumtemperatur für 10 min auf einem Shaker mit 850 rpm inkubiert.

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Mikrotiterplatte aufgedeckt und erneut dreimal mit 100 µl Waschpuffer pro Well gewaschen. Die Antikörper-gekoppelten Beads wurden in 125 µl Assaypuffer pro Well resuspendiert. Die Platte wurde noch einmal mit Sealing Tape abgedeckt und bei Raumtemperatur für 30 s auf einem Shaker mit 850 rpm inkubiert.

Anschließend wurde die Mikrotiterplatte mit dem Bio-Plex 200 System ausgelesen. Unter Verwendung der zugehörigen Software wurden Standardkurven erstellt und die Konzentrationen von IL-6, TNF- α , MCP-1, SDF-1a, ICAM-1 und VCAM-1 in den Proben berechnet.

2.5.3 Marker für oxidativen Stress

Als Marker für oxidativen Stress diente Malondialdehyd (MDA).

Malondialdehyd entsteht bei der Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren. Eine solche Schädigung wird durch reaktive Sauerstoffspezies hervorgerufen und weist darauf hin, dass oxidativer Stress besteht (Janero, 1990). Eine Lipidperoxidation bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine wurde bereits in klinischen Studien nachgewiesen (Matata et al., 2000, Cavalca et al., 2006).

2.5.3.1 Prinzip der Photometrie

Die Konzentration von Malondialdehyd wurde photometrisch bestimmt. Bei dieser Methode wird in einer Reaktion des untersuchten Analyten ein farbiges Produkt erzeugt, das Licht einer bestimmten Wellenlänge absorbiert. Aus der gemessenen Absorption lässt sich die Konzentration des Analyten berechnen.

2.5.3.2 Versuchsprotokoll

Die Konzentration von Malondialdehyd wurde mithilfe des Cell Meter Intracellular Colorimetric Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit (AAT Bioquest Inc., Sunnyvale, Kalifornien, USA) ermittelt. Die Auswertung erfolgte mit dem Microplate Reader Synergy NEO 2 (BioTek Instruments Inc., Winoski, Vermont, USA) und dem Quest Graph Linear, Logarithmic, Semi-Log Regression Calculator (AAT Bioquest Inc., Sunnyvale, Kalifornien, USA, verfügbar unter <https://www.aatbio.com/tools/linear-logarithmic-semi-log-regression-online-calculator>, 11. April 2020). Das Assay wurde gemäß Herstellerinformation durchgeführt.

Vor Versuchsbeginn wurden alle benötigten Geräte und Reagenzien vorbereitet. Die verwendeten Citrat-Plasma-Proben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut. Der MDA-Standard wurde in 100 µl doppelt destilliertem Wasser aufgelöst. Dann wurden 4 µl des Standards zu 996 µl Verdünnungspuffer gegeben, sodass eine Standardlösung mit einer Konzentration von 100 mmol/l entstand. Durch mehrere Schritte zweifacher Verdünnung mit Verdünnungspuffer wurde eine Verdünnungsreihe angelegt. Als Blank wurde Verdünnungspuffer verwendet.

Nacheinander wurden 50 µl der Proben, Standards oder Blanks sowie 10 µl MDA Blue in die Wells einer Mikrotiterplatte pipettiert. Die Platte wurde vor Licht geschützt und für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation wurden 40 µl Reaktionslösung pro Well zugegeben.

Die Absorption wurde bei einer Wellenlänge von 695 nm gemessen. Der Extinktionswert des Blanks wurde von denen der Standards und Proben subtrahiert. Mithilfe einer Standardkurve wurde die MDA-Konzentration in den Proben berechnet.

2.6 Klinische und demografische Daten

Informationen zur Krankengeschichte sowie zum klinischen Verlauf wurden der elektronischen Patientenakte entnommen. Als Quellen dienten insbesondere Arztbriefe und Berichte der zuweisenden Klinik, der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie und der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin am Universitätsklinikum Tübingen.

2.6.1 Bypass-Patienten

Bei Bypass-Patienten wurden folgende Parameter berücksichtigt:

- Geschlecht, Alter, Körpergröße und -Gewicht
- Diagnose
- Symptome: CCS-Score für Angina pectoris und NYHA-Stadium
- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF)
- Perkutane Koronarinterventionen (PCI) in der Vorgeschichte
- Bypassoperation in der Vorgeschichte
- Kardiovaskulären Risikofaktoren: Arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, Nikotinabusus und positive Familienanamnese
- Medikation: Thrombozytenaggregationshemmer, Statine, Betablocker, ACE-Hemmer und Sartane, Calciumantagonisten
- Dringlichkeit der Operation
- Anzahl der Bypässe
- Bei Anwendung der Herz-Lungen-Maschine: Bypasszeit (BPZ) und Aortenklemmzeit (AKZ)

- Gesamtdauer der Operation
- Dauer des Aufenthalts auf Intensiv- und Intermediate-Care-Station (IMC)
- Dauer des stationären Krankenhausaufenthalts
- Überleben

2.6.2 Gesunde Probanden

Bei gesunden Probanden wurden Geschlecht, Alter, Körpergröße und -Gewicht während der Untersuchung erfragt.

2.6.3 ECMO-Patienten

Die erhobenen Parameter bei ECMO-Patienten umfassten:

- Geschlecht, Alter, Körpergröße und -Gewicht
- Indikation zur ECMO-Therapie
- Art der Kanülierung
- Dauer der ECMO-Therapie
- Weaning (erfolgreiche Entwöhnung vom ECMO-System)
- Dauer des Aufenthalts auf Intensivstation
- Zeichen einer Organdysfunktion: Nierenversagen
- Überleben

2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte nach methodischer Beratung durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen mit den Softwareprogrammen IBM SPSS Statistics (Version 25, IBM Corporation, Armonk, New York, USA) und R (Version 3.6, The R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich, verfügbar unter <https://www.r-project.org/>, 02.03.2020).

Für die klinischen und demografischen Daten wurden je nach Skalenniveau absolute und relative Häufigkeiten, Mediane und Interquartilsabstände oder Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die ONCAB- und OPCAB-Gruppe wurden auf signifikante Unterschiede untersucht. Hierfür wurden der Exakte Fisher-Test bei nominalen Variablen, der Mann-Whitney-U-Test bei

ordinalskalierten Variablen und intervallskalierten, nicht-normalverteilten Variablen und der t-Test für unabhängige Stichproben bei intervallskalierten, normalverteilten Variablen eingesetzt. Vor Durchführung des t-Tests wurden die Daten mit dem Levene-Test auf Varianzgleichheit geprüft. Weiterhin wurde untersucht, ob signifikante Unterschiede zwischen der ONCAB- und OPCAB-Gruppe und der Kontrollgruppe bestehen. Hierfür wurden der Exakte Fisher-Test bei nominalen Variablen, der Kruskal-Wallis-Test bei ordinalskalierten Variablen und intervallskalierten, nicht-normalverteilten Variablen und die Einfaktorielle ANOVA bei intervallskalierten, normalverteilten Variablen verwendet. Vor Durchführung der ANOVA wurden die Daten mit dem Levene-Test auf Varianzgleichheit geprüft. Es wurde kontrolliert, ob die in der ANOVA berechneten Residuen normalverteilt sind. Bei einem signifikanten Ergebnis im Kruskal-Wallis-Test wurde post-hoc ein Bonferroni-Test durchgeführt, um zu ermitteln, welche Gruppen sich unterscheiden. Bei einem signifikanten Ergebnis in der Einfaktoriellen ANOVA wurde der Tukey-Test eingesetzt.

Der zeitliche Verlauf des RHI und der verwendeten Marker für Inflammation und oxidativen Stress in den verschiedenen Gruppen wurde in Balken-, Linien- und Punktdiagrammen dargestellt. Für jeden Zeitpunkt wurden abhängig vom Skalenniveau Mediane und Interquartilsabstände oder Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die präoperativen Werte der ONCAB-Gruppe, OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe wurden auf signifikante Unterschiede untersucht. Wie bereits beschrieben wurden der Kruskal-Wallis-Test, die Einfaktorielle ANOVA und die entsprechenden Post-Hoc-Tests verwendet. Mithilfe des von Noguchi et al. beschriebenen nparLD (nonparametric Longitudinal Data) -Verfahrens wurde analysiert, ob die Werte der ONCAB- und OPCAB-Gruppe durch die Zeit, die Gruppenzugehörigkeit oder eine Interaktion zwischen beiden Faktoren beeinflusst werden (2012). Hierfür wurden alle vollständigen Fälle für die Zeitpunkte „präoperativ“ sowie „Tag 1“, „Tag 3“ und „Tag 5“ nach der Bypassoperation eingesetzt. Der angewandte Test ähnelt einer Multifaktoriellen ANOVA, setzt jedoch keine Normalverteilung der Daten voraus.

Der Zusammenhang zwischen RHI und Markern für Inflammation und oxidativen Stress am ersten Tag nach der Bypassoperation wurde in Streudiagrammen dargestellt. Es wurden Spearman-Korrelationskoeffizienten berechnet.

Das Signifikanzniveau wurde für alle Analysen auf 5% festgelegt.

Die va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe wurden aufgrund der geringen Fallzahl rein deskriptiv ausgewertet.

3 Ergebnisse

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Studie dargestellt.

3.1 Probanden

Im Studienzeitraum wurden 20 Patienten mit konventioneller Bypassoperation (ONCAB-Gruppe), 20 Patienten mit Bypassoperation ohne Herz-Lungen-Maschine (OPCAB-Gruppe), 20 gesunde Probanden (Kontrollgruppe), 8 Patienten mit venoarterieller ECMO-Therapie (va-ECMO-Gruppe) und 3 Patienten mit venovenöser ECMO-Therapie (vv-ECMO-Gruppe) vollständig untersucht und in die Auswertung aufgenommen.

3.1.1 Bypass-Patienten

Abbildung 6 zeigt den Patientenfluss in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe.

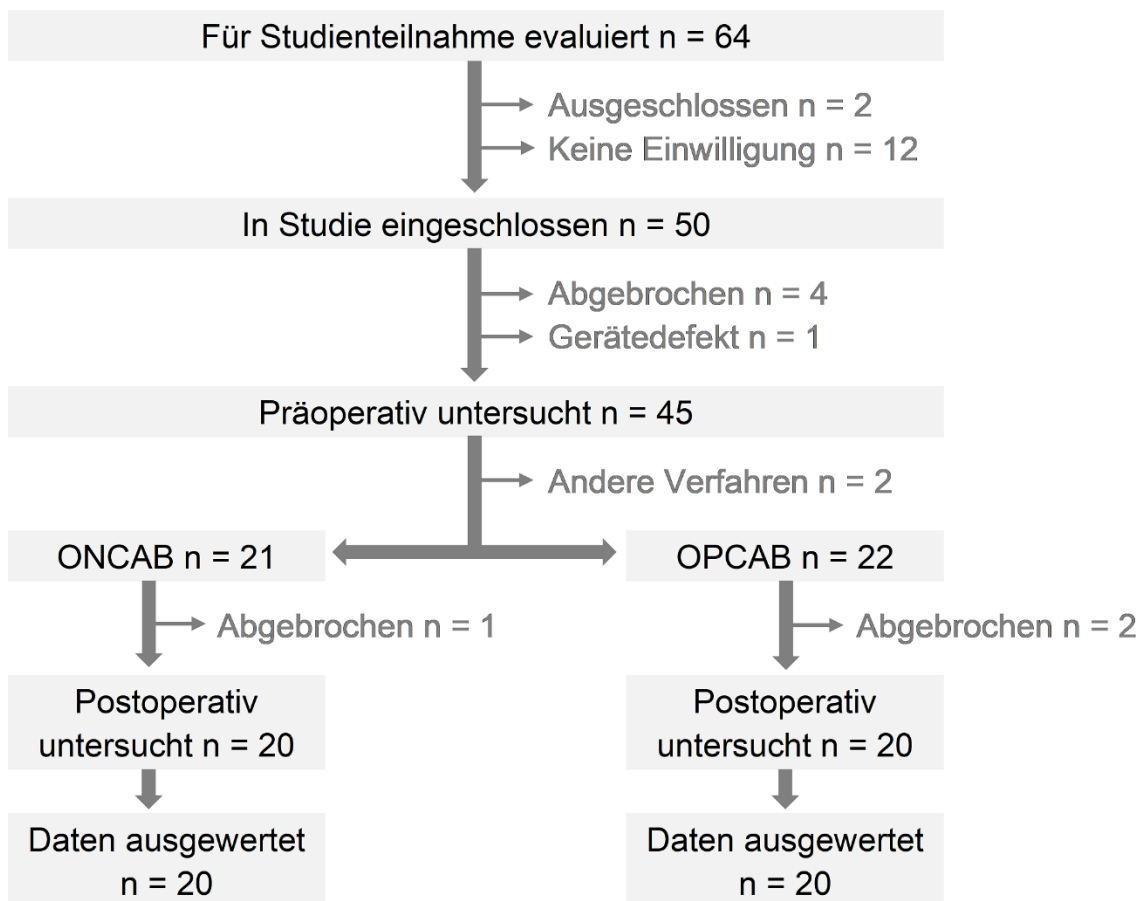


Abbildung 6: Patientenfluss (ONCAB und OPCAB)

Anzahl der Patienten in verschiedenen Phasen der Studie. ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, n = Fallzahl

Anhand des Operationsplans wurden 64 Patienten mit geplanter Bypassoperation identifiziert und für die Studienteilnahme evaluiert. 2 Patienten, bei denen eine Operation in minimalinvasiver Technik geplant war, wurden ausgeschlossen. Bei 12 Patienten lag keine Einwilligung vor, sodass diese ebenfalls nicht in die Studie aufgenommen werden konnten. Die verbliebenen 50 Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, keine Ausschlusskriterien aufwiesen und in die Teilnahme einwilligten, wurden in die Studie eingeschlossen. Bei 45 Patienten wurde die präoperative Untersuchung abgeschlossen. 4 Patienten brachen die Teilnahme während der Untersuchung ab, bei einem Patienten konnte die Untersuchung aufgrund eines Gerätedefekts nicht durchgeführt werden. Alle 45 Patienten wurden operiert. 21 Patienten erhielten eine konventionelle Bypassoperation (ONCAB) und 22 Patienten eine Bypassoperation ohne Herz-Lungen-Maschine (OPCAB). Bei 2 Patienten kamen andere Operationstechniken wie etwa Kombinationseingriffe oder minimalinvasive Verfahren zum Einsatz. Postoperativ brachen 1 Patient in der ONCAB-Gruppe und 2 Patienten in der OPCAB-Gruppe die Teilnahme ab. Je 20 Patienten in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe schlossen die postoperativen Untersuchungen ab und wurden in die Datenauswertung einbezogen.

3.1.2 Gesunde Probanden

In der Kontrollgruppe wurden 20 Probanden für die Studienteilnahme evaluiert und eingeschlossen. Nach einmaliger Untersuchung wurden alle Probanden in die Datenauswertung einbezogen.

3.1.3 ECMO-Patienten

8 Patienten mit va-ECMO und 3 Patienten mit vv-ECMO konnten in die Studie aufgenommen werden. Alle Patienten schlossen die Untersuchungen ab und wurden in die Datenauswertung einbezogen.

3.2 Klinische und demografische Daten

3.2.1 Bypass-Patienten

Tabelle 1 und Tabelle 2 stellen demografische Daten, Morbidität, Therapie und klinischen Verlauf in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe gegenüber.

Tabelle 1: Demografische Daten und Morbidität (ONCAB und OPCAB)

Informationen aus der elektronischen Patientenakte. ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, n = Fallzahl, BMI = Body Mass Index, KHK = Koronare Herzkrankheit, CCS = Canadian Cardiovascular Society, NYHA = New York Heart Association, LVEF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, F = Fehlende Werte (n = 19 / 17), 1 = Mittelwert ± Standardabweichung, 2 = Absolute und relative Häufigkeit, 3 = Median und Quartile, a = Exakter Fisher-Test, b = Mann-Whitney-U-Test, c = t-Test für unabhängige Stichproben

	ONCAB n = 20	OPCAB n = 20	p
Alter (Jahre)	66.85 ± 10.23 ¹	62.90 ± 10.49 ¹	.235 ^c
BMI (kg/m ²)	25.65 ± 3.50 ¹	26.96 ± 3.91 ¹	.570 ^b
Geschlecht			1.000 ^a
Männlich	16 (80%) ²	17 (85%) ²	
Weiblich	4 (20%) ²	3 (15%) ²	
Diagnose			1.000 ^a
2-Gefäß-KHK	2 (10%) ²	2 (10%) ²	
3-Gefäß-KHK	18 (90%) ²	18 (90%) ²	
Risikofaktoren			
Arterielle Hypertonie	16 (80%) ²	18 (90%) ²	.661 ^a
Diabetes mellitus	9 (45%) ²	5 (25%) ²	.320 ^a
Dyslipidämie	14 (70%) ²	8 (40%) ²	.111 ^a
Rauchen	10 (50%) ²	8 (40%) ²	.751 ^a
Familienanamnese	7 (35%) ²	6 (30%) ²	1.000 ^a
Symptome			
CCS-Stadium ^F	3 (1.00 – 3.00) ³	1 (0.00 – 3.50) ³	.376 ^b
NYHA-Stadium ^F	3 (2.00 – 3.00) ³	3 (2.00 – 4.00) ³	.879 ^b
LVEF			.799 ^b
> 50%	14 (70%) ²	15 (75%) ²	
31 – 50%	5 (25%) ²	4 (20%) ²	
21 – 30%	1 (5%) ²	1 (5%) ²	

Tabelle 2: Therapie und klinischer Verlauf (ONCAB und OPCAB)

Informationen aus der elektronischen Patientenakte. ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, n = Fallzahl, ASS = Acetylsalicylsäure, P2Y₁₂ = Thrombozytärer Adenosindiphosphatrezeptor, ACE = Angiotensin Converting Enzyme, PCI = Perkutane Koronarintervention, IMC = Intermediate Care, NA = nicht verfügbar, 1 = Mittelwert ± Standardabweichung, 2 = Absolute und relative Häufigkeit, 3 = Median und Quartile, a = Exakter Fisher-Test, b = Mann-Whitney-U-Test, c = t-Test für unabhängige Stichproben

	ONCAB n = 20	OPCAB n = 20	p
Voreingriffe			
PCI oder Stent	7 (35%) ²	9 (45%) ²	.748 ^a
Bypassoperation	2 (10%) ²	1 (5%) ²	1.000 ^a
Dringlichkeit			.514 ^a
Elektiv	6 (30%) ²	9 (45%) ²	
Dringlich	14 (70%) ²	11 (55%) ²	
Bypass			.830 ^c
Einfach	0 (0%) ²	1 (5%) ²	
Zweifach	5 (25%) ²	5 (25%) ²	
Dreifach	13 (65%) ²	9 (45%) ²	
Vierfach	2 (10%) ²	5 (25%) ²	
Operationszeit (min)	238.50 (219.00 – 263.00) ³	215.00 (188.25 – 232.50) ³	.008 ^b
Postoperative Medikation			
ASS / P2Y ₁₂ -Blocker	20 (100%) ²	20 (100%) ²	NA
Statine	18 (90%) ²	19 (95%) ²	1.000 ^a
Betablocker	19 (95%) ²	20 (100%) ²	1.000 ^a
ACE-Hemmer / Sartane	14 (70%) ²	15 (75%) ²	1.000 ^a
Calciumkanalblocker	4 (20%) ²	6 (30%) ²	.716 ^a
Liegedauer			
Intensiv / IMC (Tage)	1.00 (1.00 – 1.00) ³	1.00 (1.00 – 1.00) ³	.639 ^b
Krankenhaus (Tage)	11.00 (8.25 – 12.75) ³	10.00 (9.00 – 11.00) ³	.681 ^b
Überleben	20 (100%) ²	20 (100%) ²	NA

Es bestehen keine Unterschiede hinsichtlich der demografischen Daten und der Morbidität. Die Operationszeit unterscheidet sich signifikant zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe (Mann-Whitney-U-Test, $U = 102.00$, $Z = -2.65$, $p = .008$), wobei Bypassoperationen mit Herz-Lungen-Maschine median 23.50 min länger dauern als solche ohne Herz-Lungen-Maschine. Ansonsten zeigen sich auch bei Therapie und klinischem Verlauf keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

Bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine beträgt die mediane Bypasszeit 87.00min, die mediane Aortenklemmzeit 65.00min.

3.2.2 Gesunde Probanden

Die gesunden Probanden haben ein mittleres Alter von 55.25 ± 8.16 Jahren und einen mittleren BMI von 24.53 ± 3.97 kg/m². Jeweils 10 (50%) der Probanden sind männlich und weiblich.

Das Alter unterscheidet sich signifikant zwischen Kontrollgruppe und ONCAB-Gruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 7.42$, $p = .001$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .001$) sowie zwischen Kontrollgruppe und OPCAB-Gruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 7.42$, $p = .001$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .040$). Die gesunden Probanden sind durchschnittlich 11.60 Jahre jünger als die Patienten in der ONCAB-Gruppe und 7.65 Jahre jünger als die Patienten in der OPCAB-Gruppe. Weiterhin besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlechtsverteilung (Exakter Fisher-Test, $p = .039$). Der Anteil weiblicher Probanden ist in der Kontrollgruppe höher als in der ONCAB-Gruppe (20%) und in der OPCAB-Gruppe (15%).

3.2.3 ECMO-Patienten

In Tabelle 3 sind demografische Daten, Morbidität, Therapie und klinischer Verlauf in der va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe dargestellt.

Tabelle 3: Demografische Daten, Morbidität, Therapie und klinischer Verlauf (va-ECMO und vv-ECMO)

Informationen aus der elektronischen Patientenakte. va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, n = Fallzahl, BMI = Body Mass Index, ARDS = Acute Respiratory Distress Syndrome, NA = nicht verfügbar, 1 = Mittelwert \pm Standardabweichung, 2 = Absolute und relative Häufigkeit, 3 = Median und Quartile

	va-ECMO n = 8	vv-ECMO n = 3
Alter (Jahre)	62.75 \pm 11.76 ¹	56.00 \pm 5.57 ¹
BMI (kg/m ²)	26.36 \pm 2.28 ¹	30.00 \pm 0.90 ¹
Geschlecht		
Männlich	6 (75%) ²	2 (66.7%) ²
Weiblich	2 (25%) ²	1 (33.3%) ²
Indikation		
Kardiogener Schock	5 (62.5%) ²	0 (0%) ²
Reanimation	3 (37.5%) ²	0 (0%) ²
ARDS	0 (0%) ²	3 (100%) ²
Kanülierung		
Venoarteriell	6 (75%) ²	0 (0%) ²
Venoarteriovenös	2 (25%) ²	0 (0%) ²
Venovenös	0 (0%) ²	3 (100%) ²
Therapie		
ECMO (Tage)	9.50 (6.75 – 18.00) ³	15.00 (10.00 – NA) ³
Erfolgreiches Weaning	5 (62.5%) ²	3 (100%) ²
Intensivstation (Tage)	16.50 (7.50 – 25.75) ³	19.00 (13.00 – NA) ³
Nierenversagen	6 (75%) ²	3 (100%) ²
Überleben	5 (62.5%) ²	3 (100%) ²

3.3 Endothel-abhängige Vasodilatation

3.3.1 Bypass-Patienten und gesunde Probanden

Abbildung 7 zeigt den zeitlichen Verlauf des RHI in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe.

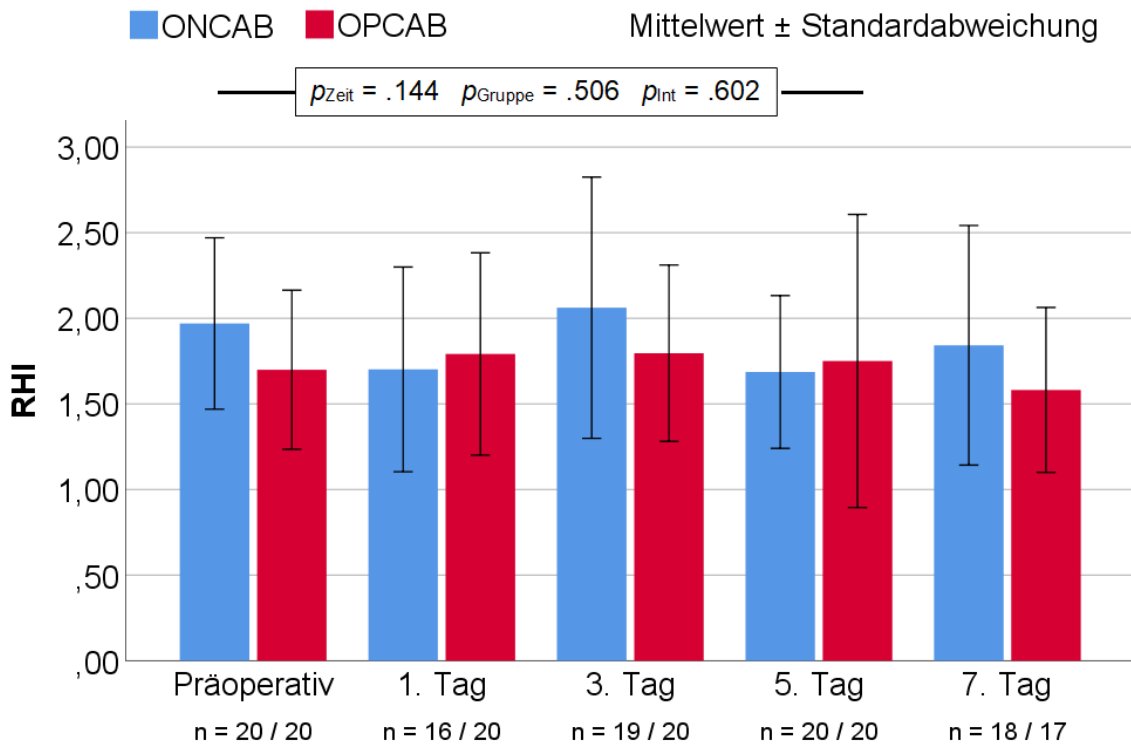


Abbildung 7: RHI (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung mittels EndoPAT (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, RHI = Reactive Hyperemia Index, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p-Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p-Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p-Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

In der Kontrollgruppe liegt der mittlere RHI bei 1.87 ± 0.63 (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ bestehen hinsichtlich des RHI keine Unterschiede zwischen ONCAB-Gruppe, OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 1.31$, $p = .279$).

Der RHI in der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich nicht mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2,41) = 1.87, $p = .144$). Er wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 0.44, $p = .506$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2,41) = 0.56, $p = .602$).

3.3.2 ECMO-Patienten

In Abbildung 8 ist der zeitliche Verlauf des RHI in der va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe dargestellt.

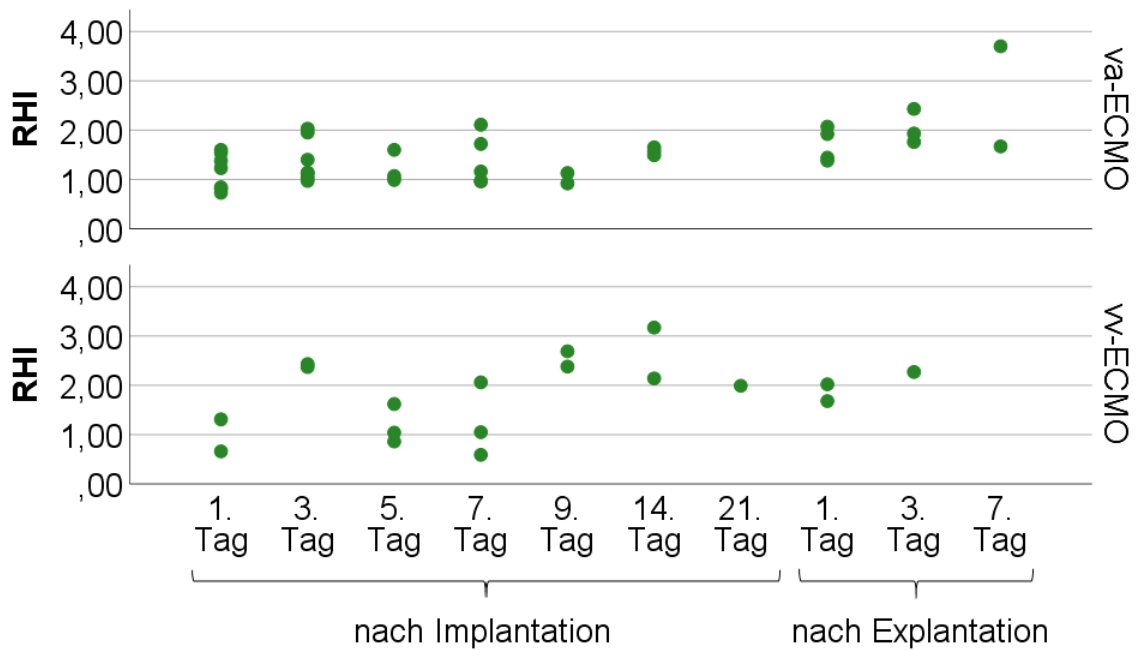


Abbildung 8: RHI (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung mittels EndoPAT (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, RHI = Reactive Hyperemia Index, • = Werte der einzelnen Patienten

Der RHI ist zu Beginn der Therapie mit einem Median von 1.23 bei Patienten mit va-ECMO und 0.99 bei Patienten mit vv-ECMO sehr niedrig. Innerhalb der ersten 7 Tage bleibt er auf einem vergleichbaren Niveau, im späteren Verlauf werden höhere Werte beobachtet.

3.4 Marker für Inflammation

3.4.1 Bypass-Patienten und gesunde Probanden

Die Abbildungen 9 bis 15 zeigen den zeitlichen Verlauf von Leukozyten, IL-6, TNF- α , MCP-1, SDF-1 α , ICAM-1 und VCAM-1 in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe.

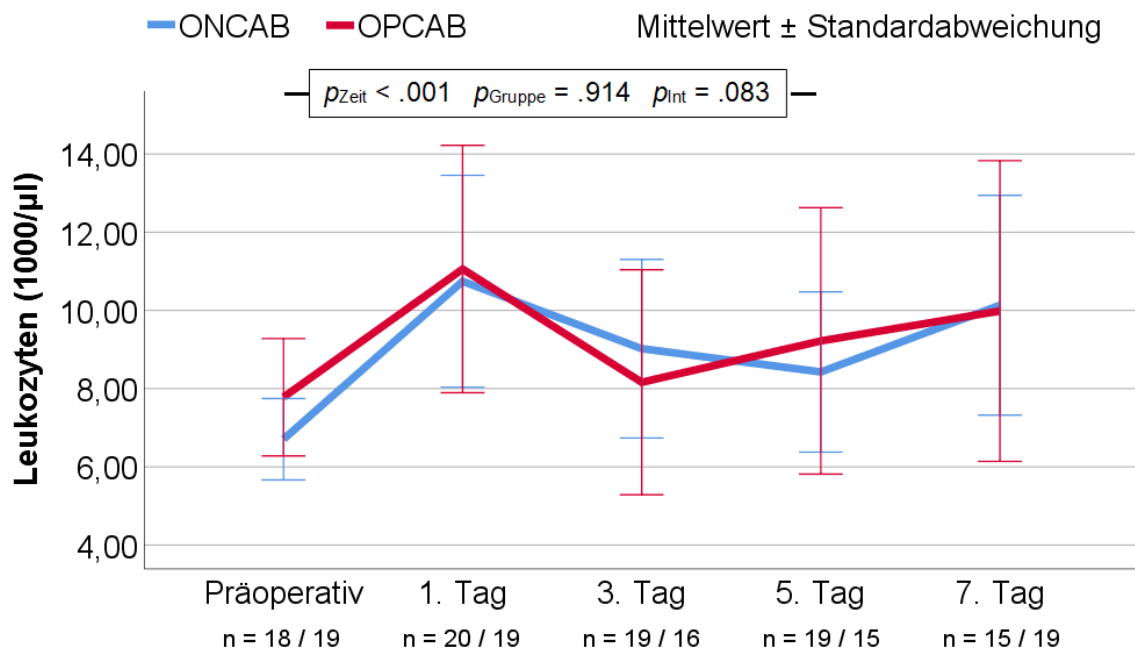


Abbildung 9: Leukozyten (ONCAB und OPCAB)

Automatische Blutbildbestimmung (ABX Micros 60, HORIBA ABX SAS, Montpellier, Frankreich). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p-Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p-Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p-Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

In der Kontrollgruppe liegt die mittlere Leukozytenzahl bei 6.46 ± 1.65 Tausend/ μl (nicht in der Abbildung dargestellt). Die Leukozytenzahl ist präoperativ in der OPCAB-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 54) = 4.61$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .016$). Es bestehen keine Unterschiede zwischen ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 54) = 4.61$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .067$) sowie zwischen ONCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 54) = 4.61$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .858$).

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die Leukozytenzahl signifikant mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.75) = 21.30, $p < .001$).

Sie wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 0.01, $p = .914$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.75) = 2.28, $p = .083$).

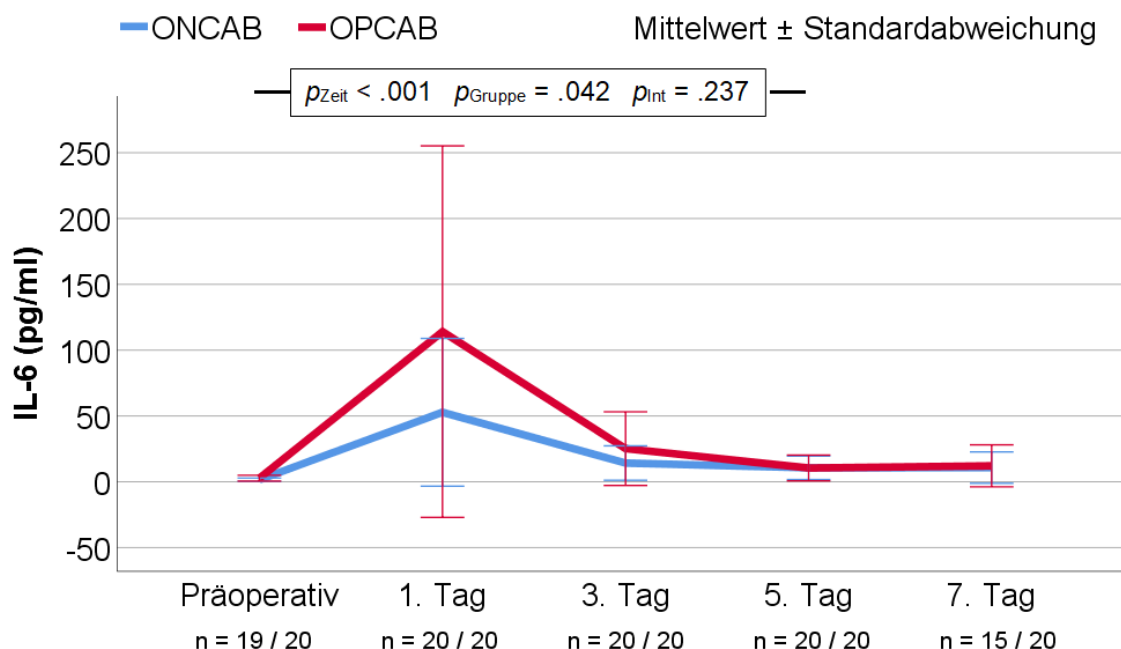


Abbildung 10: IL-6 (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, IL-6 = Interleukin 6, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von IL-6 liegt in der Kontrollgruppe bei 1.32 ± 1.27 pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ ist die IL-6-Konzentration in der OPCAB-Gruppe signifikant höher als in der ONCAB-Gruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.65$, $p = .008$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .043$) und in der Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.65$, $p = .008$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .013$). Es besteht kein Unterschied zwischen ONCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.65$, $p = .008$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = 1.000$).

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die IL-6-Konzentration signifikant mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.69) = 185.30, $p < .001$) und wird signifikant durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD,

ANOVA-Type Statistic (1) = 4.13, $p = .042$). Der Verlauf ist in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.69) = 1.42, $p = .237$).

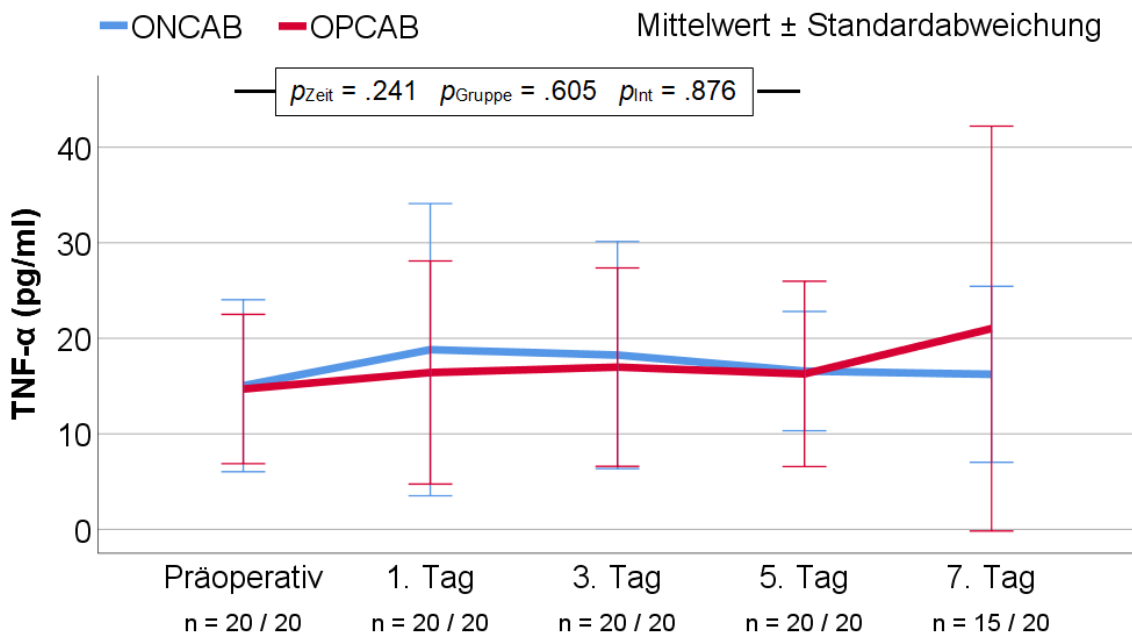


Abbildung 11: TNF- α (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, TNF- α = Tumornekrosefaktor α , n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von TNF- α liegt in der Kontrollgruppe bei 10.44 ± 8.14 pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ wird die TNF- α -Konzentration signifikant durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst, es können jedoch keine Unterschiede zwischen ONCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 6.55$, $p = .038$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .076$), OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 6.55$, $p = .038$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .080$) sowie ONCAB- und OPCAB-Gruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 6.55$, $p = .038$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = 1.000$) nachgewiesen werden.

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die Konzentration von TNF- α nicht mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.91) = 1.40, $p = .241$) und wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-

Type Statistic (1) = 0.27, $p = .605$). Der Verlauf des RHI ist in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.91) = 0.22, $p = .876$).

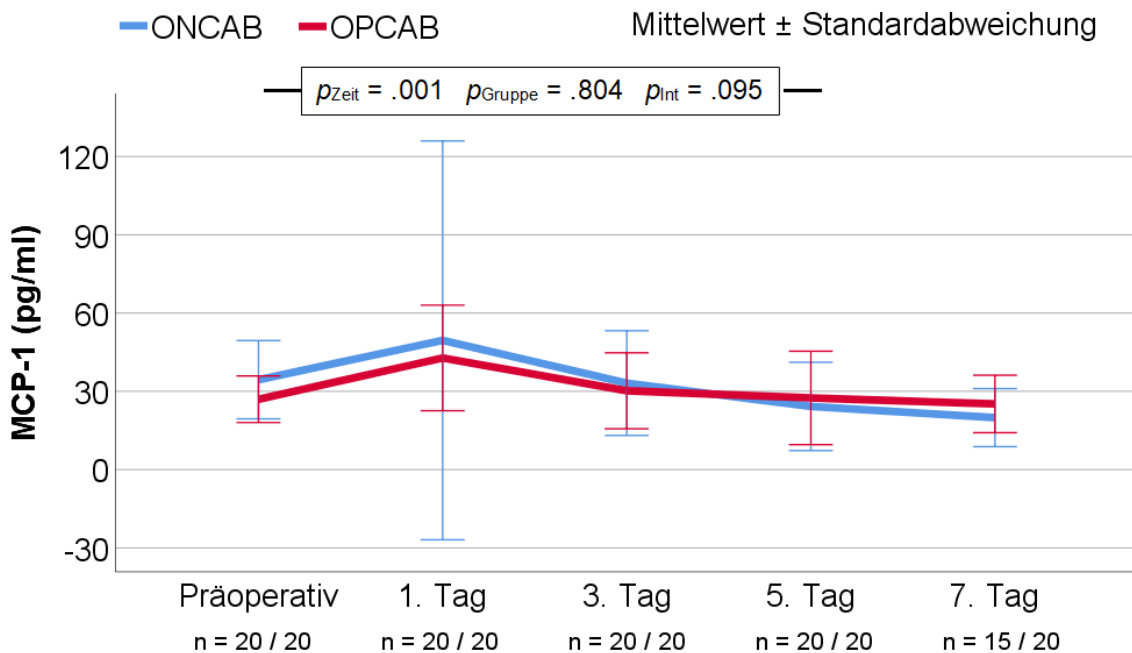


Abbildung 12: MCP-1 (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von MCP-1 liegt in der Kontrollgruppe bei $40,83 \pm 17,87$ pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ ist die MCP-1-Konzentration in der OPCAB-Gruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 4.63$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .010$). Es bestehen keine Unterschiede zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 4.63$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .239$) sowie zwischen ONCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 4.63$, $p = .014$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .347$).

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die MCP-1-Konzentration signifikant mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.60) = 5.89, $p = .001$). Sie wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 0.06, $p = .804$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.60) = 2.20, $p = .095$).

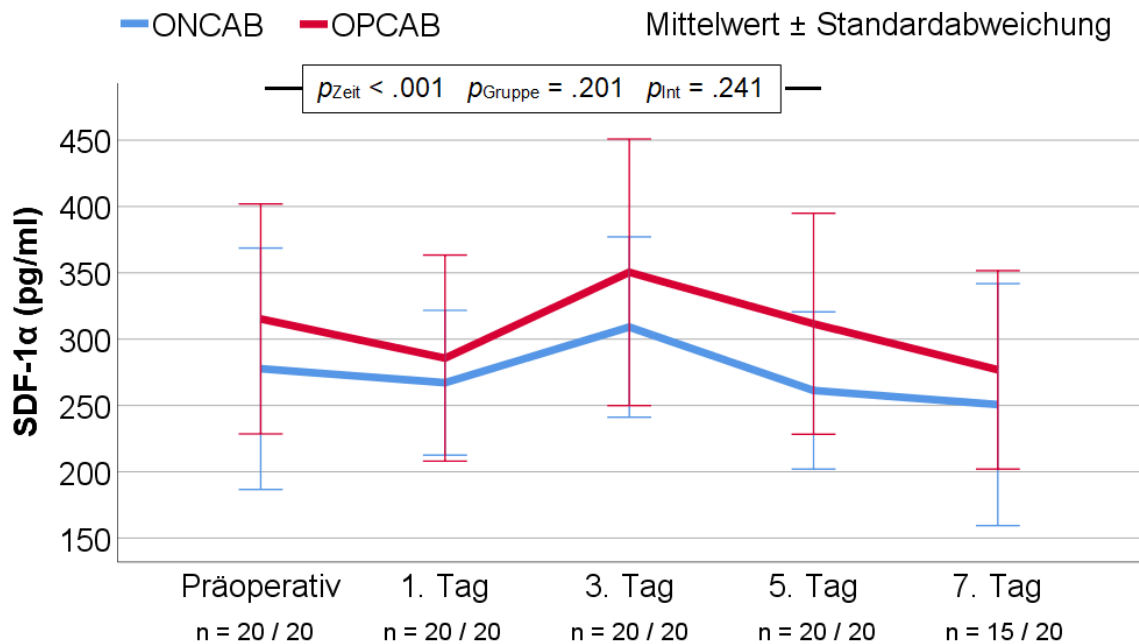


Abbildung 13: SDF-1 α (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, SDF-1 α = Stromal Cell Derived Factor 1 α , n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von SDF-1 α liegt in der Kontrollgruppe bei 335.24 ± 60.89 pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ bestehen hinsichtlich der SDF-1 α -Konzentration keine Unterschiede zwischen ONCAB-Gruppe, OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 2.62$, $p = .081$).

Die Konzentration von SDF-1 α in der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich signifikant mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.48) = 9.98, $p < .001$). Sie wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 1.64, $p = .201$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.48) = 1.41, $p = .241$).

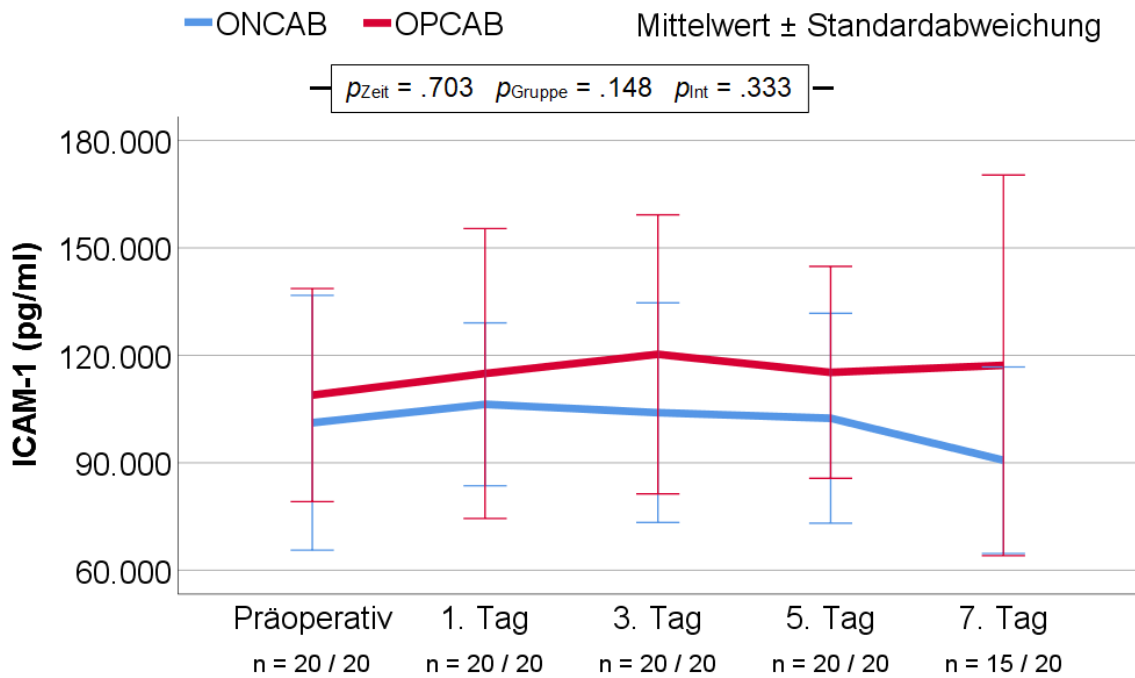


Abbildung 14: ICAM-1 (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, ICAM-1 = Intercellular Adhesion Molecule 1, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von ICAM-1 liegt in der Kontrollgruppe bei 79830.38 ± 14035.88 pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ ist die ICAM-1-Konzentration in der ONCAB-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 14.71$, $p = .001$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .025$). Auch in der OPCAB-Gruppe ist signifikant mehr ICAM-1 nachweisbar als in der Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 14.71$, $p = .001$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .001$). Es besteht kein Unterschied zwischen ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 14.71$, $p = .001$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .826$).

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die ICAM-1-Konzentration nicht mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2,45) = 0.41, $p = .703$). Sie wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 2.09, $p = .148$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2,45) = 1.12, $p = .333$).

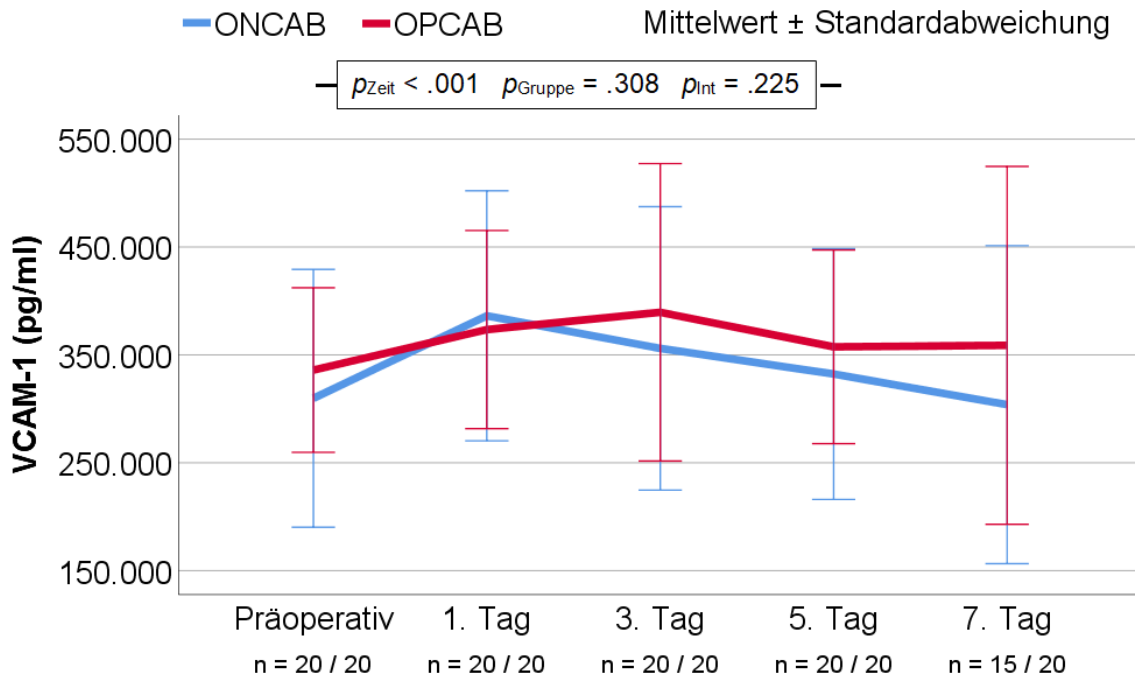


Abbildung 15: VCAM-1 (ONCAB und OPCAB)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, VCAM-1 = Vascular Cell Adhesion Molecule 1, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

Die mittlere Konzentration von VCAM-1 liegt in der Kontrollgruppe bei 259121.61 ± 63120.15 pg/ml (nicht in der Abbildung dargestellt). Präoperativ ist die VCAM-1-Konzentration in der OPCAB-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 3.80$, $p = .028$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .024$). Es bestehen keine Unterschiede zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 3.80$, $p = .028$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .628$) sowie zwischen ONCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Einfaktorielle ANOVA, $F(2, 57) = 3.80$, $p = .028$, Tukey Post-Hoc Test, $p = .183$).

Die Konzentration von VCAM-1 in der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich signifikant mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.56) = 7.49, $p < .001$). Sie wird nicht durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-Type Statistic (1) = 1.04, $p = .308$) und verläuft in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.56) = 1.47, $p = .225$).

3.4.2 ECMO-Patienten

In den Abbildungen 16 bis 22 ist der zeitliche Verlauf von Leukozyten, IL-6, TNF- α , MCP-1, SDF-1 α , ICAM-1 und VCAM-1 in der va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe dargestellt.

Zu Beginn der ECMO-Therapie zeigen sich hohe Werte für alle untersuchten Marker. In den folgenden Tagen sind diese zum Teil rückläufig. Die mediane Leukozytenzahl fällt innerhalb der ersten 7 Tage in der va-ECMO-Gruppe von 13.40 Tausend/ μ l auf 8.65 Tausend/ μ l und in der vv-ECMO-Gruppe von 20.65 Tausend/ μ l auf 13.90 Tausend/ μ l. In ähnlicher Weise sinkt die Konzentration von IL-6 in der va-ECMO-Gruppe von 60.65 pg/ml auf 25.59 pg/ml und in der vv-ECMO-Gruppe von 211.06 pg/ml auf 30.88 pg/ml. Auch MCP-1 zeigt einen derartigen Verlauf. Hier fällt die mediane Konzentration in der va-ECMO-Gruppe von 123.85 pg/ml auf 43.82 pg/ml und in der vv-ECMO-Gruppe von 239.56 pg/ml auf 42.79 pg/ml.

Die übrigen Marker zeigen nur geringe Veränderungen. Bei TNF- α , SDF-1 α , VCAM-1 und ICAM-1 bleibt die Konzentration im Verlauf annähernd konstant.

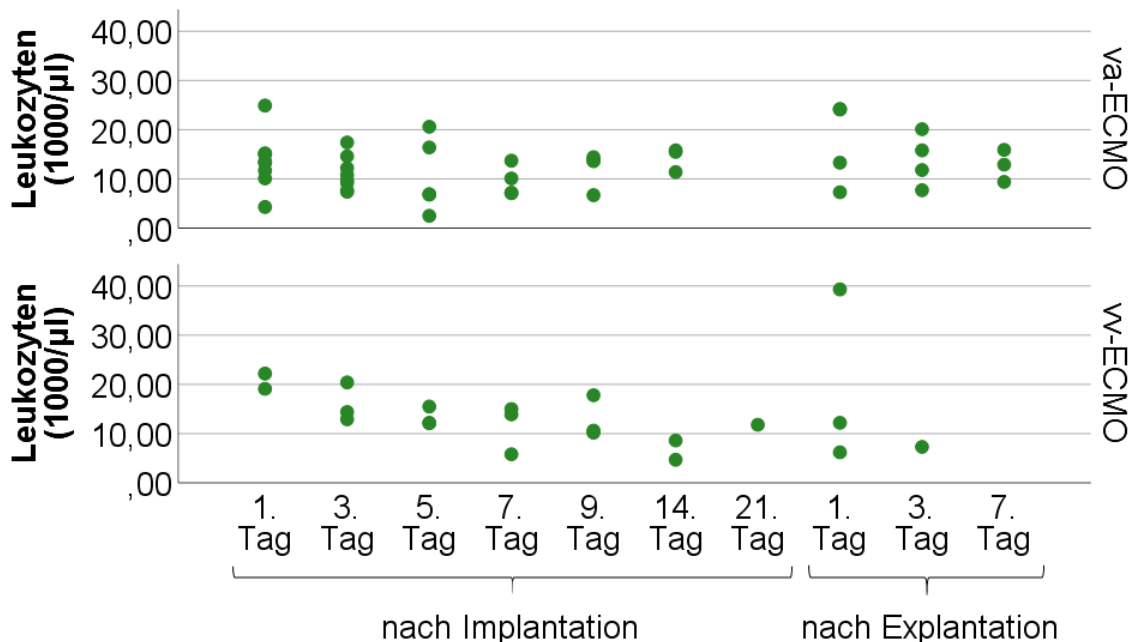


Abbildung 16: Leukozyten (va-ECMO und vv-ECMO)

Automatische Blutbildbestimmung (ABX Micros 60, HORIBA ABX SAS, Montpellier, Frankreich). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, • = Werte der einzelnen Patienten

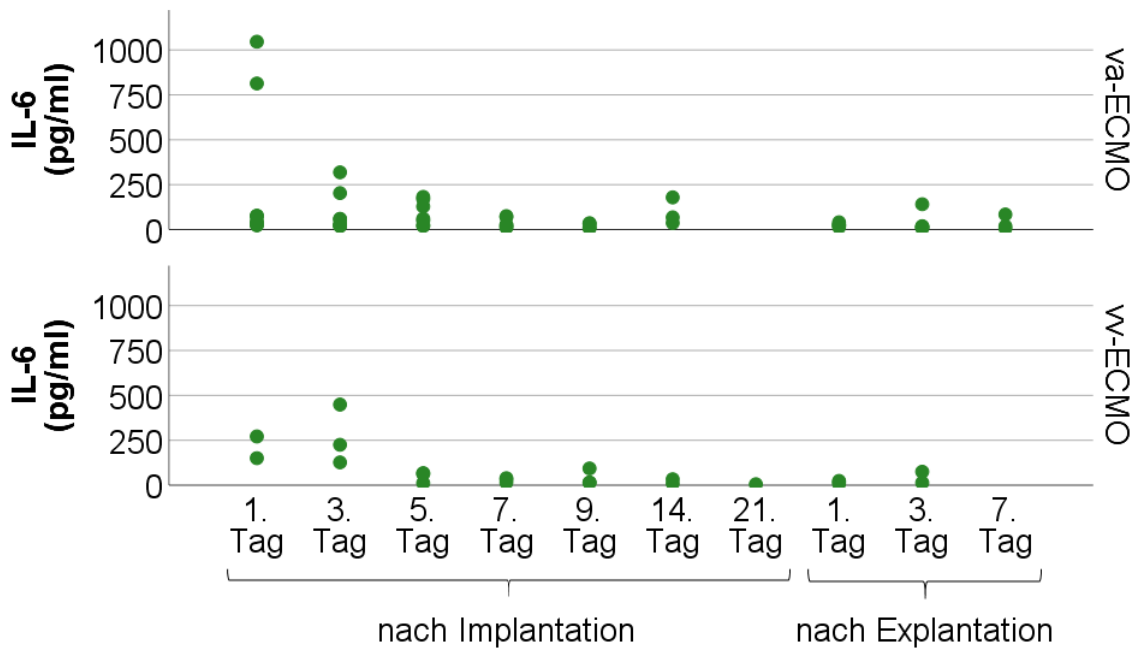


Abbildung 17: IL-6 (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, IL-6 = Interleukin 6, • = Werte der einzelnen Patienten

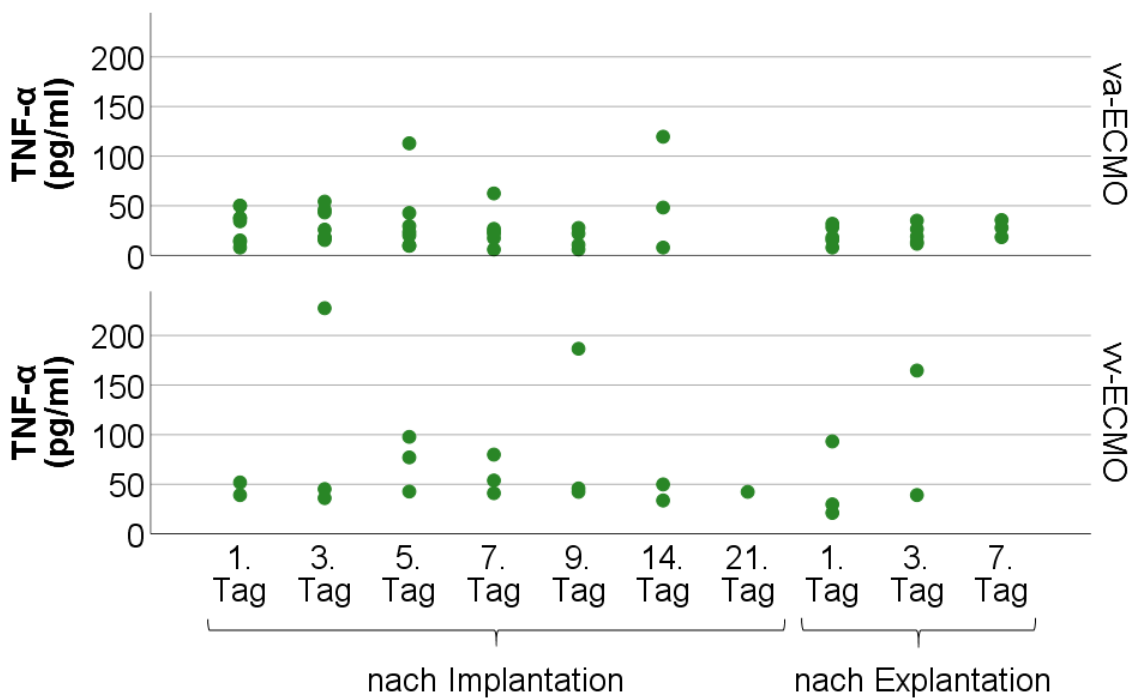


Abbildung 18: TNF-α (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, TNF-α = Tumornekrosefaktor α, • = Werte der einzelnen Patienten

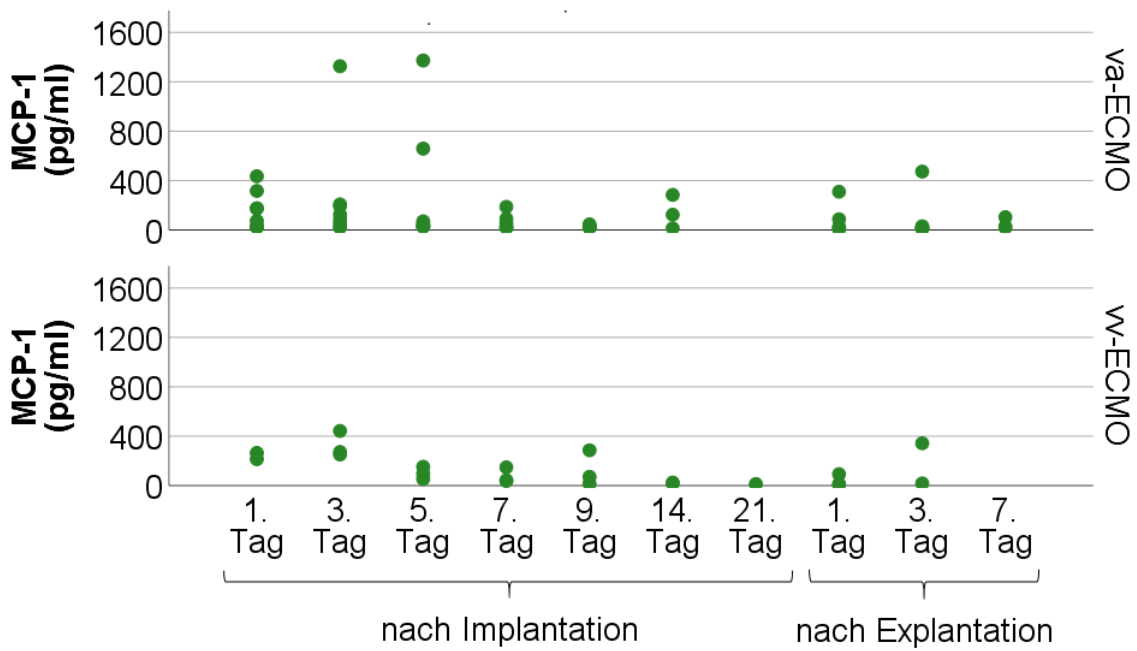


Abbildung 19: MCP-1 (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, MCP-1 = Monocyte Chemoattractant Protein 1, • = Werte der einzelnen Patienten

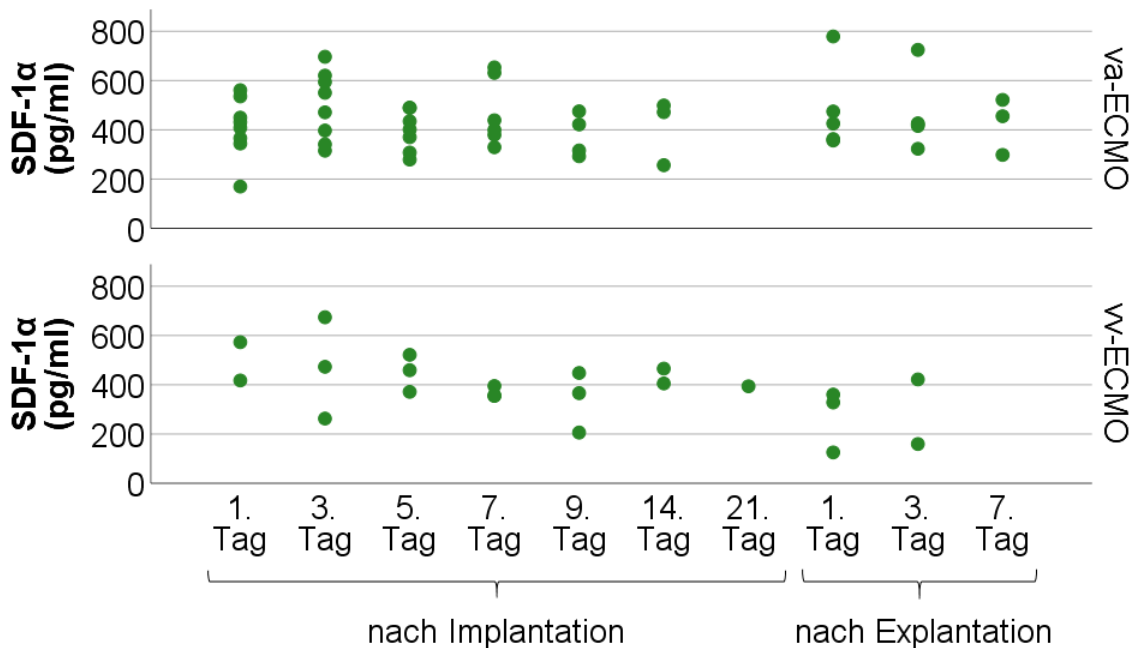


Abbildung 20: SDF-1α (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, SDF-1α = Stromal Cell Derived Factor 1α, • = Werte der einzelnen Patienten

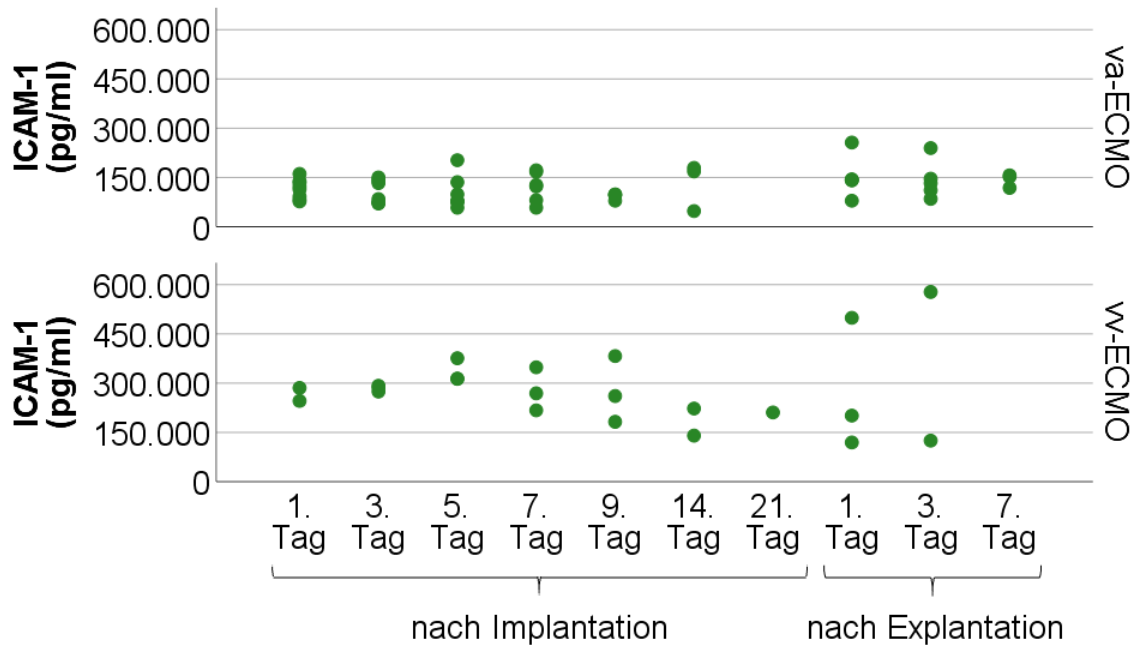


Abbildung 21: ICAM-1 (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, ICAM-1 = Intercellular Adhesion Molecule 1, • = Werte der einzelnen Patienten

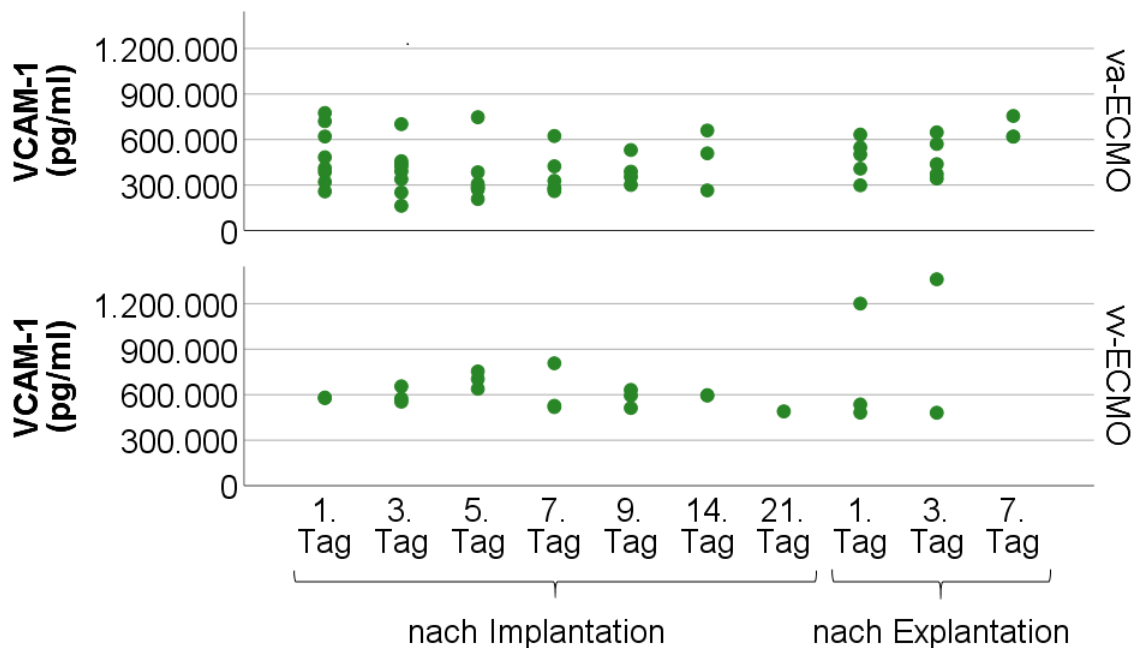


Abbildung 22: VCAM-1 (va-ECMO und vv-ECMO)

Bestimmung durch Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, VCAM-1 = Vascular Cell Adhesion Molecule 1, • = Werte der einzelnen Patienten

3.5 Marker für oxidativen Stress

3.5.1 Bypass-Patienten und gesunde Probanden

Abbildung 23 zeigt den zeitlichen Verlauf von MDA in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe.

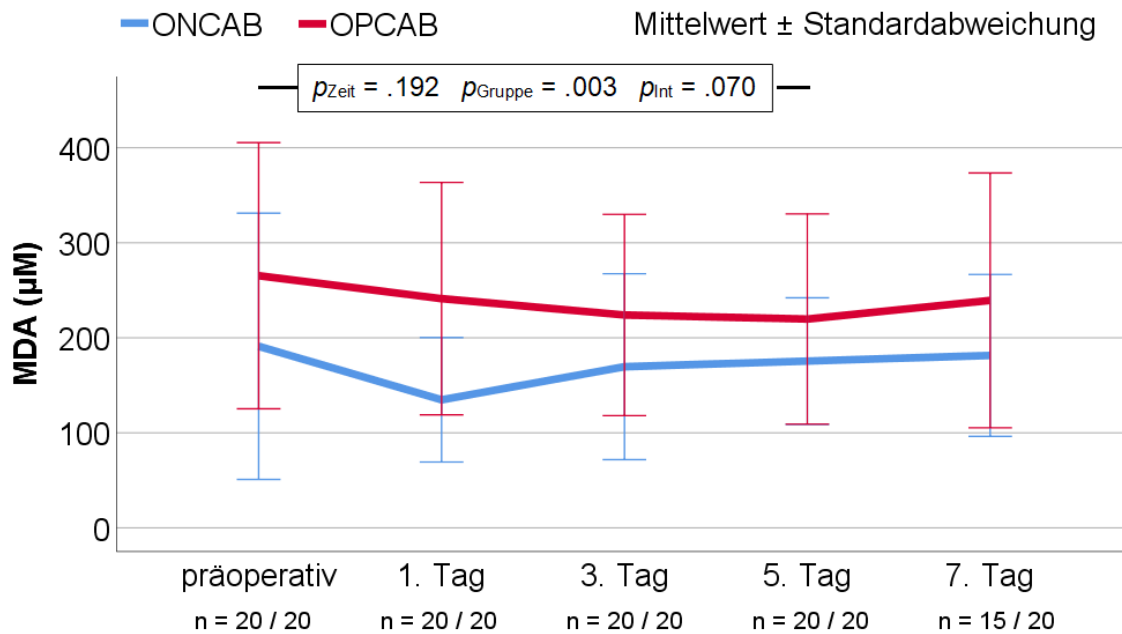


Abbildung 23: MDA (ONCAB und OPCAB)

Photometrische Bestimmung (Cell Meter Intracellular Colorimetric Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit, AAT Bioquest, Sunnyvale, Kalifornien). ONCAB = On-Pump Coronary Artery Bypass, OPCAB = Off-Pump Coronary Artery Bypass, MDA = Malondialdehyd, n = Fallzahl ONCAB / OPCAB, p_{Zeit} = p -Wert für Zeit (nparLD), p_{Gruppe} = p -Wert für Gruppe (nparLD), p_{Int} = p -Wert für Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (nparLD)

In der Kontrollgruppe liegt die mittlere MDA-Konzentration bei 305.60 ± 154.97 μM (nicht in der Abbildung dargestellt). Die Konzentration von MDA ist präoperativ in der ONCAB-Gruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.29$, $p = .010$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .009$). Es bestehen keine Unterschiede zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.29$, $p = .010$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = .122$) sowie zwischen OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-Test, $X^2(2) = 9.29$, $p = .010$, Bonferroni Post-Hoc Test, $p = 1.000$).

In der ONCAB-Gruppe und OPCAB-Gruppe ändert sich die MDA-Konzentration nicht mit der Zeit (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.66) = 1.60, $p = .192$). Sie wird signifikant durch die Gruppenzugehörigkeit beeinflusst (nparLD, ANOVA-

Type Statistic (1) = 8.57, $p = .003$), verläuft aber in beiden Gruppen parallel (nparLD, ANOVA-Type Statistic (2.66) = 2.44, $p = .070$).

3.5.2 ECMO-Patienten

In Abbildung 24 ist der zeitliche Verlauf von MDA in der va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe dargestellt.

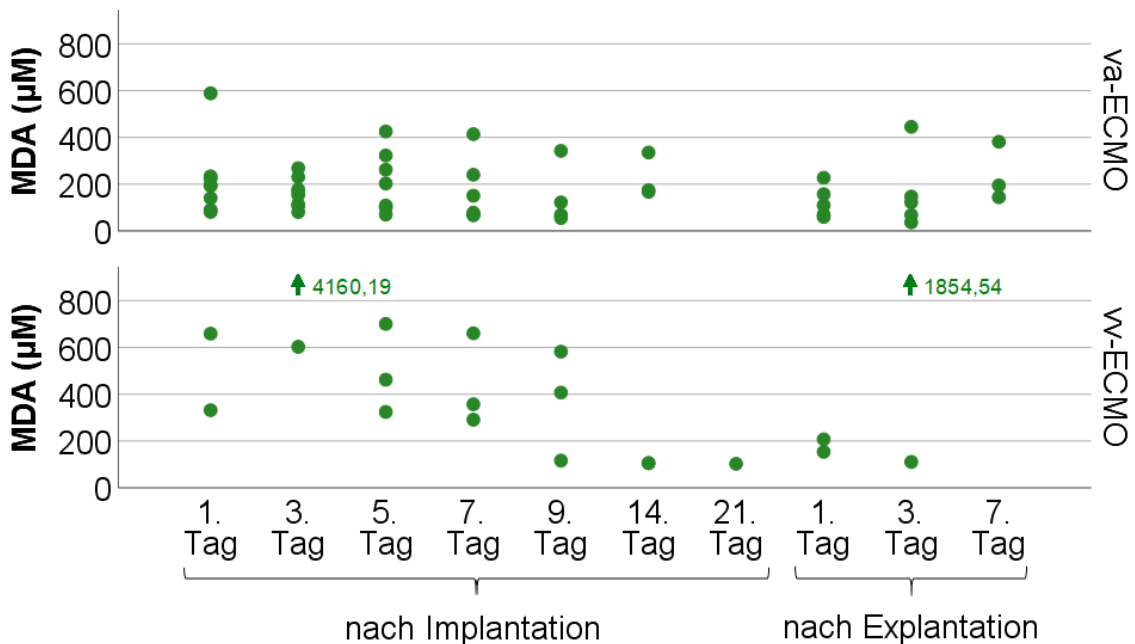


Abbildung 24: MDA (ONCAB und OPCAB)

Photometrische Bestimmung (Cell Meter Intracellular Colorimetric Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit, AAT Bioquest, Sunnyvale, Kalifornien). va = venoarteriell, vv = venovenös, ECMO = Extrakorporale Membranoxygenierung, MDA = Malondialdehyd, • = Werte der einzelnen Patienten, ↑ = Werte außerhalb des Diagrammbereichs

In beiden Gruppen ist MDA tendenziell rückläufig. Die mediane Konzentration fällt zwischen dem 1. und 7. Tag in der va-ECMO-Gruppe von 194.12 µM auf 114.36 µM und in der vv-ECMO-Gruppe von 495.22 µM auf 356.96 µM.

3.6 Korrelation

3.6.1 Bypass-Patienten

Am 1. Tag nach einer Bypassoperation korreliert die Konzentration von VCAM-1 moderat negativ mit dem RHI (Rangkorrelation nach Spearman, $r = -0.38$, $p = .021$). Abbildung 25 zeigt ein Streudiagramm der beiden Variablen.

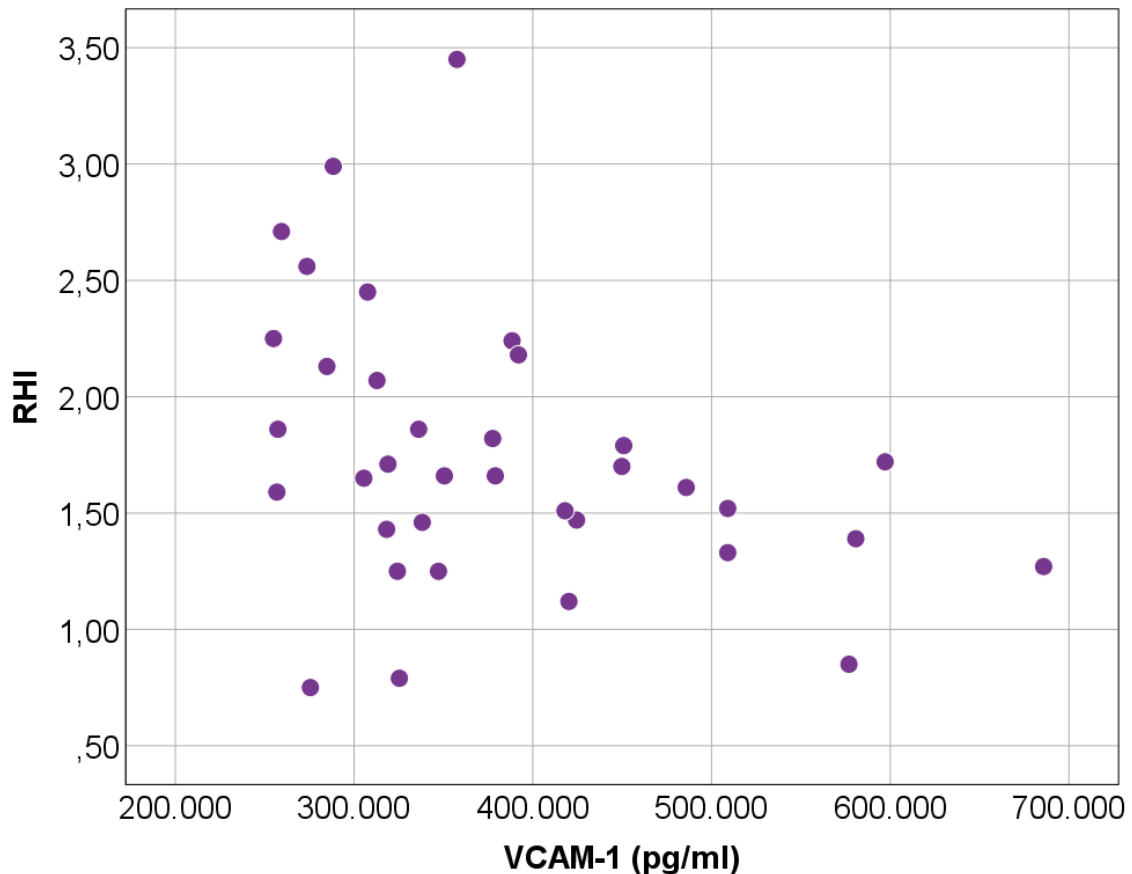


Abbildung 25: Streudiagramm RHI und VCAM-1

Patienten nach Bypassoperation mit und ohne Herz-Lungen-Maschine, 1. postoperativer Tag. Bestimmung mittels EndoPAT (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) und Multiplex-Immunoassay (Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland). RHI = Reactive Hyperemia Index, VCAM-1 = Vascular Cell Adhesion Molecule 1, • = Werte der einzelnen Patienten

Zwischen den weiteren untersuchten Markern für Inflammation und oxidativen Stress und dem RHI besteht keine signifikante Korrelation (Rangkorrelation nach Spearman, RHI und Leukozyten: $r = -0.08$, $p = .663$; RHI und IL-6: $r = -0.04$, $p = .805$; RHI und TNF- α : $r = -0.13$, $p = .462$; RHI und MCP-1: $r = -0.05$, $p = .753$; RHI und SDF-1 α : $r = 0.01$, $p = .953$; RHI und ICAM-1: $r = -0.05$, $p = .760$; RHI und MDA: $r = 0.18$, $p = .285$).

4 Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse in Bezug zum aktuellen Forschungsstand diskutiert und Limitationen der Studie benannt.

4.1 Diskussion der Ergebnisse

In unserer Studie wurde untersucht, wie sich die extrakorporale Zirkulation auf die Endothelfunktion auswirkt, wie sie Marker für Inflammation und oxidativen Stress beeinflusst und ob eine Korrelation zwischen den Parametern besteht.

Bei ONCAB- und OPCAB-Patienten veränderte sich der RHI postoperativ nicht. Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen. Im Hinblick auf Marker für Inflammation und oxidativen Stress zeigte sich nach der Operation ein signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl und der Konzentration von IL-6, MCP-1, SDF-1 α und VCAM-1. Die Konzentration von TNF- α , ICAM-1 und MDA veränderte sich im zeitlichen Verlauf nicht. Mit Ausnahme von IL-6 und MDA bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen der ONCAB- und OPCAB-Gruppe. Die Konzentration von IL-6 war im Verlauf, aber auch schon präoperativ in der OPCAB-Gruppe höher als in der ONCAB-Gruppe, sodass der Unterschied nicht ausschließlich auf die Intervention zurückgeführt werden kann. Bei MDA zeigten sich ebenfalls durchgehend höhere Werte in der OPCAB-Gruppe, auch wenn ein signifikanter Unterschied nur im Verlauf nachgewiesen wurde. Keiner der untersuchten Marker für Inflammation und oxidativen Stress ist in der ONCAB-Gruppe stärker angestiegen als in der OPCAB-Gruppe. Am 1. postoperativen Tag bestand eine moderate negative Korrelation zwischen der Konzentration von VCAM-1 und dem RHI.

Bei Patienten mit ECMO zeigten sich insbesondere zu Beginn der Therapie hohe Konzentrationen der Marker für Inflammation und oxidativen Stress mit teils großen interindividuellen Schwankungen. Es wurden niedrige RHI-Werte ermittelt, die bei einem Teil der Patienten bei 1 oder niedriger lagen.

4.1.1 Endothelfunktion bei ONCAB und OPCAB

Die Endothelfunktion von Patienten mit extrakorporaler Zirkulation wurde bisher nur in wenigen Studien untersucht. Lanzarone et al. konnten bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine eine erniedrigte Konzentration von Nitrit, einem Abbauprodukt von Stickstoffmonoxid, nachweisen. Dies spricht dafür, dass die endotheliale NO-Produktion bei Patienten mit ONCAB reduziert ist (2010). Angdin et al. haben gezeigt, dass die Endothel-abhängige Vasodilatation im Lungenkreislauf bei ONCAB abnimmt und postoperativ signifikant niedriger ist als bei OPCAB (2001). Im Gegensatz dazu fanden Johansson-Synnergren et al. keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In ihrer Studie war die Endothel-abhängige Vasodilatation in Gefäßen des Unterarms bei Patienten mit ONCAB und Patienten mit OPCAB vergleichbar (2004).

Auch unsere Studie konnte hinsichtlich der Endothelfunktion keinen Unterschied zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe nachweisen. In beiden Gruppen blieb der RHI über die Zeit konstant und die Endothel-abhängigen Vasodilatation nahm postoperativ nicht ab.

Diese Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine keine systemische, sondern nur eine lokale Endotheldysfunktion auftritt. Myokard und Lunge werden während der extrakorporalen Zirkulation für mehrere Minuten nicht oder nur eingeschränkt durchblutet und sind durch Ischämie-Reperfusionsschäden besonders vulnerabel (Zahler et al., 1999, Massoudy et al., 2001). Dies führt möglicherweise dazu, dass eine Störung der Endothelfunktion auf diese Organe begrenzt bleibt. In Tierversuchen wurde bereits gezeigt, dass Ischämie und Reperfusion von Herz und Lunge eine endotheliale Dysfunktion hervorrufen. Tsao et al., Quillen et al. und Lefer et al. haben nach Reperfusion eine Abnahme der Endothel-abhängigen Vasodilatation in kardialen Gefäßen nachgewiesen (Tsao et al., 1990, Quillen et al., 1990, Lefer et al., 1992), Davenpeck et al. in pulmonalen Gefäßen (Davenpeck et al., 1993). Eine lokale Endothelfunktion wäre mit unseren Ergebnissen ebenso wie mit denen der bereits genannten Vorarbeiten vereinbar. Da es jedoch nur wenige Untersuchungen am Menschen gibt, sind weitere Studien notwendig, um diese Hypothese zu prüfen.

4.1.2 Inflammation bei ONCAB und OPCAB

In früheren Studien wurden bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine meist höhere Entzündungsparameter gemessen als bei solchen ohne Herz-Lungen-Maschine. Al-Ruzzeh et al. fanden bei Patienten mit ONCAB eine vermehrte Expression des Adhäsionsmoleküls CD11b, was auf eine Aktivierung neutrophiler Granulozyten schließen lässt (2003). Ascione et al. haben bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine eine höhere Konzentration des Enzyms Elastase nachgewiesen (2000). In einer Studie von Wan et al. war die Konzentration von IL-6, IL-8, IL-10 und TNF- α in der ONCAB-Gruppe höher, auch VCAM-1 stieg zu einem Zeitpunkt stärker an als in der OPCAB-Gruppe (2004). Wildhirt et al. haben zusätzlich gezeigt, dass das Adhäsionsmolekül ICAM-1 bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine systemisch und kardial stärker exprimiert wird als bei solchen ohne Herz-Lungen-Maschine (2001). Die beobachteten Unterschiede zwischen ONCAB und OPCAB legen nahe, dass die extrakorporale Zirkulation einen wichtigen Auslöser der Entzündungsreaktion darstellt.

In unserer Studie haben sich diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigt. Keiner der untersuchten Marker für Inflammation ist in der ONCAB-Gruppe stärker angestiegen als in der OPCAB-Gruppe. Unsere Daten geben somit keinen Anhalt dafür, dass die Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine die postoperative Entzündungsreaktion beeinflusst. Andere Faktoren, wie beispielsweise das chirurgische Trauma, scheinen im Vordergrund zu stehen.

Dies hängt möglicherweise mit der ständigen Weiterentwicklung von Schlauchsystemen, Pumpen und Oxygenatoren zusammenhängen. Eine im Vergleich zu früheren Herz-Lungen-Maschinen verbesserte Biokompatibilität könnte den fehlenden Einfluss der extrakorporalen Zirkulation in unserer Studie erklären. Hierfür spricht, dass eine weitere Studie, die in den letzten Jahren veröffentlicht wurden, ebenfalls keine Unterschiede zwischen ONCAB und OPCAB nachweisen konnten. Müller-Eising et al. haben Patienten mit ONCAB, OPCAB und minimalisierter extrakorporaler Zirkulation untersucht und fanden einen Anstieg von Leukozyten, TNF- α , CRP, ICAM-1 und P-Selektin ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (2014).

Es muss allerdings auch der Studienaufbau berücksichtigt werden. Im Gegensatz zu vielen der bereits genannten Arbeiten wurden die Patienten in unserer Studie nicht am Operationstag untersucht. Über die erste Phase der Entzündungsreaktion während und unmittelbar nach der Operation kann daher keine Aussage getroffen werden. Bei Al-Ruzzeh et al., Ascione et al. Wan et al. und Wildhirt et al. traten Unterschiede zwischen ONCAB und OPCAB meist sehr früh im postoperativen Verlauf auf, sodass es möglich erscheint, dass kurzzeitige Unterschiede zwischen den Gruppen in unserer Studie nicht erfasst wurden.

4.1.3 Oxidativer Stress bei ONCAB und OPCAB

Es gibt mehrere Belege dafür, dass die Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine bei Bypassoperationen zu oxidativem Stress führt. In einer Studie von Matata et al. trat in der ONCAB-Gruppe ein Anstieg von Lipidhydroperoxiden, Proteincarbonylen und Nitrotyrosin auf, während die Werte der OPCAB-Gruppe sich nicht veränderten (2000). In ähnlicher Weise haben Cavalca et al. gezeigt, dass erhöhte Konzentrationen von Isoprostan und Malondialdehyd nur bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine auftreten. Die antioxidative Kapazität fiel in ihrer Studie bei Patienten mit ONCAB stärker ab als bei Patienten mit OPCAB (2006).

Unsere Ergebnisse stimmen hiermit nicht überein. Da die MDA-Konzentration postoperativ nicht angestiegen ist, konnte nicht bestätigt werden, dass die Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine mit oxidativem Stress assoziiert ist.

Ähnlich wie bei den Markern für Inflammation muss auch hier beachtet werden, dass die Patienten in unserer Studie nicht am Operationstag untersucht wurden. Eine kurze Phase mit oxidativem Stress während oder unmittelbar nach der Operation kann daher nicht ausgeschlossen werden. Dies erklärt möglicherweise die Differenzen zwischen unseren Ergebnissen und denen von Matata et al. und Cavalca et al.

4.1.4 Korrelation bei ONCAB und OPCAB

Eine akute Inflammation kann die NO-Synthese und die Endothel-abhängige Vasodilatation beeinträchtigen (Zhang et al., 1997, Hingorani et al., 2000). Dies

legt nahe, dass eine Korrelation zwischen Markern für Inflammation und oxidativen Stress und der Endothel-abhängigen Vasodilatation besteht.

In unserer Studie korrelierte die Konzentration von VCAM-1 am 1. Tag nach Bypassoperationen mit und ohne Herz-Lungen-Maschine moderat negativ mit dem RHI.

Ähnliche Ergebnisse wurden bereits bei Patienten mit Peripherer arterieller Verschlusskrankheit erzielt. Hier wiesen Patienten mit hoher ICAM-1- und VCAM-1-Konzentration eine schlechtere Endothel-abhängige Vasodilatation auf als Patienten mit niedriger Konzentration (Brevetti et al., 2001). In einer weiteren Studie zeigten Patienten mit Koronarer Herzkrankheit höhere Konzentrationen von VCAM-1 als gesunde Probanden (Semaan et al., 2000). Die Daten sprechen dafür, dass ein Zusammenhang zwischen der inflammatorischen Aktivierung des Endothels und einer gestörten NO-Synthese besteht.

4.1.5 Aspekte bei va-ECMO und vv-ECMO

Unsere Patienten zeigten zu Beginn der ECMO-Therapie laborchemisch hohe Marker für Inflammation und oxidativen Stress. Gleichzeitig wurden niedrige RHI-Werte erfasst, die für eine endotheliale Dysfunktion sprechen können. Im Verlauf blieben die Entzündungsparameter auf einem vergleichbaren Niveau oder fielen ab, während der RHI tendenziell anstieg. Eine Zunahme von Inflammation und oxidativem Stress mit steigender Dauer der extrakorporalen Zirkulation trat in unserer Studie nicht auf.

Diese Beobachtungen passen gut zu einer Studie von Burrell et al., in der Entzündungsparameter wie IL-6, IL-8 und TNF- α nach Beginn einer vv-ECMO-Therapie ebenfalls rückläufig waren. Die Konzentration der Zytokine wurde in dieser Studie signifikant durch die Grunderkrankung, das heißt die Ursache des ARDS, und die Beatmung der Patienten beeinflusst (2017).

Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die von uns untersuchten Marker für Inflammation und oxidativen Stress primär den kritischen Zustand der Patienten zu Therapiebeginn und eine schrittweise Rekonvaleszenz widerspiegeln. Die in Versuchen mit simulierter ECMO nachweisbare Inflammation durch Kontakt zu

Fremdoberflächen (Adrian et al., 1998) könnte eine geringere Rolle spielen, als häufig angenommen wird.

Andererseits ist auch denkbar, dass die Implantation der ECMO einen raschen Anstieg von Entzündungsparametern hervorruft und diese im weiteren Verlauf durch Anpassungsvorgänge wieder abfallen. Dies kann anhand unserer Daten nicht beurteilt werden. In der Studie von Burrell et al. wurden jedoch bereits am 1. Tag der ECMO-Therapie niedrigere Konzentrationen von IL-6, IL-8 und TNF- α nachgewiesen als vor Implantation der ECMO.

Die ermittelten RHI-Werte von bis unter 1 weisen darauf hin, dass bei einem Teil der ECMO-Patienten eine schwere endotheliale Dysfunktion vorliegt. Ähnlich wie die hohen Entzündungsparameter könnte der niedrige RHI eine Folge des kritischen Zustandes sein, in dem sich die Patienten zu Beginn der Therapie befinden oder aber durch die extrakorporale Zirkulation mitbedingt sein. Aufgrund verschiedener Limitationen unserer Arbeit müssen diese Beobachtungen in größeren Studien verifiziert werden.

4.2 Limitationen

Die hier präsentierte Studie hat einige Limitationen, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen.

Die Probanden wurden nicht randomisiert. Daher ist es möglich, dass strukturelle Unterschiede zwischen der ONCAB- und OPCAB-Gruppe bestehen. Hinsichtlich der untersuchten klinischen und demografischen Daten scheinen die Gruppen vergleichbar zu sein, es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass sie sich in anderen Bereichen unterscheiden.

Eine weitere Limitation ist die fehlende Standardisierung der Therapie. Alle therapeutischen Entscheidungen wurden durch die behandelnden Ärzte getroffen und nicht durch die Studienteilnahme beeinflusst. Somit können unerwünschte Behandlungsunterschiede zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe vorhanden sein.

In der va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe wurden nur wenige Patienten untersucht. Es erfolgte eine rein deskriptive Auswertung, sodass keine Rückschlüsse auf die Grundgesamtheit möglich sind. Auch in der ONCAB- und OPCAB-Gruppe sowie in der Kontrollgruppe ist die Fallzahl von je 20 Patienten niedrig, die Ergebnisse sollten daher in größeren Studien bestätigt werden.

Limitationen bestehen auch hinsichtlich der Untersuchungsmethode für die Endothelfunktion. Der verwendete EndoPAT-Test liefert bei gesunden Erwachsenen verlässliche Ergebnisse (Brant et al., 2013, McCrea et al., 2012), bei Patienten mit KHK scheint die Reliabilität jedoch eingeschränkt zu sein. Nil et al. haben Patienten mit stabiler Herzerkrankung mehrmals mit dem EndoPAT-Test untersucht und ermittelten eine Intraklassen-Korrelation von nur 0,45 – 0,51 (2014). Bei Patienten mit ECMO-Therapie wurde der Endo-PAT-Test bisher nicht verwendet. In unserer Studie konnte die Untersuchung in mehreren Fällen nicht ausgewertet werden, da die Signalqualität zu niedrig war. Dies führen wir vor allem auf eine Kreislaufzentralisation mit schlechter peripherer Durchblutung und den teils kontinuierlichen Blutfluss während der ECMO-Therapie zurück.

4.3 Schlussfolgerungen

Unsere Erkenntnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Ob die Endothelfunktion durch eine Operation mit Herz-Lungen-Maschine beeinträchtigt wird, ist nicht abschließend geklärt. In unserer Studie unterschied sich die Endothel-abhängige Vasodilatation nicht zwischen Patienten mit ONCAB und OPCAB, der RHI blieb in beiden Gruppen über die Zeit stabil. Dies spricht dagegen, dass der Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine eine systemische Endotheldysfunktion verursacht. Es ist allerdings möglich, dass die reduzierte Durchblutung von Myokard und Lunge eine lokalen Endotheldysfunktion auslöst, die durch den EndoPAT-Test nicht erfasst wird. Weitere Studien sollten untersuchen, ob Operationen mit Herz-Lungen-Maschine eine solche Störung verursachen und ob ein Zusammenhang mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität besteht.

Sowohl bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine als auch bei solchen ohne Herz-Lungen-Maschine tritt eine Entzündungsreaktion auf. Diese äußert sich durch einen Anstieg verschiedener Marker für Inflammation, darunter Leukozyten, IL-6, MCP-1, SDF-1 α und VCAM-1. Die extrakorporale Zirkulation scheint die Entzündungsreaktion nicht nachhaltig zu beeinflussen, eine kurzzeitige Akzentuierung kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Eine postoperative Zunahme von oxidativem Stress wurde in unserer Studie bei keinem der Operationsverfahren beobachtet.

Am 1. Tag nach Bypassoperationen korreliert die Konzentration von VCAM-1 moderat negativ mit der Endothel-abhängigen Vasodilatation. Dies spricht für einen Zusammenhang zwischen inflammatorischer Aktivierung des Endothels und gestörter NO-Synthese.

Zu Beginn einer ECMO-Therapie zeigten die Patienten in unserer Studie hohe Marker für Inflammation und oxidativen Stress. Diese waren im Verlauf tendenziell rückläufig. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die bei der ECMO-Therapie beobachtete Entzündungsreaktion vor allem durch den Verlauf der Grunderkrankung bestimmt wird und die extrakorporale Zirkulation sich weniger stark auswirkt. In den ersten Tagen wurden niedrige RHI-Werte gemessen, die darauf hinweisen, dass bei einem Teil der ECMO-Patienten eine schwere endotheliale Dysfunktion vorliegt. Wegen der niedrigen Fallzahl und den Einschränkungen der verwendeten Untersuchungsmethode müssen unsere Beobachtungen in weiteren Studien überprüft werden.

5 Zusammenfassung

Bei Operationen mit Herz-Lungen-Maschine und anderen Verfahren mit extrakorporaler Zirkulation ist eine systemische Entzündungsreaktion beschrieben. Diese geht mit einer Aktivierung von Leukozyten und der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Sauerstoffradikale einher. Studien weisen darauf hin, dass das Endothel im Rahmen der Entzündungsreaktion geschädigt wird und eine endotheliale Dysfunktion auftritt.

Die vorliegende Arbeit soll daher zeigen, wie sich die extrakorporale Zirkulation auf die Endothelfunktion auswirkt, wie sie Marker für Inflammation und oxidativen Stress beeinflusst und ob eine Korrelation zwischen den untersuchten Markern und der Endothelfunktion besteht.

Es wurde eine prospektive klinische Studie durchgeführt. Eingeschlossen wurden 20 Patienten mit konventioneller Bypassoperation (ONCAB-Gruppe), 20 Patienten mit Bypassoperation ohne Herz-Lungen-Maschine (OPCAB-Gruppe), 20 gesunde Probanden (Kontrollgruppe), 8 Patienten mit venoarterieller ECMO-Therapie (va-ECMO-Gruppe) und 3 Patienten mit venovenöser ECMO-Therapie (vv-ECMO-Gruppe). Bei allen Probanden wurde die Endothel-abhängige Vasodilatation mit dem EndoPAT-Test (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) untersucht. Parallel wurden in Blutproben Leukozyten, Interleukin 6 (IL-6), Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1), Stromal Cell Derived Factor 1 α (SDF-1 α), Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1), Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) als Marker für Inflammation und Malondialdehyd (MDA) als Marker für oxidativen Stress bestimmt. Klinische und demografische Informationen wurden der elektronischen Patientenakte entnommen. Die erhobenen Daten wurden auf signifikante Unterschiede zwischen ONCAB-Gruppe, OPCAB-Gruppe und Kontrollgruppe sowie auf Unterschiede im zeitlichen Verlauf hin untersucht. Für den 1. postoperativen Tag wurde ermittelt, ob eine Korrelation zwischen Markern für Inflammation und oxidativen Stress und der Endothelfunktion besteht. Die va-ECMO- und vv-ECMO-Gruppe wurden aufgrund der geringen Fallzahl rein deskriptiv ausgewertet.

Bei Patienten mit Bypassoperation veränderte sich der Reactive Hyperemia Index (RHI) als Maß für die Endothel-abhängige Vasodilatation im zeitlichen Verlauf nicht. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen ONCAB- und OPCAB-Gruppe nachweisbar. Innerhalb der Gruppen kam es im zeitlichen Verlauf zu einem signifikanten Anstieg der Leukozytenzahl ($p < .001$) und der Konzentration von IL-6 ($p < 0.001$), MCP-1 ($p = .001$), SDF-1 α ($p < .001$) und VCAM-1 ($p < .001$). Dieser war in der ONCAB-Gruppe nicht stärker ausgeprägt als in der OPCAB-Gruppe. Die Konzentration von TNF- α , ICAM-1 und MDA blieb im zeitlichen Verlauf stabil. Am 1. postoperativen Tag bestand eine moderate negative Korrelation zwischen der Konzentration von VCAM-1 und dem RHI ($r = -0.38$, $p = .021$).

Unserer Ergebnisse sprechen dagegen, dass Operationen mit Herz-Lungen-Maschine zu einer systemischen Endotheldysfunktion führen. Es ist jedoch möglich, dass Ischämie-Reperfusionsschäden eine lokale Funktionsstörung des Endothels in Myokard und Lunge hervorrufen. Dies sollte in weiteren Studien untersucht werden. Die postoperative Entzündungsreaktion scheint nicht oder nur transient durch die extrakorporale Zirkulation beeinflusst zu werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die technische Weiterentwicklung der Herz-Lungen-Maschine, die eine verbesserte Biokompatibilität mit sich bringt. Eine Zunahme von oxidativem Stress konnte bei Operationen mit und ohne Herz-Lungen-Maschine nicht nachgewiesen werden. Aufgrund der negativen Korrelation von VCAM-1 und Endothel-abhängiger Vasodilatation ist es wahrscheinlich, dass ein Zusammenhang zwischen inflammatorischer Aktivierung des Endothels und gestörter NO-Synthese besteht.

Bei Patienten mit ECMO zeigten sich hohe Marker für Inflammation und oxidativen Stress, die nach Therapiebeginn tendenziell abnahmen oder konstant blieben. Vor allem in den ersten Tagen wurden auch niedrige RHI-Werte von bis unter 1 beobachtet. Dies kann möglicherweise auf die schwere Erkrankung der Patienten zu Therapiebeginn und eine schrittweise Rekonvaleszenz zurückgeführt werden. Die extrakorporale Zirkulation scheint einen geringeren Einfluss zu haben. Aufgrund von methodischen Limitationen sind weitere Studien mit ECMO-Patienten notwendig, um unsere Ergebnisse zu überprüfen.

6 Literaturverzeichnis

- Adrian, K., Mellgren, K., Skogby, M., Friberg, L. G., Mellgren, G. & Wadenvik, H. (1998): Cytokine release during long-term extracorporeal circulation in an experimental model. *Artificial Organs*, 22, 859-863.
- Aebert, H., Kirchner, S., Keyser, A., Birnbaum, D. E., Holler, E., Andreesen, R. & Eissner, G. (2000): Endothelial apoptosis is induced by serum of patients after cardiopulmonary bypass. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 18, 589-593.
- Al-Ruzzeh, S., Hoare, G., Marczin, N., Asimakopoulos, G., George, S., Taylor, K. & Amrani, M. (2003): Off-pump coronary artery bypass surgery is associated with reduced neutrophil activation as measured by the expression of CD11b: A prospective randomized study. *Heart Surgery Forum*, 6, 89-93.
- Andresen, T. K., Svennevig, J. L. & Videm, V. (2002): Soluble VCAM-1 is a very early marker of endothelial cell activation in cardiopulmonary bypass. *Perfusion-Uk*, 17, 15-21.
- Angdin, M., Settergren, G. & Vaage, J. (2001): Better preserved pulmonary endothelium-dependent vasodilation with off-pump coronary surgery. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 35, 264-269.
- Ascione, R., Lloyd, C. T., Underwood, M. J., Lotto, A. A., Pitsis, A. A. & Angelini, G. D. (2000): Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 69, 1198-204.
- Bauersachs, J. & Widder, J. D. (2008): Endothelial dysfunction in heart failure. *Pharmacol Rep*, 60, 119-26.
- Beckmann, A., Meyer, R., Lewandowski, J., Markewitz, A. & Gummert, J. (2020): German Heart Surgery Report 2019: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*, 68, 263-276.
- Bhagat, K. & Vallance, P. (1997): Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation*, 96, 3042-3047.
- Bleul, C. C., Fuhlbrigge, R. C., Casasnovas, J. M., Aiuti, A. & Springer, T. A. (1996): A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). *J Exp Med*, 184, 1101-9.
- Bonetti, P. O., Pumper, G. M., Higano, S. T., Holmes, D. R., Kuvin, J. T. & Lerman, A. (2004): Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *Journal of the American College of Cardiology*, 44, 2137-2141.
- Brant, L. C., Barreto, S. M., Passos, V. M. & Ribeiro, A. L. (2013): Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *J Hypertens*, 31, 1984-90.
- Brevetti, G., Martone, V. D., De Cristofaro, T., Corrado, S., Silvestro, A., Di Donato, A. M., Bucur, R. & Scopacasa, F. (2001): High levels of adhesion molecules are associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with peripheral arterial disease. *Thrombosis and Haemostasis*, 85, 63-66.
- Broxterman, R. M., Witman, M. A., Trinity, J. D., Groot, H. J., Rossman, M. J., Park, S. Y., Malenfant, S., Gifford, J. R., Kwon, O. S., Park, S. H., Jarrett,

- C. L., Shields, K. L., Hydren, J. R., Bisconti, A. V., Owan, T., Abraham, A., Tandar, A., Lui, C. Y., Smith, B. R. & Richardson, R. S. (2019): Strong Relationship Between Vascular Function in the Coronary and Brachial Arteries. *Hypertension*, 74, 208-215.
- Burrell, A. J. C., Lubnow, M., Enger, T. B., Nanjajya, V. B., Philipp, A., Malfertheiner, M. V., Lunz, D., Bein, T., Pellegrino, V. A. & Muller, T. (2017): The impact of venovenous extracorporeal membrane oxygenation on cytokine levels in patients with severe acute respiratory distress syndrome: a prospective, observational study. *Crit Care Resusc*, 19, 37-44.
- Cavalca, V., Sisillo, E., Veglia, F., Tremoli, E., Cighetti, G., Salvi, L., Sola, A., Mussoni, L., Biglioli, P., Folco, G., Sala, A. & Parolari, A. (2006): Isoprostanes and oxidative stress in off-pump and on-pump coronary bypass surgery. *Annals of Thoracic Surgery*, 81, 562-567.
- Celik, J. B., Gormus, N., Okesli, S., Gormus, Z. I. & Solak, H. (2004): Methylprednisolone prevents inflammatory reaction occurring during cardiopulmonary bypass: effects on TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10. *Perfusion*, 19, 185-91.
- Christman, J. W., Lancaster, L. H. & Blackwell, T. S. (1998): Nuclear factor kappa B: a pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy. *Intensive Care Med*, 24, 1131-8.
- Conraads, V. M. A., Bosmans, J. M., Claeys, M. J., Vrints, C. J. M., Snoeck, J. P., Declerck, L. & Vermeire, P. A. (1994): Paradoxical Pulmonary Vasoconstriction in Response to Acetylcholine in Patients with Primary Pulmonary-Hypertension. *Chest*, 106, 385-390.
- Davenpeck, K. L., Guo, J. P. & Lefer, A. M. (1993): Pulmonary artery endothelial dysfunction following ischemia and reperfusion of the rabbit lung. *J Vasc Res*, 30, 145-53.
- De Caterina, R., Libby, P., Peng, H. B., Thannickal, V. J., Rajavashisth, T. B., Gimbrone, M. A., Jr., Shin, W. S. & Liao, J. K. (1995): Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*, 96, 60-8.
- De Vriese, A. S., Verbeuren, T. J., Van De Voorde, J., Lameire, N. H. & Vanhoutte, P. M. (2000): Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol*, 130, 963-74.
- Dejam, A., Hunter, C. J., Schechter, A. N. & Gladwin, M. T. (2004): Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Molecules and Diseases*, 32, 423-429.
- Dieleman, J. M., Peelen, L. M., Coulson, T. G., Tran, L., Reid, C. M., Smith, J. A., Myles, P. S. & Pilcher, D. (2017): Age and other perioperative risk factors for postoperative systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery. *British Journal of Anaesthesia*, 119, 637-644.
- Doguet, F., Litzler, P. Y., Tamion, F., Richard, V., Hellot, M. F., Thuillez, C., Tabley, A., Bouchart, F. & Bessou, J. P. (2004): Changes in mesenteric vascular reactivity and inflammatory response after cardiopulmonary bypass in a rat model. *Ann Thorac Surg*, 77, 2130-7; author reply 2137.

- Duffy, M. J., Mullan, B. A., Craig, T. R., Shyamsundar, M., Macsweeney, R. E., Thompson, G., Stevenson, M. & Mcauley, D. F. (2011): Impaired endothelium-dependent vasodilatation is a novel predictor of mortality in intensive care. *Crit Care Med*, 39, 629-35.
- Edmunds, L. H., Jr. (1993): Blood-surface interactions during cardiopulmonary bypass. *J Card Surg*, 8, 404-10.
- Fortenberry, J. D., Bhardwaj, V., Niemer, P., Cornish, J. D., Wright, J. A. & Bland, L. (1996): Neutrophil and cytokine activation with neonatal extracorporeal membrane oxygenation. *Journal of Pediatrics*, 128, 670-678.
- Gerszten, R. E., Garcia-Zepeda, E. A., Lim, Y. C., Yoshida, M., Ding, H. A., Gimbrone, M. A., Luster, A. D., Luscinskas, F. W. & Rosenzweig, A. (1999): MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature*, 398, 718-723.
- Graulich, J., Sonntag, J., Marcinkowski, M., Bauer, K., Kossel, H., Buhner, C., Obladen, M. & Versmold, H. T. (2002): Complement activation by in vivo neonatal and in vitro extracorporeal membrane oxygenation. *Mediators of Inflammation*, 11, 69-73.
- Gu, Y. J., Mariani, M. A., Boonstra, P. W., Grandjean, J. G. & Van Oeveren, W. (1999): Complement activation in coronary artery bypass grafting patients without cardiopulmonary bypass - The role of tissue injury by surgical incision. *Chest*, 116, 892-898.
- Hermida, N. & Balligand, J. L. (2014): Low-density lipoprotein-cholesterol-induced endothelial dysfunction and oxidative stress: the role of statins. *Antioxid Redox Signal*, 20, 1216-37.
- Hingorani, A. D., Cross, J., Kharbanda, R. K., Mullen, M. J., Bhagat, K., Taylor, M., Donald, A. E., Palacios, M., Griffin, G. E., Deanfield, J. E., Macallister, R. J. & Vallance, P. (2000): Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation*, 102, 994-9.
- Hirthler, M., Simoni, J. & Dickson, M. (1992): Elevated Levels of Endotoxin, Oxygen-Derived Free-Radicals, and Cytokines during Extracorporeal Membrane-Oxygenation. *Journal of Pediatric Surgery*, 27, 1199-1202.
- Hutin, A., Abu-Habsa, M., Burns, B., Bernard, S., Bellezzo, J., Shinar, Z., Torres, E. C., Gueugniaud, P. Y., Carli, P. & Lamhaut, L. (2018): Early ECPR for out-of-hospital cardiac arrest: Best practice in 2018. *Resuscitation*, 130, 44-48.
- Janero, D. R. (1990): Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactivity as Diagnostic Indexes of Lipid-Peroxidation and Peroxidative Tissue-Injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9, 515-540.
- Jansen, N. J. G., Vanoveren, W., Gu, Y. J., Vanvliet, M. H., Eijssman, L. & Wildevuur, C. R. H. (1992): Endotoxin Release and Tumor-Necrosis-Factor Formation during Cardiopulmonary Bypass. *Annals of Thoracic Surgery*, 54, 744-748.
- Johansson-Synergren, M., Nilsson, F., Bengtsson, A., Jeppsson, A. & Wiklund, L. (2004): Off-pump CABG reduces complement activation but does not significantly affect peripheral endothelial function: a prospective randomized study. *Scand Cardiovasc J*, 38, 53-8.

- Karagiannidis, C., Brodie, D., Strassmann, S., Stoelben, E., Philipp, A., Bein, T., Muller, T. & Windisch, W. (2016): Extracorporeal membrane oxygenation: evolving epidemiology and mortality. *Intensive Care Med*, 42, 889-896.
- Karbach, S., Wenzel, P., Waisman, A., Munzel, T. & Daiber, A. (2014): eNOS uncoupling in cardiovascular diseases--the role of oxidative stress and inflammation. *Curr Pharm Des*, 20, 3579-94.
- Khabar, K. S., Elbarbary, M. A., Khouqeer, F., Devol, E., Al-Gain, S. & Al-Halees, Z. (1997): Circulating endotoxin and cytokines after cardiopulmonary bypass: differential correlation with duration of bypass and systemic inflammatory response/multiple organ dysfunction syndromes. *Clin Immunol Immunopathol*, 85, 97-103.
- Khalifian, S., Raimondi, G. & Brandacher, G. (2015): The Use of Luminex Assays to Measure Cytokines. *Journal of Investigative Dermatology*, 135, 2142-2142.
- Kim, B. S., Jacobs, D., Emontzpohl, C., Goetzenich, A., Soppert, J., Jarchow, M., Schindler, L., Averdunk, L., Kraemer, S., Marx, G., Bernhagen, J., Pallua, N., Schlemmer, H. P., Simons, D. & Stoppe, C. (2016): Myocardial Ischemia Induces SDF-1alpha Release in Cardiac Surgery Patients. *J Cardiovasc Transl Res*, 9, 230-238.
- Kinlay, S. & Ganz, P. (1997): Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implications for therapy. *Am J Cardiol*, 80, 111-161.
- Kirshbom, P. M., Jacobs, M. T., Tsui, S. S., Dibernardo, L. R., Schwinn, D. A., Ungerleider, R. M. & Gaynor, J. W. (1996): Effects of cardiopulmonary bypass and circulatory arrest on endothelium-dependent vasodilation in the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 111, 1248-56.
- Lanzarone, E., Gelmini, F., Fumero, A., Carini, M., Costantino, M. L., Fumero, R. & Alfieri, O. (2010): Preservation of endothelium nitric oxide release during beating heart surgery with respect to continuous flow cardiopulmonary bypass. *Perfusion-Uk*, 25, 57-64.
- Lefer, D. J., Nakanishi, K., Vinten-Johansen, J., Ma, X. L. & Lefer, A. M. (1992): Cardiac venous endothelial dysfunction after myocardial ischemia and reperfusion in dogs. *Am J Physiol*, 263, H850-6.
- Macnaul, K. L. & Hutchinson, N. I. (1993): Differential expression of iNOS and cNOS mRNA in human vascular smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions. *Biochem Biophys Res Commun*, 196, 1330-4.
- Massoudy, P., Zahler, S., Becker, B. F., Braun, S. L., Barankay, A. & Meisner, H. (2001): Evidence for inflammatory responses of the lungs during coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Chest*, 119, 31-6.
- Matata, B. M., Sosnowski, A. W. & Galinanes, M. (2000): Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg*, 69, 785-91.
- Matsue, Y., Suzuki, M., Nagahori, W., Ohno, M., Matsumura, A., Hashimoto, Y., Yoshida, K. & Yoshida, M. (2013): Endothelial dysfunction measured by peripheral arterial tonometry predicts prognosis in patients with heart

- failure with preserved ejection fraction. *International Journal of Cardiology*, 168, 36-40.
- Mccrea, C. E., Skulas-Ray, A. C., Chow, M. & West, S. G. (2012): Test-retest reliability of pulse amplitude tonometry measures of vascular endothelial function: implications for clinical trial design. *Vasc Med*, 17, 29-36.
- Messner, B. & Bernhard, D. (2014): Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 34, 509-15.
- Millar, J. E., Fanning, J. P., Mcdonald, C. I., Mcauley, D. F. & Fraser, J. F. (2016): The inflammatory response to extracorporeal membrane oxygenation (ECMO): a review of the pathophysiology. *Crit Care*, 20, 387.
- Morita, K., Ihnken, K., Buckberg, G. D., Sherman, M. P. & Ignarro, L. J. (1996): Pulmonary vasoconstriction due to impaired nitric oxide production after cardiopulmonary bypass. *Annals of Thoracic Surgery*, 61, 1775-1780.
- Müller-Eising, K., Hönicka, M., Rupp, P., Deininger, S., Kunert, A., Liebold, A. & Gorki, H. (2014): Less inflammation by off-pump surgery? A randomized comparison to minimized extracorporeal circulation and conventional coronary bypass grafting. *Thorac Cardiovasc Surg*, 62, SC113.
- Naghavi, M., Abajobir, A. A., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abd-Allah, F., Abera, S. F., Aboyans, V., Adetokunboh, O., Arnlov, J., Afshin, A., Agrawal, A., Kiadaliri, A. A., Ahmadi, A., Ahmed, M. B., Aichour, A. N., Aichour, I., Aichour, M. T. E., Aiyar, S., Al-Eyadhy, A., Alahdab, F., Al-Aly, Z., Alam, K., Alam, N., Alam, T., Alene, K. A., Ali, S. D., Alizadeh-Navaei, R., Alkaabi, J. M., Alkerwi, A., Alla, F., Allebeck, P., Allen, C., Al-Raddadi, R., Alsharif, U., Altirkawi, K. A., Alvis-Guzman, N., Amare, A. T., Amini, E., Ammar, W., Amoako, Y. A., Anber, N., Andersen, H. H., Andrei, C. L., Androudi, S., Ansari, H., Antonio, C. a. T., Anwari, P., Arora, M., Artaman, A., Aryal, K. K., Asayesh, H., Asgedom, S. W., Atey, T. M., Avila-Burgos, L., Avokpaho, E. F. G. A., Awasthi, A., Paulina, B., Quintanilla, A., Bejot, Y., Babalola, T. K., Bacha, U., Balakrishnan, K., Barac, A., Barboza, M. A., Barker-Collo, S. L., Barquera, S., Barregard, L., Barrero, L. H., Baune, B. T., Bedi, N., Beghi, E., Bekele, B. B., Bell, M. L., Bennett, J. R., Bensenor, I. M., Berhane, A., Bernabe, E., Betsu, B. D., Beuran, M., Bhatt, S., Biadgilign, S., Bienhoff, K., Bikbov, B., Bisanzio, D., Bourne, R. R. A., Breitborde, N. J. K., Negesa, L., Bullo, B., Bumgarner, B. R., Butt, Z. A., Cardenas, R., Cahuana-Hurtado, L., Cameron, E., Campuzano, J. C., Car, J., Carrero, J. J., Carter, A., Casey, D. C., Castaneda-Orjuela, C. A., Catala-Lopez, F., et al. (2017): Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390, 1151-1210.
- Nakano, T., Tominaga, R., Nagano, I., Okabe, H. & Yasui, H. (2000): Pulsatile flow enhances endothelium-derived nitric oxide release in the peripheral vasculature. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 278, H1098-H1104.

- Nil, M., Schafer, D., Radtke, T., Saner, H., Wilhelm, M. & Eser, P. (2014): Reproducibility of peripheral arterial tonometry measurements in male cardiovascular patients. *Eur J Clin Invest*, 44, 1065-71.
- Noguchi, K., Gel, Y. R., Brunner, E. & Konietzschke, F. (2012): nparLD: An R Software Package for the Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments. *Journal of Statistical Software*, 50, 1-23.
- Paparella, D., Yau, T. M. & Young, E. (2002): Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update. *Eur J Cardiothorac Surg*, 21, 232-44.
- Park, K. W., Tofukuji, M., Metais, C., Comunale, M. E., Dai, H. B., Simons, M., Stahl, G. L., Agah, A. & Sellke, F. W. (1999): Attenuation of endothelium-dependent dilation of pig pulmonary arterioles after cardiopulmonary bypass is prevented by monoclonal antibody to complement C5a. *Anesth Analg*, 89, 42-8.
- Partrick, D. A., Moore, E. E., Fullerton, D. A., Barnett, C. C., Jr., Meldrum, D. R. & Silliman, C. C. (1999): Cardiopulmonary bypass renders patients at risk for multiple organ failure via early neutrophil priming and late neutrophil disability. *J Surg Res*, 86, 42-9.
- Patvardhan, E. A., Heffernan, K. S., Ruan, J. M., Soffler, M. I., Karas, R. H. & Kuvin, J. T. (2010): Assessment of Vascular Endothelial Function With Peripheral Arterial Tonometry Information at Your Fingertips? *Cardiology in Review*, 18, 20-28.
- Quillen, J. E., Sellke, F. W., Brooks, L. A. & Harrison, D. G. (1990): Ischemia-reperfusion impairs endothelium-dependent relaxation of coronary microvessels but does not affect large arteries. *Circulation*, 82, 586-94.
- Radomski, M. W., Palmer, R. M. & Moncada, S. (1987): Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 2, 1057-8.
- Raja, S. G. & Berg, G. A. (2007): Impact of off-pump coronary artery bypass surgery on systemic inflammation: current best available evidence. *J Card Surg*, 22, 445-55.
- Ras, R. T., Streppel, M. T., Draijer, R. & Zock, P. L. (2013): Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: a systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol*, 168, 344-51.
- Rinder, C. S., Fontes, M., Mathew, J. P., Rinder, H. M., Smith, B. R. & Is, M. S. P. (2003): Neutrophil CD11b upregulation during cardiopulmonary bypass is associated with postoperative renal injury. *Annals of Thoracic Surgery*, 75, 899-905.
- Rubinshtein, R., Kuvin, J. T., Soffler, M., Lennon, R. J., Lavi, S., Nelson, R. E., Pumper, G. M., Lerman, L. O. & Lerman, A. (2010): Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *European Heart Journal*, 31, 1142-1148.
- Ruel, M., Suuronen, E. J., Song, J., Kapila, V., Gunning, D., Waghray, G., Rubens, F. D. & Mesana, T. G. (2005): Effects of off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting on function and viability of circulating endothelial progenitor cells. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 130, 633-9.

- Schmid, F. X., Floerchinger, B., Vudattu, N. K., Eissner, G., Haubitz, M., Holler, E., Andreesen, R. & Birnbaum, D. E. (2006a): Direct evidence of endothelial injury during cardiopulmonary bypass by demonstration of circulating endothelial cells. *Perfusion-Uk*, 21, 133-137.
- Schmid, F. X., Vudattu, N., Floerchinger, B., Hilker, M., Eissner, G., Hoenicka, M., Holler, E. & Birnbaum, D. E. (2006b): Endothelial apoptosis and circulating endothelial cells after bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*, 29, 496-500.
- Schmidt, F. E., Jr., Macdonald, M. J., Murphy, C. O., Brown, W. M., 3rd, Gott, J. P. & Guyton, R. A. (1996): Leukocyte depletion of blood cardioplegia attenuates reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 62, 1691-6; discussion 1696-7.
- Sellke, F. W., Shafique, T., Ely, D. L. & Weintraub, R. M. (1993a): Coronary Endothelial Injury after Cardiopulmonary Bypass and Ischemic Cardioplegia Is Mediated by Oxygen-Derived Free-Radicals. *Circulation*, 88, 395-400.
- Sellke, F. W., Shafique, T., Schoen, F. J. & Weintraub, R. M. (1993b): Impaired endothelium-dependent coronary microvascular relaxation after cold potassium cardioplegia and reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 105, 52-8.
- Semaan, H. B., Gurbel, P. A., Anderson, J. L., Muhlestein, J. B., Carlquist, J. F., Horne, B. D. & Serebruany, V. L. (2000): Soluble VCAM-1 and E-Selectin, but Not ICAM-1 Discriminate Endothelial Injury in Patients with Documented Coronary Artery Disease. *Cardiology*, 93, 7-10.
- Stamler, A., Wang, S. Y., Aguirre, D. E., Johnson, R. G. & Sellke, F. W. (1997): Cardiopulmonary bypass alters vasomotor regulation of the skeletal muscle microcirculation. *Ann Thorac Surg*, 64, 460-5.
- Szabo, G., Seres, L., Soos, P., Gorenflo, M., Merkely, B., Horkay, F., Karck, M. & Radovits, T. (2011): Tetrahydrobiopterin improves cardiac and pulmonary function after cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*, 40, 695-700.
- Tavakol, M., Ashraf, S. & Brener, S. J. (2012): Risks and complications of coronary angiography: a comprehensive review. *Glob J Health Sci*, 4, 65-93.
- Thijssen, D. H. J., Black, M. A., Pyke, K. E., Padilla, J., Atkinson, G., Harris, R. A., Parker, B., Widlansky, M. E., Tschakovsky, M. E. & Green, D. J. (2011): Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300, H2-H12.
- Tofukuji, M., Stahl, G. L., Agah, A., Metais, C., Simons, M. & Sellke, F. W. (1998): Anti-C5a monoclonal antibody reduces cardiopulmonary bypass and cardioplegia-induced coronary endothelial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 116, 1060-8.
- Tonz, M., Mihaljevic, T., Von Segesser, L. K., Fehr, J., Schmid, E. R. & Turina, M. I. (1995): Acute lung injury during cardiopulmonary bypass. Are the neutrophils responsible? *Chest*, 108, 1551-6.

- Tsao, P. S., Aoki, N., Lefer, D. J., Johnson, G., 3rd & Lefer, A. M. (1990): Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation*, 82, 1402-12.
- Ugucioni, M., D'apuzzo, M., Loetscher, M., Dewald, B. & Baggiolini, M. (1995): Actions of the chemotactic cytokines MCP-1, MCP-2, MCP-3, RANTES, MIP-1 alpha and MIP-1 beta on human monocytes. *Eur J Immunol*, 25, 64-8.
- Vanhoutte, P. M. (1996): Endothelial dysfunction in hypertension. *J Hypertens Suppl*, 14, S83-93.
- Vermeulen Windsant, I. C., De Wit, N. C., Sertorio, J. T., Van Bijnen, A. A., Ganushchak, Y. M., Heijmans, J. H., Tanus-Santos, J. E., Jacobs, M. J., Maessen, J. G. & Buurman, W. A. (2014): Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Front Physiol*, 5, 340.
- Vita, J. A., Treasure, C. B., Nabel, E. G., Mclenachan, J. M., Fish, R. D., Yeung, A. C., Vekshtein, V. I., Selwyn, A. P. & Ganz, P. (1990): Coronary Vasomotor Response to Acetylcholine Relates to Risk-Factors for Coronary-Artery Disease. *Circulation*, 81, 491-497.
- Vos, T., Abajobir, A. A., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abate, K. H., Abd-Allah, F., Abdulle, A. M., Abebo, T. A., Abera, S. F., Aboyans, V., Abu-Raddad, L. J., Ackerman, I. N., Adamu, A. A., Adetokunboh, O., Afarideh, M., Afshin, A., Agarwal, S. K., Aggarwal, R., Agrawal, A., Agrawal, S., Kiadaliri, A. A., Ahmadi, H., Ahmed, M. B., Aichour, A. N., Aichour, I., Aichour, M. T. E., Aiyar, S., Akinyemi, R. O., Akseer, N., Al Lami, F. H., Alahdab, F., Al-Aly, Z., Alam, K., Alam, N., Alam, T., Alasfoor, D., Alene, K. A., Ali, R., Alizadeh-Navaei, R., Alkerwi, A., Alla, F., Allebeck, P., Allen, C., Al-Maskari, F., Al-Raddadi, R., Alsharif, U., Alsowaidi, S., Altirkawi, K. A., Amare, A. T., Amini, E., Ammar, W., Amoako, Y. A., Andersen, H. H., Antonio, C. a. T., Anwar, P., Arnlov, J., Artaman, A., Aryal, K. K., Asayesh, H., Asgedom, S. W., Assadi, R., Atey, T. M., Atnafu, N. T., Atre, S. R., Avila-Burgos, L., Avokpaho, E. F. G. A., Awasthi, A., Quintanilla, B. P. A., Saleem, H. O. B., Bacha, U., Badawi, A., Balakrishnan, K., Banerjee, A., Bannick, M. S., Barac, A., Barber, R. M., Barker-Collo, S. L., Barnighausen, T., Barquera, S., Barregard, L., Barrero, L. H., Basu, S., Battista, B., Battle, K. E., Baune, B. T., Bazargan-Hejazi, S., Beardsley, J., Bedi, N., Beghi, E., Bejot, Y., Bekele, B. B., Bell, M. L., Bennett, D. A., Bensenor, I. M., Benson, J., Berhane, A., Berhe, D. F., Bernabe, E., Betsu, B. D., Beuran, M., et al. (2017): Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390, 1211-1259.
- Wagerle, L. C., Russo, P., Dahdah, N. S., Kapadia, N. & Davis, D. A. (1998): Endothelial dysfunction in cerebral microcirculation during hypothermic cardiopulmonary bypass in newborn lambs. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 115, 1047-54.

- Wan, I. Y. P., Arifi, A. A., Wan, S., Yip, J. H. Y., Sihoe, A. D. L., Thung, K. H., Wong, E. M. C. & Yim, A. P. C. (2004): Beating heart revascularization with or without cardiopulmonary bypass: Evaluation of inflammatory response in a prospective randomized study. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 127, 1624-1631.
- Wasowicz, M., Sobczynski, P., Biczysko, W. & Szulc, R. (1999): Ultrastructural changes in the lung alveoli after cardiac surgical operations with the use of cardiopulmonary bypass (CPB). *Pol J Pathol*, 50, 189-96.
- Weber, K. S. C., Nelson, P. J., Grone, H. J. & Weber, C. (1999): Expression of CCR2 by endothelial cells - Implications for MCP-1 mediated wound injury repair and in vivo inflammatory activation of endothelium. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 19, 2085-2093.
- Wildhirt, S. M., Schulze, C., Schulz, C., Egi, K., Brenner, P., Mair, H., Schutz, A. & Reichart, B. (2001): Reduction of systemic and cardiac adhesion molecule expression after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Shock*, 16 Suppl 1, 55-9.
- Wilkinson, I. B. & Webb, D. J. (2001): Venous occlusion plethysmography in cardiovascular research: methodology and clinical applications. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52, 631-646.
- Zahler, S., Massoudy, P., Hartl, H., Hahnel, C., Meisner, H. & Becker, B. F. (1999): Acute cardiac inflammatory responses to postischemic reperfusion during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res*, 41, 722-30.
- Zhang, J., Patel, J. M., Li, Y. D. & Block, E. R. (1997): Proinflammatory cytokines downregulate gene expression and activity of constitutive nitric oxide synthase in porcine pulmonary artery endothelial cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 96, 71-87.
- Zheng, H., Dai, T., Zhou, B., Zhu, J., Huang, H., Wang, M. & Fu, G. (2008): SDF-1 α /CXCR4 decreases endothelial progenitor cells apoptosis under serum deprivation by PI3K/Akt/eNOS pathway. *Atherosclerosis*, 201, 36-42.
- Zheng, H., Fu, G., Dai, T. & Huang, H. (2007): Migration of endothelial progenitor cells mediated by stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 via PI3K/Akt/eNOS signal transduction pathway. *J Cardiovasc Pharmacol*, 50, 274-80.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie am Universitätsklinikum Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. rer. nat. Hans Peter Wendel durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch die Studienleiterin Dr. med. Anneke Neumann.

Die Probanden wurden von mir in Zusammenarbeit mit Dr. med. Anneke Neumann und Alexander Wick rekrutiert. Die EndoPAT-Tests, die Gewinnung der Proben und die Erfassung klinischer und demografischer Daten wurden von mir eigenständig durchgeführt. Die Multiplex-Immunoassays erfolgten durch Birgit Schreiner, die photometrischen Bestimmungen durch Melanie Wolf.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie durch mich. Das nparLD-Verfahren wurde von Lina Serna Higuera durchgeführt.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Stuttgart, den 14.12.2020

Franziska Traub

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Personen bedanken, die auf besondere Art und Weise zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Ich bedanke mich herzlich bei meinem Doktorvater, Prof. Dr. rer. nat. Hans Peter Wendel, für die hervorragende Betreuung. Er hatte immer ein offenes Ohr für mich und war bei der gesamten Arbeit eine große Unterstützung.

Weiterhin danke ich der Studienleiterin, Dr. med. Anneke Neumann, die meine Promotion ebenfalls von Anfang an begleitet hat. Sie hat mich für das Thema meiner Arbeit begeistert und war bei Fragen oder Problemen stets für mich da.

Ich danke vielmals dem IZKF-Promotionskolleg, das meine Promotion durch ein Stipendium unterstützt hat. Die finanzielle Förderung hat es mir ermöglicht, mich für mehrere Monate voll und ganz der wissenschaftlichen Arbeit zu widmen. Zusätzlich konnte ich von einem ausgezeichneten Rahmenprogramm mit lehrreichen Seminaren und Workshops profitieren.

Ein Dank gilt auch allen Mitarbeitern im klinischen Forschungslabor, auf den Stationen der Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie und auf der anästhesiologischen Intensivstation für die gute Zusammenarbeit.

Bei Lina Serna Higuera vom Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie bedanke ich mich für Ihre Beratung bei der statistischen Auswertung.

Schließlich danke ich meiner Familie, insbesondere meiner Mutter, meinem Vater und meinen Großeltern, die mir das Medizinstudium und die Promotion erst ermöglicht haben.