

Proteolyse und Proteinaseninhibition in der Herz- und Gefäßchirurgie

**Symposium über neue Aspekte der Trasylol-Therapie
Luxemburg, 18. und 19. Mai 1984**

Verhandlungsbericht herausgegeben von

R. Dudziak, Frankfurt
H. D. Reuter, Köln

P. G. Kirchhoff, Bonn
F. Schumann, Wuppertal

Mit Beiträgen u. a. von

C. G. COCHRANE, LaJolla
W. DIETRICH, München
M. FISCHER, Wien
H. FRITZ, München
A. HANNEKUM, Köln
W. HELLER, Tübingen
C. HUTH, Tübingen

M. JOCHUM, München
S. POPOV-CENIĆ, Bonn
N. ROHM, Essen
M. SCHOENBERG, Lübeck
M. SUNAMORI, Tokio
A. URBAN, St. Augustin
S. WESTABY, London

Mit 159 Abbildungen und 57 Tabellen



Schattauer

Stuttgart –
New York 1985

Inhaltsverzeichnis

Einführung. R. DUDZIAK	1
Teil I: Pathophysiologische Mechanismen und Beobachtungen	
Exposure of Blood to Foreign Surfaces — What are the Consequences? C. G. COCHRANE	5
Changes in Complement, White Cells, and Oxygen-Free Radicals During Cardiopulmonary Bypass. S. WESTABY	17
Plasmaspiegel von Immunglobulinen und Komplementkomponenten wäh- rend und nach aorto-koronaren Bypass-Operationen. G. FUHRER, W. HEL- LER, H. E. HOFFMEISTER	23
Blutgerinnungsveränderungen intra- und postoperativ bei extrakorporaler Zirkulation unter Benützung eines Gasdispersionsoxygenators. M. FISCHER, P. HOPMEIER, J. LORBER, H. DENCK, K. KUßIENÄ, P. SCHERER	31
AT-III-Aktivität und Heparinverbrauch während extrakorporaler Zirkula- tion. W. DIETRICH, A. SCHROLL, J. A. RICHTER	41
Hyperfibrinolyse während Operationen mit extrakorporaler Zirkulation. C. MINALE, H. SCHMITZ, W. BEHRENDT, B. ANGELKORT, B. J. MESSMER	47
Dose-Dependent Effects of Aprotinin in Extracorporeal Circulation. M. MASIÄK	59
Lösliches Fibrin, das während der extrakorporalen Zirkulation mit der Herz- Lungen-Maschine gebildet wird, wird durch Einfrieren aus den Plasmen aus- gefällt. D. GULBA, W. HELLER	61
Fibronektin, ein regulatives, plasminsensitives Glykoprotein der Transit- strecke. H. HEINE	77
Das Renin-Angiotensin-System bei Operationen am offenen Herzen unter extrakorporaler Zirkulation. Untersuchungen unter Aprotinin-Anwendung. I. HECK, G. HACK, R. WICKENHÖFER, P. G. KIRCHHOFF, F. KRÜCK	79
Die Veränderung des Säure-Basen-Haushaltes, der Laktat-Konzentration und der Purinmetaboliten während gefäßrekonstruktiver Eingriffe an der ab- dominellen Aorta. M. H. SCHOENBERG, B. FREDHOLM, G. HOHLBACH	89
Myokardstoffwechsel unter Kardioplegie mit und ohne Aprotinin-Zusatz. C. KONERMANN, W. ISSELHARD, F. KLINKE, P. P. LUNKENHEIMER	99
Die Ultrastruktur der Herzmuskelzelle des Epi- und Endokards in linken Ventrikeln von Hundeherzen unter ischämischer Kardioplegie mit dem Zu- satz von Aprotinin. Eine feinstrukturelle morphometrische Untersuchung. H. THEMANN, H. DITTRICH, E. ANYANWU	109

Lungenschädigung durch extrakorporale Zirkulation. Klinische Aussagekraft der lysosomalen Enzymaktivitäten. G. HORPÁCSY, W. HÜGEL, A. GEISSLER, H. MÜLLER	117
TrasyloI-Effekte an der Niere — Temperatur- und Dosisabhängigkeit. J. H. FISCHER	127
Einfluß von Aprotinin auf die Nierenfunktion. W. H. HÖRL	137
Die Zielenzyme des Aprotinin in vitro und in vivo. H. FRITZ	143
Bestimmung von Aprotinin-Plasmakonzentrationen nach therapeutischer Anwendung von TrasyloI. M. JOCHUM, W. MÜLLER-ESTERL	157

Teil II: Klinische Studien

Anlage und zusammenfassendes Ergebnis einer klinischen Doppelblindstudie bei aorto-koronaren Bypass-Operationen. S. POPOV-CENIĆ, H. MURDAY, P. G. KIRCHHOFF, G. HACK, J. FENYES	171
Das Verhalten der Thrombozyten bei Herzoperationen unter Aprotinin- und C1-Esterase-Inhibitor-Therapie. S. POPOV-CENIĆ, H. MURDAY	187
Das Verhalten der Gerinnungsfaktoren bei Herzoperationen unter Aprotinin- und C1-Esterase-Inhibitor-Therapie. S. POPOV-CENIĆ, H. MURDAY ...	195
Das Kallikreinsystem: Aktivierungs- und Inhibitionspotential während des extrakorporalen Kreislaufes in einer Placebo-Aprotinin-C1-Inhibitor-Studie. A. PHILAPITSCH, H. MURDAY, S. POPOV-CENIĆ	201
Ergebnisse einer klinischen Doppelblindstudie mit Aprotinin und C1-Esterase-Inhibitor: Klinischer Verlauf am Beispiel der Nieren- und Lungenfunktion. H. MURDAY, P. G. KIRCHHOFF, G. HACK, J. FENYES, S. POPOV-CENIĆ ..	213
Anlage und zusammenfassendes Ergebnis einer klinischen Doppelblindstudie bei Operationen am offenen Herzen. Einfluß von Aprotinin auf Thrombozytenzahl und -funktion. A. HANNEKUM, H. D. REUTER, H. DALICHAU, G. HORPÁCSY, J. SELBHERR	221
Zum Verhalten der Thrombozyten in Gegenwart von Aprotinin. H. D. REUTER	235
Einsatz von Proteinaseinhibitoren während der extrakorporalen Zirkulation — Wirkungsverbesserung durch Optimierung der Dosis in einer klinischen Studie. C. HUTH, H. E. HOFFMEISTER	243
Das Verhalten von Plasma-Präkallikrein/-Kallikrein bei Patienten mit aorto-koronarer Bypass-Operation unter Anwendung zweier verschiedener Aprotinin-Dosierungsschemata. G. FUHRER, W. HELLER, H. E. HOFFMEISTER	255

Das Verhalten der zweiwertigen Spurenelemente Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Zn ²⁺ und Cu ²⁺ unter den Bedingungen der extrakorporalen Zirkulation. W. HELLER, G. FUHRER, D. GULBA, H. E. HOFFMEISTER	263
Blutungen nach intrakardialen operativen Eingriffen im Säuglingsalter: Klinische Relevanz und perioperative Therapie. A. E. URBAN, A. M. BRECHER, S. POPOV-CENIĆ	273
Pharmacological Myocardial Protection in Addition to Cold Cardioplegia in Coronary Artery Revascularization: Effect of Protease Inhibitor on Intraoperative Myocardial Protection. M. SUNAMORI, H. TANAKA, T. OKAMURA, M. YOKOYAMA, H. FUJIWARA, Y. MATSUNAGA, T. SUZUKI, H. MIYAMOTO, T. SAKAMOTO, A. SUZUKI	281
On the Use of Aprotinin During Coronary Artery Surgery. E. VANDERMEERSCH, R. DEMEYERE	289
Verfahren zur Reduzierung des Fremdblutverbrauchs in der Herzchirurgie. W. DIETRICH, P. P. MITTO, E. GÖB, J. A. RICHTER	293
Reduktion des Blutverbrauches bei Operationen am Herzen mit der Herz-Lungen-Maschine durch zusätzliche Hämodilution mit kardioplegischer Lösung nach Bretschneider. N. ROHM, O. BAYINDIR, N. DOETSCH, M. BARBOU-TAS, H. R. ZERKOWSKI	303

Teil III: Versuch zur Einordnung von Ergebnissen – Diskussion

<i>Thrombozyten, Histamin, Serotonin, lysosomale Enzyme, Laktat, Kohlenhydratstoffwechsel, Elektrolyte, Spurenelemente</i>	311
<i>Postoperative Blutung, Kardioplegie, Myokardprotektion, postischämisches Ödem</i>	322
<i>Aprotinin und Nierenfunktion</i>	332
<i>Gerinnungsfaktoren, Plasmin, plasmatische Proteasen-Inhibitoren und andere Proteine</i>	336
<i>Kallikrein-Kinin-System, Komplement, Angiotensin-Converting-Enzyme</i>	345
<i>Blutgase und Lungenfunktion</i>	349
Schlußwort. R. DUDZIAK	355

Bestimmung von Aprotinin-Plasmakonzentrationen nach therapeutischer Anwendung von Trasylol

M. JOCHUM, W. MÜLLER-ESTERL

Einleitung

Die therapeutische Anwendung des Proteinaseinhibitors Aprotinin (Trasylol) in der Intensivmedizin wird bei Erkrankungen empfohlen, die durch Störung proteolytischer Regulationssysteme charakterisiert sind, wie z. B. Hyperfibrinolyse, traumatisch-hämorrhagischer Schock oder akute Pankreatitis (1). Die vorgeschlagenen Dosierungsschemata und Applikationsformen (Bolusinjektion, Dauerinfusion) sind allerdings derart heterogen, daß Versuche, die therapeutische Wirksamkeit von Aprotinin in prospektiven klinischen Studien zu belegen, weder vergleichbare noch eindeutig interpretierbare Resultate bringen. Darüber hinaus erweisen sich die *in vitro* erzielten Effekte (1, 2) als nur bedingt übertragbar auf *In-vivo*-Situationen: durch die rasche Elimination des Inhibitors aus der Zirkulation [biphasische Halbwertszeiten 0,7 und 7 h (3)] dürften effektive Hemmstoffkonzentrationen *in vivo* nicht oder nur für einen kurzen Zeitraum erreicht werden. Essentiell für die Bewertung der therapeutischen Effekte von Aprotinin ist daher die exakte Messung der im Plasma tatsächlich erzielten Inhibitor-Konzentrationen. Im folgenden beschreiben wir zwei Testverfahren, mittels derer Aprotinin rasch, präzise, spezifisch und sensitiv in biologischen Flüssigkeiten (Plasma, Sekreten, Exsudaten, Gewebsextrakten) quantifiziert werden kann. Die Anwendung dieser Tests bei der Verlaufskontrolle der durch unterschiedliche Dosierungsschemata erreichbaren Aprotinin-Plasmakonzentrationen wird anhand ausgewählter klinischer Studien demonstriert.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial: Citratplasma, Urin.

Enzymatischer Test:

Testprinzip: Säurebehandeltes, Aprotinin-haltiges Plasma wird mit einem Überschuß an Gewebskallikrein inkubiert und die verbliebene, nicht durch Aprotinin gehemmte amidolytische Enzymaktivität mit Hilfe des chromogenen Substrates H-D-Val-Leu-Arg-pNA (S-2266) photometrisch bei 405 nm gemessen. Die Zeitdauer für die Bestimmung der Aprotinin-Hemmkapazität im Plasma liegt bei 70–80 min. Alle für den Test notwendigen Substanzen sind kommerziell erhältlich, eine detaillierte Beschreibung der Methode ist in (4) veröffentlicht.

Kompetitiver Enzymimmunoassay (ELISA):

Testprinzip: Titerplatten, die mit affinitätschromatographisch gereinigten anti-Aprotinin-IgG vorbeschichtet sind, werden mit einer Mischung aus gleichen Volumina an Aprotinin-haltiger Probe (Standard, Plasma, Urin, etc.) und Aprotinin-Peroxidase-Konjugat inkubiert. Hierbei konkurrieren das Aprotinin in der Probe und das Aprotinin-Peroxidase-Konjugat um die Antikörper-Bindungsstellen. Die Indikatorreaktion erfolgt mit ABTS (2,2'-Azino-di-3-ethylbenzthiazolinsulfonsäure) und H_2O_2 als Substrat. Die bei 405 nm gemessene Enzymaktivität ist umgekehrt proportional zur applizierten Aprotininmenge. Die immunologische Bestimmung der Aprotininkonzentration im Plasma und anderen biologischen Flüssigkeiten kann innerhalb von 4 Stunden erfolgen; Semiautomatisierung des Tests gestattet einen hohen Probendurchsatz (ca. 100 Proben pro Tag). Die genaue Testdurchführung ist in (5) beschrieben.

Ergebnisse und Diskussion**1. Bewertung der Testsysteme**

Enzymatischer Test: Im Gegensatz zu den körpereigenen Plasmaproteinaseninhibitoren ist Aprotinin ein sehr potenter Sofortinhibitor für Schweine-Pankreas-kallikrein (Gewebskallikrein). Eine eventuelle Hemmung dieses Enzyms durch endogene Proteinaseinhibitoren (z. B. den α_1 -Proteinaseinhibitor) wird durch Säurefällung der Plasmaprobe vermieden; im Überstand wird ausschließlich Aprotinin als Gewebekallikrein-Hemmstoff erfaßt.

Entsprechend der linearen Eichkurve (Abb. 1) liegt die untere Nachweisgrenze bei ca. 20 KIE pro ml nicht säurebehandelten Plasmas, d. h. bei ca. 0,25 KIE pro

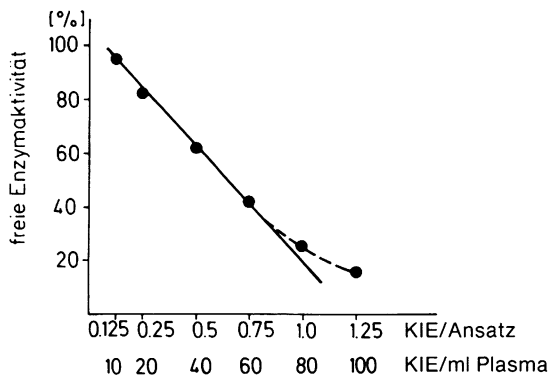


Abb. 1. Eichkurve des enzymatischen Tests (Gewebskallikrein-Hemmtest) für Aprotinin.

Bestimmungsansatz. Bei einem Aprotiningehalt von mehr als 0,75 KIE pro Ansatz sollte die Probe verdünnt werden. Da die Kallikreinaktivität aus bisher unbekanntem Gründen in Abhängigkeit von der zugesetzten Plasmamenge erheblich gesteigert wird, müssen alle Verdünnungen von Aprotinin-haltigen Proben mit Aprotinin-freiem, säurebehandeltem Normalplasma erfolgen. Hierdurch wird jeweils die gleiche Plasmamenge (25 µl) dem Testsystem zugesetzt. Verdünnen mit Puffer oder isotonischer Kochsalzlösung anstelle von Plasma führt zu falsch niedrigen Meßwerten. Für 40 KIE/ml Plasma lag die Variation innerhalb des Tests bei 8 Serien zwischen 2 und 11 %, die Variation von Test zu Test bei 4,4% (n = 8). Die Wiederfindungsrate für 20–80 KIE/ml belief sich auf 90–125%. Die säurebehandelten Proben waren bezüglich des Aprotiningehaltes für mindestens 1 Monat bei –20° C und für 6 Monate bei –70° C stabil; wiederholtes Auftauen und Einfrieren (n = 10) zeigte keinen Einfluß auf das Meßergebnis. Die Zugabe des Konservierungsmittels NaN₃ vor Säurebehandlung zerstört partiell die Hemmaktivität des Aprotinins.

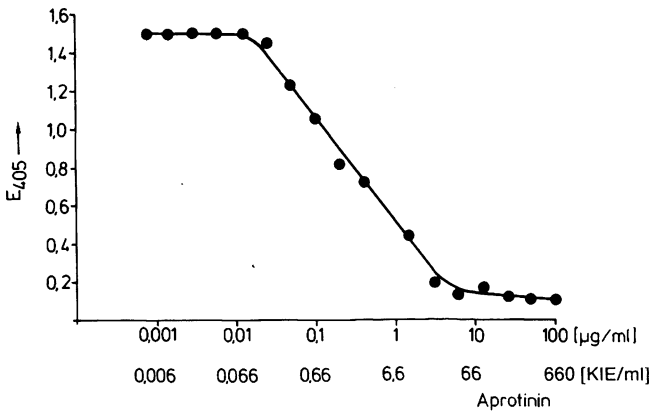


Abb. 2. Eichkurve des kompetitiven ELISA für Aprotinin.

Enzymimmunoassay: Durch die Verwendung von monospezifischem IgG als Beschichtungsmaterial ist der Test absolut spezifisch für Aprotinin. Kreuzreaktionen mit anderen Proteinen, insbesondere endogenen Proteinaseinhibitoren, wurden nicht beobachtet. Eine serielle Verdünnungsreihe des Aprotinin-Standards (0,006–660 KIE/ml) ergibt eine über einen Bereich von 0,12 bis 6,6 KIE/ml lineare Eichkurve (Abb. 2). Die untere Nachweisgrenze wurde mit 0,1 KIE/ml entsprechend 0,02 KIE/Testansatz (200 µl) ermittelt. Die Variation innerhalb einer Testserie (n = 8) betrug 5,8 %; die Variation von Test zu Test betrug 10,9 % (n = 20). Die Wiederfindungsrate lag für 3–660 KIE/ml im Bereich von 86 bis 124%. Bezüglich

der Probenstabilität wurden ähnliche Ergebnisse wie beim enzymatischen Test erzielt. Der intermethodische Vergleich des enzymatischen Tests mit dem Enzymimmunoassay zeigte eine befriedigende Korrelation ($r_{xy} = 0,78$; $n = 178$).

2. Aprotininkonzentration in Abhängigkeit von Dosierung und Applikationsform

Bagatellverletzungen: Patienten ($n = 7$) mit geringfügigen Gewebetraumen erhielten in einer i. v. Bolusinjektion über 15 min 1,5 Mill. KIE Aprotinin, entsprechend ca. 20 000 KIE pro kg Körpergewicht. Plasmaproben wurden zu den in Abb. 3 angegebenen Zeitpunkten entnommen und uns freundlicherweise von Frau Dr. HAAS (Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München) für die Aprotininbestimmung zur Verfügung gestellt. Der initialen, steilen Konzentrationsabnahme von ca. 130 KIE/ml auf 45 KIE/ml innerhalb der ersten Stunde folgte in der Zeit von 1 bis 8 Stunden eine zweite, verlangsamte Elimination des Inhibitors auf Plasmawerte unter 10 KIE/ml. Die Eliminationskurve (Abb. 3) bestätigt im wesentlichen die von KALLER et al. (3) an gesunden Probanden unter Verwendung von radioaktiv markiertem Aprotinin gemessene Pharma-

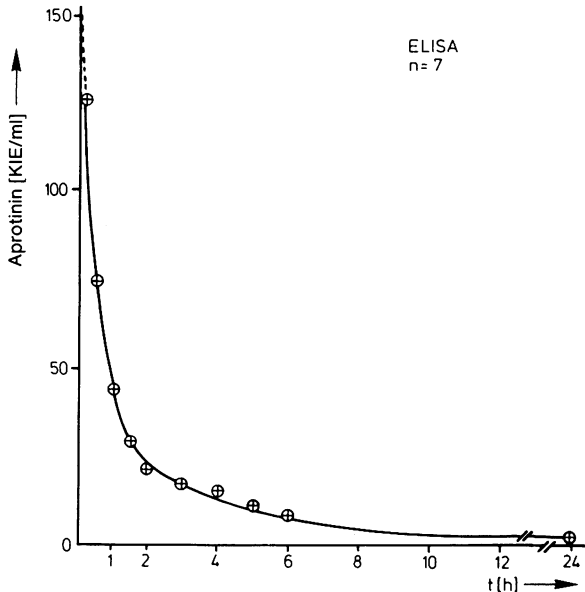


Abb. 3. Verlauf der Aprotinin-Plasmakonzentration (\bar{x}) nach einmaliger Gabe von 1,5 Mill. KIE bei Patienten ($n = 7$) mit Bagatellverletzungen.

Infusionsdauer: 15 min; Bestimmung mit kompetitivem ELISA. (Patientenproben von Dr. S. HAAS, Institut für Exper. Chirurgie, Technische Universität München).

kokinetik. Vermutlich beruht die biphasische Ausscheidung auf einer primären Verteilung des Inhibitors zwischen intra- und extravasalem Flüssigkeitskompartiment, gefolgt von einer Redistribution und Sequestrierung des Inhibitors in den tubulären Zellen der Niere (3, 6, 7).

Polytrauma: Eine vergleichbare Eliminationscharakteristik konnten wir bei mehrfachverletzten Patienten ($n = 13$) in den ersten 6 Stunden nach einer einmaligen, 30minütigen i. v. Infusion von 2 Mill. KIE Aprotinin beobachten (Abb. 4). Zusätzlich wurden diesen Patienten 6, 12, 18, 24 und 36 Stunden nach der ersten Gabe in jeweils 15minütigen Bolusinjektionen die in Abb. 4 angeführten Inhibitormengen appliziert. Die Blutentnahmen erfolgten hier stets 3 und 6 Stunden nach jeder Kurzinfusion. Die Studie wurde in Zusammenarbeit mit Dr. CLASEN (Abteilung für Anästhesie im Krankenhaus Itzehoe) durchgeführt. Aus Abb. 4 wird ersichtlich, daß sich jeweils 3 Stunden nach repetitiver Gabe von 1 Mill. KIE Aprotinin eine mittlere Plasmakonzentration von 25–30 KIE/ml eingestellt hat; weitere 3 Stunden später, d. h. direkt vor der nächsten Injektion, lagen die Werte bereits unter 15 KIE/ml. Eine Akkumulation des Inhibitors wurde unter dem angewandten Applikationsregime nicht beobachtet. Während eine Hemmung des Plasmakallikreins bei diesen Konzentrationen weitgehend ausgeschlossen werden kann, dürfte der vorhandene exogene Inhibitor nur noch einen geringen Beitrag zur endogenen Plasmininhibierung leisten (2).

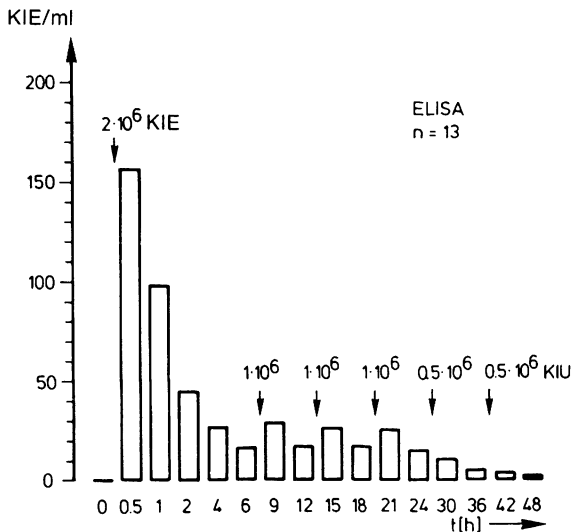


Abb. 4. Verlauf der Aprotinin-Plasmakonzentrationen \bar{x} bei polytraumatisierten Patienten ($n = 13$). Die Zeitpunkte der Inhibitorapplikation sind durch Pfeile gekennzeichnet. Infusionsdauer: Initialdosis 30 min, repetitive Gaben 15 min; Bestimmung mit kompetitivem ELISA (Patientenproben von Dr. C. CLASEN, Abt. für Anästhesie, Krankenhaus Itzehoe).

Um eine effektive Hemmstoffkonzentration über einen längeren Zeitraum möglichst konstant zu halten, wählten wir im Rahmen einer von Dr. DITTMER (Chirurgie Großhadern, München) durchgeführten klinischen Studie zum Pathomechanismus des Polytraumas (8) folgende Dosierung (2, 4): Nach einer initialen Gabe von 1,5 Mill. KIE innerhalb von 30 min wurden 1 Mill. KIE pro Stunde über einen Zeitraum von 6 Stunden und 250 000 KIE pro Stunde über weitere 30 Stunden kontinuierlich infundiert. Die daraus resultierende Inhibitorkapazität von Aprotinin im Plasma folgte weitgehend dem Applikationsschema (Abb. 5). Demnach erzeugt die kontinuierliche Infusion von 250 000 KIE pro Stunde einen mittleren Plasmaspiegel von ca. 50 KIE/ml, entsprechend einer molaren Konzentration von etwa 1 $\mu\text{mol/l}$. Sie liegt damit größenordnungsmäßig im Bereich der Konzentration des körpereigenen α_2 -Plasmininhibitors (ca. 0,9 $\mu\text{mol/l}$). Verglichen mit ähnlich schwerverletzten Patienten ohne Aprotininmedikation bewirkte die Therapie mit dem exogenen Inhibitor eine signifikante Abnahme der Fibrin(ogen)spaltprodukte D und E im Plasma. Dies kann als positive Beeinflussung der systemischen »Fibrinolyse« (Plasminolyse) gewertet werden und läßt darauf schließen, daß offensichtlich in der Initialphase nach Polytrauma durch den vermehrten Verbrauch

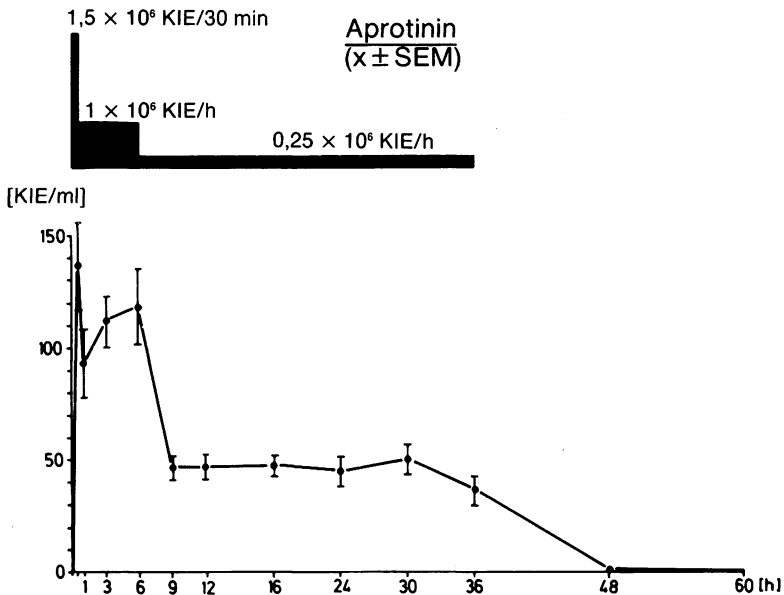


Abb. 5. Verlauf der Aprotinin-Plasmakonzentrationen ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) bei polytraumatisierten Patienten ($n = 8$).

Das Inhibitorapplikationsschema ist als Blockdiagramm eingezeichnet; Bestimmung mit Gewebskalitrein-Hemmtest (Patientenproben von Dr. H. DITTMER, Chirurgie Großhadern, München).

des α_2 -Plasmininhibitors eine ausreichende systemische Antiplasminwirkung nicht mehr gegeben ist. Die In-vivo-Wirksamkeit des durch geeignete Dauerinfusion erzielten Aprotininspiegels von ca. 1 $\mu\text{mol/l}$ hinsichtlich des Kallikreinsystems und anderer Proteinase ist ausführlich in (2) dargestellt.

Hysterektomie: Bei Patientinnen, die sich einer Hysterektomie unterziehen mußten, wurden erstmals nach prophylaktischer Proteinaseinhibitorgabe der intra- und postoperative Verlauf der Aprotinin-Konzentration bestimmt und zur fibrinolytischen Kapazität in Beziehung gesetzt. Die Plasmaproben stellte uns freundlicherweise Dr. HARKE (Abteilung für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Kiel) zur Verfügung, unter dessen Leitung auch die immunologischen Plasminogenbestimmungen erfolgten. Der Studie lag folgendes Dosierungsschema zugrunde: Unmittelbar nach Einleitung der Narkose wurde einem Patientenkollektiv (Gruppe I; n = 10) 2 Mill. KIE Aprotinin in 10 min appliziert, ein weiteres erhielt über die nächsten 60 min zusätzlich 1,5 Mill. KIE kontinuierlich infundiert (Gruppe II; n = 10). Eine Gruppe 0 (n = 10) ohne Aprotinin-Infusion diente als Kontrolle; die Zuweisung der Patientinnen zu den einzelnen Gruppen erfolgte nach einer Zufallsverteilung. Nach Abnahme der präoperativen Blutproben wurden aus logistischen Gründen die nächsten Plasmen in beiden Therapiegruppen erst etwa 70 min nach Beginn der Bolusinjektion entnommen, d. h. 60 min nach Aprotinigungabe in Gruppe I und unmittelbar nach Beendigung der Dauerinfusion in Gruppe II (Abb. 6). Die entsprechenden Aprotininkonzentrationen lagen zu diesem Zeitpunkt im Mittel bei 60 KIE/ml (Gruppe I) bzw. bei 200 KIE/ml (Gruppe II). Im weiteren Verlauf wurde auch hier die bekannte biphasische Eliminierung des Inhibitors aus dem Plasmakompartiment beobachtet. Die im 24-Stunden-Urin (ca. 2 l) bestimmte Aprotininmenge betrug in beiden Therapiegruppen etwa 5–6% der insgesamt applizierten Dosis. Demgegenüber fanden KALLER et al. (3) bei gesunden Probanden nach einer Bolusinjektion von 500 000 KIE Aprotinin ca. 10–15% der applizierten Inhibitormenge im 24-h-Urin.

Als Ausdruck einer mäßig erhöhten fibrinolytischen Aktivität sank die Plasminogenkonzentration in der Kontrollgruppe (0) während des operativen Eingriffs um ca. 15% gegenüber dem Normalwert ab. Dagegen wurden bei den Aprotinin-behandelten Gruppen keine signifikanten Veränderungen der Plasminogenkonzentration gefunden. Nach einer Initialdosis von 2 Mill. KIE Aprotinin (Gruppe II) verblieben die entsprechenden Meßwerte praktisch im Ausgangsbereich; nach Gabe einer Gesamtaprotininmenge von 3,5 Mill. KIE (Gruppe II) wurde sogar eine Erhöhung der Plasminogenkonzentration um 10% gefunden, die auf einen verminderten Plasminogenumsatz hinweist. Diese Befunde stehen im Einklang mit der intra- und postoperativ ermittelten Aprotininkonzentration im Plasma der therapierten Patientinnen (Abb. 6).

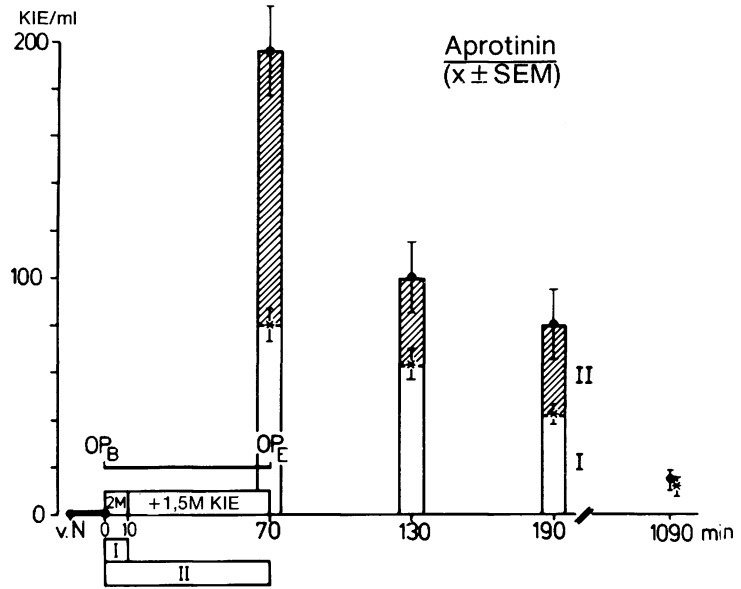


Abb. 6. Verlauf der Aprotinin-Plasmakonzentrationen ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) bei Patientinnen nach Hysterektomie (n = 10 pro Gruppe). Infusionsdauer:

Gruppe I 2 Mill./15 min.

Gruppe II 2 Mill./15 min. + 1,5 Mill./60 min.

Bestimmung mit Gewebekallikrein-Hemmtest.

v. N. = vor Narkose; OP_B = Operationsbeginn; OP_E = Operationseende. (Patientenproben von Dr. H. HARKE, Abt. für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Kiel).

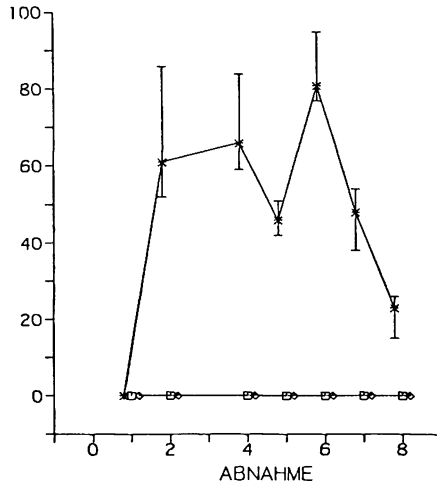


Abb. 7. Verlauf der Aprotinin-Plasmakonzentrationen (Mediane, untere und obere Quartile) bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation (n = 17).

Inhibitor-Dosierung, Infusionsdauer und Blutabnahmezeiten sind in Tab. 1 wiedergegeben; Bestimmung mit Gewebekallikrein-Hemmtest (Patientenproben von Prof. Dr. S. POPOV-CENIĆ, Institut für Exper. Hämatologie und Bluttransfusionswesen, Bonn).

Extrakorporale Zirkulation: Im Rahmen einer von Prof. KIRCHHOFF (Herz- und Gefäßchirurgie der Universitätsklinik Bonn) und Frau Prof. POPOV-CENIĆ (Institut für Experimentelle Hämatologie und Bluttransfusionswesen, Bonn) durchgeführten prospektiven, randomisierten Studie zum Blutverlust bei extrakorporaler Zirkulation wurde u. a. auch der therapeutische Effekt von Aprotinin untersucht [siehe (9)]. Inhibitorapplikation und Blutentnahmen erfolgten zu den in Tab. 1 angegebenen Zeiten. In Abb. 7 ist der entsprechende Plasma-Aprotininspiegel dargestellt. 30 min nach Ende der initialen Dosis von 1,5 Mill. KIE konnte eine mittlere Hemmstoffkonzentration von 60–70 KIE/ml nachgewiesen werden. Durch die Gabe von 0,5 Mill. KIE in die Herz-Lungen-Maschine ließ sich dieser Inhibitorspiegel noch eine gewisse Zeit aufrechterhalten; unmittelbar vor Ende des Bypasses sank die Aprotininkonzentration jedoch bereits auf etwa 40 KIE/ml ab. Eine er-

Tab. 1. Schematische Darstellung der Zeiten für Blutabnahme und Applikation von Aprotinin bei Patienten mit extrakorporaler Zirkulation [nach POPOV-CENIĆ et al. (9)].
OP = Operation.

Blutabnahmen		Medikation
0) 1–2 Tage vor OP		
1) Vor Narkose	←	→ Applikation in 30 min: Aprotinin 1,5 Mio KIE
2) 30 min nach Applikationsende	←	
3) Unmittelbar vor partiellem Bypass	←	→ Gabe in Maschine Aprotinin 0,5 Mio KIE
	0 10	
4) 15 min nach Beginn des Bypass	←	
	20 30	
5) Unmittelbar vor Ende des Bypass	←	→ Protaminchlorid Applikation in 30 min Aprotinin 1,0 Mio KIE
6) 30 min nach Protaminchlorid	←	
7) 1 Std. nach Abn. 6	←	→ Danach 6stündlich: Aprotinin 0,5 Mio KIE und 8stündlich: Aprotinin 0,5 Mio KIE
8) 2 Tage nach OP	←	
9) 3 Tage nach OP	←	

neute 30minütige Infusion von 1 Mill. KIE führte zu einem Wiederanstieg der Aprotininkonzentration auf ca. 80 KIE/ml. Die nachfolgenden repetitiven Inhibitorgaben (Tab. 1) von je 0,5 Mill. KIE senkten die Aprotininkonzentration langsam auf letztlich ca. 20 KIE/ml am 2. postoperativen Tag ab. Im Vergleich zu einer Placebogruppe wurden Blutverlust und Transfusionsbedarf durch die prophylaktische Behandlung mit Aprotinin wesentlich vermindert [ausführliche Darstellung in (9).]

Resümee

Die beiden hier vorgestellten Bestimmungsmethoden für Aprotinin sind geeignet, die Hemmaktivität bzw. Konzentration des Inhibitors im Plasma und anderen Körperflüssigkeiten schnell, sensitiv und präzise zu erfassen — bei geringer Probenzahl als »bedside monitoring« mit dem enzymatischen Test oder bei großer Probenzahl durch Messungen mit dem ELISA. Die detaillierte Kenntnis der erreichten Aprotininkonzentrationen sollte es in Zukunft ermöglichen, die Inhibitortherapie exakt einzustellen und besser als bisher den unterschiedlichen pathologischen Gegebenheiten der einzelnen Krankheitsbilder anzupassen.

Danksagung

Für die Unterstützung bei der Ausarbeitung der Nachweismethoden für Aprotinin und der Durchführung klinischer Studien danken wir Prof. H. FRITZ, München und Dr. F. SCHUMANN, Bayer AG, Wuppertal/Elberfeld.

Für die freundliche Überlassung von Patientenproben danken wir Drs. C. CLASEN, H. DITTMER, S. HAAS, H. HARKE und S. POPOV-CENIĆ. FRAU C. SEIDL und Frau A. OETTL sei für ihre zuverlässige technische Assistenz gedankt.

Literatur

- (1) FRITZ, H., G. WUNDERER: Biochemistry and applications of aprotinin, the kallikrein inhibitor from bovine organs. *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 33 (I) 4: 479–494 (1983).
- (2) FRITZ, H.: Die Zielenzyme des Aprotinins in vitro und in vivo. Diese Ausgabe, S. 143.
- (3) KALLER, H., K. PATZSCHKE, L. A. WEGNER, F. A. HORSTER: Pharmacokinetic observations following intravenous administration of radioactive labelled aprotinin in volunteers. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.* 2: 79–85 (1978).
- (4) JOCHUM, M., V. JONÁKOVÁ, H. DITTMER, H. FRITZ: An enzymatic assay convenient for the control of aprotinin levels during proteinase inhibitor therapy. *Fresenius Z. anal. Chem.* 317: 718–719 (1984).
- (5) MÜLLER-ESTERL, W., A. OETTL, E. TRUSCHEIT, H. FRITZ: Monitoring of aprotinin plasma levels by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Fresenius Z. anal. Chem.* 317: 717–718 (1984).
- (6) FRITZ, H., K.-H. OPPITZ, D. MECKL, B. KEMKES, H. HAENDLE, H. SCHULT, E. WERLE: Verteilung und Ausscheidung von natürlich vorkommenden und chemisch modifizierten Proteaseinhibitoren

nach intravenöser Injektion bei Ratte, Hund (und Mensch). Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 350: 1541—1550 (1969).

- (7) HABERMANN, E., D. ARNDTS, M. JUST, K.-O. RÖKER, P. TÖRÖK: Das Verhalten des Trasylol im Organismus als Modell für die Pharmakokinetik basischer Polypeptide. Med. Welt 24: 1163—1167 (1973).
- (8) DITTMER, H.: Der polytraumatisierte Patient — eine Analyse klinischer und biochemischer Parameter. Habilitationsschrift an der Medizinischen Fakultät München 1985.
- (9) POPOV-CENIĆ, S. et al.: Anlage und zusammenfassendes Ergebnis einer klinischen Doppelblindstudie bei aorto-koronaren Bypass-Operationen. Diese Ausgabe, S. 171.