

**Aus der Universitätsklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
Tübingen**

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Dr. h. c. G. Ziemer

**Neuartig beschichtete Hohlfaseroxygenatoren:
Aktivierungspotential und klinischer Einsatz**

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

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

vorgelegt von

Sabine Müller

aus

Weingarten

2009

Dekan:

Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter:

Professor Dr. H. Aebert

2. Berichterstatter:

Privatdozent Dr. M. Beyer

*Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet*

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Allgemeine Einführung	1
1.2	Postperfusionssyndrom.....	2
1.3	Immunsystem.....	3
1.3.1	Zytokine	4
1.3.2	Adhäsionsmoleküle.....	7
1.3.3	Zelluläre Entzündungsreaktionen.....	10
1.4	Komplementsystem.....	13
1.5	Gerinnung	14
1.6	Fibrinolyse.....	15
1.7	Klinische Effekte der extrakorporalen Zirkulation	16
1.8	Beschreibung der Herz-Lungen-Maschine	17
1.9	Oxygenatoren-Beschichtung.....	19
1.10	Zielsetzung der Arbeit	20
2	Material und Methoden	21
2.1	Patienten.....	21
2.2	Anästhesie- und Operationstechnik	22
2.3	Blutentnahme und Abnahmezeitpunkte	24
2.4	Materialien und Aufbereitung der Proben.....	25
2.5	Labormethoden	26
2.5.1	TCC (Terminaler Komplementkomplex).....	26
2.5.2	TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)	27
2.5.3	sCD40L (löslicher CD40-Ligand)	28
2.5.4	Hämatologische Parameter	29
2.5.5	Klinische Chemie	29
2.5.6	Gerinnung	29
2.6	Statistische Auswertung.....	30
3	Ergebnisse	31
3.1	Präoperativ ermittelte Daten	31
3.1.1	Biometrische Daten.....	31
3.1.2	Klinische Daten, Risikofaktoren und Vorerkrankungen	32

3.1.3	Laborergebnisse	34
3.2	Intraoperativ ermittelte Daten	35
3.3	Postoperativ ermittelte klinische Daten	37
3.4	Hämatologische Parameter	39
3.4.1	Hämoglobin	39
3.4.2	Erythrozyten	41
3.4.3	Leukozyten	42
3.4.4	Thrombozyten	43
3.5	Laborergebnisse	45
3.5.1	TCC (Terminaler Komplementkomplex)	45
3.5.2	TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)	48
3.5.3	sCD40L (löslicher CD40-Ligand)	51
4	Diskussion	54
4.1	Diskussion der Methoden	54
4.1.1	Patientenkollektiv	54
4.1.2	Perioperative Parameter	55
4.1.3	Postoperative klinische Daten	56
4.2	Diskussion der Ergebnisse	58
4.2.1	Hämoglobin und Erythrozyten	58
4.2.2	Leukozyten	60
4.2.3	Thrombozyten	61
4.2.4	TCC (Terminaler Komplement-Komplex)	62
4.2.5	TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)	64
4.2.6	sCD40L (löslicher CD40-Ligand)	66
4.3	Allgemeine Diskussion	68
5	Zusammenfassung	74
6	Literaturverzeichnis	76
7	Anhang	93
8	Danksagung	99
9	Lebenslauf	100

Abkürzungsverzeichnis

ACVB	Aortokoronarer Venenbypass
ADP	Adenosindiphosphat
APC	Aktiviertes Protein C
AZP	Abnahmezeitpunkt
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
ELAM	endothelial leucocyte adhesion molecule
F1+2	Prothrombin-Fragment 1 und 2
GMP	granule membrane protein
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HMWK	high molecular weight kininogen
ICAM	intercellular adhesion molecule
IL	Interleukin
LAM	Leucocyte adhesion molecule
LFA	lymphocyte function-associated antigen
LT	Leukotrien
MAC	macrophage antigen complex
MECC	Minimized extracorporeal circulation
MOV	Multiorganversagen
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Elevations-Myokardinfarkt
OPCAB	off-pump coronary artery bypass
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
PAP	Plasmin- Antiplasmin-Komplex
PCI	percutaneous coronary intervention
PDGF	platelet derieved growth factor
PPS	Postperfusionssyndrom
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TAT	Thrombin Antithrombin III Komplex
TCC	Terminaler Komplement Komplex
TG	Thromboglobulin
TNF	Tumornekrosefaktor
tPA	tissue plasminogen activator

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Obwohl die Sterblichkeit an koronarer Herzerkrankung seit den 60er Jahren abnimmt, sind Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems weiterhin die häufigste Todesursache in den Industriestaaten. In Deutschland starben im Jahr 2004 368.500 Menschen an verschiedenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen, der größte Teil davon an ischämischer Herzkrankheit (152.600 Todesfälle).⁴

Auch bei den Ursachen für Krankenhausaufenthalte sind die Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems führend. 2002 wurden von 17,4 Millionen Krankenhauspatienten allein 2,8 Millionen wegen solcher Erkrankungen behandelt. Auch hier ist, zumindest bei den männlichen Patienten, die häufigste Diagnose die chronisch ischämische Herzkrankheit. Annähernd die Hälfte der Patienten, die wegen ischämischer Herzkrankheit stationär im Krankenhaus waren, wurde auch chirurgisch versorgt (392.200 Patienten im Jahr 2002).³

Auch wenn stetig mehr Patienten mit koronarer Herzkrankheit durch perkutane transluminale Koronarangioplastie versorgt werden können, so ist die operative Revaskularisation zumindest bei der 3-Gefäß-Koronarstenose und der Hauptstammstenose nach wie vor die Therapie der Wahl. Der Großteil dieser Operationen wird mit der Herz-Lungen-Maschine (HLM) durchgeführt, die während des Eingriffs die Funktion des Herzens übernimmt.

1.2 Postperfusionssyndrom

Bereits kurze Zeit nachdem Herzoperationen mit Einsatz der HLM in den Routineablauf der großen Kliniken aufgenommen wurden, erkannten Ärzte, dass es danach nahezu regelmäßig zu Reaktionen des Organismus kam, die dann unter dem Begriff „post-pump-syndrom“ (PPS), im Deutschen Postperfusionssyndrom, zusammengefasst wurden. Hierzu gehören Dysfunktion von Lunge und Nieren, Blutungsneigung, neurologische Veränderungen sowie Fieber ohne infektiöse Ursache.¹⁸¹ In den meisten Fällen handelt es sich bei diesen Organdysfunktionen um temporäre Zustände, manchmal können sie jedoch verlängerte Beatmungszeiten, Bluttransfusionen oder Nierenersatztherapien notwendig machen und selten sogar bis zum Multiorganversagen (MOV) führen.²⁵

Es werden verschiedene Ursachen für das PPS diskutiert, so beispielsweise:

- Kontakt des Patientenblutes mit den für den Körper fremden Oberflächen des Oxygenators und des Schlauchsystems und dadurch erhöhte Zytokin- und Endotoxinproduktion
- multiple Mikroembolien
- nicht-pulsatiler Blutfluss
- Ungleichgewicht im Stoffwechsel und im Säure-Basen- und Elektrolythaushalt
- Hypothermie
- Retransfusion des Saugerblutes

Beim PPS werden Blut- und Hämostasesystem beeinträchtigt, vor allem das Immunsystem, das Komplementsystem, das Gerinnungs- und das Fibrinolysesystem. Im Folgenden soll ein Überblick über die Vorgänge innerhalb dieser Systeme gegeben werden.

1.3 Immunsystem

Die Aufgabe des Immunsystems ist es, die Unversehrtheit des Organismus durch Abwehr körperfremder Substanzen und Elimination anomaler Körperzellen zu gewährleisten.² Bei Kontakt des Organismus mit körperfremden Substanzen und Krankheitserregern reagiert das Immunsystem mit einer Entzündungsantwort, bei der komplexe humorale und zelluläre Vorgänge ablaufen: Thrombin, Komplementfaktoren, Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Entzündungsmediatoren werden aktiviert, vermehrt induziert und exprimiert.^{174, 175}

Im Rahmen des PPS nach Operationen mit der Herz-Lungen-Maschine kommt es zu einer systemischen Entzündungsreaktion des Körpers, die den Vorgängen bei einer bakteriell verursachten Sepsis ähnelt und unter dem Begriff SIRS zusammengefasst wird. SIRS wurde vom American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine in einer gemeinsamen Konferenz definiert und es gehören mindestens 2 der folgenden Symptome dazu: Körpertemperatur $> 38,0^{\circ}\text{C}$ oder $< 36,0^{\circ}\text{C}$, Herzfrequenz $> 90/\text{min}$, Atemfrequenz $> 20/\text{min}$ oder $p_a\text{CO}_2 < 32/\text{min}$ sowie Leukozyten im peripheren Blut $> 12.000/\text{mm}^3$ oder $< 4.000/\text{mm}^3$ oder $> 10\%$ stabförmige Granulozyten im peripheren Blutbild.¹¹⁷

Prinzipiell führen Oberflächen, die der Körper als fremd erkennt, zur Aktivierung verschiedener Entzündungskaskaden.¹⁰⁴ Dadurch werden humorale Mediatoren freigesetzt und weiße Blutzellen, vor allem neutrophile Granulozyten aktiviert, so dass sie weitere Mediatoren produzieren. Außerdem lagern sich die aktivierten neutrophilen Granulozyten mit Hilfe von Bindungsrezeptoren an Endothelzellen an. Von dort aus wandern die Neutrophilen in den Extravasalraum aus, setzen Proteasen aus intrazellulären Granula frei und produzieren toxische Sauerstoffradikale.

1.3.1 Zytokine

Eine entscheidende Rolle in Entzündungsreaktionen spielen die Zytokine, eine Untergruppe humoraler Entzündungsmediatoren.²³ Es handelt sich dabei um kleine Signalpeptide, die nach ihrer Freisetzung aus den Zellen zu entfernten Stellen im Körper transportiert werden können, um dort die Funktionen des Organismus zu verändern. Die Effekte der einzelnen Peptide werden im weiteren Text bei den jeweiligen Zytokinen erläutert.

Zu den Zytokinen gehören u. a. die Tumornekrosefaktoren, die Interleukine, die Interferone und verschiedene Wachstumsfaktoren.⁴⁸

Tumornekrosefaktoren

TNF- α = Tumornekrosefaktor α

TNF- α (= Kachektin) ist ein von Monozyten und mononukleären Phagozyten produzierter Tumornekrosefaktor und spielt, im Gegensatz zu TNF- β , eine wichtige Rolle bei Entzündungsvorgängen.¹⁵ TNF- α wird verantwortlich gemacht für Schockreaktionen, Gewebsschäden und Fieber und führt zur Produktion anderer humoraler Entzündungsmediatoren wie IL-1, IL-6, Leukotrienen und Plättchen-aktivierendem Faktor (PAF).^{174, 175} Außerdem induziert es die Synthese von hepatischen Akute-Phase-Proteinen (CRP, α 1-Antitrypsin, α 1-saures Glykoprotein, Fibrinogen, Haptoglobin). Auf zellulärer Ebene bewirkt es die Auslösung des „respiratory burst“, das heißt die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies aus verschiedenen Arten von Zellen, und die Aktivierung bakterizider Substanzen von Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten sowie die Degranulation neutrophiler Granulozyten und deren Anheftung an Endothelzellen.⁶ Der Anstieg der Plasmawerte von TNF- α im Verlauf der EKZ konnte mehrfach nachgewiesen werden.^{78, 154}

CD40L = CD40-Ligand

Ein weiterer Vertreter der Tumornekrosefamilie ist CD40L, ein Transmembran-Glykoprotein, das vor allem von aktivierten Thrombozyten, aber auch von T-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen exprimiert und nach

der Bindung an seinen Rezeptor CD40 auf B-Lymphozyten als lösliches Fragment CD40L abgespalten wird.^{62, 77, 163} CD40L verursacht hier die Synthese von IL-1, IL-6 und auch TNF- α . Der CD40L-Rezeptor CD40 wurde auch auf Endothelzellen entdeckt, wo es durch Interaktion mit CD40L zur Expression von ICAM-1 und Sekretion von IL-8 führt.⁷⁶

Interleukine

Die Interleukine sind eine uneinheitliche Gruppe von Zytokinen, welche die Kommunikation zwischen Leukozyten erleichtern und als regulatorische Proteine in die Entzündung eingreifen.

Für die inflammatorische Antwort sind IL-1, IL-6 und IL-8 am wichtigsten.

Interleukin-1

Interleukin-1 scheint eine Schlüsselrolle im Interleukinsystem zu spielen, da es unterschiedliche Effekte hervorrufen und verschiedene Zellen stimulieren kann.¹⁸³ IL-1 wird von Monozyten und Makrophagen produziert, die durch TNF- α sowie die Komplementfaktoren C3a und C5a stimuliert wurden.⁶⁷ Zusätzlich kann durch zirkulierende Endotoxine die Ausschüttung von IL-1 aus aktivierten Monozyten weiter verstärkt werden.¹³⁵ Die Plasmawerte von IL-1 steigen nach EKZ und erreichen ihre Höchstwerte nach 24 Stunden.⁶⁸ Zu den wichtigsten Effekten von IL-1 gehört die Produktion von Prostaglandin E₂ im Hypothalamus, welches Fieber hervorruft und die neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen aktiviert.¹²² Außerdem führt IL-1 zur Stimulation der Antikörperproduktion von Lymphozyten und reduziert die Reagibilität von Herzmuskelzellen.^{48, 64}

Interleukin-6

Interleukin-6 wird von Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten, Fibroblasten, Keratinozyten, Endothelzellen und glatten Muskelzellen freigesetzt, wenn diese durch TNF- α , Endotoxine und IL-1 stimuliert werden.³³ Die Plasmawerte von IL-6 steigen 2 Stunden nach Beginn der EKZ an und erreichen nach 4 Stunden ihr Maximum; bis zu 24 Stunden nach EKZ bleiben sie signifikant erhöht.⁵⁷

Wie IL-1 hat auch IL-6 verschiedenste biologische Wirkungen: Es wirkt antiviral, verstärkt die Produktion von Antikörpern durch aktivierte B-Lymphozyten und koordiniert die systemische Entzündungsreaktion (=Akute-Phase-Reaktion).³³ Zur Akute-Phase-Reaktion gehören Fieber, Leukozytose, verstärkte vaskuläre Durchlässigkeit, kataboler Stoffwechsel, verminderte Albumin-Synthese und die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber.³³ Interessant ist dabei, dass die Plasmawerte von IL-6 mit der Stärke des Gewebeschadens durch die Operation korrelieren, ebenso wie mit der Stärke der Entzündungsantwort auf die HLM und der Ausprägung von Wandbewegungsstörungen in der Echokardiographie und dem Vorkommen postoperativer Myokardischämien.³³

Interleukin-8

Interleukin-8 wird von Monozyten, Endothelzellen, Alveolarmakrophagen und Fibroblasten produziert, wenn diese durch TNF- α , IL-1 und Endotoxin stimuliert werden.^{48, 93} Die Plasmawerte von IL-8 beginnen bereits während der EKZ anzusteigen und erreichen 1 bis 3 Stunden später ihr Maximum; bis zu 24 Stunden nach EKZ finden sich noch erhöhte Werte.⁵⁴ IL-8 wirkt chemoattraktiv auf neutrophile Granulozyten und führt zum Hochregulieren neutrophiler Adhäsionsmoleküle an Endothelzellen.⁵⁴ Außerdem stimuliert es die Freisetzung von Granula neutrophiler Granulozyten (protolytische Enzyme) und die Generierung toxischer Sauerstoffradikale, was gemeinsam zur Schädigung von Endothelzellen und dem umgebendem Gewebe beiträgt.^{48, 93}

Zusätzlich zu den genannten spielen auch andere Zytokine bei der Entzündungsreaktion des Körpers nach EKZ eine Rolle, z. B. die Leukotriene.

1.3.2 Adhäsionsmoleküle

Die Anlagerung von neutrophilen Granulozyten an Endothelzellen wird zusätzlich durch die Expression spezifischer Adhäsionsmoleküle auf der Oberfläche der beiden Zelltypen gefördert. Bisher wurden drei Gruppen von Adhäsionsrezeptoren identifiziert: Die Selektine (auf neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen), die Integrine (nur auf Leukozyten) und die Immunglobulin-Superfamilie (nur auf Endothelzellen).¹⁴⁰

Selektine

Die Selektine sind eine Gruppe von Rezeptorproteinen, welche alle N-terminal eine Lectin-Domäne aufweisen und auf Leukozyten und Endothelzellen exprimiert werden. Bisher sind drei Selektinarten bekannt: GMP-140, LAM-1 und ELAM-1.

GMP-140 = „granule membrane protein 140“

GMP-140 (P-Selektin) ist ein integrales Membranglykoprotein, das in den Granula von Plättchen und Endothelzellen entdeckt wurde. Bei Stimulation einer Endothelzelle durch Thrombin oder Histamin fusionieren die Granula mit der Zellmembran und führen so zur Expression des GMP-140 auf der Oberfläche. GMP-140 vermittelt die Bindung von Neutrophilen an Endothelzellen, wenn freies Ca^{2+} und Mg^{2+} vorhanden ist.⁶⁰

LAM-1 = „leucocyte adhesion molecule 1“

LAM-1 ist ein Leukozytenrezeptor, der hauptsächlich von Lymphozyten, aber auch von Neutrophilen und Monozyten exprimiert wird. Er erscheint bereits früh im Entzündungsprozess und vermittelt v. a. die lymphozytäre Adhäsion an spezialisiertem Lymphknotenendothel. Bei der Adhäsion neutrophiler Granulozyten an Endothelzellen spielt er auch eine Rolle und trägt zu deren Migration durch Gefäßwände bei.¹⁴⁰

ELAM-1 = „endothelial leucocyte adhesion molecule 1“

ELAM-1 erscheint auf der Endothelzelloberfläche nach Stimulation durch TNF- α oder IL-1. ELAM-1 ist nur zeitweilig auf Endothelzellen präsent, spielt aber eine herausragende Rolle bei der frühen Bindung von neutrophilen Granulozyten an Endothelzellen. ¹⁴⁰

Integrine

Die Integrine sind eine Gruppen von Rezeptoren, die aus α - und β -Untereinheiten bestehen und auf einer Vielzahl von Zellen exprimiert werden. Diese Rezeptoren sind ebenso verantwortlich für Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen wie für die Vermittlung zwischen Extrazellulärraum und Zytoskelett. Es wurden 6 Subfamilien der Integrine identifiziert. Folgende Integrinrezeptoren sind für die Entzündung von entscheidender Bedeutung: LFA-1, MAC-1 und p150,95. Sie bestehen jeweils aus einer konstanten CD18-Untereinheit, und aus den variablen Untereinheiten CD11a, CD11b, CD11c.

LFA-1 = „lymphocyte function-associated antigen 1“

LFA-1 wird hauptsächlich von Leukozyten exprimiert und moduliert die T-Lymphozyten-Funktion, spielt aber auch eine Rolle bei der Vermittlung der Sofortanlagerung aktivierter Neutrophiler an Endothelzellen. Dabei wird der LFA-1-Rezeptor aus einem Zustand niedriger Affinität in einen Zustand höherer Affinität versetzt, ohne dass sich die Anzahl der exprimierten Rezeptoren auf der Oberfläche verändert. Später im Entzündungsprozess trägt LFA-1 zur anhaltenden Adhäsion von Neutrophilen an die Endothelzellen bei, wenn sein Ligand ICAM von Endothelzellen exprimiert wird. ^{10, 140}

MAC-1 = „macrophage antigen 1“

MAC-1 ist vor allem auf neutrophilen Granulozyten und Makrophagen zu finden. Er ist ein Rezeptor für die C3b-Komponente des Komplementsystems und spielt eine Rolle in der Adhäsion von Neutrophilen und Monozyten an Endothelzellen.

p150,95-Integrin

Der p150,95-Rezeptor scheint sowohl auf manchen Lymphozyten als auch auf Neutrophilen und Monozyten exprimiert zu werden und ist auch ein Rezeptor für C3b mit ähnlichen Funktionen wie MAC-1. Durch Mobilisierung präformierter Rezeptoren aus intrazellulären Speichern kann es innerhalb von Minuten nach der Stimulation durch C5a und Leukotrien B₄ zu einer bis zu 10-fachen Erhöhung der Oberflächenexpression von MAC-1 und p150,95 kommen. Außerdem ist die Zellanlagerung, die durch diese Integrine vermittelt wird, abhängig von der Verfügbarkeit von freiem Mg²⁺ im Kreislauf. ^{10, 140}

Immunglobulin-Superfamilie

Die Rezeptoren der Immunglobulin-Superfamilie werden auf Endothelzellen und auf Zielzellen von aktivierten T-Lymphozyten exprimiert und bestehen aus ungepaarten Immunglobulin-Einheiten. Besonders wichtige Rezeptoren für die neutrophil-endotheliale Zelladhäsion sind die „intracellular adhesion molecules“ ICAM-1 und ICAM-2. ICAM-1 wird nach Stimulation von Endothelzellen durch TNF- α , IL-1, Interferon- γ oder Endotoxin exprimiert, während die ICAM-2-Expression durch Zytokine nicht verändert wird. ICAM-1 und ICAM-2 dienen als Liganden für die leukozytären Integrinrezeptoren LFA-1 und MAC-1. ^{10, 140}

1.3.3 Zelluläre Entzündungsreaktionen

Entscheidend für den Fortgang der Entzündungsreaktion ist nach der Ausschüttung der unterschiedlichen Zytokine die Anlagerung weißer Blutzellen, v. a. neutrophiler Granulozyten, an Endothelzellen. Grundsätzlich ist die Anheftung von neutrophilen an endotheliale Zellen abhängig von der Reduktion vaskulärer Scherkräfte sowie von der Expression spezifischer Oberflächenmoleküle.¹⁰¹ Die Scherkräfte sind in postkapillären Venen vermindert oder auch, wenn intravasale Flüssigkeit durch Gefäßwände nach extravasal gelangt, z. B. in Folge einer Entzündungsantwort mit verstärkter vaskulärer Permeabilität.¹²⁹ Gleich nach Beginn der Entzündungsreaktion kommt es durch die Wirkung von Thrombin, Histamin und Leukotrienen (v. a. von LTC-4) zur kurzdauernden Kontraktion der Endothelzellen. Zusätzlich wird das Zytoskelett der Endothelzellen verändert, wenn TNF- α und IL-1 darauf einwirken. Somit vergrößern sich die „gap junctions“ (Zell-Zell-Kanäle) zwischen den Endothelzellen, wodurch die vaskuläre Permeabilität ansteigt. Insgesamt kann also bei einer systemischen Entzündung von einer generellen Reduktion der Scherkräfte in den betroffenen Gefäßen ausgegangen werden.¹²⁹

Granulozyten

Nach der Anlagerung an die Endothelzellen bilden die neutrophilen Granulozyten Pseudopodien aus und migrieren Richtung extravasal. Nach Überschreitung der Basalmembran durch proteolytischer Enzyme erreichen sie den Extravasalraum, wo sie verschiedene Produkte sezernieren: Proteasen aus intrazellulären Granula, toxische Sauerstoffradikale und Arachidonsäuremetaboliten.¹³³

Die Produkte des Arachidonsäure-Stoffwechsels wie Leukotrien-C4, -D4 und -E4 wirken stark vasokonstriktiv und verstärken weiter die Gefäßdurchlässigkeit.⁵⁵ Die Stimulation der neutrophilen Granulozyten durch Faktor XIIa, Kallikrein, C5a und IL-8 während der EKZ fördert außerdem die Freisetzung von Lactoferrin, Myeloperoxidase und Elastase aus intrazellulären Granula.^{29, 93, 171} Die Plasmawerte dieser Enzyme steigen während EKZ signifikant an und fallen

nach dem Ende langsam wieder ab.¹⁷⁰ Vor allem die Elastase schädigt hierbei die Endothelzellen und Basalmembranen sowie die subendotheliale Matrix und das Parenchym verschiedener Organe.¹⁷⁰ Lactoferrin verstärkt die Produktion toxischer Sauerstoffradikale, insbesondere wenn die Neutrophilen gleichzeitig gegenüber Endotoxin exponiert sind.⁸⁸ Toxische Sauerstoffradikale schädigen verschiedene Zelltypen, wobei Endothelzellen und Fibroblasten besonders vulnerabel sind.

Nicht nur die neutrophilen Granulozyten, sondern auch Mastzellen, basophile Granulozyten, Erythrozyten und natürlich auch Thrombozyten können von der EKZ aktiviert werden.

Im Einzelnen sind bisher folgende Vorgänge bekannt:

Mastzellen / Basophile Granulozyten

Die in der Umgebung der Gefäße von Herz, Lunge und Haut befindlichen Gewebsmastzellen enthalten Granula mit verschiedenen Entzündungsmediatoren, die sie bei Aktivierung freisetzen. Histamin beispielsweise verstärkt das Fibroblastenwachstum und die Kollagensynthese, Tryptase und Chymase können Zellbestandteile verdauen und Zytokine wie TNF- α , IL-4 und Wachstumsfaktoren haben Effekte auf unterschiedliche Zellen.³¹

Ebenso wie Mastzellen enthalten basophile Granulozyten dichte metachromatische Granula mit Histamin und anderen Entzündungsmediatoren. Zusätzlich tragen sie jedoch Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, die IgE-Antikörper binden können.³² Bei Aktivierung der basophilen Granulozyten kommt es zur Ausschüttung der Entzündungsmediatoren und dadurch zu lokalen Gewebsschädigungen.

Erythrozyten

Die Zerstörung von Erythrozyten während EKZ ist vorrangig auf verstärkte Scherkräfte zurückzuführen, die auf die Zellmembranen einwirken. Vor allem die Blutpumpen und der Kardiotomiesauger verursachen zudem Hämolyse.

Außerdem geben Erythrozyten, die zwar Scherkräften ausgesetzt sind, jedoch nicht sofort zerplatzen, ADP ab und aktivieren so Blutplättchen bzw. die Gerinnungskaskade.¹⁷

Thrombozyten

Während und nach EKZ kommt es zur Thrombozytopenie und Plättchenaktivierung, da sich die Blutplättchen an Fremdoberflächen anlagern und aus ihren α -Granula PF-4, β -TG und PDGF freisetzen sowie P-Selektin auf ihrer Oberfläche ausbilden.¹³² Danach sind die Plättchen in der Lage, über P-Selektin Monozyten und polymorphonukleäre Leukozyten zu binden. Vermutlich spielt auch die Hypothermie bei der Plättchenaktivierung eine Rolle, da sie signifikant Thromboxan B₂ reduziert, was mit einer erhöhten Blutungszeit einhergeht.¹⁶⁰

1.4 Komplementsystem

Beim Komplementsystem handelt es sich um eine Gruppe von Proteinen, die sich ähnlich dem Gerinnungssystem in Form einer Kaskade gegenseitig aktivieren. Bei Operationen mit Einsatz der HLM scheint die Komplementaktivierung hauptsächlich über den alternativen Weg, d. h. über die Aktivierung von C3, eingeleitet zu werden, welcher vor allem über die Kontaktphasenaktivierung getriggert wird.²⁶ Auch Endotoxine, also Zellwandbestandteile gramnegativer Bakterien, können den alternativen Weg der Komplementaktivierung in Gang bringen, wenn sie durch Kontamination, über Pulmonalarterienkatheter, i.v.-Infusionen oder Blutprodukte in die HLM gelangen.^{89, 122} Außerdem können Faktor XIIa und Plasmin, die durch die Kontaktphasenaktivierung generiert wurden, sowie auch Heparin-Protamin-Komplexe den klassischen Weg der Komplementaktivierung einleiten.^{27, 103, 103}

Gemeinsame Endstrecke von klassischem und alternativem Weg der Komplementaktivierung ist die Bildung von C3a, C5a und C5b-9.⁹⁹ Zusätzlich können auch Hydroxylgruppen (OH⁻), die von stimulierten Leukozyten während der Entzündungsreaktion produziert werden, direkt C5 in seine aktive Form C5a überführen.¹⁶⁷

Verschiedene Studien zeigen den Verbrauch zirkulierender Komplementproteine während EKZ.^{143, 162} Die Werte für C3a und C5b-9 steigen nach Bypass-OP regelmäßig an, und auch eine Produktion von C5a während HLM konnte nachgewiesen werden.^{26, 154}

Folgen der Komplementaktivierung und der Produktion von C3a und C5a sind die generalisierte Kontraktion glatter Muskelzellen, Histaminausschüttung und verstärkte Gefäßpermeabilität.^{28, 103} Außerdem stimulieren C3a und C5a Monozyten zur Produktion von Zytokinen, unter anderem von TNF- α , IL-1 und IL-6.¹⁴³ Zudem bindet C5a an spezifische Rezeptoren neutrophiler Granulozyten und Monozyten und aktiviert diese, so dass sie chemotaktisch zum Ort der C5a-Produktion wandern, sich an anderen Neutrophilen oder an Endothelzellen anlagern oder proteolytische Enzyme und toxische Sauerstoffradikale aus ihren Granula freisetzen.^{29, 88, 123, 157} C5a und C5b-9

aktivieren wiederum Endothelzellen, so dass diese vermehrt Leukozyten binden.¹³²

1.5 Gerinnung

Das Entzündungssystem ist mit der Gerinnungskaskade sowohl durch zelluläre als auch durch humorale Komponenten verbunden.⁸¹ Eine wichtige Rolle bei der Vernetzung von Gerinnung und Entzündung spielen Endothelzellen, die auf Zytokine reagieren, welche von aktivierten Leukozyten exprimiert werden, aber auch selbst Zytokine freisetzen können.^{91, 164}

Das extrinsische Gerinnungssystem wird während EKZ durch Tissue factor (TF) aktiviert, wenn dieser auf verletzten Endothelzellen oder von durch Zytokine aktivierten Monozyten exprimiert wird, die vor allem im perikardialen Wundgebiet vorkommen.^{19, 30} Im Plasma vorliegender Faktor VIIa bildet mit TF einen Enzymkomplex, der Faktor X und IX durch Proteolyse aktiviert. Zusätzlich wird die Faktor X-Aktivierung durch membrangebundene FIXa-FVIIIa-Komplexe beschleunigt. Der so entstandene Faktor Xa bildet mit Faktor Va den Prothrombinase-Komplex, welcher Prothrombin zu Thrombin umwandelt.⁹⁰

Die Kontaktphasen-Aktivierung (= intrinsische Gerinnung) läuft vor allem über Faktor XII, Faktor XI, Präkallikrein und Kininogen (HMWK). Durch den Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen, z. B. in der HLM, wird Faktor XII in seine aktive Form, Faktor XIIa, überführt. Dieser aktiviert wiederum Faktor XI, welcher durch die Aktivierung und Komplexbildung von Faktor IX mit Faktor VIIIa zur Bildung von Thrombin aus Prothrombin sowie von Kallikrein aus Präkallikrein führt.^{36, 107}

Beide Wege – extrinsische und intrinsische Gerinnung – führen schließlich zur Aktivierung von Faktor X, der zusammen mit Faktor Va den Prothrombinase-Komplex bildet und unter Mitwirkung von Kalzium Thrombin erzeugt. Die Stärke der intravasalen Thrombingenerierung kann dann durch Messung der Serumaktivität von Prothrombinfragment 1+2 bzw. TAT bestimmt werden.^{8, 19,}

Thrombin bewirkt die Konversion von Fibrinogen zu Fibrinmonomeren und aktiviert gleichzeitig die Faktoren V, VIII und XIII sowie direkt die Thrombozyten. Es führt außerdem zur Expression von Rezeptoren für die Bindung von Neutrophilen auf Endothelzellen (P-Selektin, E-Selektin, ICAM-1) und aktiviert das Komplementsystem.^{60, 176} Zusätzlich hat Thrombin auch anti-koagulatorische Wirkung, da es Thrombomodulin bindet und Protein C aktiviert.⁵¹ Aktiviertes Protein C (APC) bindet an FVIIIa und FVa und verhindert so die Bildung von Prothrombinase-Komplex und FIXa-FVa-Komplex.¹¹¹ Ein weiteres Antikoagulans ist AT-III, ein effektiver Blocker aller prokoagulatorischen Serinproteasen.¹²⁴

1.6 Fibrinolyse

Die Kontaktphase der Gerinnung aktiviert über Kallikreingenerierung auch das Fibrinolyse-System, was zu verstärkter Bradykinin-Freisetzung führt. Diese beiden Moleküle aktivieren dann „tissue plasminogen activator“ (tPA), das Plasminogen zu Plasmin spaltet, welches wiederum Fibrin und Fibrinogen auflösen kann.⁶⁹ Zusätzlich geben auch aktivierte Endothelzellen tPA ab.

Proinflammatorische Zytokine und Thrombin wirken über die Freisetzung von Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (PAI-1) aus Thrombozyten und Endothelzellen jedoch der Fibrinolyse auch entgegen: PAI-1 inhibiert tPA und somit die Fibrinolyse.¹¹⁵

Verstärkte Fibrinolyse und verminderte Plättchenfunktion werden als Hauptursachen abnormaler postoperativer Blutungen nach Einsatz der HLM vermutet.⁹⁵

Fibrinogen-Fragment D, das während der Fibrinolyse gebildet wird, zerstört die Integrität der Endothelzellen und stimuliert die Komplementaktivierung.³⁴

1.7 Klinische Effekte der extrakorporalen Zirkulation

Die häufigste klinische Manifestation des Postperfusionssyndroms zeigt sich im respiratorischen System. Aber auch andere Organsysteme, vor allem Herz, Niere und Gerinnung werden durch Entzündungsmediatoren in Mitleidenschaft gezogen. In den Lungen reichern sich nach dem Ende der EKZ neutrophile Granulozyten an, während gleichzeitig humorale Entzündungsmediatoren wie C3a und C5a und proteolytische Enzyme freigesetzt werden.^{28, 108, 182} Außerdem schwellen Endothelzellen an, Flüssigkeit und Plasmaproteine verlassen die Gefäße, und es kommt zur Blutstase in den Lungengefäßen.¹¹³ Diese morphologischen Veränderungen manifestieren sich in der postoperativen Phase als Hypoxiämie (durch Ventilations-Perfusions-Ungleichgewicht), verstärkte Atemarbeit und erniedrigte pulmonale Compliance.¹⁶ Zusätzlich kommt es durch das Sistieren des Pulmonalarterienflusses während der EKZ, der nicht komplett durch den Bronchialarterienfluss kompensiert werden kann, zu einer direkten Minderdurchblutung der Lungen mit ischämiebedingten Folgeerscheinungen wie zum Beispiel einem Anstieg des Gewebelaktates.^{136, 137} Die Folgen der Entzündung durch EKZ reichen von gerade eben erkennbaren Störungen bis zum Lungenversagen mit letalem Ausgang und korrelieren mit der Stärke der postoperativen C3a- und C5b-9-Werte.¹⁰⁰

Im kardiovaskulären System kommt es zu vermindertem kardialem Index und verminderter Durchblutung, im renalen System zu reduziertem Urinfluss, Hämaturie und erhöhten Serumkreatinin-Werten und im Gerinnungssystem zu exzessiven postoperativen Blutungen, die ebenfalls in ihrer Stärke mit den Plasmawerten von C3a und TNF- α korrelieren.⁹⁷ Somit gibt es definitive Hinweise darauf, dass die Dysfunktion der verschiedenen Organsysteme nach EKZ mit der Aktivierung humoraler Entzündungsmediatoren und der daraus folgenden Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen korreliert.

1.8 Beschreibung der Herz-Lungen-Maschine

Seit dem ersten Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine am Menschen am 5. April 1951 durch Clarence Dennis und der ersten Bypassoperation bei koronarer Herzkrankheit im Jahr 1958 durch René G. Favaloro hat sich die Herzchirurgie grundlegend verändert.⁴⁶

Im Jahr 2004 wurden in Deutschland rund 96.000 Herzoperationen mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt.^{1,21}

Die heutigen Herz-Lungen-Maschinen haben in der Regel folgenden Aufbau: Über venöse Kanülen aus oberer und unterer Hohlvene oder eine Zweistufenkanüle aus unterer Hohlvene und rechtem Vorhof fließt das Blut passiv durch einen Schlauch in das venöse Reservoir der HLM, das sich etwas unter dem Herzniveau des Patienten befindet. Von dort aus wird das Blut mit einer Roller- oder Zentrifugalpumpe durch den Oxygenator gepumpt, in dem es von CO₂ befreit und mit O₂ aufgesättigt wird. Das so arterialisierte Blut wird über einen Schlauch mit einem Filter durch eine Aortenkanüle wieder zum Patienten geführt. Zusätzlich zur arteriellen Pumpe werden noch Pumpen für den Kardiotomiesauger, mit dem Blut aus dem Wundgebiet aufgesaugt wird, und für die Entlastung des linken Ventrikels eingesetzt.

Die Herzlungenmaschine setzt sich im Einzelnen aus den folgenden Komponenten zusammen:

Pumpen

Als Blutpumpen werden zurzeit zwei verschiedene Typen eingesetzt. Dies sind entweder Roller- oder Zentrifugalpumpen.

Bei Eingriffen bis zu 4 Stunden werden vor allem Rollerpumpen verwendet, bei denen der blutgefüllte Schlauch durch rotierende Rollen zusammengedrückt wird und sich danach sofort wieder entfaltet. Diese tangentielle Verdrängung transportiert dann das Blut.

Bei länger dauernden Eingriffen werden auch Zentrifugalpumpen eingesetzt, die das Blut durch rotierende Schaufeln transportieren.

Oxygenator / Wärmetauscher

Der Oxygenator übernimmt bei der HLM die Funktion der Lunge. Er macht damit flächenmäßig den größten Teil der Fremdoberfläche der HLM aus, je nach Modell etwa 1,8 bis 2,5 m².

Nachdem über Jahrzehnte drei verschiedene Systeme (Film-, Blasen- und Membran-Oxygenator) verwendet wurden, sind seit den 90er Jahren in der westlichen Welt nur noch die Membranoxygenatoren in Gebrauch. Das Prinzip ist hierbei, dass das venöse Blut an sauerstoffgefüllten Hohlfasermembranen mit kleinen Poren vorbeifließt und so der Gasaustausch stattfindet. Dies kommt den physiologischen Vorgängen in der Lunge am nächsten und führt zur geringeren Traumatisierung des Blutes als beim Blasenoxxygenator.

Zur Regulation der Bluttemperatur während der extrakorporalen Zirkulation werden außerdem Wärmetauscher benötigt. Diese sind in der Regel in den Oxygenator integriert.

Venöses Reservoir

Bei den heutigen Herz-Lungen-Maschinen wird im Gegensatz zu früheren Modellen meist nur ein venöses Reservoir verwendet, das gleichzeitig mit dem Oxygenator, dem Kardiotomiesauger und dem Vent-Sauger verbunden ist. Das venöse Reservoir kann nach Trennung der Verbindung zum Oxygenator auch zur postoperativen Retransfusion des Drainageblutes benutzt werden.

1.9 Oxygenatoren-Beschichtung

Seit langem ist die proinflammatorische und prokoagulatorische Wirkung von Fremdoberflächen bekannt.^{104, 153} Bereits seit mehr als einem Jahrzehnt werden deshalb zur Minimierung der systemischen Entzündungsreaktion nach HLM Versuche gemacht, die Oberflächen von Oxygenatoren weniger thrombogen und weniger entzündungsfördernd zu gestalten.

Mehrfach konnte nachgewiesen werden, dass heparinbeschichtete Oxygenatoren die Komplikationsrate nach EKZ verbessern: unter anderem wird der postoperative Blutverlust, die Intubationszeit und die Liegedauer auf der Intensivstation verkürzt, sowie der Laktoferrin- und C3a-Anstieg reduziert.¹⁴¹ Außerdem führt die Heparinbeschichtung von EKZ-Systemen auch zur reduzierten alternativen Komplementaktivierung, Thrombinbildung, Plättchenaggregation und -aktivierung.^{83, 156}

Seit einiger Zeit werden nun Versuche gemacht, die Oberflächen der Oxygenatoren den körpereigenen Oberflächen möglichst ähnlich zu machen. Dabei kommt vor allem eine Beschichtung mit zwitterionischem Phosphorylcholin zum Einsatz, das die äußere Zellmembran von Erythrozyten nachahmt.¹⁸⁶

In vitro konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass Phosphorylcholinbeschichtungen positive Effekte auf Blutgerinnung und Entzündung haben: Fibrinogen- und Albuminadsorption, Plättchenaktivierung und -adhäsion werden vermindert und die Anheftung von Monozyten und Makrophagen wird reduziert.^{24, 43, 52, 187}

Zum klinischen Einsatz von Phosphorylcholin-Beschichtungen gibt es bisher erst wenige Untersuchungen, unter anderem wurde aber gezeigt, dass Thrombozytenschädigung und Entzündung bei Kindern mit Herzoperationen reduziert werden konnten und dass es bei Erwachsenen mit elektiver Bypass-Operation zur verminderten Freisetzung von PF4 und β -TG sowie geringerem Blutverlust kommt.^{38, 40}

1.10 Zielsetzung der Arbeit

Bereits seit der Einführung der Herz-Lungen-Maschine wurden Versuche unternommen, die dadurch entstehenden Nebenwirkungen möglichst gering zu halten. In letzter Zeit konzentrieren sich die Forschungen immer mehr auf die Beschichtung der Oberflächen, mit denen das Patientenblut während der EKZ in Kontakt kommt. Es wird versucht, diese Oberflächen so auszustatten, dass sie möglichst wenig das Entzündungs-, das Gerinnungs- und das Fibrinolysesystem alterieren. Die Beschichtung des Oxygenators mit Heparin-Molekülen hat sich bereits klinisch bewährt, nun sollen auch andere Oberflächenbeschichtungen überprüft werden. Vor allem der Ansatz, Fremdoberflächen durch Beschichtung mit speziellen Molekülen biologischen Oberflächen möglichst ähnlich zu machen, als Biomembran-Mimikri bezeichnet, erscheint dabei vielversprechend.

Bei der hier vorliegenden Arbeit wurde in der Studiengruppe ein Oxygenator (Synthesis) verwendet, an dessen Oberfläche synthetisches Phosphorylcholin gebunden war. Phosphorylcholin ist ein Bestandteil der äußeren Erythrozytenmembran und trägt wesentlich zu deren Antithrombogenität bei. Der Oxygenator der Kontrollgruppe (Monolyth) war unbeschichtet.

Ziel dieser doppelblind randomisierten klinischen Studie war es, das Aktivierungspotential Phosphorylcholin-beschichteter Oxygenatoren im Hinblick auf die während und nach Bypass-Operation auftretenden Entzündungsreaktionen und Gerinnungsstörungen zu untersuchen.

Hierzu wurden die Unterschiede in der Veränderung jeweils eines Gerinnungs-, Komplement- und Tumornekrosefaktors sowie der Blutzellzahl von Patienten der beiden Gruppen untersucht. Im Einzelnen handelte es sich dabei um Thrombin-Antithrombin III Komplex (TAT), Terminalen Komplementkomplex (TCC), löslichen CD40 Ligand (sCD40L), Erythrozyten- Leukozyten- und Thrombozytenzahl sowie Hämoglobin und Hämatokrit. Außerdem wurde der postoperative klinische Zustand der Patienten der beiden Gruppen, bei denen die Oxygenatoren der HLM mit Phosphorylcholin beschichtet waren oder keine Beschichtung aufwiesen, verglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Bei der vorliegenden Untersuchung wurden zwischen Dezember 2003 und August 2005 insgesamt 36 Patienten eingeschlossen.

Es handelte sich dabei um Patienten männlichen Geschlechts mit koronarer Herzkrankheit und erstmaliger elektiver aortokoronarer Bypassoperation an mindestens zwei Anastomosen, die nach Ausschluss der folgenden Kriterien in die Studie aufgenommen wurden:

- Einnahme von Aspirin im Zeitraum von weniger als 5 Tagen vor OP
- Körpergewicht weniger als 60 kg oder über 100 kg
- Präoperativer Hämoglobinwert kleiner als 12 g/dl
- Ejektionsfraktion in der präoperativen linksventrikulären Angiographie kleiner als 30 % bzw.
- Linksventrikulärer enddiastolischer Druck größer 20 mmHg
- Bekannte Thrombopathie oder andere Gerinnungsstörung
- Serumkreatinin größer 1,8 mg/dl
- Insulinpflichtiger Diabetes mellitus

Alle Patienten wurden über die Station A6 West der Herzchirurgischen Klinik in Tübingen aufgenommen und gaben nach der Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der unter der Leitung von Prof. Dr. med. H. Aebert durchgeführten Studie. Die Randomisierung, d.h. die Zuteilung eines Oxygenatortyps (Sorin Monolyth mit unbeschichteter Oberfläche oder Sorin Synthesis mit Phosphorylcholin-beschichteter Oberfläche), erfolgte nach telefonischer Mitteilung über die Teilnahme des Patienten an der Studie am Aufnahmetag durch die Kardiotechnik nach dem Zufallsprinzip. Die übrigen Studienteilnehmer waren über den Oxygenatortyp nicht informiert.

Das Studienprotokoll war zuvor von der Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt worden.

2.2 Anästhesie- und Operationstechnik

Die Prämedikation erfolgte mit Midazolam 7,5 mg oral.

Nach Narkoseeinleitung mit Fentanyl und Rocuronium i.v. wurden bei den Patienten ein arterieller Druckmesskatheter, ein zentralvenöser Triple-Lumen-Katheter und ein Swan-Ganz-Katheter eingelegt. Zur Überwachung der Herzfunktion wurde ein EKG angelegt, außerdem erfolgte eine Blasenkatheterisierung zur Ausfuhrkontrolle.

Die Narkose wurde mittels Fentanyl- und Propofolperfusoren sowie Esmeron als Bolus aufrechterhalten. Während der Operation wurden die Kreislaufverhältnisse des Patienten bedarfsgemäß mit Arterenol- und Perlinganit-Perfusoren therapiert, für den Abgang von der HLM war zusätzlich ein Dobutamin-Perfusor eingerichtet.

Beim in Rückenlage befindlichen Patienten erfolgte primär die Präparation der ausgewählten Bypass-Gefäße an den Extremitäten, der A. radialis sinistra oder der V. saphena magna / parva.

Gleichzeitig wurde als Zugangsweg zum Herzen eine mediane Sternotomie durchgeführt. Unter Eröffnung der Pleurahöhle wurde die A. mammaria sinistra bzw. dextra dargestellt und nach systemischer Heparinisierung durch Gabe von 350 IE Heparin/kg Körpergewicht das Gefäß distal abgesetzt.

Nach Darstellung des Herzbeutels wurde dieser längs in der Mittellinie und am Übergang zum Zwerchfell eröffnet und mit Naht an der prästernalen Faszie angeheftet.

Nach Kontrolle der Heparin-Wirksamkeit Bestimmung der „activated clotting time“ (ACT) wurden Tabaksbeutelnähte an der distalen Aorta ascendens im Bereich der Perikardumschlagsfalte und am rechten Vorhofrohr vorgelegt. Über eine Stichinzision wurde die arterielle Kanüle in die Aorta eingebracht, entlüftet und steril mit der arteriellen Linie der Herz-Lungen-Maschine verbunden sowie befestigt. Nach Gabe von 100 ml der Priming-Lösung, bestehend aus 1500 ml 0,9% NaCl, 40 ml 8,4% NaBic, 50 ml Cephazolin Fresenius 2g, 200 ml Aprotinin und 5000 I.E. Liquemin durch die Kanüle und Kontrolle des Druckes erfolgte die

Kanülierung des rechten Vorhofes durch Stichinzision und Einbringen der mit der HLM verbundenen venösen 2-Stufen-Kanüle in die untere Hohlvene und in den rechten Vorhof. Anschließend wurde durch Abklemmen der Aorta zur EKZ gewechselt, die HLM langsam angefahren und der Patient moderat auf 30°C Rektaltemperatur gekühlt. Nach Dissektion der Aorta vom Truncus pulmonalis und Vorlegen der Kardioplegienaht wurden die für die Revaskularisierung vorgesehenen Gefäße dargestellt.

Nach dem Klemmen der Aortenwurzel wurde die eiskalte Kardioplegielösung nach Buckberg im Verhältnis 4:1 (4 Teile Blut, 1 Teil kristalloide Lösung) für 5 Minuten über die Aortenwurzel instilliert.

Es erfolgte die Anastomosierung zwischen den jeweiligen Bypass-Gefäßen und Koronararterien mit 7-0-Prolene in fortlaufender Nahttechnik, danach der Anschluss der proximalen Anastomosenenden an die abgeklemmte Aorta. In 20-minütigen Intervallen erfolgte eine erneute Gabe von Kardioplegielösung über jeweils 2 Minuten.

Nach dem Freigeben des Blutstromes in die Aortenwurzel und die Bypässe wurde nochmals die Bluttrockenheit kontrolliert und, falls notwendig, elektrisch defibrilliert. Danach wurden temporäre Schrittmachersonden sowie Thoraxdrainagen angebracht. Es folgte das Wiedererwärmen des Patienten und die Entwöhnung von der HLM in kleinen Schritten mit Rückführung der Blutvolumina aus der Maschine. Nach Antagonisierung der Heparinwirkung durch Protamin konnte die Aorta dekanüliert werden.

Nach abschließendem Überprüfen auf Bluttrockenheit erfolgte der Sternumverschluss durch Drahtcerclagen sowie fortlaufende Faszien- bzw. Subkutannaht mit Vicrylnahtmaterial. Mit einer intrakutanen Hautnaht mit Monosyn-Nahtmaterial wurde die Operation abgeschlossen.

2.3 Blutentnahme und Abnahmezeitpunkte

Zur Überprüfung der Ausschlusskriterien wurde die routinemäßig abgenommene präoperative Blutprobe herangezogen.

Des Weiteren wurden folgende Blutproben durchgeführt:

- AZP1: Präoperativ während der Narkoseeinleitung
- AZP 2: 20 Minuten nach Beginn der extrakorporalen Zirkulation
- AZP 3: Am Ende der extrakorporalen Zirkulation nach Antagonisierung des intraoperativ gegebenen Heparins durch Protamin
- AZP 4: 6 Stunden nach dem Ende der extrakorporalen Zirkulation
- AZP 5: 24 Stunden nach dem Ende der extrakorporalen Zirkulation
- AZP 6: 72 Stunden nach dem Ende der extrakorporalen Zirkulation

Die ersten 5 Blutproben konnten immer aus den liegenden zentralvenösen Kathetern entnommen werden. Bei der letzten Blutprobe war dies zum Teil auch möglich, zum Teil musste aber aus einer peripheren Vene Blut entnommen werden.

2.4 Materialien und Aufbereitung der Proben

Die Blutentnahmen für die TCC-Bestimmung erfolgten in 3 ml EDTA-Monovetten der Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland. Das Verhältnis EDTA/Blut war hierbei 1,6/1.

Direkt nach der Abnahme im OP-Saal bzw. am Patientenbett erfolgte die Lagerung der Proben auf Eis zum Transport. Danach wurde das Blut für 20 Minuten bei 4°C und ca. 2000 g in der Heraeus Cryofuge zentrifugiert und anschließend der Überstand zu je 300 µl in 1,5 ml Reaktionsgefäße pipettiert. Diese wurden dann in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -20 ° C aufbewahrt.

Für die Bestimmung von sCD40L und TAT wurde das Blut in 3 ml Monovetten der Firma Sarstedt abgenommen, die 0,3 ml Tri-Natrium-Citrat in der Konzentration 0,106 mol/l enthielten.

Nach dem Zentrifugieren in der Heraeus Sepatech-Zentrifuge für 20 Minuten bei RT bei ca. 2000 g wurde das Plasma in 10 Portionen à 300 µl in 1,5 ml Reaktionsgefäße pipettiert, danach in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -20 °C aufbewahrt.

Die Blutentnahmen für die hämatologischen Untersuchungen im Zentrallabor erfolgten in 2,7 ml EDTA-Monovetten der Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland.

2.5 Labormethoden

2.5.1 TCC (Terminaler Komplementkomplex)

Der terminale Komplement-Komplex wurde mit dem Enzymimmunoassay „SC5b-9“ der Fa. Quidel Corporation San Diego, USA bestimmt.

Testprinzip

Beim „SC5b-9“-Test handelt es sich um einen Festphasen-Immunoassay, mit dem die Konzentration von SC5b-9 (TCC) quantitativ bestimmt wird. Dabei bindet der in den Patientenproben vorliegende TCC an den an der Festphase gebundenen monoklonalen Antikörper (Maus), der für humanes SC5b-9 spezifisch ist. Nachdem durch Waschen nicht gebundene Probenkomponenten entfernt werden, bildet ein HRP-konjugierter Antikörper (Ziege) mit dem gebundenen TCC einen Sandwich-Komplex. Das gebundene HRP-Konjugat reagiert in einem dritten Schritt mit dem Substrat (0,7% 2-2'-Azino-di-(3-Ethylthiazolinsulfonsäure)-diammoniumsalz) in 0,1 mol/l Citratpuffer und 0,05% H₂O₂ zu einem grünen Farbstoff, dessen Konzentration dann nach Beendigung der Reaktion durch Zugabe von Oxalsäure photometrisch ermittelt wird. Die Menge des ermittelten Farbstoffes ist der SC5b-9-Konzentration direkt proportional.

Durchführung

Nachdem alle Komponenten des Tests auf Raumtemperatur gebracht worden waren, wurden die Patientenproben mit Probenverdünnungspuffer verdünnt sowie die Mikroassay-Platten für 2 Minuten mit 300 µl Waschlösung bei 15-30° inkubiert. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden nach dem Entfernen der Waschlösung mit jeweils 100 µl Standards, Kontrollen und verdünnte Patientenproben befüllt und für 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, danach dekantiert und mit je 300 µl Waschpuffer fünfmal ausgewaschen. Nach Zugabe von 50 µl SC5b-9-Konjugats wurde wie zuvor inkubiert, dekantiert und ausgewaschen. Danach wurden 100 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Beendigung der enzymatischen Reaktion durch Zugabe von 50 µl Stopp-Lösung wurde

photometrisch die Extinktion bei 405 nm ermittelt. Die Berechnung der SC5b-9-Konzentrationen aus den Extinktionen erfolgte über eine Eichgerade aus den Standards.

2.5.2 TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)

Zur quantitativen Bestimmung der TAT-Komplexe wurde der Enzymimmunoassay „Enzygnost® TAT micro“ der Firma Dade Behring, Marburg, Deutschland, eingesetzt.

Testprinzip

„Enzygnost TAT® micro“ ist ein Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip. Im ersten Schritt bindet sich das im Plasma vorhandene TAT an Kaninchen-Antikörper gegen Human-Thrombin, die an der Oberfläche einer Mikrotitrationsplatte fixiert sind. Nach dem Auswaschen nicht gebundener Plasmabestandteile werden Peroxidase-konjugierte Kaninchen-Antikörper gegen humanes Antithrombin III an die freien AT III-Determinanten gebunden. Nach nochmaligem Auswaschen der überschüssigen Enzym-konjugierten Antikörper wird die enzymatische Umsetzung von Wasserstoffperoxid und Chromogen durch verdünnte Schwefelsäure abgestoppt und die Farbintensität bei 492 nm photometrisch bestimmt. Die Farbintensität ist dabei zur Konzentration von TAT proportional.

Durchführung

Vor Beginn des Versuches wurden alle Reagentien und Proben auf Raumtemperatur vorgewärmt. Nach Vorlegen von 50 µl TAT-Probenpuffer (Tris-Puffer 100 mmol/l, Tween 10 ml/l, EDTA 37 g/l) in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden jeweils 50 µl Standard, Kontrolle oder Probe hinzu pipettiert. Nach 15 minütiger Inkubation bei 37°C wurden die Proben abgesaugt und die Oberflächen gewaschen. Als nächstes wurde mit 100 µl Konjugat-Lösung 15 Minuten bei 37°C inkubiert und wiederum ausgewaschen. Mit 100 µl frisch hergestellter Chromogen-Puffer/Substrat-Lösung (o-Phenyladiamin-

dihydrochlorid und 0,3 g/l H₂O₂ in Citratpuffer) wurde dann für 30 Minuten lichtgeschützt bei 20 – 25°C inkubiert, danach die Enzymreaktion mit 100 µl 0,5 N Schwefelsäure abgestoppt und die Extinktion bei 492 nm photometrisch bestimmt. Zur Ermittlung der TAT-Konzentrationen aus den Extinktionen musste anhand der Standard-Extinktionen eine Bezugskurve erstellt werden, aus der dann die TAT-Konzentrationen der Proben direkt abgelesen werden konnten. Als Referenzbereich für die TAT-Konzentration gesunder Erwachsener gibt die Fa. Dade Behring 1,0 – 4,1 µg/l an.

2.5.3 sCD40L (löslicher CD40-Ligand)

Zur Bestimmung der sCD40L-Konzentration wurde „human sCD40L ELISA“ der Fa. BenderMedSystems, Wien, Österreich verwendet.

Testprinzip

Der Test „human sCD40L“ ist ein Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip. Im ersten Schritt bindet das in der Probe vorliegende sCD40L an die monoklonalen anti-sCD40L-Antikörper (Maus) an der Oberfläche der Mikrotitrationsplatte. Nach dem Entfernen nicht gebundener Probenbestandteile heften sich mit Meerrettichperoxidase (HRP) verbundene monoklonale anti-sCD40L-Antikörper an die im ersten Schritt gebundenden sCD40L-Moleküle. Nach dem Auswaschen nicht gebundener HRP-konjugierter Antikörper erfolgt die Zugabe der Substratlösung (Xetra-methyl-benzidine). Die Farbreaktion wird durch Zugabe von 1 molarer Phosphorsäure abgestoppt und die Extinktion bei 450 nm photometrisch bestimmt. Die Farbintensität ist dabei zur Konzentration von sCD40L proportional.

Durchführung

Zuerst wurden alle Reagentien und Proben auf Raumtemperatur gebracht. Nach Waschen aller Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit jeweils 300 µl Waschpuffer wurden die Standardverdünnungen (0,08 bis 0,5 ng/ml) und Plasmaproben zugegeben. Die Platten wurden für 2 Stunden bei 18-25°C und

100 rpm inkubiert und drei Mal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen. Danach erfolgte die Zugabe von monoklonalem HRP-Konjugat und Inkubation für 1 Stunde bei Raumtemperatur und bei 100 rpm. Nach einem erneuten Waschschrift wurden jeweils 100 µl TMB-Substratlösung zugegeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur bei 100 rpm inkubiert. Die Enzymreaktion wurde durch Zugabe von 100 µl 1 M Phosphorsäure abgestoppt und die optische Dichte bei 450 nm bestimmt.

Die sCD40L-Konzentrationen wurden direkt an der Standardkurve abgelesen.

Für gesunde Blutspender gibt die Firma Bender MedSystems sCD40L-Werte für Plasmaproben zwischen 0,14 und 2,94 ng/ml an.

2.5.4 Hämatologische Parameter

Die Bestimmung von Differentialblutbild, Hämoglobin und Hämatokrit erfolgte mit dem automatischen Analysesystem ADVIA 120 der Firma Bayer, Fernwald, Deutschland im Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen.

2.5.5 Klinische Chemie

Die Bestimmung von Kreatinin, CK, GOT, GPT, LDH und CRP erfolgte mit dem automatischen Analysesystem ADVIA 1650 der Firma Bayer, Fernwald, Deutschland.

2.5.6 Gerinnung

Die Bestimmung von Quick, INR und PTT erfolgte mit dem automatischen Analysesystem Amelung CS 400 der Firma Trinity biotech, Lemgo, Deutschland.

2.6 Statistische Auswertung

Um Verdünnungseffekte auszugleichen wurden alle Parameter einer Hämatokrit-Korrektur nach folgender Formel unterzogen:

$$F = (100 - B) / (100 - A) \times A / B$$

mit A = Hk zum Zeitpunkt 1 und B = aktueller Hk

Jeder Einzelwert wurde mit dem Faktor F multipliziert.

Die Bearbeitung der Daten erfolgte nach Beratung durch das Institut für Medizinische Biometrie (Leitung Prof. Dietz) in Tübingen.

Die statistische Auswertung wurde mit der Statistik-Software JMP IN 5.1 der Firma SAS Institute Inc., N.C., USA durchgeführt.

Die Normalverteilung wurde mit dem Shapiro-Wilk-Test überprüft. Falls keine Normalverteilung vorlag, wurden die Werte logarithmiert (Kreatinin, LDH, CK, GOT, GPT, CRP, Erythrozytenzahl, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, TCC, TAT, sCD40L).

Bei den Parametern, bei denen die Gruppenunterschiede zu den verschiedenen Zeitpunkten verglichen wurden, wurde eine Varianzanalyse durchgeführt, falls folgende Voraussetzungen erfüllt waren:

- Normalverteilung
- Varianzen in den beiden Gruppen konstant
- Keine Trends für die Residuen erkennbar

Als feste Faktoren wurden hierbei die Gruppe, der Abnahmezeitpunkt sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Abnahmezeitpunkt angenommen, als zufälliger Faktor die Probandennummer.

Als Signifikanzniveau wurde für alle Tests zunächst $p < 0,05$ angenommen, in einem zweiten Schritt wurde dann eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Präoperativ ermittelte Daten

3.1.1 Biometrische Daten

In Tabelle 1 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der biometrischen Daten der Patienten vergleichend für die beiden untersuchten Gruppen dargestellt. Der Gruppenvergleich erfolgte hier mittels t-Test.

Linksventrikulär enddiastolischer Druck (LVDEP) und Ejektionsfraktion des linken Ventrikels wurden bei einer präoperativ durchgeführten Herzkatheteruntersuchung festgestellt.

Für die Ejektionsfraktion fand sich vor Bonferroni-Korrektur ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen, wobei die Synthesis-Patienten eine bessere Ejektionfraktion aufwiesen.

Bezüglich aller anderen biometrischen Daten waren die beiden Gruppen jedoch strukturgleich.

Tabelle 1: Biometrische Patientendaten

	Synthesis				Monolyth				P
	n	MW	OKI	UKI	N	MW	OKI	UKI	
Alter (Jahre)	19	63.17	67.06	59.29	17	64.31	68.42	60.21	0.685
Gewicht (kg)	19	85.00	90.00	80.00	17	86.00	91.00	81.00	0.770
Größe (m)	19	1.75	1.78	1.73	17	1.74	1.77	1.71	0.501
Oberfläche (m²)	19	2.00	2.07	1.94	17	2.00	2.06	1.95	0.969
LVDEP (mmHg)	13	12.00	15.00	9.00	15	13.00	16.00	10.00	0.686
EF (%)	15	64.80	72.27	57.33	12	53.33	62.44	44.19	0.043

n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert,

OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall,

p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur, LVDEP = Linksventrikulär enddiastolischer Druck, EF = Ejektionsfraktion

3.1.2 Klinische Daten, Risikofaktoren und Vorerkrankungen

In Tabelle 2 sind die klinischen Daten, die Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse sowie die häufig bei den Patienten festgestellten Vorerkrankungen aufgeführt. Der Großteil der Daten wurde mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson auf signifikante Unterschiede überprüft, nur beim Faktor „Aktueller Nikotinkonsum“ musste ein 2-Tail-Test nach Fischer angewandt werden, da das Merkmal in der Monolyth-Gruppe nicht ausgeprägt war.

Bis auf ein Merkmal waren für die Patienten bezüglich der Risikofaktoren und Vorerkrankungen keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

Nur im Merkmal „nicht insulinpflichtiger Diabetes mellitus“ unterschieden sich die beiden Gruppen vor Bonferroni-Korrektur signifikant. Hier betrug der Anteil der an Diabetes mellitus erkrankten Patienten in der Monolyth-Gruppe 47,06 % gegenüber 5,26 % in der Synthesis-Gruppe.

Tabelle 2: Präoperative klinische Patientendaten

	Synthesis		Monolyth		p
	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	
2 Gefäß-KHK	6	31.58	3	17.65	0.335
3 Gefäß-KHK	13	68.42	14	82.35	
Dyslipoproteinämie	15	78.95	14	82.35	0.797
Arterielle Hypertonie	19	100.00	16	94.12	0.284
aktuell Nikotinabusus	3	15.79	0	0.00	0.231
Ex-Nikotinabusus	7	36.84	9	52.94	0.331
Diabetes mellitus	1	5.26	8	47.06	0.003
Adipositas	15	78.95	14	82.35	0.797
PAVK	6	31.58	8	47.06	0.341
Niereninsuffizienz	4	21.05	5	29.41	0.563
TIA, PRIND, Apoplex	3	15.79	1	5.89	0.345

Absolut = Anzahl Merkmalsträger, Relativ = Relativer Anteil Merkmalsträger,
p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Ausprägung des Schweregrads der Angina pectoris bei den Patienten der beiden Gruppen, klassifiziert nach dem System der „Canadian Cardiovascular Society“.

CCS 0 entspricht hierbei einer stummen Ischämie, CCS 1 wird vergeben bei Angina pectoris nur bei schwerer körperlicher Belastung, CCS 2 und 3 bezeichnen eine geringe bzw. erhebliche Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch Angina pectoris und CCS 4 entspricht Angina pectoris bereits bei geringer körperlicher Aktivität oder in Ruhe.

Bei Überprüfung der Gruppenunterschiede durch Chi-Quadrat-Test nach Pearson fand sich hier kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 3: Schweregrad der Angina pectoris

	Synthesis		Monolyth		p
	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	
CCS 0	1	5.26	0	0.00	0.078
CCS 1	0	0.00	0	0.00	
CCS 2	6	31.58	0	0.00	
CCS 2-3	9	47.37	11	64.71	
CCS 3	2	10.53	5	29.41	
CCS 4	1	5.26	1	5.88	

CCS = Canadian Cardiovascular Society-Score,
 Absolut = Anzahl Merkmalsträger, Relativ = Relativer Anteil Merkmalsträger,
 p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

3.1.3 Laborergebnisse

Tabelle 5 zeigt die Mittelwerte und statistischen Kenngrößen der präoperativ ermittelten Laborergebnisse der Patienten.

Bezüglich der bestimmten Laborwerte waren die beiden Gruppen annähernd strukturgleich.

Die Überprüfung erfolgte hierbei mittels t-Test nach Student.

Die Mittelwerte von Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Hb, Thrombozytenzahl, Kreatinin, CK, LDH, GOT, GPT und CRP lagen bei beiden Gruppen innerhalb des physiologischen Normbereichs.

Tabelle 4: Präoperative Laborwerte

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Leukozyten (1/µl)	19	6801	7721	5880	17	7915	6942	8889	0.100
Erythrozyten (Mio/µl)	19	4.83	5.02	4.64	17	4.61	4.81	4.41	0.122
Hämoglobin (g/dl)	19	14.99	15.70	14.28	17	14.71	15.46	13.95	0.582
Thrombozyten (1000/µl)	19	220	245	197	17	244	273	197	0.192
Kreatinin (mg/dl)	19	1.2	1.2	1.1	17	1.1	1.2	1.1	0.654
CK (U/l)	19	94	119	75	17	103	131	75	0.606
LDH (U/l)	19	159	170	145	17	179	192	145	0.056
GOT (U/l)	19	28	34	24	17	27	33	24	0.762
GPT (U/l)	19	38	46	31	17	34	41	31	0.436
CRP (mg/dl)	19	0.24	0.44	0.13	17	0.21	0.41	0.13	0.772

n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert,

OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall,

p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

3.2 Intraoperativ ermittelte Daten

Bei den in Tabelle 5 dargestellten Mittelwerten und oberen und unteren Grenzen der Konfidenzintervalle der intraoperativ ermittelten Daten ergaben sich vor Bonferroni-Korrektur zum Teil signifikante Unterschiede für die beiden Gruppen.

Die OP-Dauer war in der Monolyth-Gruppe deutlich höher als in der Synthesis-Gruppe, ebenso wie die Dauer der extrakorporalen Zirkulation.

Die Testung auf signifikant Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte bei OP-Dauer, EKZ-Zeit, Kardioplegiemenge, Heparin- und Protaminmenge mit dem W-Test nach Shapiro-Wilk.

Bezüglich der Aortenklemmzeit wurde aufgrund ungleicher Varianzen bei den beiden Gruppen ein alpha-Test nach Welch durchgeführt. Somit ergab sich hier kein signifikanter Unterschied ($p > 0,5$).

Auch für die weiteren intraoperativen Charakteristika Kardioplegiemenge, Heparin- und Protaminmenge in Tabelle 7 wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden.

Tabelle 5: Operative Rahmenbedingungen

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	N	MW	OKI	UKI	
OP-Dauer (min)	18	199	213	185	16	225	247	203	0.039
EKZ-Zeit (min)	19	85	93	77	17	98	108	88	0.043
Aortenklammzeit (min)	19	50	55	45	17	59	68	49	0.102
Kardioplegiemenge (ml)	19	2742	3120	2410	17	2842	3258	2479	0.702
Heparinmenge (I.E.)	17	36982	39973	33991	16	39156	44474	33839	0.447
Protaminmenge (I.E.)	17	37606	41354	33858	16	41531	46196	36867	0.171
Blutverlust (ml)	19	2026	2329	1723	17	2252	2573	1932	0.304

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

In Tabelle 6 ist die Zahl der operativ angelegten Bypässe gezeigt.

Bei dem durchgeführten Chi-Quadrat-Test nach Pearson ergab sich ein Unterschied zwischen den Gruppen, wobei in der Synthesis-Gruppe die Mehrheit der Patienten 2 oder 4 Gefäßanastomosen bekam, während in der Monolyth-Gruppe die Anlage von 3 oder 5 Anastomosen häufiger war. Dieser Unterschied war nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant.

Tabelle 6: Anzahl angelegter Bypässe

	Synthesis		Monolyth		p
	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	
2 Anastomosen	7	36.84	3	17.65	0.005
3 Anastomosen	2	10.53	8	47.06	
4 Anastomosen	8	42.11	1	5.88	
5 Anastomosen	2	10.53	5	29.41	

Absolut = Anzahl Merkmalsträger, Relativ = Relativer Anteil Merkmalsträger, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

3.3 Postoperativ ermittelte klinische Daten

Tabelle 7 zeigt die postoperativ ermittelten klinischen Daten der Patienten.

Die beiden Gruppen wurden mittels Student-t-Test verglichen, wobei sich weder für die Liegedauer auf der Intensivstation, die komplette Überwachungszeit, d. h. Aufenthalt auf der Intensivstation und im Wachzimmer der Thorax-Herz-Gefäß-Chirurgie, die Drainagemenge, die Liegedauer der Drainage noch für die Dauer des Aufenthaltes in den CRONA-Kliniken signifikante Unterschiede feststellen ließen. Bei der Analyse der Dauer des Klinikaufenthalts wurden die Daten eines Patienten nicht mit einbezogen, der zur Abklärung neurologischer Auffälligkeiten in die neurologische Abteilung der Universitätsklinik Tübingen verlegt werden musste. Ein Patient konnte während der Operation nicht von der HLM entwöhnt werden und verstarb noch am selben Tag. Seine Daten waren deswegen unvollständig und wurden nicht mit ausgewertet.

Für die Intubationsdauer ergab sich ein deutlicher Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen, wobei die Patienten der Synthesis-Gruppe kürzer intubiert waren als die der Monolyth-Gruppe. Dieser Unterschied war jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr als signifikant zu werten.

An weiteren Komplikationen ergaben sich bei einem Patienten postoperative Blutungen, die zu einer Rethorakotomie führten. Ein Patient war postoperativ pulmonal insuffizient, 4 zeigten in den Akten nicht näher definierte neurologische Auffälligkeiten, bei 8 Patienten kam es zu temporärem Vorhofflimmern, bei 11 zu einem Pleura- und bei zweien zu einem Perikarderguss.

Tabelle 7: Postoperative klinische Patientendaten

	Synthesis				Monolyth				P
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Intubationsdauer (h)	17	11.69	13.68	9.99	13	15.23	18.23	12.73	0.031
Intensivdauer (h)	19	26.86	32.34	21.88	17	29.19	35.89	23.74	0.512
Überwachungszeit (h)	19	54.63	66.42	66.42	17	68.52	84.24	55.73	0.115
Drainagemenge (ml)	19	842	1127	630	15	1017	1412	733	0.387
Liegedauer Drainage (d)	19	3.15	4.13	2.40	15	4.07	5.52	3.00	0.210
Klinikaufenthalt (d)	19	10.26	11.36	9.26	16	10.68	11.94	9.55	0.590

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

In Tabelle 8 ist zusammenfassend dargestellt, wie viele Patienten in den jeweiligen Gruppen Transfusionen erhielten. Als Transfusionen zählten intraoperative Eigenbluttransfusionen sowie die intra- oder postoperative Gabe von Erythrozytenkonzentrat, Fresh-frozen-Plasma oder Thrombozytenkonzentrat.

Beim Vergleich der Gruppen mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 8: Postoperativer Transfusionsbedarf

	Synthesis		Monolyth		P
	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	
Transfusionen	9	47.37	10	58.82	0.492
Keine Transfusionen	10	52.63	7	41.18	

Absolut = Anzahl Merkmalsträger, Relativ = Relativer Anteil Merkmalsträger, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

3.4 Hämatologische Parameter

Alle hämatologischen Parameter wurden mittels t-Test nach Student verglichen.

3.4.1 Hämoglobin

Tabelle 9 demonstriert Mittelwerte und statistische Kennzeichen der hämatokritkorrigierten Hämoglobinwerte der Patienten beider Gruppen über alle Abnahmezeitpunkte und für die einzelnen Abnahmezeitpunkte.

Von Zeitpunkt 1 zu Zeitpunkt 2 stieg der hämatokritkorrigierte Hämoglobinwert in beiden Gruppen deutlich an und fiel dann langsam wieder ab, ohne jedoch zum Zeitpunkt 6 den Ausgangswert wieder zu erreichen.

Ein signifikanter Unterschied vor Bonferroni-Korrektur zwischen den Gruppen konnte nur zum Zeitpunkt 2, also nach 20-minütiger Dauer der extrakorporalen Zirkulation, festgestellt werden. Hier waren die Hb-Werte in der Synthesis-Gruppe deutlich geringer als in der Monolyth-Gruppe. Nach Bonferroni-Korrektur war auch dieser Wert nicht mehr signifikant.

Außer zum Abnahmezeitpunkt 3 waren die Hb-Werte in der Monolyth-Gruppe immer höher als in der Synthesis-Gruppe.

Der mittlere korrigierte Hämoglobingehalt lag bei den Patienten während des gesamten Untersuchungszeitraumes unterhalb des physiologischen Referenzbereichs von 14.0 bis 18.0 g/dl.

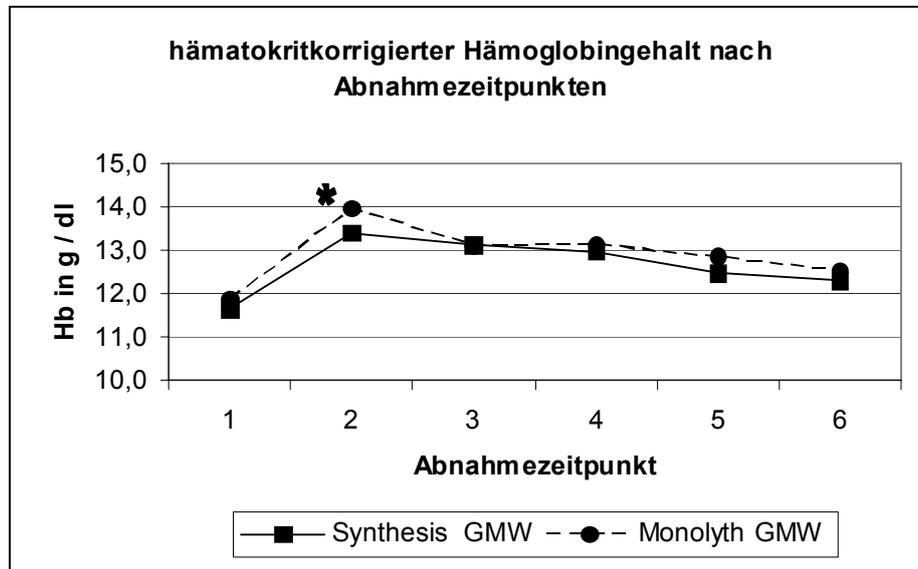
Tabelle 9: hämatokritkorrigierter Hämoglobingehalt

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	12.6	11.9	11.3	17	12.9	12.2	11.6	0.119
AZP1	19	11.6	12.1	11.2	17	11.9	12.3	11.4	0.414
AZP2	19	13.4	13.8	13.1	17	14.0	14.3	13.6	0.029
AZP3	19	13.1	13.5	12.9	17	13.1	13.4	12.8	0.919
AZP4	19	13.0	13.3	12.6	17	13.1	13.5	12.7	0.557
AZP5	19	12.5	12.8	12.2	17	12.9	13.2	12.5	0.074
AZP6	19	12.3	12.6	12.0	17	12.5	12.9	12.2	0.285

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 1 zeigt die Mittelwerte der hämatokritkorrigierten Hämoglobinwerte der verschiedenen Gruppen in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten.

Abbildung 1:



GMW = Geometrischer Mittelwert, * = vor Bonferroni-Korrektur statistisch signifikanter Wert

3.4.2 Erythrozyten

Für die hämatokritkorrigierten Erythrozytenzahlen ergaben sich weder über alle Abnahmezeitpunkte noch für die einzelnen Zeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 10 und Abbildung 2).

Zwischen Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 2 stiegen die hämatokritkorrigierten Erythrozytenzahlen deutlich an und nahmen danach langsam wieder ab.

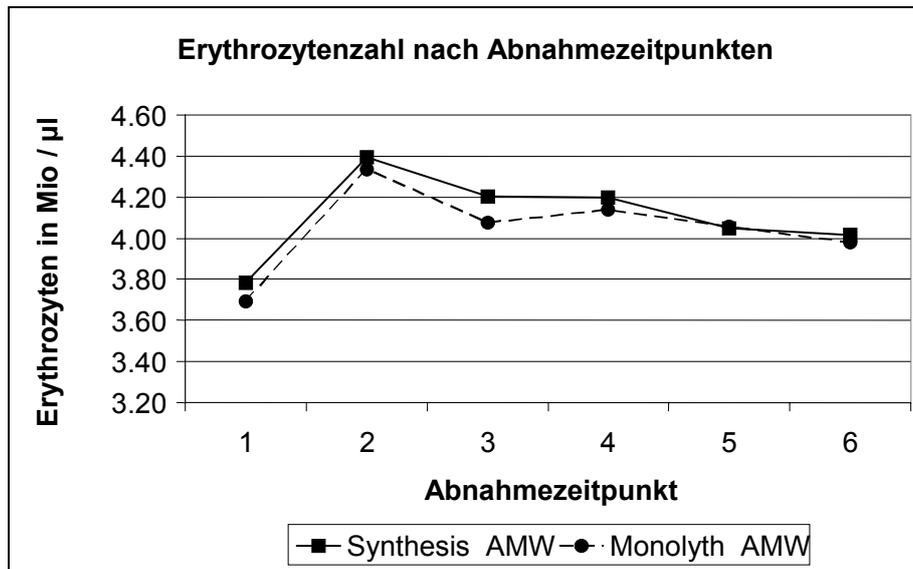
Zum Zeitpunkt 1, 4, 5 und 6 lagen die Erythrozytenzahlen unter dem Referenzbereich für Gesunde (4,2 bis 6,2 Mio/ μ l).

Tabelle 10: Erythrozytenzahl

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	4.10	3.90	3.64	17	4.04	3.85	3.58	0.521
AZP1	19	3.78	3.99	3.59	17	3.69	3.90	3.49	0.533
AZP2	19	4.39	4.57	4.23	17	4.34	4.52	4.16	0.643
AZP3	19	4.21	4.36	4.06	17	4.08	4.24	3.92	0.244
AZP4	19	4.20	4.34	4.06	17	4.14	4.28	4.00	0.529
AZP5	19	4.05	4.18	3.92	17	4.06	4.20	3.93	0.914
AZP6	19	4.01	4.13	3.90	17	3.98	4.10	3.86	0.670

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 2:



3.4.3 Leukozyten

Tabelle 11 und Abbildung 3 zeigen, dass für die Leukozytenzahlen keine Gruppenunterschiede festgestellt werden konnten, weder über alle Abnahmezeitpunkte noch für die einzelnen Zeitpunkte.

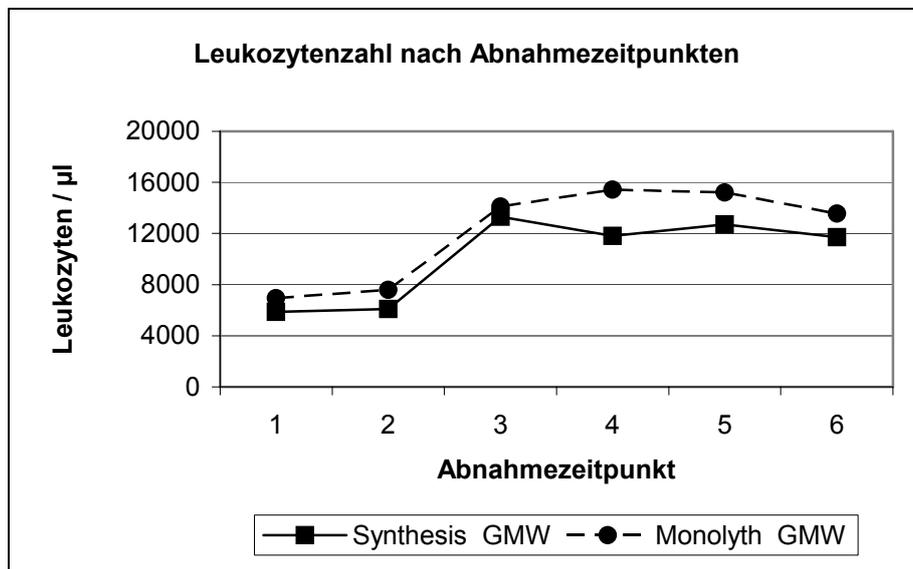
Von Zeitpunkt 2 zu Zeitpunkt 3 stiegen die Leukozytenzahlen auf etwa das Doppelte des Ausgangswertes und blieben auf diesem hohen Niveau bis zum Zeitpunkt 6, wobei die Werte in der Monolyth-Gruppe etwas höher waren als in der Synthesis-Gruppe. Beginnend mit Abnahmezeitpunkt 3 überschritten die Leukozytenzahlen in beiden Gruppen den Referenzbereich für gesunde Patienten (4000 bis 9500 Leukozyten/ μ l) deutlich.

Tabelle 11: Leukozytenzahl

	Synthesis				Monolyth				p
	N	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	9703	6817	5018	17	11535	8162	5923	0.090
AZP1	19	5860	6833	5026	17	6938	8162	5898	0.134
AZP2	19	6099	7362	5052	17	7580	9249	6212	0.116
AZP3	19	13308	15816	11197	17	14109	16936	11754	0.639
AZP4	19	11811	14328	9734	17	15419	18915	12569	0.063
AZP5	19	12698	14935	10797	17	15195	18038	12800	0.132
AZP6	19	11699	13621	10048	17	13553	15918	11540	0.186

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanz vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 3:



GMW = Geometrischer Mittelwert

3.4.4 Thrombozyten

Für die Thrombozytenzahlen konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden, dies zeigen Tabelle 12 und Abbildung 4.

Auffallend war jedoch die Abnahme der Thrombozytenzahl zwischen Abnahmezeitpunkt 2 und 3, wobei die Thrombozytenzahl zum Zeitpunkt 3 trotz der vorgenommenen Hämatokritkorrektur unter den Referenzbereich für gesunde Patienten von 150.000 Thrombozyten/ μ l fiel.

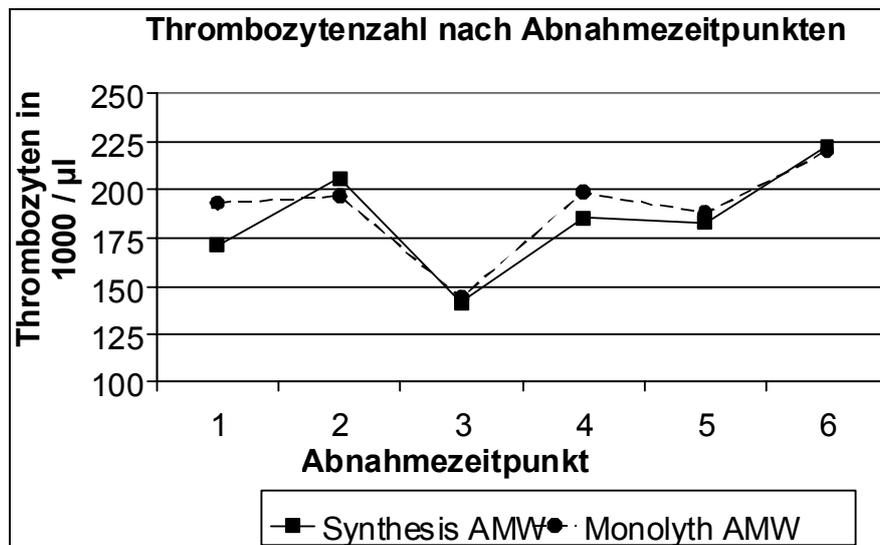
Von Abnahmezeitpunkt 3 bis zu Abnahmezeitpunkt 6 kam es in beiden Gruppen zu einem Anstieg der Thrombozyten. Zwischen Zeitpunkt 4 und 5 verringerte sich deren Mittelwert in der Monolyth-Gruppe nochmals deutlich.

Tabelle 12: Thrombozytenzahl

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	183.05	203.44	157.03	17	188.66	210.91	210.91	0.724
AZP1	19	171.10	200.17	146.25	17	193.42	228.30	228.30	0.283
AZP2	19	206.22	246.43	172.58	17	196.89	237.68	237.68	0.719
AZP3	19	141.26	161.10	123.85	17	143.96	165.42	165.42	0.842
AZP4	19	185.28	212.47	161.58	17	198.62	229.56	229.56	0.483
AZP5	19	182.95	208.83	160.25	17	187.98	216.22	216.22	0.777
AZP6	19	222.69	253.05	195.97	17	220.26	252.12	252.12	0.905

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanz vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 4:



AMW = Arithmetischer Mittelwert

3.5 Laborergebnisse

Die Untersuchung der im THG-Forschungslabor ermittelten Ergebnisse auf Gruppenunterschiede erfolgte mittels Student-t-Test.

3.5.1 TCC (Terminaler Komplementkomplex)

Tabelle 13 sind die Mittelwerte und statistischen Kenngrößen der SC5b-9-Konzentrationen der beiden Gruppen zu entnehmen.

In beiden Gruppen war von Zeitpunkt 1 zu Zeitpunkt 2 und von Zeitpunkt 2 zu Zeitpunkt 3 jeweils ein Anstieg der SC5b-9-Konzentration auf mehr als das Doppelte des Ausgangswertes zu erkennen. Beim Abnahmezeitpunkt 4 hatten sich die Konzentrationen wieder den Werten zum Abnahmezeitpunkt 1 angenähert. Danach stiegen sie wieder leicht an.

Zusätzlich ergab sich zum Abnahmezeitpunkt 3 (direkt nach Protamingabe) ein vor Bonferroni-Korrektur signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, wobei die Konzentration an terminalem Komplementkomplex in der Synthesis-Gruppe etwa um das 1,8fache größer war als in der Monolyth-Gruppe. Nach Bonferroni-Korrektur war dieser Wert nicht mehr signifikant.

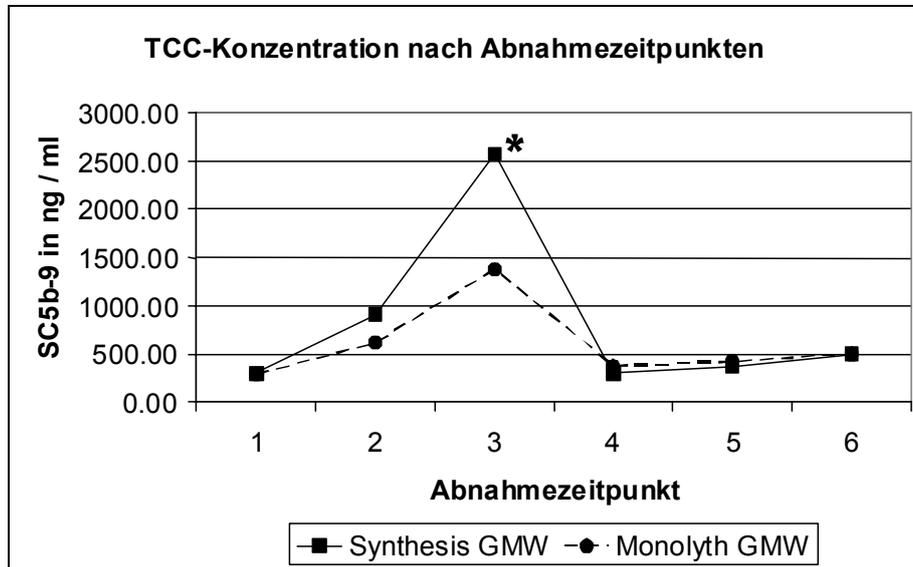
Tabelle 13: TCC-Konzentration

	Synthesis				Monolyth				p
	N	MW	OKI	UKI	N	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	564.5	394.1	224.5	17	516.1	384.4	212.1	0.844
AZP1	19	297.5	384.8	229.9	17	285.5	374.9	217.5	0.826
AZP2	19	904.8	1210.0	676.6	17	612.3	832.5	450.3	0.969
AZP3	19	2576.4	3340.4	1987.5	17	1373.8	1807.6	1044.0	0.002
AZP4	19	296.1	424.1	206.6	17	372.5	544.8	254.7	0.379
AZP5	19	363.1	470.7	280.1	17	422.3	555.6	320.9	0.422
AZP6	19	497.1	584.9	322.3	17	497.1	703.4	351.3	0.551

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert, OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

In Abbildung 5 ist der Verlauf der Mittelwerte der SC5b-9-Konzentration bei den Patienten graphisch dargestellt.

Abbildung 5:



GMW = Geometrischer Mittelwert, * = vor Bonferroni-Korrektur statistisch signifikanter Wert

Die Abbildungen 6 und 7 zeigen jeweiligen Konzentrationen an SC5b-9 der einzelnen Patienten zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten.

Hierbei fällt vor allem auf, dass die TCC-Spitzenwerte von 3 Patienten bei Zeitpunkt 3 in der Synthesis-Gruppe deutlich höher liegen als in der Monolyth-Gruppe. Diese hohen Werte ergeben dann den Unterschied im Vergleich der beiden Mittelwerte.

Die Einzelwerte der TCC-Konzentration zu den verschiedenen Zeitpunkten sind den Tabellen 16 und 17 im Anhang zu entnehmen.

Abbildung 6:

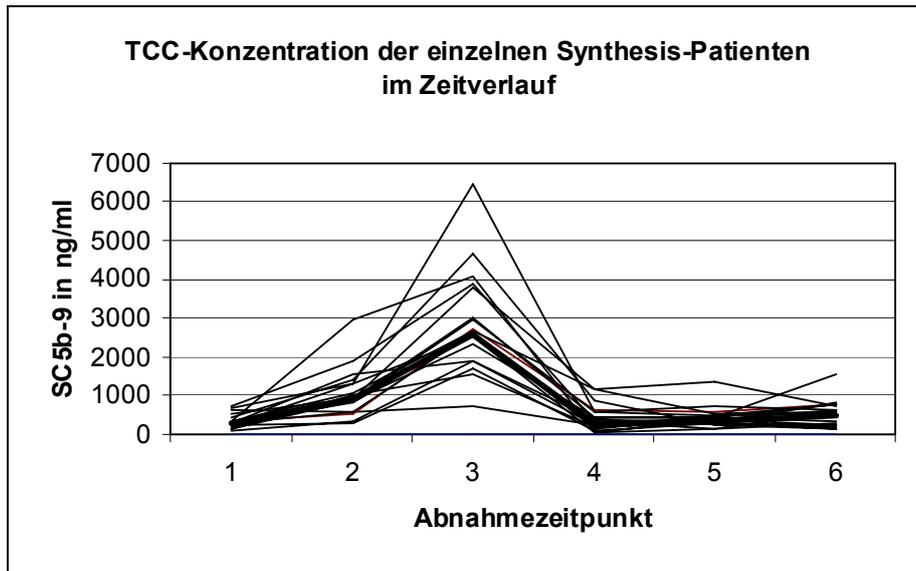
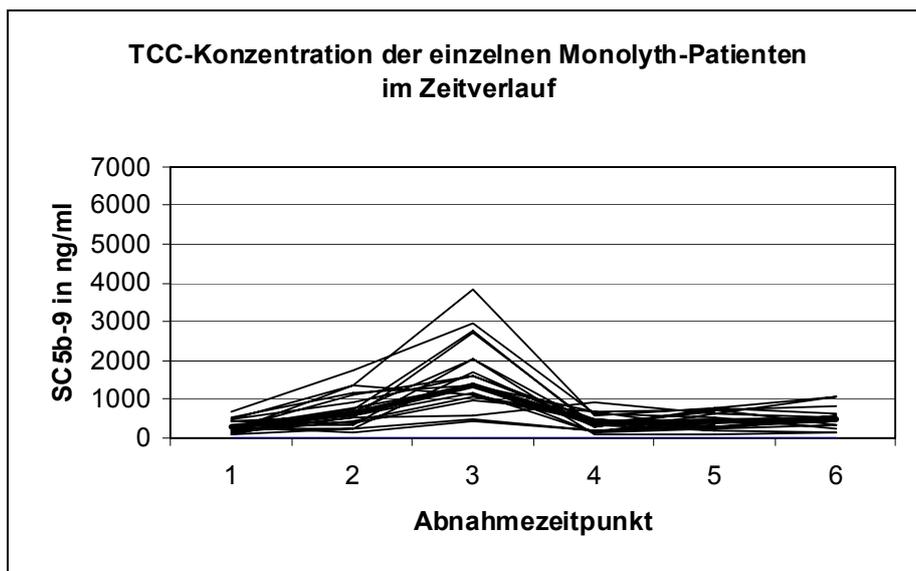


Abbildung 7:



3.5.2 TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)

Tabelle 14 und Abbildung 8 zeigen Mittelwerte und statistische Kenngrößen für die Konzentrationen an Thrombin Antithrombin III Komplex bei den Patienten der beiden Gruppen.

Von Abnahmezeitpunkt 1 bis zu Abnahmezeitpunkt 3 stiegen die TAT-Konzentrationen in beiden Gruppen kontinuierlich an und fielen danach wieder ab. Von Zeitpunkt 2 zu Zeitpunkt 3 betrug die Zunahme mehr als das Dreifache.

Alle mittleren TAT-Konzentrationen überschritten den Referenzbereich für gesunde Erwachsene (1,4 bis 4,0 µg/l) deutlich.

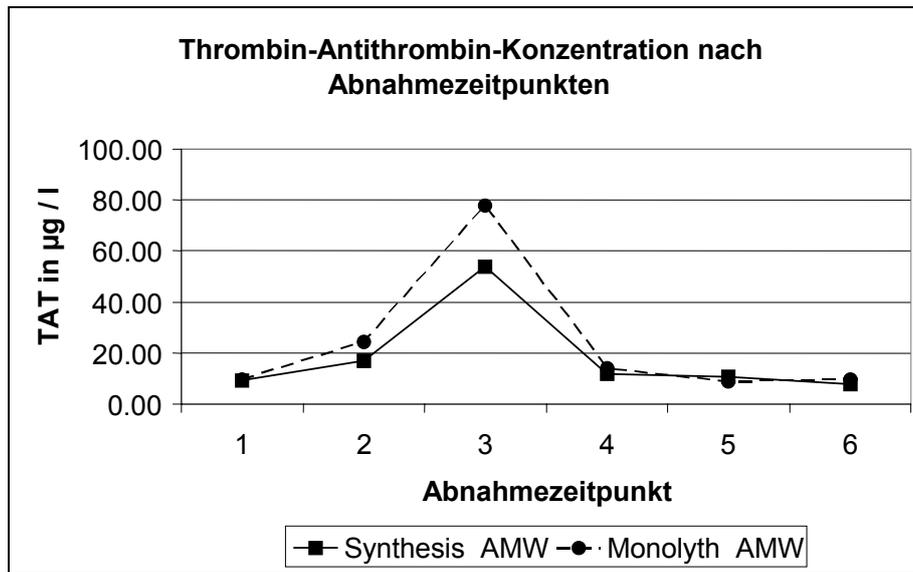
Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt.

Tabelle 14: TAT-Konzentration

	Synthesis				Monolyth				P
	N	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	14.170	11.017	6.865	17	16.963	13.002	8.004	0.170
AZP1	19	9.230	11.901	7.159	17	9.545	12.485	7.296	0.855
AZP2	19	17.068	22.248	13.095	17	24.356	32.233	18.403	0.070
AZP3	19	53.730	72.611	39.765	17	77.909	107.103	56.676	0.094
AZP4	19	11.745	15.325	9.001	17	14.002	18.552	10.568	0.363
AZP5	19	10.628	14.781	7.642	17	8.788	12.454	6.200	0.436
AZP6	19	7.661	11.010	5.331	17	9.683	14.774	6.346	0.398

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert,
OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 8:



Die nachfolgenden Diagramme zeigen die Einzelwerte der Thrombin-Antithrombin-Konzentration für die Patienten der beiden Gruppen.

Deutlich wird dabei, dass die TAT-Werte in der Monolyth-Gruppe deutlich höher liegen als in der Synthesis-Gruppe, was jedoch vor allem an einigen einzelnen Patienten liegt. Der Großteil der Patientenwerte liegt präoperativ im Bereich von 5 bis 20 µg TAT/l und steigt dann bis zum Ende der EKZ um das fünf- (Synthesis) bis siebenfache (Monolyth) an. Bereits zum Abnahmezeitpunkt 4, 6 Stunden nach Ende der EKZ, haben die Werte ihr Ausgangsniveau wieder erreicht. Interessant ist noch, dass die Werte eines Patienten in der Monolyth-Gruppe nach 72 Stunden wieder angestiegen sind, ohne dass bei ihm weitere Auffälligkeiten gefunden werden konnten.

Die einzelnen Werte für TAT zu den unterschiedlichen Zeitpunkten finden sich in Tabelle 18 und 19 im Anhang.

Abbildung 9:

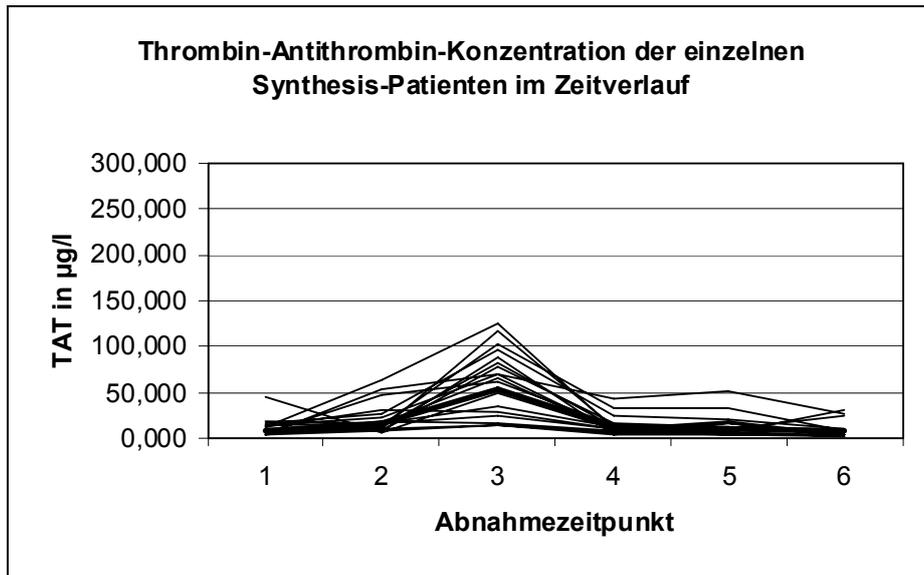
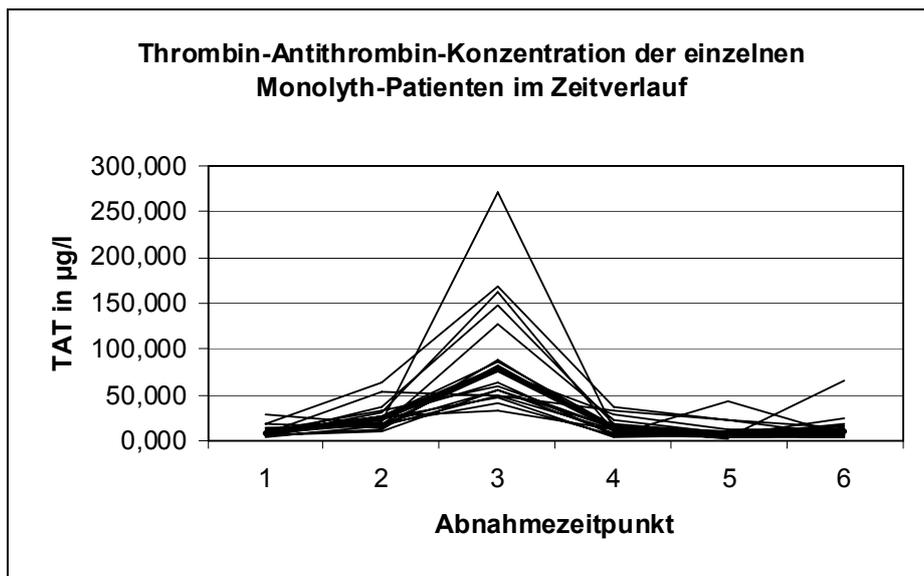


Abbildung 10:



3.5.3 sCD40L (löslicher CD40-Ligand)

Von der ersten Blutentnahme bis zum Abnahmezeitpunkt 3 stiegen die Konzentrationen an sCD40-Ligand in beiden Gruppen an. Danach nahmen sie bis zu Zeitpunkt 6 wieder ab, erreichten aber nicht ganz die Ausgangswerte vom Zeitpunkt 1.

Bei den Konzentrationen an sCD40-Ligand ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die beiden Gruppen, siehe Tabelle 15 und Graphik 11.

Die Abnahme der Konzentrationen ab Zeitpunkt 3 erfolgte in der Monolyth-Gruppe deutlich langsamer, jedoch ohne signifikanten Unterschied zur Synthesis-Gruppe.

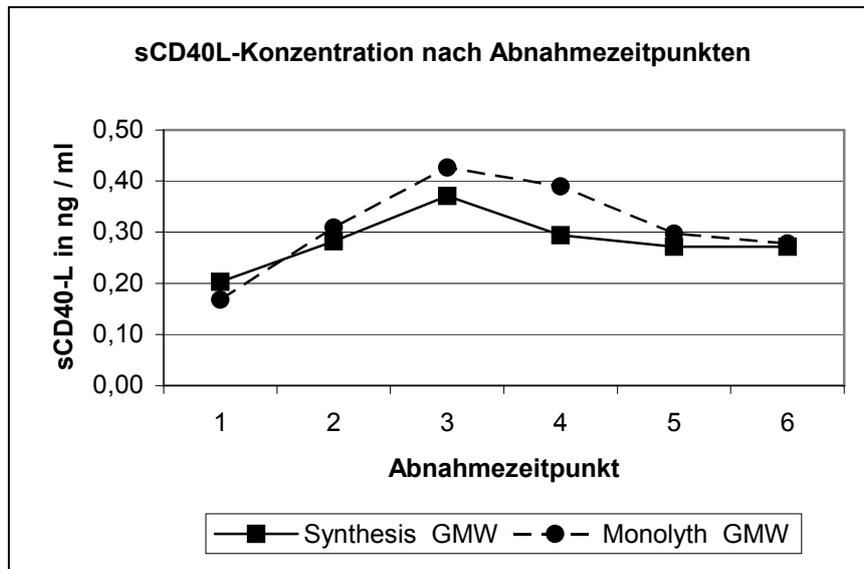
Tabelle 15: sCD40L-Konzentration

	Synthesis				Monolyth				p
	n	MW	OKI	UKI	n	MW	OKI	UKI	
Gesamt	19	0.278	0.241	0.133	17	0.299	0.263	0.142	0.715
AZP1	19	0.203	0.298	0.138	17	0.168	0.252	0.112	0.499
AZP2	19	0.282	0.391	0.204	17	0.309	0.436	0.219	0.705
AZP3	19	0.371	0.493	0.279	17	0.426	0.576	0.315	0.500
AZP4	19	0.294	0.414	0.209	17	0.390	0.559	0.272	0.258
AZP5	19	0.271	0.369	0.199	17	0.297	0.412	0.215	0.679
AZP6	19	0.271	0.360	0.205	17	0.278	0.386	0.200	0.911

AZP = Abnahmezeitpunkt, n = Anzahl Patienten, MW = Mittelwert,

OKI = Oberes Konfidenzintervall, UKI = Unteres Konfidenzintervall, p = Signifikanzniveau vor Bonferroni-Korrektur

Abbildung 11:



GMW = Geometrischer Mittelwert

Die Abbildungen 12 und 13 zeigen die Einzelwerte der Patienten der beiden Gruppen nach ihren Abnahmezeitpunkten.

Dabei fällt auf, dass es in beiden Gruppen mehrere „Ausreißer“ gibt, die sich durch besonders hohe sCD40L-Werte auszeichnen. Die Mittelwerte der beiden Gruppen liegen jedoch im selben Bereich.

Im Anhang Tabelle 20 und 21 sind die Werte der einzelnen Patienten aufgelistet.

Abbildung 12:

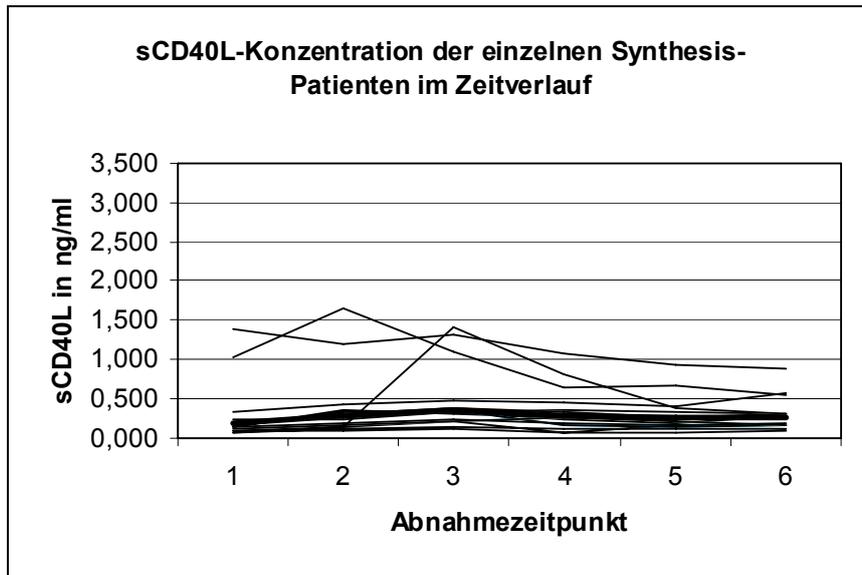
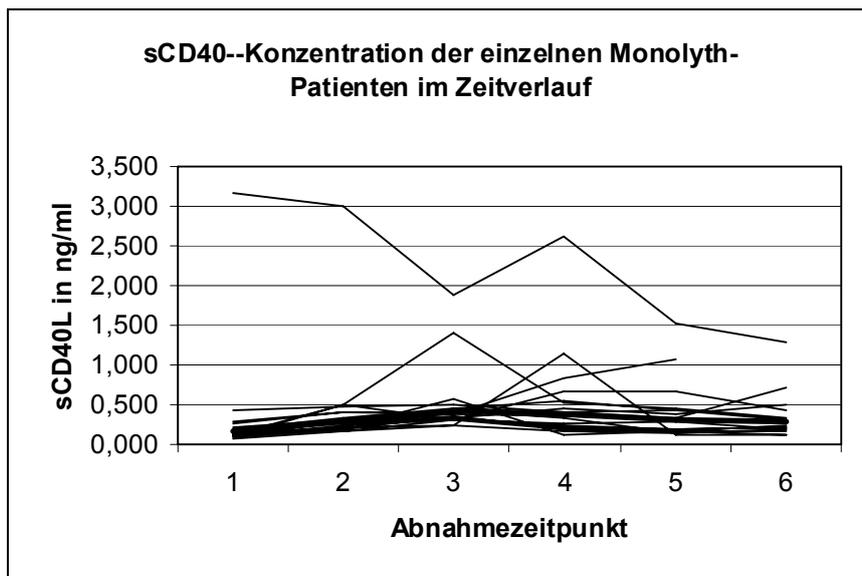


Abbildung 13:



4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Patientenkollektiv

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die Einflüsse der Beschichtung von HLM-Oxygenatoren auf den klinischen Zustand und die laborchemische Parameter von Patienten zu überprüfen. Um die bestmögliche Vergleichbarkeit zwischen den beiden Gruppen zu erhalten, rekrutierten sich die Studienteilnehmer aus einem Kollektiv von Patienten, die sich erstmalig einer elektiven Bypassoperation unterziehen mussten und an mindestens 2 Gefäßen zu operierende Stenosen aufwiesen. Die Studienteilnehmer wurden blind einer der beiden Studiengruppe zugeordnet. Bei beiden Gruppen wurden Herzlungenmaschinen der Firma Stöckert vom Typ SIII verwendet. In der einen Gruppe wurden während der Operation unbeschichtete Oxygenatoren (Sorin Monolyth), in der anderen Phosphorylcholin-beschichtete (Sorin Synthesis) verwendet. Ansonsten waren die Herzlungenmaschinen baugleich.

Hinsichtlich der biometrischen Daten Alter, Gewicht, Körpergröße und –oberfläche wiesen die beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf, sodass diesbezüglich von Strukturgleichheit ausgegangen werden kann. Der die Herzfunktion beschreibende Parameter Ejektionsfraktion war in der Synthesis-Gruppe höher, während es für die LVEDP nur einen minimalen Unterschied zwischen den beiden Gruppen gab. Die LVEDP wird bei der Koronarangiographie direkt blutig gemessen, während die EF indirekt bestimmt bzw. manuell unterstützt nachgezeichnet und abgeleitet wird. Da LVEDP und EF außerdem funktionell eng zusammenhängen, ist es wahrscheinlich, dass die EF der beiden Gruppen sich fälschlicherweise erheblich unterscheidet, während die LVEDP in den beiden Gruppen nahezu gleich ist.

Bezogen auf die kardiovaskulären Risikofaktoren Dyslipoproteinämie, arterielle Hypertonie, (Ex-)Nikotinkonsum, Adipositas, zentrale und periphere arterielle Verschlusskrankheit unterschieden sich die beiden Gruppen nicht. Lediglich nicht-insulinabhängiger Diabetes mellitus trat in der Monolyth-Gruppe eindeutig

häufiger auf. Mehrere Studien haben in den letzten Jahren gezeigt, dass Diabetes mellitus mit erhöhten Entzündungsparametern einhergeht, z. B. mit erhöhten CRP-Werten und verstärkter Aktivierung von Monozyten und neutrophilen Granulozyten.^{71, 148, 188} Mit der Diabetes-Erkrankung assoziierte proinflammatorische Effekte auf die Blutwerte in der Monolyth-Gruppe können somit nicht ausgeschlossen werden.

Im Hinblick auf die klinische Ausprägung der Koronarerkrankung, gemessen an der Anzahl der stenotischen Gefäße sowie der Einteilung nach CCS, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Ebenso wenig war dies bezüglich der präoperativ ermittelten Laborwerte der Patienten der Fall.

4.1.2 Perioperative Parameter

Die Durchführung der Operationen erfolgte in beiden Gruppen nach den heute gültigen Standards der Herzchirurgie. Trotzdem gab es zwischen den Gruppen Unterschiede bezüglich der gesamten OP-Dauer und der Zeit, die die Patienten jeweils an die HLM angeschlossen waren. Beide Zeiten waren in der Monolyth-Gruppe länger, ohne jedoch nach Bonferroni-Korrektur noch signifikant zu sein. Verschiedene Studien haben bereits gezeigt, dass die Dauer der EKZ und der Aortenabklemmzeit mit der Höhe des Anstiegs von Interleukin 6 und 8 sowie TNF-alpha positiv korrelieren.^{45, 57, 78, 87} Jedoch gibt es auch gegenteilige Studienergebnisse, die einen Einfluss der EKZ-Zeit auf die Höhe der Interleukinplasmawerte verneinen.⁵⁷ In einer Studie konnte außerdem ein positiver Zusammenhang zwischen OP-Dauer, Aortenabklemm- sowie EKZ-Zeit und dem Auftreten von Symptomen eines SIRS sowie dem Risiko für Organschäden und Komplikationen festgestellt werden.⁷⁹ Verschiedene Autoren konnten nachweisen, dass eine verlängerte EKZ-Dauer mit einer Aktivierung des Gerinnungssystems und dadurch auch mit einem erhöhten Verlust von Thrombozyten und erhöhtem Bedarf an Bluttransfusionen einhergeht.¹⁷³

Die Dauer der Myokardischämie hat ebenso Einfluss auf die Entzündungsantwort, insbesondere auf den Anstieg der Plasmaelastase nach EKZ.¹⁸ Entscheidender Faktor für die Myokardischämie ist jedoch die Dauer der Aortenabklemmzeit. Diesbezüglich gab es aber bei der hier vorliegenden Arbeit keine Gruppenunterschiede. Ebenso ist es fraglich, ob der geringfügige Unterschied der EKZ-Dauer zwischen den beiden Gruppen tatsächlich einen Effekt auf die Entzündungsantwort haben kann.

Da sich die Gruppen in Hinblick auf die intraoperativ verabreichten Mengen an Kardioplegielösung, Heparin und Protamin sowie den intraoperativen Blutverlust nicht signifikant unterschieden, sind gruppenspezifische Effekte dadurch auf Entzündungs- oder Gerinnungssystem nicht zu erwarten.

Bezüglich der Anzahl der operativ angelegten Bypässe unterschieden sich die beiden Gruppen, jedoch waren die Unterschiede nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant. Die Patienten, die an 3 oder 5 Gefäßen operiert wurden, waren zufälligerweise häufiger der Gruppe mit dem unbeschichteten Oxygenator Monolyth zugeteilt worden als diejenigen, die an 2 oder 4 Gefäßstenosen litten. Dies ist vermutlich auch ursächlich für die in der Monolyth-Gruppe im Vergleich zu Synthesis-Gruppe längere Operationsdauer, da die Anlage weiterer Anastomosen die Interventionszeit verlängert.

4.1.3 Postoperative klinische Daten

Für die klinisch entscheidenden Parameter wie Intubationsdauer, Liegezeit auf der Intensivstation, der Wachstation und im Krankenhaus insgesamt sowie Liegedauer der Drainage und Menge der Sekretion in die Drainage ergaben sich ebenso wenig signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wie für die Notwendigkeit von postoperativen Transfusionen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Art der Oxygenatoren-Beschichtung hierauf keinen Einfluss hat. Die Patienten mit Phosphorylcholin-beschichteten Oxygenatoren wiesen deutlich kürzere Intubationszeiten auf. Ob es sich dabei aber tatsächlich um einen Effekt der Beschichtungsart handelt, kann nicht

sicher behauptet werden, da es sich hierbei nicht um signifikante Unterschiede handelt. Deswegen wären hier weitere Studien mit größeren Fallzahlen zur Klärung notwendig.

Dass eine Heparinbeschichtung der Oxygenatoren gegenüber unbeschichteten Oxygenatoren klinische Vorteile hat, vor allem im Hinblick auf Blutverlust und Transfusionsbedarf ^{166, 190}, aber auch bezüglich postoperativer Liegedauer und Beatmungszeit ¹⁵⁰, wurde bereits mehrfach nachgewiesen, unter anderem in einer großen Meta-Analyse mit über 3400 Patienten. ¹¹⁰

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Hämoglobin und Erythrozyten

Während der EKZ kommt es vor allem durch die auf die Erythrozyten einwirkenden Scherkräfte an verschiedenen Stellen der HLM, z. B. an Konnektorstellen, am Kardiotomiesauger und in den Pumpen selbst, zur Hämolyse.^{39, 120, 185} Die zerstörten Erythrozyten setzen sodann ADP und andere thrombogene Substanzen frei, welche die Aggregation von Thrombozyten fördern.⁸⁴ Außerdem kann es durch das freigewordene Hämoglobin zu Gewebsschäden und Nierenfunktionsstörungen kommen.¹²⁸

Die durch die vorliegende Studie erbrachten Ergebnisse, nach denen Hb und Erythrozytenzahl von präoperativ bis zum 1. Abnahmezeitpunkt 20 Minuten nach Beginn der EKZ leicht anstiegen, lässt sich am ehesten durch die Hämatokritkorrektur erklären, bei welcher der tatsächlich zum Zeitpunkt 2 gemessene Hb-Wert mit einem Faktor aus dem Hämatokrit zu Zeitpunkt 1 und 2 multipliziert wurde, um Verdünnungseffekte zu berücksichtigen.

Von Abnahmezeitpunkt 2 zu 3 (Ende der EKZ) sanken die Werte durch den intraoperativen Blutverlust ab. Zwar wird durch den Kardiotomiesauger im Operationsgebiet aufgesaugtes Blut dem Patienten über die HLM wieder zugeführt, aus verfahrenstechnischen Gründen verbleiben allerdings ca. 500 - 1000 ml im EKZ-System, so dass es zu einem Hb-wirksamen Blutverlust kommt. Außerdem wird das Blut durch die Zugabe der Priming-Lösung gleichzeitig auch stark verdünnt.

Der nachfolgende langsame Abfall der beiden Werte bis zur letzten Blutentnahme 72 Stunden nach Beendigung der EKZ ist vermutlich auf weitere Blutungen in die Thoraxdrainage und ins Wundbett sowie auf intra- und postoperative Hämolyse zurückzuführen. Da bezüglich des Hämoglobins diejenigen Patienten bessere Werte aufwiesen, die mit dem unbeschichteten Oxygenator operiert wurden, und bei der Erythrozytenzahl die Patienten der anderen Gruppe, kann auf einem eindeutigen Effekt der Beschichtung auf intra- und postoperative Werte der roten Blutzellen nicht geschlossen werden.

Eine andere Autorengruppe konnte allerdings bei einer vergleichenden Studie zwischen unterschiedlich beschichteten Oxygenatoren sowohl höhere Hämatokritwerte direkt nach dem Abgehen von der HLM als auch niedrigere Erythrozytentransfusionsraten bei den Patienten, die mit Phosphorylcholinbeschichteten Oxygenatoren operiert worden waren, nachweisen.⁵ Speziell zum Verlauf von Hämoglobingehalt und Erythrozytenzahl während und nach ACVB-Operationen mit unterschiedlichen Oxygenatoren sind bisher keine Untersuchungen publiziert worden.

Umso mehr Studien beschäftigen sich allerdings mit dem Transfusionsbedarf während und nach Herzoperationen,^{20, 66, 121} der direkt vom Hb-Wert abhängig ist. Bei Hb-Werten unter 8,0 g/dl gelten Patienten in der Regel als transfusionsbedürftig. Als Risikofaktoren für postoperativen Transfusionsbedarf konnten in einem Review der Gesellschaft für Herz- und Gefäßchirurgie sechs Variablen identifiziert werden: höheres Alter, geringes präoperatives Blutvolumen (präoperative Anämie oder geringe Körpergröße), präoperative anti-koagulatorische Therapie, andere operative Interventionen vor der eigentlichen Revaskularisierung, komplexe Eingriffe, Notfalloperationen und nichtkardiale Begleiterkrankungen.⁵³ Positive Effekte auf den perioperativen Hämoglobinwert konnten für den Einsatz von Antifibrinolytika und autologen Blutverarbeitungssystemen (CellSaver®), adäquater Indikationsstellung für Transfusionen und den gezielten Einsatz von OPCAB-Operationen nachgewiesen werden.⁵³

Außerdem erscheint es bezüglich des Hämatokrit sicher, dass niedrige Werte während ACVB-Operationen mit erhöhter Krankenhaussterblichkeit und anderen Komplikationen wie Schlaganfall, Myokardinfarkt, Nierenversagen, verlängerter Beatmungsdauer, Nachblutungen, Sepsis und MOV assoziiert sind.^{44, 47, 65} Zu den Risikofaktoren für einen intraoperativ niedrigen Hämatokrit zählen ganz ähnlich dem des postoperativen Transfusionsbedarfes, unter anderem niedrigerer präoperativer Hb, längere EKZ-Dauer, höheres Alter, geringere Körperoberfläche und die Infusion größerer Flüssigkeitsmengen.⁴⁷

4.2.2 Leukozyten

Dass es bei der systemischen Entzündungsreaktion nach EKZ zu einer Leukozytose kommt, ergibt sich bereits aus der Definition des SIRS.¹¹⁷ Insbesondere den neutrophilen Granulozyten wird hierbei eine entscheidende Rolle zugeschrieben.¹⁰⁵

Die Zahl der weißen Blutzellen nahm bei den Patienten unserer Studie wie erwartet während der Operation stark zu und blieb bis zur letzten Blutentnahme am 3. Tag nach der OP auf erhöhtem Niveau (zwischen 12.000 und 16.000 Zellen/ μ l). Diese Leukozytose ist als Ausdruck des durch die HLM ausgelösten SIRS zu deuten.¹¹⁷

Vor allem während des Einsatzes der HLM sowie bis zu 4 Stunden danach wurden auch von anderen Autoren deutlich erhöhte Werte für die weißen Blutkörperchen gefunden.³⁵ In weiteren Arbeiten konnte ein Anstieg der Leukozytenzahl erst 24 Stunden postoperativ nachgewiesen werden.²² Ob in diesen Arbeiten jedoch eine Korrektur der hämodilutionsbedingten Blutverdünnung erfolgte, ist nicht ersichtlich, so dass eine Leukozytose bereits während früherer Zeitpunkte nicht ausgeschlossen werden kann.

In einer Publikation, in der die Leukozytenzahlen von Patienten, die mit heparinbeschichteten und mit unbeschichteten Oxygenatoren operiert worden waren, verglichen wurden, konnten bei deren Ankunft auf der Intensivstation und auch noch 2 Stunden später signifikant niedrigere Leukozytenzahlen in der Heparin-Gruppe erhoben werden.⁴¹ Diese Zeitpunkte entsprechen in etwa den Abnahmezeitpunkten 3 und 4 unserer Studie. Zwischen Phosphorylcholinbeschichtung und unbeschichtetem Oxygenator konnte in der hier vorliegenden Arbeit jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Demzufolge ist nicht von einem signifikanten Einfluss der Art der Oxygenatorenbeschichtung auf die Höhe der Leukozytose auszugehen.

4.2.3 Thrombozyten

Im Verlauf der EKZ werden die Thrombozyten zum Teil direkt durch die unphysiologisch vermehrten Scherkräfte zerstört¹⁷⁷ sowie durch Heparin⁹⁶ und den Kontakt mit nicht endothelialisierten Oberflächen aktiviert¹⁸⁰. Es kommt, auch unter dem Einfluss aktivierter Gerinnungsfaktoren, zur Aggregatbildung der Thrombozyten¹¹² und mittels Glykoprotein IIb-IIIa und Fibrinogen zur Anheftung an die Komponenten des EKZ-Systems.⁶¹ Mehrfach konnte nachgewiesen werden, dass sowohl die Thrombozytenzahl als auch deren Funktion zum Ende der EKZ reduziert sind und die Blutungszeit verlängert ist.
61, 70, 118, 189

Die Thrombozytenzahl der hier untersuchten Patienten zeigte einen für Patienten, die mit HLM an koronaren Bypässen operiert wurden, typischen Verlauf. Nach Einleitung der Anästhesie und auch 20 Minuten nach Beginn der EKZ lagen die Thrombozytenzahlen noch im Normbereich, während sie dann zum Ende der EKZ deutlich absanken. Bereits 6 Stunden nach der OP hatte sich die Zahl der Blutplättchen jedoch schon wieder stabilisiert. Deswegen kann davon ausgegangen werden, dass der Abfall der Thrombozytenzahl weniger durch endgültige Zerstörung als vielmehr durch deren Anheftung an die Oberfläche der HLM zustande kam und sich die Plättchen zumindest teilweise auch wieder ablösen konnten. Außerdem können während der Operation Thrombozyten aus den Thrombozytenpools mobilisiert werden.

Zwischen Phosphorylcholinbeschichtung und unbeschichteter Oberfläche scheint bezüglich der Thrombozytenzahl jedoch kein Unterschied zu bestehen, darauf lassen zumindest die hier erhobenen Daten schließen. Auch andere Autoren konnten dies nicht nachweisen.¹²⁵ Allein in der Höhe der gemessenen Werte für F1+2, einem Marker für die Thrombinbildung, unterschieden sich die beiden Gruppen dahingehend, dass diese in der Kontrollgruppe höhere Spitzenwerte annahmen.¹²⁵

Dass eine bioaktive Beschichtung der HLM sich grundsätzlich vorteilhaft auf die Thrombozyten auswirkt, konnte mehrfach nachgewiesen werden. Speziell in Bezug auf die Anzahl der Blutplättchen postoperativ konnte gezeigt werden,

dass die Heparinbeschichtung von Oxygenatoren gegenüber unbeschichteten Oberflächen Vorteile bringt.^{42, 141} Im Modell konnte man außerdem eine verminderte Ablagerung von Thrombozyten an beschichteten Oxygenatoren im Vergleich zu unbeschichteten belegen.¹⁹²

Die Abnahme der Thrombozytenzahl während der EKZ gilt als eine der Ursachen für die generalisierte Gerinnungsstörung, die bei Operationen mit HLM auftritt.¹⁸⁴ Zusätzlich werden auch noch Veränderungen im Gerinnungs- und Fibrinolyse-System und ein durch die HLM ausgelöster Funktionsverlust der Blutplättchen diskutiert.^{114, 114, 184}

4.2.4 TCC (Terminaler Komplement-Komplex)

Während EKZ kommt es durch unterschiedliche Mechanismen zu einer Aktivierung des Komplementsystems: einerseits über den alternativen Weg durch den Kontakt des Patientenblutes mit der Fremdoberfläche der HLM und andererseits am Ende der EKZ über den klassischen Weg durch die Bildung von Heparin-Protamin-Komplexen.²² Außerdem können auch die während und nach der Operation ansteigenden Akute-Phase-Proteine und das durch Ischämie und Reperfusion geschädigte Myokardgewebe zur Komplementaktivierung beitragen.^{11, 127, 168} Allen Aktivierungswegen gemeinsam sind die Bildung von Anaphylatoxinen wie C3a und C5a,²⁸ sowie des Terminalen Komplementkomplexes (TCC) aus den Faktoren C5 bis C9, der durch Einbau in die Zellmembran zur Lyse von Zielzellen, z. B. Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten, führt.

Die Konzentration der löslichen Form des TCC (sC5b-9) zählt als bester Indikator für die Aktivierung des Komplementsystems, da er anzeigt, wann die komplette Komplementkaskade aktiviert ist.¹¹⁶

Wie andere Autorengruppen¹⁵⁴, so konnten auch wir in unseren Untersuchungen einen starken Anstieg des Komplementfaktors sC5b-9 während der EKZ nachweisen. Bereits 6 Stunden nach Beendigung der EKZ lagen die Werte jedoch wieder auf dem präoperativen Ausgangsniveau. Somit

scheint es sich bei der Aktivierung des Komplementsystems durch die HLM um einen zeitlich sehr begrenzten Vorgang zu handeln.

Dass das Komplementsystem tatsächlich vor allem durch die HLM aktiviert wird, lässt sich daraus schließen, dass im Vergleich zu Patienten, die ohne HLM (Off-pump coronary artery bypass = OPCAB) operiert wurden bei Patienten, die mit HLM operiert wurden, erhöhte Werte für TCC zu finden sind.¹³⁰ Dies zeigte sich unabhängig davon, ob man ein offenes oder ein geschlossenes HLM-System verwendete.¹³⁰ Während der OP zeigten die mit HLM operierten Patienten einer weiteren ähnlich konzipierten Studie einen schnelleren und stärkeren Anstieg des terminalen Komplementkomplexes als die Patienten der OPCAB-Gruppe, postoperativ konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden.¹⁷⁹ Als Ursache für die Aktivierung des Komplementsystems wird vor allem der Kontakt des Blutes mit den Fremdoberflächen der HLM angenommen.^{63, 97, 176}

Ob die Beschichtung des Oxygenators jedoch entscheidenden Einfluss auf die Komplementaktivierung hat erscheint fraglich, da es sowohl Studien gibt, die keinen Unterschied in der Höhe der Plasmawerte für TCC zwischen Heparin- und unbeschichteten Oxygenatoren nachweisen konnten¹², als auch solche, die diesbezüglich bessere Werte für die beschichteten Oxygenatoren ergaben.¹¹⁶ Auch bei der Gegenüberstellung unterschiedlich beschichteter Oxygenatoren, z. B. eines mit Trillium beschichteten Oxygenators und eines Heparin-beschichteten Oxygenators, ergaben sich keine Unterschiede in Bezug auf die Komplementfaktoren (C3b und TCC), ebenso wenig wie für TAT und PAP (= Plasmin-Antiplasmin-Komplex) und die Leukozytenzahlen.⁸⁰

In unserer Studie waren die TCC-Werte der Patienten mit dem Synthesis-Oxygenator am Ende der EKZ deutlich höher, ohne jedoch statistisch signifikant zu sein. Postoperativ ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Dies spricht dafür, dass die fehlende Beschichtung das Komplementsystem kurzfristig weniger aktiviert als die Phosphorylcholin-Beschichtung. Da ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Surrogatparameter TCC und klinischen Endpunkten im Bezug auf ACVB-

Operationen bisher nicht nachgewiesen werden konnte, scheint dieser Unterschied zwischen den beiden Beschichtungen allenfalls von theoretischer Bedeutung zu sein, wie auch andere Autorengruppen feststellten.¹⁶¹ Van den Goor und seine Mitarbeiter fanden zwar signifikant bessere Werte für TCC bei Patienten mit beschichteten Oxygenatoren direkt nach ACVB-OP sowie einen und zwei Tage postoperativ, einen Einfluss auf die postoperative Akute-Phase-Reaktion (gemessen an CRP und sekretorischer Phospholipase A2) oder klinische Endpunkte konnten sie jedoch nicht aufzeigen.¹⁶¹

Deswegen wird diesbezüglich dem operativen Trauma, der Anästhesie und der Organdurchblutung eine größere Rolle zugeschrieben, als dem Aufbau und der Biokompatibilität der HLM, zumindest bei den aktuell in Deutschland eingesetzten Herz-Lungen-Maschinen.^{56, 161, 165}

4.2.5 TAT (Thrombin-Antithrombin III Komplex)

Durch ACVB-Operationen kommt es zu einer generalisierten Aktivierung des Gerinnungssystems.¹⁰⁶ In wieweit sich dies jedoch auf die EKZ zurückzuführen lässt, ist nach wie vor nicht ganz klar. Sicher ist jedoch, dass beim Kontakt des Blutes mit künstlichen Oberflächen über die Faktoren XII, IX und Xa das intrinsische Gerinnungssystem aktiviert wird, wodurch es zur Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin kommt. In der Folge wird Thrombin durch Bildung eines stabilen Komplexes mit Antithrombin III, einem aus der Leber stammenden Glykoprotein, inaktiviert.¹²⁶ Unter Anwesenheit von Heparin wird dieser Prozess um ein Vielfaches beschleunigt.¹⁴ Die Thrombin-Antithrombin-(TAT)-Konzentration im Plasma lässt direkt auf das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung schließen; erhöhte Werte zeigen dabei eine Hyperkoagulabilität an.^{126, 172}

Beim Vergleich von Patienten, die mit HLM an koronaren Bypässen operiert wurden und solchen, deren OP ohne HLM durchgeführt wurde, konnten signifikant höhere Werte für TAT und ebenso für D-Dimere und Fibrinmonomere als weitere Marker der Gerinnungsaktivierung in der Gruppe mit der HLM

festgestellt werden.^{50, 75} Dass von der EKZ eine prokoagulatorische Wirkung ausgeht, ist somit bewiesen.

Im Hinblick auf die Beschichtung der HLM gibt es bisher noch keine eindeutigen Ergebnisse. Zumindest im Modell schneiden sowohl bioaktiv als auch biopassiv beschichtete Oxygenatoren gegenüber den nichtbeschichteten bezüglich der Gerinnungsaktivierung, messbar durch einen Anstieg von TAT im Plasma, besser ab.¹⁹² In klinischen Studien konnten allerdings bisher zwischen unterschiedlichen Oxygenator-Beschichtungen keine Unterschiede nachgewiesen werden.⁸⁰

In unseren Untersuchungen zeigte sich ein Anstieg der TAT-Werte im Plasma sowohl in der Monolyth- als auch in der Synthesis-Gruppe von präoperativ bis zum Ende der EKZ, wobei die Werte der mit Synthesis-Oxygenator operierten Patienten deutlich, jedoch nicht statistisch signifikant, über denen der anderen Gruppe lagen. Verlauf und Größenordnung der TAT-Werte stimmen dabei mit denen einer anderen Studie überein, die den Einfluss des retransfundierten Kardiotomieblutes auf die Thrombinbildung während EKZ untersucht hat.¹⁷⁸ Weerwind und Kollegen konnten in dieser Studie zeigen, dass TAT und F1+2 im Kardiotomieblut stark erhöht sind und es nach dessen Retransfusion beim Patienten zu einem signifikanten Anstieg eben dieser Werte im Plasma kommt. Da auch den Patienten unserer Studie das während der OP angefallene Wundblut wieder zugeführt wurde, könnte dies für die Gerinnungsaktivierung zumindest mitverantwortlich sein. Dass dabei die TAT-Werte von Beginn an über den geltenden Normwerten lagen, könnte daran liegen, dass sich die Patienten zu diesem Zeitpunkt bereits in Narkose befanden und bereits mehrere arterielle und venöse Punktionen an ihnen durchgeführt worden waren. Außerdem könnte auch die Größe der Fremdoberfläche der HLM insgesamt, die über die Aktivierung der intrinsischen Gerinnung prokoagulatorisch wirkt, eine entscheidende Rolle in der Gerinnungsaktivierung spielen.¹⁵³ Darauf lassen zumindest neueste Studien schließen, die zeigen konnten, dass der Einsatz sogenannter Minipumpensysteme (MECC) im Gegensatz zu konventionellen Herz-Lungen-Maschinen (ECC) die Aktivierung des

Gerinnungssystems deutlich reduzieren kann (TAT; 19,5 bei MECC versus 66,1 ng/ml bei ECC).¹⁵² Diese Minipumpensysteme zeichnen sich durch verkürzte Schlauchsets, Verzicht auf ein venöses Reservoir, separate Kardiotomieansaugung und deutlich reduziertes Priming-Volumen aus. Dies könnte auch den Unterschied zwischen den TAT-Werten der beiden Gruppen unserer Studie erklären, da die HLM-Oberfläche der Monolyth-Oxygenatoren mit 2,37 m² größer ist als die der Synthesis-Oxygenatoren (2,14m²).

4.2.6 sCD40L (löslicher CD40-Ligand)

Viele Komplikationen nach EKZ, unter anderem Myokardinfarkte, Schlaganfälle und Thrombozytopenie mit daraus resultierenden Blutungen werden durch Plättchenaktivierung während der Operation mitverursacht.^{119, 177} Als Gründe für diese Aktivierung der Thrombozyten werden unter anderen verstärkte Scherkräfte und der Kontakt mit Fremdoberflächen in der HLM betrachtet.^{61, 70} Es ist bekannt, dass CD40L als einer der Tumornekrosefaktoren in Plättchen vorhanden ist,^{76, 77} und bei deren Aktivierung als lösliche Form (sCD40L) freigesetzt wird.⁷⁷ CD40L hat über die Induktion der Freisetzung von Faktoren wie IL-8, ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin und TF aus Monozyten und Endothelzellen proinflammatorische Wirkung^{76, 82, 139} Gleichzeitig wird ihm aber auch gerinnungsfördernde Wirkung zugeschrieben.⁹ Erhöhte sCD40L-Werte wurden bei verschiedenen entzündlichen und thrombotischen Erkrankungen wie pAVK, akutem Koronarsyndrom, akuter zerebraler Ischämie und systemischem Lupus erythematoses gefunden,^{58, 59, 92, 147} so dass es sich anscheinend um ein Bindeglied zwischen Entzündung und Gerinnung handelt.

In einer Studie konnte bereits bewiesen werden, dass EKZ einen Anstieg von sCD40L im Plasma bewirkt, welches in erster Linie aus aktivierten Thrombozyten stammt.¹¹⁹ Wie auch in unserer Untersuchung stieg sCD40L dabei von präoperativ bis 2 Stunden nach Beendigung der EKZ an (von 0,29 auf 0,69 ng/ml) und fiel danach wieder ab. Bereits 6 Stunden postoperativ wurden die Ausgangswerte wieder erreicht, so dass die Autoren von einer sCD40L-Halbwertszeit von unter 2 Stunden ausgehen.¹¹⁹

Auch wir konnten einen deutlichen Anstieg von sCD40L im Verlauf der EKZ nachweisen, wobei die höchsten Werte direkt nach dem Abschalten der HLM gemessen wurden. Zwischen den beiden Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Beschichtung mit Phosphorylcholin gegenüber unbeschichteter Oxygenatorenoberfläche keine eindeutigen Vorteile bezüglich der mit sCD40L assoziierten Aktivierung von Thrombozyten bringt.

4.3 Allgemeine Diskussion

Während Operationen mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine kommt es, vor allem durch den Kontakt des Patientenblutes mit den Fremdoberflächen von Oxygenator und Schlauchsystem, regelhaft zu einer systemischen Entzündungsreaktion sowie zur Aktivierung der Gerinnungskaskade. Dadurch steigt das Risiko sowohl für intra- als auch für postoperative Komplikationen.

Um diesen Problemen entgegenzuwirken wurden in den letzten Jahren zwei Herangehensweisen in Betracht gezogen, eine pharmakologische und eine technische. Erstere versucht, die wichtigsten biologischen Störungen, die während der EKZ beobachtet werden, medikamentös zu korrigieren, z. B. durch den Einsatz von Kortikosteroiden oder den Proteinasehemmer Aprotinin (Trasylol®). Dieser wurde mittlerweile jedoch vom Markt zurückgezogen, da er in einer Studie mit einer erhöhten Rate an postoperativem Nierenversagen einherging.¹⁰⁹ Der zweite Zugang besteht darin, die medizinisch-technischen Bedingungen der Herzchirurgie unter Einbeziehung der Pathophysiologie so zu verbessern, dass das Auftreten dieser Komplikationen verhindert oder zumindest minimiert werden kann. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Verbesserung der Biokompatibilität der für Operationen am offenen Herzen notwendigen EKZ-Systeme.

Da sich die Entwicklung gewebeverträglicher Polymerverbindungen, die das bisher eingesetzte Polyvinylchlorid ablösen sollen, noch in der vorklinischen Forschungsphase befindet, werden zur Zeit vor allem die Möglichkeiten überprüft, die sich aus der unterschiedlichen Beschichtung der Oberflächen der HLM ergeben.

Es existieren zwei verschiedene Gruppen biokompatibler Oberflächenbeschichtungen: die biologisch aktiven (antithrombogenen) Oberflächen und die biologisch inerten (nichtthrombogenen) Oberflächen.

An erster Stelle bei den biologisch aktiven Oberflächenbeschichtungen steht das Heparin, das über ATIII inhibierend auf die Gerinnung wirkt. In vitro konnte für heparinbeschichtete Kreislaufsysteme eine signifikante Reduktion der Plasmawerte von TAT, Fibrinopeptid A, β -Thromboglobulin, Komplement-fragment C3a, Elastase und freiem Hämoglobin ebenso wie von Plättchenadhäsion und -aktivierung festgestellt werden.^{83, 159} Verschiedene klinische Studien haben außerdem gezeigt, dass heparinbeschichtete Kreislaufsysteme Komplement-, Kontaktphasen- und Leukozytenaktivierung signifikant reduzieren können.^{156, 155} Auch im Hinblick auf klinische Parameter wie postoperativen Blutverlust, Intubationsdauer und Intensivzeit konnten die Vorteile der Heparinbeschichtung eindeutig nachgewiesen werden.¹⁴¹

Komplett biologisch inerte Oberflächen konnten bisher nicht hergestellt werden. Die Forschungen zur Minimierung der Interaktion zwischen Blut und Fremdmaterial machen jedoch Fortschritte. So wurden in den letzten Jahren unter anderem oberflächenverändernde Kunststoffzusätze (SMA=Surface Modifying Additives), physikalische Oberflächenbehandlungsverfahren z. B. beim Jostra SafeLine®-Oxygenator, und neue Beschichtungstechniken erprobt. Sehr vielversprechend scheint dabei die Behandlung der Oberfläche mit Phosphorylcholin zu sein,^{7, 40, 131, 169} vor allem, wenn sie bei Membranoxygenatoren angewandt wird.¹³¹

Das Phospholipid Phosphorylcholin wurde in den späten 70er Jahren als ein Element der Zellmembran von Erythrozyten entdeckt. Es besteht aus einem hydrophilen Kopfteil und einer hydrophoben Schwanzgruppe und wird aufgrund dieser Konfiguration für die antithrombogenen Eigenschaften der Erythrozytenmembran verantwortlich gemacht.⁷² Weitere Forschungen führten zur Entwicklung eines synthetischen Phosphorylcholin-Moleküls (Methacrylo-Phosphorylcholin/Lauryl-Methacrylat-Copolymer), das mittlerweile zur Beschichtung unterschiedlicher Oberflächen, unter anderem von Kontaktlinsen, Drainagekathetern und Stents, eingesetzt wird.^{49, 72-74, 85} Auch für die Oberflächenbeschichtung von Oxygenatoren für Herz-Lungen-Maschinen wird

Phosphorylcholin benutzt, um durch die Nachahmung der Oberfläche der Erythrozytenmembran, auch als Biomembran-Mimikri bezeichnet, die Oxygenatoren besser biokompatibel zu machen.

In vitro konnten reduzierte Plättchenadhäsion und –aktivierung, Fibrinogen- und Proteinadsorption sowie Komplementaktivierung durch Phosphorylcholin-beschichtete Oberflächen eindeutig nachgewiesen werden ^{24, 86, 187}, während sich deren positive Effekte in vivo nicht so einfach aufzeigen lassen.

Bei der Gegenüberstellung von Patienten mit konventionellen offenen EKZ-Systemen und Patienten mit geschlossenen Phosphorylcholin-beschichteten Systemen, die zudem eine reduzierte Heparindosis erhielten, konnten ein niedrigerer Verbrauch von Blutpräparaten, ein signifikant niedrigerer Blutverlust, niedrigere postoperative Kreatinin-Spitzenwerte sowie eine signifikant niedrigere Morbidität in der Phosphorylcholin-Gruppe nachgewiesen werden. ¹³¹ Daraus schließen Rannucci und seine Arbeitsgruppe, dass durch die geschlossenen Systeme mit Phosphorylcholinbeschichtung eine Reduktion der systemischen Antikoagulation bei gleichzeitiger signifikanter Verbesserung klinischer Endpunkte möglich ist. In einer ganz aktuellen Studie konnte festgestellt werden, dass der Hämatokrit beim Einsatz eines geschlossenen Phosphorylcholin-beschichteten EKZ-Systems signifikant weniger abfällt als bei Standardsystemen und dadurch auch signifikant weniger Bluttransfusionen nötig waren. ⁵ Zusätzlich fiel auf, dass die CRP-Werte nach 24 und 72 Stunden signifikant niedriger waren in der Phosphorylcholin-Gruppe. ⁵ Ob diese Unterschiede eher durch die unterschiedliche Beschichtung oder eher durch den unterschiedlichen Aufbau der EKZ-Systeme der beiden Gruppen verursacht wurden, kann aufgrund des Studiendesigns nicht entschieden werden.

Ebenso wie bei der Arbeit von Rannucci und Kollegen wurden allerdings Phosphorylcholin-beschichtete Herz-Lungen-Maschinen ohne Kardiotomieblut-Retransfusion mit unbeschichteten Maschinen mit Retransfusion verglichen. Dass die Rückführung des perikardialen Wundblutes jedoch sowohl zu einer

Aktivierung des Gerinnungs- wie auch des Fibrinolyse-Systems führt, konnte bereits mehrfach gezeigt werden^{30, 37, 151, 178}, so dass von einem spezifischen Nachweis der Wirkung des Phosphorylcholins in diesen Arbeiten nicht gesprochen werden kann.

De Somer und seine Arbeitsgruppe führten mehrfach vergleichende Studien zwischen komplett PC-beschichteten EKZ-Systemen und komplett unbeschichteten durch, bei denen sie positive Effekte der Beschichtung auf die Thrombozyten, insbesondere in Bezug auf Thromboxan-B₂-, Plättchenfaktor-4- und beta-Thromboglobulin-Freisetzung nachweisen konnten und auch der postoperative Blutverlust und die Komplementaktivierung reduziert werden konnten.^{38, 40}

Im März 2006 wurde eine Studie publiziert, in der man Patienten verglichen hatte, die sich nur in der Beschichtung des Oxygenators unterschieden, so wie dies auch in der hier vorliegenden Studie der Fall war.¹²⁵ Dabei ergaben sich keine Unterschiede für die Faktoren sCD40-L, Fibrinogen, D-Dimere und freies Hämoglobin, ebenso wenig wie für die klinischen Parameter postoperativen Blutverlust, Transfusionsbedarf und klinische Endpunkte. Die Thrombinbildung, gemessen an der Höhe für Prothrombin-Fragment 1+2-, war in der Phosphorylcholin-Gruppe jedoch signifikant reduziert und korrelierte negativ mit der Thrombozytenzahl. Ein positiver Zusammenhang bestand zwischen der Dauer der Aortenverschlusszeit und der Thrombinbildung. Bereits beim Eintreffen in der Intensivstation hatten sich die Unterschiede zwischen den Gruppen wieder angeglichen.

Diese Ergebnisse stimmen mit denen der hier vorliegenden Studie überein. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen mit den verschiedenen Oxygenatoren Synthesis und Monolyth nachgewiesen werden, weder bezüglich Erythrozytenzahl, Hb, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl, TCC, TAT und sCD40L noch im Hinblick auf die klinischen Parameter Intubationsdauer, Zeit auf der Intensiv- und Überwachungsstation, Drainemenge und -liegezeit, Transfusionsbedarf und die

Dauer des gesamten Klinikaufenthaltes. In einigen Punkten schnitten die Patienten der Synthesis-Gruppe zwar deutlich besser ab (Intubationsdauer, Zeit auf Intensiv- und Wachstation, postoperative Leukozytenzahl, TAT-Konzentration am Ende der EKZ), dies könnte jedoch auch darauf zurückzuführen sein, dass sie kürzer operiert wurden und deutlich kürzer an die HLM angeschlossen waren. Dies wiederum wird bedingt durch die geringere Anzahl an operierten Anastomosen in der Synthesis-Gruppe. Auch im Hinblick auf die präoperativ ermittelten klinischen Daten heben sich die Patienten der Synthesis-Gruppe von denen der Monolyth-Gruppe positiv ab: Die Ejektionsfunktion in dieser Gruppe ist deutlich besser und die Anzahl der Patienten mit nicht-insulinabhängigem Diabetes mellitus viel geringer.

Auffällig ist allerdings, dass es bei den Patienten mit Phosphorylcholinbeschichteten Oxygenatoren zu einer stärkeren Aktivierung des Komplementsystems kommt, als in der Gruppe mit unbeschichteten Oxygenatoren, erkennbar an höheren TCC-Werten zum Ende der EKZ in der Synthesis-Gruppe. Zwischen den im Verlauf dieser Studie erfassten klinischen Parametern Beatmungszeit, Dauer des Aufenthaltes auf Intensiv- und Wachstation, Dauer der stationären Behandlung, Sekretion aus der Thoraxdrainage und Transfusionsbedarf und den höheren TCC-Werten zeigte sich statistisch jedoch kein signifikanter Zusammenhang. Einen Zusammenhang zwischen Komplementaktivierung und klinischem Zustand der Patienten konnten wir somit nicht aufzeigen.

Andere Forschungsgruppen haben allerdings nachgewiesen, dass eine Reduktion der Komplementaktivierung mit einer Abnahme der Mortalität, dem verminderten Auftreten von Myokardinfarkten und verkürzten Beatmungszeiten nach Operationen mit HLM einhergeht.^{94, 102, 138}

Ob die stärkere Aktivierung des Komplementsystems in unserer Studie durch die Beschichtung mit Phosphorylcholin verursacht ist oder durch andere Faktoren hervorgerufen wird, kann aufgrund der mangelnden Signifikanz der

Ergebnisse nicht geschlossen werden. Hierzu sind weitere vergleichende Studien mit größeren Patientenzahlen vonnöten.

Schlussfolgerung / Ausblick

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass weder durch eine Beschichtung der HLM-Oberflächen mit synthetischem Phosphorylcholin noch durch unbeschichtete Oberflächen eine Aktivierung von Gerinnungs- und Entzündungssystem vollständig vermieden werden kann, da es sich so oder so um für Blutzellen unphysiologische Oberflächenstrukturen handelt. Folgerichtig müsste in weiteren Forschungen versucht werden, die nicht biokompatiblen Oberflächen mit Endothelzellen zu überziehen, wie es bereits mit Gefäßprothesen und Herzklappen versucht wird.^{13, 142, 158, 191}

Bis diesbezüglich mit praktisch anwendbaren Ergebnissen gerechnet werden kann, sollten jedoch die Möglichkeiten der pharmakologischen Intervention in Bezug auf die Reduktion von Gerinnungsstörungen und Entzündungsvorgängen ausgenutzt und weiter ausgebaut werden. Vor allem die Thrombozytenaktivierung, der eine zentrale Rolle in beiden Systemen zugesprochen wird, kann mittels neuer medikamentöser Ansätze erfolgversprechend angegangen werden. So befindet sich der Einsatz neuerer Antikoagulationen wie Tirofiban und Eptifibatide, deren bisheriges Einsatzgebiet instabile Angina pectoris, Nicht-ST-Hebungs-Infarkt (NSTEMI) und perkutane Intervention (PCI) bei akutem Koronarsyndrom waren, in der präklinischen Erprobungsphase. Diese selektiven Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten führen zu einer kurzfristigen und reversiblen starken Hemmung der Thrombozytenfunktion, welche auch als „platelet anesthesia“ bezeichnet wird, und über die verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen wie P-Selektin zum Teil auch zur Reduktion der Leukozytenaktivierung. Hierdurch könnten intra- und postoperative Gerinnungsstörungen und Entzündungsvorgänge bei Operationen mit Einsatz extrakorporaler Zirkulation effektiv reduziert werden, falls die Forschung einen Weg findet, das durch diese Medikamente erhöhte Risiko schwerer Blutungen einzudämmen.^{98, 144-146, 149}

5 Zusammenfassung

Neuartig beschichtete Hohlfaseroxygenatoren: Aktivierungspotential und klinischer Einsatz

Entzündungsreaktionen und Gerinnungsstörungen nach Operationen mit extrakorporaler Zirkulation (EKZ) werden als Postperfusionssyndrom (PPS) bezeichnet und sind wesentlich an postoperativer Morbidität und Mortalität in der Herzchirurgie beteiligt. Die pathophysiologischen Vorgänge umfassen die Aktivierung und Schädigung verschiedenster humoraler und zellulärer Systeme wie Gerinnung, Fibrinolyse, Komplementsystem, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten.

In der hier vorliegenden randomisierten und doppelblinden Studie sollte der Einfluss der Beschichtung des Oxygenators auf diese Systeme geklärt werden. Hierzu wurden klinische und Laborparameter von 36 männlichen Patienten erhoben, die sich bei koronarer Herzkrankheit einer elektiven aortokoronaren Bypassoperation unterzogen. Dabei wurde entweder ein Oxygenator mit Phosphoryl-cholinbeschichtung (Synthesis, n=19) oder ohne Beschichtung (Monolyth, n=17) eingesetzt. Blutentnahmen mit Bestimmung von Hb, Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozytenzahl sowie TCC (Terminaler Komplementkomplex), TAT (Thrombin Antithrombin III Komplex) und Tumornekrosefaktor sCD40L erfolgten AZP1=präoperativ, AZP2=nach 20 Minuten EKZ, AZP3=am Ende der EKZ, AZP4=6 Stunden nach Ende der EKZ, AZP5=24 Stunden nach Ende der EKZ, AZP6=72 Stunden nach Ende der EKZ.

Bei biometrischen Daten und präoperativen Parametern ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. EKZ- und OP-Dauer waren in der Monolyth-Gruppe länger als in der Synthesis-Gruppe (98 vs. 85 min; bzw. 225 vs. 199 min), und auch die Anzahl operierter Bypässe war in der Gruppe mit dem unbeschichteten Oxygenator größer, allerdings waren die Unterschiede nach Bonferroni Korrektur nicht signifikant. Die weiteren operativen Parameter zeigten praktisch keine Unterschiede.

Im postoperativen Verlauf etwa bei Blutverlust über die Thoraxdrainage und deren Liegezeit, Transfusionsbedarf, Dauer der künstlichen Beatmung und des Aufenthaltes auf Intensiv- und Wachstation sowie des gesamten Klinikaufenthaltes konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Auch die gemessenen Laborparameter der beiden Gruppen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt nach Bonferroni Korrektur signifikant, obwohl die Unterschiede vor dieser statistischen Korrektur beträchtlich und im t-Test signifikant waren: Bei den hämatokritkorrigierten Hb-Werten fielen niedrigere Werte in der Synthesis-Gruppe auf, am deutlichsten bei AZP 2 (13,4 vs. 14,6 g/dl; $p=0,029$). Die Komplementaktivierung war in der Phosphorylcholin-Gruppe ausgeprägter als in der unbeschichteten Gruppe (TCC 2576,4 vs. 1373,8 ng/ml bei AZP3; $p=0,002$). Die Bedeutung dieses Befundes hinsichtlich des PPS ist jedoch auch vor dem Hintergrund der publizierten Literatur unklar.

Eine Beschichtung der Fremdoberflächen der EKZ hat auch bei zahlreichen anderen Substanzen keine wesentlichen klinischen Vorteile erbracht mit Ausnahme der Heparin-Beschichtung bei langdauernder EKZ wie bei bestimmten Herzunterstützungssystemen. Problem dieser Studien ebenso wie bei der hier vorgelegten ist, dass für abgesicherte signifikante Unterschiede bei den zahlreichen Einflußvariablen so große Patientenzahlen erforderlich sind, dass eine praktische Umsetzung kaum verwirklichtbar ist. Andererseits ist die tatsächliche klinische Bedeutung vieler Laborparameter wie etwa der Komplementaktivierung noch nicht geklärt.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Fachserie 12 / Reihe 6.1.1. Gesundheitswesen. Grunddaten der Krankenhäuser 2004. Wiesbaden: Distatis; 2005.
- (2) *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. 157 ed. Berlin: de Gruyter; 1994.
- (3) Fachserie 12 / Reihe 6.2.1. Gesundheitswesen. Diagnosedaten der Krankenhauspatientinnen und -patienten (einschl. Sterbe- und Stundenfälle) 2002. Wiesbaden: Distatis; 2004.
- (4) Fachserie 12 / Reihe 4. Gesundheitswesen. Todesursachen in Deutschland 2004. Wiesbaden: Distatis; 2005.
- (5) Agati S, Ciccarello G, Trimarchi ES et al. Extracorporeal circulation, optimized: a pilot study. *Artif Organs* 2007 May;31(5):377-83.
- (6) Aggarwal BB, Natarajan K. Tumor necrosis factors: developments during the last decade. *Eur Cytokine Netw* 1996 April;7(2):93-124.
- (7) Albes JM, Stohr IM, Kaluza M et al. Physiological coagulation can be maintained in extracorporeal circulation by means of shed blood separation and coating. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003 November;126(5):1504-12.
- (8) Ambuhl PM, Wuthrich RP, Korte W, Schmid L, Krapf R. Plasma hypercoagulability in haemodialysis patients: impact of dialysis and anticoagulation. *Nephrol Dial Transplant* 1997 November;12(11):2355-64.
- (9) Andre P, Prasad KS, Denis CV et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med* 2002 March;8(3):247-52.
- (10) Arnaout MA. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood* 1990 March 1;75(5):1037-50.
- (11) Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock* 2004 May;21(5):401-9.
- (12) Baufreton C, Jansen PG, Le BP et al. Heparin coating with aprotinin reduces blood activation during coronary artery operations. *Ann Thorac Surg* 1997 January;63(1):50-6.
- (13) Bengtsson L, Radegran K, Haegerstrand A. In vitro endothelialization of commercially available heart valve bioprostheses with cultured adult human cells. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7(8):393-8.

- (14) Beresford CH, Owen MC. Antithrombin III. *Int J Biochem* 1990;22(2):121-8.
- (15) Beutler B, Cerami A. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987 February 12;316(7):379-85.
- (16) Birnbaum DE. Pathophysiologie der EKZ. In: Lauterbach G, editor. *Handbuch der Kardiotechnik*. München: Urban & Fischer; 2002. p. 176-7.
- (17) Birnbaum DE, Thom R, Billich J, Buecherl ES. Effects of extracorporeal circulation on red cell volume. In: Schmid-Schoenbein H, Teitel P, editors. *Basic aspects of blood trauma*. The Hague-Boston-London: Martin-Nijhoff Publ; 1979. p. 278.
- (18) Boeken U, Feindt P, Schulte HD, Gams E. Elastase release following myocardial ischemia during extracorporeal circulation (ECC) -- marker of ongoing systemic inflammation? *Thorac Cardiovasc Surg* 2002 June;50(3):136-40.
- (19) Boisclair MD, Lane DA, Philippou H et al. Mechanisms of thrombin generation during surgery and cardiopulmonary bypass. *Blood* 1993 December 1;82(11):3350-7.
- (20) Brown RS, Thwaites BK, Mongan PD. Tranexamic acid is effective in decreasing postoperative bleeding and transfusions in primary coronary artery bypass operations: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Anesth Analg* 1997 November;85(5):963-70.
- (21) Bruckenberger E. Herzbericht 2004 mit Transplantationschirurgie. Sektoreneübergreifende Gesundheitsberichterstattung zur Kardiologie und Herzchirurgie in Deutschland. Mit vergleichenden Daten aus Österreich und der Schweiz . 2008. Ref Type: Generic
- (22) Bruins P, te VH, Yazdanbakhsh AP et al. Activation of the complement system during and after cardiopulmonary bypass surgery: postsurgery activation involves C-reactive protein and is associated with postoperative arrhythmia. *Circulation* 1997 November 18;96(10):3542-8.
- (23) Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993 February;55(2):552-9.
- (24) Campbell EJ, O'Byrne V, Stratford PW et al. Biocompatible surfaces using methacryloylphosphorylcholine laurylmethacrylate copolymer. *ASAIO J* 1994 July;40(3):M853-M857.

- (25) Casey LC. Role of cytokines in the pathogenesis of cardiopulmonary-induced multisystem organ failure. *Ann Thorac Surg* 1993 November;56(5 Suppl):S92-S96.
- (26) Cavarocchi NC, Pluth JR, Schaff HV et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass. Comparison of bubble and membrane oxygenators. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986 February;91(2):252-8.
- (27) Cavarocchi NC, Schaff HV, Orszulak TA, Homburger HA, Schnell WA, Jr., Pluth JR. Evidence for complement activation by protamine-heparin interaction after cardiopulmonary bypass. *Surgery* 1985 September;98(3):525-31.
- (28) Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med* 1981 February 26;304(9):497-503.
- (29) Chenoweth DE, Hugli TE. Demonstration of specific C5a receptor on intact human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978 August;75(8):3943-7.
- (30) Chung JH, Gikakis N, Rao AK, Drake TA, Colman RW, Edmunds LH, Jr. Pericardial blood activates the extrinsic coagulation pathway during clinical cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1996 June 1;93(11):2014-8.
- (31) Church MK, Levi-Schaffer F. The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1997 February;99(2):155-60.
- (32) Costa JJ, Weller PF, Galli SJ. The cells of the allergic response: mast cells, basophils, and eosinophils. *JAMA* 1997 December 10;278(22):1815-22.
- (33) Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van DJ, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)* 1990 August;79(2):161-5.
- (34) Dang CV, Bell WR, Kaiser D, Wong A. Disorganization of cultured vascular endothelial cell monolayers by fibrinogen fragment D. *Science* 1985 March 22;227(4693):1487-90.
- (35) Dapper F, Nepl H, Wozniak G et al. Influence of 4 different membrane oxygenators on inflammation-like processes during extracorporeal circulation with pulsatile and non-pulsatile flow. *Eur J Cardiothorac Surg* 1992;6(1):18-24.
- (36) Davie EW, RATNOFF OD. WATERFALL SEQUENCE FOR INTRINSIC BLOOD CLOTTING. *Science* 1964 September 18;145:1310-2.

- (37) de HJ, Boonstra PW, Tabuchi N, van OW, Ebels T. Retransfusion of thoracic wound blood during heart surgery obscures biocompatibility of the extracorporeal circuit. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996 January;111(1):272-5.
- (38) De SF, Van BY, Caes F et al. Phosphorylcholine coating offers natural platelet preservation during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2002 January;17(1):39-44.
- (39) De SD, Foubert L, Vanackere M, Dujardin D, Delanghe J, Van NG. Impact of oxygenator design on hemolysis, shear stress, and white blood cell and platelet counts. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1996 December;10(7):884-9.
- (40) De SF, Francois K, van OW et al. Phosphorylcholine coating of extracorporeal circuits provides natural protection against blood activation by the material surface. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000 November;18(5):602-6.
- (41) de VR, van OW, van KJ et al. The impact of heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits on pulmonary function and the release of inflammatory mediators. *Anesth Analg* 2004 June;98(6):1586-94, table.
- (42) de VR, van OW, van KJ et al. The impact of heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits on pulmonary function and the release of inflammatory mediators. *Anesth Analg* 2004 June;98(6):1586-94, table.
- (43) DeFife KM, Yun JK, Azeez A et al. Adhesion and cytokine production by monocytes on poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-co-alkyl methacrylate)-coated polymers. *J Biomed Mater Res* 1995 April;29(4):431-9.
- (44) DeFoe GR, Ross CS, Olmstead EM et al. Lowest hematocrit on bypass and adverse outcomes associated with coronary artery bypass grafting. Northern New England Cardiovascular Disease Study Group. *Ann Thorac Surg* 2001 March;71(3):769-76.
- (45) Deng MC, Dasch B, Erren M, Mollhoff T, Scheld HH. Impact of left ventricular dysfunction on cytokines, hemodynamics, and outcome in bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1996 July;62(1):184-90.
- (46) Dennis C, SPRENG DS, Jr., NELSON GE et al. Development of a pump-oxygenator to replace the heart and lungs; an apparatus applicable to human patients, and application to one case. *Ann Surg* 1951 October;134(4):709-21.

- (47) Dial S, Delabays E, Albert M et al. Hemodilution and surgical hemostasis contribute significantly to transfusion requirements in patients undergoing coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005 September;130(3):654-61.
- (48) Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 1993 April 14;269(14):1829-35.
- (49) Durrani AA, Hayward JA, Chapman D. Biomembranes as models for polymer surfaces. II. The syntheses of reactive species for covalent coupling of phosphorylcholine to polymer surfaces. *Biomaterials* 1986 March;7(2):121-5.
- (50) Englberger L, Immer FF, Eckstein FS, Berdat PA, Haeberli A, Carrel TP. Off-pump coronary artery bypass operation does not increase procoagulant and fibrinolytic activity: preliminary results. *Ann Thorac Surg* 2004 May;77(5):1560-6.
- (51) Esmon NL, Owen WG, Esmon CT. Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *J Biol Chem* 1982 January 25;257(2):859-64.
- (52) Feng W, Zhu S, Ishihara K, Brash JL. Adsorption of fibrinogen and lysozyme on silicon grafted with poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) via surface-initiated atom transfer radical polymerization. *Langmuir* 2005 June 21;21(13):5980-7.
- (53) Ferraris VA, Ferraris SP, Saha SP et al. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: the Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline. *Ann Thorac Surg* 2007 May;83(5 Suppl):S27-S86.
- (54) Finn A, Naik S, Klein N, Levinsky RJ, Strobel S, Elliott M. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993 February;105(2):234-41.
- (55) Ford-Hutchinson AW. Leukotrienes: their formation and role as inflammatory mediators. *Fed Proc* 1985 January;44(1 Pt 1):25-9.
- (56) Fransen E, Maessen J, Dentener M, Senden N, Geskes G, Buurman W. Systemic inflammation present in patients undergoing CABG without extracorporeal circulation. *Chest* 1998 May;113(5):1290-5.
- (57) Frering B, Philip I, Dehoux M, Rolland C, Langlois JM, Desmots JM. Circulating cytokines in patients undergoing normothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994 October;108(4):636-41.

- (58) Garlichs CD, Eskafi S, Raaz D et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart* 2001 December;86(6):649-55.
- (59) Garlichs CD, Kozina S, Fateh-Moghadam S et al. Upregulation of CD40-CD40 ligand (CD154) in patients with acute cerebral ischemia. *Stroke* 2003 June;34(6):1412-8.
- (60) Geng JG, Bevilacqua MP, Moore KL et al. Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium mediated by GMP-140. *Nature* 1990 February 22;343(6260):757-60.
- (61) Gluszko P, Rucinski B, Musial J et al. Fibrinogen receptors in platelet adhesion to surfaces of extracorporeal circuit. *Am J Physiol* 1987 March;252(3 Pt 2):H615-H621.
- (62) Graf D, Korthauer U, Mages HW, Senger G, Kroczeck RA. Cloning of TRAP, a ligand for CD40 on human T cells. *Eur J Immunol* 1992 December;22(12):3191-4.
- (63) Gu YJ, van OW, Akkerman C, Boonstra PW, Huyzen RJ, Wildevuur CR. Heparin-coated circuits reduce the inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993 April;55(4):917-22.
- (64) Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, Lange LG, Schreiner GF. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989 September;86(17):6753-7.
- (65) Habib RH, Zacharias A, Schwann TA, Riordan CJ, Durham SJ, Shah A. Adverse effects of low hematocrit during cardiopulmonary bypass in the adult: should current practice be changed? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003 June;125(6):1438-50.
- (66) Habib RH, Zacharias A, Schwann TA et al. Role of hemodilutional anemia and transfusion during cardiopulmonary bypass in renal injury after coronary revascularization: implications on operative outcome. *Crit Care Med* 2005 August;33(8):1749-56.
- (67) Haeffner-Cavaillon N, Cavaillon JM, Laude M, Kazatchkine MD. C3a(C3adesArg) induces production and release of interleukin 1 by cultured human monocytes. *J Immunol* 1987 August 1;139(3):794-9.
- (68) Haeffner-Cavaillon N, Roussellier N, Ponzio O et al. Induction of interleukin-1 production in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989 December;98(6):1100-6.
- (69) Hardy JF, Desroches J. Natural and synthetic antifibrinolytics in cardiac surgery. *Can J Anaesth* 1992 April;39(4):353-65.

- (70) Harker LA, Malpass TW, Branson HE, Hessel EA, Slichter SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha-granule release. *Blood* 1980 November;56(5):824-34.
- (71) Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MS, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol* 2006 December;146(3):443-7.
- (72) Hayward JA, Chapman D. Biomembrane surfaces as models for polymer design: the potential for haemocompatibility. *Biomaterials* 1984 May;5(3):135-42.
- (73) Hayward JA, Durrani AA, Lu Y, Clayton CR, Chapman D. Biomembranes as models for polymer surfaces. IV. ESCA analyses of a phosphorylcholine surface covalently bound to hydroxylated substrates. *Biomaterials* 1986 July;7(4):252-8.
- (74) Hayward JA, Durrani AA, Shelton CJ, Lee DC, Chapman D. Biomembranes as models for polymer surfaces. III. Characterization of a phosphorylcholine surface covalently bound to glass. *Biomaterials* 1986 March;7(2):126-31.
- (75) Hazama S, Eishi K, Yamachika S et al. Inflammatory response after coronary revascularization: off-pump versus on-pump (heparin-coated circuits and poly2methoxyethylacrylate-coated circuits). *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2004 April;10(2):90-6.
- (76) Henn V, Slupsky JR, Grafe M et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998 February 5;391(6667):591-4.
- (77) Henn V, Steinbach S, Buchner K, Presek P, Kroczeck RA. The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpressed CD40. *Blood* 2001 August 15;98(4):1047-54.
- (78) Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994 October;108(4):626-35.
- (79) Hirai S, Hamanaka Y, Mitsui N, Isaka M, Sutoh M. [Prospective study of systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery as a effective indicator]. *Kyobu Geka* 2004 June;57(6):455-8.
- (80) Hoel TN, Videm V, Baksaas ST, Mollnes TE, Brosstad F, Svennevig JL. Comparison of a Duraflon II-coated cardiopulmonary bypass circuit

- and a trillium-coated oxygenator during open-heart surgery. *Perfusion* 2004 May;19(3):177-84.
- (81) Hoffman M, Monroe DM, III. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001 June;85(6):958-65.
- (82) Hollenbaugh D, Mischel-Petty N, Edwards CP et al. Expression of functional CD40 by vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1995 July 1;182(1):33-40.
- (83) Hsu LC. Biocompatibility in heparin-coated extracorporeal circuits. *Perfusion* 1996 May;11(3):256-63.
- (84) Hsu SH, Lin ZC. Biocompatibility and biostability of a series of poly(carbonate)urethanes. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2004 July 1;36(1):1-12.
- (85) Hunter S, Angelini GD. Phosphatidylcholine-coated chest tubes improve drainage after open heart operation. *Ann Thorac Surg* 1993 December;56(6):1339-42.
- (86) Ishihara K, Takayama R, Nakabayashi N, Fukumoto K, Aoki J. Improvement of blood compatibility on cellulose dialysis membrane. 2. Blood compatibility of phospholipid polymer grafted cellulose membrane. *Biomaterials* 1992;13(4):235-9.
- (87) Ito H, Hamano K, Gohra H et al. Relationship between respiratory distress and cytokine response after cardiopulmonary bypass. *Surg Today* 1997;27(3):220-5.
- (88) Jacob HS, Craddock PR, Hammerschmidt DE, Moldow CF. Complement-induced granulocyte aggregation: an unsuspected mechanism of disease. *N Engl J Med* 1980 April 3;302(14):789-94.
- (89) Jansen NJ, van OW, Gu YJ, van Vliet MH, Eijnsman L, Wildevuur CR. Endotoxin release and tumor necrosis factor formation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992 October;54(4):744-7.
- (90) Jenny NS, Mann KG. Coagulation cascade. In: Loscalzo J, Schafer AI, editors. *Thrombosis and hemorrhage*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. p. 3.
- (91) Johnson K, Choi Y, DeGroot E, Samuels I, Creasey A, Aarden L. Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol* 1998 May 15;160(10):5130-5.
- (92) Kato K, Santana-Sahagun E, Rassenti LZ et al. The soluble CD40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1999 October;104(7):947-55.

- (93) Kawamura T, Wakusawa R, Okada K, Inada S. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anaesth* 1993 November;40(11):1016-21.
- (94) Keshavjee S, Davis RD, Zamora MR, de PM, Patterson GA. A randomized, placebo-controlled trial of complement inhibition in ischemia-reperfusion injury after lung transplantation in human beings. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005 February;129(2):423-8.
- (95) Khuri SF, Michelson AD, Valeri CR. Effects of cardiopulmonary bypass on hemostasis. In: Loscalzo J, Schafer AI, editors. *Thrombosis and Hemorrhage*. Cambridge: Blackwell; 1993. p. 1051-73.
- (96) Khuri SF, Valeri CR, Loscalzo J et al. Heparin causes platelet dysfunction and induces fibrinolysis before cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1995 October;60(4):1008-14.
- (97) Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983 December;86(6):845-57.
- (98) Kondo N, Suzuki Y, Wakayama F et al. Platelet preservation with a glycoprotein IIb/IIIa inhibitor in a porcine cardiopulmonary bypass model. *Ann Thorac Surg* 2005 July;80(1):251-7.
- (99) Lang F. *Basiswissen Physiologie*. Berlin-Heidelberg-New-York: Springer; 2000.
- (100) Langlois PF, Gawryl MS. Accentuated formation of the terminal C5b-9 complement complex in patient plasma precedes development of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988 August;138(2):368-75.
- (101) Lawrence MB, Smith CW, Eskin SG, McIntire LV. Effect of venous shear stress on CD18-mediated neutrophil adhesion to cultured endothelium. *Blood* 1990 January 1;75(1):227-37.
- (102) Lazar HL, Bokesch PM, van LF et al. Soluble human complement receptor 1 limits ischemic damage in cardiac surgery patients at high risk requiring cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2004 September 14;110(11 Suppl 1):II274-II279.
- (103) Levy JH. Complement and contact activation. In: Levy JH, editor. *Anaphylactic reactions in anaesthesia and intensive care*. Cambridge: Blackwell; 1993. p. 1051-73.
- (104) Levy JH, Kelly AB. Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 1993 November;40(11):1009-15.

- (105) Levy JH, Tanaka KA. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2003 February;75(2):S715-S720.
- (106) Lisowski P, Malyszko J, Jackowski R et al. Effects of coronary artery bypass grafting on haemostatic factors. *Kardiol Pol* 2004 February;60(2):112-22.
- (107) MacFarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature* 1964 May 2;202:498-9.
- (108) Mair P, Hoermann C, Mair J, Margreiter J, Puschendorf B, Balogh D. Effects of a leucocyte depleting arterial line filter on perioperative proteolytic enzyme and oxygen free radical release in patients undergoing aortocoronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999 April;43(4):452-7.
- (109) Mangano DT, Tudor IC, Dietzel C. The risk associated with aprotinin in cardiac surgery. *N Engl J Med* 2006 January 26;354(4):353-65.
- (110) Mangouch O, Purkayastha S, Haj-Yahia S et al. Heparin-bonded circuits versus nonheparin-bonded circuits: an evaluation of their effect on clinical outcomes. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007 June;31(6):1058-69.
- (111) Mann KG, Kalafatis M. Factor V: a combination of Dr Jekyll and Mr Hyde. *Blood* 2003 January 1;101(1):20-30.
- (112) Menys VC, Belcher PR, Noble MI et al. Macroaggregation of platelets in plasma, as distinct from microaggregation in whole blood (and plasma), as determined using optical aggregometry and platelet counting respectively, is specifically impaired following cardiopulmonary bypass in man. *Thromb Haemost* 1994 October;72(4):511-8.
- (113) Messent M, Sinclair DG, Quinlan GJ, Mumby SE, Gutteridge JM, Evans TW. Pulmonary vascular permeability after cardiopulmonary bypass and its relationship to oxidative stress. *Crit Care Med* 1997 March;25(3):425-9.
- (114) Michelson AD. Pathomechanism of defective haemostasis during and after extracorporeal circulation: The role of platelets. In: Hetzer R, editor. *Blood use in Cardiac Surgery*. Darmstadt: Steinkopff; 1990.
- (115) Moalli R, Doyle JM, Tahhan HR, Hasan FM, Braman SS, Saldeen T. Fibrinolysis in critically ill patients. *Am Rev Respir Dis* 1989 August;140(2):287-93.
- (116) Mollnes TE. Complement and biocompatibility. *Vox Sang* 1998;74 Suppl 2:303-7.

- (117) Muckart DJ, Bhagwanjee S. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. *Crit Care Med* 1997 November;25(11):1789-95.
- (118) Nakajima T, Osawa S, Ogawa M et al. Clinical study of platelet function and coagulation/fibrinolysis with Duraflo II heparin coated cardiopulmonary bypass equipment. *ASAIO J* 1996 July;42(4):301-5.
- (119) Nannizzi-Alaimo L, Rubenstein MH, Alves VL, Leong GY, Phillips DR, Gold HK. Cardiopulmonary bypass induces release of soluble CD40 ligand. *Circulation* 2002 June 18;105(24):2849-54.
- (120) Nemeto S, Aoki M, Dehua C, Imai Y. Free hemoglobin impairs cardiac function in neonatal rabbit hearts. *Ann Thorac Surg* 2000 May;69(5):1484-9.
- (121) Niranjana G, Asimakopoulou G, Karagounis A, Cockerill G, Thompson M, Chandrasekaran V. Effects of cell saver autologous blood transfusion on blood loss and homologous blood transfusion requirements in patients undergoing cardiac surgery on- versus off-cardiopulmonary bypass: a randomised trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006 August;30(2):271-7.
- (122) Okusawa S, Dinarello CA, Yancey KB et al. C5a induction of human interleukin 1. Synergistic effect with endotoxin or interferon-gamma. *J Immunol* 1987 October 15;139(8):2635-40.
- (123) Okusawa S, Yancey KB, van der Meer JW et al. C5a stimulates secretion of tumor necrosis factor from human mononuclear cells in vitro. Comparison with secretion of interleukin 1 beta and interleukin 1 alpha. *J Exp Med* 1988 July 1;168(1):443-8.
- (124) Olson ST, Bjork I, Shore JD. Kinetic characterization of heparin-catalyzed and uncatalyzed inhibition of blood coagulation proteinases by antithrombin. *Methods Enzymol* 1993;222:525-59.
- (125) Pappalardo F, Della VP, Crescenzi G et al. Phosphorylcholine coating may limit thrombin formation during high-risk cardiac surgery: a randomized controlled trial. *Ann Thorac Surg* 2006 March;81(3):886-91.
- (126) Pelzer H, Schwarz A, Heimburger N. Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb Haemost* 1988 February 25;59(1):101-6.

- (127) Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003 June;111(12):1805-12.
- (128) Philippidis P, Mason JC, Evans BJ et al. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. *Circ Res* 2004 January 9;94(1):119-26.
- (129) Pober JS, Cotran RS. The role of endothelial cells in inflammation. *Transplantation* 1990 October;50(4):537-44.
- (130) Quaniers JM, Leruth J, Albert A, Limet RR, Defraigne JO. Comparison of inflammatory responses after off-pump and on-pump coronary surgery using surface modifying additives circuit. *Ann Thorac Surg* 2006 May;81(5):1683-90.
- (131) Ranucci M, Isgro G, Soro G, Canziani A, Menicanti L, Frigiola A. Reduced systemic heparin dose with phosphorylcholine coated closed circuit in coronary operations. *Int J Artif Organs* 2004 April;27(4):311-9.
- (132) Rinder C, Fitch J. Amplification of the inflammatory response: adhesion molecules associated with platelet/white cell responses. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996;27 Suppl 1:S6-12.
- (133) Royston D, Fleming JS, Desai JB, Westaby S, Taylor KM. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. Evidence for free radical generation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986 May;91(5):759-66.
- (134) Sagripanti A, Cupisti A, Baicchi U, Ferdeghini M, Morelli E, Barsotti G. Plasma parameters of the prothrombotic state in chronic uremia. *Nephron* 1993;63(3):273-8.
- (135) Schindler R, Gelfand JA, Dinarello CA. Recombinant C5a stimulates transcription rather than translation of interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor: translational signal provided by lipopolysaccharide or IL-1 itself. *Blood* 1990 October 15;76(8):1631-8.
- (136) Schlensak C, Doenst T, Beyersdorf F. Lung ischemia during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000 July;70(1):337-8.
- (137) Schlensak C, Doenst T, Preusser S, Wunderlich M, Kleinschmidt M, Beyersdorf F. Bronchial artery perfusion during cardiopulmonary bypass does not prevent ischemia of the lung in piglets: assessment of bronchial artery blood flow with fluorescent microspheres. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001 March;19(3):326-31.
- (138) Shernan SK, Fitch JC, Nussmeier NA et al. Impact of pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, on total mortality and adverse

- cardiovascular outcomes in cardiac surgical patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2004 March;77(3):942-9.
- (139) Slupsky JR, Kalbas M, Willuweit A, Henn V, Kroczeck RA, Muller-Berghaus G. Activated platelets induce tissue factor expression on human umbilical vein endothelial cells by ligation of CD40. *Thromb Haemost* 1998 December;80(6):1008-14.
- (140) Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990 August 2;346(6283):425-34.
- (141) Stammers AH, Christensen KA, Lynch J, Zavadil DP, Deptula JJ, Sydzyk RT. Quantitative evaluation of heparin-coated versus non-heparin-coated bypass circuits during cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 1999 September;31(3):135-41.
- (142) Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E et al. Stents covered by an autologous arterial graft in porcine coronary arteries: feasibility, vascular injury and effect on neointimal hyperplasia. *Cardiovasc Res* 1999 February;41(2):433-42.
- (143) Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD, Weiler JM. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993 December;106(6):1008-16.
- (144) Straub A, Azevedo R, Beierlein W, Wendel HP, Dietz K, Ziemer G. Tirofiban (Aggrastat) protects platelets and decreases platelet-granulocyte binding in an extracorporeal circulation model. *Thorac Cardiovasc Surg* 2006 April;54(3):162-7.
- (145) Straub A, Azevedo R, Beierlein W, Wendel HP, Scheule AM, Ziemer G. Hypothermia-induced platelet aggregation: no effect of aprotinin (trasylo) but inhibition by eptifibatid (integrilin). *Thorac Cardiovasc Surg* 2005 April;53(2):80-4.
- (146) Straub A, Breuer M, Wendel HP, Peter K, Dietz K, Ziemer G. Critical temperature ranges of hypothermia-induced platelet activation: possible implications for cooling patients in cardiac surgery. *Thromb Haemost* 2007 April;97(4):608-16.
- (147) Stumpf C, Lehner C, Eskafi S et al. Enhanced levels of CD154 (CD40 ligand) on platelets in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2003 October;5(5):629-37.
- (148) Suarez EC, Boyle SH, Lewis JG, Hall RP, Young KH. Increases in stimulated secretion of proinflammatory cytokines by blood monocytes following arousal of negative affect: the role of insulin resistance as moderator. *Brain Behav Immun* 2006 July;20(4):331-8.

- (149) Suzuki Y, Malekan R, Hanson CW, III et al. Platelet anesthesia with nitric oxide with or without eptifibatid during cardiopulmonary bypass in baboons. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999 May;117(5):987-93.
- (150) Svenmarker S, Haggmark S, Jansson E et al. Use of heparin-bonded circuits in cardiopulmonary bypass improves clinical outcome. *Scand Cardiovasc J* 2002 August;36(4):241-6.
- (151) Tabuchi N, de HJ, Boonstra PW, van OW. Activation of fibrinolysis in the pericardial cavity during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993 November;106(5):828-33.
- (152) Takai H, Eishi K. [Arrested coronary artery bypass grafting with modified percutaneous cardiopulmonary support circuit (mini-pump system)]. *Kyobu Geka* 2006 July;59(8 Suppl):625-30.
- (153) Tanaka K, Takao M, Yada I, Yuasa H, Kusagawa M, Deguchi K. Alterations in coagulation and fibrinolysis associated with cardiopulmonary bypass during open heart surgery. *J Cardiothorac Anesth* 1989 April;3(2):181-8.
- (154) Tassani P, Schad H, Winkler C et al. Capillary leak syndrome after cardiopulmonary bypass in elective, uncomplicated coronary artery bypass grafting operations: does it exist? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002 April;123(4):735-41.
- (155) te VH, Baufreton C, Jansen PG et al. Heparin coating of extracorporeal circuits inhibits contact activation during cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997 July;114(1):117-22.
- (156) te VH, Jansen PG, Hack CE, Eijssman L, Wildevuur CR. Specific complement inhibition with heparin-coated extracorporeal circuits. *Ann Thorac Surg* 1996 April;61(4):1153-7.
- (157) Tonnesen MG, Smedly LA, Henson PM. Neutrophil-endothelial cell interactions. Modulation of neutrophil adhesiveness induced by complement fragments C5a and C5a des arg and formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in vitro. *J Clin Invest* 1984 November;74(5):1581-92.
- (158) Trantina-Yates AE, Human P, Bracher M, Zilla P. Mitigation of bioprosthetic heart valve degeneration through biocompatibility: in vitro versus spontaneous endothelialization. *Biomaterials* 2001 July;22(13):1837-46.
- (159) Usui A, Hiroura M, Kawamura M et al. Nafamostat mesilate reduces blood-foreign surface reactions similar to biocompatible materials. *Ann Thorac Surg* 1996 November;62(5):1404-11.

- (160) Valeri CR, Khabbaz K, Khuri SF et al. Effect of skin temperature on platelet function in patients undergoing extracorporeal bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992 July;104(1):108-16.
- (161) van den GJ, Nieuwland R, van den BA et al. Reduced complement activation during cardiopulmonary bypass does not affect the postoperative acute phase response. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004 November;26(5):926-31.
- (162) van Velzen-Blad H, Dijkstra YJ, Schurink GA et al. Cardiopulmonary bypass and host defense functions in human beings: I. Serum levels and role of immunoglobulins and complement in phagocytosis. *Ann Thorac Surg* 1985 March;39(3):207-11.
- (163) Van KC, Banchereau J. CD40-CD40 ligand: a multifunctional receptor-ligand pair. *Adv Immunol* 1996;61:1-77.
- (164) Verrier ED, Boyle EM, Jr. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery. *Ann Thorac Surg* 1996 September;62(3):915-22.
- (165) Videm V, Mollnes TE, Fosse E et al. Heparin-coated cardiopulmonary bypass equipment. I. Biocompatibility markers and development of complications in a high-risk population. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999 April;117(4):794-802.
- (166) Vocelka C, Lindley G. Improving cardiopulmonary bypass: heparin-coated circuits. *J Extra Corpor Technol* 2003 December;35(4):312-6.
- (167) Vogt W, Damerau B, von Z, I, Nolte R, Brunahl D. Non-enzymic activation of the fifth component of human complement, by oxygen radicals. Some properties of the activation product, C5b-like C5. *Mol Immunol* 1989 December;26(12):1133-42.
- (168) Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001 August;38(2-3):189-97.
- (169) von Segesser LK, Tonz M, Leskosek B, Turina M. Evaluation of phospholipidic surface coatings ex-vivo. *Int J Artif Organs* 1994 May;17(5):294-9.
- (170) Wachtfogel YT, Kucich U, Greenplate J et al. Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 1987 January;69(1):324-30.
- (171) Wachtfogel YT, Pixley RA, Kucich U et al. Purified plasma factor XIIa aggregates human neutrophils and causes degranulation. *Blood* 1986 June;67(6):1731-7.
- (172) Wagner C, Dati F. Aktivierungsmarker: Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), Prothrombinfragment 1+2 (F1+2). In: Thomas L, editor.

Labor und Diagnose. Frankfurt/Main: TH Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 633-5.

- (173) Wahba A, Rothe G, Lodes H, Barlage S, Schmitz G. The influence of the duration of cardiopulmonary bypass on coagulation, fibrinolysis and platelet function. *Thorac Cardiovasc Surg* 2001 June;49(3):153-6.
- (174) Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med* 2001 April 5;344(14):1058-66.
- (175) Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001 April 12;344(15):1140-4.
- (176) Wan S, LeClerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997 September;112(3):676-92.
- (177) Weerasinghe A, Taylor KM. The platelet in cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998 December;66(6):2145-52.
- (178) Weerwind PW, Lindhout T, Caberg NE, De Jong DS. Thrombin generation during cardiopulmonary bypass: the possible role of retransfusion of blood aspirated from the surgical field. *Thromb J* 2003 July 15;1(1):3.
- (179) Wehlin L, Vedin J, Vaage J, Lundahl J. Activation of complement and leukocyte receptors during on- and off pump coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004 January;25(1):35-42.
- (180) Wenger RK, Lukasiewicz H, Mikuta BS, Niewiarowski S, Edmunds LH, Jr. Loss of platelet fibrinogen receptors during clinical cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989 February;97(2):235-9.
- (181) Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med* 1987;13(2):89-95.
- (182) Westaby S, Fleming J, Royston D. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass, the role of neutrophil sequestration and lipid peroxidation. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1985;31:604-9.
- (183) Wong GG, Clark SC. Multiple actions of interleukin 6 within a cytokine network. *Immunol Today* 1988 May;9(5):137-9.
- (184) Woodman RC, Harker LA. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass. *Blood* 1990 November 1;76(9):1680-97.
- (185) Wright G. Haemolysis during cardiopulmonary bypass: update. *Perfusion* 2001 September;16(5):345-51.

- (186) Yianni YP. Biocompatible surfaces based upon biomembrane mimicry. In: Quinn PJ, Cherry RJ, editors. *Structural and dynamic properties of lipids and membranes*. London: Portland Press Ltd; 1992. p. 182-217.
- (187) Yu J, Lamba NM, Courtney JM et al. Polymeric biomaterials: influence of phosphorylcholine polar groups on protein adsorption and complement activation. *Int J Artif Organs* 1994 September;17(9):499-504.
- (188) Yuan G, Zhou L, Tang J et al. Serum CRP levels are equally elevated in newly diagnosed type 2 diabetes and impaired glucose tolerance and related to adiponectin levels and insulin sensitivity. *Diabetes Res Clin Pract* 2006 June;72(3):244-50.
- (189) Zhang K, Hu Z, Yang Y, Huang R, Fan H, Sun Z. Protective effect of heparin-coated circuits on the platelets during cardiopulmonary bypass. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003;23(4):403-6.
- (190) Zhang K, Hu Z, Yang Y, Huang R, Fan H, Sun Z. Protective effect of heparin-coated circuits on the platelets during cardiopulmonary bypass. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003;23(4):403-6.
- (191) Zhang Z, Dong H, Liu J, Wang W, Hu B. Vascular endothelial growth factor gene transfer improves host endothelialization of xenogeneic biologic heart valve in vivo. *Chin Med J (Engl)* 2002 June;115(6):878-83.
- (192) Zimmermann AK, Weber N, Aebert H, Ziemer G, Wendel HP. Effect of biopassive and bioactive surface-coatings on the hemocompatibility of membrane oxygenators. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007 February;80(2):433-9.

7 Anhang

Tabelle 16: TCC-Einzelwerte der Synthesis-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/1		614,78	562,55	715,97	232,10	384,56	622,92
1/2		347,98	2934,71	4096,99	60,18	165,31	299,85
1/6		283,68	1555,06	1892,32	257,29	289,08	840,94
1/9		319,10	553,06	2720,70	652,23	568,06	807,65
2/1		542,02	936,04	3031,18	447,77	445,77	779,79
2/3		683,25	1324,13	6460,15	593,05	717,12	617,91
2/5		170,11	859,67	2980,97	593,01	471,42	764,30
2/6		322,87	862,79	2327,01	428,41	436,34	1532,60
2/7		219,94	940,84	3782,94	1162,08	1343,05	741,09
3/1		415,63	1428,00	4639,40	870,25	245,11	153,86
3/3		303,16	812,30	2612,24	213,87	492,52	560,64
3/6		757,35	1869,92	3866,15	363,06	158,43	567,87
3/7		364,91	1048,08	2661,78	1147,11	549,46	582,62
3/8		253,98	282,96	1691,59	120,41	277,13	254,83
3/9		102,09	343,35	1871,16	412,28	307,70	128,94
3/10		233,30	1317,61	2504,63	53,51	409,24	251,76
4/1		173,89	1003,35	1565,34	192,05	275,92	194,00
4/7		303,76	589,11	2636,92	138,53	462,67	321,60
MW		297,50	904,80	2576,40	296,10	363,10	497,10

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

Tabelle 17: TCC-Einzelwerte der Monolyth-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/3		450,28	590,26	1168,56	158,18	227,24	528,55
1/4		481,00	935,51	1619,32	374,29	694,93	
1/5		249,21	746,70	2789,00	292,85	781,58	1047,13
1/7		685,98	1770,08	2961,47	626,58	561,21	273,37
1/8		284,81	773,01	1348,28	153,70	657,61	1072,72
2/2		249,37	257,30	469,74	206,23	350,56	
2/4		230,34	1114,56	1594,11	507,29	270,89	319,57
2/8		200,88	557,17	567,76	902,41	649,27	519,65
2/9		501,87	1360,10	1109,20	467,16	296,93	422,43
2/10		451,62	407,76	972,09	668,09	272,94	573,04
3/2		319,89	350,24	2041,60	343,74	400,65	526,33
3/4		301,62	162,40	420,47	179,01	289,60	606,67
4/2		129,61	415,03	1092,19	443,45	191,26	
4/3		102,60	707,82	2035,05	89,77	101,09	161,07
4/4		549,82	1153,87	1365,06	674,90	735,77	812,63
4/5		113,44	242,17	1719,50	289,83	729,90	362,42
4/6		127,47	533,91	2714,60	336,41	200,65	140,26
4/8		203,32	1356,95	3833,32	578,69	794,19	653,67
MW		285,50	612,30	1373,80	372,50	422,30	497,10

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

Tabelle 18: TAT-Einzelwerte der Synthesis-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/1		6,650	18,912	17,423	8,697	15,870	3,701
1/2		11,496	9,173	15,173	4,323	15,881	2,657
1/6		5,527	9,748	117,920	13,093	11,035	6,184
1/9		16,518	26,238	97,326	25,464	20,749	11,192
2/1		5,489	11,106	15,447	7,270	3,386	4,729
2/3		17,617	16,674	66,162	7,853	11,863	4,617
2/5		13,878	16,613	35,025	13,054	6,838	30,922
2/6		4,618	53,403	69,595	8,696	3,914	2,345
2/7		6,248	13,142	83,088	13,024	11,584	6,623
3/1		12,701	30,037	28,708	10,417	10,174	8,363
3/3		7,360	46,614	62,180	13,939	10,381	24,341
3/6		11,798	63,103	124,729	10,898	17,965	4,960
3/7		6,405	14,098	103,299	33,807	32,954	9,312
3/8		44,728	6,836	50,007	10,459	7,218	3,275
3/9		8,950	9,116	78,748	17,285	12,388	4,799
3/10		5,131	7,690	88,360	4,636	4,567	3,954
4/1		4,874	15,857	24,305	9,820	6,813	8,382
4/7		15,544	22,896	69,653	42,535	52,200	27,589
AMW		9,230	17,068	53,730	11,745	10,628	7,661

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

Tabelle 19: TAT-Einzelwerte der Monolyth-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/3		29,010	18,768	40,621	7,329	4,140	4,898
1/4		6,914	10,979	54,803	14,484	7,749	
1/5		6,295	26,220	64,137	6,159	42,967	5,447
1/7		4,389	15,970	48,730	32,343	23,065	15,559
1/8		5,771	30,370	161,797	11,358	6,070	5,284
2/2		8,855	26,601	86,323	16,857	9,187	
2/4		7,211	24,569	48,118	5,099	6,842	18,569
2/8		18,512	63,863	168,115	36,416	22,724	6,235
2/9		5,767	38,027	147,719	18,349	8,972	8,727
2/10		9,795	27,280	34,150	13,356	5,589	25,436
3/2		8,605	19,242	75,291	28,893	13,153	12,827
3/4		9,537	20,015	270,330	11,917	6,734	16,947
4/2		10,144	33,619	60,262	14,374	2,118	
4/3		7,351	12,424	87,961	10,721	4,879	65,628
4/4		11,711	19,561	56,502	8,472	5,213	6,608
4/5		15,368	16,110	126,993	23,762	7,650	6,772
4/6		7,560	54,557	50,307	12,276	10,737	8,888
4/8		18,717	14,743	81,774	13,566	10,012	13,074
AMW		9,545	24,356	77,909	14,002	8,788	9,683

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

Tabelle 20: sCD40L-Einzelwerte der Synthesis-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/1		0,146	0,349	0,342	0,242	0,188	0,281
1/2		0,090	0,089	0,113	0,078	0,087	0,094
1/6		0,232	0,249	0,339	0,369	0,335	0,326
1/9		0,144	0,359	0,314	0,256	0,246	0,289
2/1		0,098	0,154	0,208	0,084	0,161	0,174
2/3		0,084	0,127	0,155	0,123	0,126	0,124
2/5		0,294	0,348	0,349	0,436	0,359	0,357
2/6		0,194	0,254	0,369	0,166	0,158	0,167
2/7		0,132	0,200	0,309	0,396	0,434	0,287
3/1		0,118	0,172	0,211	0,265	0,217	0,178
3/3		1,024	1,664	1,097	0,657	0,683	0,558
3/6		0,180	0,303	0,397	0,300	0,249	0,319
3/7		0,082	0,136	1,404	0,813	0,391	0,307
3/8		0,394	0,259	0,434	0,289	0,346	0,208
3/9		0,186	0,291	0,377	0,347	0,266	0,310
3/10		1,402	1,207	1,316	1,086	0,936	0,897
4/1		0,344	0,432	0,484	0,448	0,415	0,568
4/7		0,142	0,202	0,236	0,203	0,171	0,186
MW		0,203	0,282	0,371	0,294	0,271	0,271

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

Tabelle 21: sCD40L-Einzelwerte der Monolyth-Patienten

	AZP	1	2	3	4	5	6
Patient							
1/3		0,134	0,204	0,246	1,151	0,124	0,114
1/4		0,122	0,282	0,369	0,823	1,065	
1/5		0,118	0,216	0,577	0,125	0,170	0,244
1/7		3,164	2,985	1,890	2,611	1,520	1,271
1/8		0,146	0,256	0,336	0,222	0,189	0,217
2/2		0,438	0,468	0,487	0,396	0,426	
2/4		0,102	0,490	1,401	0,516	0,442	0,335
2/8		0,090	0,238	0,312	0,660	0,675	0,420
2/9		0,094	0,201	0,456	0,538	0,425	0,308
2/10		0,268	0,408	0,405	0,398	0,322	0,708
3/2		0,204	0,298	0,335	0,226	0,181	0,204
3/4		0,118	0,196	0,432	0,343	0,150	0,185
4/2		0,074	0,179	0,226	0,168	0,139	
4/3		0,278	0,411	0,387	0,361	0,301	0,319
4/4		0,188	0,290	0,335	0,451	0,372	0,492
4/5		0,120	0,188	0,364	0,203	0,162	0,115
4/6		0,126	0,491	0,314	0,181	0,156	0,170
4/8		0,148	0,177	0,307	0,258	0,280	0,193
MW		0,168	0,309	0,426	0,39	0,297	0,278

AZP=Abnahmezeitpunkt, AMW = Arithmetischer Mittelwert

8 Danksagung

Herrn Professor Dr. med. H. Aebert danke ich für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung, die Korrektur und die Berichterstattung.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. H. P. Wendel für die intensive Betreuung und stets freundliche Unterstützung bei dieser Arbeit bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt allen Mitarbeitern des Forschungslabors für Thorax-Herz- und Gefäßchirurgie an der Universitätsklinik Tübingen, allen voran Frau Doris Armbruster und Frau Michaela Braun für ihre ständige Hilfsbereitschaft.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Abteilung Kardiotechnik der Universitätsklinik Tübingen danke ich für die freundliche Kooperation.

Ein weiteres Dankeschön möchte ich Frau Anita Narr für die fruchtbare und immer freundschaftliche Zusammenarbeit aussprechen.

Bei Frau Nadja Dinkel bedanke ich mich aufrichtig für ihren Rat und Beistand.

Meinem Bruder Harald Müller danke ich herzlichst für seine Unterstützung in technischen Fragen.

Ein ganz besonderer Dank gilt allen Patienten, die bereit waren, an dieser Studie teilzunehmen.

9 Lebenslauf

Name	Sabine Müller
Geburtsdatum	05. August 1980
Geburtsort	Weingarten, Kreis Ravensburg
Familienstand	ledig
Staatsbürgerschaft	deutsch
Eltern	Hans-Jürgen Müller, Rechtsanwalt Ingrid Müller, geb. Müllerleile, Krankenschwester
Geschwister	Harald Müller, Ausbildung zum Informatikkaufmann

Schulbildung

09/1987-08/1991	Grundschule in Eigeltingen
09/1991-06/2000	Gymnasium in Stockach
06/2000	Allgemeine Hochschulreife

Studium

10/2000-3/2007	Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
09/2002	Ärztliche Vorprüfung
09/2003	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/2005	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2006-03/2007	Praktisches Jahr

1. Tertial: Innere Medizin, Klinikum Friedrichshafen
2. Tertial: Chirurgie, Universitätsklinik Point-à-Pitre/Abymes, Guadeloupe
3. Tertial: Pädiatrie, Universitätsklinik Point-à-Pitre/Abymes, Guadeloupe

22/05/2007	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
------------	--

Berufliche Tätigkeit

Seit 11/2007	Ausbildung zur Fachärztin für Allgemeinmedizin an der Universität Antilles-Guyane, Frankreich
--------------	--