

**Myokardiale Expression von Estrogenrezeptoren bei
Patienten mit angeborenem Herzfehler**

Julia Faber

Myokardiale Expression von Estrogenrezeptoren bei
Patienten mit angeborenem Herzfehler

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Julia Faber
aus
Mönchengladbach

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

Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Götz von Bernuth

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Januar 2010

**Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online
verfügbar.**

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Östrogene	1
1.2 Aufbau Estrogenrezeptoren (ERs).....	1
1.3 Wirkung Estrogenrezeptoren	3
1.3.1 Genomische Aktivität des Estrogenrezeptors	3
1.3.2 Nicht genomische Aktivität des Estrogenrezeptors	4
1.4 Wirkung Östrogene	4
1.5 B-type natriuretic peptide (BNP)	8
1.6 Troponin	9
2. Zielsetzung unserer Studie.....	10
3. Patienten und Methodik	11
3.1 Patienten	11
3.2 Perioperative Überwachung und Therapie	11
3.2.1 Anästhesie und Medikamente	11
3.2.2 Extra-Korporaler-Kreislauf (EKK)	12
3.3 Postoperative Überwachung und Therapie.....	13
3.3.1 Postoperative Überwachung	13
3.3.2 Postoperative Therapie	13
3.4 SCORE-Systeme	14
3.5 Methodik	14
3.5.1 Materialgewinnung	14
3.5.2 Molekularbiologische Auswertung.....	15
3.6 Übrige Laborparameter	18
3.7 Statistische Auswertung.....	19
4. Ergebnisse	20
4.1 Expression des Estrogenrezeptors $\alpha\&\beta$	20
4.2 Expression ER $\alpha\&\beta$ und Alter	21
4.3 Expression ER $\alpha\&\beta$ und Geschlecht	22
4.4 BNP-Expression im rechten Atrium	23
4.5 BNP-Expression und Alter	24
4.6 BNP-Expression und Geschlecht.....	25
4.7 Zusammenhang zwischen der Expression von ER $\alpha\&\beta$ und BNP	26
4.8 Estrogenrezeptor $\alpha\&\beta$ - und BNP-Expression und Klinik	27

4.8.1 Oxygenierungsparameter	27
4.8.2 SCORE-Systeme	28
4.8.3 Kreislaufparameter	30
4.8.4 Flüssigkeitszufuhr.....	31
4.8.5 Laborwerte	32
4.8.6 Medikamentenbedarf.....	33
4.9 Klinische Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Patienten	34
5. Diskussion	37
5.1 Expression des Estrogenrezeptor $\alpha\&\beta$	37
5.2 Expression ER $\alpha\&\beta$ und Alter.....	37
5.3 Expression ER $\alpha\&\beta$ und Geschlecht	38
5.4 BNP-Expression im rechten Atrium	39
5.5 Zusammenhang der Expression von ER $\alpha\&\beta$ und BNP	41
5.6 Estrogenrezeptor $\alpha\&\beta$ - und BNP-Expression und Klinik	42
5.6.1 Oxygenierungsparameter.....	42
5.6.2 SCORE-Systeme	43
5.6.3 Kreislaufparameter	44
5.6.4 Flüssigkeitszufuhr.....	45
5.6.5 Troponin T	45
5.6.6 Medikamentenbedarf.....	46
5.7 Klinische Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Patienten	47
5.8 Limitationen unserer Studie	49
6. Zusammenfassung.....	51
7. Literaturverzeichnis	55
8. Anhang	62
8.1 Anhang des Material- und Methodenkapitels.....	62
8.2 Anhang des Ergebnisteils	64

Abkürzungsverzeichnis

ACE	angiotensin-converting-enzyme
ANF	Atrialer natriuretischer Faktor
BNP	B-type natriuretic peptide
cDNA	complementary DNA
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphat
E2	Östradiol
iNOS	Induzierbare Stickstoffsynthase
EKG	Elektokardiogramm
EKK	Extra-Korporaler-Kreislauf
eNOS	Endothelständige Stickstoffsynthase
ERE	estrogen responsive element
ERR	estrogen related receptor
ERs	Estrogenrezeptoren (estrogenreceptors)
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
GLUT	Glukosetransporter
GOT	Glutamat-Oxaloazetat-Transaminase
HF	Herzfrequenz
HK	Herz-Kreislauf
HLM	Herz-Lungen-Maschine
IL	Interleukin
I/R	Ischämie/Reperfusion
KC	keratinocyte-derived chemokine
KHK	Koronare Herzkrankheit
LH	Luteinisierendes Hormon
MAD	Mittlerer arterieller Druck
MAPK	mitogen-activated protein kinase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffsynthase
NR	Nukleärer Rezeptor
PaO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PI3K	Phosphoinositol-3-Kinase
ROS	Reaktive Sauerstoffradikale

RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SaO ₂	Sauerstoffsättigung
TNF	Tumor Nekrose Faktor
ZVD	Zentralvenöser Druck

1. Einleitung

1.1 Östrogene

Östrogene sind Steroidhormone. Ihre Biosynthese verläuft über die Zwischenstufe der Androgene. Sie werden vorwiegend im Ovar, der Plazenta und in den Thekazellen des Graaf-Follikels und in geringer Menge auch in den Testes sowie der Nebennierenrinde produziert. Ein gewisser Teil des Geschlechtshormons Testosteron wird im Fettgewebe durch die Aromatase zu Östrogenen gespalten. Gesteuert wird die Produktion über die Hypophysenhormone LH und FSH. Die Serumkonzentrationen von Östrogenen sind geschlechts-, zyklus-, und altersabhängig (Normwerte siehe Tab. 1.1, (Hallbach 2006; Thomas 2008)). Die größte Wirksamkeit der Östrogene besitzt das Östradiol (E2). Östron (E1) und Östriol (E3) sind weniger effektiv (relative Wirksamkeit E2:E1:E3= 10:5:1) (Silbernagel 2001).

Normwerte Östradiol

	Östradiol (ng/l)
Frauen	
<i>Follikelphase</i>	30-300
<i>Ovulationsphase</i>	100-600
<i>Lutealphase</i>	100-300
<i>Postmenopause</i>	<10
<i>Präpuberale Mädchen</i>	<5-15
Männer	<10

Tabelle 1.1 (Hallbach 2006; Thomas 2008)

1.2 Aufbau Estrogenrezeptoren (ERs)

Es gibt zwei bekannte Isoformen des Estrogenrezeptors. 1996 entdeckten Kuiper et al., zu der seit 1986 bekannten Isoform (Greene, Gilna et al. 1986), einen weiteren Rezeptor. Daraufhin wurde der bereits bekannte Rezeptor Estrogenrezeptor alpha (ER α) und der neu Entdeckte Estrogenrezeptor beta (ER β) genannt (Kuiper, Enmark et al. 1996).

Die ERs gehören zur nukleären Rezeptor (NR) Genfamilie der Transkriptionsfaktoren. Die molekulare Struktur dieser Rezeptoren kann in

sechs funktionelle Abschnitte unterteilt werden (Parker 1990). Diese werden mit A-F bezeichnet.

N-terminal liegt die A/B-Domäne, deren Länge sehr variiert und die die geringste Homogenität innerhalb der Familie aufweist. Diese Region beinhaltet eine ligandenunabhängige Transaktivierungsdomäne (AF-1).

An diese Region schließt sich die DNA-bindende Domäne oder C-Domäne an. Dort befinden sich zwei Zink-Finger. Diese enthalten die P-Box, welche den NRs die Spezifität verleiht, an bestimmte Stellen der DNA zu binden.

Die C-Region ist mit der Gelenk-Region oder D-Domäne verbunden. Hier können Coregulatoren binden.

Am COOH-terminalen Ende liegt die E/F-Region. Dieser Abschnitt wird mit der Bindung von Hitze-Schock-Proteinen, NR (Ant)Agonisten und Co-Faktoren in Verbindung gebracht. Des Weiteren ist dieser Teil für die nukleäre Lokalisation und Dimerisation zuständig. Hier liegt auch die hormon-induzierte Transkriptions-Aktivierungs-Funktion (AF-2).

AF-1 aus der A/B-Domäne und AF-2 sind für eine maximale ER-Transkriptionsaktivität vonnöten (Gustafsson 1999).

ER α beinhaltet 595 Aminosäuren, während ER β nur aus 530 Aminosäuren besteht. ER β weist besonders in der F-Region eine geringere Länge auf (Mosselman, Polman et al. 1996). Diese Region ist hauptsächlich für (ant)agonistische Effekte bestimmter Anti-Östrogene zuständig (Montano, Muller et al. 1995).

Für die Sequenz von ER α sind drei Polymorphismen (PVU II, XbaI, b-variant Polymorphismus) gefunden worden. Die Bedeutung dieser Polymorphismen im Herzen ist nicht bekannt (Babiker, De Windt et al. 2002).

ERs wurden bei der Frau und beim Mann in atrialen und ventrikulären Myozyten und in kardialen Fibroblasten identifiziert. Im Herzen existieren beide Isoformen (Grohe, Kahlert et al. 1997).

Bestimmte Studien mit ER α und ER β Doppel-Knockout-Mäusen ließen vermuten, dass weitere Rezeptoren existieren (Hawkins, Thornton et al. 2000).

Diese werden „estrogen related receptors“ (ERRs) genannt. Die ERR-Familie beinhaltet drei Mitglieder: ERR α , ERR β , ERR γ . Diese scheinen eine wichtige Rolle im skelettalen und kardialen Energiehaushalt zu spielen (Huss and Kelly 2004).

Des Weiteren wurde ein östrogensensitiver, G-Protein gekoppelter Rezeptor, GPR30, in der Plasmamembran entdeckt. Dieser wird in Zusammenhang mit den nicht-genomisch vermittelten Signalwegen von Östrogen gebracht (Prossnitz, Oprea et al. 2008).

Bis jetzt existieren keine Daten, ob das kindliche Herz ERs exprimiert und ob die Menge an Rezeptoren mit dem des adulten Herzen vergleichbar ist .

Darüber hinaus ist bekannt, dass bei Erwachsenen die ERs bei Herzfehlern hochreguliert werden (Nordmeyer, Eder et al. 2004; Mahmoodzadeh, Eder et al. 2006). Für das Kindesalter existieren hierzu keine Daten.

1.3 Wirkung Estrogenrezeptoren

Östrogene wirken über Änderungen der Genexpression von Zielgenen nach einigen Stunden, sowie innerhalb von Minuten über nicht genomisch vermittelte Signalwege.

1.3.1 Genomische Aktivität des Estrogenrezeptors

Estrogenrezeptoren können über direkte und indirekte Bindung an die DNA die Transkription von Zielgenen regulieren.

Direkte Bindung der DNA

E2 bindet nach Diffusion in die Zielzelle an die ERs. Dies bewirkt eine Dissoziation von Chaperonen, eine Konformationsänderung und eine Aktivierung der Transkriptionsdomäne. Nach der Translokation in den Kern binden die ERs als Homo- oder Heterodimere P-Box-vermittelt an spezifische Sequenzen der DNA (EREs, estrogen-responsive-elements). Die unterschiedlichen EREs beeinflussen auch die Affinität der Bindung der ERs. Außerdem bewirken die EREs eine Konformationsänderung der Rezeptoren und beeinflussen dadurch die Bindung von Co-Aktivatoren. Somit trägt die Sequenz der EREs zum Ausmaß der Transkription bei (Marino, Galluzzo et al. 2006).

Indirekte Bindung der DNA

ERs können indirekt über andere Transkriptionsfaktoren an Promotoren binden. Dieser Mechanismus wird „transcriptional cross-talk“ genannt. Dies erklärt auch die Transkription von Genen, deren Promoterregion keine EREs enthält. Es hat

sich gezeigt, dass ER α und ER β bei dieser Protein-Protein-Bindung der DNA nicht immer die gleichen Effekte auf die Expression haben (Marino, Galluzzo et al. 2006).

Transkriptions-Kofaktoren

Die Transkription wird nicht allein über die direkte oder indirekte Bindung der ERs an die DNA gesteuert. Zur Aktivierung oder Suppression sind Coaktivatoren oder Repressoren nötig. Diese können wiederum von Kinasen phosphoryliert werden. Der Phosphorylierungszustand der Faktoren beeinflusst die Affinität zu den ERs (Marino, Galluzzo et al. 2006).

1.3.2 Nicht genomische Aktivität des Estrogenrezeptors

Plasmamembran-assoziierte ERs können über Signalwege sowohl cytoplasmatische Veränderungen, als auch eine Regulation der Genexpression über Phosphorylierung von ERs oder Coaktivatoren und Corepressoren bewirken. Es sind bis jetzt vier Hauptkaskaden bekannt, über die der E2-ER-Komplex wirkt: Phospholipase-C/Protein-kinase-C, Ras/Raf/MAPK, Phosphatidyl-Inositol-3-kinase/AKT und cAMP/Protein-kinase A. Diese Kaskaden interagieren wiederum mit zahlreichen weiteren Kaskaden (Marino, Galluzzo et al. 2006). In den letzten Jahren wurde entdeckt, dass E2 auch an einen 7-transmembran G-Protein- gekoppelten Rezeptor, GPR-30, binden kann und hierüber nicht genomische Signalwege aktiviert (Prossnitz, Oprea et al. 2008).

1.4 Wirkung Östrogene

Es wird berichtet, dass Östrogene, neben den altbekannten Wirkungen auf das reproduktive System, Einflüsse auf viele weitere Organsysteme haben. So ist unter anderem belegt, dass Östrogene Effekte auf die Blutgerinnung, das Knochenwachstum, die Mineralisierung des Knochens und die Zusammensetzung der Cholesterine im Blut haben (Schmidt 2007). Die Wirkung von Östrogenen auf den Körper ist zur Zeit ein Feld intensiver Forschung, welches ständig neue Erkenntnisse hervorbringt. Auch der Einfluss von weiteren Geschlechtshormonen wie Progesteron und Testosteron lassen spannende Einsichten erwarten.

Unterschiede zwischen Frauen und Männern in vielen klinischen Situationen legen die Vermutung nahe, dass Geschlechtshormone ein ursächlicher Faktor der Ungleichheiten sind.

Klinische Studien zeigten unter anderem, dass Frauen eine geringere Inzidenz von Sepsis, Pneumonie und Multiorganversagen nach Trauma aufweisen als Männer (Oberholzer, Keel et al. 2000; Mostafa, Huynh et al. 2002; Gannon, Pasquale et al. 2004). Es besteht Uneinigkeit, in welchem Alter Frauen einen Vorteil im Outcome aufweisen. Mostafa et al. konnten nur für Frauen unter 45 Jahren eine geringere Inzidenz von Komplikationen nachweisen (Mostafa, Huynh et al. 2002), während George et al. einen Vorteil für die Altersgruppe über 50 Jahren nachweisen konnten (George, McGwin et al. 2003). Des Weiteren ist bekannt, dass prämenopausale Frauen eine geringere Inzidenz ischämischer Herzerkrankungen aufweisen als Männer der gleichen Altersgruppe. Nach der Menopause ist dieser Effekt nicht mehr zu beobachten (Maxwell 1998). Dies lässt die Vermutung zu, dass Östrogene ein protektiver Faktor sind. Hingegen zeigte sich in einer Studie der Womens Health Initiative ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (KHK, Apoplex, Thrombembolien) nach Hormonsubstitution in der Menopause (Rossouw, Anderson et al. 2002).

Den Einfluss von Östrogenen auf die kardiale Funktion zu ergründen, ist ein laufendes Feld intensiver Forschung.

In Tierversuchen wurde festgestellt, dass Tiere, die einer Ovariectomie unterzogen wurden, nach Trauma eine schlechtere kardiale und hepatische Funktion hatten, während eine Behandlung mit E2 diesen Effekt aufhob (Jarrar, Wang et al. 2000). Es wurde nachgewiesen, dass bereits die Östrogenschwankungen während des Menstruationszyklus Einfluss auf die kardiale Funktion nach einem Trauma haben (Yang, Choudhry et al. 2006).

Es konnte teilweise ein protektiver Effekt für weibliche Tiere, z.B. nach Ischämie/Reperfusion (I/R), im Sinne einer reduzierten Infarktgröße des Myokards beobachtet werden (Bae and Zhang 2005). Eine andere Studie hingegen zeigte keinen Unterschied nach I/R zwischen den Geschlechtern (Przyklenk, Ovize et al. 1995).

Es ist möglich, dass über Östrogene auch bei einem schweren traumatischen Eingriff wie einer Kinderherzoperation protektive Effekte und ein möglicher Vorteil im Outcome vermittelt werden.

Die Wirkmechanismen von E2 auf das Herz sind noch nicht ausreichend erforscht. Es gibt unterschiedliche Hypothesen, die Erklärungsansätze für die molekulare Wirkungsweise von Östrogenen liefern.

Es wird vermutet, dass Östrogene über nicht-genomische Signalwege einen antiapoptotischen Effekt auf Kardiomyozyten hat (Kim, Pedram et al. 2006). Die Apoptose kann entweder rezeptorvermittelt (extrinsisch) oder durch Cytochrom-C Freisetzung aus den Mitochondrien eingeleitet werden (intrinsisch) (Schmidt 2007). Humane Kardiomyozyten haben die höchste Dichte an Mitochondrien von allen Zellen. Ischämie/Reperfusion (I/R) führen zur Freisetzung von reaktiven Sauerstoffradikalen (ROS) vor allem aus den Mitochondrien (Kim, Pedram et al. 2006). Es wird angenommen, dass ROS potente Stimulatoren der Apoptose sind (Zhao 2004). Eine Theorie ist, dass E2 über in der Plasmamembran lokalisierte ERs zu einer Aktivierung von Phosphoinositol-3-kinase/Akt (PI3K) führt. Dieser Komplex phosphoryliert 38MAPK β , welche die Freisetzung von ROS vermindert. Die Freisetzung von ROS wiederum führt zur Phosphorylierung der 38MAPK α , diese vermittelt pro-apoptotische Effekte (Kim, Pedram et al. 2006). Weiterhin gibt es Hinweise, dass über den p38MAPK α -Signalweg die Expression von Entzündungsmediatoren beeinflusst wird. Unter anderem soll die Expression von TNF α vermehrt werden (Ballard-Croft, White et al. 2001). Am Herzen von Ratten wurde beobachtet, dass E2 nach I/R die Expression von p38MAPK, TNF α , IL-1 und IL-6 senkt (Wang, Tsai et al. 2006). Es ist möglich, dass E2 über den p38MAPK-Signalweg in das Entzündungsgeschehen eingreift (s. Abb. 1.1).

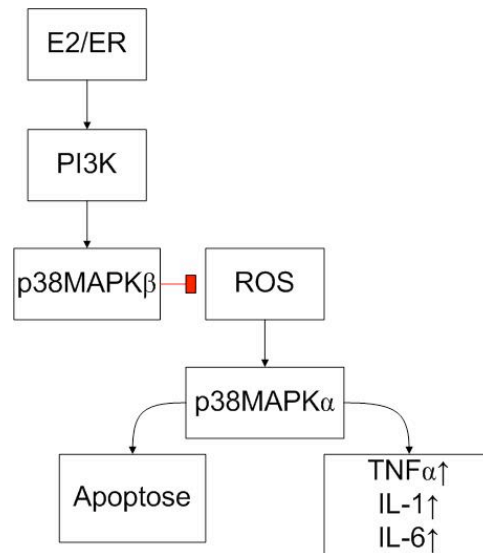


Abbildung 1.1 Hypothese der E2 Wirkung auf den MAPK-Signalweg; PI3K= Phosphoinositol-3-kinase/Akt, ROS= reaktive Sauerstoffverbindungen

Über genomische Signalwege soll E2 eine Vielzahl an Veränderungen der Genexpression hervorrufen.

Es gibt Hinweise, dass E2 die Synthese der endothelständigen (eNOS) sowie der induzierbaren Stickstoffsynthase (iNOS) im Herzen erhöht (Nuedling, Kahlert et al. 1999). Unter physiologischen Bedingungen führt NO am Herzen zu einer Vasodilatation, einer Hemmung der Plättchenaggregation und einer Hemmung der Adhäsion von Neutrophilen und Plättchen an das Endothel. Darüber hinaus hat NO negativ inotrope und chronotrope Effekte am Herzen. Der Einfluss von NO bei einer Ischämie/ Reperfusion (I/R) durch Herzinfarkt, Transplantationen oder Schock wird kontrovers in der Literatur diskutiert.

Einige Studien, die NOS pharmakologisch gehemmt haben und Studien mit iNOS oder eNOS Knockout-Mäusen haben eine Vergrößerung des Schadens bei I/R gezeigt, während andere Studien hier einen protektiven Effekt nachweisen konnten (Kanno, Lee et al. 2000).

Des Weiteren gibt es Hypothesen, dass E2 die Expression von kardialen L-Typ-Calciumkanälen auf mRNA- und Proteinebene vermindert (Johnson, Zheng et al. 1997), die Expression vom atrialen natriuretischen Faktor (ANF) erhöht (Jankowski, Rachelska et al. 2001) und modulierend in das ACE-System eingreift. E2 soll Plasminogen, Angiotensinogen und Angiotensin I erhöhen. In Abwesenheit von E2 wird eine Hochregulation des Angiotensin-II- Rezeptors beschrieben (Babiker, De Windt et al. 2002). Es wird vermutet, dass E2 auch regulierend auf die Wirkungen des sympathischen Nervensystems auf das Herz

durch eine Hochregulation von beta2-Adrenorezeptoren und eine Runterregulation von beta1- Adrenorezeptoren eingreift und somit eine Verminderung der Kontraktilität bewirkt (Wu, Zhao et al. 2008).

Es sind hoch affine EREs in über 230 Zielgenen im menschlichen Genom gefunden worden (Bourdeau, Deschenes et al. 2004). Somit ist zu erwarten, dass die Erforschung von E2-induzierten genomischen Veränderungen noch viele weitere spannende Erkenntnisse erwarten lässt.

1.5 B-type natriuretic peptide (BNP)

BNP gehört zur Familie der natriuretischen Peptide. Diese spielen eine wichtige Rolle in der Regulation des Extrazellulärvolumens und des Blutdrucks. Sie induzieren die Natriurese, Diurese und Vasodilatation und wirken als Gegenspieler zum Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (Mair, Hammerer-Lercher et al. 2001). BNP wird als Pre-Prohormon sowohl in atrialen wie auch ventrikulären Myozyten (Goetze, Friis-Hansen et al. 2006) synthetisiert und dann zum Prohormon gespalten. BNP wird nach der Synthese direkt sezerniert; eine Speicherung wie z.B. beim ANP ist nicht möglich. Nach Sekretion aus der Zelle wird das Prohormon in einen biologisch aktiven C-terminalen Teil (BNP) und einen inaktiven N-terminalen Teil (N-BNP) gespalten. Beide Segmente können im Plasma nachgewiesen werden (Nir, Lindinger et al. 2008). Der wichtigste Stimulus für die Freisetzung von BNP ist die Dehnung der Myozyten (Mair, Hammerer-Lercher et al. 2001).

Es gibt in der Literatur einige Untersuchungen der BNP-Plasmaspiegel im Bezug auf Alter und Geschlecht. Die meisten Studien zeigen höchste Plasmawerte nach der Geburt (Koch and Singer 2003; Mir, Laux et al. 2003; Nir, Bar-Oz et al. 2004) und einen Abfall in den ersten Wochen. Einige Studien finden nach der Neonatalperiode einen konstanten Plasmawert (Mir, Laux et al. 2003; Nir, Bar-Oz et al. 2004), während andere einen Abfall mit steigendem Alter zeigen (Rauh and Koch 2003; Nir, Lindinger et al. 2008). Weitere Autoren berichten über einen zweiten Gipfel der Plasmaspiegel während der Pubertät (Mir, Flato et al. 2006). In dieser Entwicklungsphase wurden teilweise auch höhere Plasmaspiegel bei Mädchen beobachtet (Schwachtgen, Herrmann et al. 2005; Nir, Lindinger et al. 2008). Im Erwachsenenalter ist bekannt, dass Frauen bis zu 78% höhere BNP-Plasmawerte haben als Männer (Mir, Flato et al. 2006).

Für ein weiteres Mitglied der Familie der natriuretischen Peptide, den atrialen natriuretischen Faktor (ANP), wurde eine Hochregulation über Estrogenrezeptoren nachgewiesen (Jankowski, Rachelska et al. 2001). Für die Expression von BNP konnte bis jetzt kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

Der Plasmaspiegel von BNP und N-BNP ist bei vielen Herzerkrankungen erhöht, wie z.B. bei systolischer (Mair, Hammerer-Lercher et al. 2001) und diastolischer Dysfunktion (Lubien, DeMaria et al. 2002) bzw. hypertropher Kardiomyopathie (Nakamura, Sakamoto et al. 2002). Im Kindesalter wurde bei Patienten mit Herzversagen bei strukturellen Herzerkrankungen, dilatativer Kardiomyopathie (Westerlind, Wahlander et al. 2004), rechtsventrikulärer Dysfunktion nach pulmonaler Hypertonie (Reynolds, Ellington et al. 2004) und weiteren Herzerkrankungen (Nir, Lindinger et al. 2008) der Stellenwert von N-BNP als Marker für die Schwere der Erkrankung herausgestellt. Einige Studien postulieren, dass ein hoher postoperativer (Chikovani, Hsu et al. 2007; Hsu, Keller et al. 2007; Berry, Askovich et al. 2008) sowie präoperativer (Gessler, Knirsch et al. 2006) N-BNP Plasmawert in der Kinderherzchirurgie mit einem schlechteren postoperativen Outcome einhergeht.

1.6 Troponin

Muskelfasern enthalten zahlreiche Muskelfibrillen. Diese setzen sich zusammen aus einem dicken Filament, bestehend aus Myosin, und einem dünnen Filament, bestehend aus Aktin und den Regulatorproteinen Troponin und Tropomyosin. Troponin setzt sich aus drei Untereinheiten zusammen: Troponin T stellt die Verbindung zum Tropomyosin her, Troponin I inhibiert die Bindung von Myosin an Aktin und Troponin C bindet Calciumionen (Deetjen 2005). Bei einem Untergang von Myozyten werden die herzmuskelspezifischen Isoformen von Troponin T und I ins Blut freigesetzt und können als Marker für einen Myokardschaden bestimmt werden. Neben ihrer großen Spezifität, verfügen sie auch über eine hohe Sensitivität und können auch Herzmuskelschäden, z.B. durch Mikroinfarkte, nachweisen (Lederhuber 2005).

2. Zielsetzung unserer Studie

In der Literatur existieren keine Angaben, ob humane, kindliche Kardiomyozyten Estrogenrezeptoren exprimieren. Es gibt lediglich Untersuchungen zu adulten Kardiomyozyten von kardiochirurgischen Patienten, Spenderherzen und Leichen sowie fötalen Kardiomyozyten (Brandenberger, Tee et al. 1997; Taylor and Al-Azzawi 2000; Nordmeyer, Eder et al. 2004). Folglich war es Ziel unserer Studie, ER α und ER β in Biopsien des rechten Atriums nachzuweisen. Es sollte untersucht werden, ob zwischen der Expression der beiden Rezeptoren ein Zusammenhang besteht, der auf die gegenseitige Regulation oder die Regulation durch einen externen Faktor schließen lässt.

Des Weiteren sollte die Expression von BNP und ein möglicher Zusammenhang mit der ER- Expression in den Proben des rechten Atriums untersucht werden. Da es Erhebungen der Plasmanormwerte in Bezug auf Alter und Geschlecht gibt, war ein Ziel die Erforschung dieser Verteilung auch auf RNA-Ebene.

Es bestehen viele Hypothesen der protektiven Wirkung von E2 über ER α & β auf verschiedene Organsysteme. Eine Herzoperation unter Einsatz der Herzlungenmaschine stellt einen schweren traumatischen Eingriff mit einer Vielzahl an möglichen postoperativen Komplikationen dar. In vielen klinischen Situationen wurde festgestellt, dass Frauen ein besseres Outcome haben als Männer der gleichen Altersgruppe. Z.B. weisen Frauen nach Trauma eine geringere Inzidenz von Sepsis, Pneumonie und Multiorganversagen auf (Oberholzer, Keel et al. 2000; Mostafa, Huynh et al. 2002; Gannon, Pasquale et al. 2004).

Eine weitere Zielsetzung unserer Studie bestand daher in der Erforschung dieses möglichen protektiven Einflusses während und nach Kinderherzoperationen, anhand eines Vergleichs der ER α & β - bzw. BNP- Expression und klinischer Daten, sowie der Analyse klinischer Daten in einer weiblichen und männlichen Untergruppe.

3.Patienten und Methodik

3.1 Patienten

In unsere Studie wurden 20 Patienten aufgenommen, die aufgrund eines angeborenen Herzfehlers durch eine korrigierende Operation behandelt wurden. Das Patientenkollektiv besteht aus männlichen (m=13) und weiblichen Patienten (w=7) und umfasst eine breite Altersspanne (Median: 166,5 Monate, Minimum: 3 Monate, Maximum: 319 Monate).

Die Herzoperationen wurden unter der Leitung von Herrn Universitätsprofessor Dr. J. Vazquez-Jimenez, Leiter des Lehr- und Forschungsbereich Kinderherzchirurgie, durchgeführt. Die prä- und postoperative Betreuung erfolgte unter der Leitung von Frau Universitätsprofessorin Dr. M-C. Seghaye, Direktorin der Klinik für Kinderkardiologie.

Es erfolgte eine umfangreiche Aufklärung der Eltern über die Ziele der Studie und das schriftliche Einverständnis lag vor. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen genehmigt.

Weitere epidemiologische und klinische Daten der Patienten werden im Ergebnisteil und im Anhang (S. 63; Tabelle 8.1) vorgestellt.

3.2 Perioperative Überwachung und Therapie

3.2.1 Anästhesie und Medikamente

Die Patienten wurden mit Flunitrazepam bzw. Flunitrazepam und Diazepam prämediziert. Nach der Einleitung einer konventionellen Narkose mit Etomidat, Sufentanil und Vecuronium in gewichtsadaptierter Dosierung, erfolgten die nasotracheale Intubation und mechanische Beatmung. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mit Isofluran und Sufentanyl. Es wurden ein peripherer arterieller und ein zentralvenöser Katheter zur Überwachung des arteriellen und zentralvenösen Druckes während der Operation gelegt. Zur genauen Flüssigkeitsbilanzierung wurde ein Blasenkatheter eingeführt. Die Messung der Patientenkerntemperatur erfolgte durch zwei Temperatursonden, die nasopharyngeal beziehungsweise ösophageal und rektal eingeführt wurden.

Die perioperative Endokarditisprophylaxe erfolgte mit Cefuroxim in einer Dosis von 50 mg/kg KG. Unmittelbar vor der Sternotomie erfolgte die einmalige Applikation von Dexamethason in einer Dosis von 10 mg/m² Körperoberfläche.

3.2.2 Extra-Korporaler-Kreislauf (EKK)

Das EKK-System bestand aus einer Pumpe, die einen laminaren Fluss bewirkte und eine CO₂-Zufuhr ermöglichte, einem aus Polypropylen bestehenden Membranoxygenator, einem arteriellen Filter und einem Wärmeaustauscher zum Abkühlen und Aufwärmen des zirkulierenden Blutes.

Die Grundlösung bestand aus einer Ringerlösung und 3 ml Mannitol/kg KG. Darüber hinaus wurde die HLM mit leukozytengefiltertem Erythrozytenkonzentrat und Frischplasma aufgefüllt, um einen Hämatokrit von 25-27 % für das zirkulierende Volumen zu erreichen.

Die systemische Antikoagulation wurde mit Heparinsulfat (3 mg/kg KG) erreicht, das am Ende des EKK-Systems mit Protaminsulfat in einem Verhältnis von 1:1 antagonisiert wurde.

Nach Sternotomie, Thymektomie und dem Freipräparieren des Herzens wurden die ascendierende Aorta und der rechte Vorhof kanüliert und an die venösen beziehungsweise arteriellen Schenkel des mit dem Füllvolumen gefüllten EKK-Schlauchsystems angeschlossen. Der EKK wurde mit einem errechneten Flussindex von 2,7 l/m² KOF/min eingeleitet. Dieser Fluss wurde bis einschließlich der Kühlungsphase beibehalten.

Das zirkulierende Blut wurde mit einem Wärmeaustauscher abgekühlt. Im Falle einer Notwendigkeit einer Myokardischämie wurde die ascendierende Aorta oberhalb des Ursprungs der Koronararterien abgeklemmt. Ob der chirurgische Eingriff mit dem EKK erfolgt oder ein totaler KSS herbeigeführt wird, hängt vom Alter des Kindes und von der Art des Herzfehlers ab.

Währenddessen wurde die Myokardprotektion durch die intraaortale Gabe einer 4 °C kalten Bretschneider-Kardioplegie-Lösung bzw. einer Calafiore-Kardioplegie-Lösung gesichert. Das Aufwärmen fand unter Full-Flow-Perfusion (100% errechneter Flussindex) statt. Dabei wurde die Beatmung wieder begonnen, wenn die Lunge wieder durchblutet wurde. Das Heparinsulfat wurde durch Protaminsulfat im Verhältnis 1:1 neutralisiert.

Eine systemische Inotropie durch Adrenalin, Dopamin und gegebenenfalls Dobutamin und Vasodilatation durch Natrium-Nitroprussid wurde entsprechend der Pumpfunktion des Herzens und der Kreislauftsituation eingeleitet.

Nach koronarer Reperfusion und Beendigung der Operation am Herzen, wurden rechtsatriale und ventrikuläre Schrittmacherelektroden zur transitorischen elektrischen Stimulation gelegt.

Die Daten der Patienten zum Extra-Korporalen-Kreislauf finden sich im Anhang (S. 63, Tabelle 8.2).

3.3 Postoperative Überwachung und Therapie

3.3.1 Postoperative Überwachung

Das postoperative hämodynamische Monitoring bestand in kontinuierlicher Überwachung von Herzfrequenz (HF), Herzrhythmus, arteriellem Blutdruck und zentralvenösem Druck.

Die arterielle Sauerstoffsättigung wurde kontinuierlich mittels Pulsoxymetrie überwacht. Bei Verdacht auf Rhythmusstörungen wurden Standard-Elektrokardiogramme (EKG) abgeleitet und mit den präoperativen EKGs verglichen.

Funktionelle und anatomische Verhältnisse des Herzens wurden klinisch und echokardiographisch untersucht. Die rektale bzw. vesikale Temperatur wurde über eine thermische Elektrode gemessen.

Durch Blutgasanalysen, Routinelaborabnahmen und die Bestimmung des Oxygenierungsindex (PaO₂ in mmHg/inspiratorische O₂-Fraktion) in den ersten drei postoperativen Tagen wurde die Ischämiediagnostik erweitert, sowie die Lungen-, die Nieren- und die Leberfunktion kontrolliert.

3.3.2 Postoperative Therapie

Alle Patienten wurden unmittelbar nach der Operation mit einem druck- oder volumengesteuerten Beatmungsgerät mechanisch beatmet und schnellstmöglich von der mechanischen Beatmung entwöhnt und extubiert.

Entsprechend den hämodynamischen Blutdruckverhältnissen und Organfunktionen wurden kreislaufunterstützende Medikamente wie Adrenalin, Dopamin und Dobutamin eingesetzt.

Nach klinischem Bedarf wurde das therapeutische Regime durch Natriumnitroprussid zur Vasodilatation und/oder Furosemid zur Unterstützung der Diurese ergänzt.

Erythrozytenkonzentrate, Thrombozytenkonzentrate, frisch gefrorenes Plasma und Humanalbumin 5%-ig wurden bedarfsgerecht substituiert.

Eine systemische antibiotische Prophylaxe beziehungsweise Therapie wurde in der Regel bis zur Entfernung des intrakardialen Katheters und/oder der intrathorakalen Drainageschläuche durchgeführt.

3.4 SCORE-Systeme

Nacken et al. entwickelten Scoresysteme zur Vorhersage der postoperativen Mortalität und Morbidität nach herzchirurgischen Eingriffen (Nacken 2004). Ein niedriger Scorewert weist auf einen unkomplizierten Verlauf hin. Wir setzten drei Scoresysteme bei unserer Patientengruppe ein. Der Operationsscore setzt sich aus den Einsatzzeiten der Herz-Lungenmaschine, der Aortenabklemmdauer und der Kreislaufstillstanddauer zusammen. Ein weiterer Score bezieht sich auf die Entwöhnungsphase von der Herzlungenmaschine. Hier werden Gebrauch von Inotropika, Vasodilatoren und NO sowie Schrittmachereinsatz beurteilt.

Vier und 24 Stunden nach Eintreffen der Patienten auf der kinderkardiologischen Intensivstation verwendeten wir den postoperativen Score zur Beurteilung der Herz-Kreislauf-Situation. Dieser bezieht folgende Parameter ein: mittlerer arterieller Druck, zentralvenöser Druck, Pulse, die kapilläre Füllungszeit, Rhythmusstörungen, Einsatz des Schrittmachers, Gebrauch von Inotropika und Volumen und Diurese. Eine genaue Auflistung der Scoresysteme findet sich im Anhang (S. 64, Tab 8.3-8.5).

3.5 Methodik

3.5.1 Materialgewinnung

Intraoperativ wurde den Patienten Myokardgewebe aus dem rechten Vorhofsohr entnommen. Das Gewebe wurde im Rahmen der Anfertigung der „Tabaksbeutelnaht“ zur Einführung der venösen Vorhofskanüle der Herz-Lungen-Maschine gewonnen. Nach Abklemmen von ca. 1 cm³ Gewebe mit

einer Operationsklemme wurde dieses mit einem scharfen Skalpell abgetrennt. Die Probe wurde in ein 1,5 ml Eppendorftube überführt, sofort in flüssigen Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C bis zur weiteren Bearbeitung aufbewahrt.

Während der Entnahme der Myokardbiopsien wurde darauf geachtet, dass das Gewebe durch die notwendigen Instrumente nicht unnötig komprimiert oder geschädigt wurde. Zudem wurde für eine reibungslose und zügige Entnahme gesorgt, so dass zwischen der Gewebeentnahme und der Schockgefrierung im Durchschnitt 15 Sekunden lagen.

3.5.2 Molekularbiologische Auswertung

Nachweis der zellulären Genexpression mittels RT-PCR

Die RT-PCR ist eine hochsensitive Methode, um die Genexpression in Zellen zu untersuchen. Dazu wird die RNA aus den Zellen extrahiert und mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase in komplementäre DNA (cDNA = complementary DNA) umgeschrieben. Die zu untersuchenden Genabschnitte werden dann mit Hilfe spezifischer Oligonukleotid-Primer in einer Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) in vitro vervielfältigt, in einer Agarosegelelektrophorese aufgetrennt und durch Farbstoffanlagerung sichtbar gemacht.

Isolierung von Gesamt-RNA aus dem Myokardgewebe

Die Isolierung intakter RNA ist Voraussetzung für den Nachweis der zellulären Genexpression mittels RT-PCR. Die RNA-Isolierung erfolgte mittels des RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen, Germantown, Maryland, USA) nach Herstellervorschrift.

Das in flüssigem Stickstoff konservierte Myokardgewebe wurde in 300 µl Lysis-Puffer homogenisiert. Daraufhin wurden 590 µl RNase freies Wasser sowie 10 µl Proteinase-K-Lösung hinzugefügt und gemischt. Nach Inkubation bei 55 °C für 10 Minuten wurde das Gemisch bei 20-25 °C für 3 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde gewonnen und in ein frisches Eppendorfreaktionsgefäß überführt. Der Überstand wurde mit 450 µl Ethanol (96-100%) durchgemischt, über eine Säule mit Glasfaserfilter gegeben (spin column) und bei Raumtemperatur für 15 Sekunden bei ≥ 10000 rpm zentrifugiert. Die RNA auf der Glasfasermembran wurde daraufhin mit 350 µl Waschpuffer (Buffer RW1) gewaschen. Anschließend wurde ein DNA-Verdau mit DNase I auf der Säulenmembran durchgeführt. Nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten bei

Raumtemperatur wurden drei Waschvorgänge angeschlossen. Die Elution der RNA erfolgte mit 30-50µl RNase-freiem Wasser. Die RNA-Konzentration wurde mit einem Eppendorf Biophotometer gemessen. Die RNA-Lösung wurde bei – 80 °C gelagert.

Umschreiben von RNA in cDNA

Um eine gegebene einzelsträngige RNA in eine komplementäre DNA (cDNA) umzuschreiben, ist eine RNA-abhängige DNA-Polymerase, die reverse Transkriptase, notwendig. Die Synthese der cDNA erfolgte in Anwesenheit von freien Desoxyribunukleotidtriphosphaten (dNTPs) und bei einem Temperaturoptimum von 42 °C. Als Primer dienten Random Hexamers. Dabei handelt es sich um kurze Oligonukleotide, die auf Grund ihrer Sequenz statistisch häufig auf die Nukleinsäuremoleküle auftreffen. Somit können alle mRNA-Moleküle von der reversen Transkriptase zur Synthese genutzt werden. Nach der Reversen Transkription wurde der Ansatz bei 95 °C denaturiert und dann auf 4 °C abgekühlt. Für die RT-PCR wurde das High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) nach Herstellerangaben verwendet. Zur Reverse-Transkriptase-Reaktion wurden 100 ng der zu untersuchenden RNA eingesetzt. Die RT-PCR wurde im Thermo Cycler durchgeführt und die so gewonnene cDNA-Lösung bei –20 °C gelagert.

RT-PCR-Ansatz:	15µl	RNA-Lösung (100ng RNA aufgefüllt mit RNase freiem Wasser auf 15 µl)
	1mM	dNTPs
	2,5 µM	Random Hexamers
	100 U	RNase Inhibitor
	1,25 mM	MgCl ₂
	0,1 Vol	10xPCR-Puffer
	1,25 U	RT

Spezifische Amplifikation von exprimierten Genen mittels PCR

Bei der PCR handelt es sich um eine Methode zur in vitro Amplifikation einer DNA-Zielsequenz mit Hilfe einer DNA-Polymerase. Die Zielsequenz wird von bekannten Basenabfolgen flankiert, an die Oligonukleotide (Primer)

komplementär binden. Eine DNA-Polymerase synthetisiert, nach Denaturierung des DNA-Doppelstranges, ausgehend von den freien Enden der Primer, komplementäre DNA-Stränge. Werden Denaturierung, Primeranlagerung und DNA-Synthese mehrfach durchlaufen, so führt dies zu einer exponentiellen Vermehrung der Zielsequenz.

Die Real-Time-PCR (RT-PCR) beruht auf dem Prinzip der herkömmlichen Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und ermöglicht zusätzlich die Quantifizierung der gewonnenen DNA. Die Quantifizierung wird mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen durchgeführt, die während eines PCR-Zyklus erfasst werden. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu. Am Ende eines Laufs (der aus mehreren Zyklen besteht) wird anhand von erhaltenen Fluoreszenzsignalen die Quantifizierung in der exponentiellen Phase der PCR vorgenommen. Nur in der exponentiellen Phase der PCR ist die korrekte Quantifizierung möglich, da während dieser Phase die optimalen Reaktionsbedingungen herrschen. Wir haben den RT-PCR Ansatz mittels SYBR® Advantage® qPCR Premix von Clontech (Takara Bio Inc. Otsu, Shiga, Japan) hergestellt.

RT-PCR-Ansatz (30 µl 15µl Reaktion):		SYBR Advantage q PCR Premix (2x)
	1 µl	Forward primer
	1 µl	Reverse Primer
	2 µl	cDNA
	bis 30 µl	Wasser
PCR-Schema:	1	95 °C 15 min
	2	94 °C 15 sec
	3	57 °C 30 sec
	4	72 °C 30 sec
	5	Plate read
		40 Wiederholungen von Punkt zwei zu fünf

Spezifische
menschliche Primer für
die RT-PCR:

Primer sequence 5'-3'

18S_for	aaa cgg cta cca cat cca ag
18S_back	cct cca atg gat cct cgt ta
ERalpha_for	tcc agc acc ctg aag tct ct
ERalpha_back	gat gtg gga gag gat gag ga
ERbeta_for	aga aga ttc ccg gct ttg tg
ERbeta_back	gcc agg agc atg tca aag at
BNP_for	gct cct gct ctt ctt gca tc
BNP_back	gga ctt cca gac acc tgt gg

Auswertung

Für die RT-PCR wurde als Detektor der DNA Engine Opticon® System PTC-200 DNA Engine® Cyclor Detector (Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA) benutzt.

Zur Korrektur der Rohdaten wurde 18s-RNA bestimmt. 18s-RNA wird ubiquitär und in konstanten Mengen im menschlichen Organismus exprimiert, so dass es als Vergleichsgröße herangezogen werden konnte. Es wurde die Ratio aus der Expression des zu untersuchenden Estrogenrezeptors und BNP über die Expression der 18s-RNA gebildet.

3.6 Übrige Laborparameter

Die übrigen Laborparameter gehören zu den routinemäßigen Laboruntersuchungen, die nach herzchirurgischen Eingriffen durchgeführt werden.

Der Hämatokritwert wurde mit dem elektronischen Zählgerät Cell-Dyn 3700 (Abbott Diagnostika GmbH, Wiesbaden, Deutschland), Troponin T mit dem Analysegerät Elecsys 2010 (F.Hoffmann La Roche AG, Basel, Schweiz) und Kreatinin und Glutamat-Oxaloazetat-Transaminase (GOT) mit dem elektronischen Multi-Analyzer Hitachi 747 (F.Hoffmann La Roche AG, Basel, Schweiz) im Institut für klinische Chemie und Pathobiochemie, RWTH Aachen (ehemaliger Direktor: Prof. Dr. M. Gressner) bestimmt. Die Normwerte für

Kreatinin (mg/dl) in Bezug zum Alter und Geschlecht finden sich in der Abbildung 3.1 (Thomas 2008).

Die Bestimmung von Laktat und Blutzucker mittels Blutgasanalyse wurde auf der Kinderintensivstation des Uniklinikums Aachen (Leitung: Prof. Dr. M.-C. Seghaye) mit dem Analysator ABL 700 Series (Radiometer RSCH GmbH, Thalwil, Schweiz) durchgeführt.

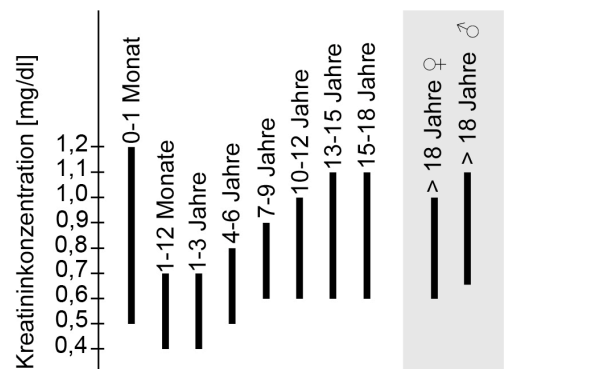


Abbildung 3.1: Normwerte der Kreatininkonzentration zu verschiedenen Alterszeitpunkten (Thomas 2008)

3.7 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als Mittelwert $\pm$ SD, Standardabweichung (SD) beziehungsweise als Median und Spannweite (Range) angegeben. Die explorative Datenanalyse wurde mit Hilfe des SPSS-Programmes (SPSS PC, SPSS INC. Chicago, Illinois, USA) erstellt. Die nicht normale Verteilung der Daten wurde angenommen und nicht parametrische Tests angewandt. Korrelationen zwischen zwei unabhängigen Parametern wurden anhand des Spearman-Korrelations-Koeffizienten ermittelt. Der Mann-Whitney-U-Test wurde zum Vergleich von klinischen und biologischen Parametern in zwei Patientengruppen angewandt. P-Werte $\leq 0,05$ wurden als signifikant gewertet.

4. Ergebnisse

4.1 Expression des Estrogenrezeptors α & β

Die Expression von ER α - sowie ER β -RNA im rechten Atrium ließ sich bei allen unseren Patienten mittels RT-PCR nachweisen (Abb. 4.1 und 4.2).

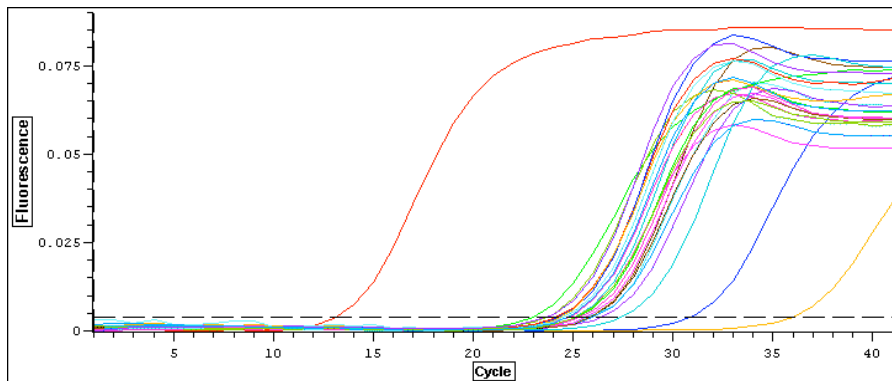


Abbildung 4.1 Fluoreszenzanstieg in Bezug auf die Zyklen der RT-PCR für ER α

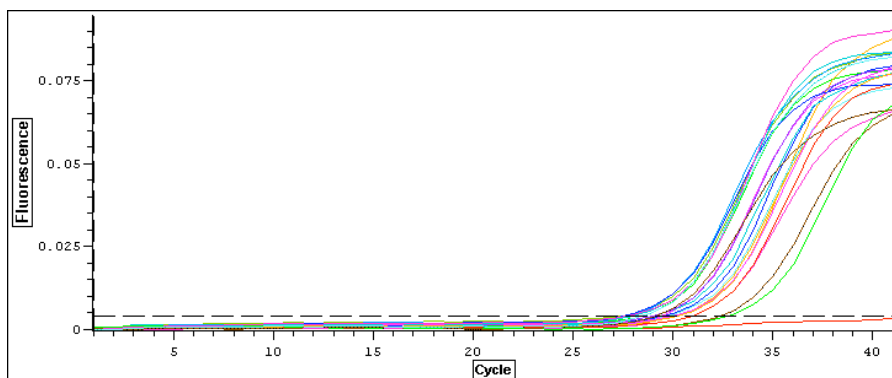


Abbildung 4.2 Fluoreszenzanstieg in Bezug auf die Zyklen der RT-PCR für ER β

Diese Werte wurden mit der Expression von 18S-RNA korrigiert. Für die Expression von ER α ergaben sich niedrigere Mittelwerte (4,18) als für die Expression von ER β (4,88, s. Tab 4.1). Eine genaue Auflistung der Daten für die einzelnen Patienten findet sich im Anhang (Seite 65, Tab. 8.6).

Deskriptive Statistik für ER α & β

	Patienten	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
ER alpha	20	3,156	4,834	4,18761	,419175
ER beta	20	3,928	5,592	4,87811	,434494

Tabelle 4.1

Es wurde der Zusammenhang zwischen der Expression von ER α & β mittels Spearman-Korrelationskoeffizient untersucht. Wir stellten eine signifikante Korrelation ($p < 0,0001$) zwischen den Rezeptoren fest (s. Tab 4.2 und Abb. 4.3).

Korrelation zwischen ER α & β			
			ERbeta
Spearman-Rho	ERalpha	Korrelationskoeffizient	,922
		p-Wert	<0,0001
		Patienten	20

Tabelle 4.2

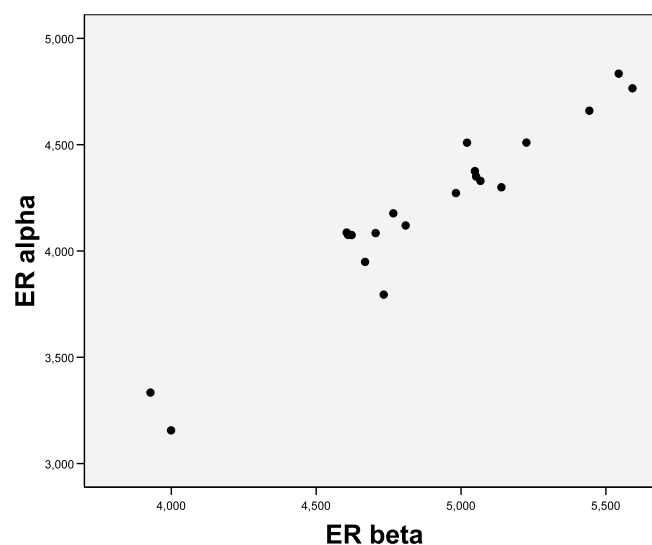


Abbildung 4.3 Zusammenhang der Expression von ER α & β ; Spearman-Korrelationskoeffizient 0.922, $p < 0,0001$

4.2 Expression ER α & β und Alter

Des Weiteren untersuchten wir die Korrelation der Expression von ER α & β mit dem Alter der Patienten in Monaten. Unser Patientenkollektiv umfasste eine breite Altersspanne von 316 Monaten (Median 166,5; Minimum 3; Maximum 319). Drei Patienten waren zum Zeitpunkt der Probenentnahme in der Pubertät (10-14 Jahre). Fünf Patienten waren bereits im Erwachsenenalter (>18 Jahre). Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen der Expression der Rezeptoren und dem Alter feststellen (s. Tab. 4.3 und Abb. 4.4).

Korrelation zwischen der ER α & β -Expression und dem Alter in Monaten

			Alter Monate
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	,193
		p-Wert	NS
		Patienten	20
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,098
		p-Wert	NS
		Patienten	20

NS= nicht signifikant; signifikant <0,05

Tabelle 4.3

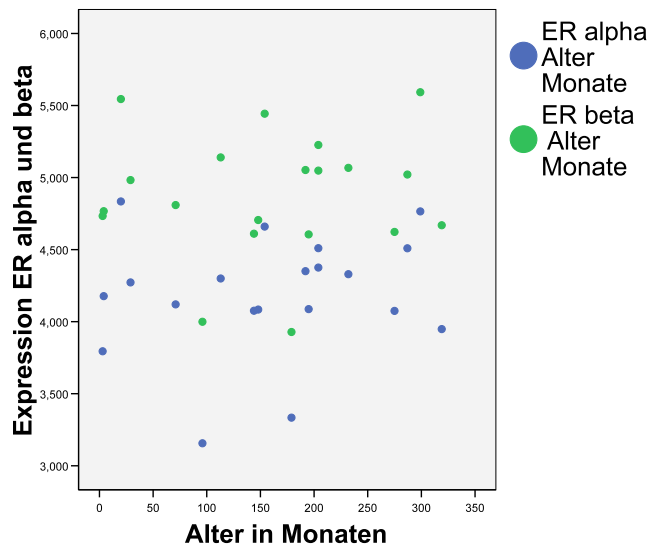


Abbildung 4.4 Zusammenhang der ER α & β Expression mit dem Alter in Monaten; Spearman-Korrelationskoeffizient ER α und Alter 0,193, ER β und Alter 0,098; p-Wert= nicht signifikant

4.3 Expression ER α & β und Geschlecht

Wir unterteilten unser Patientenkollektiv (20 Patienten) in eine weibliche (7 Patientinnen) und eine männliche Untergruppe (13 Patienten). Beim Vergleich der Medianwerte zeigten sich niedrigere Werte für die Expression von ER α (Median und Spannweite: weiblich 4,08 und 1,35; männlich 4,33 und 1,5) und ER β (Median und Spannweite: weiblich 4,73 und 1,02 ; männlich 5,05 und 1,66) in der Gruppe der Patientinnen (s.Tab. 4.4). Die Boxplots (s. Abb. 4.5) zeigen die Medianwerte, die 25%- und 75%-Perzentile und den größten und kleinsten Wert, die noch keine Extremwerte darstellen. Ausreißer wurden mit einem Kreis

und Extremwerte mit einem Stern markiert. Wir prüften mittels Mann-Whitney-U-Test den Zusammenhang zwischen Geschlecht und Expression der Rezeptoren. Die Unterschiede der Untergruppen erreichten kein Signifikanzniveau (s. Tab. 4.5).

Deskriptive Statistik der ER α & β Expression für die weibliche und männliche Untergruppe

	Geschlecht		Median	Minimum	Maximum	Spannweite
Statistik	männlich	ER alpha	4,32934	3,334	4,834	1,500
		ER beta	5,05203	3,928	5,592	1,664
	weiblich	ER alpha	4,08394	3,156	4,509	1,353
		ER beta	4,73309	3,999	5,021	1,022

Tabelle 4.4

ER α & β Expression in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	ER alpha	ER beta
Mann-Whitney-U	26,000	25,000
Wilcoxon-W	54,000	53,000
Z	-1,545	-1,624
Exakter p-Wert (zweiseitig)	,135	,115

Tabelle 4.5

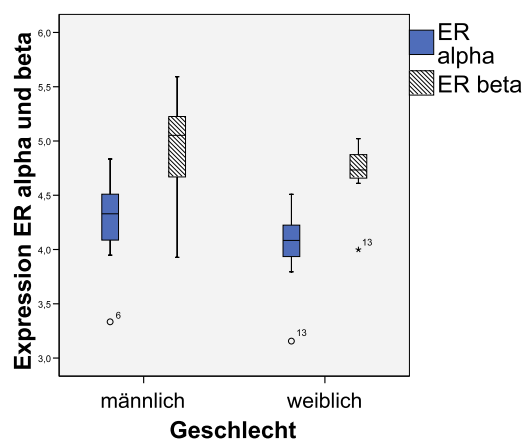


Abbildung 4.5 Boxplots der Expression von ER α & β in der weiblichen und männlichen Untergruppe; Ausreisser sind als Kreise, Extremwerte als Stern markiert.

4.4 BNP-Expression im rechten Atrium

Wir wiesen mittels RT-PCR die Expression von BNP-RNA bei allen unseren Patienten nach (s. Abb. 4.6). Diese Werte wurden mit der Expression von 18S-RNA korrigiert (s. Tab. 4.6). Eine genaue Auflistung der Daten für die einzelnen Patienten findet sich im Anhang (Seite 65, Tab. 8.6).

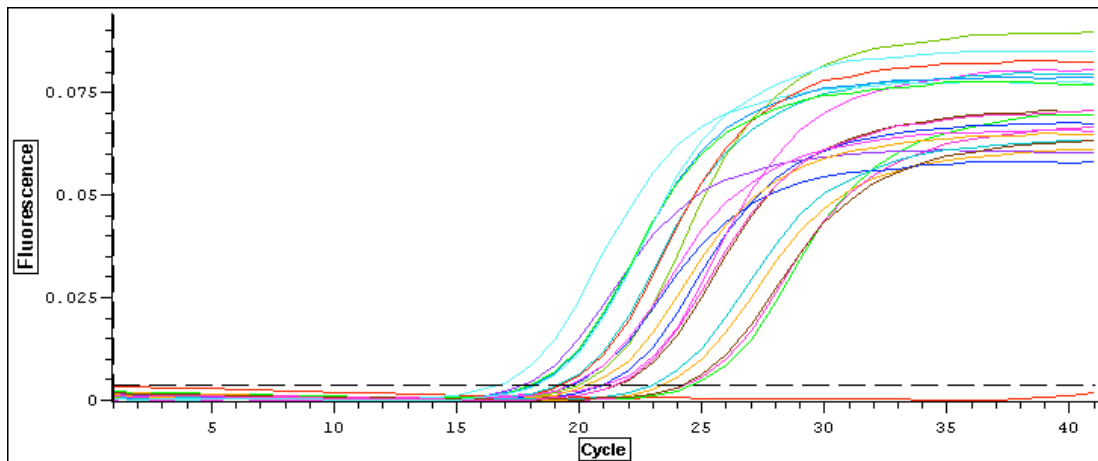


Abbildung 4.6 Fluoreszenzanstieg in Bezug auf die Zyklen der RT-PCR für BNP

Deskriptive Statistik der BNP-Expression

	Patienten	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
BNP	20	2,20	4,28	3,4338	,54687

Tabelle 4.6

4.5 BNP-Expression und Alter

Des Weiteren untersuchten wir die Expression der BNP-RNA im rechten Atrium im Bezug zum Alter der Patienten. Wir konnten keine Signifikanz mittels Spearman-Korrelationskoeffizient beobachten (s. Tab. 4.7). In der unten stehenden Grafik (s. Abb 4.7) ließen sich keine Spitzenwerte während der Pubertät (120-168 Monate) beobachten.

Korrelation zwischen der BNP-Expression und dem Alter in Monaten

		Alter Monate
Spearman-Rho	BNP	Korrelationskoeffizient ,243
		p-Wert NS
		Patienten 20

NS= nicht signifikant; signifikant <0,5

Tabelle 4.7

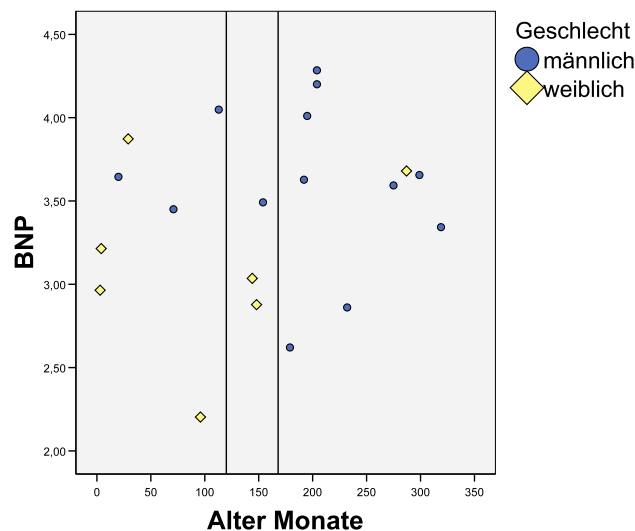


Abbildung 4.7 Zusammenhang zwischen der BNP-Expression und dem Alter in Monaten; der Zeitraum Pubertät liegt zwischen den beiden Bezugslinien; Spearman-Korrelationskoeffizient 0,243, p -Wert= nicht signifikant

4.6 BNP-Expression und Geschlecht

Wir unterteilten unser Patientenkollektiv (20 Patienten) in eine weibliche (7 Patientinnen) und eine männliche Untergruppe (13 Patienten). Bei Betrachtung der Medianwerte zeigten sich niedrigere Werte für die Expression von BNP-RNA in der weiblichen Untergruppe (Median: weiblich 3,04, männlich 3,63 s. Tab. 4.8). Wir prüften mittels Mann-Whitney-U-Test den Zusammenhang zwischen Geschlecht und Expression der Rezeptoren. Die Unterschiede der Untergruppen erreichten kein Signifikanzniveau (s. Tab. 4.9 und Abb. 4.8).

Deskriptive Statistik der BNP-Expression der weiblichen und männlichen Untergruppe

Geschlecht		Mittelwert	Median	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
männlich	BNP	3,6022	3,6273	,48385	2,62	4,28	1,66
weiblich	BNP	3,1211	3,0354	,55073	2,20	3,87	1,67

Tabelle 4.8

BNP Expression in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	BNP
Mann-Whitney-U	26,000
Wilcoxon-W	54,000
Z	-1,545
Exakter p-Wert (zweiseitig)	,135

Tabelle 4.9

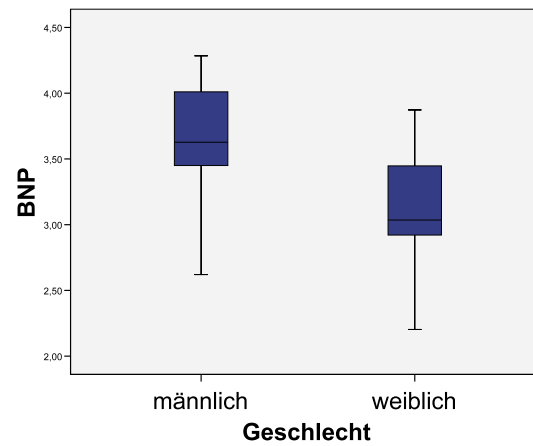


Abbildung 4.8 Boxplots der BNP Expression in der weiblichen und männlichen Untergruppe

4.7 Zusammenhang zwischen der Expression von $ER\alpha\&\beta$ und BNP

Wir prüften mittels Spearman-Korrelationskoeffizient den Zusammenhang zwischen der Expression von BNP-RNA und $ER\alpha\&\beta$ -RNA. Es zeigte sich für beide Rezeptoren eine positive Korrelation mit der BNP-Expression (s. Tab 4.10 und Abb. 4.9).

Korrelation zwischen der $ER\alpha\&\beta$ - und BNP-Expression

			ER alpha	ER beta
Spearman-Rho	BNP	Korrelationskoeffizient	,636	,525
		p-Wert	<0,005	<0,02
		Patienten	20	20

signifikant <0,05

Tabelle 4.10

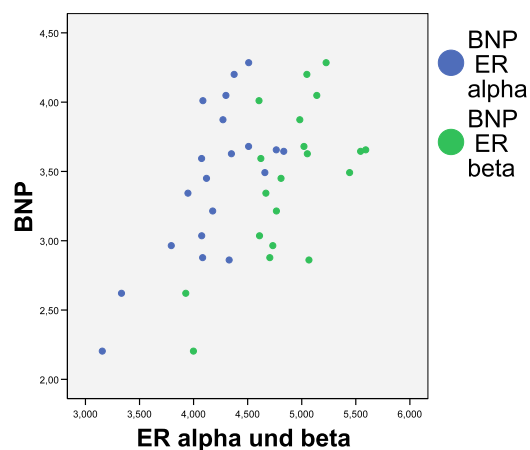


Abb. 4.9 Zusammenhang zwischen der $ER\alpha\&\beta$ - und BNP-Expression

4.8 Estrogenrezeptor $\alpha\&\beta$ - und BNP-Expression und Klinik

Wir haben in unserer Studie präoperativ, während der Operation und vier sowie 24 Stunden postoperativ klinische Daten und Laborwerte unserer Patienten erhoben. Wir untersuchten mittels Spearman-Korrelationskoeffizient den Zusammenhang zwischen klinischen Daten und der Expression von Estrogenrezeptor $\alpha\&\beta$ bzw. BNP im rechten Atrium.

4.8.1 Oxygenierungsparameter

Um die Oxygenierung unserer Patienten zu überprüfen, erhoben wir die präoperative Sauerstoffsättigung und postoperativ den Oxygenierungsindex (Quotient aus dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck und der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration). Die präoperative Sauerstoffsättigung zeigte eine positive Korrelation mit der Expression von ER β ($p<0,05$) bzw. BNP ($p<0,05$) und ER α ($p<0,1$, s. Tab. 4.11 und Abb. 4.10). BNP und der Oxygenierungsindex korrelierten miteinander sowohl vier als auch 24 Stunden postoperativ ($p<0,05$, s. Tab. 4.11 und Abb. 4.11 und 4.12). Auch der postoperative Oxygenierungsindex 4h postoperativ und die Expression von ER $\alpha\&\beta$ zeigten eine positive Korrelation, die tendenziell signifikant war ($p<0,1$, s. Tab. 4.11 und Abb. 4.11). Tabelle 4.11 fasst die Korrelation zwischen der ER $\alpha\&\beta$ bzw. BNP-Expression und den Oxygenierungsparametern zusammen.

Korrelation zwischen der ER $\alpha\&\beta$ - bzw. BNP-Expression und den Oxygenierungsparametern

			SaO2 präop	Oxy-Ind. 4h	Oxy-Ind. 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	,406	,453	,325
		p-Wert	<0,1	<0,1	NS
		Patienten	18	18	15
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,509	,404	,356
		p-Wert	<0,05	<0,1	NS
		Patienten	18	18	15
	BNP	Korrelationskoeffizient	,489	,515	,567
		p-Wert	<0,05	<0,05	<0,05
		Patienten	18	18	15

NS= nicht signifikant; signifikant <0,05

Tabelle 4.11

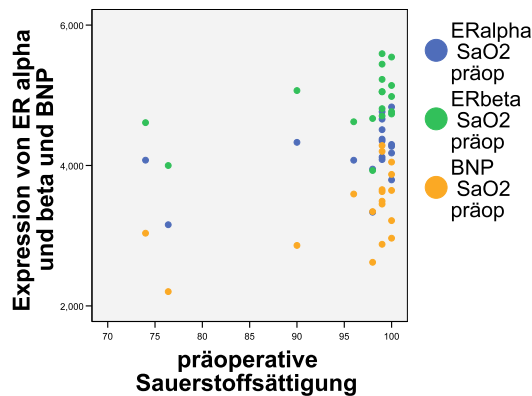


Abbildung 4.10 Zusammenhang zwischen der präoperativen Sauerstoffsättigung und der Expression von ER α & β bzw. BNP

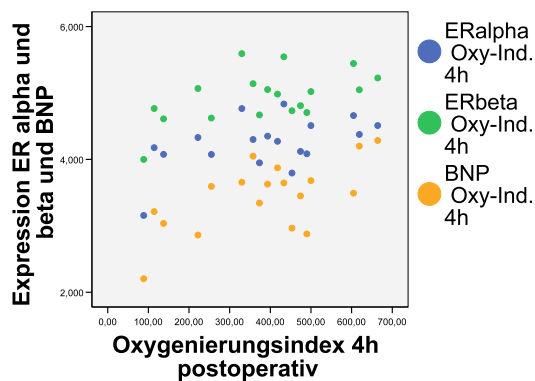


Abbildung 4.11 Zusammenhang zwischen dem Oxygenierungsindex 4h postoperativ und der Expression von ER α & β bzw. BNP

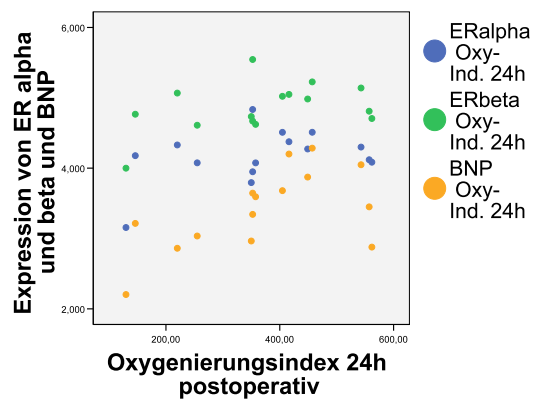


Abbildung 4.12 Zusammenhang zwischen dem Oxygenierungsindex 24h postoperativ und der Expression von ER α & β bzw. BNP

4.8.2 SCORE-Systeme

Wir untersuchten den Zusammenhang zwischen der Expression von ER α & β - und BNP-RNA und dem Score für die Phase der Entwöhnung von der Herz-Lungen-Maschine (HLM-Score), dem operativen Score und dem vier und 24 Stunden postoperativ erhobenen Herz-Kreislauf-Score (HK-Score). Wir stellten eine negative Korrelation ($p < 0,05$) zwischen der BNP-Expression und dem operativen Score, dem HLM-Score und dem vier Stunden postoperativ erhobenen HK-Score fest. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Scoresystemen und der Expression der ERs konnte nicht nachgewiesen werden. Lediglich ergab sich eine negative Korrelation, die tendenziell

signifikant war ($p < 0,1$) zwischen der Expression von ER α und dem operativen Score (s. Tab. 4.12 und Abb. 4.13-15).

Korrelation zwischen der ER α & β - bzw. BNP-Expression und den Scoresystemen

			Score OP	Entwöhnung HLM	Postoperativ 4h	Postoperativ 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	-,450	,026	-,358	,130
		p-Wert	<0,1	NS	NS	NS
		Patienten	15	16	16	17
	ER beta	Korrelationskoeffizient	-,406	-,026	-,239	,223
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	15	16	16	17
	BNP	Korrelationskoeffizient	-,534	-,522	-,515	-,093
		p-Wert	<0,05	<0,05	<0,05	NS
		Patienten	15	16	16	17

NS= nicht signifikant; signifikant <0,05; HLM=Herz-Lungen-Maschine; HK= Herz-Kreislauf

Tabelle 4.12

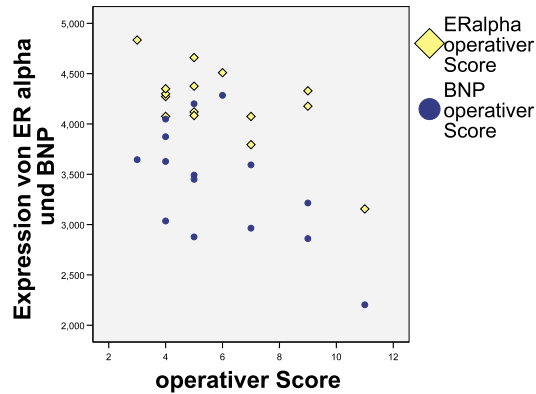


Abbildung 4.13 Zusammenhang zwischen der Expression von BNP und ER α und dem operativen Score

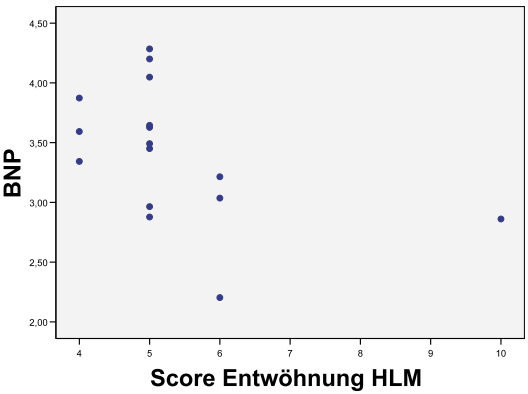


Abbildung 4.14 Zusammenhang zwischen der Expression von BNP und dem Score Entwöhnung HLM

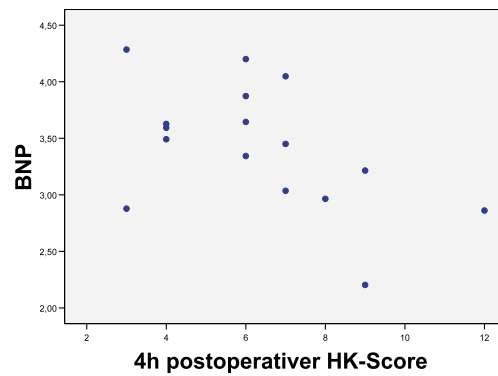


Abbildung 4.15 Zusammenhang zwischen der BNP- Expression und dem postoperativen Herz-Kreislauf Score 4h postoperativ

4.8.3 Kreislaufparameter

Ein Zusammenhang zwischen den Kreislaufparametern „mittlerer arterieller Druck“ (MAD), „zentralvenöser Druck“ (ZVD) und der „Herzfrequenz“ vier und 24 Stunden postoperativ erhoben und der Expression der ERs bestand nicht (s. Tab. 4.13). Lediglich zeigte sich eine negative Korrelation zwischen der Expression von BNP und dem ZVD 4h postoperativ ($p < 0,1$; s. Abb 4.16) bzw. eine positive Korrelation zwischen der Expression von BNP und dem MAD 24h postoperativ ($p < 0,02$; s. Abb. 4.17).

Korrelation zwischen der ER α & β bzw. BNP-Expression und den Kreislaufparametern

			MAD 4h	MAD 24h	HF 4h	HF 24h	ZVD 4h	ZVD 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	,202	,353	,051	-,238	-,193	-,082
		p-Wert	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Patienten	18	18	18	18	18	18
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,193	,281	,225	-,104	,006	,053
		p-Wert	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Patienten	18	18	18	18	18	18
	BNP	Korrelationskoeffizient	,150	,570	-,041	-,069	-,464	-,224
		p-Wert	NS	<0,02	NS	NS	<0,1	NS
		Patienten	18	18	18	18	18	18

NS= nicht signifikant, signifikant <0,05

Tabelle 4.13

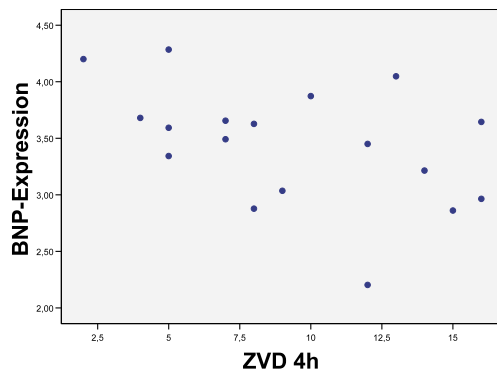


Abbildung 4.16 Zusammenhang zwischen der BNP Expression und dem ZVD 4h postoperativ

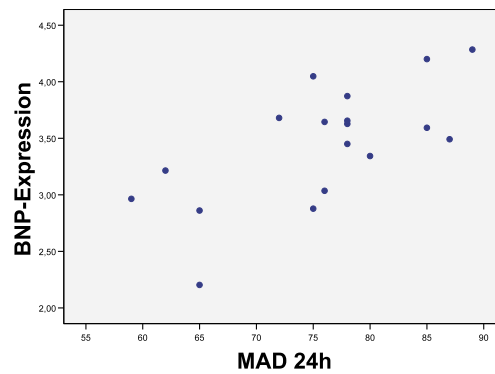


Abbildung 4.17 Zusammenhang zwischen der BNP Expression und dem MAD 24h postoperativ

4.8.4 Flüssigkeitszufuhr

Bei den Parametern, die den Volumenbedarf widerspiegeln, korrelierte die postoperativ errechnete Bilanz vier jedoch nicht 24 Stunden postoperativ signifikant negativ mit der Expression von ER β ($p < 0,05$). Die Expression von ER α zeigte eine negative Korrelation mit der Flüssigkeitsbilanz 4h postoperativ ($p < 0,1$) (s. Tab. 4.14 und Abb. 4.18).

Korrelation zwischen der ER α & β - bzw. BNP-Expression und den Parametern der Flüssigkeitszufuhr

			Diurese (ml/kg/h) 4h	Diurese (ml/kg/h) 24h	Bilanz (ml/kg/h) 4h	Bilanz (ml/kg/h) 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	,051	-,078	-,464	-,269
		p-Wert	NS	NS	<0,1	NS
		Patienten	17	17	17	17
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,199	-,059	-,487	-,281
		p-Wert	NS	NS	<0,05	NS
		Patienten	17	17	17	17
	BNP	Korrelationskoeffizient	-,400	-,218	-,340	-,114
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	17	17	17	17

NS= nicht signifikant; signifikant <0,05

Tabelle 4.14

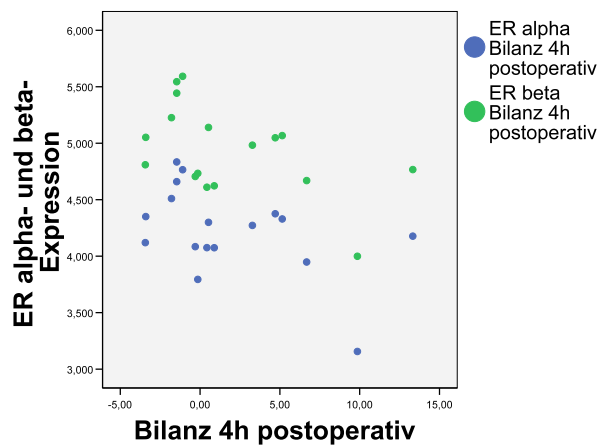


Abbildung 4.18 Zusammenhang zwischen der Expression von $ER_{\alpha\&\beta}$ und der Bilanz 4h postoperativ

4.8.5 Laborwerte

Es bestand keine Korrelation zwischen der Freisetzung von Troponin T vier Stunden postoperativ und der Expression der ERs bzw. BNP. Allerdings stellten wir eine signifikante negative Korrelation zwischen Troponin T Freisetzung 24 Stunden postoperativ und der Expression von ER_{α} ($p < 0,05$) bzw. einer negativen Korrelation zwischen der Troponin T Freisetzung 24 Stunden postoperativ und der ER_{β} - bzw BNP-Expression ($p < 0,1$) fest (s. Tab. 4.15 und Abb. 4.19).

Korrelation zwischen $ER_{\alpha\&\beta}$ - und BNP-Expresion und der Troponinfreisetzung 4h und 24h postoperativ

			Troponin 4h	Troponin 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	-,091	-,505
		p-Wert	NS	<0,05
		Patienten	17	18
	ER beta	Korrelationskoeffizient	-,007	-,437
		p-Wert	NS	<0,1
		Patienten	17	18
	BNP	Korrelationskoeffizient	-,108	-,467
		p-Wert	NS	<0,1
		Patienten	17	18

NS= nicht signifikant; signifikant<0,05

Tabelle 4.15

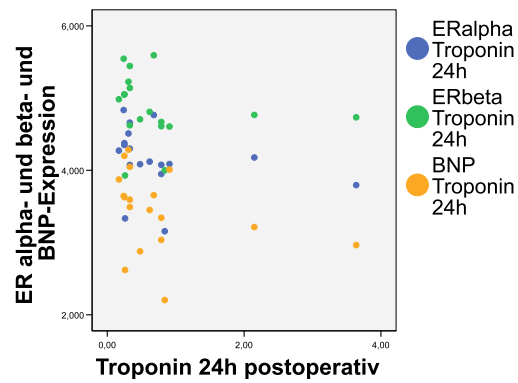


Abbildung 4.19 Zusammenhang zwischen der Expression von $ER\alpha\&\beta$ bzw. BNP und der Troponinfreisetzung 24h postoperativ

Die übrigen Laborparameter zeigten keinen Zusammenhang mit der RNA-Expression der ERs bzw. BNP im Myokard (siehe Anhang Seite 65, Tab.8.7).

4.8.6 Medikamentenbedarf

Wir dokumentierten den Bedarf der Medikamente Natriumnitroprussid und Dobutamin zum Zeitpunkt vier und 24 Stunden postoperativ. Die $ER\alpha$ - bzw. $ER\beta$ - Expression korrelierte negativ mit dem Bedarf an Natriumnitroprussid 24h postoperativ ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,1$).

Korrelation zwischen der Expression von $ER\alpha\&\beta$ bzw. BNP und dem Medikamentenbedarf

			Dobutrex 4h	Dobutrex 24h	Natriumnitroprussid 4h	Natriumnitroprussid 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	-,116	-,283	,069	-,517
		p-Wert	NS	NS	NS	<0,05
		Patienten	19	19	19	19
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,006	-,245	,049	-,451
		p-Wert	NS	NS	NS	<0,1
		Patienten	19	19	19	19
	BNP	Korrelationskoeffizient	-,184	-,291	,005	-,117
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	19	19	19	19

NS= nicht signifikant; signifikant <0,05

Tabelle 4.16

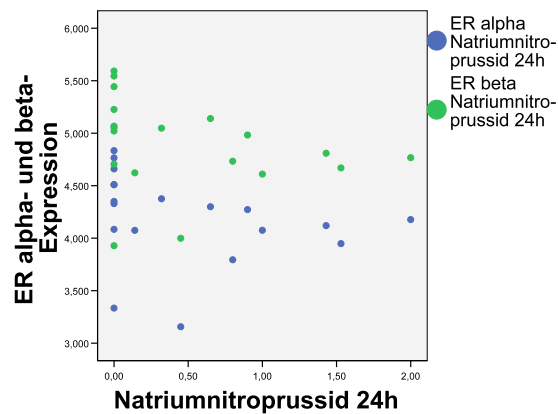


Abbildung 4.20 Zusammenhang zwischen der Expression von $ER_{\alpha\&\beta}$ und dem Gebrauch von Natriumnitroprussid 24h postoperativ

4.9 Klinische Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Patienten

Wir führten zum Vergleich der Unterschiede der klinischen Parameter zwischen der weiblichen und männlichen, voneinander unabhängigen Untergruppe den Mann-Whitney-U-Test durch. Es konnten signifikante Unterschiede zwischen den beiden Untergruppen für den MAD 24h postoperativ, die Kreatininwerte 4h und 24h postoperativ sowie für die Blutzuckerwerte 24h postoperativ festgestellt werden. Die anderen Klinikparameter ergaben keine signifikanten Unterschiede (siehe Anhang S. 67-69, Tab. 8.8-8.14).

Der MAD war 24 Stunden postoperativ in der weiblichen Untergruppe im Vergleich zur männlichen Untergruppe signifikant niedriger ($p < 0,01$). Vier Stunden postoperativ war kein Unterschied zwischen den Gruppen zu beobachten (s. Tab. 4.16 und Abb. 4.21).

MAD in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	MAD 4h	MAD 24h
Mann-Whitney-U	19,000	30,500
Wilcoxon-W	74,000	96,500
Z	-1,211	-,258
Exakter p-Wert	,120	,007

Tabelle 4.17

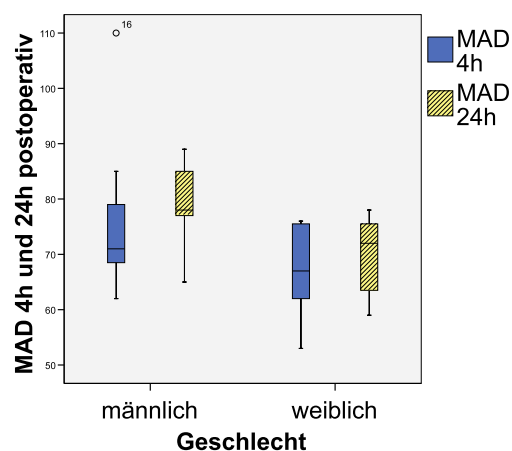


Abb. 4.21 Mittlerer arterieller Druck (MAD) in der weiblichen und männlichen Untergruppe vier und 24h postoperativ

Bei den postoperativ bestimmten Laborparametern ließen sich Unterschiede bei den Kreatininwerten vier und 24 Stunden postoperativ und bei den Blutzuckerwerten 24 Stunden postoperativ in den Untergruppen erkennen (s. Tab. 4.18).

Kreatinin- und Blutzuckerwerte 4h und 24h postoperativ bei den weiblichen und männlichen Patienten

	Kreatinin 4h	Kreatinin 24h	Blutzucker 4h	Blutzucker 24h
Mann-Whitney-U	11,000	11,000	39,500	11,500
Wilcoxon-W	39,000	39,000	130,500	32,500
Z	-2,759	-2,771	-,476	-2,417
Exakter p-Wert (zweiseitig)	,004	,004	,656	,013

Tabelle 4.18

Die Kreatininwerte waren zu beiden Zeitpunkten signifikant niedriger in der weiblichen Untergruppe als in der männlichen Untergruppe ($p < 0,005$, s. Abb 4.22). In der Verteilung der Kreatininwerte vier und 24 Stunden postoperativ, aufgeschlüsselt nach dem Alter in Monaten, wird deutlich, dass mehr jüngere Patientinnen als Patienten in das Kollektiv eingeschlossen waren und die Kreatininwerte mit dem Alter kontinuierlich anstiegen (Abb. 4.23 und 4.24).

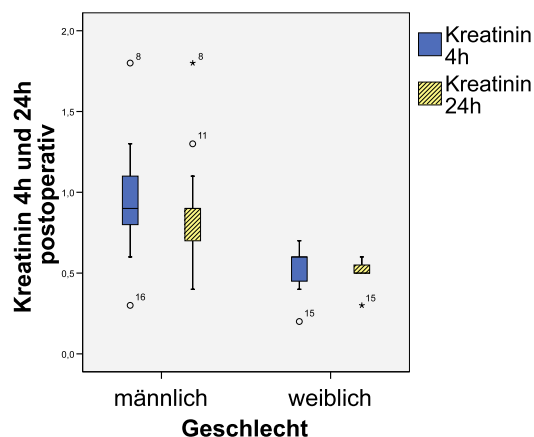


Abbildung 4.22 Kreatinin 4h und 24h postoperativ in der weiblichen und männlichen Untergruppe

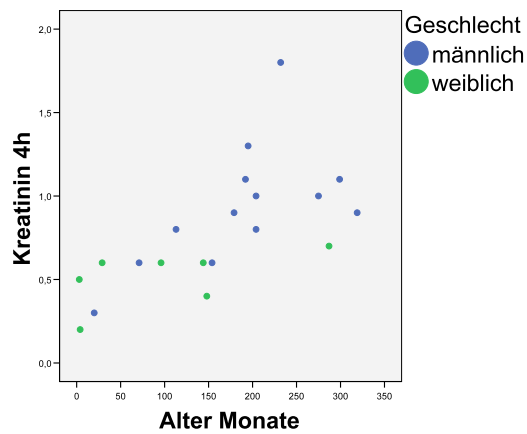


Abbildung 4.23 Verteilung der Kreatininwerte 4h postoperativ in Bezug zum Alter aufgeschlüsselt nach Geschlecht

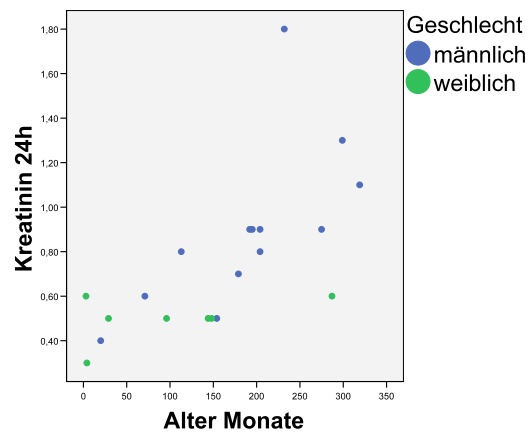


Abbildung 4.24 Verteilung der Kreatininwerte 24h postoperativ in Bezug zum Alter aufgeschlüsselt nach Geschlecht

Die Blutzuckerwerte der Patientinnen waren nach 24 Stunden niedriger als die Werte in der männlichen Untergruppe ($p < 0,02$), während sich vier Stunden nach der Operation keine signifikanten Unterschiede zeigten (s. Tab 4.18 und Abb. 4.25).

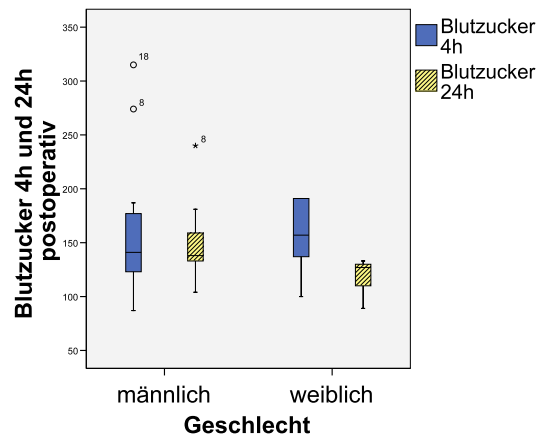


Abbildung 4.25 Blutzuckerwerte 4h und 24h postoperativ in der weiblichen und männlichen Untergruppe

5.Diskussion

5.1 Expression des Estrogenrezeptor α & β

Die beiden Isoformen des Estrogenrezeptors wurden in Rattenkardiomyozyten sowie -fibroblasten von Grohe et al. nachgewiesen (Grohe, Kahlert et al. 1997). Es existieren nur wenige Studien mit humanen Kardiomyozyten. Taylor et al. wiesen beide Rezeptoren in adulten Kardiomyozyten von Leichen und herzchirurgischen Patienten nach (Taylor and Al-Azzawi 2000). Nordmeyer et al. zeigten die Expression von ER α & β im linken Ventrikel bei Herztransplantationspatienten mit Aortenstenose und bei Spenderherzen (Nordmeyer, Eder et al. 2004). Brandenberger et al. wiesen mittels semiquantitativer RT-PCR an Föten der 16.-23. Woche die Expression von beiden Rezeptoren in gleicher Stärke am Herzen nach (Brandenberger, Tee et al. 1997).

Wir zeigen erstmalig, dass Estrogenrezeptor α & β in Kardiomyozyten des rechten Vorhofs von Patienten mit angeborenen Herzfehlern im Kindesalter exprimiert werden. In unserer Studie besteht eine signifikante Korrelation zwischen der Expression von beiden Isoformen. Dies deutet darauf hin, dass die Expression der beiden Rezeptoren durch einen gemeinsamen externen Faktor gesteuert wird, oder sie sich gegenseitig regulieren. Lindberg et al. konnten für die Expression von Estrogenrezeptoren im Knochen nachweisen, dass ER β die Expression von ER α in Anwesenheit von ER α inhibiert und in Abwesenheit stimuliert (Lindberg, Moverare et al. 2003). Es ist möglich, dass am Herzen ähnliche Mechanismen der gegenseitigen Regulation existieren.

Es wurde gezeigt, dass z.B. bei Aortenstenose und DCM die Estrogenrezeptoren hochreguliert werden (Nordmeyer, Eder et al. 2004), (Mahmoodzadeh, Eder et al. 2006). Da wir keine Kontrollgruppe für unsere Altersgruppe hinzuziehen konnten, ist nicht klar, inwieweit sich die Ergebnisse auf Patienten ohne Herzfehler übertragen lassen.

5.2 Expression ER α & β und Alter

Es gibt in der Literatur nur wenige Untersuchungen, die die Konzentration der Estrogenrezeptoren im Myokard im Bezug zum Alter analysiert haben. Die

meisten Studien verwenden neonatale oder adulte Kardiomyozyten. Jankowski et al. untersuchten an Rattenkardiomyozyten die Expression der Rezeptoren zu unterschiedlichen Zeiten der Entwicklung. Sie wiesen nach, dass signifikante Konzentrationsänderungen der ERs in den ersten Lebenswochen stattfinden und die Zusammensetzung danach auf konstantem Niveau bleibt. Der ER α ist nach der Geburt zunächst in geringerer Konzentration in allen Herzkammern vorhanden und steigt in den ersten Wochen an. ER β ist bei vier Tage alten Ratten in einer viel höheren Konzentration im linken Ventrikel im Vergleich zu den anderen Herzkammern nachzuweisen. In den ersten Wochen sinkt die Konzentration im linken Ventrikel dann aber sehr viel stärker als in den anderen Herzkammern (Jankowski, Rachelska et al. 2001).

In unserem Patientenkollektiv konnte kein Zusammenhang zwischen dem Alter und der Expression der ERs gefunden werden. Unser Patientenkollektiv wies eine breite Altersspanne auf (Spannweite 3-319 Monate, Median 166,5 Monate). Drei Patienten waren in der Pubertät und fünf Patienten bereits im Erwachsenenalter. In unserer Studie wurden keine Proben von Neugeborenen untersucht. Es ist somit möglich, dass die von Jankowski et al. beschriebenen Änderungen der Konzentrationen der Rezeptoren in den ersten Lebenswochen auch beim Menschen zu finden sind.

Wir konnten für unser Kollektiv nachweisen, dass nach der Neugeborenenperiode das Alter keinen Einfluss auf die Expression von ERs am Herzen besitzt.

5.3 Expression ER α & β und Geschlecht

Mahmoodzadeh et al. konnten bei Spenderherzen keine signifikanten Geschlechtsunterschiede in der Expression von ER α aufzeigen, lediglich eine gering niedrigere Expression bei Frauen. Bei Transplantationspatienten mit DCM nahm die Expression von ER α bei Frauen stärker zu als bei Männern. Auch zwischen den Gruppen der prä- und postmenopausalen Frauen waren weder in der Kontrollgruppe noch bei den Patientinnen mit dilatativer Kardiomyopathie ein signifikanter Unterschied in der Expression von ER α zu finden (Mahmoodzadeh, Eder et al. 2006).

Nordmeyer et al. konnten zwischen Frauen und Männern weder bei Spenderherzen noch bei Patienten mit Aortenstenose einen signifikanten

Unterschied in der Expression von ER α aufzeigen. Die Daten zu ER β wiesen darauf hin, dass Männer in der Kontrollgruppe eine höhere Expression, Frauen aber einen signifikant höheren Anstieg von ER β in der Patientengruppe hatten (Nordmeyer, Eder et al. 2004).

Wir konnten für unsere Patientengruppe bestätigen, dass auch im Kindesalter kein signifikanter Unterschied in der Expression von ER α & β zwischen weiblichen und männlichen Patienten besteht.

Wir stellten, wie auch Mahmoodzadeh et al. in ihrer Kontrollgruppe, niedrigere Werte für ER α (Median und Spannweite: weiblich 4,08 und 1,35; männlich 4,33 und 1,5) in der weiblichen Untergruppe fest. Auch die Beobachtung, dass im männlichen Myokard ER β eine tendenziell höhere Expression aufweist, wie sie Nordmeyer et al. in ihrer Kontrollgruppe machten, deutete sich bei unseren Patienten an (Median und Spannweite: weiblich 4,73 und 1,02 ; männlich 5,05 und 1,66). Es ist möglich, dass bei einer größeren Patientengruppe die Werte Signifikanzniveau erreichen würden. Des Weiteren wäre interessant eine homogenere Gruppe im Bezug auf die Herzfehler zu untersuchen. Vielleicht ließe sich hier, wie oben beschrieben, eine unterschiedliche Hochregulation der ERs zwischen der weiblichen und männlichen Untergruppe feststellen.

5.4 BNP-Expression im rechten Atrium

In unserer Studie zeigen wir, dass die RNA-Expression von BNP im rechten Atrium bei allen Patienten nachzuweisen war. Es existieren einige Studien zu Normwerten der Plasma-BNP-Spiegel im Kindesalter. Die meisten Studien zeigen die höchsten Werte nach der Geburt (Koch and Singer 2003; Mir, Laux et al. 2003; Nir, Bar-Oz et al. 2004) und einen Abfall in den ersten Wochen. Einige Studien zeigen nach der Neonatalperiode einen konstanten Plasmawert (Mir, Laux et al. 2003; Nir, Bar-Oz et al. 2004), während andere einen Abfall mit steigendem Alter zeigen (Rauh and Koch 2003; Nir, Lindinger et al. 2008). Weitere Autoren berichten über einen zweiten Gipfel der Plasmaspiegel während der Pubertät (Mir, Flato et al. 2006).

Wir konnten auf RNA-Ebene keinen Zusammenhang zwischen dem Alter und der Expression von BNP finden. In unserer Studie waren keine Neugeborenen eingeschlossen, so dass wir nicht beobachten konnten, ob in dieser Altersgruppe auch auf RNA-Ebene höhere Werte zu finden sind als bei älteren

Patienten. Allerdings ist in der Literatur bekannt, dass BNP bei Herzfehlern hochreguliert wird (Reynolds, Ellington et al. 2004; Westerlind, Wahlander et al. 2004; Nir, Lindinger et al. 2008), so dass wir bei unseren Patienten nicht von einer Normalverteilung der Werte ausgehen können.

Im Bezug auf Geschlechtsunterschiede der Plasmanormwerte für BNP im Kindesalter, existieren in der Literatur widersprüchliche Angaben. In einigen Studien wurden höhere Plasmawerte bei Mädchen während der Pubertät gefunden (Schwachtgen, Herrmann et al. 2005; Nir, Lindinger et al. 2008), während andere Untersuchungen keine Unterschiede zwischen Jungen und Mädchen während Kindheit und Adoleszenz aufzeigen konnten (Rauh and Koch 2003; Mir, Flato et al. 2006). Im Erwachsenenalter ist bekannt, dass Frauen bis zu 78% höhere BNP-Plasmawerte haben als Männer (Mir, Flato et al. 2006). Es gibt Hinweise, dass BNP in der Menopause durch die Östrogensersatztherapie ansteigt (Maffei, Del Ry et al. 2001). Karjalainen et. al. hingegen konnten diese Beobachtung nicht bestätigen (Karjalainen, Ruskoaho et al. 2004).

In unserem Kollektiv stellten wir keine signifikanten Unterschiede der RNA-Expression zwischen den Geschlechtern fest. Im Vergleich der Medianwerte (Median und Spannweite: weiblich 3,04 und 1,67; männlich 3,63 und 1,66) zeigte sich allerdings eine Tendenz, dass die Patientinnen eine geringere Expression von BNP aufweisen. Drei unserer Patienten (ein Junge, zwei Mädchen) waren zum Zeitpunkt der Operation in der Pubertät (Alter in Monaten 120-168). Wir konnten, wie teilweise in der Literatur beschrieben, keine höhere BNP-Expression in dieser Altersgruppe, weder in der weiblichen noch der männlichen Untergruppe, beobachten. Unser Kollektiv bestand aus dreizehn Patienten und sieben Patientinnen. Es ist nicht sicher, ob in einer größeren Gruppe die Geschlechtsunterschiede Signifikanzniveau erreichen würden. Interessant wäre weiterhin, ob in einer homogenen Gruppe in Bezug auf die Herzfehler eine unterschiedliche Hochregulation der BNP-Expression zu erkennen wäre. Witt et al. konnten an druckbelasteten Mäuseherzen keinen Unterschied der BNP-Expression zwischen den Geschlechtern finden (Witt, Schubert et al. 2008). Des Weiteren existieren viele Studien zum Anstieg der ventrikulären BNP-Sekretion bei Herzerkrankungen, die Veränderungen der atrialen Sekretion werden nur selten beachtet (Doyama, Fukumoto et al. 1998; Goetze, Friis-Hansen et al. 2006). Für weitere Studien wäre eine gleichzeitige

Bestimmung der Plasmaspiegel wichtig, um die RNA-Ebene mit der tatsächlichen Sekretion des Hormons zu vergleichen.

5.5 Zusammenhang der Expression von ER α & β und BNP

In klinischen Studien wurde nachgewiesen, dass gesunde Frauen höhere BNP-Plasmaspiegel haben als gesunde Männer der gleichen Altersgruppe (Redfield, Rodeheffer et al. 2002; Mir, Flato et al. 2006). Des Weiteren wird postuliert, dass nach Östrogensersatztherapie die BNP-Blutspiegel ansteigen (Maffei, Del Ry et al. 2001). Dies lässt vermuten, dass Östrogen einen Einfluss auf die Produktion von BNP hat. Für ein weiteres Mitglied der Familie der natriuretischen Peptide, den atrialen natriuretischen Faktor (ANF), wurde nachgewiesen, dass die Expression über Estrogenrezeptoren gesteigert wird (Jankowski, Rachelska et al. 2001). Nordmeyer et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen der ventrikulären Expression von Estrogenrezeptoren und der Expression von BNP finden (Nordmeyer, Eder et al. 2004).

Wir zeigen in unserer Studie zum ersten Mal, dass eine Korrelation zwischen der Expression der Estrogenrezeptoren α & β und BNP im rechten Atrium bei Patienten mit angeborenem Herzfehler besteht. Sowohl Estrogenrezeptor α ($p < 0,005$), als auch Estrogenrezeptor β ($p < 0,02$) zeigen eine positive Korrelation. Dies lässt vermuten, dass entweder die ERs die Expression von BNP fördern bzw. umgekehrt, oder dass die Expression beider Faktoren durch einen gemeinsamen externen Faktor reguliert wird. Die Tatsache, dass Frauen höhere BNP-Plasmaspiegel als Männer haben, weist darauf hin, dass die BNP-Expression über Aktivierung der Estrogenrezeptoren gesteigert wird.

Sehr interessant wäre eine zusätzliche Beobachtung der BNP-Plasmaspiegel im postoperativen Verlauf. Ma et al. fanden heraus, dass Entzündungsmediatoren über die MAPK die Expression von BNP fördern (Ma, Ogawa et al. 2004). Postoperativ erhöhte BNP-Spiegel nach Kinderherzoperationen werden mit einem schlechteren postoperativen Outcome gleichgesetzt (Chikovani, Hsu et al. 2007; Hsu, Keller et al. 2007; Berry, Askovich et al. 2008). Operationen mit extrakorporalem Kreislauf lösen eine systemisch entzündliche Reaktion aus (Seghaye, Grabitz et al. 1996). Es ist bekannt, dass estrogenrezeptorvermittelt die Phosphorylierung der MAPK α

gehemmt wird (Kim, Pedram et al. 2006). Somit wäre es möglich, dass über die Estrogenrezeptoren eine Expression von BNP gefördert wird, im Falle einer Entzündung dieser Effekt aber über eine estrogenrezeptorvermittelte Hemmung der MAPK abgemildert oder aufgehoben wird. Weitere Studien sind nötig, um den Zusammenhang zwischen ER- und BNP- Expression und die Veränderungen während eines entzündlichen Geschehens zu klären.

5.6 Estrogenrezeptor α & β - und BNP-Expression und Klinik

Wir haben in unserer Studie präoperativ, während der Operation und vier sowie 24 Stunden postoperativ klinische Daten und Laborwerte bei unserer Patienten erhoben. Wir untersuchten die Korrelation zwischen den klinischen Daten und der Expression von Estrogenrezeptor α & β bzw. BNP im rechten Atrium.

Es ist bekannt, dass Frauen in vielen klinischen Situationen ein besseres Outcome als Männer haben. Unter anderem ist z.B. die Inzidenz von Sepsis, Multiorganversagen und Pneumonie nach Trauma bei Frauen geringer als bei gleichaltrigen Männern (Oberholzer, Keel et al. 2000; Mostafa, Huynh et al. 2002; Gannon, Pasquale et al. 2004). Die Hypothesen wie E2 über ER α & β eine mögliche protektive Wirkung ausübt sind zahlreich und ein Feld laufender Forschung.

Gessler et al. stellten für Kinder mit hohen BNP-Plasmaspiegeln ein schlechteres Outcome nach Kinderherzoperationen fest (Gessler, Knirsch et al. 2006). Ebenso ist für postoperativ erhöhte BNP-Plasmawerte ein erschwerter klinischer Verlauf nachgewiesen (Chikovani, Hsu et al. 2007; Hsu, Keller et al. 2007; Berry, Askovich et al. 2008). Es ist aber weiterhin bekannt, dass BNP als Kompensationsmechanismus bei Herzerkrankungen auch protektiven Wert hat und zum Teil auch in klinischen Studien bereits als rekombinantes humanes BNP therapeutisch z.B. bei Herzinsuffizienz eingesetzt wird (Erdmann 2009).

Wir prüften, ob die Expression von ER α & β und BNP-RNA im rechten Atrium Zusammenhänge mit den klinischen Daten unserer Patienten aufweist.

5.6.1 Oxygenierungsparameter

Saaresranta et al. konnten bei hohen Östrogenblutspiegeln eine höhere nächtliche Sauerstoffsättigung nachweisen (Saaresranta, Polo-Kantola et al. 2006). Frink et al. zeigten an Ratten, dass nach Behandlung mit E2 nach

Trauma/Hämorrhagie durch Senkung der Produktion von Keratinozyten-abgeleiteten-Chemokinen (KC), $\text{TNF}\alpha$ bzw. IL-6 die Infiltration der Lunge durch Neutrophile und der Organschaden abnehmen (Frink, Thobe et al. 2007).

BNP senkt durch seine vasodilatatorischen Eigenschaften die Vor- und Nachlast des Herzens und wirkt inhibitorisch auf das periphere und zentrale sympathische Nervensystem (Erdmann 2009). Dadurch wird der Sauerstoffbedarf gesenkt. Wir konnten eine positive Korrelation zwischen der präoperativen Sauerstoffsättigung und der Expression von $\text{ER}\beta$ ($p < 0,05$), BNP ($p < 0,05$) bzw. $\text{ER}\alpha$ ($p < 0,1$) zeigen. Der Oxygenierungsindex korrelierte positiv 4h sowie 24h postoperativ mit der Expression von BNP ($p < 0,05$) bzw. der Expression von $\text{ER}\alpha\&\beta$ vier Stunden postoperativ ($p < 0,1$). Es ist somit anzunehmen, dass sowohl die Expression von ERs sowie BNP einen positiven Einfluß auf die Lungenfunktion und Oxygenierung unserer Patienten hat. Es bleibt zu klären, ob eine höhere kardiale Expression der Rezeptoren auch auf eine erhöhte Expression in anderen Organen, wie z.B. der Lunge hinweist. Desweiteren gibt es Hinweise, dass z.B. in Lungentumoren die Expression von $\text{ER}\alpha$ durch Hypoxie heruntergeregelt wird (Cooper, Liu et al. 2004). Es ist demnach ebenso möglich, dass die Sauerstoffsättigung Einfluss auf die Expression der Rezeptoren im Myokard hat. Die niedrigere präoperative Sättigung könnte zu einer Runterregulation der Rezeptoren geführt haben. Die verschiedenen Einflussfaktoren auf die Regulation der ER-Expression sind zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht hinreichend geklärt.

5.6.2 SCORE-Systeme

Wir stellten bei den operativen Daten fest, dass die BNP-Expression negativ mit dem operativen Scoresystem und dem HLM-Score korreliert ($p < 0,05$). Für die Expression von $\text{ER}\alpha$ in Korrelation mit dem operativen Score stellten wir eine negative Tendenz fest ($p < 0,1$). Eine hohe BNP-Expression weist somit auf kürzere Zeiten des extrakorporalen Kreislaufs und eine leichtere Entwöhnung von der Herzlungenmaschine hin. Nacken et al. entwickelten diese Scoresystem für Kinder, die am Herzen operiert wurden. Sie zeigten, dass kurze Zeiten des extrakorporalen Kreislaufs, Aortenabklemmzeit und Kreislaufstillstanddauer einen positiv prädiktiven Wert in Bezug auf Mortalität und Morbidität haben (Nacken 2004). Es ist somit denkbar, dass eine hohe BNP-Expression im rechten Atrium einen protektiven Einfluss auf den

operativen und postoperativen Verlauf hat. Interessant wäre zu klären, ob die höhere Expression auch mit einem höheren BNP-Plasmaspiegel einhergeht. Einige Autoren wiesen nach, dass höhere BNP-Plasmaspiegel mit einem schlechteren postoperativen Outcome nach Kinderherzoperationen einhergehen (Gessler, Knirsch et al. 2006; Chikovani, Hsu et al. 2007; Hsu, Keller et al. 2007; Berry, Askovich et al. 2008). Es ist weiterhin möglich, dass BNP-Werte bis zu einer gewissen Höhe protektiv wirken und bei Erreichen eines bestimmten Wertes das physiologische Kompensationssystem umschlägt. Eventuell liegen bei unseren Patienten die Werte noch in einem kompensatorischen Bereich.

Zusammenfassend lässt sich der postoperative Verlauf auch anhand eines Scoresystems vier und 24 Stunden postoperativ beurteilen. Nacken wies nach, dass das postoperative Scoresystem ein guter Prädiktor für die Morbidität und Mortalität nach kinderherzchirurgischen Eingriffen ist (Nacken 2004). Wir konnten bei einer hohen Expression von BNP niedrige Scorewerte vier Stunden postoperativ beobachten ($p < 0,05$). Es ist somit anzunehmen, dass die BNP-Expression auch protektive Effekte für den Verlauf zum Zeitpunkt vier Stunden postoperativ aufweist.

5.6.3 Kreislaufparameter

Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen den Kreislaufparametern und der Expression der ERs. Für die Expression von BNP stellten wir vier Stunden postoperativ eine negative Korrelation ($p < 0,1$) mit dem ZVD fest. Dies ist mit der Tatsache erklärbar, dass BNP vasodilatierende und diuretische Eigenschaften hat. Interessanterweise zeigte sich aber 24 Stunden postoperativ eine signifikante positive Korrelation ($p < 0,02$) zwischen der Expression von BNP und dem mittleren arteriellen Druck. Dieses Ergebnis ist nicht mit den vasodilatierenden und diuretischen Eigenschaften von BNP vereinbar. Unter Umständen kann es sein, dass die BNP-Werte im rechten Atrium nicht mit den Plasmawerten korrelieren oder dass im postoperativen Verlauf BNP runterreguliert wurde. Es ist möglich, dass eine Runterregulation, wie im Abschnitt 5.5 beschrieben, während des postoperativen Entzündungsgeschehen über den MAPK-Signalweg erfolgte.

5.6.4 Flüssigkeitszufuhr

Die Bilanz, die 4h postoperativ berechnet wurde, korrelierte negativ mit der Expression von ER β ($p < 0,05$) und mit der Expression von ER α ($p < 0,1$). Dies weist darauf hin, dass bei einer hohen Expression von ER β die Wasserbilanz niedrig ist. Es wird somit mehr Flüssigkeit ausgeschieden und die Kinder zeigen eine geringere Ödembildung. Es existieren erste Untersuchungen, dass E2 über die ERs inhibitorisch auf das ACE-System wirkt und somit eine vermehrte Salz- und Wasserausscheidung bewirkt. Eventuell geschieht dies über eine Hochregulation des natürlichen Gegenspielers ANF (Jankowski, Rachelska et al. 2001). In Abwesenheit von E2 wurde auch eine Hochregulation des Angiotensin-II-Rezeptors beschrieben (Babiker, De Windt et al. 2002). Ein weiterer Erklärungsansatz ist, dass E2 z.B. die Vasokonstriktion durch Endothelin-1 nach einem Trauma an den Nierengefäßen vermindert und somit die renale Perfusion und Ausscheidung steigert. Die Endothelin-1 induzierte Vasokonstriktion an den Nierengefäßen wurde auch stärker durch einen ER β als einen ER α Agonisten antagonisiert (Ba and Chaudry 2008). Fraglich ist aber, ob eine hohe Konzentration von ERs im rechten Atrium auch auf eine höhere Konzentration in anderen Geweben schließen lässt. Es sind weitere Studien nötig, um die Expression der Rezeptoren in den verschiedenen Geweben und deren Regulationsmechanismen zu erforschen.

5.6.5 Troponin T

Eine weitere Frage, die durch unsere Studie beantwortet werden sollte, war, ob ein Zusammenhang zwischen der Expression von ERs bzw. BNP und der Freisetzung des Markers für Herzmuskelschäden, Troponin T, besteht. Kippels zeigte, dass nach Kinderherzoperationen Troponin T bei allen seinen untersuchten Patienten vier Stunden postoperativ signifikant im Bezug zum präoperativen, normwertigen Ausgangswert anstieg und zu diesem Zeitpunkt die höchsten Werte im postoperativen Verlauf zeigte. 24 Stunden postoperativ waren bei allen Kindern die Werte wieder gesunken, waren aber im Vergleich zum Ausgangswert noch signifikant erhöht (Kippels 2004). In unserer Patientengruppe fanden wir keinen Zusammenhang zwischen der Höhe der Troponin T Blutspiegel und der Expression der ERs bzw. BNP vier Stunden postoperativ. 24 Stunden postoperativ zeigte sich hingegen, dass hohe Werte

der ER α Expression mit niedrigen Werten des Troponin T Plasmaspiegels einhergehen ($p < 0,05$). Die Expression von ER β bzw. BNP zeigte eine negative Korrelation mit der Freisetzung von Troponin T ($p < 0,1$). Es könnte somit sein, dass besonders über den Estrogenrezeptor α der Myokardschaden und somit der Anstieg von Troponin T abgemildert wird. Eventuell spielen hier die in der Einleitung beschriebenen möglichen antiapoptotischen Mechanismen über den Phosphatidyl-Inositol-3-kinase/AKT-Signalweg eine Rolle. Es wäre aber auch möglich, dass genomische Änderungen die Ergebnisse hervorrufen. Dies würde erklären, weshalb vier Stunden postoperativ noch keine Unterschiede zu erkennen sind, da eine Änderung von Genexpression und Produktsynthese in diesem Zeitfenster eventuell noch nicht erfolgt ist.

5.6.6 Medikamentenbedarf

Des Weiteren kann zur klinischen Beurteilung der Patienten, der Medikamentenbedarf herangezogen werden. Für die inotrope Substanz Dobutamin konnte kein Zusammenhang mit der Expression der ERs und BNP beobachtet werden. Der Bedarf des arteriellen sowie venösen Vasodilators Nitroprussidnatrium korrelierte 24 Stunden postoperativ negativ mit der Expression von ER α ($p < 0,05$) bzw. ER β ($p < 0,1$). Nitroprussidnatrium wird in der Kinderherzchirurgie eingesetzt, um die periphere Zirkulation zu verbessern bzw. eine antiinflammatorische adjuvante Therapie zu ermöglichen (Seghaye, Duchateau et al. 1996). Kinder die eine höhere Expression von ER α hatten, benötigten weniger Nitroprussidnatrium und wiesen somit 24 Stunden postoperativ eine bessere periphere Zirkulation auf.

Es gibt Hinweise, dass Östrogene über cytosolische Rezeptoren das endotheliale Wachstum stimulieren und die Muskelproliferation des Gefäßes hemmen. Über nicht genomische Signalwege scheint E2 eine Vasodilatation mittel NO-cGMP, Prostacyclin-cAMP und Hyperpolarisation zu bewirken (Khalil 2005). Des Weiteren sollen Östrogene die mittels Endothelin-1 vermittelte Vasokonstriktion nach Trauma reduzieren (Ba and Chaudry 2008). Es ist somit möglich, dass über die Estrogenrezeptoren zum Zeitpunkt 24 Stunden postoperativ eine Vasodilatation vermittelt wird und so die periphere Zirkulation verbessert ist.

5.7 Klinische Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Patienten

Eine weitere Frage unserer Studie ist, ob die weiblichen und männlichen Patienten Unterschiede im klinischen Verlauf zeigen, da nicht nur die Expression der Rezeptoren, die zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied zeigten, sondern auch andere Faktoren, wie z.B. die Plasmaspiegel der Geschlechtshormone, zu differierenden Ergebnissen zwischen den Geschlechtern führen können.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, geben viele Studien Hinweise darauf, dass Frauen bei schweren Erkrankungen wie z.B. nach einem Trauma ein besseres Outcome haben als Männer (Oberholzer, Keel et al. 2000; Mostafa, Huynh et al. 2002; Gannon, Pasquale et al. 2004). Wir untersuchten die klinischen Daten der Operation und des postoperativen Verlaufs hinsichtlich der Geschlechtsunterschiede. Hier ließen sich signifikante Unterschiede zwischen den Untergruppen für den MAD 24h postoperativ, die Kreatininwerte vier und 24h postoperativ, sowie den Blutzucker 24h postoperativ nachweisen.

Vier Stunden postoperativ waren zwischen den Untergruppen keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf den mittleren arteriellen Druck (MAD) zu erkennen. Zum Zeitpunkt 24h postoperativ trat in der Untergruppe der männlichen Patienten ein signifikanter Anstieg des MADs im Vergleich zu der weiblichen Untergruppe auf ($p < 0,02$).

Eine postoperativ auftretende Hypertension erhöht die Nachlast des Herzens nach herzchirurgischen Eingriffen und erhöht das Blutungsrisiko (Burchardi 2008). Es ist bekannt, dass Frauen vor der Menopause eine deutlich geringere Inzidenz von Hypertension aufweisen als postmenopausale Frauen und gesunde Männer der gleichen Altersgruppe (Herold 2009). Es gibt Hinweise, dass Östrogene über cytosolische Rezeptoren das endotheliale Wachstum stimulieren und die Muskelproliferation des Gefäßes hemmen. E2 wird auch ein Einfluss auf das sympathische Nervensystem über Veränderung der Expression von Adrenorezeptoren des Herzens nachgesagt, resultierend in einer Herabsetzung der Kontraktilität (Wu, Zhao et al. 2008). Infolgedessen könnte nach Herzoperation die postoperative stressbedingte Sympathikusaktivierung, vermindert werden.

Über nicht genomische Signalwege scheint E2 eine Vasodilatation mittels NO-cGMP, Prostacyclin-cAMP und Hyperpolarisation zu bewirken (Khalil 2005). Des Weiteren sollen Östrogene die mittels Endothelin-1 vermittelte Vasokonstriktion nach Trauma reduzieren (Ba and Chaudry 2008). Es ist somit möglich, dass in der weiblichen Untergruppe ein postoperativer Blutdruckanstieg über Östrogen vermittelte Wege vermindert wurde und so die Nachlast für das Herz geringer war.

Nach herzchirurgischen Eingriffen stellt Nierenversagen eine ernstzunehmende Komplikation dar. 8-15% der kardiochirurgischen Patienten entwickeln eine kompensierte Niereninsuffizienz, 1-5% eine dialysepflichtige Niereninsuffizienz. Schon bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion sind die postoperative Mortalität, Morbidität und 5-Jahres Überlebensrate signifikant reduziert. Nierenfunktionsstörungen nach kardiochirurgischen Eingriffen werden u.a. durch Ischämieperfusion und Inflammation hervorgerufen (Burchardi 2008). Wir untersuchten die Nierenfunktion unserer Patienten mittels Kreatininwert im Serum. Hier zeigte sich, dass die Patientinnen sowohl 4h ($p<0,005$) als auch 24h ($p<0,005$) postoperativ signifikant niedrigere Kreatininwerte im Serum hatten. Nach Betrachtung des physiologischen Anstiegs der Normwerte für Kreatinin von der Geburt bis zur Adoleszenz (S. 19, Abb. 3.1) lässt sich vermuten, dass es sich hier um einen Alterseffekt handelt. In unserem Kollektiv waren sechs Mädchen und drei Jungen unter 150 Monaten und eine Patientin und zehn männliche Patienten über 150 Monate alt. Trotzdem gibt es in der Literatur Hinweise, dass E2 z.B. die Vasokonstriktion durch Endothelin-1 nach einem Trauma an den Nierengefäßen vermindert und somit die renale Perfusion steigert (Ba and Chaudry 2008). Es wäre wichtig, weitere Untersuchungen der Nierenwerte in einer homogenen Gruppe im Bezug auf das Alter durchzuführen, um die beiden Effekte deutlich voneinander zu trennen.

Trauma/Hämorrhagie, Schock und Sepsis führen zu Hyperglykämie, gesteigerter hepatischer Glukoseproduktion und reduzierter peripherer Glukoseaufnahme und Verbrauch. Es ist bekannt, dass in der Intensivmedizin eine strikte Einstellung des Blutzuckers auf Normwerte zu einer Verminderung der Inzidenz von Bakteriämie, sepsisbedingtem Multiorgandysfunktionssyndrom und akutem Nierenversagen führt, die Beatmungs- und Aufenthaltsdauer verkürzt und so die Prognose des Patienten drastisch um 34% verbessert

(Abdulla 2006). Wir stellten in unserem Kollektiv für den 24h Glucosewert signifikant niedrigere Werte für die weibliche Untergruppe fest ($p < 0,02$), während der 4h-Wert keine Unterschiede erkennen ließ. Die Nüchternblutzuckerwerte sind bei Neugeborenen zunächst niedriger als im Erwachsenenalter und steigen dann auf das Niveau des Erwachsenenalters an (Kinder 60-99 mg/dl, Erwachsene 60-95 mg/dl; (Thomas 2008)). Da in unserer Studie keine Neugeborenen eingeschlossen waren, muss bei den Ergebnissen nicht von einem Alterseffekt ausgegangen werden. Es ist möglich, dass E2 eventuell über genomische Signalwege eine Veränderung der Glukosespiegel hervorruft und hierüber möglicherweise eine Prognoseverbesserung verursacht. Es ist bekannt, dass E2 die Insulinsensitivität und Glukosehomeostase beeinflusst (Hamden, Carreau et al. 2008; Riant, Waget et al. 2009). Die genauen molekularen Mechanismen sind noch nicht hinreichend geklärt. Es gibt Hinweise, dass E2 zahlreiche Veränderungen der Expression von Genen, die eine Rolle in der Regelung der Blutzuckerspiegel besitzen, bewirkt, z.B. eine Erhöhung von GLUT 4 in der Plasmamembran (Ordonez, Moreno et al. 2008) oder eine Runterregulation von Leptin, Resistin u.a. (Bryzgalova, Lundholm et al. 2008). Neueste Untersuchungen lassen vermuten, dass Estrogen über GPR30 nicht-genomisch regulierend in die Glukosehomeostase eingreift (Martensson, Salehi et al. 2009).

5.8 Limitationen unserer Studie

Es wäre wichtig den Östrogenplasmaspiegel parallel zum postoperativen Verlauf zu bestimmen. In Tierversuchen zeigte sich, dass schon die Hormonschwankungen während des Menstruationszyklus Einfluß auf die pulmonale, hepatische und kardiale Funktion nach Trauma/Hämorrhagie haben (Yang, Choudhry et al. 2006; Hsieh, Frink et al. 2007). Es gibt auch einige wenige klinische Studien an gesunden Probanden, die einen Einfluß des Östrogenstatus auf die kardiale Funktion zeigen (Lloyd, Patel et al. 2000; Kawano, Motoyama et al. 2001). Es wäre interessant zu klären, ob 17 β -Estradiol als Ligand der ERs Einfluss auf den postoperativen Verlauf hat. Da wir keine Geschlechtsunterschiede in der Expression der ERs festgestellt haben, ist zu vermuten, dass die Hormonspiegel ein wichtiger Faktor in der Vermittlung der Geschlechtsunterschiede sind.

Des Weiteren sollte der BNP-Plasmaspiegel parallel zum operativen und postoperativen Verlauf bestimmt werden. Da für hohe Plasmaspiegel ein schlechteres Outcome für Kinder nach kardiochirurgischen Eingriffen vermutet wird, wäre interessant zu untersuchen, ob hohe RNA- Level auch mit hohen Plasmaspiegeln einhergehen und ob eine geringe Erhöhung der Plasmaspiegel als Kompensationsmechanismus auch protektiven Wert besitzen.

Ein weiterer interessanter Ansatz wäre eine Patientengruppe zu untersuchen in der Neugeborene eingeschlossen wären, da sich die Zusammensetzung der ERs in Tierversuchen in den ersten Lebenswochen ändert und dann auf einem konstanten Niveau bleibt. Weiterhin wäre es natürlich wünschenswert, die Expression der Estrogenrezeptoren und BNP in einer Kontrollgruppe ohne Herzerkrankungen zu untersuchen, da im Erwachsenenalter eine Hochregulation der ERs und eine Erhöhung der BNP Plasmaspiegel bei Herzerkrankungen beschrieben wird.

Zuletzt wäre es wichtig die Einflüsse anderer Geschlechtshormone wie Progesteron oder Testosteron zu erforschen um eine klarere Abgrenzung zu den Wirkungen von E2 zu erhalten.

6. Zusammenfassung

Wir untersuchten 20 Patienten (7 Weibliche, 13 Männliche, Alter: Median: 166,5 Monate, Minimum: 3 Monate, Maximum: 319 Monate) mit angeborenem Herzfehler, die am Herzen operiert wurden. Um geschlechtsspezifische Einflüsse auf die postoperative Organprotektion zu analysieren, untersuchten wir die myokardiale Expression der Estrogenrezeptoren α & β , die wir der Expression des natriuretischen BNP, der Freisetzung des Troponin T und dem postoperativen Verlauf gegenüberstellten.

Wir konnten zum ersten Mal nachweisen, dass das Myokard im Kindesalter ER α & β exprimiert. Hierbei stellten wir fest, dass die Expression der beiden Rezeptoren streng miteinander korreliert, so dass davon ausgegangen werden kann, dass sie durch einen gemeinsamen externen Faktor oder gegenseitig reguliert werden.

Es zeigte sich, dass die Expression der Rezeptoren keinen Zusammenhang mit dem Alter unserer Patienten aufwies. Bisher wurde ein Zusammenhang zwischen Alter und Expression in einer Tierstudie untersucht. Hier konnte eine Veränderung der Zusammensetzung von ER α & β nur in den ersten Lebenswochen nachgewiesen werden, danach blieb die Verteilung konstant. Da in unserer Studie keine Neugeborenen eingeschlossen waren, bleibt zu erforschen, ob in dieser Altersgruppe eine andere Verteilung der Rezeptoren zu finden ist.

An menschlichen Herzen wurde bis jetzt kein Unterschied der ER-Expression zwischen den Geschlechtern festgestellt. Auch wir konnten keinen signifikanten Unterschied in der Expression der Rezeptoren zwischen weiblichen und männlichen Patienten feststellen. Es zeigte sich im Vergleich der Medianwerte lediglich eine nicht signifikant niedrigere Expression von ER α & β in der weiblichen Untergruppe. Es bleibt abzuwarten, ob in einer größeren Probandengruppe diese Unterschiede Signifikanzniveau erreichen.

Des Weiteren wiesen wir bei allen unseren Patienten BNP-RNA im rechten Atrium nach. Es existieren einige Studien zu BNP-Plasmaspiegeln im Kindesalter. Hier wird über höchste BNP-Spiegel nach der Geburt und dann konstante oder abfallende Werte in der weiteren Entwicklung berichtet. Einige Studien zeigten einen Peak während der Pubertät. In der Kindheit wird von einigen Autoren eine Erhöhung der Werte während der Pubertät nur bei

Mädchen gesehen. Im Erwachsenenalter haben Frauen dann höhere BNP-Spiegel als Männer. Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht und der BNP-Expression nachweisen. Es ist auch bekannt, dass bei Herzfehlern BNP im Plasma erhöht ist, so dass bei unseren Werten nicht unbedingt von einer Verteilung wie bei gesunden Probanden ausgegangen werden kann.

Ein weiterer wichtiger Punkt unserer Studie ist der erstmalige Nachweis einer Korrelation zwischen der Expression von $ER\alpha\&\beta$ und derjenigen von BNP. Bis jetzt wurde lediglich der Zusammenhang der Expression für den atrialen natriuretischen Faktor nachgewiesen. Es ist aber bekannt, dass BNP-Plasmaspiegel von Frauen höher als die von Männern sind, daher liegt die Vermutung nahe, dass ein Zusammenhang mit den Geschlechtshormonen besteht. Es bleibt weiter zu erforschen über welche Mechanismen die ERs Einfluss auf die BNP-Expression nehmen, oder ob sie evtl. über einen gemeinsamen externen Faktor reguliert werden.

Ein weiterer Teil unserer Studie bestand in der Erhebung klinischer Daten präoperativ, während der Operation und vier sowie 24 Stunden postoperativ. Es existieren viele Hypothesen, wie E_2 über $ER\alpha\&\beta$ auf die unterschiedlichsten Organsysteme protektiv wirkt. Es wird in vielen klinischen Situationen über einen Vorteil im Outcome für Frauen im Vergleich mit gleichaltrigen Männern berichtet. Hohe BNP-Plasmalevel prä- sowie auch postoperativ in der Kinderkardiochirurgie hingegen werden mit einer erhöhten Morbidität sowie Mortalität gleichgesetzt. Wir untersuchten, ob die Expression der ERs und BNP einen Zusammenhang mit unseren klinischen Daten aufweist.

Hier stellten wir für die Expression aller Faktoren zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine höhere Oxygenierung unserer Patienten bei höherer Expression von $ER\alpha\&\beta$ bzw. BNP fest. Wir vermuten, dass die Estrogenrezeptoren einen Einfluss auf die Lungenfunktion unserer Patienten hatte und BNP evtl. über eine Senkung des myokardialen Sauerstoffbedarfs protektiv wirkte.

Interessanterweise konnten wir für die operativen Scoresysteme und den Score 4h postoperativ eine negative Korrelation mit der BNP-Expression nachweisen. Die Scoresysteme wurden entwickelt, um die Morbidität nach kinderkardiochirurgischen Eingriffen besser prognostizieren zu können. Ein niedrigerer Scorewert geht mit einem geringeren Komplikationsrisiko einher.

Somit scheint für die Expression von BNP-RNA eine gegenteilige Aussage im Vergleich zu den Plasmawerten zu bestehen. Hier wäre eine gleichzeitige Bestimmung der Plasmawerte wichtig, um zu erforschen, ob Expression und Plasmawerte korrelieren.

Die Bilanz unserer Patienten ließ vier Stunden postoperativ einen negativen Zusammenhang mit der Expression von ER β erkennen. Erklärungsansätze hierfür wären inhibitorische Effekte auf das ACE-System oder eine Hemmung einer Vasokonstriktion durch Endothelin-1.

Eine weitere wichtige Beobachtung unserer Studie ist, dass 24 Stunden nach der Operation ein negativer Zusammenhang zwischen der ER α -Expression und dem Troponin-T-Wert im Blut zu beobachten war. Troponin ist ein hoch sensitiver Marker für eine Schädigung des Herzmuskels. Es ist somit zu vermuten, dass eine hohe Expression von ER α protektive Effekte auf den Herzmuskel besitzt. Es gibt Erklärungsansätze, dass E2 über den MAPK-Signalweg antiapoptotische Effekte vermittelt. Die genauen molekularen Wirkungsweisen sind noch nicht ausreichend erforscht.

Als letzten Punkt im Vergleich der klinischen Unterschiede und der Expression von ER α & β und BNP fanden wir eine negative Korrelation der ER α -Expression und dem Bedarf des Medikaments Natriumnitroprussid zum Zeitpunkt 24 Stunden postoperativ. Es ist möglich, dass Patienten mit einer hohen Expression von ER α eine bessere periphere Zirkulation aufwiesen und somit geringere Mengen des Vasodilatators benötigten.

Zuletzt untersuchten wir die klinischen Daten unserer Patienten im Bezug auf das Geschlecht. Nicht nur die Expression der Rezeptoren, die sich in unserer Studie nicht signifikant unterschied, sondern auch die Östrogenplasmawerte, andere Geschlechtshormone und zahlreiche weitere Faktoren können Differenzen zwischen den Geschlechtern bewirken.

Hier zeigte sich 24 Stunden postoperativ, dass die Patientinnen einen signifikant niedrigeren MAD hatten als die männlichen Patienten. Es ist bekannt, dass Frauen, vor der Menopause eine geringere Inzidenz von Hypertension aufweisen als gleichaltrige Männer. Es gibt verschiedene Hypothesen wie E2 über genomische und nicht-genomische Signalwege den Blutdruck senkt und eine sympathische Aktivierung des Herzens vermindert. Es ist möglich, dass über E2 die weibliche Untergruppe vor einem postoperativen Blutdruckanstieg geschützt wurde.

Des Weiteren zeigten sich signifikant niedrigere Kreatininwerte vier und 24 Stunden postoperativ. Hier ist zu vermuten, dass es sich um einen Alterseffekt handelt, da mehr jüngere Mädchen als Jungen in der Studie eingeschlossen waren und die Kreatininwerte kontinuierlich im Laufe der Entwicklung ansteigen.

Zuletzt hatte die weibliche Untergruppe 24 Stunden postoperativ signifikant niedrigere Blutzuckerwert. Es gibt Hypothesen, die vermuten lassen, dass E2 über genomische und nicht-genomische Signalwege regulierend in die Glukosehomeostase eingreift. Eine strikte Einstellung des postoperativen Blutzuckerwerts wird mit einer geringeren postoperativen Morbidität gleichgesetzt. Es ist somit möglich, dass E2 protektiv über eine Runterregulierung des Blutzuckers wirkt.

Unsere Arbeit verdeutlicht, dass die molekularen Wirkungen der Geschlechtshormone über die unterschiedlichen Rezeptoren ein breites Feld für weitere Forschung bieten. So wird es zukünftig eventuell möglich sein, bestimmte protektive Wirkungen über spezifische Rezeptoragonisten auch therapeutisch zu nutzen.

7. Literaturverzeichnis

- Abdulla, W. (2006). Interdisziplinäre Intensivmedizin, Elsevier GmbH Deutschland.
- Ba, Z. F. and I. H. Chaudry (2008). "Role of estrogen receptor subtypes in estrogen-induced organ-specific vasorelaxation after trauma-hemorrhage." Am J Physiol Heart Circ Physiol **295**(5): H2061-7.
- Babiker, F. A., L. J. De Windt, et al. (2002). "Estrogenic hormone action in the heart: regulatory network and function." Cardiovasc Res **53**(3): 709-19.
- Bae, S. and L. Zhang (2005). "Gender differences in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in adult rat hearts: focus on Akt and protein kinase C signaling." J Pharmacol Exp Ther **315**(3): 1125-35.
- Ballard-Croft, C., D. J. White, et al. (2001). "Role of p38 mitogen-activated protein kinase in cardiac myocyte secretion of the inflammatory cytokine TNF-alpha." Am J Physiol Heart Circ Physiol **280**(5): H1970-81.
- Berry, J. G., B. Askovich, et al. (2008). "Prognostic value of B-type natriuretic peptide in surgical palliation of children with single-ventricle congenital heart disease." Pediatr Cardiol **29**(1): 70-5.
- Bourdeau, V., J. Deschenes, et al. (2004). "Genome-wide identification of high-affinity estrogen response elements in human and mouse." Mol Endocrinol **18**(6): 1411-27.
- Brandenberger, A. W., M. K. Tee, et al. (1997). "Tissue distribution of estrogen receptors alpha (ER-alpha) and beta (ER-beta) mRNA in the midgestational human fetus." J Clin Endocrinol Metab **82**(10): 3509-12.
- Bryzgalova, G., L. Lundholm, et al. (2008). "Mechanisms of antidiabetogenic and body weight-lowering effects of estrogen in high-fat diet-fed mice." Am J Physiol Endocrinol Metab **295**(4): E904-12.
- Burchardi, H. L., R.; Kuhlen, R.; Jauch, K.-W.; Schölmerich, J. (2008). Die Intensivmedizin, Springer.
- Burchardi, H. L., R.; Kuhlen, R.; Jauch, K.-W.; Schölmerich, J. (2008). Die Intensivmedizin, Springer.
- Chikovani, O., J. H. Hsu, et al. (2007). "B-type natriuretic peptide levels predict outcomes for children on extracorporeal life support after cardiac surgery." J Thorac Cardiovasc Surg **134**(5): 1179-87.

- Cooper, C., G. Y. Liu, et al. (2004). "Intermittent hypoxia induces proteasome-dependent down-regulation of estrogen receptor alpha in human breast carcinoma." Clin Cancer Res **10**(24): 8720-7.
- Deetjen, S., Hescheler (2005). Repetitorium Physiologie, Elsevier GmbH Deutschland.
- Doyama, K., M. Fukumoto, et al. (1998). "Expression and distribution of brain natriuretic peptide in human right atria." J Am Coll Cardiol **32**(7): 1832-8.
- Erdmann, E. (2009). Klinische kardiologie, Springer.
- Frink, M., B. M. Thobe, et al. (2007). "17beta-Estradiol inhibits keratinocyte-derived chemokine production following trauma-hemorrhage." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **292**(2): L585-91.
- Gannon, C. J., M. Pasquale, et al. (2004). "Male gender is associated with increased risk for postinjury pneumonia." Shock **21**(5): 410-4.
- George, R. L., G. McGwin, Jr., et al. (2003). "The association between gender and mortality among trauma patients as modified by age." J Trauma **54**(3): 464-71.
- Gessler, P., W. Knirsch, et al. (2006). "Prognostic value of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in children with congenital heart defects and open-heart surgery." J Pediatr **148**(3): 372-6.
- Goetze, J. P., L. Friis-Hansen, et al. (2006). "Atrial secretion of B-type natriuretic peptide." Eur Heart J **27**(14): 1648-50.
- Greene, G. L., P. Gilna, et al. (1986). "Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA." Science **231**(4742): 1150-4.
- Grohe, C., S. Kahlert, et al. (1997). "Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors." FEBS Lett **416**(1): 107-12.
- Gustafsson, J. A. (1999). "Estrogen receptor beta--a new dimension in estrogen mechanism of action." J Endocrinol **163**(3): 379-83.
- Hallbach, J. (2006). Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg, Thieme.
- Hamden, K., S. Carreau, et al. (2008). "Hyperglycaemia, stress oxidant, liver dysfunction and histological changes in diabetic male rat pancreas and liver: protective effect of 17 beta-estradiol." Steroids **73**(5): 495-501.
- Hawkins, M. B., J. W. Thornton, et al. (2000). "Identification of a third distinct estrogen receptor and reclassification of estrogen receptors in teleosts." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(20): 10751-6.

- Herold, G. (2009). Innere Medizin, Herold.
- Hsieh, Y. C., M. Frink, et al. (2007). "Metabolic modulators following trauma sepsis: sex hormones." Crit Care Med **35**(9 Suppl): S621-9.
- Hsu, J. H., R. L. Keller, et al. (2007). "B-type natriuretic peptide levels predict outcome after neonatal cardiac surgery." J Thorac Cardiovasc Surg **134**(4): 939-45.
- Huss, J. M. and D. P. Kelly (2004). "Nuclear receptor signaling and cardiac energetics." Circ Res **95**(6): 568-78.
- Jankowski, M., G. Rachelska, et al. (2001). "Estrogen receptors activate atrial natriuretic peptide in the rat heart." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(20): 11765-70.
- Jarrar, D., P. Wang, et al. (2000). "Insight into the mechanism by which estradiol improves organ functions after trauma-hemorrhage." Surgery **128**(2): 246-52.
- Johnson, B. D., W. Zheng, et al. (1997). "Increased expression of the cardiac L-type calcium channel in estrogen receptor-deficient mice." J Gen Physiol **110**(2): 135-40.
- Kanno, S., P. C. Lee, et al. (2000). "Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury by superinduction of inducible nitric oxide synthase." Circulation **101**(23): 2742-8.
- Karjalainen, A. H., H. Ruskoaho, et al. (2004). "Effects of estrogen replacement therapy on natriuretic peptides and blood pressure." Maturitas **47**(3): 201-8.
- Kawano, H., T. Motoyama, et al. (2001). "Menstrual cyclic variation of myocardial ischemia in premenopausal women with variant angina." Ann Intern Med **135**(11): 977-81.
- Khalil, R. A. (2005). "Sex hormones as potential modulators of vascular function in hypertension." Hypertension **46**(2): 249-54.
- Kim, J. K., A. Pedram, et al. (2006). "Estrogen prevents cardiomyocyte apoptosis through inhibition of reactive oxygen species and differential regulation of p38 kinase isoforms." J Biol Chem **281**(10): 6760-7.
- Kippels, M. (2004). Myokardschaden und Zytokinproduktion während und nach einer Herz-Lungen-Maschinen-Operation im Kindesalter, und deren Beziehung zu postoperativen Herzrhythmusstörungen, Shaker Verlag.

- Koch, A. and H. Singer (2003). "Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents." Heart **89**(8): 875-8.
- Kuiper, G. G., E. Enmark, et al. (1996). "Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(12): 5925-30.
- Lederhuber, H. C. (2005). Kardiologie Basics, Elsevier GmbH Deutschland.
- Lindberg, M. K., S. Moverare, et al. (2003). "Estrogen receptor (ER)-beta reduces ERalpha-regulated gene transcription, supporting a "ying yang" relationship between ERalpha and ERbeta in mice." Mol Endocrinol **17**(2): 203-8.
- Lloyd, G. W., N. R. Patel, et al. (2000). "Does angina vary with the menstrual cycle in women with premenopausal coronary artery disease?" Heart **84**(2): 189-92.
- Lubien, E., A. DeMaria, et al. (2002). "Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings." Circulation **105**(5): 595-601.
- Ma, K. K., T. Ogawa, et al. (2004). "Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase." J Mol Cell Cardiol **36**(4): 505-13.
- Maffei, S., S. Del Ry, et al. (2001). "Increase in circulating levels of cardiac natriuretic peptides after hormone replacement therapy in postmenopausal women." Clin Sci (Lond) **101**(5): 447-53.
- Mahmoodzadeh, S., S. Eder, et al. (2006). "Estrogen receptor alpha up-regulation and redistribution in human heart failure." Faseb J **20**(7): 926-34.
- Mair, J., A. Hammerer-Lercher, et al. (2001). "The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure." Clin Chem Lab Med **39**(7): 571-88.
- Marino, M., P. Galluzzo, et al. (2006). "Estrogen signaling multiple pathways to impact gene transcription." Curr Genomics **7**(8): 497-508.
- Martensson, U. E., S. A. Salehi, et al. (2009). "Deletion of the G protein-coupled receptor 30 impairs glucose tolerance, reduces bone growth, increases blood pressure, and eliminates estradiol-stimulated insulin release in female mice." Endocrinology **150**(2): 687-98.

- Maxwell, S. R. (1998). "Women and heart disease." Basic Res Cardiol **93 Suppl 2**: 79-84.
- Mir, T. S., M. Flato, et al. (2006). "Plasma concentrations of N-terminal brain natriuretic peptide in healthy children, adolescents, and young adults: effect of age and gender." Pediatr Cardiol **27**(1): 73-7.
- Mir, T. S., R. Laux, et al. (2003). "Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth." Pediatrics **112**(4): 896-9.
- Montano, M. M., V. Muller, et al. (1995). "The carboxy-terminal F domain of the human estrogen receptor: role in the transcriptional activity of the receptor and the effectiveness of antiestrogens as estrogen antagonists." Mol Endocrinol **9**(7): 814-25.
- Mosselman, S., J. Polman, et al. (1996). "ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor." FEBS Lett **392**(1): 49-53.
- Mostafa, G., T. Huynh, et al. (2002). "Gender-related outcomes in trauma." J Trauma **53**(3): 430-4; discussion 434-5.
- Nacken, C. E. (2004). Stellenwert eines postoperativ erhobenen Scoring-Systems zur Voraussage der postoperativen Mortalität und Morbidität nach herzchirurgischen Eingriffen im Kindesalter, Druck- & Verlagshaus Mainz GmbH.
- Nakamura, T., K. Sakamoto, et al. (2002). "Increased plasma brain natriuretic peptide level as a guide for silent myocardial ischemia in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy." J Am Coll Cardiol **39**(10): 1657-63.
- Nir, A., B. Bar-Oz, et al. (2004). "N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: reference plasma levels from birth to adolescence. Elevated levels at birth and in infants and children with heart diseases." Acta Paediatr **93**(5): 603-7.
- Nir, A., A. Lindinger, et al. (2008). "NT-Pro-B-type Natriuretic Peptide in Infants and Children: Reference Values Based on Combined Data from Four Studies." Pediatr Cardiol.
- Nordmeyer, J., S. Eder, et al. (2004). "Upregulation of myocardial estrogen receptors in human aortic stenosis." Circulation **110**(20): 3270-5.

- Nuedling, S., S. Kahlert, et al. (1999). "17 Beta-estradiol stimulates expression of endothelial and inducible NO synthase in rat myocardium in-vitro and in-vivo." Cardiovasc Res **43**(3): 666-74.
- Oberholzer, A., M. Keel, et al. (2000). "Incidence of septic complications and multiple organ failure in severely injured patients is sex specific." J Trauma **48**(5): 932-7.
- Ordonez, P., M. Moreno, et al. (2008). "17beta-Estradiol and/or progesterone protect from insulin resistance in STZ-induced diabetic rats." J Steroid Biochem Mol Biol **111**(3-5): 287-94.
- Parker, M. G. (1990). "Structure and function of nuclear hormone receptors." Semin Cancer Biol **1**(1): 81-7.
- Prossnitz, E. R., T. I. Oprea, et al. (2008). "The ins and outs of GPR30: a transmembrane estrogen receptor." J Steroid Biochem Mol Biol **109**(3-5): 350-3.
- Przyklenk, K., M. Ovize, et al. (1995). "Gender does not influence acute myocardial infarction in adult dogs." Am Heart J **129**(6): 1108-13.
- Rauh, M. and A. Koch (2003). "Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in a control population of infants and children." Clin Chem **49**(9): 1563-4.
- Redfield, M. M., R. J. Rodeheffer, et al. (2002). "Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender." J Am Coll Cardiol **40**(5): 976-82.
- Reynolds, E. W., J. G. Ellington, et al. (2004). "Brain-type natriuretic peptide in the diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn." Pediatrics **114**(5): 1297-304.
- Riant, E., A. Waget, et al. (2009). "Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice." Endocrinology.
- Rossouw, J. E., G. L. Anderson, et al. (2002). "Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial." Jama **288**(3): 321-33.
- Saaresranta, T., P. Polo-Kantola, et al. (2006). "Menopausal estrogen therapy predicts better nocturnal oxyhemoglobin saturation." Maturitas **55**(3): 255-63.

- Schmidt, L. (2007). Physiologie des Menschen, Springer.
- Schmidt, L. (2007). Physiologie des Menschen, Springer.
- Schwachtgen, L., M. Herrmann, et al. (2005). "Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children." Z Kardiol **94**(6): 399-404.
- Seghaye, M. C., J. Duchateau, et al. (1996). "Effect of sodium nitroprusside on complement activation induced by cardiopulmonary bypass: a clinical and experimental study." J Thorac Cardiovasc Surg **111**(4): 882-92.
- Seghaye, M. C., R. G. Grabitz, et al. (1996). "Inflammatory reaction and capillary leak syndrome related to cardiopulmonary bypass in neonates undergoing cardiac operations." J Thorac Cardiovasc Surg **112**(3): 687-97.
- Silbernagel, D. (2001). Taschenatlas der Physiologie, Thieme.
- Taylor, A. H. and F. Al-Azzawi (2000). "Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues." J Mol Endocrinol **24**(1): 145-55.
- Thomas, L. (2008). Labor und Diagnose, TH-Books.
- Wang, M., B. M. Tsai, et al. (2006). "17-beta-Estradiol decreases p38 MAPK-mediated myocardial inflammation and dysfunction following acute ischemia." J Mol Cell Cardiol **40**(2): 205-12.
- Westerlind, A., H. Wahlander, et al. (2004). "Clinical signs of heart failure are associated with increased levels of natriuretic peptide types B and A in children with congenital heart defects or cardiomyopathy." Acta Paediatr **93**(3): 340-5.
- Witt, H., C. Schubert, et al. (2008). "Sex-specific pathways in early cardiac response to pressure overload in mice." J Mol Med **86**(9): 1013-24.
- Wu, Q., Z. Zhao, et al. (2008). "Oestrogen changed cardiomyocyte contraction and beta-adrenoceptor expression in rat hearts subjected to ischaemia-reperfusion." Exp Physiol **93**(9): 1034-43.
- Yang, S., M. A. Choudhry, et al. (2006). "Estrus cycle: influence on cardiac function following trauma-hemorrhage." Am J Physiol Heart Circ Physiol **291**(6): H2807-15.
- Zhao, Z. Q. (2004). "Oxidative stress-elicited myocardial apoptosis during reperfusion." Curr Opin Pharmacol **4**(2): 159-65.

8. Anhang

8.1 Anhang des Material- und Methodenkapitels

Klinische Daten der Patienten

Patient	Geschlecht (M=männlich; W=weiblich)	Alter in Monaten	Operation
1	M	195	VSD
2	M	71	Bilaterale Kay-Whooler-Plastik an beiden Kommissuren der Mitralklappe
3	M	29	transaortale Resektion einer subaortalen Stenose, Verschluss Ductus arteriosus
4	W	319	ASD- Patchverschluss
5	M	144	Pulmonalklappenersatz mit einer St. Jude-Medical-Prothese
6	W	179	VSD-Patchverschluss
7	M	113	Kommissurotomie der Aortenklappe
8	M	232	VSD-Patchverschluss, Rekonstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstraktes mit einem 21er St. Jude-Medical-Prothese tragenden Conduit, Rekonstruktion und Erweiterung des zentralen Anteils der rechten und linken Pulmonalarterie
9	M	287	Implantation einer ST.-Jude-Medical Prothese der Größe 31 in Mitralsposition mit Erhaltung des gesamten subvalvulären Halteapparates
10	W	148	Implantation der linken persistierenden oberen Hohlvene in den linken Vorhof
11	W	299	ASD- Patchverschluss
12	M	3	TAPVR (Total Anomalous Pulmonary Venous Return)
13	W	96	Unifokalisation der beiden rechtsseitigen MAPCA's aus der links descendierenden Aorta + Anschluss der rechtsseitig gesammelten Pulmonalgefäße an die Aorta über einen Conduit
14	W	192	VSD-Patchverschluss
15	M	4	VSD-Patchverschluss
16	W	20	Ductus-arteriosus-verschluss
17	M	204	Aortenklappenersatz
18	M	204	Aortenklappenersatz
19	M	275	Aorta Ascendensprothese
20	M	154	VSD- Patchverschluss

Tabelle 8.1

Daten des Extra-Korporalen-Kreislaufs (EKK)

Patient	Dauer EKK in Minuten	Aortenabklemmzeit in Minuten	Kreislaufstillstand in Minuten	Tiefste Temperatur ösophageal in Grad Celsius	Cardioplegie
1	161	101	0	32	Brettschneider
2	116	72	0	32	Calafiori
3	79	40	0	32	Calafiori
4	80	56	0	31,5	Calafiori
5	107	0	0	32,5	0
6	71	27	0	32	Calafiori
7	82	43	0	27,5	Calafiori

8	336	192	0	27	Calafiori+Brettschneider
9	146	90	0	28,4	Calafiori
10	130	37	0	26,5	Calafiori
11	98	40	0	26	Calafiori
12	172	101	0	16	Calafiori
13	137	135	81	15	Calafiore
14	85	31	0	32	Calafiore
15	235	122	76	25,5	Calafiori
16	36	0	0	32	0
17	126	71	0	28	Calafiori
18	114	75	0	32	Calafiori
19	130	101	0	30	Calafiori + Brettschneider
20	106	64	0	31	Calafiori

Tabelle 8.2

Operativer Score

Punkte	1	2	3	4
Dauer EKK in Minuten	<60 Min.	60-120 Min.	120-180 Min.	>180 Min.
Kreislaufstillstand in Minuten	<30 Min.	30-45 Min.	45-60 Min.	>60 Min.
Aorten-Abklemm-Zeit in Minuten	<60 Min.	60-90 Min.	90-120 Min.	>120 Min.

Tabelle 8.3

Score Entwöhnung Herz-Lungen-Maschine

Punkte	1	2	3	4
Anzahl Inotropika	≤1	2	3	>3
Vasodilatoren	nein	ja		
NO	nein	ja		
Schrittmacher	nein	ja		

Tabelle 8.4

Postoperativer Score nach vier und 24 Stunden

Punkte	Inotropika	Volumen ml/kg/h	Rhythmusstörung	Schrittmacher	Kapilläre Füllungszeit	Pulse	MAD mmHg	ZVD mmHg	Diuresis ml/kg/h
0			keine	Nein	sofort	normal	45-60	5-10	>1,5
1	≤1	<2,5	SVES, VES	ja			>60	< 5	1-1,5
2	2	2,5-5	AVB II, III		verlängert	schwach	35-45	10-12	0,5-1
3	3	5-7,5	SVT, KT, JET				<35	>12	<0,5
4	>3	>7,5	VT, KF			nicht tastbar			

Tabelle 8.5

8.2 Anhang des Ergebnisteils

Expression ER α & β , BNP und 18S-RNA

ER α	ER β	BNP	18S-RNA
25,130	28,321	24,660	6,149
25,160	29,370	21,070	6,107
25,847	30,144	23,430	6,050
24,839	29,374	21,030	6,291
25,685	29,054	19,130	6,302
27,428	32,316	21,560	8,227
25,872	30,928	24,360	6,018
25,364	29,686	16,760	5,859
24,531	27,315	20,020	5,440
25,120	28,942	17,700	6,151
23,633	27,735	18,130	4,960
24,754	30,879	19,340	6,524
25,813	32,709	18,020	8,179
23,661	27,480	19,730	5,439
26,458	30,191	20,360	6,334
26,035	29,862	19,630	5,386
24,189	28,031	22,980	5,364
25,241	29,121	24,230	5,769
24,325	27,596	21,450	5,970
24,330	28,421	18,230	5,222

Tabelle 8.6

Spearman-Korrelationskoeffizient für die Expression von ER α & β - und BNP-RNA mit den postoperativen Laborwerten

			Hkt 4h	Hkt 24h	GOT 4h	GOT 24h	Kreatinin 4h	Kreatinin 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	,040	-,086	-,243	-,335	,114	,071
		p-Wert	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Patienten	20	20	20	19	20	20
	ER beta	Korrelationskoeffizient	,145	-,001	-,146	-,285	,077	,134
		p-Wert	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Patienten	20	20	20	19	20	20
	BNP	Korrelationskoeffizient	,051	-,255	-,256	-,287	,278	,242
		p-Wert	NS	NS	NS	NS	NS	NS
		Patienten	20	20	20	19	20	20

NS= nicht signifikant; TS= Tendenz <0,1; signifikant <0,05

			Laktat 4h	Laktat 24h	Blutzucker 4h	Blutzucker 24h
Spearman-Rho	ER alpha	Korrelationskoeffizient	-,074	,133	,116	,171
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	16	16	20	19
	ER beta	Korrelationskoeffizient	-,109	,180	,009	,069
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	16	16	20	19
	BNP	Korrelationskoeffizient	-,197	-,088	,202	,135
		p-Wert	NS	NS	NS	NS
		Patienten	16	16	20	19

NS= nicht signifikant; TS= Tendenz <0,1; signifikant <0,05

Tabelle 8.7

Mann-Whitney-U-Tests für die weibliche und männliche Untergruppe

	Geschlecht	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
ER alpha	männlich	13	12,00	156,00
	weiblich	7	7,71	54,00
	Gesamt	20		
ER beta	männlich	13	12,08	157,00
	weiblich	7	7,57	53,00
	Gesamt	20		
BNP	männlich	13	12,00	156,00
	weiblich	7	7,71	54,00
	Gesamt	20		
Kreatinin 4h	männlich	13	13,15	171,00
	weiblich	7	5,57	39,00
	Gesamt	20		
Kreatinin 24h	männlich	13	13,15	171,00
	weiblich	7	5,57	39,00
	Gesamt	20		
Blutzucker 4h	männlich	13	10,04	130,50
	weiblich	7	11,36	79,50
	Gesamt	20		
Blutzucker 24h	männlich	13	12,12	157,50
	weiblich	6	5,42	32,50
	Gesamt	19		
SaO2 präop	männlich	12	9,17	110,00
	weiblich	6	10,17	61,00
	Gesamt	18		
Oxy-Ind. 4h	männlich	11	10,36	114,00
	weiblich	7	8,14	57,00
	Gesamt	18		
Oxy-Ind. 24h	männlich	8	9,13	73,00
	weiblich	7	6,71	47,00
	Gesamt	15		
Score Operation	männlich	9	7,28	65,50
	weiblich	6	9,08	54,50
	Gesamt	15		
Weaning HLM	männlich	10	7,60	76,00
	weiblich	6	10,00	60,00
	Gesamt	16		
postoperativer Score 4h	männlich	10	7,40	74,00
	weiblich	6	10,33	62,00
	Gesamt	16		
postoperativer Score 24h	männlich	11	8,77	96,50
	weiblich	6	9,42	56,50
	Gesamt	17		

	Geschlecht	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
HF 4h	männlich	11	10,09	111,00
	weiblich	7	8,57	60,00
	Gesamt	18		
HF 24h	männlich	11	9,73	107,00
	weiblich	7	9,14	64,00
	Gesamt	18		
ZVD 4h	männlich	11	8,59	94,50
	weiblich	7	10,93	76,50
	Gesamt	18		
ZVD 24h	männlich	11	8,41	92,50
	weiblich	7	11,21	78,50
	Gesamt	18		
Diurese (ml/kg/h) 4h	männlich	11	8,73	96,00
	weiblich	6	9,50	57,00
	Gesamt	17		
Diurese (ml/kg/h) 24h	männlich	11	8,09	89,00
	weiblich	6	10,67	64,00
	Gesamt	17		
Bilanz (ml/kg/h) 4h	männlich	11	7,64	84,00
	weiblich	6	11,50	69,00
	Gesamt	17		
Bilanz (ml/kg/h) 24h	männlich	11	8,18	90,00
	weiblich	6	10,50	63,00
	Gesamt	17		
Dobutamin 4h	männlich	12	9,63	115,50
	weiblich	7	10,64	74,50
	Gesamt	19		
Dobutamin 24h	männlich	12	9,67	116,00
	weiblich	7	10,57	74,00
	Gesamt	19		
Natriumnitroprussid 4h	männlich	12	9,96	119,50
	weiblich	7	10,07	70,50
	Gesamt	19		
Natriumnitroprussid 24h	männlich	12	8,67	104,00
	weiblich	7	12,29	86,00
	Gesamt	19		
Hkt 4h	männlich	13	10,00	130,00
	weiblich	7	11,43	80,00
	Gesamt	20		
Hkt 24h	männlich	13	10,27	133,50
	weiblich	7	10,93	76,50
	Gesamt	20		

	Geschlecht	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Troponin 4h	männlich	11	8,18	90,00
	weiblich	6	10,50	63,00
	Gesamt	17		
Troponin 24h	männlich	12	8,04	96,50
	weiblich	6	12,42	74,50
	Gesamt	18		
GOT 4h	männlich	13	9,77	127,00
	weiblich	7	11,86	83,00
	Gesamt	20		
GOT 24h	männlich	12	8,92	107,00
	weiblich	7	11,86	83,00
	Gesamt	19		
Laktat 4h	männlich	11	8,23	90,50
	weiblich	5	9,10	45,50
	Gesamt	16		
Laktat 24h	männlich	11	9,68	106,50
	weiblich	5	5,90	29,50
	Gesamt	16		

Tabelle 8.8

Oxygenierungsparameter in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	SaO2 präop	Oxy-Ind. 4h	Oxy-Ind. 24h
Mann-Whitney-U	32,000	29,000	19,000
Wilcoxon-W	110,000	57,000	47,000
Z	-,390	-,860	-1,042
Exakter p-Wert	,717	,425	,320

Tabelle 8.9

Scoresysteme in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	Score Operation	Entwöhnung HLM	postoperativer Score 4h	postoperativer Score 24h
Mann-Whitney-U	20,500	21,000	19,000	30,500
Wilcoxon-W	65,500	76,000	74,000	96,500
Z	-,782	-1,083	-1,211	-,258
Exakter p-Wert (zweiseitig)	,477	,419	,246	,803

Tabelle 8.10

Kreislaufparameter in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	HF 4h	HF 24h	ZVD 4h	ZVD 24h
Mann-Whitney-U	32,000	36,000	28,500	26,500
Wilcoxon-W	60,000	64,000	94,500	92,500
Z	-,591	-,226	-,909	-1,090
Exakter p-Wert (zweiseitig)	,579	,860	,385	,294

Tabelle 8.11

Flüssigkeitsbedarf in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	Diurese (ml/kg/h) 4h	Diurese (ml/kg/h) 24h	Bilanz (ml/kg/h) 4h	Bilanz (ml/kg/h) 24h
Mann-Whitney-U	30,000	23,000	18,000	24,000
Wilcoxon-W	96,000	89,000	84,000	90,000
Z	-,302	-1,005	-1,508	-,905
Exakter p-Wert	,808	,350	,142	,391

Tabelle 8.12

Postoperativen Medikamentenbedarf in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	Dobutamin 4h	Dobutamin 24h	Natriumnitro- prussid 4h	Natriumnitro- prussid 24h
Mann-Whitney-U	37,500	38,000	41,500	26,000
Wilcoxon-W	115,500	116,000	119,500	104,000
Z	-,404	-,410	-,043	-1,430
Exakter p-Wert	,709	,705	,984	,171

Tabelle 8.13

Postoperativen Laborwerte in der weiblichen und männlichen Untergruppe

	Hkt4h	Hkt24h	Troponin 4h	Troponin 24h
Mann-Whitney-U	39,000	42,500	24,000	18,500
Wilcoxon-W	130,000	133,500	90,000	96,500
Z	-,517	-,239	-,905	-1,644
Exakter p-Wert	,627	,835	,404	,107

	GOT 4h	GOT 24h	Laktat 4h	Laktat 24h
Mann-Whitney-U	36,000	29,000	24,500	14,500
Wilcoxon-W	127,000	107,000	90,500	29,500
Z	-,753	-1,105	-,340	-1,477
Exakter p-Wert	,474	,288	,765	,155

Tabelle 8.14

Danksagung

Danken möchte ich allen, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite standen, insbesondere:

Frau Prof. Dr. med. M.-C. Seghaye für die Überlassung des Dissertationsthemas, die hervorragende Betreuung, die kritische Diskussion der Ergebnisse und die wertvollen Ratschläge beim Verfassen der Arbeit.

Frau Dr. rer. nat. E. Terrada und Frau D. rer. nat. E. Wehage für die kontinuierliche Unterstützung, die Hilfe bei der Aufarbeitung der Proben und die molekularbiologische Auswertung.

Allen beteiligten Kliniken des Universitätsklinikums der RWTH-Aachen für die vorbildliche Kooperation. Den Mitarbeitern der Klinik für Kinderkardiologie (ehemalige Direktorin: Frau Univ.-Prof. M.-C. Seghaye), der kinderkardiologischen Intensivstation, der Klinik für Herzchirurgie (Leiter: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J.F. Vázquez-Jiménez), der Klinik für Anästhesiologie (Direktor: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Roissant), des Instituts für klinische Chemie und Pathobiochemie (ehemaliger Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. A. Gressner) und des Teams der Kardiotechnik.

J. Sprute und H. von der Stück für die gute Zusammenarbeit beim experimentellen Teil dieser Arbeit .

Meiner Familie und meinem Freund, die alle auf Ihre Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Allen Patienten und Ihren Angehörigen, ohne deren Studienteilnahme diese Dissertation nicht hätte entstehen können.

Diese Arbeit ist ein Teilprojekt eines von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten Vorhabens: SE 912/3-1.

Erklärung zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten bei meiner Betreuerin, Frau Prof. Dr. M.-C. Seghaye, Pédiatrie CHPLT Verviers, Belgien, hinterlegt sind.