

# **Totale antioxidative Kapazität bei am Herzen operierten Kindern**

Von der Medizinischen Fakultät  
der Rheinisch–Westfälischen Technischen Hochschule Aachen  
zur Erlangung des akademischen Grades  
eines Doktors der Medizin  
genehmigte Dissertation

vorgelegt von  
Magdalena Sokalska  
aus  
Wroclaw (Polen)

Berichter: Frau Professorin  
Dr.med. Marie-Christine Seghaye

Herr Universitätsprofessor  
Dr.med. Götz von Bernuth

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Juli 2003

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der  
Hochschulbibliothek online verfügbar.



# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 EKK-induzierte entzündliche Reaktion.....	1
1.2 Ischämie/Reperfusion–Schaden und oxidativer Stress.....	2
1.3 Sauerstoffradikale und oxidativer Stress .....	5
1.3.1 Typen von Sauerstoffradikalen .....	5
1.3.2 Kontrollmechanismen .....	6
1.3.2.1 $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) als nicht enzymatisches Antioxidant .....	7
1.3.3 Pathophysiologie der Sauerstoffradikale.....	8
1.3.3.1 Interaktionen zwischen Sauerstoffradikalen und Biomolekülen .....	8
1.3.3.2 Entzündungsinduktion durch Sauerstoffradikale.....	9
1.3.3.3 Interaktionen zwischen den Sauerstoffradikalen und Calcium, Komplementproteinen bzw. Neutrophilen.....	10
1.3.3.4 Myocardial stunning .....	11
1.3.4 Angeborene Herzfehler und erhöhtes Potential für den oxidativen Stress .....	12
1.3.5 Therapie und Prävention des durch Sauerstoffradikale bedingten Schadens..	13
1.4 Zielsetzung.....	16
<b>2 PATIENTEN UND METHODIK.....</b>	<b>17</b>
2.1 Patienten .....	17
2.2 Anästhesie und EKK-Protokoll .....	18
2.2.1 Anästhesie .....	18
2.2.2 EKK-Protokoll .....	19
2.3 Postoperative Überwachung und Untersuchung der Patienten.....	20
2.4 Probenentnahme .....	20
2.5 Laboranalysen.....	21
2.5.1 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) .....	21
2.5.2 $\alpha$ -Tocopherol .....	22
2.5.3 Triglyceride .....	23
2.6 Statistik .....	24
<b>3 ERGEBNISSE.....</b>	<b>25</b>
3.1 Klinische Ergebnisse .....	25

## II

3.2 Laborchemische Ergebnisse .....	27
3.2.1 Trolox Equivalents Antioxidant Capacity (TEAC).....	27
3.2.2 $\alpha$ -Tocopherol .....	29
3.2.3 Triglyceride .....	29
3.3 TEAC und klinische Ergebnisse.....	31
<b>4 DISKUSSION.....</b>	<b>34</b>
<b>5 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>41</b>
<b>6 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>44</b>
<b>7 DANKSAGUNG.....</b>	<b>53</b>
<b>8 LEBENSLAUF .....</b>	<b>54</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AoAB	Aortenabklemmzeit
ASD	Atrialer Septumdefekt
AV-Kanal	Atrio-Ventrikulärer Kanal
ATP	Adenosintriphosphat
C5	Komplementanaphylatoxin C5
Ca	Calcium
CD 11/CD18	Komplementrezeptor CR3
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKK	Extrakorporaler Kreislauf
ELAM	Endothelial leukocyte adhesion molecule
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FiO <sub>2</sub>	inspirierte O <sub>2</sub> -Fraktion
GOT	Glutamat-Oxaloazetat-Transaminase
HLM	Herz-Lungen-Maschine
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HPLC	High performance liquid chromatography
ICAM	Intercellular adhesion molecule
IκBα	Inhibitory kappa B alpha
KOF	Körperoberfläche
KSS	Kreislaufstillstand
MOV	Multiorganversagen
NF-κB	Nuclear factor-kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
NPN	Natriumnitroprussid

#### IV

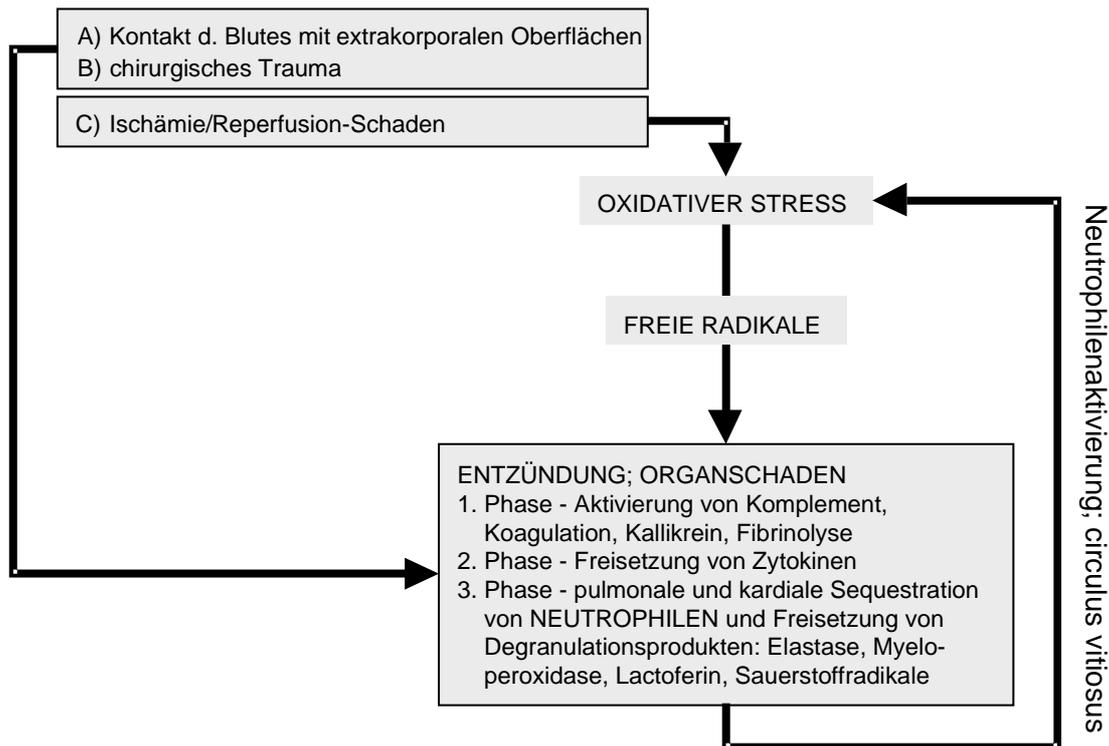
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>2</sub> ·	Superoxid-Radikal
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PECAM	Platelet-endothelial cell adhesion molecule
ROO·	R-Dioxy-Radikal
ROOH	R-Hydroperoxyd
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor - α
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VSD	Ventrikelseptumdefekt

# 1 Einleitung

In der Kinderherzchirurgie sind in der Regel ein extrakorporaler Kreislauf (EKK) und das Stilllegen des Herzens zur Durchführung von Herzoperationen unvermeidbar und werden routinemäßig durchgeführt. Der EKK stellt mit seinen Extrembedingungen einen unphysiologischen Zustand des Organismus dar, der eine Reihe von Veränderungen in allen Organen verursachen kann. Eine der wichtigsten Folgen, entscheidend für den postoperativen Verlauf, ist die systemische Entzündung und die darauf folgende Organdysfunktion. Der während Herzoperationen ebenfalls unvermeidliche Ischämie/Reperfusion-Schaden ist an der Entstehung bzw. Unterhaltung der systemischen entzündlichen Reaktion mitbeteiligt.

## 1.1 EKK-induzierte entzündliche Reaktion

Der EKK induziert eine systemische entzündliche Reaktion, die zu einer Organdysfunktion führen kann [11]. Die Auslöser dafür sind: der Kontakt zwischen Blut und den fremden Oberflächen, das chirurgische Trauma und der Ischämie/Reperfusion-Schaden (Abbildung 1). Die systemische entzündliche Reaktion ist durch eine Komplementaktivierung, eine Leukozytenstimulierung mit der Freisetzung von Degranulationsprodukten und schließlich durch die Synthese von Zytokinen gekennzeichnet. Bestimmte postoperative Komplikationen, wie das *capillary leak*-Syndrom und das Multiorganversagen, sind von dem Ausmaß der systemischen entzündlichen Reaktion abhängig [63].



**Abbildung 1:** Die EKK-induzierte entzündliche Reaktion wird durch den Ischämie-Reperfusion-Schaden verstärkt.

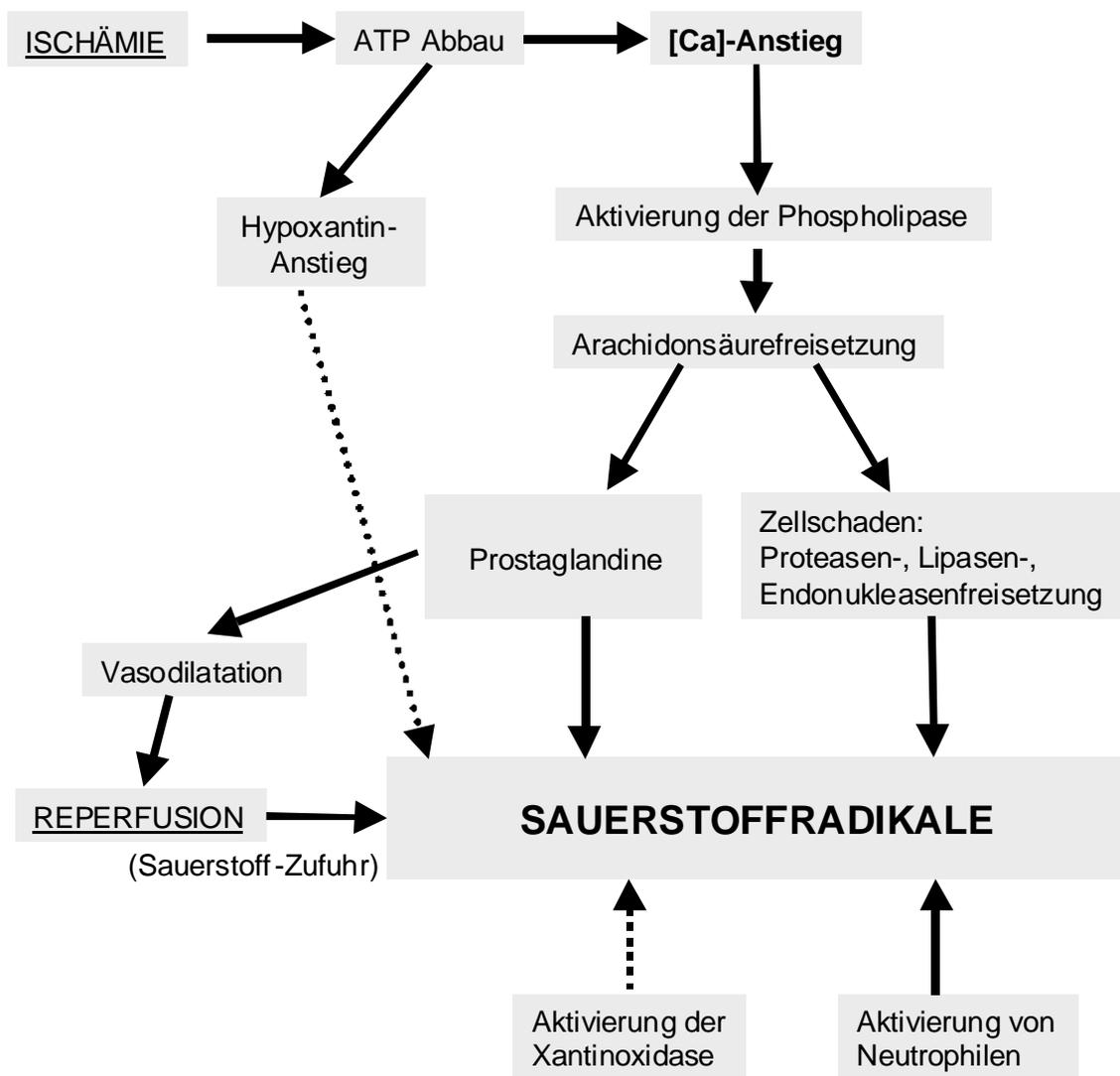
## 1.2 Ischämie/Reperfusion–Schaden und oxidativer Stress

Der oxidative Stress ist durch die Freisetzung von Sauerstoffradikalen charakterisiert. Er spielt eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von entzündlichen Komplikationen und Organschäden nach dem EKK [65]. Abbildung 1 und Abbildung 2 zeigen die zwei wichtigsten Mechanismen, die zum oxidativen Stress führen: der Ischämie/Reperfusion-Schaden und die Neutrophilenaktivierung.

Der Beitrag von aktivierten Neutrophilen zum oxidativen Stress ist bedeutsam [77, 56, 25, 72], da Neutrophile Sauerstoffradikale freisetzen [31]. Zusätzlich tragen Neutrophilenaggregate in reperfundierten Geweben durch die Obstruktion der Gefäße und durch die Freisetzung von Thromboxanen und Leukotrienen zur Ischämie bei.

Daher bewirkt die Neutrophilenaktivierung im Hinblick auf den oxidativen Stress einen *circulus vitiosus* (Abbildung 1).

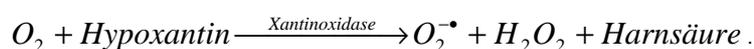
Abbildung 2 zeigt die pathophysiologischen Mechanismen, die zum Ischämie/Reperfusion-Schaden und zur daraus folgenden Freisetzung von Sauerstoffradikalen führen [34, 75].



**Abbildung 2:** Die Entstehung der Sauerstoffradikale

Der Ischämie/Reperfusion-Schaden soll als pathophysiologische Einheit verstanden werden. Die durch Ischämie hervorgerufenen Änderungen der Zellphysiologie geschehen vor allem im Endothel [35]. Eine durch die Hypoxie bedingte Abnahme der

oxidativen Phosphorylation führt zur ATP-Konzentrationssenkung und schließlich zu einem [Ca]-Konzentrationsanstieg aufgrund der Störung der ATP-abhängigen Na/K Pumpe, die die Sequestration der [Ca]-Ionen im sarkoplasmatischen Retikulum fördert. Die Ca-Überladung der Zelle ist der Hauptmechanismus des Ischämie/Reperfusion-Schadens [34, 53]. [Ca]-Ionen aktivieren in der Zelle das Enzym Phospholipase, wodurch die Arachidonsäurekaskade in Gang gesetzt wird [24]. Die freigesetzte Arachidonsäure aktiviert Proteasen, Lipasen und Endonukleasen, die wiederum zur Schädigung der Zellen führen. Die gleichzeitig aktivierten Prostaglandine PGE und PGF, hauptsächlich PGE<sub>2</sub> haben einen direkten Einfluss auf die Freisetzung von Sauerstoffradikalen. Zusätzlich erhöhen sie durch die Vasodilatation, die sie verursachen, die Sauerstoffzufuhr in das Gewebe. Sauerstoff dient als Substrat für die Entstehung von Sauerstoffradikalen. Die so entstandenen freien Sauerstoffradikale aktivieren wiederum die Arachidonsäurekaskade und tragen zum *circulus vitiosus* bei. Neben den während der Ischämie freigesetzten vasodilatatorischen Prostaglandinen werden auch bei einer länger dauernden Ischämie vasokonstriktive Mediatoren, wie Thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) und Leukotriene (LT), freigesetzt. Die dadurch hervorgerufene Vasokonstriktion kann den Ischämiegrad verstärken und zur exponentiell wachsenden, irreversiblen Schädigung der Zellen führen. Während der Ischämie, wahrscheinlich auch unter dem Einfluss von zunehmenden [Ca]-Konzentration, wird die Aktivität des Enzyms Xantinoxidase erhöht [50]. Im Gegensatz zur unter physiologischen Bedingungen gebildeten Xantindehydrogenase ist die Xantinoxidase ein radikalgenerierendes Enzym. Ihre Substrate sind das Hypoxantin [56, 34] und der während der Reperfusion zugeführte Sauerstoff. Hypoxantin gehört zu den Purinen und entsteht während der Ischämie durch ATP-Abbau, wie folgend dargestellt:



Zusammengefasst bereitet die Ischämie das Substrat für eine Radikalenstehung durch eine entsprechende Enzymaktivierung und ein Substratangebot vor, während die Reperfusion die Radikalenstehung durch Sauerstoffzufuhr fördert. Sauerstoffradikale entstehen nicht nur in Endothelzellen, sondern auch in Neuronen, Microgliazellen, aktivierten Neutrophilen und Parenchymzellen. Als Folge können alle Organe geschädigt werden.

### 1.3 Sauerstoffradikale und oxidativer Stress

#### 1.3.1 Typen von Sauerstoffradikalen

Sauerstoffradikale sind als inflammatorische Mediatoren zu betrachten. Die relevantesten sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

SPEZIES	NAME	BEMERKUNGEN
$O_2^{\bullet -}$	Superoxid-Radikal	bei Auto-oxidationsreaktionen gebildet
$HO_2^{\bullet}$	Perhydroxyl	protonierte Form von $O_2^{\bullet -}$
$H_2O_2$	Wasserstoffperoxid	häufig enzymatisch gebildet
$HO^{\bullet}$	Hydroxyl-Radikal	Entstehung durch Metallkatalysierung
$RO^{\bullet}$	R-Oxyl-Radikal	organisches Radikal bei Lipidoxidation
$ROO^{\bullet}$	R-Dioxyl-Radikal	organisches Radikal bei Lipidoxidation
$ROOH$	R-Hydroperoxyd	protonierte Form von Dioxylradikalen

**Tabelle 1:** Biologisch reaktive Sauerstoffspezies [49]

Die Sauerstoffradikale sind aufgrund der ungepaarten Elektronen auf dem äußeren Orbiter aktiv [7]. Das Hydroxyl-Radikal ist eines der aggressivsten Sauerstoffradikale [34] und entsteht in der Regel aus anderen Typen von Sauerstoffradikalen durch

Metallkatalysierung in sogenannten Fenton- und Haber-Weiss-Reaktionen [23]. Es gibt eine große Reihe von organischen Sauerstoffradikalen, die in Sekundärreaktionen entstehen.

### **1.3.2 Kontrollmechanismen**

Der Organismus verfügt über eine Reihe von Substanzen, sogenannte Antioxidanten, die den oxidativen Schaden zumindest teilweise verhindern oder beseitigen [49, 67, 33, 52]. Die zugrundeliegenden Mechanismen können intrazellulär, an der Zellmembran oder extrazellulär stattfinden. Sie können dann enzymatisch oder nicht enzymatisch erfolgen. Die Schutzmechanismen wirken dabei in drei Stufen. Die erste Stufe ist die Verhinderung der Bildung von Sauerstoffradikalen, die zweite bekämpft ihre Wirkung und die dritte erfolgt durch die Wiederherstellung der normalen Struktur der geschädigten Moleküle bzw. Zellen. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht über allgemein anerkannte Schutzmechanismen.

Zu den extrazellulären plasmatischen Schutzsystemen gehören Glukose, Fruktose und metallbindende Proteine wie Transferrin und Ceruloplasmin. Transferrin und Ceruloplasmin spielen eine wichtige Rolle, da vor allem die Bildung des Hydroxyl-Radikals von Metallreaktionen abhängig ist.

MECHANISMUS	VERBINDUNG	BEMERKUNGEN
enzymatisch	Superoxyddismutase	intrazelluläre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Bildung
	Glutathionperoxidase	intrazellulärer Abbau von Peroxiden
	Katalase	intrazellulärer Abbau von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
nicht enzymatisch	α-Tocopherol (Vit.E)	Unterbrechung der Radikalketten, Wirkung an der Zellmembran
	β -Carotin	Unterbrechung der Radikalketten, Reaktion mit reaktiven O <sub>2</sub>
	Ascorbat (Vit.C)	Kofaktor für α-Tocopherol
	Glutathion	zahlreiche antioxidative Mechanismen
	Harnsäure	Radikalfänger
Hilfsmechanismen	Konjugationsenzyme	Glutathiontransferase; Glucuronyltransferase
	Glutathionregeneration	Glutathionreduktase

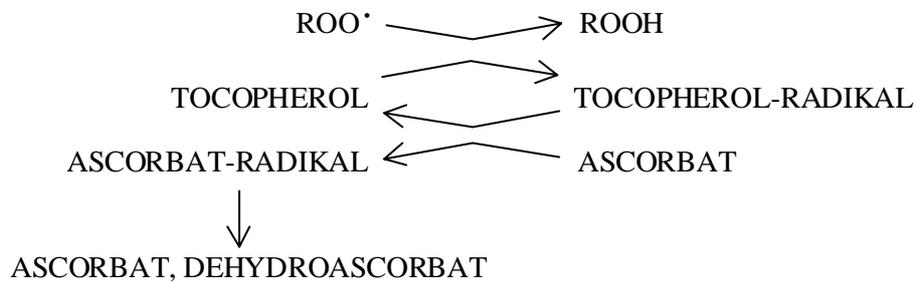
**Tabelle 2:** Bekämpfungsmechanismen bei oxidativem Stress [49]

### 1.3.2.1 α-Tocopherol (Vitamin E) als nicht enzymatisches Antioxidant

Das an der Zellmembran wirkende Lipidphaseantioxidant Tocopherol inhibiert die Bildung von Lipidradikalen und ist eines der wichtigsten endogenen, nicht enzymatischen Antioxidanten. Ascorbat (Vitamin C) dient als Kofaktor in den mit α-Tocopherol gebildeten Reaktionen.

Das α-Tocopherol unterbricht die Lipidperoxidationskette (Abbildung 3). Dabei werden die Peroxylradikalen in Lipidperoxyde umgewandelt, wobei das Tocopherol-Radikal

entsteht. Das Tocopherol-Radikal wird mit Hilfe des Ascorbats zum Tocopherol reoxidiert. Zwei Ascorbat-Radikale dismutieren zu Ascorbat und Dehydroascorbat.



**Abbildung 3:** Wirkungsmechanismus von  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) [49].  $\text{ROO}^\bullet$ : R-Dioxyradikal;  $\text{ROOH}$ : R-Hydroperoxyd

Trolox ist ein synthetisches wasserlösliches Derivat des  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E). Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)-Assay dient der Beurteilung der totalen antioxidativen Kapazität des Plasmas.

### 1.3.3 Pathophysiologie der Sauerstoffradikale

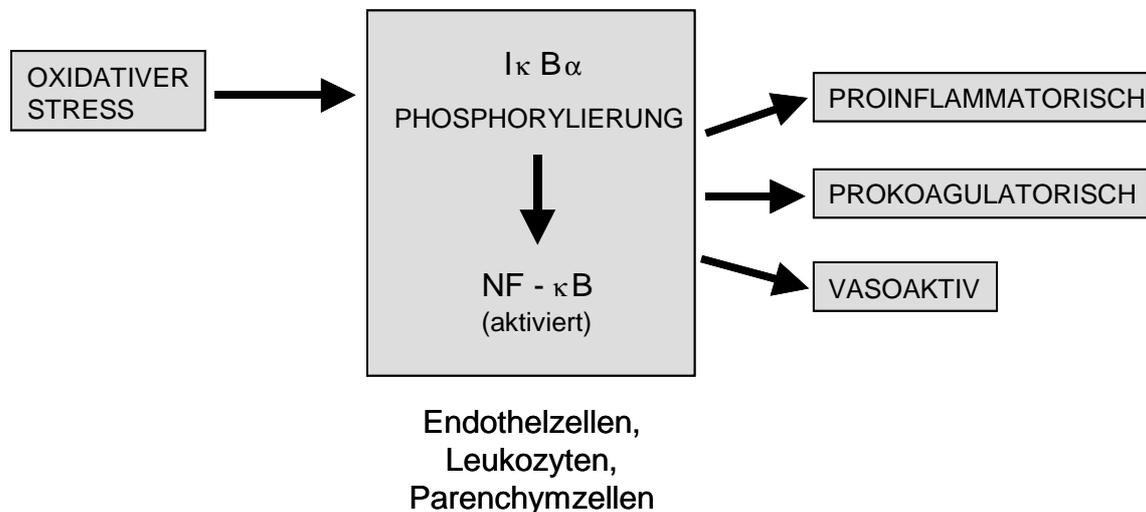
#### 1.3.3.1 Interaktionen zwischen Sauerstoffradikalen und Biomolekülen

Die sehr reaktiven Sauerstoffradikale können fast alle Biomoleküle oxidativ verändern und damit funktionell beeinträchtigen. In der DNA werden entweder Desoxyribose oder Basen modifiziert. Die Modifikation der Desoxyribose führt zu Strangbrüchen. Die Veränderung der Basen verursacht Fehlpaarungen. Solche Modifikationen können mutagen sein. In Proteinen sind vor allem Methionin, Histidin, Tryptophan und Thiolgruppen von Cystein empfindlich gegenüber reaktiven Radikalen, was Veränderungen ihrer biologischen Aktivität verursachen kann. Dies spielt eine beachtliche Rolle bei Enzymproteinen. Kohlenhydrate können auch oxidativ verändert

werden. Da dabei primär die Hyaluronsäure und Proteoglykane geschädigt werden, droht eine Strukturdepolymerisierung. Bei Lipiden, insbesondere Membranlipiden, werden durch Radikale hauptsächlich mehrfach ungesättigte Fettsäuren geschädigt. Es kommt zu einer Reaktionskette, die quasi autokatalytisch verläuft und immer mehr Lipidperoxide entstehen lässt. Derartige Modifikationen führen zu Veränderungen der Eigenschaften der Lipide und dadurch auch zur Veränderungen der Zellfunktion [49, 66, 17, 74].

### 1.3.3.2 Entzündungsinduktion durch Sauerstoffradikale

Sauerstoffradikale sind entzündungsinduzierend (Abbildung 1). Sie wirken durch die Aktivierung der Endothelzellen, Leukozyten sowie auch Parenchymzellen (Abbildung 4). [10, 48, 27]



**Abbildung 4:** Aktivierung der Zellen durch Sauerstoffradikale: Entzündungsinduktion

Sauerstoffradikale wirken als Signal für die Phosphorylierung der Tyrosingruppe und die Proteolyse des regulatorischen *Inhibitory kappa B alpha* ( $I\kappa B\alpha$ )-Proteins. Der dadurch in der Zelle aktivierte Transkriptionsfaktor *Nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa B$ ) reguliert die Synthese von verschiedenen Mediatoren, die proinflammatorische,

vasoaktive und prokoagulatorische Eigenschaften haben [18, 59]. Die Entzündung verstärkt den oxidativen Stress durch einen *circulus vitiosus*. Als Folge von Ischämie, Radikalenbildung und schließlich Entzündung erleidet das Endothel Schaden, indem es die Stickstoff (NO)-Produktion senkt, wodurch dilatierende Eigenschaften verloren gehen. Indem das Endothel seine vasodilatierende Eigenschaften verliert, verstärkt es die Ischämie. Freie Sauerstoffradikale bewirken im aktivierten Endothel eine Expression von verschiedenen Adhäsionsmolekülen (ICAM, PECAM, VCAM, ELAM), die die Interaktionen zwischen Endothelzellen und Blutzellen verstärken [78, 73, 29, 30]. Neutrophile haften an den Adhäsionsmolekülen des Endothels und werden dadurch aktiviert. Aktivierte Neutrophile setzen Sauerstoffradikale frei und verstärken dadurch den Ischämie/Reperfusion-Schaden und unterhalten somit den *circulus vitiosus* [1, 28,-46]. Manche Forschungsgruppen weisen auf eine Rolle der Reperfusion hin, die in ischämischen Arealen eine Kaskade von Zytokinen, wie z.B. Interleukin-1 und Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$  [28, 12, 13, 44, 10], verursacht und dadurch zur Interleukin-6-Produktion führt. Interleukin-6 induziert z.B. die Expression von ICAM im Myokardendothel und von CD 11 /CD 18 auf der Oberfläche von Neutrophilen [26].

### **1.3.3.3 Interaktionen zwischen den Sauerstoffradikalen und Calcium, Komplementproteinen bzw. Neutrophilen**

Interaktionen zwischen den Sauerstoffradikalen und Calcium: Eine erhöhte Konzentration von Calcium während der Ischämie verursacht einen Anstieg der Konzentration von Sauerstoffradikalen durch die Aktivierung der Arachidonsäurekaskade und die Konversion von Xantindehydrogenase in Xantinoxidase [73]. Andererseits steigern die freien Radikale die Calcium-Konzentration, indem die Na/Ca-Pumpe stimuliert wird und dadurch Calcium aus dem

sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt wird. Die Calcium-Überladung und freie Radikale wirken inotrop negativ, da sie den kontraktile Mechanismus der Myokardzellen zerstören.

Interaktionen zwischen den Sauerstoffradikalen und Komplementproteinen: Das Komplementsystem hat einen Einfluss auf die Entstehung von Radikalen [43]. Die Radikale aktivieren ihrerseits das Komplementsystem entweder direkt durch Aktivierung von C5 oder indirekt durch den Zellzerfall. Die nekrotischen Zellen setzen in der Tat Membranfragmente frei, die das Komplementsystem über den klassischen und alternativen Weg aktivieren [28].

Interaktionen zwischen den Sauerstoffradikalen und Neutrophilen: Die Neutrophilen produzieren Sauerstoffradikale, die wiederum Neutrophile aktivieren. Die Radikalenwirkung auf die Neutrophilen erfolgt durch Verstärkung der Neutrophilenadhärenz mit dem Endothel und durch chemotaktische Eigenschaften der Radikale. Zusätzlich reagieren die Radikale mit extrazellulären Präkursoren und setzen dadurch die neutrophilaktivierenden Faktoren im Serum frei.

Kawahito [43] und Schwartz [62] beschreiben die Neutrophilenaktivierung, die direkt durch den EKK in Gang gesetzt wird, als *initial priming*. Diese Aktivierung und auch die von de novo nach dem EKK rekrutierten Neutrophilen werden durch freigesetzte Komplementfaktoren, Zytokinen und Radikale aufrechterhalten und machen sie für eine amplifizierte Antwort der Gewebe zu sekundären inflammatorischen Stimuli (*Two-Hit-Phenomenon*) verantwortlich [43, 19, 28].

#### **1.3.3.4 Myocardial stunning**

Das Myokard ist während einer Herzoperation naturgemäß ein Ort des Ischämie/Reperfusion-Schadens. Als Folge des oxidativen Stresses im Myokard treten

das *myocardial stunning*, sowie die sogenannten Reperfusionarrythmien auf [73, 35, 3, 41]. Sie entstehen aufgrund der Störung der Calcium Homöostase und der damit verbundenen Störung der Sensibilität der kontraktilen Proteine gegenüber Calcium. Das *myocardial stunning* ist definiert als postischämische kontraktile Dysfunktion ohne Zellnekrosen. Das *myocardial stunning* und die Reperfusionarrythmien sind zwar reversibel, aber potentiell gefährlich durch ihren Einfluss auf die Funktion der Ventrikel. Sie haben einen signifikanten Einfluss auf die Erhöhung von postoperativer Morbidität und Mortalität. Die Prävention von Reperfusionarrythmien reduziert die Frequenz von *low cardiac output* und den Bedarf an inotropischer Unterstützung [41].

Infolge des Ischämie/Reperfusion-Schadens kommt es zur Reduzierung der Relaxationsfähigkeit der Arteriolen im Myokard. Dies erklärt einen postoperativ reduzierten Koronarfluss und Vasospasmen der Koronargefäße, die zur Beeinträchtigung der kardialen Funktion beitragen [73]. Eine Reperfusion ist nur in der frühen, noch reversiblen Phase der ischämischen Myokardschädigung sinnvoll [35]. Andererseits begünstigt die Reperfusion durch den zugeführten Sauerstoff und den signifikant erhöhten Neutrophileneinfluss die Entstehung von Sauerstoffradikalen. Dies kann bei einem eigentlich potentiell reversibel geschädigten Myokard zum irreversiblen Schaden führen [73, 28].

#### **1.3.4 Angeborene Herzfehler und erhöhtes Potential für den oxidativen Stress**

In vielen Studien wird gezeigt, dass Kinder mit angeborenem Herzfehler, speziell mit präoperativer Hypoxämie während der operativen Korrektur unter Anwendung des EKK, ein erhöhtes Potential für die Entstehung oxidativen Stresses haben. Nach der Einleitung der Narkose bzw. des EKK wird der ganze Organismus mit deutlich höherem Sauerstoffpartialdruck als zuvor (präoperativ) versorgt.

Obwohl eine metabolische Adaption an die Hypoxämie besteht [61], reduziert letztere die endogene antioxidative Kapazität. Dadurch ist das Gewebe anfälliger für den oxidativen Stress, der bei der erhöhten arteriellen Oxygenation unter der Anwendung des EKK zustande kommt [22]. In gezüchteten Myozyten von zyanotischen Patienten wurde ein Verbrauch der antioxidativen enzymatischen Mechanismen nachgewiesen [47, 70]. Eine Lipidperoxidation im Myokard wurde schon in präoperativen Myokardbiopsien von zyanotischen Kindern gefunden [21].

Die reduzierte antioxidative Kapazität trägt in bedeutendem Maße zu oxidativen Schäden nach der Reoxygenation bei [22]. Zyanotische Kinder sind für die Freisetzung von großen Mengen von Sauerstoffradikalen zu Beginn des EKK prädisponiert [2, 70]. Die freigesetzten Sauerstoffradikale können bei reduzierter antioxidativer Kapazität nicht mehr kontrolliert werden [47, 2, 39]. Die freigesetzten Sauerstoffradikale führen zur Peroxidation von Lipiden und daraus folgenden Membranschäden, was zur postoperativen Organdysfunktion beitragen kann [21, 32]. Experimentell wurde gezeigt, dass die myokardiale Funktion mit der antioxidativen Kapazität korreliert [54].

Hingegen wird bei zyanotischen Kindern die Anpassungsfähigkeit der antioxidativen Kapazität diskutiert. Manche Gruppen zeigten, dass der Anstieg der myokardialen Lipidperoxidation zusammen mit dem Anstieg der antioxidativen Kapazität einhergeht, wobei die zellulären Schäden, gemessen an der Aktivität der Laktatdehydrogenase, marginal sind [45].

### **1.3.5 Therapie und Prävention des durch Sauerstoffradikale bedingten Schadens**

Als Hauptprinzipien zur Vermeidung des Ischämie/Reperfusion-Schadens kommen eine möglichst schnelle Reperfusion, die Reduktion der Entwicklung der ischämischen

Schäden und die Reduzierung von Reperfusionsschäden in Frage. Zur Verringerung des ischämischen Schadens wird Kalium in einer Kardioplegiclösung gegeben, welche den Herzstillstand und dadurch eine Energiesparung hervorruft. Außerdem werden verschiedene Medikamente und Puffer gegeben, die vielfältig in den ischämischen Mechanismus eingreifen. Zusätzlich wird die Hypothermie verwendet, um enzymatische Prozesse, also auch die, die zum ischämischen Schaden führen, zu verlangsamen.

Um den Reperfusionsschaden zu limitieren, werden Antioxidanten, vasoaktive Substanzen, Ionen und Puffer verwendet. Antioxidanten können auf vielen Stufen der Sauerstoffradikalentstehung aktiv sein [34]. Hierbei gibt es drei wichtige Mechanismen: die Entstehung und den Abbau von Radikalen und die Blockade der durch die Radikalen hervorgerufenen sekundären Oxidationsprozesse. Die Entstehung der Radikale wird durch die Deaktivierung von Xantinoxidase mittels Allopurinol und Oxypurinol blockiert [14]. Der Abbau der Radikale hingegen wird gefördert durch Induktion von Enzymen wie Glutathionperoxidase, Katalase und Superoxyddismutase. Zur Blockierung der Kette der sekundären Oxidationsprozesse dienen  $\alpha$ -Tocopherol und Ascorbat. Die Antioxidantengabe soll vor allem bei Patienten mit präoperativ reduzierter kardialer Funktion und voraussichtlich langer Aortaabklemzeit durchgeführt werden. Sie erfolgt als orale Prämedikation oder kann während der Operation in die Kardioplegiclösung gegeben bzw. systematisch verabreicht werden. Antioxidanten können gleichzeitig mit der Anwendung eines Leukozytenfilters zur Prophylaxe des intraoperativen oxidativen Stresses angewandt werden. Es werden auch entzündungshemmende Medikamente angewandt [71].

Es werden Versuche mit Ca-Kanalblockern durchgeführt, da angenommen wird, dass die Aufrechterhaltung der Ca-Homeostase in ischämisch-reperfundiertem Gewebe

protektiv wirken kann. Umstritten sind die NO-erzeugenden Medikamente, deren vasodilatative Wirkung zwar erwünscht ist, aber auch zum Reperfusionsschaden beitragen kann. Neuerdings werden Versuche durchgeführt, die die Wirkung der Inhibition von NF- $\kappa$ B überprüfen [3, 16].

## 1.4 Zielsetzung

Das Ziel unserer Studie war es, die antioxidative Kapazität des Plasmas bei am Herzen operierten Kindern zu untersuchen. Insbesondere sollte die Rolle der Oxygenation mit 100% Sauerstoff bei Einleitung der Narkose für die Entstehung des perioperativen oxidativen Stresses analysiert werden.

Weiterhin sollte die Frage beantwortet werden, inwiefern eine präoperative Hypoxämie, die häufig bei Kindern mit Herzfehler vorkommt, die perioperative antioxidative Kapazität des Plasmas beeinflusst.

Schließlich sollte die klinische Relevanz der durch die Herzoperationen veränderten antioxidativen Kapazität überprüft werden, indem letztere mit postoperativen Ausgangsvariablen korreliert wurde.

Die totale antioxidative Kapazität des Plasmas wurde durch Bestimmung von Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) beurteilt, wobei Trolox ein künstlich hergestelltes wasserlösliches Derivat des lipophilen, antioxidativ wirkenden Vitamin E ist.

## 2 Patienten und Methodik

### 2.1 Patienten

Diese prospektive Studie umfasst 26 Säuglinge und Kinder, die aufgrund eines angeborenen Herzfehlers einem operativen Eingriff mittels EKK unterzogen wurden.

Die untersuchte Gruppe bestand aus 6 zyanotischen Patienten mit Fallot'scher Tetralogie und 20 Patienten mit nicht zyanotischem Herzfehler: atrio-ventrikulärer Kanal (n=1), Ventrikelseptumdefekt (n=13) und Vorhofseptumdefekt (n=6). Die allgemeinen klinischen Daten der Patienten werden in Tabelle 3 gezeigt.

	SÄUGLINGE, KINDER
PATIENTENZAHL (n)	n = 26
männlich (m)	m = 13
weiblich (w)	w = 13
ALTER (Monate)	44,4 (6-180)
DIAGNOSE (n)	Fallot'sche Tetralogie: n = 6 Kompletter Atrio-Ventrikulärer Kanal: n = 1 Ventrikelseptumdefekt: n = 13 Vorhofseptumdefekt: n = 6
GEWICHT (kg)	14,6 (5,5-48,5)
GRÖSSE (cm)	94 (63-169)

**Tabelle 3:** Allgemeine klinische Daten

Die Herzoperationen fanden in der Klinik für Herz-Thorax- und Gefäßchirurgie (Prof. Dr. B.J. Messmer) der RWTH Aachen statt. Die prä- und postoperative Behandlung

erfolgte in der Klinik für Kinderkardiologie (Prof. Dr. G von Bernuth) der RWTH Aachen.

Das Studienverfahren wurde von der Ethikkommission der RWTH Aachen zugelassen.

Die Aufnahme der Kinder in das Studienprogramm setzte eine vorherige Aufklärung der Eltern und deren schriftliches Einverständnis voraus.

## **2.2 Anästhesie und EKK-Protokoll**

### **2.2.1 Anästhesie**

Vor dem Eingriff wurden die Patienten mittels Midazolam prämediziert. Die Narkose wurde mittels Halothan, Diazepam und Fentanyl-sulfat eingeleitet, und die Narkose bzw. die Myoplegie wurden mit Fentanyl-sulfat und Pancuroniumbromid aufrechterhalten. Die Patienten wurden nasotracheal intubiert und mechanisch beatmet (Servo 900, Respiратор, Siemens). Ein peripherer arterieller und ein zentralvenöser Katheter wurden gelegt. Die Patientenkerntemperatur wurde durch eine nasopharyngeal und eine rektal eingeführte Sonde fortlaufend gemessen. Zur Kontrolle der Urinausscheidung wurde ein Blasen-katheter gelegt. Die antibiotische Therapie wurde vor Sternotomie mit Gabe von Cefotiamhydrochlorid (Spizef<sup>®</sup>, 25 mg/kg) begonnen und bis zur Entfernung der intrathorakalen Prothesen weiterverabreicht. Alle Patienten bekamen vor dem operativen Eingriff Dexamethason (Fortecortin<sup>®</sup>, 3 mg/m<sup>2</sup> KOF). Zur Vasodilatation während der Abkühl- und Aufwärmphase des EKK wurde Natriumnitroprussid ( 0,5-1 µg/kg/ min) angewandt. Bei Bedarf wurden Katecholamine und Volumen im Form von Humanalbumin 5 % zur Stabilisierung des hämodynamischen Zustandes substituiert.

### 2.2.2 EKK-Protokoll

Die Patienten wurden an ein EKK-System angeschlossen, welches aus einer Rollerpumpe (Stöckert GmbH), einem Membranoxygenator (D 1500, D 4000), einem arteriellen Filter (Pall ¼, D 733) und einem Wärmeaustauscher bestand. Die Pumpe bewirkt einen kontinuierlichen, nicht pulsatilen Fluss und ermöglicht eine O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Zufuhr. Der EKK wurde unter reinem O<sub>2</sub> durchgeführt. Die Operation erfolgte je nach Alter des Kindes und Art seines Herzfehlers entweder mit durchgehendem EKK oder mit Kreislaufstillstand (KSS). Bei einem durchgehenden EKK wird eine kontinuierliche Körperperfusion entweder mit einem normalen Standardflussindex von 2,4-2,7 l/min per m<sup>2</sup> KOF oder einer *low flow* Perfusion erzeugt. Bei *low flow* Perfusion erfolgt eine Reduktion des Flusses auf etwa 25% des errechneten Flussindexes, die der Körperkerntemperatur angepasst wird. Das im EKK zirkulierende Blut wird mit dem Wärmeaustauscher abgekühlt bzw. aufgewärmt, wodurch eine Abkühlung oder Aufwärmung des Patienten stattfindet. Routinemäßig werden nach der medianen Sternotomie der rechte Vorhof oder beide Hohlvenen und die Aorta ascendens kanüliert und an das EKK-System angeschlossen. Die Antikoagulation erfolgt mittels Heparinsulfat (3 mg/kg), das mit Protaminsulfat in einem Verhältnis von 1:1 am Ende des Eingriffes antagonisiert wird. Die Myokardischämie wird durch die Unterbrechung der Koronarzirkulation durch queres Abklemmen der Aorta ascendens hervorgerufen. Währenddessen wird die Protektion des Myokards mit einer 4°C kalten, über die Aortenbasis zugeführten Bretschneider Cardioplegie-Lösung erreicht (Dr. Köhler Chemie GmbH, 30 ml/kg).

Bei 15 Patienten wurde die Operation mit KSS und bei 11 Kinder unter durchgehendem EKK mit *low-flow* Perfusion durchgeführt. Das EKK-Füllungsvolumen bestand aus einer Kristalloidlösung (Tutofusin®). Bei 16 Patienten wurde in das EKK-

Füllungsvolumen zusätzlich ein Erythrozytenkonzentrat zugeführt. Die niedrigsten Ösophagealtemperaturen betragen durchschnittlich 13°C bei den mit KSS operierten Patienten und bei den unter *low flow* Perfusion operierten Patienten 21°C. Die Angaben, welche die Dauer von KSS, EKK, Aortenabklemmzeit und Blutproduktengabe betreffen, werden detaillierter im Ergebniskapitel 3. dargestellt.

### **2.3 Postoperative Überwachung und Untersuchung der Patienten**

Die relevanten Untersuchungs- und Laborergebnisse der Patienten wurden präoperativ, intraoperativ und bis zum fünften postoperativen Tag prospektiv protokolliert. Dies schloss hämodynamische Variablen, Diurese, Oxygenationindex ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), Körperkerntemperatur sowie Laboruntersuchungen (GOT, Kreatinin) und kreislaufunterstützende Therapie mit ein.

### **2.4 Probenentnahme**

Zur Analyse der antioxidativen Eigenschaften des Plasmas unter dem Einfluss eines oxidativen Stresses wurden von jedem Patient zu elf verschiedenen Zeitpunkten vor, während und nach dem EKK Blutproben gewonnen. Die Blutmenge betrug jeweils 2 ml. Die Zeitpunkte der Blutentnahmen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Blutproben wurden präoperativ aus einer peripheren Vene und postoperativ aus einem Zentralvenenkatheter gewonnen. Intraoperativ wurde Blut aus dem arteriellen Schenkel des EKK-Systems entnommen. Das Blut wurde in Ethylendiaminteträressigsäure (EDTA) enthaltende Röhrchen asserviert. Die Proben wurden bei einer Umdrehung von 3000 rpm für eine Dauer von 5 Minuten zentrifugiert, und das gewonnene Plasma wurde bei  $-70^\circ\text{C}$  bis zur weiteren Bearbeitung gelagert. Die laborchemische Bearbeitung des

Plasmas fand im Laboratorium des Department of Pharmacology & Toxicology, University of Maastricht, Niederlande, unter der Aufsicht von Dr. Chris Evelo (PhD) statt.

PROBENGEWINNUNG	
P1 - präoperativ	P6 - 4h postoperativ
P1.1 - Einleitung der Anästhesie	P7 - 24h postoperativ
P2 - nach Heparin-gabe	P8 - 48h postoperativ
P3 - 10 min nach HLM-Start	P9 - 72h postoperativ
P4 - Aufwärmphase 30°C oesophageal	P10 - 10 bis 15 Tag postoperativ
P5 - 5 min.nach Protamingabe	

Tabelle 4: Zeitpunkte der Probenentnahmen

## 2.5 Laboranalysen

### 2.5.1 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

Trolox<sup>1</sup> ist eine synthetische, wasserlösliche Form des in der Natur lipophil vorkommenden, antioxidativ wirkenden Vitamin E. Die Durchführung eines TEAC-Assay ermöglichte Aussagen über die totale, antioxidative Kapazität des untersuchten Plasmas. Trolox wurde als Standard für die Vorbereitung einer Kalibrierungskurve verwendet.

Es wurde, immer frisch, ein synthetisches Radikal-ABTS•<sup>+</sup><sup>2</sup> hergestellt, welches als Produkt der Oxidation des ABTS (stabile Form) durch ABAP<sup>3</sup> bei 70°C entsteht.

<sup>1</sup> TROLOX: 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxyl-Säure; Aldrich; MW = 250,29 g/mol

<sup>2</sup> ABTS•<sup>+</sup>: 2,2'-Azino-bis-3-(4-ethyl-benzothiazol-6-sulfon-yl)-N,N'-diphenyl-Aminradikal; Sigma; MW=548,7 g/mol

<sup>3</sup> ABAP: 2,2'-Azino-bis(2-amidinopropan)-dihydrochloride; Polysciences Inc; MW=243 g/mol

Sobald die Absorption bei 734 nm den Wert  $0,7 \pm 0,02$  erreichte, wurde die Lösung auf Eis gelagert.

Die ABTS• $\oplus$ -Lösung ist blau-grün und wird spectrophotometrisch gemessen. Die Zugabe von entweder Troloxstandard oder antioxidativ wirkendem Plasma zur frisch hergestellten ABTS• $\oplus$ -Lösung verursacht eine Entfärbung der Lösung aufgrund der Reduktion von ABTS• $\oplus$  durch Trolox bzw. durch die im Plasma enthaltenen antioxidativ wirkenden Substanzen. Der Entfärbungsgrad als Maß für die Absorptionsreduktion wurde bei 734 nm spektrophotometrisch (Spectrophotometer, Perkin-Elmer) gemessen, wodurch die antioxidative Kapazität beurteilt wurde. Die antioxidative Kapazität des untersuchten Plasmas wurde in Relation zu Trolox als Äquivalent angegeben. Die entsprechenden TEAC-Werte für die Plasmaproben wurden von der Kalibrierungskurve abgelesen. Die Kalibrierungskurve zeigt eine Korrelation zwischen der Absorption der Lösung von ABTS• $\oplus$  und Troloxstandard einerseits und entsprechenden Troloxkonzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$  andererseits.

Die Formel für die TEAC-Bestimmung lautet:

$$A_{734nm} = 0,0257 \cdot [\text{trolox}] (\mu\text{mol} / \text{l}).$$

Die TEAC-Bestimmung ist eine etablierte und allgemein anerkannte Methode [5].

### **2.5.2 $\alpha$ -Tocopherol**

Das  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) ist eine lipophile, antioxidativ wirkende Substanz, die die Lipidperoxidationskette bremst. Die Konzentration von  $\alpha$ -Tocopherol im Plasma wurde durch High Performance Liquid Chromatography (HPLC) bestimmt. Zuerst wurde Tocopherol aus den Phospholipiden mittels Ethanol und Hexan extrahiert. Für

eine Korrektur des Verlustfehlers während der Aufbereitung wurde  $\alpha$ -Tocopherol-Nikotinat als interner Standard zu den entweder vorbereiteten Tocopherolstandards oder untersuchten Plasmaproben zugegeben.

Das  $\alpha$ -Tocopherol-Nikotinat ist mittels UV-Detektor zu messen. Die so erhaltene Lösung wurde zentrifugiert und die Hexanschicht mit  $N_2$  abgetrocknet. Zu dem verbliebenen  $\alpha$ -Tocopherol und  $\alpha$ -Tocopherol-Nikotinat wurde Isopropylalcohol zugegeben und dann die HPLC-Analyse (Hewlett Packard 1100 - System) gestartet. Die Vitamin-E-Konzentration der untersuchten Plasmaproben wurde von der Kalibrierungskurve abgelesen. Die Kurve zeigt eine Korrelation zwischen den *area ratios* der vorbereiteten Vitamin-E-Standards und den entsprechenden Konzentrationsratios von Vitamin-E. Die Kalibrierungskurve ergibt sich aus der Formel:

$$\text{Area ratio (Area } \alpha\text{-tocopherol / Area } \alpha\text{-tocopherol-nikotinat)} = a \cdot [\alpha - \text{Tocopherol}] + b.$$

Die Kalibrierungskurve gibt es für den UV-Detektor ( $\lambda = 295\text{nm}$ ). Das Vitamin- E und der interne Standard  $\alpha$ -Tocopherol-Nikotinat wurden mit einem UV-Detektor gemessen.

### 2.5.3 Triglyceride

Die Konzentrationen von Triglyceriden wurden bestimmt, um die Werte von lipidlöslichem Vitamin E entsprechend zu korrigieren und evtl. eine Probendilution auszuschließen. Für die Messungen wurde ein Plate Reader ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) bei  $\lambda = 540 \text{ nm}$  benutzt. Zuerst wurden die Triglyceride mittels Lipase zu Glycerol und freien Fettsäuren hydrolysiert. Das so entstandene Glycerol wurde mit dem Plate Reader ELISA gemessen, in dem Glycerolkinase, Glycerolphosphatoxidase und Peroxidase als Katalysatoren verwendet werden. Es

wurden Glycerolstandards hergestellt und eine Kalibrierungskurve konstruiert, die eine Korrelation zwischen den Standardabsorptionen und bekannten Konzentrationen in mg/ml darstellt. Von der Kurve wurden die Konzentrationen von Plasmatriglyceriden abgelesen. Die Formel für die Konstruktion der Kalibrierungskurve lautet:

$$A_{540nm} = a \cdot [Glycerol] + b .$$

## 2.6 Statistik

Die Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben. Die Daten wurden mit Hilfe der Software SPSS (SPSS, München, Deutschland) analysiert. Für den Vergleich der verbundenen Stichproben wurde der nicht parametrische Wilcoxon Test angewandt. Für den Vergleich der nicht verbundenen Stichproben wurde der nicht parametrische Mann-Whitney-Test verwendet. Die Korrelationen wurden mit dem Spearman-Korrelationstest analysiert. P-Werte  $< 0,05$  wurden als signifikant angesehen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Klinische Ergebnisse

Die Operationsparameter, wie die Dauer von EKK, KSS und Aortenabklemmzeit, sind in Tabelle 5 dargestellt. Ein Kind verstarb 10 Stunden postoperativ aufgrund eines akuten Rechtsherzversagens nach Korrektur einer Fallot'schen Tetralogie. Bei 17 Kindern traten postoperativ Herzrhythmusstörungen unterschiedlicher Art auf, wobei in vier Fällen eine Schrittmachertherapie notwendig war (Tabelle 6). Die Dauer des Intensivaufenthalts betrug  $79 \pm 17$  Stunden; die Hospitalisation dauerte  $19 \pm 1$  Tage. Die weiteren postoperativen Daten der Patienten sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

	Dauer (min.)
EKK:	$60,3 \pm 3,9$ (n=26)
AoAB:	$50,5 \pm 3,4$ (n=26)
KSS:	$32,4 \pm 5,6$ (n=15)

**Tabelle 5:** Angaben zu den Operationszeiten. EKK: extrakorporaler Kreislauf, AoAB: Aortenabklemmzeit, KSS: Kreislaufstillstand

Art der Rhythmusstörungen	Patientenzahl
Supraventrikuläre Extrasystolen	7
Ventrikuläre Extrasystolen	2
Paroxysmale supraventrikuläre Tachykardie	2
Knotentachykardie	1
Langsamer Knotenrhythmus	1
Sick-Sinus-Syndrom	1
AV- Block II Grades Typ Wenckebach	2
intermittierender AV- Block III Grades	1

**Tabelle 6:** Postoperative Herzrhythmusstörungen

	<b>4 Stunden postoperativ</b>	<b>24 Stunden postoperativ</b>
<b>Herz-Kreislauf:</b>		
Bedarf an:		
Adrenalin ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ):	0,038 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,09
Dopamin ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ):	2,2 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,4
NPN ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ):	0,7 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
Hämodyn. Variablen:		
MAD (mmHg):	66,5 $\pm$ 1,8	65,6 $\pm$ 2,3
HF (Schläge/min.):	134 $\pm$ 3	124 $\pm$ 4
ZVD (mmHg):	7,5 $\pm$ 0,5	9,3 $\pm$ 1,5 (n=13) *
Bedarf an Volumenzufuhr:		
Erythrozytenkonzentrat (ml):	25,2 $\pm$ 8,2	40,8 $\pm$ 12,2
Fresh Frozen Plasma (ml):	30,5 $\pm$ 8,8	34,7 $\pm$ 11,8
Thrombozytenkonzentrat (ml):	0	0
Humanalbumin (ml):	25,3 $\pm$ 11,4	135,4 $\pm$ 34,7
HLM-Blut (ml):	150,7 $\pm$ 57,3	165,4 $\pm$ 61,6
<b>Respiratorisches System:</b>		
$PaO_2 / FiO_2$ (Torr):	370,2 $\pm$ 30,7	302,2 $\pm$ 30,6
<b>Hepatisches System:</b>		
GOT (U/l):	58,3 $\pm$ 8,04	74,1 $\pm$ 24,9
<b>Nierensystem:</b>		
Kreatinin (mg/dl):	0,4 $\pm$ 0,03	0,4 $\pm$ 0,02
Diurese (ml/kg/h):	3,2 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,1
<b>Körpertemperatur (<math>^{\circ}\text{C}</math>):</b>		
	38,0 $\pm$ 0,1	37,8 $\pm$ 0,1

\*: Bei 13 Patienten war der zentralvenöse Zugang entfernt

**Tabelle 7:** Postoperative klinische Daten der Patienten. NPN: Natriumnitroprussid; MAD: mittlerer arterieller Blutdruck; HF: Herzfrequenz; ZVD: zentral venöser Druck;  $PaO_2$ : arterieller Sauerstoffpartialdruck;  $FiO_2$ : inspirierte  $O_2$ -Fraktion; GOT: Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase.

## 3.2 Laborchemische Ergebnisse

### 3.2.1 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

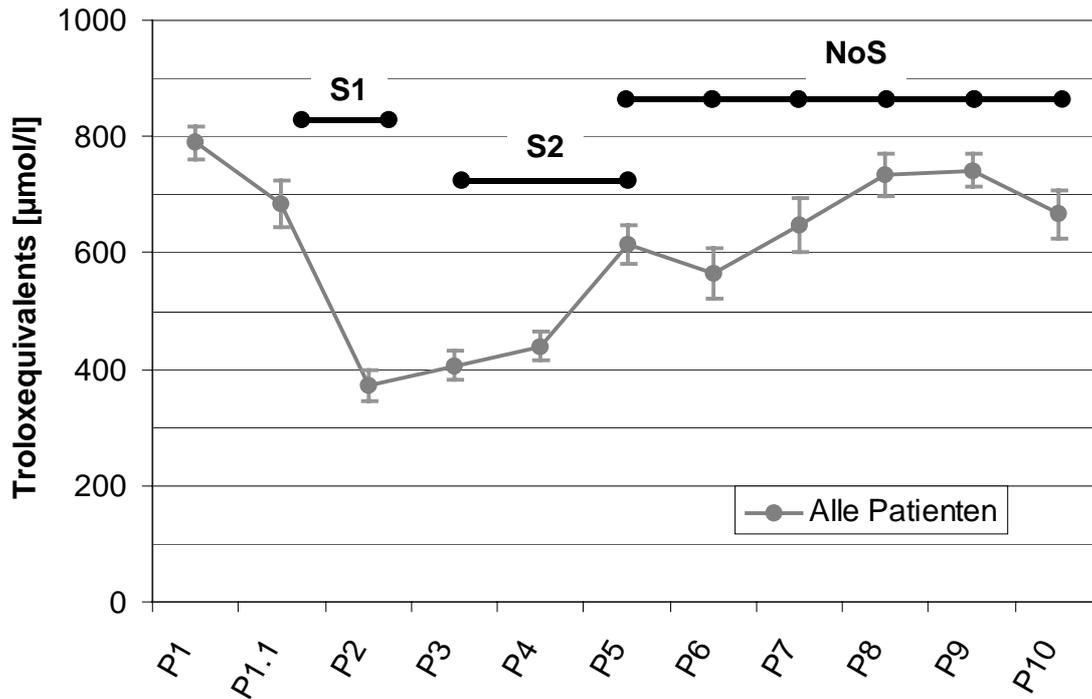
#### A) Verlauf der TEAC bei allen untersuchten Patienten vor, während und nach der Operation:

Der Verlauf der Plasmakonzentrationen von TEAC bei allen Patienten vor, während und nach der Herzoperationen ist in Abbildung 5 dargestellt. Bei allen Patienten betrug der präoperative TEAC-Mittelwert  $789 \pm 33 \mu\text{mol/l}$  (P1). Im Vergleich hierzu wurde eine signifikante Abnahme der TEAC-Konzentrationen auf  $372 \pm 33 \mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,001$ ) nach Einleitung der Narkose, d.h. nach Beginn der mechanischen Beatmung mit reinem Sauerstoff, beobachtet (P2). Im weiteren Verlauf wurde keine Abnahme der Konzentrationen von TEAC mehr beobachtet. Im Gegenteil erfolgte während des EKK eine kontinuierliche Zunahme der TEAC-Konzentrationen. Nach Protamingabe (P5) betrug die TEAC-Konzentration  $614 \pm 42 \mu\text{mol/l}$ , versus  $405 \pm 33 \mu\text{mol/l}$  10 min nach Einleitung des EKK (P3) ( $p < 0,001$ ). Zwischen Ende des EKK und 10 Tagen postoperativ blieben die TEAC-Werte unverändert. Am ersten postoperativen Tag (P7) erreichte die TEAC-Konzentration den präoperativen Wert.

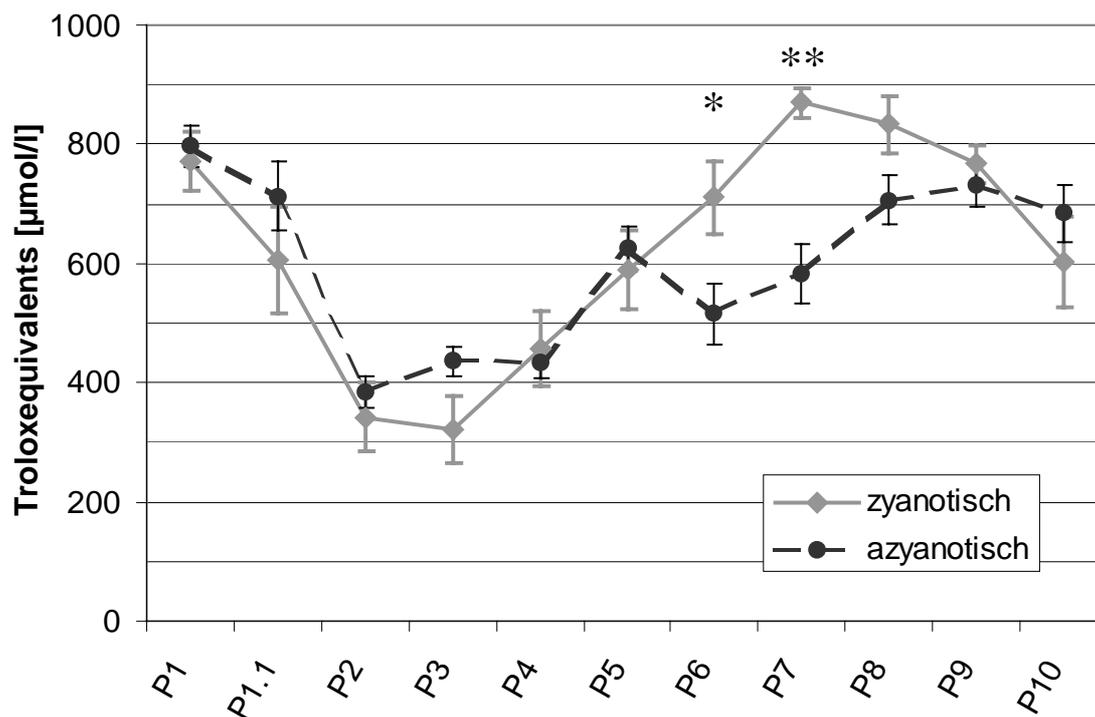
#### B) Verlauf der TEAC vor, während und nach der Operation bei zyanotischen und nicht zyanotischen Kindern:

Der Verlauf der Plasmakonzentrationen von TEAC in beiden Patientengruppen vor, während und nach der Herzoperationen ist in der Abbildung 6 dargestellt. Die präoperativen TEAC-Konzentrationen bei zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten und der Verlauf der TEAC-Konzentration waren in beiden Gruppen bis zum Ende des EKK nicht signifikant unterschiedlich. Die Patienten mit zyanotischem

Herzfehler zeigten 4h postoperativ tendenziell höhere und 24h postoperativ signifikant höhere TEAC-Konzentrationen als die Patienten mit nicht zyanotischem Herzfehler:  $711 \pm 81 \mu\text{mol/l}$  versus  $514 \pm 61 \mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,07$ ) bzw.  $869 \pm 33 \mu\text{mol/l}$  versus  $582 \pm 60 \mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,01$ ).



**Abbildung 5:** Verlauf von TEAC vor, während und nach EKK bei allen Patienten. Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  SEM angegeben. **S1:**  $p < 0.001$ , P1.1 versus P2. **S2:**  $p < 0.001$ , P3 versus P5. **NoS:** keine signifikanten Unterschiede zwischen P5 bis P10. Die Zeitpunkte sind Tabelle 4 zu entnehmen.



**Abbildung 6:** Verlauf von TEAC vor, während und nach EKK bei zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten. Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  SEM angegeben. \*:  $p < 0.07$ , zyanotische versus nicht zyanotische Patienten. \*\*:  $p < 0.01$ , zyanotische versus nicht zyanotische Patienten. Die Zeitpunkte sind Tabelle 4 zu entnehmen.

### 3.2.2 $\alpha$ -Tocopherol

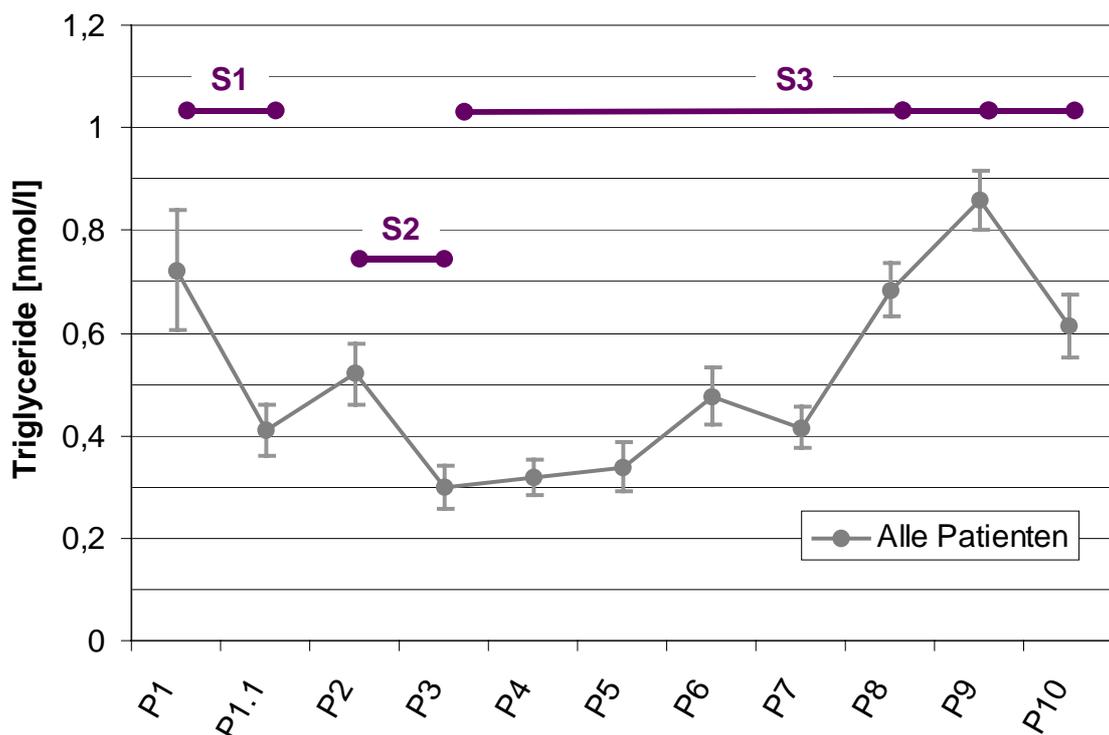
Die Konzentrationen von  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) wurden in den Plasmaproben aller Patienten bestimmt und blieben unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.2.3 Triglyceride

Der Verlauf der Plasmakonzentrationen von Triglyceriden bei allen Patienten vor, während und nach der Herzoperationen ist in der Abbildung 7 dargestellt. Es wurde eine signifikante Abnahme der Triglycerid-Konzentrationen vom präoperativen Wert ( $0,7 \text{ nmol/l} \pm 0,16$  (P1)) auf  $0,4 \text{ nmol/l} \pm 0,06$  (Einleitung der Narkose (P1.1)), ( $p < 0,01$ )

beobachtet. Die Konzentration von Triglyceriden nahm nach dem Start des EKK weiter ab. Nach dem Start von EKK (P3) betrug die Triglyceride-Konzentration  $0,3 \text{ nmol/l} \pm 0,05$ , versus  $0,5 \text{ nmol/l} \pm 0,07$  nach der Heparingabe (P2) ( $p < 0,01$ ). Während des EKK blieben die Konzentrationen unverändert. Nach dem Ende des EKK bis zum zehnten postoperativen Tag stiegen die Triglycerid-Konzentrationen kontinuierlich an. Zu den Zeitpunkten 48 (P8), 72 (P9) Stunden und 10 Tage (P10) postoperativ waren die Werte signifikant höher als nach Beginn des EKK ( $p < 0,05$ ). Am zweiten postoperativen Tag (P8) erreicht die Triglyceride-Konzentration den präoperativen Wert.

Der Verlauf der Plasmakonzentrationen der Triglyceride war bei zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten ähnlich.



**Abbildung 7:** Verlauf von Triglyceriden vor, während und nach EKK bei allen Patienten. Ergebnisse sind als Mittelwert  $\pm$  SEM angegeben. **S1:**  $p < 0,01$ , P1 versus P1.1. **S2:**  $p < 0,01$ , P2 versus P3. **S3:**  $p < 0,05$ , P3 versus P8, P9 und P10. Die Zeitpunkte sind Tabelle 4 zu entnehmen.

### 3.3 TEAC und klinische Ergebnisse

Die Abhängigkeit der TEAC–Werte 4 und 24 Stunden postoperativ wurde bezüglich des operativen Stresses analysiert. Die TEAC–Werte 4 und 24 Stunden postoperativ korrelieren mit der Dauer der Abklemmzeit der Aorta (Spearman: 0,43  $p < 0,05$ ,  $n=23$  bzw. 0,59  $p < 0,005$ ,  $n=22$ ) (Abbildung 8). Es bestand keine Korrelation zwischen den TEAC–Werten und der Dauer des extrakorporalen Kreislaufs bzw. der Dauer des Kreislaufstillstands.

Die TEAC–Werte 4 bzw. 24 Stunden postoperativ wurden im weiteren im Zusammenhang mit den klinischen postoperativen Parametern der Patienten analysiert.

Die TEAC–Werte 4 Stunden postoperativ und 24 Stunden postoperativ korrelierten mit der Dauer der mechanischen Beatmung (Spearman: 0,56  $p < 0,01$ ,  $n=21$  bzw. 0,52  $p < 0,05$ ,  $n=20$ ) (Abbildung 9). Es bestand eine Korrelation zwischen den TEAC–Werten 4 Stunden postoperativ und der Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation (Spearman: 0,45  $p < 0,05$ ,  $n=22$ ) (Abbildung 10). Die postoperative Adrenalinzufuhr 4 Stunden postoperativ korrelierte mit den TEAC–Werten zu diesem Zeitpunkt (Spearman: 0,52  $p < 0,1$ ,  $n=23$ ), (Abbildung 11). Der 4 Stunden postoperativ gemessene GOT–Spiegel korrelierte mit den zu demselben Zeitpunkt gemessenen TEAC–Werten, (Spearman: 0,42  $p < 0,05$ ,  $n=23$ ) (Abbildung 12). Vier Stunden postoperativ bestand eine negative Korrelation zwischen den TEAC–Werten und dem arteriellen Mitteldruck (Spearman: -0,49  $p < 0,02$ ,  $n=23$ ) (Abbildung 13).

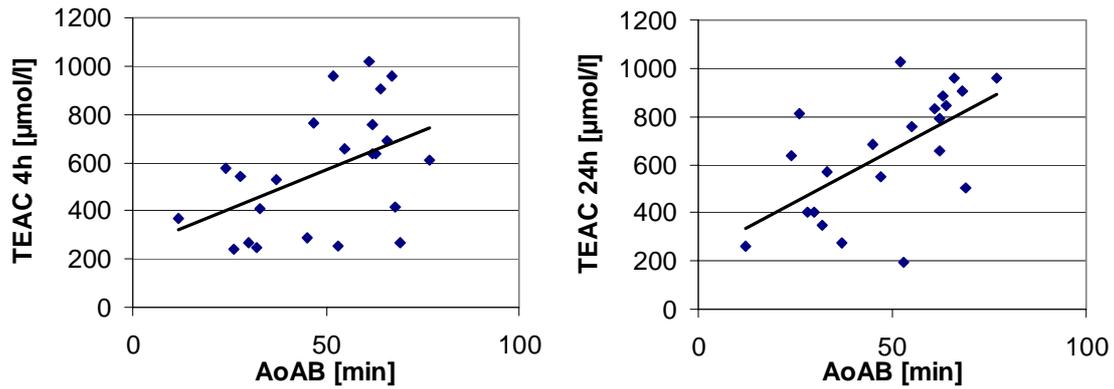


Abbildung 8: Korrelation zwischen Dauer der AoAB und TEAC-Werten 4h bzw. 24h postoperativ. Spearman: 0,43  $p < 0,05$  bzw. 0,59  $p < 0,005$

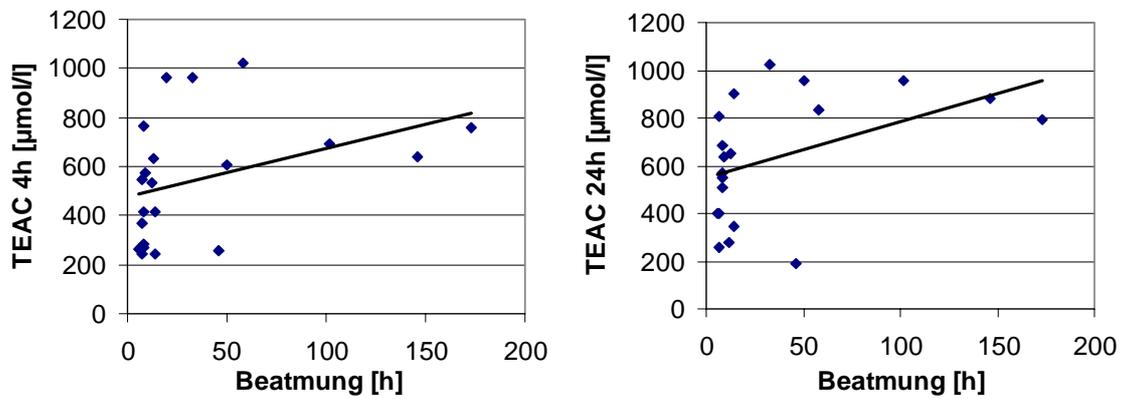


Abbildung 9: Korrelation zwischen Dauer der mechanischen Beatmung und TEAC-Werten 4h bzw. 24h postoperativ. Spearman: 0,56  $p < 0,01$  bzw. 0,52  $p < 0,05$

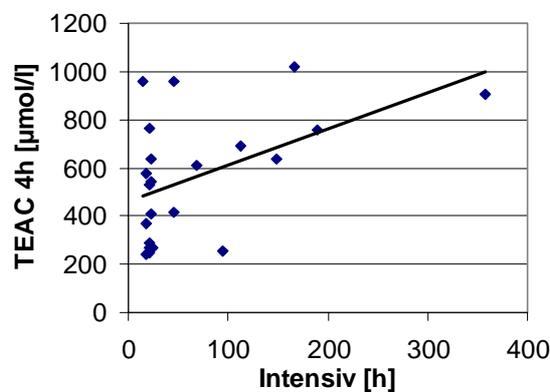


Abbildung 10: Korrelation zwischen Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation und TEAC-Werten 4h postoperativ. Spearman: 0,45  $p < 0,05$

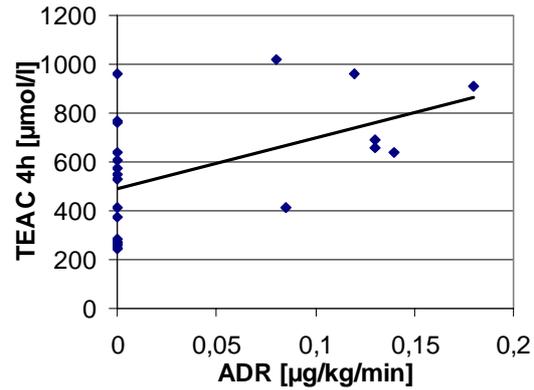


Abbildung 11: Korrelation zwischen der Adrenalingabe und TEAC-Werten 4h postoperativ. Spearman: 0,52  $p < 0,1$

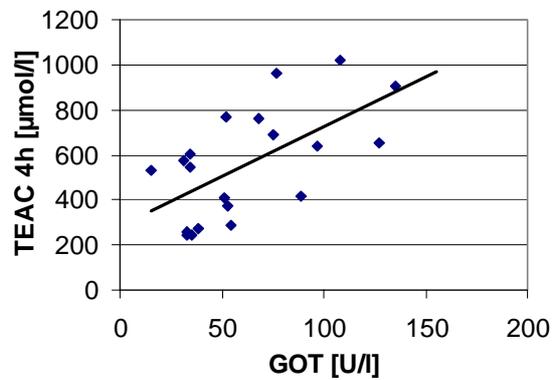


Abbildung 12: Korrelation zwischen GOT-Spiegel und TEAC-Werten 4h postoperativ. Spearman: 0,42  $p < 0,05$

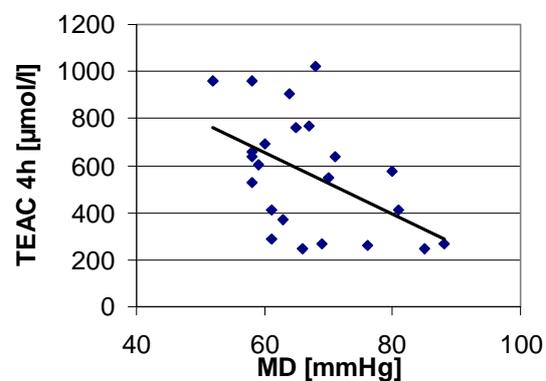


Abbildung 13: Korrelation zwischen dem arteriellen Mitteldruck und TEAC-Werten 4h postoperativ. Spearman: -0,49  $p < 0,02$

## 4 Diskussion

Der oxidative Stress infolge einer Herzoperation mit Einsatz des EKK wurde im Kindesalter bis jetzt nur von wenigen Forschungsgruppen untersucht [45, 21, 15]. Mit diesem Thema haben sich aber mehrere Arbeiten ausführlich bei Erwachsenen oder in Tierversuchen beschäftigt [76, 42, 60, 6].

In unserer Studie wurden die Konzentrationen von Troloxäquivalenten im Plasma von Kindern präoperativ, intraoperativ und postoperativ gemessen. Die Bestimmung der Konzentration von Troloxäquivalenten ermöglicht die Bewertung der totalen antioxidativen Kapazität des Plasmas. Je größer die Konzentration von Troloxäquivalent ist, desto optimaler verhalten sich die antioxidativen Eigenschaften des Plasmas, wodurch eine bessere Kontrolle über Sauerstoffradikale bzw. eine Hemmung deren schädigenden Wirkung zu erwarten ist.

In unserer Studie beobachteten wir, dass es bei allen Patienten bereits nach der Einleitung der Anästhesie unter Sauerstoffbeatmung zu einer signifikanten Abnahme der Konzentration des Troloxäquivalents im Vergleich zu den präoperativen Werten kam. Dass die gleichzeitig gemessene Konzentration von Triglyceriden zu diesem Zeitpunkt unverändert blieb, lässt einen Verdünnungseffekt ausschließen und legt nahe, dass dieser Abfall aufgrund des Verbrauches von antioxidativen Substanzen bei Zunahme der Produktion von Sauerstoffradikalen zustande kam. Die Abnahme der Konzentration von Triglyceriden fand noch vor der Einleitung der Narkose statt, was mit dem präoperativen Nüchternsein der Patienten im Zusammenhang stehen mag. Im weiteren Verlauf beobachteten wir, dass die Werte der Troloxäquivalenten direkt nach dem Start des EKK zu steigen begannen. Diese steigende Tendenz blieb während des

ganzen EKK erhalten, und bereits am Ende des EKK nach Protamingabe erreichten die TEAC-Konzentrationen den präoperativen Wert.

Ein Beweis für die in der Tat zunehmende antioxidative Kapazität des Plasmas während der Operation und ein Beweis gegen eine Hämokonzentration ist die gleichzeitig abnehmende Konzentration der Triglyceriden.

Unsere Ergebnisse zeigen also, dass nicht der EKK sondern bereits die Einleitung der Anästhesie die totale antioxidative Kapazität des Plasmas signifikant reduziert. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass die Abnahme der antioxidativen Kapazität durch die während der Anästhesie durchgeführte mechanische Ventilation der Patienten mit 100%igem Sauerstoff hervorgerufen wird. Der auf diese Weise im Übermaß akut zugeführte Sauerstoff ist ein Substrat für die Entstehung von freien Radikalen. Die unter diesen Umständen im Übermaß freigesetzten Sauerstoffradikale werden durch die natürlichen antioxidativen Mechanismen kontrolliert. Aus diesem akuten Verbrauch von Antioxidanten resultiert eine signifikante Abnahme der totalen antioxidativen Kapazität des Plasmas. Es gibt andere Berichte über den oxidativen Schaden infolge der Reoxygenation [39, 2, 40, 55]. In diesen beginnen die Untersuchungen aber nicht schon bei der Einleitung der Narkose mit mechanischer Beatmung mit 100% Sauerstoff, sondern erst bei der Einleitung des EKK, sodass für die Verfasser alleine die Reoxygenation während des EKK als Ursache für die oxidativen Schaden in Betracht kam.

Mit unseren Ergebnissen bestätigen wir, wie entscheidend die Zufuhr von Sauerstoff für die Entstehung des oxidativen Stresses während eines operativen Eingriffes ist [36, 37, 38, 20]. Ein prophylaktischer Ansatz könnte es sein, die Konzentration von zugeführtem Sauerstoff bei der Einleitung der Anästhesie noch vor dem Start des EKK zu reduzieren. Dies ist jedoch im Kindesalter nie untersucht worden.

Mehrere Gruppen zeigten, dass eine signifikante Abnahme der totalen antioxidativen Kapazität durch den EKK selbst hervorgerufen wird [58, 51, 66]. Diese Beobachtung wird durch den aus dem EKK resultierenden Ischämie/Reperfusion-Schaden und der systemischen entzündlichen Reaktion erklärt [56, 43, 11]. Diese Beobachtungen stehen nicht zwangsläufig mit unseren Ergebnissen im Widerspruch.

Der erste Grund hierfür ist, dass viele Studien sich mit Erwachsenen beschäftigten, wir dagegen untersuchten Kinder mit angeborenen Herzfehlern. Es ist denkbar, dass die Reaktionen der antioxidativ wirkenden Mechanismen auf den zugeführten Sauerstoff bei Erwachsenen und Kindern unterschiedlich sind. Bis jetzt gibt es keine Untersuchung die beide Altersgruppen vergleicht.

Der zweite Grund, den wir hier berücksichtigen müssen, ist die angewandte Methodik, und zwar das Timing der Entnahmen von Plasmaproben während der Operation. In manchen Studien erfolgen die Probenentnahmen während der Operation zu selten, um den Zeitpunkt des Abfalls der Konzentration von antioxidativen Substanzen rechtzeitig erkennen zu können [51, 58]. Dies ließ den Einfluss der Oxygenation bei Beginn der Narkose bei der Analyse der Ergebnissen nicht schlüssig beurteilen. In unserer Studie dagegen hatten wir die Möglichkeit, die TEAC bereits bei Einleitung der Narkose bzw. bei Beginn der künstlichen Beatmung mit 100%igem Sauerstoff zu messen und diesen von der TEAC nach dem Start des EKK unterscheiden zu können.

Dadurch sind wir imstande, den kritischen Zeitpunkt der Abnahme der totalen antioxidativen Kapazität aufgrund der Sauerstoffzufuhr zeitlich zu identifizieren.

Ferner zeigen unsere Ergebnisse, dass bereits zehn Minuten nach dem Start des EKK ein Anstieg der totalen antioxidativen Kapazität vorhanden ist. Die meisten Gruppen zeigen hingegen eine während des ganzen EKK anhaltende Reduktion der

verschiedenen antioxidativen Mechanismen [51, 66]. Es wird auch, allerdings bei Erwachsenen, über eine postoperativ bestehende Herabsetzung der antioxidativen Kapazität berichtet [58].

Einer unserer Erklärungsansätze für unsere Ergebnisse widerspricht diesen früheren Ergebnissen, die den EKK als Hauptursache für den oxidativen Stress annehmen. Die von uns gezeigte Zunahme der antioxidativen Kapazität könnte auf eine schnelle, noch während des EKK folgende Anpassungsfähigkeit nach dem Beginn der Beatmung unter 100%igem Sauerstoff hinweisen. Solche Anpassungsfähigkeiten im Kindesalter werden bereits diskutiert [45]. Unsere Ergebnisse lassen im weiteren vermuten, dass der Anstieg der antioxidativen Kapazität durch die Freisetzung von antioxidativ wirkenden Substanzen aus dem geschädigten Gewebe zustandekommen könnte. Diese Annahme wird dadurch untermauert, dass die Sauerstoffzufuhr während des Eingriffes unverändert hoch dosiert durchgeführt wurde und ein Ischämie/Reperfusion-Schaden zusammen mit der systemischen entzündlichen Reaktion infolge des EKK vermutlich eine kontinuierliche oxidative bzw. entzündliche Schädigung der Gewebe verursacht hat.

Frühere Arbeiten verglichen die antioxidative Kapazität während des operativen Eingriffes bei Patienten mit zyanotischen und nicht zyanotischen Herzfehlern. Einige nehmen an, dass bei zyanotischen Kindern die Abnahme der Konzentration von antioxidativ wirkenden Substanzen während der Operation aufgrund der bereits bestehenden Ischämie und dadurch erhöhten Empfindlichkeit gegen Radikale größer ist als bei nicht zyanotischen Kindern [21, 8, 15, 36]. Manche Gruppen berichten, dass die chronische Zyanose die enzymatische antioxidative Kapazität erschöpft und dadurch bereits präoperativ bei zyanotischen Patienten zur Reduktion der antioxidativen Kapazität führt [47, 39].

Wir dagegen zeigen anhand unserer Ergebnisse, dass in Bezug auf TEAC bei zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten präoperativ kein Unterschied besteht. Intraoperativ stellen wir ebenso keinen Unterschied bei der antioxidativen Kapazität zwischen zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten fest. Ein Grund hierfür könnte die gerade beschriebene Anpassungsfähigkeit der antioxidativen Kapazität bei zyanotischen Patienten sein [45, 4]. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Troloxäquivalenten bei zyanotischen Patienten nicht niedriger waren als bei nicht zyanotischen Patienten, was auf eine Freisetzung von antioxidativen Substanzen aus dem chronisch hypoxisch geschädigten Gewebe bei den ersteren zurückzuführen sein könnte. Bei Patienten mit chronischer Hypoxämie ist zu erwarten, dass der intraoperative Ischämie/Reperfusion-Schaden ausgeprägter ist als bei Normoxämie [35]. Aus diesem Grund erlauben unsere Ergebnisse keine genaue Aussage über den Einfluss der Hypoxämie auf die effektive totale antioxidative Kapazität des Plasmas in einer Situation, wie der EKK, die mit einem Zellschaden assoziiert ist.

Wir vermuten, dass die Freisetzung von antioxidativen Substanzen für die kontinuierliche Zunahme der Konzentrationen von Troloxäquivalenten, die wir bei unseren Patienten bereits während des EKK beobachten, verantwortlich gewesen ist. Eine weitere Erklärung für die Zunahme von TEAC könnte auch die Gabe von Blutprodukten sein. Die Korrelationen, die wir zwischen TEAC und dem klinischen Zustand der Patienten fanden, sind eine weitere Stütze für unsere These, dass ein höherer operativer Stress und der darauffolgende Zellschaden zur Freisetzung von antioxidativen Substanzen führen. In der Tat beobachten wir, dass je länger die Operationszeiten waren, desto höher die antioxidative Kapazität und desto schlechter der klinische postoperative Zustand des Patienten sind.

Eine längere Dauer der Aortaabklemmzeit deutet auf einen höheren operativen Stress hin und ist mit einer größeren Gewebeschädigung bzw. Myokardschaden verbunden. In unserer Untersuchung fanden wir in der Tat eine Korrelation zwischen der Dauer der Aortaabklemmzeit und der Konzentrationen des Troloxäquivalenten 4 bzw. 24 Stunden postoperativ. Eine weitere Korrelation wurde zwischen den Konzentrationen des Troloxäquivalents und der Dauer des Intensivaufenthalts, der Dauer der mechanischen Beatmung, den GOT-Werten als Marker des Zellschadens, der Höhe der Dosis von Katecholaminen nachgewiesen. Des Weiteren wurde eine negative Korrelation zwischen den Troloxäquivalenten und dem mittleren arteriellen Blutdruck beobachtet.

Wie oben bereits diskutiert, unterstützen diese Korrelationen unsere These, dass die postoperative Erhöhung der antioxidativen Kapazität nicht durch die schnelle Regeneration oder de novo Synthese der antioxidativen Substanzen, sondern durch ihre Freisetzung aus dem vom operativen Stress geschädigten Gewebe zustande kommt. Man kann nicht ausschließen, dass während des postoperativen Verlaufes eine Synthese von antioxidativen Substanzen stattfindet. Die hier von uns angewandte Methodik ermöglicht nicht zwischen freigesetzten und synthetisierten Antioxidanten zu unterscheiden. Unsere Studie beweist jedoch, dass man während einer Herzoperation bei Kindern anhand des hohen TEAC-Wertes keinen protektiven Effekt voraussagen kann, sondern im Gegenteil postoperative Komplikationen befürchten muss.

Vergleichbare Daten über die Freisetzung von antioxidativen Substanzen aus dem durch operativen Stress geschädigten Gewebe stehen nicht zur Verfügung. Es gibt aber Hinweise in anderen Studien, die uns in dieser Aussage unterstützen, wie z.B. Untersuchungen ischämischer Muskeln von Ratten, in denen beobachtet wurde, dass die Ischämie zu einer Leckage der Zelle führt, wodurch die intrazelluläre Konzentration von reduziertem Glutathion (GSH) vermindert wird [64]. In einer anderen Studie wurden

kardiale Myozyten unter Anoxie gezüchtet; hierbei wurde festgestellt, dass die Leckage von Enzymen aus der Zelle durch reversible Veränderungen an den Membranen hervorgerufen wird [57]. Darüber hinaus wurde an unter ischämischen Bedingungen gezüchteten Ratten eine erhöhte *fatty-acid binding protein* (FABP)-Konzentration nachgewiesen; FABP gilt als Marker für Leckage an geschädigten Zellen [69]. Eine weitere Studie hat herausgefunden, dass die Leckage durch Peroxidation der Membranlipide hervorgerufen und dabei durch Vitamin E beeinflusst wird [68].

Die von uns durchgeführte Bestimmung von  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) im Plasma, bei der der Fluoreszenz-Detektor sich als mehr spezifisch als der UV-Detektor erwiesen hat, konnte in die Auswertung der Ergebnisse nicht einbezogen werden, da die Konzentrationen bei Kindern unterhalb der Nachweisgrenze blieben.

In der Zukunft sollen weitere, unsere Hypothese verifizierende Untersuchungen stattfinden. Ihr Fokus sollte dabei die Suche nach spezifischen Antioxidanten wie z.B. Glutathion im Verlauf einer Herzoperation sein.

## 5 Zusammenfassung

Der Ischämie/Reperfusion-Schaden und die Aktivierung von Neutrophilen sind die Hauptmechanismen, die zur Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen führen und dadurch den oxidativen Stress während des EKK verursachen. Weiterhin nimmt der oxidative Stress an der systemischen entzündlichen Reaktion teil und induziert das Entstehen eines Organschadens. Die totale antioxidative Kapazität besteht aus den enzymatischen und nicht enzymatischen Kontrollmechanismen gegen freie Sauerstoffradikale.

Es wird diskutiert, ob die totale antioxidative Kapazität während des EKK bei Kindern reduziert ist. Weiterhin nicht geklärt ist der Einfluss von präoperativer Hypoxämie gefolgt von Reoxygenation auf die totale antioxidative Kapazität bei den Patienten mit zyanotischen Herzfehlern. In unserer Studie überprüften wir die Hypothesen, dass der EKK die totale antioxidative Kapazität beeinflusst und dass die präoperative Zyanose den oxidativen Stress durch die Reduktion von totaler antioxidativen Kapazität verstärkt. Schließlich überprüften wir die klinische Relevanz der postoperativ veränderten totalen antioxidativen Kapazität.

26 Säuglinge und Kinder (im Alter von 6 bis 180 Monate) mit zyanotischen (Fallot'sche Tetralogie n=6) und nicht zyanotischen Herzfehlern (ASD, VSD, AV-Kanal n=20) wurden untersucht. Alle Patienten wurden in Vollnarkose operiert und mit reinem Sauerstoff während der Operation mechanisch beatmet. Die Operationen fanden in Hypothermie mit EKK statt, entweder mit oder ohne KSS, wobei während des EKK ein  $FiO_2$  von 1,0 angewandt wurde.

Die totale antioxidative Kapazität des Plasmas wurde ermittelt durch die Bestimmung von TEAC vor, während und nach der Operation bis zum zehnten postoperativen Tag.

Die Konzentration von Triglyceriden im Plasma wurde gemessen, um den Einfluss der Verdünnung auf den TEAC-Wert auszuschließen. Die TEAC-Werte wurden bezüglich operativer Variablen wie Dauer des EKK, Dauer der Aortaabklemmzeit und Dauer des KSS sowie klinischer Parametern wie hämodynamische Variablen einschließlich der Dosis von Katecholaminen, den Nieren- und Leber- Funktionsparametern, dem Oxygenationindex und der Dauer des Intensivaufenthalts analysiert.

Bei allen Kindern zeigten die TEAC-Werte einen signifikanten Abfall nach der Einleitung der Anästhesie mit Hyperoxygenation ( $p < 0,001$ ). Die Hämodilution konnte als Einflussfaktor für den beobachteten Abfall von TEAC-Werten ausgeschlossen werden durch Analyse der Konzentrationen von Triglyceriden, die zum diesem Zeitpunkt unverändert waren. Während des EKK gab es keinen weiteren Abfall der TEAC-Werten, sondern einen kontinuierlichen Anstieg bis zum Ende des EKK. Die TEAC-Werte nach der Protamingabe zeigten einen signifikant höheren Wert als 10 min nach dem Start des EKK ( $p < 0,001$ ). Ab Ende des EKK bis zum zehnten postoperativen Tag bestand kein weiterer Unterschied in Bezug auf die TEAC-Werten. Die präoperativen TEAC-Werte waren bei zyanotischen und nicht zyanotischen Patienten ähnlich. TEAC-Werte waren jedoch signifikant höher bei zyanotischen Kindern 4 und 24 Stunden postoperativ ( $p < 0,001$ ).

Die TEAC-Werte 4 und 24 Stunden postoperativ korrelierten positiv mit der Dauer der Aortaabklemzeit (Spearman 0,4 ( $p < 0,05$ ) und 0,5 ( $p < 0,005$ )). Postoperative TEAC-Werte korrelierten negativ mit dem arteriellen Mitteldruck und positiv mit der Menge von zugeführten Katecholaminen und Leberenzymen, mit der Dauer der mechanischen Beatmung und mit der Dauer des Intensivaufenthalts.

Unsere Ergebnisse zeigen erstmalig, dass die Einleitung der Anästhesie mit mechanischer Beatmung unter reinem Sauerstoff und nicht der EKK mit

Ischämie/Reperfusion eine signifikante Abnahme der totalen antioxidativen Kapazität bei am Herz operierten Kindern verursacht. Diese Abnahme ist vorübergehend und besteht bis zum ersten postoperativen Tag. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Bestimmung von totaler antioxidativer Kapazität mittels Troloxäquivalents keine Aussagen über den Einfluss von Hypoxämie zulässt. Wir fanden, dass die Patienten mit größerem operativem Stress und ungünstigerem postoperativem Verlauf höhere TEAC-Werte nach der Operation zeigen, was wir als Zeichen der Freisetzung von Antioxidanten aus den geschädigten Geweben und nicht als bessere Regeneration der antioxidativen Kapazität interpretieren. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um erneut synthetisierte Antioxidanten von ins Plasma der Patienten freigesetzten zu unterscheiden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Adams DH, Shaw S. Leukocyte-endothelial interactions and regulation of leukocyte migration. *Lancet* 1994; 343:831-836
2. Allen BS, Shaikh Rahman, Ilbawi Michel, Kronon Michael, Bolling Kirk, Halldorsson Ari, Feinberg Harold: Detrimental effects of cardiopulmonary bypass in cyanotic infants preventing the reoxygenation injury. *Ann Thorac Surg* 1997; 64:1381-8
3. Allen JW, Cox TA, Kloner RA: Myocardial stunning: A post-ischemic syndrome with delayed recovery. *Myocardial Ischemia: Mechanisms, Reperfusion, Protection*. Ed. by Karmazyn; 1996 Birkhäuser Verlag Basel/ Switzerland
4. Baker EJ, Boerboom LE, Olinger GN, Baker JE: Tolerance of the developing heart to ischemia: impact of hypoxemia from birth. *Am J Physiol*. 1995 Mar; 268(3 Pt 2):H11 165-73
5. Berg van den R., Haenen G.R.M.M., Berg van den H., Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for the evaluation of the antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry* 1999; 66: 511-517.
6. Biagioli B, et al: Reduction of oxidative stress does not affect recovery of myocardial function: warm continuous versus cold intermittent blood cardioplegia. *Heart*. 1997 May; 77(5); 465-73
7. Blake DR, Allen RE, Lunec J: Free radicals in biological system – a review orientated to inflammatory processes. *Br Med Bull* 1987; 43: 371-385
8. Bolli R, Patel BS, Jeroudi MO, Lai KE, McCay PB: Demonstration of free radical generation in „stunned” myocardium of intact dogs with the use of the spin trap alpha-phenyl N- tert-butyl nitron. *J Clin Invest* 1988 Aug; 82(2):476-85
9. Boyle EM Jr, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED: Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: ischemia-reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1996 Dec; 62(6):1868-75

10. Boyle EM, Cauty TG, Morgan EN, Yun W, Pohlman TH, Verrier ED: Treating myocardial ischemia- reperfusion injury by targeting endothelial transcription. *Ann Thorac Surg* 1999 Nov; 68(5):1949-53. Review.
11. Butler J, Rucker GM, Westaby S: Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993 Feb; 55(2):552-9
12. Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, Meng X, Banerjee A, Harken AH: Adenosine reduces cardiac TNF-alpha production and human myocardial injury following ischemia-reperfusion. *J Surg Res.* 1998 May; 76(2):117-23
13. Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, Meng X, Joo KS, Banerjee A, Harken AH: Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta synergistically depress human myocardial function. *Crit Care Med.* 1999 Jul; 27(7):1309-18
14. Castelli P, Condemi AM, Brambillasca C, Fundaro P, Botta M, Lemma M, Vanelli P, Santoli C, Gatti S, Riva E: Improvement of cardiac function by allopurinol in patients undergoing cardiac surgery. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995 Jan; 25(1):119-25
15. Chaturverdi RR, F Shore, Ch Lincoln, Sh Mumby, M Kemp, J Brierly, A Petros, J Gutteridge, J Hooper, A Redington: Acute right ventricular restrictive physiology after repair of tetralogy of Fallot: Association with myocardial injury and oxidative stress. *Circulation.* 1999 Oct 5; 100(14):1540-7
16. Chen CC, Rosenbloom CL, Anderson DC, Manning AM: Selective inhibition of E-selectin, vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression by inhibitors of I kappa B-alpha phosphorylation. *J Immunol* 1995 Oct 1; 155(7):3538-45
17. Coghlan JG, Flitter WD, Clutton SM, Ilesley CD, Rees A, Slater TF: Lipid peroxidation and changes in vitamin E levels during coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993 Aug; 106(2):268-74
18. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T: Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J* 1995 Jul; 9(10):899-909

19. Conner EM, Grisham MB: Inflammation, free radicals and antioxidants. *Nutrition* 1996 Apr; 12(4):274-7
20. Corno A, Samaja M, Casalini S, Alibardi S: The effects of the rate of reoxygenation on the recovery of hypoxemic hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109:1250-1
21. Del Nido PJ, Mickle DA, Wilson GJ, Benson LN, Coles JG, Trusler GA, Williams WG: Evidence of myocardial free radical injury during elective repair of tetralogy of Fallot. *Circulation* 1987 Nov; 76(5Pt2):V174-9
22. Dhaliwal H, Kirshenbaum LA, Randhawa AK, Singal PK : Correlation between antioxidant changes during hypoxia and recovery on reoxygenation. *Am J Physiol* 1990;261: H632-8
23. Economou-Petersen E, Aessopos A., Kladi A, Flevari P, Karabatsos F, Fragodimitri C, Nicolaidis P, Vrettou H, Vassilopoulos D, Karagiorga-Lagana M, Kremastinos D, Petersen M: Apolipoprotein E epsilon4 allele as a genetic risk factor for left ventricular failure in homozygous beta-thalassemia. *Blood*. 1998 Nov 1; 92(9);3455-9
24. Engels W, Van Bilsen M, De Groot MJ, Lemmens PJ, Willemsen PH, Reneman RS, Van der Vusse GJ: Ischemia and reperfusion induced formation of eicosanoids in isolated rat hearts. *Am J Physiol* 1990 Jun; 258(6 Pt);H 1865-71
25. Fabiani JN, Farah B, Vuilleminot A, Lecompte T, Emerit I, Chardigny C, Carpentier A.: Chromosomal aberrations and neutrophil activation induced by reperfusion ischaemic human heart. *Eur Heart J*.1993 Nov; 14Suppl G;12-7
26. Finn A, Moat N, Rebeck N, Klein N, Strobel S, Elliott M: Changes in neutrophil CD11b/CD18 and L-selectin expression and release of interleukin 8 and elastase in paediatric cardiopulmonary bypass. *Agents Actions* 1993;38 Spec No:C44-6
27. Forman MB, Puett DW, Virmani R: Endothelial and myocardial injury during ischemia and reperfusion:pathogenesis and therapeutic implications. *J Am Coll Cardiol*. 1989 Feb;13(2):450-9
28. Frangogiannis NG, Youker KA, Entman ML: The role of the neutrophil in myocardial ischemia and reperfusion. Review. *Myocardial Ischemia: Mechanisms,*

- Reperfusion, Protection. Ed. by Karmazyn;1996, Birkhäuser Verlag Basel/Switzerland
29. Gaboury JP, Anderson DC, Kubes P: Molecular mechanisms involved in superoxide-induced leukocyte-endothelial cell interactions in vivo. *Am J Physiol* 1994 Feb;266(2 Pt 2):H637-42
  30. Galinanes M, Watson C, Trivedi U, Chambers DJ, Young CP, Venn GE: Differential patterns of neutrophil adhesion molecules during cardiopulmonary bypass in humans. *Circulation* 1996 Nov 1;94(9 Suppl):II364-9
  31. Gemsa D., J.Kalden, K Resch: *Immunologie; Grundlagen-Klinik-Praxis*. Thieme Verlag
  32. Godin DV, Ko KM, Garnett ME: Altered antioxidant status in the ischemic/reperfused rabbit myocardium: effects of allopurinol. *Can J Cardiol* 1989; 5: 365-71
  33. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8
  34. Hammerman C, Kaplan M: Ischemia and reperfusion injury, The ultimate pathophysiologic paradox. *Clin Perinatol*. 1998 Sep;25(3):757-77. Review.
  35. Hearse DJ: Myocardial protection during ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem*. 1998 Sep;186(1-2):177-84
  36. Ihnken K, Morita K, Buckberg GD: Delayed cardioplegic reoxygenation reduces reoxygenation injury in cyanotic immature hearts. *Ann Thorac Surg* 1998 Jul; 66(1):177-82
  37. Ihnken K, Morita K, Buckberg G, Winkelmann B, Beyersdorf F, Sherman M: Reduced oxygen tension during cardiopulmonary bypass limits myocardial damage in acute hypoxic immature piglet hearts. *Eur J Cardio-thorac Surg* 1996; 10:1127-1135
  38. Ihnken K, Morita K, Buckberg G, Winkelmann B, Young H, Beyersdorf F: Controlling oxygen content during cardiopulmonary bypass to limit

reperfusion/reoxygenation injury. Transplantation Proceedings, 1995 Oct pp2809-2811

39. Ihnken K, Morita K, Buckberg GD, Ihnken O, Winkelmann B, Sherman M: Prevention of reoxygenation injury in hypoxaemic immature hearts by priming the extracorporeal circuit with antioxidants. *Cardiovasc Surg* 1997 Dec; 5(6) :608-19
40. Irving Shen, R. Ungerleider: Current strategies for protecting the neonatal myocardium during congenital cardiac repair. International Symposium on the Pathophysiology of Cardiopulmonary Bypass, Aachen, December 16, 2000
41. Jenkins DP: Are patients with poor left ventricular function more prone to oxidative stress during cardiac surgery? *Heart*. 1998 Mar;79(3): 219
42. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR: Canine myocardial reperfusion injury. 1st reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 1984 Mar; 54(3):277-85
43. Kawahito K, Kobayashi E, Ohmori M, Harada K, Kitoh Y, Fujimura A, Fuse K: Enhanced responsiveness of circulatory neutrophils after cardiopulmonary bypass: increased aggregability and superoxide producing capacity. *Artif Organs* 2000 Jan;24(1);37-42
44. Kawamura T, Nara N, Kadosaki M, Inada K, Endo S: Prostaglandin E reduces myocardial reperfusion injury by inhibiting proinflammatory cytokines production during cardiac surgery. *Crit Care Med* 2000 Vol. 28, No 7
45. Ki-Bong Kim, Chung HH, Kim MS, Rho JR: Changes in the antioxidative defensive system during open heart operations in humans. *Ann Thorac Surg* 1994 Jul;58(1):170-5
46. Lefer AM, Tsao PS, Lefer DJ, Ma XL: Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of reperfusion injury after myocardial ischemia. *FASEB J* 1991 Apr;5(7):2029-34

47. Li RK, Mickle DA, Weisel RD, Tumiati LC, Jackowski G, Wu TW, Williams WG: Effect of oxygen tension on the anti-oxidant enzyme activities of tetralogy of Fallot ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1989 Jun; 21(6):567-75
48. Lindal S, Sörlie D, Jörgensen L. Endothelial cells of the cardiac microvasculature during and after cold cardioplegic ischemia. Comparison of endothelial and myocyte damage. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 22: 257-265
49. Löffler G, Petrides PE: *Biochemie und Pathobiochemie*. 6 Auflage, Springer
50. MacGowan SW, Regan MC, Malone C, Sharkey O, Young L, Gorey TF, Wood AE: Superoxide radical and xanthine oxidoreductase activity in the human heart during cardiac operations. *Ann Thorac Surg*. 1995 Nov; 60(5): 1298-93
51. McColl AJ, et al: Plasma antioxidants: evidence for a protective role against reactive oxygen species following cardiac surgery. *Ann Clin Biochem*. 1998;35 (Pt 5):616-23
52. McCord JM: Human disease, free radicals and oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993 Oct; 26(5):351-7
53. Meldrum DR, Cleveland JC Jr, Sheridan BC, Rowland RT, Banerjee A, Harken AH: Cardiac surgical implications of calcium dyshomeostasis in the heart. *Ann Thorac Surg* 1996 Apr; 61(4):1273-80
54. Morita K, Ihnken K, Buckberg GD, Sherman MP, Young HH: Studies of hypoxemic/reoxygenation injury: without aortic clamping. IX. Importance of avoiding perioperative hyperoxemia in the setting of previous cyanosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995 Oct;110(4 Pt 2):1235-44
55. Morita K, Ihnken K, Buckberg G, Winkelmann B, Schmitt M, Ignarro L, Sherman M: Nitric-oxide induced reoxygenation injury in the cyanotic immature heart is prevented by controlling oxygen content during initial reoxygenation. *Angiology* 1997 Mar; 48(3):189-202
56. Pesonen EJ, Korpela R, Leijala M, Sairanen H, Pitkanen OM, Raivio KO, Venge P, Andersson S: Prolonged granulocyte activation, as well as hypoxanthine and free

- radical production after open heart surgery in children. *Intensive Care Med.* 1996 May; 22(5):500-6
57. Piper HM, Hutter JF, Spieckerman PG: Relation between enzyme release and metabolic changes in reversible anoxic injury of myocardial cells. *Life Sci* 1984 Jul 9; 35(2):127-34
58. Pyles LA, Fortney JE, Kudlak JJ, Gustafson RA, Einzig S: Plasma antioxidant depletion after cardiopulmonary bypass in operations for congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995 Jul; 110(1):165-71
59. Read MA, Whitley MZ, Williams AJ, Collins T: NF-kappa B and I kappa B alpha: an inducible regulatory system in endothelial activation. *J Exp Med.* 1994 Feb 1; 179(2):503-12
60. Romaschin AD, Rebeyka I, Wilson GJ, Mickle DAG: Conjugated dienes in ischemic and reperfused myocardium: an in vivo chemical signature of oxygen free radical mediated injury. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 289-302
61. Rudolph W: Myocardial metabolism in cyanotic congenital heart disease. *Cardiology* 1972; 56:209-15
62. Schwartz JD, Shamamian P, Schwartz DS, Grossi EA, Jacobs CE, Steiner F, Minneci PC, Baumann FG, Colvin SB, Galloway AC: Cardiopulmonary bypass primes polymorphonuclear leukocytes. *J surg Res* 1998 Mar; 75(2): 177-82
63. Seghaye MC, Duchateau J, Grabitz RG, Taymonville MC, Messmer BJ, Buro-Rathsmann K, Bernuth von G., Complement activation during cardiopulmonary bypass in infants and children. *J Thor Cardio Surgery* 1993; 106: 978-87
64. Sirsjo A, Arstrand K, Kagedal B, Nylander G, Gidlof A: In situ microdialysis for monitoring of extracellular glutathione levels in normal, ischemic and post-ischemic skeletal muscle. *Free Radic Res* 1996 Nov; 25(5):385-91
65. Starkopf J, Tamme K, Zilmer M, Talvik R, Samarütel J: The evidence of oxidative stress in cardiac surgery and septic patients: a comparative study. *Clin Chim Acta.* 1997 Jun 27; 262(1-2):77-88

66. Starkopf J, Zilmer M, Vihalemm T, Kullisaar T, Zilmer M, Samarütel J: Time course of oxidative stress during open-heart surgery. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;29(4):181-6
67. Stryer L: *Biochemie*. 4. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg
68. Sumida S, Tanaka K, Kitao H, Nakadomo F: Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int J Biochem* 1989;21(8):835-8
69. Takahashi H, Kawaguchi H, Iizuka K, Yasuda H: The leakage of fatty acid binding protein from cultured myocardial cells during hypoxia. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991 Dec;5(6):1021-6
70. Teoh KH, Mickle DA, Weisel RD, Li RK, Tumiati LC, Coles JG, Williams WG: Effect of oxygen tension and cardiovascular operations on the myocardial antioxidant enzyme activities in patients with tetralogy of Fallot and aorta-coronary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992 Jul; 104(1): 159-64
71. Toft P, Christiansen K, Tonnesen E, Nielssen CH, Lillevang S: Effect of methylprednisolone on the oxidative burst activity, adhesion molecules and clinical outcome following open heart surgery. *Scand Cardiovasc J*. 1997;31(5):283-8
72. Toft P, Nielsen CH, Tonnesen E, Hansen TG, Hokland M: Changes in adhesion molecule expression and oxidative burst activity of granulocytes and monocytes during open-heart surgery with cardiopulmonary bypass compared with abdominal surgery. *Eur J Anaesthesiol*. 1998 May;15(3):345-53
73. Vaage J, Valen G: Pathophysiology and mediators of ischemia-reperfusion injury with special reference to cardiac surgery. Review. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg Suppl* 1993;41:1-18
74. Valen G, Vaage J: Toxic oxygen metabolites and leukocytes in reperfusion injury. Review. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg Suppl* 1993; 41:19-29

75. Vinten-Johansen J: Ischemia-Reperfusion injury related to cardiac surgery. International Symposium on the Pathophysiology of Cardiopulmonary Bypass, Aachen, December 16, 2000
76. Weisel RD, Mickle DA, Finkle CD, Tumiati LC, Madonik MM, Ivanov J, Burton GW, Ingold KU: Myocardial free-radical injury after cardioplegia. *Circulation* 1989 Nov; 80(5Pt2):III14-8
77. Weiss SJ., Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320:365-76
78. Winn RK, Ramamoorthy C, Vedder NB, et al. Leukocyte-endothelial cell interactions in ischemia-reperfusion injury. *Ann NY Acad Sci* 1997; 832:311-21

## 7 Danksagung

Herrn Universitätsprofessor Dr. G. von Bernuth danke ich für die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit in seiner Klinik für Kinderkardiologie der RWTH Aachen.

Frau Professor Dr. Marie–Christine Seghaye, der außerordentlichen Betreuerin dieser Arbeit, möchte ich für die mir gegebene Möglichkeit zur Dissertation, die klinische Erfahrung, die ich während der Entstehung dieser Arbeit gewonnen habe, die Einführung in die Welt der Forschung und ihre vielseitige Unterstützung danken.

Herrn Dr. (PhD) Chris Evelo möchte ich für die unter seiner Aufsicht durchgeführten laborchemischen Untersuchungen im Department of Pharmacology & Toxicology, University of Maastricht, Niederlande, seine hervorragende Hilfe bei der Interpretation der erhobenen Ergebnisse und seine kritische Diskussion danken.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Universitäts–Professor Dr. B. J. Messmer (Klinik für Thorax, Herz und Gefäßchirurgie der RWTH Aachen) und der Klinik für Anästhesiologie.

Ebenso danke ich der Abteilung für Kinderkardiologie und Kinderintensivstation der RWTH Aachen.

Meinen Eltern danke ich für den mir beigebrachten Willen zu Herausforderungen, Arbeiten und Weiterentwicklung.

Mein Dank gilt Herrn K. Steilmann für sein Vertrauen, die mir gegebene Chance und seine Unterstützung bei der Realisierung meiner Ausbildung.

Markus Duhme danke ich für die psychische Unterstützung und den technischen Einsatz während der Entstehung dieser Arbeit.

## 8 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Magdalena Sokalska  
 Geburtsdatum: 14. Februar 1977  
 Geburtsort: Wroclaw (Polen)  
 Staatsangehörigkeit: Polnisch

### Schulbesuch

1983 – 1991 Grundschule Marie Curie, Wroclaw  
 1991 – 1995 Gymnasium Heilige Jadwigen, Wroclaw  
 1995 Abitur

### Studium

10/95 – 09/97 Medizinstudium an der Medizinischen Akademie Schlesische  
 Piasten in Wroclaw, Fakultät Humanmedizin  
 seit 10/97 Medizinstudium an der Rheinisch-Westfälischen Technischen  
 Hochschule Aachen  
 08/98 Erstes Staatsexamen an der RWTH Aachen  
 08/00 Zweites Staatsexamen an der RWTH Aachen  
 seit 12/98 Doktorarbeit auf dem Gebiet der Herz-Thorax-Chirurgie bei  
 Professor Dr.med. G. von Bernuth und Frau Professor Dr.med.  
 Seghaye, RWTH Aachen, in Zusammenarbeit mit der Freien  
 Universität Brüssel, Belgien, und der Universität Maastricht,  
 Niederlande.  
 Thema: Totale anti-oxidative Kapazität bei mit extrakorporalem  
 Kreislauf operierten Kindern  
 06/02 Drittes Staatsexamen an der RWTH Aachen; Abschluss des  
 Medizinstudiums

### **Famulatur**

- 09/97 Martin-Luther-Krankenhaus in Bochum, Deutschland,  
Unfall- und Visceralchirurgie, Professor Dr.med. W.  
Haarmann
- 03/98 Universitätsklinikum der RWTH Aachen, Medizinische  
Klinik I – Kardiologie, Professor Dr.med. P. Hanrath
- 09/98 – 11/98 Medizinische Akademie Wroclaw, Kardiologie, Professor  
Dr.hab. Bogumil Hallawa

### **Praktisches Jahr**

- 04/01 – 08/01 Chirurgische Klinik, Professor Dr.med. P. Buchmann,  
Waidspital in Zürich, Schweiz
- 09/01 – 12/01 Department of Cardiac Surgery, Prof. M. Galinanes,  
Glenfield Hospital at the University of Leicester,  
Großbritannien
- 12/01 – 03/02 Medizinische Klinik, Universitätsklinikum der RWTH  
Aachen

### **Beruflicher Werdegang**

- seit 08/02 Ärztin im Praktikum am Deutschen Herzzentrum München,  
Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler,  
Professor Dr.med. J. Hess
- 08/02 Projekt am Deutschen Herzzentrum München:  
Thema: Intrazerebrale Freisetzung von Zytokinen nach  
Herzoperation mit extrakorporalem Kreislauf

### **Vorträge und Veröffentlichungen**

- 03/01 Poster mit mündlicher Präsentation, 5<sup>th</sup> Medical Research  
Student Congress in Maastricht, Niederlande
- 11/01 Vortrag auf der 12<sup>th</sup> European Student Conference, Berlin

