

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

Mittregionales Pro-Atriales Natriuretisches Peptid  
(Pro-ANP) in der Herzchirurgie

INAUGURAL – DISSERTATION

zur  
Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
**Wirtz, Belinda geb. Hübner**  
aus Sydney, Australien

2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Heribert Jürgens

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Elmar Berendes

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christof Schmid

Tag der mündlichen Prüfung: 08.06.2005

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

Referent: Prof. Dr. Elmar Berendes  
Koreferent: Prof. Dr. Christof Schmid

## ZUSAMMENFASSUNG

Wirtz, Belinda

### Mittregionales Pro-Atriales Natriuretisches Peptid (Pro-ANP) in der Herzchirurgie

**Fragestellung:** Das mittregionale Pro-ANP besteht aus den Aminosäuren 53 – 90 des N-terminalen Pro-ANP (Vorstufe des atrialen natriuretischen Peptids), welches äquimolar zu ANP freigesetzt wird. Bisherige klinische Untersuchungen zeigten einen Zusammenhang erhöhter Konzentrationen des mittregionalen Pro-ANP bei Patienten mit Sepsis mit einer erhöhten Letalität. Wir untersuchten den Verlauf des mittregionalen Pro-ANP bis 72 h nach herzchirurgischen Eingriffen mit kardiopulmonalem Bypass (CPB) im Vergleich zu anderen natriuretischen Peptiden (ANP, BNP) sowie proinflammatorischen Zytokinen (Interleukin-6, Tumornekrosefaktor  $\alpha$ ) und Akute-Phase-Proteinen (Serumamyloid A, SAA) sowie mögliche Assoziationen mit Langzeitüberleben.

**Material, Methoden:** Nach Zustimmung der Ethikkommission und Einwilligung wurden 123 herzchirurgische Patienten (87 aortokoronare Bypass-OP, 23 Aorten-, 13 Mitralklappenersatz) prospektiv untersucht. Arterielle Blutentnahmen erfolgten an 12 Messzeitpunkten prä-, intra- und bis 72 h postoperativ. Mittregionales Pro-ANP wurde mittels eines immunoluminometrischen Assays (B.R.A.H.M.S Seristra<sup>®</sup>, B.R.A.H.M.S AG, Hennigsdorf) gemessen. Die Überlebensrate wurde nach 2 Jahren bestimmt.

**Ergebnisse:** Im Vergleich zu ANP, BNP und den proinflammatorischen Zytokinen war der Verlauf des mittregionalen Pro-ANP signifikant verschieden. Während die Konzentrationen des aktiven ANP während des CPB anstiegen und danach wieder abfielen, zeigte das mittregionale Pro-ANP einen biphasischen Verlauf mit einem ersten Anstieg intraoperativ und einem zweiten Anstieg 2 – 3 Tage postoperativ, welcher dem von SAA entsprach. Patienten, die die ersten 2 Jahre überlebten, hatten signifikant niedrigere mittregionale Pro-ANP-Spiegel präoperativ und zu 9 weiteren Messzeitpunkten als die verstorbenen Patienten, ebenso Koronar- verglichen mit Klappenpatienten.

**Schlussfolgerung:** Der Verlauf von mittregionalem Pro-ANP in der perioperativen Phase bei herzchirurgischen Patienten unterscheidet sich signifikant von dem des aktiven ANP und dem proinflammatorischer Zytokine und ist mit der 2-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit nach CPB assoziiert. Ein Anstieg ab dem 2. postoperativen Tag ist zeitlich kongruent mit der Akute-Phase-Reaktion nach CPB.

Tag der mündlichen Prüfung: 08.06.2005

Meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Das atriale natriuretische Peptid ANP	1
1.2	Struktur des ANP	8
1.3	Analytischer Nachweis von Pro-ANP	10
1.4	Systemische Inflammation nach Herzoperationen mit kardiopulmonalem Bypass	12
1.5	Fragestellung	14
<b>2</b>	<b>Methodik</b>	<b>16</b>
2.1	Studiendesign	16
2.2	Experimentelles Protokoll	16
2.2.1	Aufklärung und Einwilligung	16
2.2.2	Patienten	16
2.2.3	Ein- und Ausschlusskriterien	17
2.2.4	Prämedikation und Narkoseeinleitung	17
2.2.5	Anästhesie	17
2.2.6	Kardiopulmonaler Bypass und operatives Vorgehen	18
2.2.7	Intensivbehandlung	20
2.2.8	Messzeitpunkte	20
2.2.9	Probengewinnung und -behandlung	21
2.2.10	Variablen	22
2.3	Bestimmung des mittregionalen Pro-ANP	23
2.4	Statistik	25
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>26</b>
3.1	Demographische Daten und Eigenschaften der Patientengruppen	26
3.2	Zweijahresüberleben	27
3.3	Mittregionales Pro-ANP	28
3.3.1	Analyse des Zeitverlaufes aller Patienten im Vergleich zu ANP	28

3.4	Vergleich von mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen bei CABG- vs. VR-Patienten.....	32
3.5	Mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen und Langzeitüberleben .....	35
3.6	Korrelation mit Mediatoren .....	38
3.6.1	Interleukin-6 .....	38
3.6.2	Tumornekrosefaktor $\alpha$ .....	40
3.6.3	Serumamyloid A.....	42
3.6.4	B-type Natriuretic Peptide.....	44
3.6.5	Korrelationskoeffizienten.....	46
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>48</b>
4.1	Überblick .....	48
4.2	Ergebnisse .....	48
4.2.1	Mittregionales Pro-ANP und ANP .....	48
4.2.2	Mittregionales Pro-ANP und inflammatorische Parameter .....	50
4.2.3	Mittregionales Pro-ANP und BNP .....	51
4.2.4	Mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen im Vergleich von Koronar- vs. Klappenpatienten.....	52
4.2.5	Mittregionale Pro-ANP-Konzentration und Langzeitüberleben .....	54
4.3	Zusammenfassung.....	55
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>64</b>
6.1	Abkürzungen.....	64
6.2	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....	65
6.2.1	Abbildungen .....	65
6.2.2	Tabellen.....	66
6.3	Danksagung.....	67
6.4	Lebenslauf.....	68

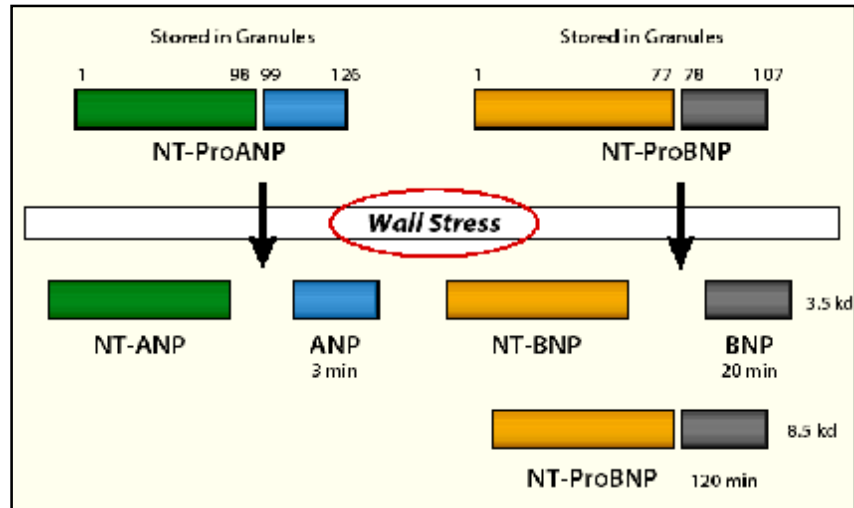
# 1 Einleitung

## 1.1 Das atriale natriuretische Peptid ANP

Das atriale natriuretische Peptid (ANP), ursprünglich atrialer natriuretischer Faktor genannt, ist Teil des komplexen Systems zur Regulation der Flüssigkeitshomöostase und gilt als direktes Bindeglied zwischen kardiovaskulärem und renalem System. Es gehört zur Familie der natriuretischen Hormone. Zu dieser Gruppe gehören neben dem ANP (in der Literatur auch als A-type natriuretic peptide beschrieben) das B-type natriuretic peptide (auch brain natriuretic peptide genannt) BNP, das C-type natriuretic peptide CNP und dendroaspis natriuretic peptide DNP. ANP umfasst 98 % aller zirkulierenden natriuretischen Peptide [45, 48].

Diese vier Hormone haben eine ähnliche Struktur, unterscheiden sich jedoch genetisch und besitzen einzigartige biochemische und physiologische Eigenschaften.





**Abbildung 1** Freisetzung von natriuretischen Hormonen aus den in Granula gespeicherten Vorstufen

(aus [30], zur korrekten Nomenklatur siehe Abbildung 4)

Bereits im vorigen Jahrhundert wurde ein Zusammenhang zwischen einer volumenbedingten Überdehnung des Herzens und einer gesteigerten Diurese diskutiert. 1956 konnten Gauer und Henry erstmals nachweisen, dass eine akute Volumenbelastung des linken Herzvorhofs von einer akuten Natriuresis gefolgt wurde, wobei bereits ein Zusammenhang mit atrialen Mechanismen diskutiert wurde [10, 20]. Zeitgleich entdeckte Kisch mit Hilfe der Elektronenmikroskopie kernnahe elektronendichte Granula in den Vorhofmyozyten von Meerschweinchen. Später konnten diese auch bei anderen Säugetieren und beim Menschen nachgewiesen werden. Es konnte gezeigt werden, dass diese Granula Proteine enthalten und keine lysosomale Funktion haben.

Anfang der Achtzigerjahre injizierte der argentinische Pathologe De Bold narkotisierten Ratten ein rohes Vorhofmuskelextrakt und beobachtete daraufhin eine starke natriuretisch-diuretische Wirkung, die bei Injektion eines Ventrikelextraktes nicht auftrat [15]. Es konnte der Nachweis geführt werden, dass dieser "atriale natriuretische Faktor" in den vorhofspezifischen Granula lokalisiert ist. In den Folgejahren gelang die Isolierung, Sequenzierung und synthetische Herstellung des kardialen Hormons ANP (Kangawa und Matsuo) [23].

Vier Jahre später wurde ein weiteres Peptid mit natriuretischen und diuretischen Eigenschaften ähnlich dem ANP in Schweinehirnextrakten isoliert [44]. Daher rührt der Name „brain natriuretic peptide“. Bald jedoch wurde festgestellt, dass der Hauptbildungsort dieses 32 Aminosäuren umfassenden Peptides im Ventrikelmyokard lokalisiert ist [22]. CNP umfasst 22 Aminosäuren und wird hauptsächlich im zentralen Nervensystem und in Gefäßendothelzellen gefunden, wobei die Plasmakonzentrationen beim Menschen außerordentlich gering sind [2]. DNP wurde zunächst bei Schlangen nachgewiesen, jedoch fand man es durch immunchemische Nachweismethoden auch im humanen Plasma und im Vorhofmyokard [42, 43].

Bei Gesunden wird ANP in den kardialen Vorhöfen produziert, während der fetalen Entwicklung und bei kardialer Hypertrophie auch in den Ventrikeln [1, 27].

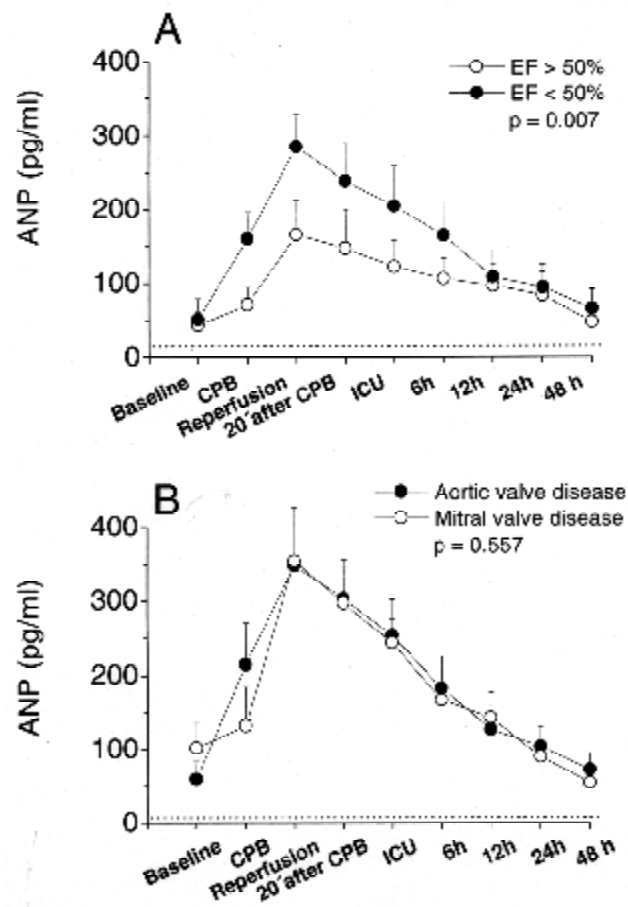
Die physiologische Funktion des ANP liegt vor allem in der Regulation des Volumen- und Wasserhaushaltes [27]. Bis zu seiner Entdeckung kannte man als Blutvolumenregulatoren nur das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. Das ANP stellt als einer der wichtigsten endogenen Gegenspieler zum Angiotensin II den lange gesuchten „3. Faktor“ in der Regelung des Volumenhaushaltes dar. Es wirkt vasodilatierend, antiproliferativ auf Herzmuskelzellen und hemmt die Wirkung von Angiotensin II auf die Nebennierenrinde [45]. Hinzu kommt eine starke renal stimulierende Wirkung mit Steigerung der Salz – und Wasserausscheidung, eine Wirkung, welcher dieses Peptid seinen Namen verdankt. ANP wirkt vasodilatierend auf die afferenten renalen Arteriolen und konstringierend auf die efferenten Arteriolen [28]. Dadurch steigt der Druck in den glomerulären Kapillaren und somit der glomeruläre Filtrationsdruck.

Die ANP-Sekretion steigt bei Druck- und Volumenbelastung der Vorhöfe stark an. Die höchsten Serum-ANP-Konzentrationen werden bei Patienten mit Herzinsuffizienz, Herzklappenfehlern sowie arterieller und pulmonaler arterieller Hypertonie gefunden [41, 51]. Bei jüngeren Frauen wurden doppelt so hohe ANP-Konzentrationen gemessen als bei jüngeren Männern, wohingegen kein Unterschied zwischen den ANP-Konzentrationen bei postmenopausalen Frauen und älteren Männern bestand [9]. Untersuchungen ergaben auch bei Herzgesunden eine Zunahme der Serum-ANP-Konzentrationen im Alter, was bei der diagnostischen Beurteilung zu berücksichtigen ist [11]. Die koronare Herzkrankheit führt durch eine systoli-

sche und/oder diastolische Funktionsstörung des linken Ventrikels zu einer chronischen oder intermittierenden Steigerung der intrakardialen Drücke. Bei akutem Koronarsyndrom und Herzinsuffizienz sind ANP und auch BNP relevante prognostische Marker, auch wenn weitere Studien nötig sind [12].

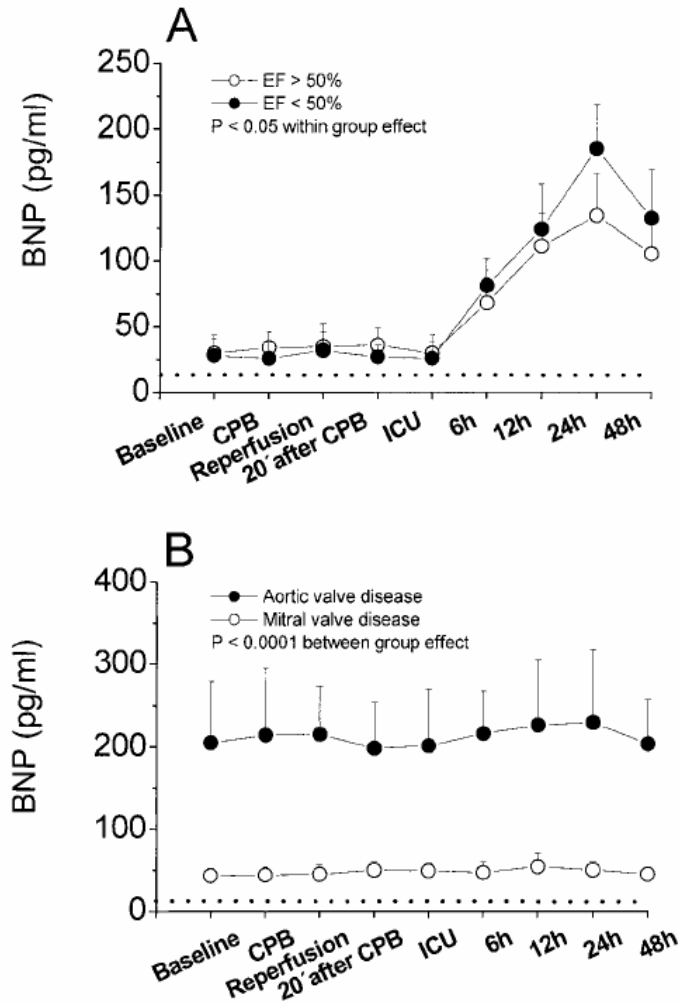
In der letzten Zeit wurden ANP und Pro-ANP als neue Outcomemarker bei septischen Patienten evaluiert [4, 19, 29, 52, 53].

Auch bei kardiochirurgischen Patienten wurde die Sekretion und der Einfluss von ANP (und BNP) auf das Langzeitoutcome untersucht [3]. Hierbei fanden Berendes et al., dass ANP-, nicht jedoch BNP-Konzentrationen mit der Volumenladung des Herzens nach Öffnen der Aortenklamme korrelierten (siehe Abbildungen 2 und 3). BNP-, nicht jedoch ANP-Konzentrationen korrelierten mit der Dauer der Aortenklammzeiten und postoperativen Troponin I-Konzentrationen bei koronarchirurgischen Patienten. Präoperativ erhöhte BNP-Spiegel waren mit einer erhöhten Zweijahresmortalität assoziiert. Die präoperativ deutlich erhöhten BNP-Spiegel vor allem bei den Patienten mit Aortenvitien stiegen intra- und postoperativ nicht weiter an. Die Befunde lassen darauf schließen, dass ANP und BNP einem unterschiedlichen Sekretionsreiz unterliegen.



**Abbildung 2** Zeitverlauf von ANP

während und nach koronarchirurgischem Eingriff mit und ohne linksventrikulärer Dysfunktion bzw. Aorten- oder Mitralklappenersatz mit CPB bei Patienten. Die gepunktete Linie zeigt die Mittelwerte von gesunden Probanden (Normalwert) (aus [3]).



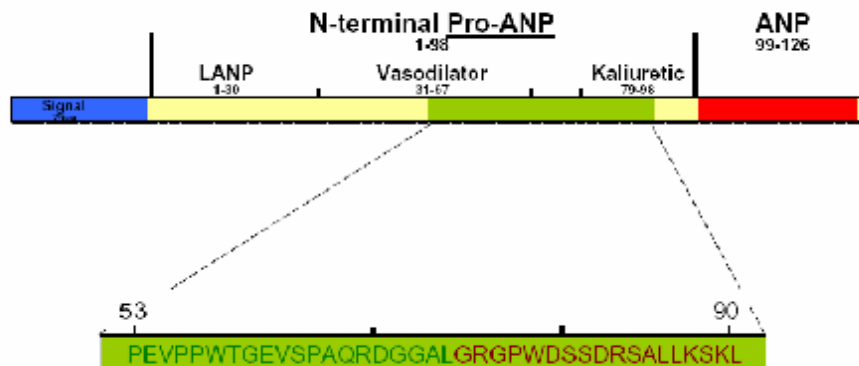
**Abbildung 3** Zeitverlauf von BNP

während und nach koronarchirurgischem Eingriff bei Patienten mit und ohne linksventrikulärer Dysfunktion bzw. Aorten- oder Mitralklappenersatz mit CPB. Die gepunktete Linie zeigt die Mittelwerte von gesunden Probanden (Normalwert) (aus [3]).

## 1.2 Struktur des ANP

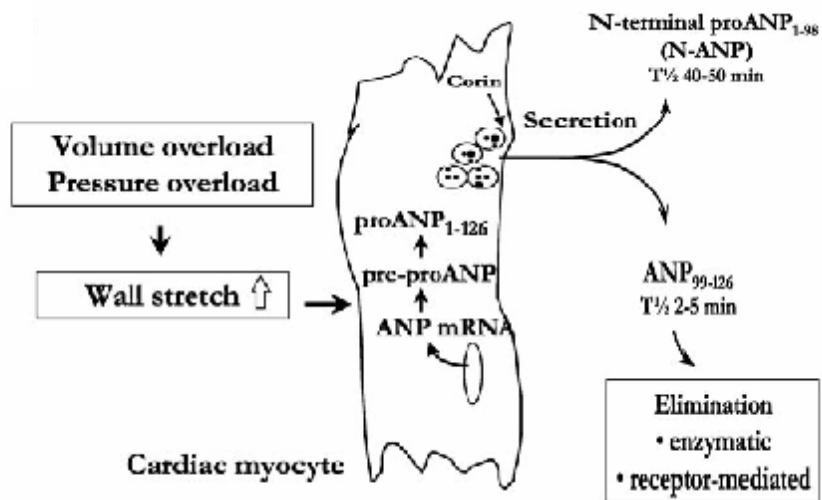
Bei der Synthese des ANP wird zunächst ein 151 Aminosäuren (AS) umfassendes Peptid an der messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) synthetisiert. Dieses wird als **Prä-Pro-ANP** bezeichnet. In den spezifischen Granula werden vom N-terminalen Ende des Prä-Pro-ANP 25 AS als Signalpeptid für die Speicherung abgespalten. Die gespeicherte Form des Hormons trägt nun die Bezeichnung **Pro-ANP** (AS 1-126, siehe Abbildung 4). Durch einen entsprechenden Reiz wird das Pro-ANP freigesetzt und bei der Freisetzung durch die Serinprotease Corin gespalten (siehe Abbildung 5) [54]. Es entsteht nun **N-terminales Pro-ANP** (AS 1-98, auch als pro-ANP<sub>1-98</sub> bezeichnet) und das wirksame **ANP** (AS 99-126) [48].

Die wirksame Aminosäuresequenz trägt aus der historischen Entwicklung unterschiedliche Bezeichnungen: alpha-ANP, Cardionatriin oder ANP. Das ANP bildet das C-terminale Ende des Pro-ANP und besteht aus 28 AS, die über eine Zysteinbrücke eine Ringstruktur bilden. Physiologische Wirkungen erzielt die Sequenz nur mit einer unversehrten Ringstruktur [49]. ANP wird rasch aus dem Blut entfernt, zum einen durch Bindung an Rezeptoren, zum anderen durch Hydrolyse durch Endopeptidasen [40].



**Abbildung 4** Struktur der Prä-Pro-ANP

Es besteht aus einem Signalpeptid (25 AS), dem N-terminalen Pro-ANP (AS 1-98), welches aus mehreren Fragmenten besteht, und dem aktiven ANP. Das mittregionale Pro-ANP umfasst die AS 53-90.



**Abbildung 5** Schema der Synthese und Freisetzung von ANP

(aus [41]).



### 1.3 Analytischer Nachweis von Pro-ANP

Das N-terminale Pro-ANP wird äquimolar zu ANP in die Zirkulation abgegeben, so dass zunächst davon ausgegangen wurde, dass dieses zur Bestimmung des ANP gemessen werden kann [55]. ANP hat eine Halbwertszeit von nur wenigen (2 – 5) Minuten. Wegen der längeren Plasma-Halbwertszeit (40 – 50 Minuten) und Stabilität des Pro-ANP im Vergleich zum reifen Hormon ist es als Parameter für Routineuntersuchungen besser geeignet [7, 14, 18]. Dies ist auch der Grund für die 10 – 50 mal höheren Plasmakonzentrationen [41].

Verschiedene Immunoassays und high-performance Flüssigkeitschromatographie-Techniken zeigten jedoch, dass N-terminales Pro-ANP weiteren Fragmentationen unterliegt [8, 13, 31]. Daher unterschätzen bisher entwickelte Sandwich-Immunoassays zur Messung von N-terminalem Pro-ANP möglicherweise die tatsächlichen Serumkonzentrationen von Pro-ANP.

Es wurde nun ein Immunoassay zur Bestimmung von mittregionalem Pro-ANP (AS 53 – 90) entwickelt (B.R.A.H.M.S Seristra<sup>®</sup> LIA, B.R.A.H.M.S AG, Hennigsdorf/Berlin), der diesbezüglich Vorteile bietet [35].

Morgenthaler et al. zeigten kürzlich, dass bei septischen Patienten mittregionale Pro-ANP-Spiegel bei Aufnahme auf der Intensivstation das Outcome ähnlich gut wie der APACHE II-Score vorhersagen konnten [34].

Somit scheint mittregionales Pro-ANP als früher Marker für die Identifikation eines erhöhten Mortalitätsrisikos bei septischen Patienten von klinischem Nutzen zu sein.

#### **1.4 Systemische Inflammation nach Herzoperationen mit kardiopulmonalem Bypass**

In Deutschland werden derzeit jährlich ca. 96000 Herzoperationen (2004) mit kardiopulmonalem Bypass (CPB) durchgeführt. Bei 2 – 10 % dieser Patienten tritt postoperativ ein eskalierendes systemisches Entzündungsreaktionssyndrom („systemic inflammatory response syndrome“, SIRS) auf [36]. Bei den betroffenen Patienten lassen sich hohe Spiegel von proinflammatorischen Mediatoren wie Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und anderen nachweisen.

Exogene und endogene Faktoren sind hierfür verantwortlich. Zu den exogenen Faktoren gehören operatives Trauma, Kontakt mit Fremdoberflächen, insbesondere innerhalb des Oxygenators und des Schlauchsystems der Herzlungenmaschine, die Einschwemmung von Endotoxinen, z. B. aus dem Darm, sowie die Folgen von Ischämie und Reperfusion. Zu den bekannten endogenen Faktoren gehören Alter und Geschlecht, Ernährungszustand, insbesondere auch Begleiterkrankungen sowie eine genetische Prädisposition.

Die Prognose der Patienten mit ausgeprägter Inflammationsreaktion ist ungünstig. So trägt die durch den CPB ausgelöste systemische Entzün-

dungsreaktion wesentlich zur Myokarddepression sowie zur Morbidität und Letalität nach Herzoperationen bei [38].

Der Inflammation nach CPB liegen ähnliche Pathomechanismen wie der Sepsis zugrunde, ohne dass hier Mikroorganismen als auslösendes Agens eine Rolle spielen. Der Entzündungsreiz durch den CPB stellt ein besonderes klinisch reproduzierbares Modell der systemischen Inflammation dar. Daher konzentrierten sich die klinischen Forschungsbemühungen der letzten Jahre auf die Aufdeckung der zugrunde liegenden Pathomechanismen und die Entwicklung entsprechender therapeutischer Strategien [21, 26].

## 1.5 Fragestellung

Ziel dieser Untersuchung war es, den Verlauf des mittregionalen Pro-ANP bis zu 72 h nach herzchirurgischen Eingriffen mit CPB zu untersuchen und mit anderen inflammatorischen Markern und Zytokinen zu vergleichen. Weiterhin war zu untersuchen, ob Unterschiede zwischen Patienten mit operationspflichtiger koronarer Herzerkrankung und erworbenen Herzklappenvitien bestanden. Schließlich sollte eine mögliche Assoziation des mittregionalen Pro-ANP zur 2-Jahres-Überlebensrate nach CPB untersucht werden.

Somit wurden folgende Hypothesen formuliert:

- 1. ANP und mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen haben einen unterschiedlichen Verlauf während und nach herzchirurgischen Eingriffen.**
- 2. Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen korrelieren mit den Konzentrationen a) proinflammatorischer Zytokine (IL-6, TNF- $\alpha$ ), b) von Akute-Phase-Proteinen (SAA) und c) von BNP.**

3. Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und Klappenvitien unterscheiden sich.
  
4. Die mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen sind mit dem Langzeitüberleben nach herzchirurgischen Eingriffen assoziiert.

## **2 Methodik**

### **2.1 Studiendesign**

Die vorliegende klinische Studie wurde als prospektive Untersuchung durchgeführt.

### **2.2 Experimentelles Protokoll**

#### **2.2.1 Aufklärung und Einwilligung**

Vor Studienbeginn wurde die Genehmigung der Ethikkommission der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster eingeholt. Alle teilnehmenden Patienten wurden über Ziel und Risiken der Untersuchung aufgeklärt und ihr schriftliches Einverständnis dokumentiert.

#### **2.2.2 Patienten**

Insgesamt wurden 123 Patienten eingeschlossen, die sich aufgrund einer koronaren Herzerkrankung einer elektiven koronaren Bypassoperation (CABG) bzw. wegen eines erworbenen Aorten- oder Mitralklappenitiums einer Klappenersatzoperation (VR) in der Klinik und Poliklinik für Thorax-Herz- und Gefäß-Chirurgie (Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. H. Scheld) des Universitätsklinikum Münster unterziehen mussten. Die CABG-Gruppe (Gruppe 1) umfasste 87 Patienten. Davon hatten 61 Patienten eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) von  $\geq 50$  % (Gruppe 1A) und 26 Patienten eine EF  $< 50$  % (Gruppe 1B). Die VR-Gruppe umfasste 36 Patienten (Gruppe 2), davon 23 mit Aortenklappenersatz- (Gruppe 2A) und 13 mit Mitralklappenersatzoperation (Gruppe 2B).

### **2.2.3 Ein- und Ausschlusskriterien**

In die Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die das 18. Lebensjahr erreicht hatten. Klinisch relevante Lungen-, Leber- oder Nierenerkrankungen sowie neurologische Ausfälle und präoperative Infektionen waren Ausschlusskriterien. Ebenso führte eine instabile präoperative Hämodynamik und/oder Katecholamintherapie zum Ausschluss von der Studie.

### **2.2.4 Prämedikation und Narkoseeinleitung**

Am Vorabend der Operation und am Operationstag erhielten die Patienten 0,03 mg/kg Flunitrazepam per os als Prämedikation. Im Anästhesie-Einleitungsraum wurde allen Patienten ein 7-Kanal-EKG angelegt. Mittels Pulsoxymetrie wurde die Sauerstoffsättigung überwacht. Der Blutdruck wurde zunächst nicht invasiv oszillometrisch gemessen. Den Patienten wurde vor Anästhesieeinleitung 10 ml/kg physiologische Kochsalzlösung über einen periphervenösen Zugang infundiert. In Lokalanästhesie wurde eine Verweilkanüle zur kontinuierlichen intravasalen Blutdruckmessung in der Arteria radialis gelegt.

### **2.2.5 Anästhesie**

Die Anästhesie wurde bei allen Patienten standardisiert durchgeführt. Nach Präoxygenierung mit 100 % Sauerstoff und Einleitung der Narkose mit 0,15 – 0,2 mg/kg Midazolam, 7 – 10 µg/kg Fentanyl und 0,1 mg/kg Pancuroniumbro-



mid, erfolgte die orotracheale Intubation mit einem Magill-Tubus. Anschließend wurde eine transösophageale Echokardiografiesonde in den Ösophagus sowie ein Multilumenkatheter in die rechte Vena jugularis gelegt. Die Anästhesie wurde während der gesamten Operation mit intravenösen Repetitionsdosen von Midazolam, Fentanyl und Pancuronium je nach klinischer Notwendigkeit aufrechterhalten.

Nach Sternotomie und Eröffnung des Perikards wurden 2.500.000 IE Aprotinin intravenös innerhalb eines Zeitraumes von 20 Minuten infundiert. Während des CPB wurden weitere 2.000.000 IE Aprotinin verabreicht. Vor Beginn des CPB wurden 400 IE/kg Körpergewicht Heparin injiziert und die Wirkung durch Messung der Activated clotting time (ACT) überprüft. Die weitere Antikoagulation mittels zusätzlicher Heparin-Bolusgaben während des CPB erfolgte unter engmaschiger ACT-Kontrolle, wobei eine ACT von mehr als 400 Sekunden angestrebt wurde. Nach Beendigung des CPB wurde die Heparinwirkung mit 0,3 ml/kg Körpergewicht Protamin antagonisiert. Ferner wurden regelmäßig Hämoglobin, Hämatokrit, arterielle Blutgase, Elektrolyte, Laktat und die Blutglukosekonzentration sowie die Urinausscheidung gemessen.

### **2.2.6 Kardiopulmonaler Bypass und operatives Vorgehen**

Nach Freilegung des Herzens über eine mediane Sterno- und Perikardiotomie wurden Aorta ascendens und rechter Vorhof kanüliert und die Herzlungenmaschine angeschlossen. Die Beatmung wurde vorübergehend eingestellt. Bei

den CABG-Patienten wurde nach Abklemmen der Aorta über eine Inzision in der Aorta ascendens antegrad gekühlte Kardioplegielösung in den koronaren Kreislauf infundiert, um die Ischämietoleranzzeit des Herzens während der aortalen Abklemmphase zu erhöhen. Bei Klappenpatienten erfolgte eine retrograde Blutkardioplegie über einen Koronarsinuskatheter. Die Operation wurde in moderater Hypothermie (ca. 34°C) durchgeführt. Eine Hämodilution wurde bis zu einem Hämatokrit von 20 – 25 % akzeptiert, um die Sauerstoffversorgung der peripheren Gewebe auf Mikrozirkulationsebene zu gewährleisten.

Nach Anlage der distalen Gefäßanastomosen bzw. Beendigung des Klappenersatzes und Verschluss der Herzhöhlen oder der Aortotomie wurde die myokardiale Ischämie durch Öffnen der Aortenklemme mit Entlüftungsmanövern unter Kopftieflage und Blähen der Lungen beendet. Während der Reperfusion wurde die Beatmung wieder normalisiert. Normothermie wurde durch einen Wärmetauscher über die Herzlungenmaschine wiederhergestellt. Nach ausgiebiger Reperfusion (mindestens 30 % der kardialen Ischämiephase) erfolgte das Weaning vom CPB unter sorgfältiger transösophagealer echokardiografischer Überwachung, Beachtung der aktuellen Hämodynamik und nach interdisziplinärer Absprache, falls erforderlich unter Einsatz von Katecholaminen.

Das Sternum wurde mit Drahtzerklagen adaptiert und die Wunde schichtweise verschlossen. Nach Ende der Operation erfolgte bei stabilen hämodynamischen Parametern die Verlegung der beatmeten Patienten auf die Intensivtherapiestation.

### 2.2.7 Intensivbehandlung

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

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

### 2.2.8 Messzeitpunkte

Die Laborparameter wurden jeweils zu folgenden prä-, intra- und postoperativen Messzeitpunkten (MZP) bestimmt:

Prä-/intraoperativ:

MZP 1      Ausgangsmessung präoperativ (Baseline, vor Narkoseeinleitung)

MZP 2      nach Narkoseeinleitung

MZP 3      20 min vor Anschluss an den CPB

MZP 4      Reperfusion/vor Abgang vom CPB

MZP 5      20 min nach Abgang vom CPB

MZP 6 Aufnahme auf die Intensivstation

Postoperativ:

MZP 7 4h nach Aufnahme auf die Intensivstation

MZP 8 8h nach Aufnahme auf die Intensivstation

MZP 9 12h nach Aufnahme auf die Intensivstation

MZP 10 24h nach Aufnahme auf die Intensivstation

MZP 11 48h nach Aufnahme auf die Intensivstation

MZP 12 72h nach Aufnahme auf die Intensivstation

### **2.2.9 Probengewinnung und -behandlung**

Alle Proben wurden über den liegenden arteriellen Katheter in Serumröhrchen abgenommen. Die Kodierung erfolgte nach Patientenummer und Messzeitpunkt. Nach Koagulation bei Raumtemperatur wurde das Serum durch Zentrifugation (10 min bei 2000 U/min) separiert, abpipettiert und in Eppendorfgefäßen bis zur Bestimmung bei  $-70\text{ °C}$  gelagert.

### 2.2.10 Variablen

Mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen wurden zu allen 12 MZP bestimmt. ANP-Konzentrationen wurden präoperativ, vor CPB, während der Reperfusion, 20 min nach Abgang vom CPB sowie 0, 4, 8, 12, 24, und 48 h nach Aufnahme auf der Intensivstation (MZP 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) bestimmt. Interleukin-6 und TNF- $\alpha$  wurden präoperativ, 20 min nach Abgang vom CPB sowie 4, 8, 12, 24, 48 und 72 h nach Aufnahme auf der Intensivstation (MZP 1, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12) bestimmt. Serumamyloid A-Konzentrationen wurden präoperativ, 0, 12, 24, 48 und 72 h nach Aufnahme auf der Intensivstation (MZP 1, 6, 9, 10, 11, 12) gemessen. BNP-Messungen erfolgten präoperativ, vor CPB, während der Reperfusion, 20 min nach Abgang vom CPB sowie 0, 4, 8, 12, und 48 h nach Aufnahme auf der Intensivstation (MZP 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11).

Weiterhin wurde die Zweijahresüberlebensquote mittels Telefoninterview ermittelt.

### 2.3 Bestimmung des mittregionalen Pro-ANP

Die Proben wurden auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Bestimmung der Konzentration des mittregionalen Pro-ANP im Serum wurde ein immunoluminometrischer Assay (ILMA) (B.R.A.H.M.S Seristra<sup>®</sup> LIA, B.R.A.H.M.S AG, Hennigsdorf/Berlin) verwendet. Hierbei wurden zwei antigenspezifische Antikörper, die das mittregionale Pro-ANP (Antigen) an jeweils verschiedenen Epitopen erkennen, im Überschuss eingesetzt. Danach wurde die zu messende Probe mit polyklonalem Schafantikörper 30 Minuten inkubiert. Mittregionales Pro-ANP ging eine Bindung mit dem Antikörper ein. Durch anschließendes Waschen wurde überflüssiges Probenmaterial entfernt. Ein weiterer Schafantikörper, der mit einem Lumineszenzlabel markiert war, wurde pipettiert, ein „Sandwich-Komplex“ entstand. Durch weiteres Waschen wurde der Tracerüberschuss entfernt. Danach wurde das Lumineszenzsignal unter Verwendung der B.R.A.H.M.S LIA Basiskit-Reagenzien ermittelt. Die Größe des Lumineszenzsignals war der mittregionalen Pro-ANP-Konzentration direkt proportional. Über die Lumineszenzsignal-Werte der mitgeführten Standards (bekannte Antigenkonzentration) ließ sich eine Standardkurve erstellen, an der die jeweiligen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen der Patientenproben abgelesen werden konnten.

Die analytische Assaysensitivität beträgt 4,4 pmol/l. Die 97,5-Perzentile bei gesunden Probanden liegt bei 160 pmol/l. Es besteht eine leichte Altersabhängig-

keit der Pro-ANP-Werte: Ältere Probanden zeigen leicht erhöhte Werte gegenüber dem Median der Gesamtpopulation (39 pmol/l).

## 2.4 Statistik

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

Die mittleren mittregionalen Pro-ANP-Spiegel sowie die übrigen Parameter zu den einzelnen Messzeitpunkten wurden zunächst von allen Patienten mittels Friedman One Way Repeated Measures Analysis of Variance (ANOVA) on Ranks jeweils mit Tukey-post-hoc-Test auf statistisch signifikante Unterschiede getestet.

Mit dem gleichen Testverfahren wurden dann die Zeitverläufe der Untergruppen (CABG, VR, 2-Jahres-Überlebende und –Verstorbene) analysiert. Anschließend wurden die mittregionalen Pro-ANP-Spiegel der CABG- gegenüber den VR-Patienten und die nach zwei Jahren Überlebenden gegenüber den verstorbenen Patienten an den einzelnen Messzeitpunkten mittels Mann-Whitney Rank Sum Test auf statistisch signifikante Unterschiede getestet. Mittels Log-Rank-Test wurde getestet, ob sich die Zweijahresüberlebensquote der Patienten mit mittregionalen ProANP-Konzentrationen  $< 200$  pmol/l von denen mit Konzentrationen  $> 200$  pmol/l signifikant von einander unterschieden.

Um mögliche Assoziationen des mittregionalen Pro-ANP mit den gemessenen Mediatoren IL-6, TNF- $\alpha$ , SAA sowie ANP und BNP zu evaluieren, wurden Pearson-Korrelationen mit diesen berechnet.



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Demographische Daten und Eigenschaften der Patientengruppen

Die demographischen und perioperativen Daten (Tabelle 1) unterscheiden sich nur minimal, was die jeweilige Vergleichbarkeit der Gruppen unterstreicht. Der prozentuale Frauenanteil liegt insgesamt mit 22,7 % niedriger als der Anteil männlicher Studienteilnehmer (insgesamt 77,2 %).

**Tabelle 1:** Demographische und perioperative Daten der einzelnen Gruppen

(Mittelwerte und Standardabweichungen)

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

KOF=Körperoberfläche

CPB=Dauer des kardiopulmonalen Bypass

X-Clamp=Aortenabklemmzeit

ICU=Intensive Care Unit

### 3.2 Zweijahresüberleben

Tabelle 2 zeigt die postoperative Überlebensdauer der insgesamt vierzehn in den ersten zwei Jahren verstorbenen Patienten.

**Tabelle 2:** Postoperative Überlebensdauer der verstorbenen Patienten (in Tagen) in den jeweiligen Gruppen (Mittelwerte und Standardabweichungen)

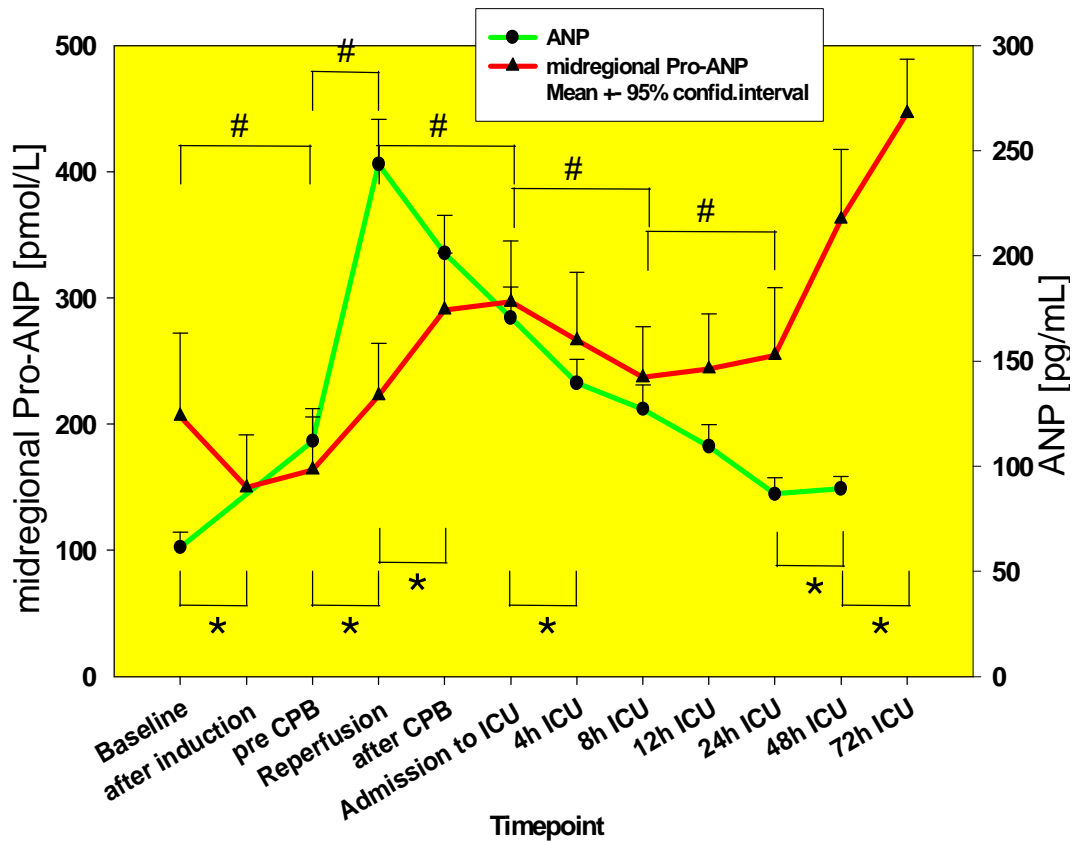
Gruppe	ID	Überlebensdauer (Tage)	Überlebensdauer/ Gruppe (Tage)
Gruppe 1	1	745	<b>209,9 ± 253,1</b>
	10	2	
	25	16	
	39	14	
	44	11	
	47	441	
	53	423	
	76	35	
	87	173	
	98	239	
Gruppe 2	45	579	<b>303 ± 312,4</b>
	55	32	
	61	568	
	82	33	

ID=Patientenidentifikationsnummer

In Gruppe 1 verstarben 10 Patienten (11,5 %), in der Gruppe 2 4 Patienten (11,1 %). Die kürzeste Überlebensdauer lag in Gruppe 1 vor; der Patient starb nach 2 Tagen.

### 3.3 Mittregionales Pro-ANP

#### 3.3.1 Analyse des Zeitverlaufes aller Patienten im Vergleich zu ANP



**Abbildung 6** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP- und ANP-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall, \* =  $p < 0,05$  vs. mittregionaler Pro-ANP-Konzentration am vorhergehenden MZP, # =  $p < 0,05$  vs. ANP-Konzentration am eingezeichneten Vergleichszeitpunkt)

Die Analyse der Daten mittels ANOVA ergab, dass die Differenzen der Mittelwerte zu den verschiedenen Messzeitpunkten sowohl für das mittregionale Pro-ANP, als auch für ANP, nicht zufallsbedingt und somit statistisch signifikant ( $p = < 0,001$ ) waren. Die post-hoc-Analyse der einzelnen Datenpaare ergab folgende Ergebnisse (siehe Abbildung 6):

Zu allen späteren MZP bestand für das mittregionale Pro-ANP ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert vor Narkoseeinleitung („Baseline“). Auch wenn man den MZP nach Narkoseeinleitung als Ausgangspunkt definiert, waren die mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen hierzu signifikant unterschiedlich. Vor Einleitung der Narkose lag der Mittelwert aller Patienten über dem Normalwert (160 pmol/l). Nach Narkoseeinleitung und zwanzig Minuten vor Anschluss an die Herzlungenmaschine sanken die Konzentrationen signifikant ab und lagen im Normalwertbereich. Der Unterschied zwischen diesen beiden MZP war nicht signifikant. Während der Reperfusion stiegen die Konzentrationen signifikant an. Bei den nächsten beiden Messungen (zwanzig Minuten nach Abgang von der Herzlungenmaschine bzw. Aufnahme des Patienten auf die Intensivstation) stiegen die Konzentrationen weiter signifikant an. Der Unterschied zwischen diesen beiden MZP war nicht signifikant. Vier bzw. acht Stunden nach Aufnahme auf der Intensivstation (Unterschied nicht signifikant) sanken die Werte gegenüber den Aufnahmewerten auf der ICU signifikant ab. Im weiteren Verlauf veränderten sich die Konzentrationen nicht signifikant. Am zweiten postoperativen Tag jedoch stiegen die Konzentrationen auf signifikant höhere Werte an, die über den nach Abgang von der Herzlungenmaschine lagen. Am dritten postoperativen Tag stiegen die mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen auf ei-

nen Maximalwert an; die höchsten Konzentrationen im gesamten Beobachtungszeitraum wurden zum Zeitpunkt zweiundsiebzig Stunden nach Aufnahme auf der Intensivstation gemessen.

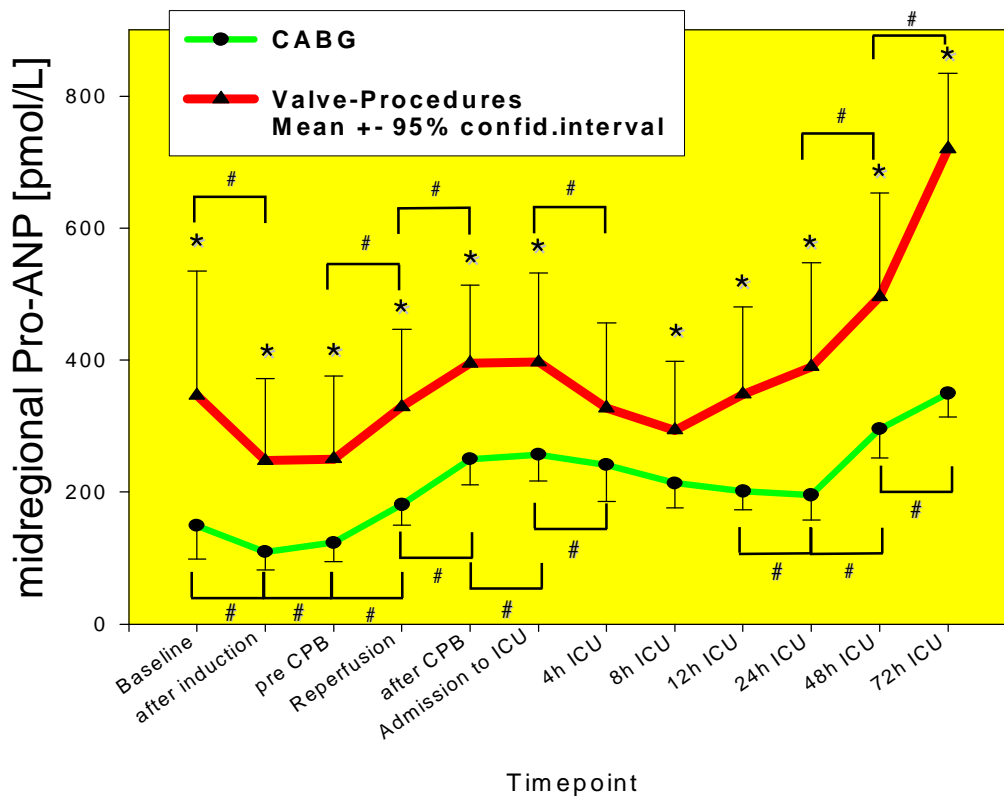
Der adäquate Reiz für die ANP-Sekretion ist eine Druck und Volumenbelastung des Herzens, respektive der Vorhöfe. Der Normwert wird in der Literatur bei Gesunden zwischen 50-166 pg/ml angegeben.

Die ANP-Konzentrationen zeigten einen gegenüber dem mittregionalen Pro-ANP unterschiedlichen Verlauf. Bereits vor Anschluss an den CPB stieg die ANP-Konzentration signifikant gegenüber dem Ausgangswert an. Den maximalen Ausschlag erreichte die ANP-Konzentration während der Reperfusion. Im weiteren Verlauf fiel das ANP bis zum ersten postoperativen Tag stetig ab, während das mittregionale Pro-ANP noch weiter bis zum Ende der Operation bzw. bis zur Aufnahme auf der Intensivstation anstieg und erst danach wieder abfiel. Zwischen dem ersten und zweiten postoperativen Tag blieb die ANP-Konzentration konstant, während das mittregionale Pro-ANP bereits einen signifikanten Anstieg zeigte, welcher sich zum Maximalwert bis zum dritten postoperativen Tag fortsetzte.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass es zu einem biphasischen Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen über den Beobachtungszeitraum kam. Präoperativ lagen die Werte über dem Normalbereich und sanken nach Einleitung der Allgemeinanästhesie im Verlauf ab. Bei Abgang von der Herzlungenmaschine kam es zu einem ersten Anstieg der Konzentrationen,

danach waren die Konzentrationen wieder rückläufig. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes stiegen die Konzentrationen steil an und erreichten das höchste Konzentrationsniveau 72 h nach Aufnahme auf die Intensivstation. ANP zeigte hingegen einen maximalen Anstieg in der Reperfusionphase, nach dem die Konzentrationen bis zum ersten postoperativen Tag stetig abfielen.

### 3.4 Vergleich von mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen bei CABG- vs. VR-Patienten



**Abbildung 7** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen der Bypasspatienten und der Klappenpatienten

(Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall, \* =  $p < 0,05$  vs. CABG, # =  $p < 0,05$  vs. vorhergehendem Messzeitpunkt)

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

Zwischen der CABG- und der VR-Gruppe fanden sich — mit Ausnahme des MZP vier Stunden nach Aufnahme auf der Intensivstation — zu jedem einzelnen MZP signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ). Präoperativ lag bei den KHK-Patienten der Mittelwert deutlich niedriger als bei den Klappenpatienten. Im weiteren Verlauf zeigten die Kurven einen ähnlichen Verlauf, allerdings in der Klappen­gruppe auf signifikant höherem Niveau als in der CABG-Gruppe. In beiden Gruppen fiel die Konzentration des mittregionalen Pro-ANP signifikant nach Narkoseeinleitung ab und stiegen intraoperativ an.

In den ersten 4 h auf der Intensivstation fielen die Spiegel wieder ab, um im weiteren Verlauf wieder anzusteigen, wobei in beiden Gruppen Maximalwerte am dritten postoperativen Tag erreicht wurden. Der Anstieg war in der Klappen­gruppe zwischen 24 und 48 h sowie zwischen 48 h und 72 h, in der CABG-Gruppe zusätzlich auch zwischen 12 und 24 h Stunden postoperativ signifikant.

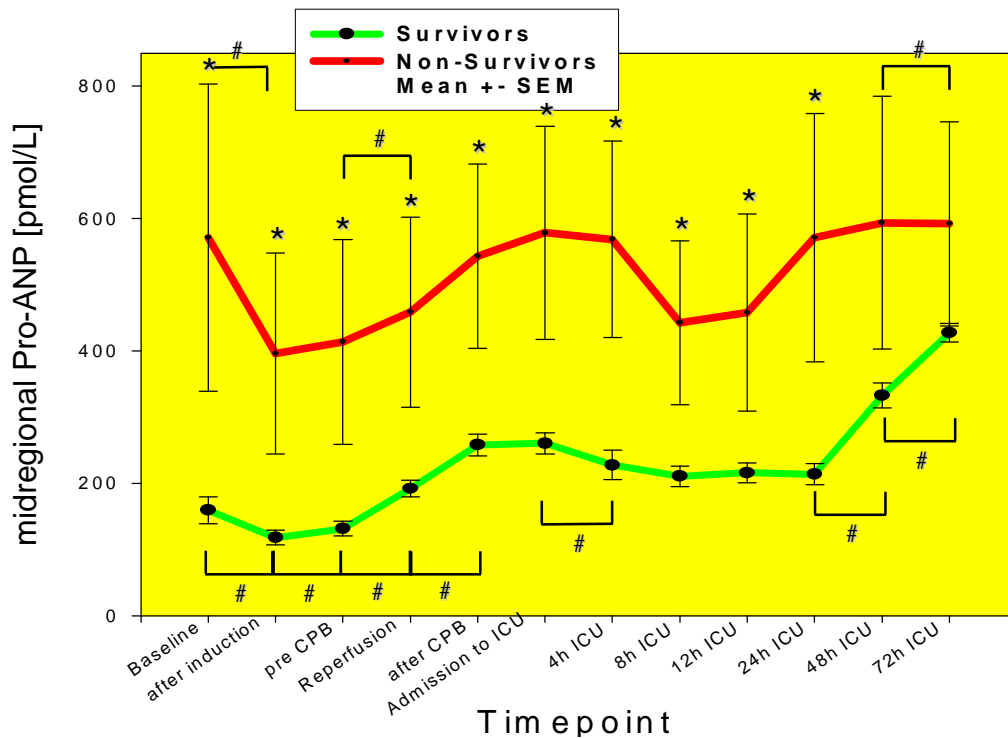
Zusammenfassend zeigte sich, dass es weitestgehend zu einem parallel verlaufenden Kurvenverlauf in den beiden Gruppen kam, wobei die Mittelwerte der Klappenpatienten auf einem insgesamt höheren Konzentrationsniveau verliefen. Bis auf drei Ausnahmen lagen in der Gruppe der KHK-Patienten (Baseline, nach Narkoseeinleitung und vor Anschluss an die Herzlungenmaschine) die mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen über dem Normalwert von 160 pmol/l.

Nach Anschluss an die Herzlungenmaschine kam es zu einem ersten Ansteigen der Werte, dann fielen in beiden Gruppen die Konzentrationen auf ein Niveau etwas oberhalb der präoperativen Spiegel ab. Am zweiten und dritten



postoperativen Tag stiegen sie in beiden Gruppen erneut an und erreichten maximal hohe Konzentrationen am dritten postoperativen Tag.

### 3.5 Mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen und Langzeitüberleben



**Abbildung 8** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen der verstorbenen und der überlebenden Patienten nach 2 Jahren

(Mittelwerte und standard error of the mean, \* =  $p < 0,05$  vs. Überlebenden, # =  $p < 0,05$  vs. vorhergehendem Messzeitpunkt)

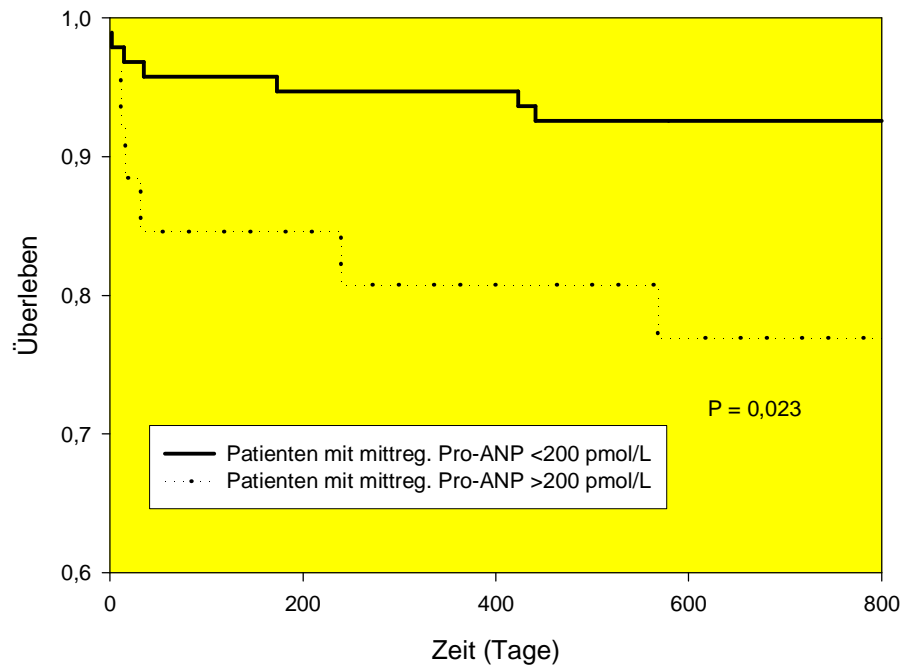
Die Mittelwerte der Überlebenden waren bis 24 h nach Aufnahme auf der Intensivstation zu jedem einzelnen MZP signifikant niedriger als die der Verstorbenen.

Sowohl bei den Überlebenden, als auch bei den Verstorbenen lagen die Baseline-Werte über dem Normalwert. Nach Einleitung kam es in beiden Gruppen zu einem signifikanten Abfall der mittregionalen Pro-ANP-Spiegel. Bei allen Patienten stiegen die Spiegel bis zur Reperfusion und bei den Überlebenden auch weiter bis zum Ende des CPB signifikant an. Im weiteren Verlauf fielen die Spiegel bei den Überlebenden nach Aufnahme auf der Intensivstation signifikant ab. Ein Anstieg zeigte sich jeweils am dritten postoperativen Tag, bei den Überlebenden signifikant auch bereits am zweiten Tag.

Zusammenfassend wurde ein weitgehend paralleler Kurvenverlauf in den beiden Gruppen gefunden. Die Mittelwerte der Verstorbenen verliefen insgesamt auf deutlich höherem, nicht zufallsbedingtem Konzentrationsniveau als die Mittelwerte der Patienten, die überlebt haben. Die Schwankungsbreite der Konzentrationen bei diesen Patienten war erheblich. Ähnlich wie bei der Darstellung des Verlaufs der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum konnte auch hier ein biphasischer Verlauf mit erstem Anstieg bei Abgang von der Herzlungenmaschine und zweitem Anstieg zweiundsiebzig Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation sowie schließlich ein Abfall nach Anästhesieeinleitung gezeigt werden.

Die LogRank-Analyse der Zweijahresüberlebensquote der Patienten mit präoperativen mittregionalen ProANP-Konzentrationen  $< 200$  pmol/l vs. denen mit

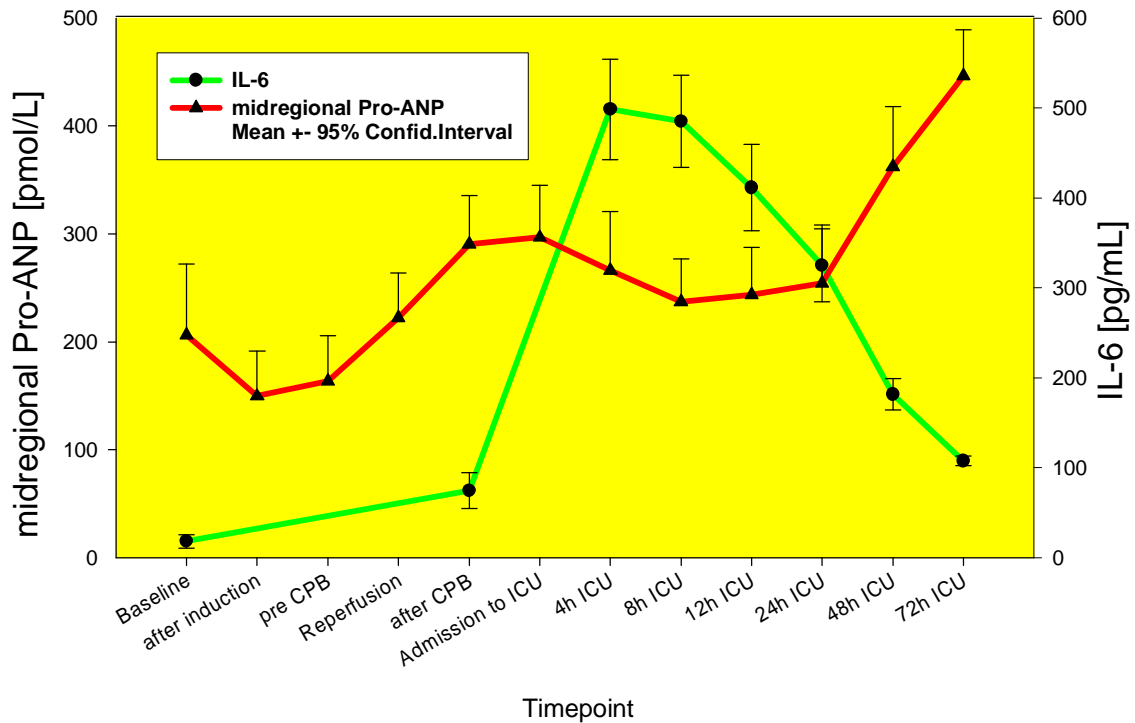
Konzentrationen  $> 200$  pmol/l ergab eine signifikant geringere Letalität ( $p = 0,023$ ) für die Gruppe mit geringeren Ausgangswerten (siehe Abbildung 9).



**Abbildung 9** Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit von der präoperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentration

### 3.6 Korrelation mit Mediatoren

#### 3.6.1 Interleukin-6



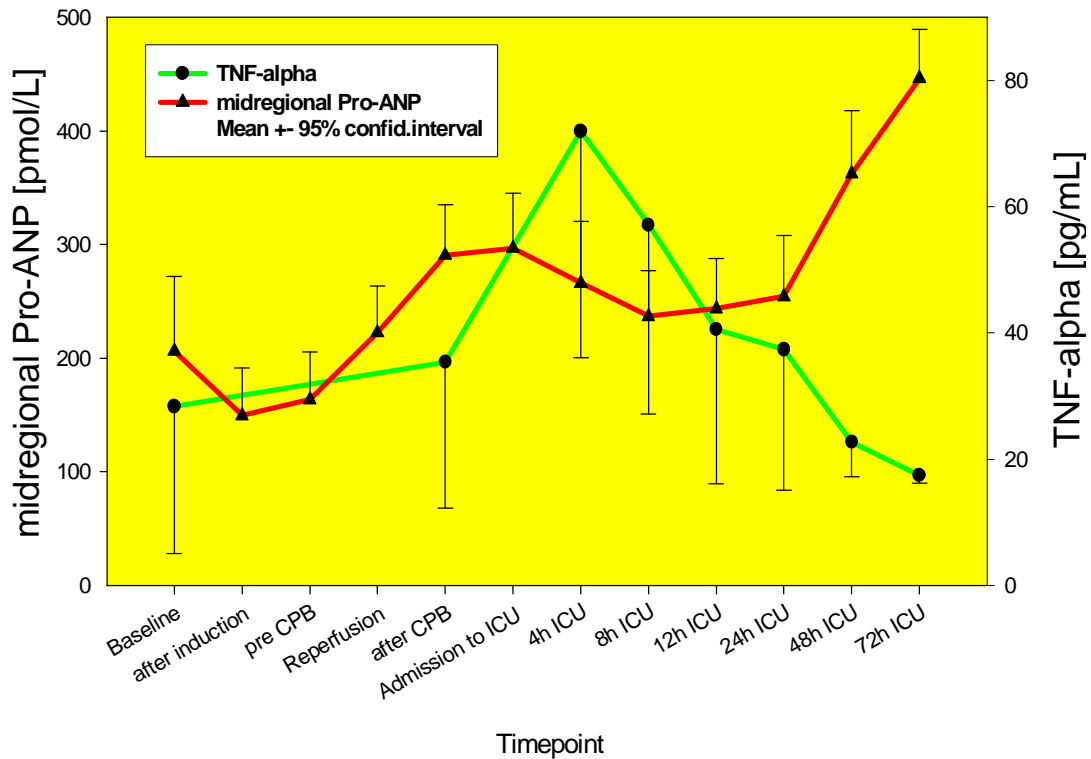
**Abbildung 10** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP- und IL-6-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall)

Interleukin-6 ist ein Parameter der Akute-Phase-Reaktion. Die Normalwerte liegen bei 5 pg/ml. Zum Zeitpunkt der Narkoseeinleitung lagen die IL-6-Konzentrationen im Normbereich und stiegen zum Ende des CPB signifikant an. Nach

Aufnahme auf die Intensivstation kam es zu einem sprunghaften Anstieg der IL-6-Konzentrationen, die damit ihren Maximalwert erreichten. Bis zum zweiten postoperativen Tag fielen die Konzentrationen allmählich ab. Der Abfall vom Maximalwert bis zum Ende der ersten 24 h und dann weiter bis zum Ende des zweiten sowie des dritten Tages waren jeweils signifikant. Nach 72 h war die Plasmakonzentration zum Zeitpunkt nach Weaning vom CPB, nicht jedoch der Baselinewert, wieder erreicht.

Im Vergleich zum mittregionalen ProANP fand sich keine Zweigipfeligkeit des Verlaufes der Mittelwerte, sondern lediglich ein Höhepunkt 4 h nach Aufnahme auf der ICU.

### 3.6.2 Tumornekrosefaktor $\alpha$



**Abbildung 11** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP- und TNF- $\alpha$ -Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall)

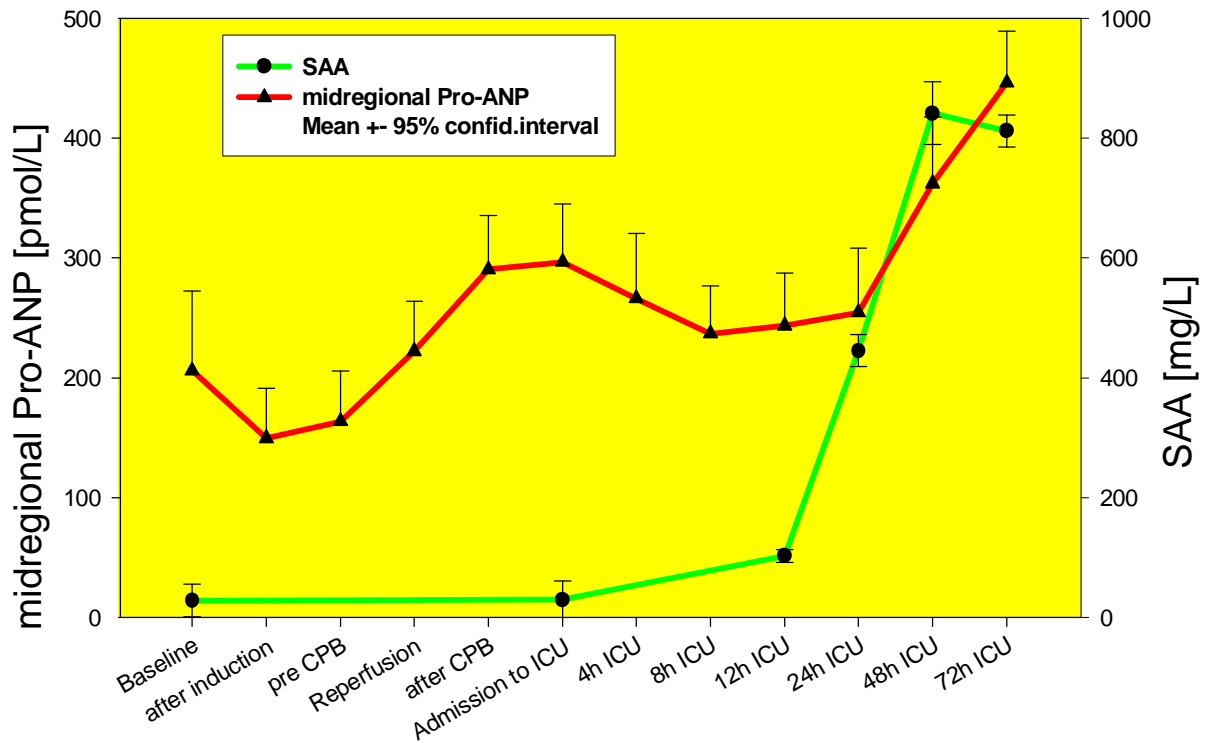
Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  ist ein Hauptmediator des endotoxämischen Schocks. Es wird angenommen, dass das Zytokin in der Pathophysiologie von Komplikationen der extrakorporalen Zirkulation wie Schock und Multiorganversagen eine

wichtige Rolle spielt. Plasmakonzentrationen bis 15 pg/ml gelten als Normwerte.

Bereits präoperativ lagen die Werte über dem Normalwert und stiegen zum Zeitpunkt 4 h nach Aufnahme auf der ICU signifikant an und erreichten dort ihren Maximalwert. Es folgte bis 72 h nach Aufnahme auf der ICU ein allmählicher Abfall der TNF- $\alpha$ -Spiegel bis auf das präoperative Niveau. Auch wenn die Unterschiede zwischen den einzelnen konsekutiven MZP nicht signifikant waren, erreichte der Abfall des Maximalwertes gegenüber den Spiegeln ab 24 h das Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ .



### 3.6.3 Serumamyloid A

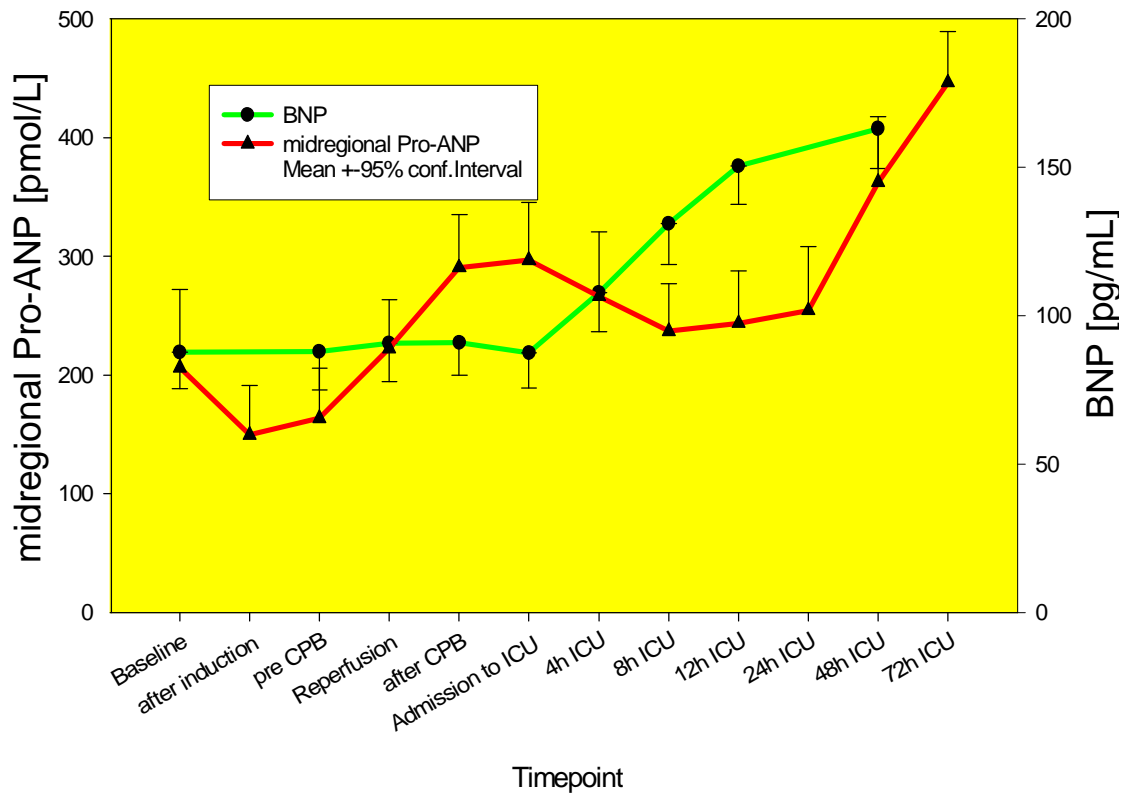


**Abbildung 12** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP- und SAA-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall)

Serumamyloid A ist ein Apolipoprotein. Werte bis 5 µg/ml gelten als Normwerte. Serumamyloid A wird in Hepatozyten und Kupfer'schen Sternzellen synthetisiert. Während systemischer Inflammation ist das SAA einer der sensitivsten Akute-Phase-Reaktion-Marker und kann Plasma-Konzentrationen erreichen, die 500-1000-fach über dem Normalwert liegen.

Die Ausgangswerte lagen im Normalbereich. Bei Aufnahme auf die Intensivstation stiegen die Werte gering, jedoch statistisch signifikant an. Zwölf Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation wurden signifikant höhere Werte gemessen. Es kam im weiteren Verlauf zu einer sprunghaften Zunahme vierundzwanzig Stunden nach Aufnahme. Der Peak wurde achtundvierzig Stunden nach Aufnahme erreicht, wobei die SAA-Konzentrationen zweiundsiebzig Stunden nach Aufnahme unverändert hoch blieben.

### 3.6.4 B-type Natriuretic Peptide



**Abbildung 13** Verlauf der mittregionalen Pro-ANP- und BNP-Konzentrationen aller Patienten über den Beobachtungszeitraum (Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervall)

BNP wird hauptsächlich bei erhöhtem ventrikulärem Wandstress aus Ventrikelmyokardzellen freigesetzt. Der Mittelwert von BNP bei gesunden Probanden liegt bei 4,6 pmol/l [4].

In der vorliegenden Untersuchung lagen die BNP-Mittelwerte aller Patienten bereits deutlich über dem Normalwert. Bis zur Aufnahme auf der Intensivstation konnte keine Veränderung vom Ausgangswert nachgewiesen werden. Der dann folgende Anstieg bis zu 4 h postoperativ war signifikant. BNP stieg bis zur 48. Stunde weiter signifikant an und erreichte doppelt so hohe Konzentrationen im Vergleich zu den Baselinewerten.

### 3.6.5 Korrelationskoeffizienten

Korreliert wurde mittregionales Pro-ANP zu jedem einzelnen MZP mit den proinflammatorischen Zytokinen IL-6 und TNF- $\alpha$ , dem Akute-Phase-Protein SAA und zusätzlich ANP und BNP.

**Tabelle 3:** Korrelationskoeffizienten des mittregionalen Pro-ANP mit IL-6, TNF- $\alpha$ , SAA, ANP und BNP zu den jeweiligen MZP

	<b>IL-6</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>SAA</b>	<b>ANP</b>	<b>BNP</b>
<b>Baseline</b>	-0,044	-0,039	0,005	<b>0,510</b>	-0,091
<b>prä-CPB</b>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	0,261	-0,107
<b>Reperfusion</b>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	0,207	-0,087
<b>post-CPB</b>	0,103	0,169	<i>ND</i>	0,243	-0,081
<b>Aufnahme ICU</b>	<i>ND</i>	<i>ND</i>	-0,012	0,116	-0,042
<b>4 h ICU</b>	0,217	0,124	<i>ND</i>	0,128	-0,064
<b>8 h ICU</b>	0,184	<i>ND</i>	<i>ND</i>	0,166	-0,017
<b>12 h ICU</b>	0,139	0,094	-0,093	-0,022	-0,104
<b>24 h ICU</b>	0,073	0,284	-0,211	0,284	<i>ND</i>
<b>48 h ICU</b>	0,074	0,427	-0,206	-0,082	-0,135
<b>72 h ICU</b>	0,454	<i>ND</i>	-0,276	<i>ND</i>	<i>ND</i>

ND= nicht durchgeführt

Der Korrelationskoeffizient  $r$  nach Pearson ist ein quantitatives Maß für die Beziehung zwischen zwei stetigen Merkmalen und beschreibt die lineare Komponente des Zusammenhangs. Der Koeffizient liegt zwischen minus 1 und plus 1,

wobei ein Betrag nahe bei 1 einen starken und ein Betrag nahe bei 0 einen schwachen Zusammenhang bedeutet. Ist der Korrelationskoeffizient negativ, bedeutet dies einen gegenläufigen Zusammenhang.

Bei der Prüfung eines Zusammenhangs zwischen mittregionalem Pro-ANP und den vier aufgeführten Parametern ergibt sich lediglich eine geringfügige Korrelation von  $r = 0,510$  bei Baseline mit ANP. Die sich bei der Absicherung von  $r$  gegen Null ergebende Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  liegt bei  $< 0,0001$  für ANP.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Überblick**

Bei der vorliegenden Studie wurde ein neuer, bislang wenig evaluierter Parameter, das mittregionale Pro-ANP, bei kardiochirurgischen Patienten untersucht. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich hierbei von präoperativ bis zum dritten postoperativen Tag.

### **4.2 Ergebnisse**

Für das Gesamtkollektiv fanden sich ein Abfall des mittregionalen Pro-ANP nach Einleitung der Allgemeinanästhesie sowie ein biphasischer Verlauf mit signifikanten Anstiegen im peripheren Blut nach extrakorporaler Zirkulation und 72 h nach Aufnahme auf die Intensivstation.

#### **4.2.1 Mittregionales Pro-ANP und ANP**

Der Abfall der Konzentration des mittregionalen ANP nach Narkoseeinleitung gegenüber dem Ausgangswert ist ein äußerst bemerkenswerter Befund: ANP, welches äquimolar zum N-terminalen Pro-ANP durch Abspaltung desselben gebildet wird, zeigte nach Einleitung der Allgemeinanästhesie einen signifikanten Anstieg. Die Halbwertszeit von ANP beträgt 2 – 5 min; Pro-ANP hat eine längere Halbwertszeit (40 – 50 Minuten). Hierdurch ist dieser Befund also nicht zu erklären.

Offensichtlich unterliegt mittregionales Pro-ANP anderen, bisher unbekanntem Einflüssen. Möglicherweise spielt die Reduktion des Sympathikotonus durch die Narkoseeinleitung, die auch mit Veränderungen des Vasomotorentonus und somit zu Flüssigkeitsverschiebungen einhergehen, hier eine Schlüsselrolle.

ANP zeigte eine ähnliche Kinetik wie mittregionales Pro-ANP intraoperativ und in der frühpostoperativen Phase, wobei der Anstieg von ANP wesentlich ausgeprägter als der des mittregionalen Pro-ANP war. Der stärkste ANP-Anstieg, der während der Reperfusionphase gemessen wurde, wird am ehesten als Reaktion auf die Volumenbelastung und damit verbundene Dehnung des Myokards erklärt [3]. In dieser Phase wird das während der Aortenabklemmung völlig entlastete Herz zunehmend wieder gefüllt, d.h. der Rückstrom des Blutes in die Herzlungenmaschine wird stufenweise reduziert. Durch diese Änderung der atrialen Wanddehnung wird offensichtlich ein massiver Sekretionsreiz für ANP erzeugt.

Die ANP-Spiegel fielen bereits früher wieder ab, während mittregionale Pro-ANP-Spiegel zur gleichen Zeit noch weiter anstiegen. Daher werden mittregionalen Pro-ANP-Spiegel wahrscheinlich noch durch andere Effekte beeinflusst.

Die vorliegende Untersuchung bestätigt somit die 1. der zu überprüfenden Hypothesen: **ANP und mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen haben einen unterschiedlichen Verlauf während und nach herzchirurgischen Eingriffen.**



#### 4.2.2 Mittregionales Pro-ANP und inflammatorische Parameter

Zur Erklärung des Verlaufes der mittregionalen Pro-ANP-Spiegel wurden inflammatorische Zytokine und Akute-Phase-Proteine während des Untersuchungszeitraumes gemessen. Der Grund für die Annahme, dass mittregionales Pro-ANP einen Zusammenhang mit inflammatorischen Vorgängen haben könnte, ist die Arbeit von Morgenthaler et al., die fanden, dass mittregionales Pro-ANP ein nützlicher prognostischer Marker bei septischen Patienten zu sein scheint [34].

Der Inflammation nach CPB liegt ein ähnlicher Pathomechanismus wie der Sepsis zugrunde, ohne dass jedoch Krankheitserreger (Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten etc.) hier eine Rolle spielen. Als Parameter wurde das proinflammatorische Zytokin IL-6 sowie TNF- $\alpha$  bestimmt, u. a. weil IL-6 ein potenter Stimulator der hepatischen Synthese von Akute-Phase-Proteinen ist. Mittregionales Pro-ANP korrelierte jedoch mit keinem dieser Parameter zu irgendeinem Zeitpunkt.

Der zweite Gipfel des biphasischen Verlaufes von mittregionalem Pro-ANP mit Erreichen des Maximalwertes am dritten postoperativen Tag verlief ähnlich der späten Phase der Akute-Phase-Reaktion. Die Akute-Phase-Reaktion ist ebenfalls ein biphasisch verlaufendes Krankheitsbild. Eine initiale hyperdynamie, proinflammatorische Phase mit unkontrollierter Freisetzung von Mediatoren wird gefolgt von einem antiinflammatorischen, hypodynamen Stadium [5, 16, 24]. Die globale Einteilung der Akute-Phase-Reaktion in eine frühe hyperdynamie Phase und eine späte hypodynamie Phase ist klinisch nicht immer fassbar [37], da die klassischen Zeichen einer hyperdynamen Kreislaufsituation nur bei adä-

quater kardialer Kompensationsfähigkeit des Organismus zu beobachten sind [5]. Wie in der Literatur beschrieben, stieg auch bei unseren Patienten IL-6 nur wenige Stunden nach Beginn des inflammatorischen Reizes durch den CPB dramatisch an. Ebenso verhielt sich TNF- $\alpha$ . Das SAA stieg erst nach 24 bzw. 48 h und somit zeitlich verzögert zu den Zytokinspiegeln stark an. Die Sekretion von SAA wird durch eine Endotoxämie bzw. IL-Sekretion induziert [6].

Der Verlauf der Zytokinkonzentrationen unterschied sich jedoch signifikant von dem des mittregionalen Pro-ANP. Daher ist die Hypothese 2.a) diesbezüglich zu verwerfen: **Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen korrelieren nicht mit den Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine (IL-6, TNF- $\alpha$ ).**

Jedoch könnte aus den Befunden der vorliegenden Studie gefolgert werden, dass mittregionales Pro-ANP möglicherweise — analog dem SAA — in Zusammenhang mit der Akuten-Phase-Reaktion steht [46]: **Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen korrelieren mit den Konzentrationen von Akute-Phase-Proteinen (SAA).**

#### **4.2.3 Mittregionales Pro-ANP und BNP**

Der Vergleich von mittregionalem Pro-ANP und BNP zeigte ebenfalls keine signifikante Korrelation bzw. Assoziation dieser beiden Peptide. Auffällig waren die bereits präoperativ erhöhten BNP-Werte. Vergleicht man diese Beobachtung mit den Befunden von Berendes et al., verwundert dies wenig [3]. Die hier

durchgeführte Analyse aller kardiochirurgischen Patienten umfasste vor allem auch die Patienten mit Aortenitium, die die höchsten Konzentrationen aufwiesen (siehe Abbildung 3). Aber auch die Patienten mit koronarer Herzerkrankung und Mitralklappenitien hatten BNP-Konzentrationen, die signifikant über denen gesunder Probanden lagen. Der Anstieg der BNP-Konzentrationen fand erst postoperativ nach Aufnahme auf der Intensivstation statt und fand sein Maximum am 2. postoperativen Tag mit doppelt so hohen Konzentrationen im Vergleich zu den Ausgangswerten. Die Ursache könnte in der vermehrten ventrikulären Wandspannung aufgrund von Ischämie und passagerer Myokardinsuffizienz liegen, die nicht selten mit einer temporären Katecholaminpflichtigkeit einhergeht.

Bezüglich der Überprüfung der Hypothese 2.c) kann man also folgendermaßen zusammenfassen: **Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen korrelieren nicht mit den Konzentrationen von BNP.**

#### **4.2.4 Mittregionale Pro-ANP-Konzentrationen im Vergleich von Koronar- vs. Klappenpatienten**

Bei dem Vergleich der mittregionalen Pro-ANP-Verläufe von Koronar- vs. Klappenpatienten fand sich ein signifikant höheres Konzentrationsniveau des mittregionalen Pro-ANP in der Gruppe der Klappenpatienten. Im Verlauf zeigte sich ebenfalls eine biphasische Kinetik mit einem überproportionalen Anstieg nach zwei bis drei Tagen bei den Klappenpatienten, wobei auch in der CABG-

Gruppe dieser Anstieg signifikant war. In einer früheren Untersuchung wurde kein Unterschied zwischen ANP-Werten bei CABG- vs. Klappenpatienten gefunden [3].

Möglicherweise sind die Patienten mit chronischer Druck- und/oder Volumenbelastung des Herzens in noch stärkerem Maße anfällig für physiologische Veränderungen im Sinne einer Akute-Phase-Reaktion. Möglicherweise sind die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen durch den Grad der myokardialen Belastung zu erklären. Dass kardiovaskuläre Erkrankungen wie z.B. Herzinfarkt und Herzklappenvitien mit erhöhten ANP (bzw. Pro-ANP-) Plasmakonzentrationen einhergehen können, ist schon seit längerem bekannt [25, 50]. Auch konnte eine Assoziation zwischen ANP und anderen physiologischen Herzparametern aufgezeigt werden [32, 33]. Die Krankheiten, die einen erhöhten ANP-Plasmaspiegel zur Folge haben, gehen mit einer intravasalen Volumenexpansion einher. Physiologisch betrachtet wird die ANP-Sekretion durch den Druck auf die Vorhofwand beeinflusst, der wiederum abhängig vom Blutvolumen ist [17]. ANP wirkt nun mit einer Gegenregulation dem erhöhten Blutvolumen entgegen. Es wurde jedoch beobachtet, dass sich bei chronischen Erkrankungen, wie z.B. bei durch koronare Herzkrankheit bedingter Herzinsuffizienz, der Gegenregulationsmechanismus abschwächen kann [47, 50]. Die dafür verantwortlichen Ursachen sind allerdings noch weitgehend unbekannt. Es käme eine „Down-Regulation“ der ANP-Rezeptoren, eine Hemmung der ANP-Wirkung durch andere neuroendokrine Verschiebungen oder ein verstärkter Abbau des ANP in Frage. Aufgrund der Tatsache, dass in einem frühen Stadium der Herz-

insuffizienz meistens keine Beeinflussung der ANP-Plasmakonzentrationen stattfindet, eignen sich diese nicht zur Screening-Diagnostik [39, 50].

Zusammengefasst kann die 3. zu untersuchende Hypothese bestätigt werden:  
**Die perioperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und Klappenvitien unterscheiden sich.**

#### **4.2.5 Mittregionale Pro-ANP-Konzentration und Langzeitüberleben**

Von besonderer Bedeutung war die Frage, ob ein auffälliges mittregionales Pro-ANP-Profil bei den verstorbenen Patienten im Vergleich zu den nach zwei Jahren Überlebenden gefunden werden konnte. Der Vergleich der Konzentrationen dieser beiden Gruppen ergab ein signifikant höheres Konzentrationsniveau bei den verstorbenen Patienten. Bis 24 h nach Aufnahme auf der Intensivstation unterschied sich die mittregionale Pro-ANP-Konzentration in der Gruppe der Verstorbenen zu jedem MZP signifikant von den Werten in der Gruppe der Überlebenden.

Bisher gibt es nur sehr begrenzte Daten zum (mittregionalen) Pro-ANP. Betrachtet man die bisherige Studienlage im Hinblick auf einen bestehenden Assoziationszusammenhang zwischen ANP und der Schwere der Erkrankung bzw. Mortalität, so findet man uneindeutige Ergebnisse. Unsere Arbeitsgruppe fand keine Assoziation zwischen der Höhe der ANP-Werte und Mortalität bei Intensivpatienten [4]. Andere Autoren hingegen konnten eine starke Assoziation

zwischen ANP und myokardialer Depression im septischen Schock aufzeigen [19, 29].

Bei unserem Patientengut zeigte das mittregionale Pro-ANP eine deutliche Assoziation mit dem Langzeitüberleben und scheint demnach als Prognoseparameter geeignet. Die Anzahl von vierzehn verstorbenen Patienten ist möglicherweise zu gering, um generalisierende Aussagen machen zu können. Eine Untersuchung an einem größeren Patientenkollektiv zur Bestätigung dieser Befunde ist sicherlich erforderlich.

Die vorliegende Studie konnte also bezüglich der 4. Hypothese zeigen, dass **die mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen mit dem Langzeitüberleben nach herzchirurgischen Eingriffen assoziiert sind.**

### 4.3 Zusammenfassung

Zusammengefasst konnte gezeigt werden, dass die Einleitung einer Allgemeinanästhesie bei kardiochirurgischen Patienten zu einem Abfall von mittregionalem Pro-ANP, der CPB hingegen zu einem Anstieg führt. Nach 48 – 72 h kam es zu einem überproportionalen Anstieg, möglicherweise der zweiten Phase einer Akute-Phase-Reaktion entsprechend. Die Konzentrationen bei Klappenpatienten und bei den Patienten, die innerhalb der ersten zwei Jahre verstorben waren, unterschieden sich signifikant. Mittregionales Pro-ANP korrelierte nicht mit inflammatorischen Zytokinen und BNP und zeigte trotz einiger Gemeinsam-

keiten eine andere Kinetik als ANP. Die Ergebnisse ermutigen zu weiterer Erforschung zur Aufdeckung der Physiologie, Pathophysiologie und Bedeutung dieses interessanten Peptids.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Andreassi MG, Del Ry S, Palmieri C, Clerico A, Biagini A, Giannessi D. Up-regulation of 'clearance' receptors in patients with chronic heart failure: a possible explanation for the resistance to biological effects of cardiac natriuretic hormones. *Eur J Heart Fail* 2001;3:407-14.
2. Barr CS, Rhodes P, Struthers AD. C-type natriuretic peptide. *Peptides* 1996;17:1243-51.
3. Berendes E, Schmidt C, Van Aken H, et al. A-type and B-type natriuretic peptides in cardiac surgical procedures. *Anesth Analg* 2004;98:11-9.
4. Berendes E, Van Aken H, Raufhake C, Schmidt C, Assmann G, Walter M. Differential secretion of atrial and brain natriuretic peptide in critically ill patients. *Anesth Analg* 2001;93:676-82.
5. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996;24:1125-8.
6. Brinkmann A, Wolf CF, Berger D, et al. Perioperative endotoxemia and bacterial translocation during major abdominal surgery: evidence for the protective effect of endogenous prostacyclin? *Crit Care Med* 1996;24:1293-301.
7. Buckley MG, Marcus NJ, Yacoub MH. Cardiac peptide stability, aprotinin and room temperature: importance for assessing cardiac function in clinical practice. *Clin Sci (Lond)* 1999;97:689-95.
8. Cappellin E, Gatti R, Spinella P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) fragments proANP (1-30) and proANP (31-67) measurements in chronic heart failure: a useful index for heart transplantation? *Clin Chim Acta* 2001;310:49-52.



9. Clark BA, Elahi D, Epstein FH. The influence of gender, age, and the menstrual cycle on plasma atrial natriuretic peptide. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:349-52.
10. Clarke NP, Gauer OH, Henry JP, Reeves JL, Zuidema GD. Influence of moderate changes in blood volume on urine flow. *Am J Physiol* 1956;186:89-91.
11. Clerico A, Del Ry S, Maffei S, Prontera C, Emdin M, Giannessi D. The circulating levels of cardiac natriuretic hormones in healthy adults: effects of age and sex. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:371-7.
12. Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 2004;50:33-50.
13. Daggubati S, Parks JR, Overton RM, Cintron G, Schocken DD, Vesely DL. Adrenomedullin, endothelin, neuropeptide Y, atrial, brain, and C-natriuretic prohormone peptides compared as early heart failure indicators. *Cardiovasc Res* 1997;36:246-55.
14. Davidson NC, Coutie WJ, Struthers AD. N-terminal proatrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are stable for up to 6 hours in whole blood in vitro. *Circulation* 1995;91:1276-7.
15. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981;28:89-94.
16. Döcke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 1997;3:678-81.

17. Gerzer R. Das Herz, ein endokrines Organ: Die Entdeckung eines neuen Hormons. *Klin Wochenschr* 1985;63:529-36.
18. Hall C, Aaberge L, Stokke O. In vitro stability of N-terminal proatrial natriuretic factor in unfrozen samples: an important prerequisite for its use as a biochemical parameter of atrial pressure in clinical routine. *Circulation* 1995;91:911.
19. Hartemink KJ, Groeneveld AB, de Groot MC, Strack van Schijndel RJ, van Kamp G, Thijs LG. alpha-atrial natriuretic peptide, cyclic guanosine monophosphate, and endothelin in plasma as markers of myocardial depression in human septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:80-7.
20. Henry JP, Gauer OH, Reeves JL. Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res* 1956;4:85-90.
21. Hirai S. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2003;9:365-70.
22. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension* 1991;17:1152-5.
23. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984;118:131-9.
24. Kox WJ, Bone RC, Krausch D, et al. Interferon gamma-1b in the treatment of compensatory anti-inflammatory response syndrome. A new approach: proof of principle. *Arch Intern Med* 1997;157:389-93.
25. Kramer HJ, Meyer-Lehnert H, Predel HG. Atriales natriuretisches Peptid. Physiologische und pathophysiologische Rolle bei der Vo-

lumen- und Blutdruckregulation. Nieren- und Hochdruckkrankheiten 1998;18:131-144.

26. Larman J, Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2004;18:425-38.

27. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. N Engl J Med 1998;339:321-8.

28. Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. Nature 1986;324:473-6.

29. Mazul-Sunko B, Zarkovic N, Vrkic N, et al. Pro-atrial natriuretic peptide hormone from right atria is correlated with cardiac depression in septic patients. J Endocrinol Invest 2001;24:RC22-4.

30. McCullough PA, Omland T, Maisel AS. B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. Rev Cardiovasc Med 2003;4:72-80.

31. Missbichler A, Hawa G, Schmal N, Woloszczuk W. Sandwich ELISA for proANP 1-98 facilitates investigation of left ventricular dysfunction. Eur J Med Res 2001;6:105-11.

32. Mitaka C, Hirata Y, Makita K, Nagura T, Tsunoda Y, Amaha K. Endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in septic shock. Am Heart J 1993;126:466-8.

33. Mitaka C, Nagura T, Sakanishi N, Tsunoda Y, Toyooka H. Plasma alpha-atrial natriuretic peptide concentrations in acute respiratory failure associated with sepsis: preliminary study. Crit Care Med 1990;18:1201-3.

34. Morgenthaler NG, Struck J, Christ-Crain M, Bergmann A, Muller B. Pro-atrial natriuretic peptide is a prognostic marker in sepsis, similar to the APACHE II score: an observational study. *Crit Care* 2005;9:R37-45.
35. Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, Bergmann A. Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem* 2004;50:234-6.
36. Müller-Werdan U, Prondzinsky R, Witthaut R, et al. Das Herz bei Sepsis und MODS. *Wien Klin Wochenschr* 1997;109 Suppl 1:3-24.
37. Pilz G, Werdan K. Cardiovascular parameters and scoring systems in the evaluation of response to therapy in sepsis and septic shock. *Infection* 1990;18:253-62.
38. Prondzinsky R, Muller-Werdan U, Pilz G, et al. Systemische Entzündungsreaktionen extrakorporaler Therapieverfahren (II): Der kardiopulmonale Bypass. *Wien Klin Wochenschr* 1997;109:346-53.
39. Reiss U, Stimpel M. Gibt es eine klinische Indikation für die Bestimmung des atrialen natriuretischen Peptids? *Schweiz Rundsch Med Prax* 1993;82:755-8.
40. Roques BP, Noble F, Dauge V, Fournie-Zaluski MC, Beaumont A. Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* 1993;45:87-146.
41. Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 2003;24:341-56.
42. Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, et al. Presence of Dendroaspis natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma

and its increase during human heart failure. *Mayo Clin Proc* 1999;74:126-30.

43. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem* 1992;267:13928-32.

44. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332:78-81.

45. Suttner SW, Boldt J. Natriuretic peptide system: physiology and clinical utility. *Curr Opin Crit Care* 2004;10:336-41.

46. van Deventer SJ, Pajkrt D. Neutrophil adhesion molecules and MOF. *Intensive Care Med* 1997;23:487-8.

47. Verspohl E. Das atriale natriuretische Peptid. Entdeckung, Therapie- und Diagnosemöglichkeiten. *Med Monatsschr Pharm* 1990;13:104-11.

48. Vesely DL. Atrial natriuretic peptide prohormone gene expression: hormones and diseases that upregulate its expression. *IUBMB Life* 2002;53:153-9.

49. Wambach G. Das atriale natriuretische Peptid (ANP). *Med Klin* 1988;83:795-9.

50. Weber M. Klinische Bedeutung der Messung des atrialen natriuretischen Peptids. *Klin Labor* 1992;38:234-240.

51. Wei CM, Heublein DM, Perrella MA, et al. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 1993;88:1004-9.

52. Witthaut R. Science review: natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care* 2004;8:342-9.
53. Witthaut R, Busch C, Fraunberger P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are increased in septic shock: impact of interleukin-6 and sepsis-associated left ventricular dysfunction. *Intensive Care Med* 2003;29:1696-702.
54. Wu F, Yan W, Pan J, Morser J, Wu Q. Processing of pro-atrial natriuretic peptide by corin in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2002;277:16900-5.
55. Yandle TG. Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med* 1994;235:561-76.

## 6 Anhang

### 6.1 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACT	activated clotting time
ANP	atriales natriuretisches Peptid, A-type natriuretic peptide
AS	Aminosäuren
BNP	B-type natriuretic peptide
CABG	coronary artery bypass grafting
CNP	C-type natriuretic peptide
CPB	kardiopulmonaler Bypass
DNP	dendroaspis natriuretic peptide
EF	Ejektionsfraktion
IL-6	Interleukin-6
ICU	Intensivtherapiestation
KHK	Koronare Herzkrankheit
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MZP	Messzeitpunkt
Prä-Pro-ANP	Peptid, das bei der Synthese von Pro-ANP als Vorstufe gebildet wird
Pro-ANP	Vorstufe des ANP
SAA	Serumamyloid Alpha
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
VR	valvular replacement

## 6.2 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### 6.2.1 Abbildungen

<b>Abbildung 1</b> Freisetzung von natriuretischen Hormonen aus den in Granula gespeicherten Vorstufen.....	2
<b>Abbildung 2</b> Zeitverlauf von ANP .....	6
<b>Abbildung 3</b> Zeitverlauf von BNP .....	7
<b>Abbildung 4</b> Struktur der Prä-Pro-ANP .....	9
<b>Abbildung 5</b> Schema der Synthese und Freisetzung von ANP.....	9
<b>Abbildung 6</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-und ANP-Konzentrationen .....	28
<b>Abbildung 7</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen der Bypasspatienten und der Klappenpatienten .....	32
<b>Abbildung 8</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen der verstorbenen und der überlebenden Patienten nach 2 Jahren.....	35
<b>Abbildung 9</b> Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit von der präoperativen mittregionalen Pro-ANP-Konzentration.....	37
<b>Abbildung 10</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-und IL-6-Konzentrationen .....	38
<b>Abbildung 11</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-und TNF- $\alpha$ -Konzentrationen .....	40
<b>Abbildung 12</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-und SAA-Konzentrationen .....	42



<b>Abbildung 13</b> Verlauf der mittregionalen Pro-ANP-und BNP-Konzentrationen .....	44
--	----

### 6.2.2 Tabellen

<b>Tabelle 1:</b> Demographische und perioperative Daten der einzelnen Gruppen .....	26
--	----

<b>Tabelle 2:</b> Postoperative Überlebensdauer der verstorbenen Patienten..	27
--	----

<b>Tabelle 3:</b> Korrelationskoeffizienten des mittregionalen Pro-ANP mit IL-6, TNF- $\alpha$ , SAA, ANP und BNP zu den jeweiligen MZP.....	46
--	----

### 6.3 Danksagung

Zunächst gilt mein Dank allen Patienten, die sich zur Teilnahme an dieser Studie bereit erklärt haben und damit das Fundament der vorliegenden Untersuchung legten.

Ganz herzlich möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Elmar Berendes für die Überlassung des Themas und entsprechenden Materials und die ausgesprochen großzügige Unterstützung danken. Weiterhin danke ich allen Kolleginnen und Kollegen, die an dem Projekt beteiligt waren. Besonders danke ich meinem Ehemann Herrn Dr. med. Stefan Wirtz für seine fachliche und liebevolle moralische Unterstützung.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h. c. H. Van Aken, Direktor der Klinik und Poliklinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin und Herrn Universitätsprofessor Dr. med. H. H. Scheld, Direktor der Klinik und Poliklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Münster bedanken, die es mir ermöglicht haben, die Untersuchung an den Patienten ihrer Klinik durchzuführen.

Weiterhin danke ich der Firma B.R.A.H.M.S AG, Hennigsdorf/Berlin, die die Bestimmung der mittregionalen Pro-ANP-Konzentrationen durchgeführt und mit großem Engagement die Studie unterstützt haben.

Schließlich danke ich meinen Eltern dafür, dass sie mir das Medizinstudium ermöglicht und mich stets liebevoll unterstützt haben.

## 6.4 Lebenslauf

### Persönliche Daten

- Name: Belinda Karin Petra WIRTZ, geb. Hübner
- Geburtsdatum: 12.08.1965
- Geburtsort: Sydney/Australien
- Konfession: evangelisch
- Staatsangehörigkeit: deutsch
- Familienstand: verheiratet mit Dr. med. Stefan Wirtz, Anästhesist
- Kinder: Marius und Julian, beide geb. 08.01.1998 und Emilia, geb. 07.07.2001
- Eltern: Ellen Hübner, geb. Brause und Ernst Hübner
- Geschwister: Diplom-Betriebswirtin Karina Hübner

### Schulabschluß

- 1984 Abitur Marie-Curie-Gymnasium Neuss

### Medizinstudium

- Wintersemester 1984/1985 bis November 1990 an der Heinrich Heine-Universität Düsseldorf
  - Ärztliche Vorprüfung: August 1986
  - 1. Staatsexamen: August 1987
  - 2. Staatsexamen: August 1990
  - 3. Staatsexamen: November 1990
- PJ-Wahlfach: Neurologie

- Studienaufenthalte 1988 University of Western Australia, Royal Perth Hospital, Department of Surgery sowie Department of Internal Medicine, Perth/Australien

#### **Berufl. Werdegang**

- Februar 1991 bis August 1992: Krankenhaus Bethanien für die Grafschaft Moers, Abteilung für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie, Chefarzt: Dr. Heydenreich
- Approbation als Ärztin: 15.08.1992
- Oktober 1992 bis Januar 2001: Krankenhaus Bethanien für die Grafschaft Moers, Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Chefarzt: Dr. B. Steege
- Fachärztin für Anästhesiologie: Dezember 1996

#### **Sonstige Qualifikationen**

- Fachkunde Arzt im Rettungsdienst
- Fachkunde Strahlenschutz
- Sonographie Grund- und Aufbaukurs
- Curriculum Spezielle Schmerztherapie
- Teilnahme am Kurs für fieberoptische Intubation
- Fremdsprache: Englisch, Französisch

Münster, 15. April 2005