

**Komplementaktivierung und Aktivierung des
Plasmakontaktsystems während
Herz-Lungen-Maschinen Operationen beim Kind**

Beziehung zum postoperativen Polyorganversagen

Marie-Christine Seghaye

**Komplementaktivierung und Aktivierung des
Plasmakontaktsystems während
Herz-Lungen-Maschinen Operationen beim Kind;
Beziehung zum postoperativen Polyorganversagen.**

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

Vorgelegt von
Marie-Christine Seghaye
aus Verviers
(Belgien)

Referent: Univ.Prof. Dr. med. G. von Bernuth
Korreferent: Univ.Prof. Dr. med. H. Schmid - Schönbein
Tag der mündlichen Prüfung: 4.2.1994

Inhaltsverzeichnis

1. **Einleitung**
2. **Patienten und Methodik**
 - 2.1 Perfusionsmethodik
 - 2.2 Anästhesie-Protokoll
 - 2.3 Perfusionsmaterial
 - 2.4 Verabreichte Medikamente während der Operation
 - 2.5 Durchgeführte biochemische Analysen
 - 2.6 Definition des postoperativen Polyorganversagens
 - 2.7 Statistische Analyse
3. **Ergebnisse**
 - 3.1 Klinische Ergebnisse
 - 3.2 Komplement-Aktivierung während der Herz-Lungen-Maschine und in der ersten postoperativen Woche
 - 3.2.1 C3d/C3
 - 3.2.2 C4
 - 3.2.3 C5a
 - 3.3 Aktivierung des Plasmakontaktsystems während der Herz-Lungen-Maschine und in der ersten postoperativen Woche
4. **Diskussion**
5. **Schlußfolgerung**
6. **Literaturverzeichnis**
7. **Tabellen und Abbildungen**
8. **Lebenslauf**

1. Einleitung:

Dank Herz-Lungen-Maschinen-Systemen und Membranoxygeneratoren, die für kleine Kinder adaptiert sind, ist es heutzutage möglich, komplexe Herzfehler bei jungen Kindern und Neugeborenen korrigierend zu operieren. Das Verfahren ist jedoch mit einem schädigendem Effekt verbunden. Die Blutpassage in die Herz-Lungen-Maschine führt einerseits zu mechanischen Läsionen der Blutelemente (Yarborough et al 1966, Boonstra et al 1985) und andererseits zur Aktivierung der plasmatischen Systeme und zwar des Komplement-Systems (Chenoweth et al 1981), des Plasmakontakt-Systems (Nagaoka et al 1975), des Gerinnungssystems (Davies et al 1980) und des Systems der Fibrinolyse (Mammen et al 1985). Der schädliche Effekt der Herz-Lungen-Maschine ist durch zahlreiche prospektive Untersuchungen, die hauptsächlich die Komplement-Aktivierung während des extrakorporalen Kreislaufes analysieren, seit Anfang der achtziger Jahre besser bekannt. Beim Erwachsenen wurde in der Tat gezeigt, daß der Kontakt zwischen Blut und Fremdmaterial während des extrakorporalen Kreislaufes zur Aktivierung des alternativen Pathways der Komplementkette führt (Chenoweth et al 1981, Kirklin et al 1983). Eine C3-Konvertase wird gebildet (Müller-Eberhard 1988), die das C3, Schlüsselement der Komplementkette, aktiviert und sein Spaltprodukt C3a freisetzt. Das C3a ist ein potentes Anaphylatoxin (Goldstein et al 1988). Die C3-Konvertase aktiviert zum Teil ein anderes Komplementprotein, das C5, dessen spezifische Konvertase (C5-Konvertase) durch

die Vereinigung der C3-Konvertase mit einem Abbauprodukt des aktivierten C3 (C3b) gebildet wird. Das C5 spaltet sich, und das C5a wird freigesetzt. Das C5a ist ein ebenfalls sehr potentes Anaphylatoxin und kann sich an spezifischen Rezeptoren fixieren, die an den Neutrophilen-Membranen gebunden sind. So werden die Neutrophilen aktiviert, die unter anderem proteolytische Enzyme freisetzen (Andersen et al 1987).

Der klassische Pathway der Komplementaktivierung wird am Ende der Herz-Lungen-Maschine nach Protamingabe durch Heparin-Protamin Komplexe in Gang gesetzt (Cavarocchi et al 1985, Kirklin et al 1986). Beide Pathways führen zur Freisetzung des Terminalkomplexes, der durch 5 Proteine der Komplementkette gebildet wird: das C5b-Fragment des aktivierten C5, die Proteine C6, C7, C8 und C9. Der Terminalkomplex C5b-C9, auch als membrane-attack-complex bezeichnet, ist zytotoxisch (Goldstein 1988). Er fixiert sich an den Erythrozyten und Neutrophilen-Membranen, die er lysiert (Salama et al 1988). Die Abbildung 1 faßt die Pathophysiologie der Komplementaktivierung über beide Pathways während des extrakorporalen Kreislaufes zusammen.

Der Kontakt des Blutes mit dem während des extrakorporalen Kreislaufes benutzten Fremdmaterial aktiviert den Hageman-Faktor (Gerinnungsfaktor XII). Der aktivierte Hageman-Faktor (HFa) aktiviert im weiteren das Präkallikrein, welches das Kallikrein aktiviert, das wiederum das high-molecular-weight

Kininogen spaltet und das Bradykinin freisetzt. Das Kallikrein kann über einen positiven Feed-back den Hageman-Faktor aktivieren (Kozin und Cochrane 1988). Das freigesetzte Bradykinin verursacht eine Vasodilatation und eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität. Bradykinin wurde am Ende des extrakorporalen Kreislaufes bei Kindern, die unter tiefer Hypothermie operiert wurden, bestimmt; es zeigten sich deutlich erhöhte Werte dieses Amins (Mei Pang et al 1979). Der Hageman-Faktor aktiviert den Gerinnungsfaktor XI, und so wird die Gerinnungskaskade in Gang gesetzt. Das Kallikrein hat eine direkte aktivierende Wirkung auf das C5 und den C3 Pro-Aktivator (Faktor B) (Kozin und Cochrane 1988).

Diese sehr komplexen Systeme werden kaskadenartig aktiviert und entsprechend verstärkt. Sie stehen normalerweise unter kontinuierlicher Kontrolle von Inhibitionsproteinen (Müller-Eberhard 1988).

Die klinische Manifestation der Komplement-Aktivierung und der Aktivierung des Plasmakontakt-Systems reicht von einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Senkung der Systemgefäßwiderstände während des Bypasses (Nagaoka et al 1975, Mei Pang et al 1979) bis zu einer massiven entzündlichen Reaktion nach der Operation, die als Postperfusions-Syndrom oder postoperatives Polyorganversagen bezeichnet wird (Kirklin et al 1983). Für diese Entität gibt es keine allgemein anerkannte Definition. Das Polyorganversagen im Kindesalter ist mit einer hohen Morta-

lität belastet (Royall et Levin 1988, Seghaye et al 1993). Die Beziehung zwischen seinem Auftreten und dem Grad der Komplementaktivierung wurde im Kindesalter nicht gründlich erforscht.

Ziel unserer Arbeit war es, diese Beziehung zu prüfen. Zu diesem Zweck untersuchten wir prospektiv ein Kollektiv von Kindern, bei denen eine Herzoperation mittels Herz-Lungen-Maschine durchgeführt wurde. Zusätzlich wurde die Wirkung eines schon bekannten Vasodilatators (Natrium Nitroprussid) retrospektiv überprüft; diese retrospektive Analyse wurde durch einen bei in-vitro-Versuchen beobachteten, die Komplementaktivierung hemmenden Effekt von Natrium-Nitroprussid motiviert (Duchateau et al, pers. Mitteilung).

2. Patienten und Methode:

Vom 1.12.1988 bis zum 30.11.1989 wurden 109 Kinder kurativ oder palliativ mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der RWTH Aachen operiert. 59 von ihnen, bei denen 60 Operationen durchgeführt wurden, wurden in die prospektive Untersuchung einbezogen. Die Patienten wurden nicht ausgewählt bis auf diejenigen, die einen aortalen Homograft implantiert bekamen, die prinzipiell ausgeschlossen wurden.

2.1 Die Patienten wurden auf der Basis des Operationsalters und der Perfusionsmethodik in drei Gruppen unterteilt:

Gruppe I: 13 Neugeborene (Durchschnittsalter 5,6 Tage (4-8) in tiefer Hypothermie (Temperatur = 16°C) mit Kreislaufstillstand operiert.

Gruppe II: 30 Säuglinge und Kleinkinder (Durchschnittsalter 18,7 Monate (2-83), in tiefer Hypothermie (Temperatur = 16°C) mit Kreislaufstillstand operiert.

Gruppe III: 16 Kinder (Durchschnittsalter 64,7 Monate (15-213), in tiefer Hypothermie (Temperatur = 22-24°C) ohne Kreislaufstillstand operiert.

Details bezüglich der Diagnose und Art des chirurgischen Eingriffs, der bei den Patienten durchgeführt wurde, sind in der Tabelle I zusammengefaßt.

2.2 Das Anästhesie-Protokoll war in allen Fällen gleich: für die Einleitung der Anästhesie erhielten alle Patienten (bis auf die Neugeborenen) Halothan und Diazepam (Valium®, Roche), für die Anästhesie Fentanyl (Fentanyl®, Janssen) und Diazepam und für die Myoplegie Pancuronium (Pancuronium®, Organon).

2.3 Das Perfusionmaterial war einheitlich: Pumpe Stöckert (O₂, CO₂), Aufheizter, Membranoxygenator (COBE, VPCML), PAL-Filter (unter 10 kg KG) und Bentley-Filter (oberhalb 10 kg KG), PVC-Kanülen (Firma Sherwood).

Das priming volume wurde so zusammengestellt, daß der Hämatokrit des gesamten Volumens (Blutvolumen des Kindes + priming volume) ca. 25 % betrug. Eine Kristalloidlösung (Tutofusin Päd®, Pfrimmer), eine 5%ige Glukoselösung und kompatibles Vollblut wurden benutzt. 9 der 60 Kinder bekamen kein Fremdblut im Füllvolumen der Herz-Lungen-Maschine.

Für die Kardioplegie wurde in allen Fällen eine Bretschneider-Lösung (Dr. F. Köhler Chemie GmbH) (30 ml/kg intraaortal) verwandt.

2.4 Verabreichte Medikamente während und nach der Operation:

Alle Patienten erhielten Dexamethason (Fortecortin®, Merck, 3 mg/m²), Antibiotika (Cefotiam, Spizef®, Takeda 25 mg/kg) und Heparin (Thrombophob®, Nordmark, 3 mg/kg) vor Beginn der Herz-Lungen-Maschine. Die Hirnödemprophylaxe mittels Dexamethason wurde in der Dosis von 10 mg/m²/24h für den ersten postoperativen Tag weiterverabreicht. Die antibiotische Prophylaxe (Cefothiam, 75 mg/kg/24 h) wurde bis zur Entfernung der zentralvenösen Zugänge durchgeführt.

Die Vasodilatation, die für eine schnelle Abkühlung am Anfang der Herz-Lungen-Maschine und eine schnelle Aufwärmung am Ende des kardiopulmonalen Bypasses notwendig war, wurde in insgesamt 50 Fällen durchgeführt: In 28 Fällen wurde Phentolamin (Regitin®, Ciba Geigy, 0,3 mg/kg) und in 22 Fällen Natrium-Nitroprussid (Nipruss®, Schwarz, 1 microg/kg/Min) benutzt.

Das Protokoll bezüglich der Benutzung des Natrium-Nitroprussid an Stelle des Phentolamins bzw. fehlender Gabe des Vasodilatators wurde 6 Monate nach Beginn der Untersuchung geändert. Die Patienten, die entweder ohne Vasodilatator bzw. mit dem einen oder mit dem anderen Vasodilatator behandelt wurden, waren konsekutiv nicht selektioniert. Die klinischen Daten bezüglich der Patienten,

die das eine oder das andere Medikament bekommen haben, sind in der Tabelle I aufgelistet.

Alle Patienten bekamen Protamin (Protamin®, Roche 6 mg/kg) am Ende des kardiopulmonalen Bypasses, um das vor der Herz-Lungen-Maschine verabreichte Heparin zu inhibieren. Je nach hämodynamischen und hämatologischen Daten am Ende der Operation erhielten die Patienten Katecholamine: Adrenalin, (Suprarenin®, Hoechst), Dopamin (Dopamin Giuliani®, Giuliani Pharma) sowie Fremdblut.

2.5 Durchgeführte biochemische Analysen:

Die Komplement-Fractionen (C3, C4, C3d, C5_a) und das Präkallikrein (PK) wurden bei allen Patienten am Tag vor der Operation (P1), am Tag der Operation vor Sternotomie (P1,1), nach Heparingabe (P2), 10 Minuten nach dem Beginn des extrakorporalen Kreislaufes (P3), nach dem Kreislaufstillstand (P4) und 10 Minuten nach Rezirkulation (P5), nach Lungenreperfusion (P6), nach Erreichen einer Kerntemperatur von 30°C (P7) und nach Protamin-Gabe (P8), sowie am 1., 2., 3., 5. und 7. postoperativen Tag (P9, P10, P11, P13, P15) bestimmt. Die Blutproben P4 und P5 sind natürlich bei den Patienten der Gruppe III nicht entnommen worden. Außer dem Quotienten C3d/C3 sind die bestimmten Werte für die Verdünnung korrigiert worden. Das priming volume wurde in allen Fällen, in denen Fremdblut benutzt wurde, ebenfalls untersucht.

Die Komplement-Faktoren und das Präkallikrein wurden nach Entnahme von 3 ml-Menge Blut in EDTA-Röhrchen analysiert; das Blut wurde 3 Minuten lang zentrifugiert (3000 /min), separiert und das gewonnene Plasma wurde sofort bei -70°C eingefroren. Die Komplement-Fraktionen C3, C3d und C4 wurden mittels Turbidimetrie (RA 1000, Technicon) bestimmt.

Das C5a wurde mittels einer Elisa-Technik mit einem Kit der Firma Behring bestimmt; Normwerte für Erwachsene liegen zwischen 0,15-0,45 µg/l.

Die funktionelle Bestimmung des Präkallikreins erfolgte mit einem Kit der Firma Kabivitrüm.

Die Analyse der Komplementfaktoren und des Präkallikreins wurde in Brüssel, Hopital St. Pierre, Service d'Immunologie (Prof. J. Duchateau), Université Libre de Bruxelles, durchgeführt.

Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standard Abweichung ($m \pm$ STD) und Mittelwerte \pm Standard error of the mean ($m \pm$ SEM).

2.6 Definition des postoperativen Polyorganversagens (POV):

Wir definieren das postoperative Polyorganversagen arbiträr als das akute und simultane Auftreten des Versagens von mindestens zwei vitalen Organen, zusammen mit einer kardiovaskulären Insuffizienz, Thrombozytopenie (Thrombozyten $< 100000/\text{ml}$) und hohem Fieber. Die Kriterien, die für die Definition des Organversagens angewandt wurden, sind in der Tabelle II zusammengefaßt. Für die Definition der respiratorischen Insuffizienz wurde die Definition von Fry (Fry, 1990) nach Auswertung der klinischen Daten benutzt.

2.7 Statistische Analyse:

Für die statistische Analyse wurde der Fischer-exakt-Test und der Wilcoxon Test für nicht parametrische Verteilung benutzt. Die statistischen Berechnungen wurden mittels eines SAS Programm (statistical analyses system) durchgeführt. Für den Chi-Quadrat Test wurde die Korrektur nach Yeats angewandt.

3. Ergebnisse:

3.1 Klinische Ergebnisse

10 der 59 untersuchten Patienten (16,9 %) entwickelten ein postoperatives Polyorganversagen laut unserer Definition. Vier dieser Patienten gehörten zur Gruppe II (13 %) und 6 zur Gruppe III (35 %). Keines der Neugeborenen zeigte eine solche Komplikation. Insgesamt verstarben 10 der 59 Patienten in der frühen postoperativen Phase, 5 von ihnen im Rahmen des Polyorganversagens (50 %).

Von 37 Patienten, bei denen 38 Operationen durchgeführt wurden und die keinen Vasodilatator oder Phentolamin bekamen, entwickelten 8 (21,6 %) ein Polyorganversagen; 4 gehörten zur Gruppe II (21 %) und 4 zur Gruppe III (36 %), 3 der 8 Patienten verstarben. Von den 22 Patienten, die als Vasodilatator Natrium-Nitroprussid bekamen, entwickelten 2 (9 %) ein Polyorganversagen. Diese 2 Patienten gehörten zur Gruppe III (40 %) und verstarben.

Die Patienten sind nach Gruppe und Natur des benutzten Vasodilatators in der Tabelle I aufgeführt. Die Minderung der Inzidenz des postoperativen Polyorganversagens nach Einführung des Natrium-Nitroprussid in das Anästhesieprotokoll ist nicht signifikant (Fischer exact Test: $p = 0,10$).

Das Durchschnittsalter der Patienten mit und ohne Polyorganversagen war gleich. Ebenso wurde keine signifikante

Altersdifferenz zwischen Patienten, die mit oder ohne Natrium-Nitroprussid behandelt wurden, gefunden.

Die mittlere Dauer der Herz-Lungen-Maschine betrug in der Gruppe I 69 Minuten (35-116), in der Gruppe II 60 Minuten (31-126) und in der Gruppe III 92 Minuten (32-168). Innerhalb jeder Gruppe war die Herz-Lungen-Maschinen Dauer bei den Patienten, die mit Phentolamin oder ohne Natrium-Nitroprussid behandelt wurden, gleich. Die Daten bezüglich der Herz-Lungen-Maschinen-Dauer in den 3 Patientengruppen sind, getrennt je nach Behandlung mit dem einen oder dem anderen Vasodilatator, in der Tabelle III zusammengefaßt.

3.2 Komplement-Aktivierung während der Herz-Lungen-Maschine und in der ersten postoperativen Woche

3.2.1 C3d/C3

Eine Aktivierung der Komplement-Kette während der Herz-Lungen-Maschine wurde im gesamten Patientenkollektiv beobachtet (Abb. 3). Der Quotient C3d/C3, der vor der Einleitung der Herz-Lungen-Maschine (P1) bei einem Wert von $0,78 \pm 0,41$ ($m \pm \text{STD}$) lag, erreichte am Ende des Bypasses (P8) einen Wert von $1,33 \pm 0,60$. Dieser Anstieg war signifikant ($p < 0,05$). Der Gipfel der Aktivierung wurde am Ende des extrakorporalen Kreislaufes nach Protamin-Gabe beobachtet (P8), danach erfolgt eine Normalisierung der Werte bis zum ersten postoperativen Tag.

Die Analyse des Verlaufes des Quotienten C3d/C3 innerhalb jeder Patientengruppe (Abb. 3) zeigt, daß die Neugeborenen wie die Säuglinge und Kinder eine signifikante C3-Konversion während des extrakorporalen Kreislaufes aufweisen und daß kein Unterschied zwischen Patienten, die mit und ohne Kreislaufstillstand operiert wurden (Gruppe II und III), beobachtet wird.

Patienten, die ein postoperatives Polyorganversagen entwickelten, zeigten eine signifikant höhere C3-Konversion am Ende der Herz-Lungen-Maschine (P8) ($C3d/C3 = 1,78 \pm 0,59$ ($m \pm STD$)) im Vergleich zu den Patienten, die kein Polyorganversagen zeigten ($C3d/C3 = 1,23 \pm 0,52$) ($P < 0,05$), ($P < 0,05$). Außerdem wurde die Normalisierung, die bei den Patienten ohne Polyorganversagen am ersten postoperativen Tag stattfand, nicht beobachtet. Im Gegenteil fand eine verstärkte C3-Konversion statt mit sekundärem Gipfel am 3. postoperativen Tag (Abb. 4).

Der Grad der Aktivierung, bezogen auf die Dauer der Herz-Lungen-Maschine, ergab für alle untersuchten Patienten keine signifikante Korrelation.

Der peri- und postoperative Verlauf des Quotienten C3d/C3 läßt sich zwischen den Patienten, die keinen Vasodilatator oder Phentolamin und denjenigen, die Natrium-Nitroprussid erhielten, unterscheiden. Bei den ersteren war die absolute Differenz des Quotienten C3d/C3 nach der Herz-Lungen-Maschine

(P8) ($C3d/C3 = 1,51 \pm 0,60$) und vor der Herz-Lungen-Maschine (P1) ($C3d/C3 = 0,72 \pm 0,38$) signifikant höher als bei den letzteren: (P8) ($C3d/C3 = 1,12 \pm 0,46$), (P1) ($C3d/C3 = 0,67 \pm 0,36$), ($p < 0,05$) (Abb. 5)

3.2.2 C4

Wir fanden im gesamten Patientenkollektiv keinen signifikanten Verbrauch des C4 während des extrakorporalen Kreislaufes. Ebenso wenig beobachteten wir hinsichtlich des C4 eine Differenz zwischen Patienten mit und ohne Polyorganversagen während des extrakorporalen Kreislaufes. Die Patienten mit Polyorganversagen zeigen jedoch in der ersten postoperativen Woche, besonders am 3. postoperativen Tag (P11) deutlich erniedrigte Werte des C4 ($5,39 \pm 4,93$ mg% ($m \pm STD$)) gegenüber den Patienten ohne Polyorganversagen ($19,72 \pm 11,04$ mg%) ($P < 0,05$) (Abb. 6).

Dabei fand sich keine Differenz zwischen Patienten, die mit dem einen oder mit dem anderen Vasodilatator behandelt wurden.

3.2.3 C5a

Alle untersuchten Patienten hatten hohe C5_a-Werte am Ende der Herz-Lungen-Maschine ($15,4 \pm 10,1$ µg/l ($m \pm STD$)). Dabei wurde keine signifikante Differenz zwischen Patienten mit und ohne Polyorganversagen festgestellt. Patienten, die mit Natrium Nitroprussid behandelt wurden, hatten niedrigere C5_a-Werte ($11,2 \pm 5,9$ µg/l) als diejenigen, die Phentolamin oder

keinen Vasodilatator erhielten ($18,1 \pm 11,4 \mu\text{g/l}$); diese Differenz ist signifikant ($p < 0,05$).

3.3 Aktivierung des Plasmakontaktsystems während der Herz-Lungen-Maschine und in der ersten postoperativen Woche

Die Abbildung 7 zeigt, daß im gesamten Kollektiv während des extrakorporalen Kreislaufs und der ersten postoperativen Woche kein signifikanter Verbrauch des Präkallikreins nachzuweisen war. Weder zwischen den Patientengruppen noch zwischen Patienten mit und ohne Polyorganversagen wurde eine Differenz beobachtet.

4. Diskussion:

Die Aktivierung der Komplement-Kette, die einerseits durch den Kontakt zwischen Blut und Fremdmaterial und andererseits nach Protamingabe am Ende des Bypasses stattfindet, ist bei Erwachsenen gut bekannt (Chenoweth et al 1981, Kirklin et al 1986), kaum dagegen beim Kind (Merri et al 1988). Die Beziehung zwischen Grad der Komplement-Aktivierung während des extrakorporalen Kreislaufes und Auftreten postoperativer Komplikationen bzw. des Polyorganversagens wurde von anderen Autoren diskutiert (Kirklin et al 1983): Kirklin zeigte eine Korrelation zwischen Organdysfunktion und $C3_d$ -Wert, der 3 Stunden nach der Operation gemessen wurde. Unsere Arbeit bestätigt, daß auch beim Kind eine Komplement-Aktivierung während des extrakorporalen Kreislaufes stattfindet, und zeigt, daß das Maß der $C3$ -Konversion am Ende der Herz-Lungen-Maschine mit der postoperativen Entwicklung eines Polyorganversagens korreliert. Wir fanden im Gegensatz zu den Befunden anderer Autoren keine Korrelation zwischen Grad der $C3$ -Konversion und Dauer der Herz-Lungen-Maschine (Merri et al 1988). Die Kaskaden-artige Aktivierung der Komplementkette, die Interaktionen zwischen Komplement-Kette und anderen biochemischen Systemen (Kozin et al 1988) und der mögliche Einfluß von klinischen Parametern wie z.B. präoperative Zyanose, Herzinsuffizienz sind mögliche Erklärungen für diese fehlende Korrelation. Die Tatsache, daß man am Ende des Bypasses einen deutlichen Anstieg des Quotienten $C3_d/C3$ sowie

des C5, ohne signifikanten Verbrauch des C4 beobachtet, spricht dafür, daß im Kindesalter hauptsächlich der alternative Pathway für die beobachtete Komplement-Aktivierung verantwortlich ist, und daß der klassische Pathway nach Protamingabe nicht wesentlich aktiviert wird. Dies steht im Gegensatz zu Beobachtungen, die beim Erwachsenen gemacht wurden (Cavarocchi et al 1985, Kirklin et al 1986). Diese Autoren zeigten eine eindeutige Freisetzung von C4_a, einem Spaltprodukt des aktivierten C4, und folgerten daraus, daß die nach Protamingabe beobachteten hämodynamischen Veränderungen als Folge der Komplement-Aktivierung über den klassischen Pathway zu werten sind.

Die Unterteilung unseres inhomogenen Patientenkollektivs in drei Gruppen auf der Basis des Operationsalters und der Perfusionsmethodik (mit und ohne Kreislaufstillstand) zeigte, daß die Neugeborenen (Gruppe I) sich von den Säuglingen und Kindern nicht unterscheiden, indem bei den einen wie bei den anderen eine signifikante Komplementaktivierung während des extrakorporalen Kreislaufs stattfindet, die sowohl die Frühphase (C3-Konversion) wie die Spätphase (Freisetzung des C5_a) betrifft. Im Gegensatz zu Säuglingen und Kindern entwickelten Neugeborene in unserer Untersuchung kein Polyorganversagen. Trotz der relativ niedrigen Patientenzahl, die eine definitive Schlußfolgerung nicht ermöglicht, ist diese Beobachtung von Bedeutung und könnte dadurch zum Teil erklärt sein, daß eine Unreife der Neutrophilenrezeptoren für die aktivierten Komplementfragmente in der Neonatalperiode

besteht (Bruce et al 1987, Berger et al 1990). Es bleibt zu diskutieren, ob Neugeborene aus diesem Grund einen natürlichen Schutz gegen die während des extrakorporalen Kreislaufs freigesetzten Mediatoren haben. Bis auf 2 Patienten erhielten alle Neugeborene Prostaglandin E1; diese Substanz hat einen gut bekannten zytoprotektiven Effekt (Bihari et al 1988) und inhibiert die Leukozytenadhärenz (Chopra et al 1988). Das Prostaglandin E1 zusammen mit der natürlichen Unreife der Komplementrezeptoren neugeborener Neutrophile könnte den postoperativen Verlauf von am offenen Herzen operierten Neugeborenen positiv beeinflusst haben.

Ein Unterschied im Ausmaß der Komplement-Aktivierung konnte zwischen Patienten der Gruppe II und III nicht festgestellt werden. Dieses stimmt mit der Tatsache überein, daß wir keine Korrelation zwischen Grad der Aktivierung und Dauer der Herz-Lungen-Maschine sehen konnten.

Die Erhaltung oder Verstärkung der Komplement-Aktivierung in den ersten postoperativen Tagen bei den Patienten mit Polyorganversagen gibt Hinweise dafür, daß der Schock selbst, zusammen mit der Hypoxie, die Komplement-Aktivierung unterhält (Nuytinck et al 1986). Während des Schocks werden möglicherweise Gram-negative Bakterien aus dem Darm resorbiert, deren Endotoxine eine erneute Quelle für die Aktivierung des alternativen Pathways der Komplementkette sind (Dhainaut et al 1990). Die intrahepatische und Nieren-

Clearance von freigesetzten entzündlichen Mediatoren, die beim Kind mit Polyorganversagen kompromittiert ist, sowie die möglicherweise nicht ausreichende intrahepatische Synthese von Inhibitoren der Komplementkette und des Hageman Systems, die diese komplexen Systeme "unter Kontrolle" halten, beeinflussen bei unseren Patienten möglicherweise die entzündliche Reaktion in den ersten postoperativen Tagen.

Das Präkallikrein erwies sich in unserer Untersuchung als unzuverlässiger Marker der Aktivierung des Plasmakontakt-Systems während der Herz-Lungen-Maschine und der ersten postoperativen Woche. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß die Mehrzahl der Kinder Fremdblut im Priming volume bekamen und unmittelbar postoperativ mit Frischblut versorgt wurden, wodurch möglicherweise eine Präkallikrein-Substitution erfolgte.

Der Komplement-hemmende Effekt des Natrium-Nitroprussid, der kürzlich von Duchateau und Mitarbeitern in vitro gezeigt wurde, sollte mit Aufmerksamkeit weiter verfolgt werden. In der Tat, trotz der deutlichen Fortschritte, die gemacht worden sind, um eine bessere Biokompatibilität der für die Herz-Lungen-Maschinen gebrauchten Materialien zu erreichen (z.B. durch Ersetzen der Bubble-Oxygeneratoren durch Membranoxygeneratoren (van Oeveren et al 1985)), bleibt der extrakorporale Kreislauf ein unphysiologisches Verfahren, das mit einer ausgeprägten entzündlichen Reaktion sowie mit einer nicht zu vernachlässigenden Morbidität und Mortalität belastet ist (Westaby et al 1986). So bleibt zur Zeit die pharmakologische Hemmung der Komplement-Aktivierung während des extrakorporalen Kreislaufs ein schlüssiger Ansatz (Volonakis 1989).

Das Natrium-Nitroprussid wird in der Herzchirurgie großzügig eingesetzt, nicht wegen seiner Komplement-hemmenden Eigenschaften, sondern für die Nachlastsenkung, die es durch

eine intrazelluläre Kalziumblockade bewirkt (Kreye et al 1978). Dieser vasodilatative Effekt ist bei postoperativem low-cardiac-output-Syndrom von Nutzen (Benzing et al 1979, Kunathai et al 1989).

Unsere klinische Studie stützt die von Duchateau in vitro gemachten Beobachtungen. Die Inzidenz des postoperativen Polyorganversagens hat nach Einführung des Natrium-Nitroprussid in das Anästhesieprotokoll abgenommen. Auch wenn diese Abnahme ein signifikantes Niveau von 5 % nicht erreicht, scheint uns das Risiko einer Vernachlässigung der die Komplement-Aktivierung hemmenden Wirkung im Interesse des Patienten nicht vertretbar zu sein. Die hier mitgeteilten Ergebnisse (signifikant niedrigere C3d/C3 und C5_a-Werte bei den mit Natrium-Nitroprussid im Vergleich zu den mit Phentolamin behandelten Patienten) geben dieser Beobachtung eine pathophysiologische Begründung. Interessant sind in diesem Zusammenhang Beobachtungen der Literatur, die ebenfalls für einen die Komplement-Aktivierung hemmenden Effekt des Natrium-Nitroprussid sprechen. In einem Fall einer extremen Hyperthermie (Katlic et al 1978), in einem Fall von Purpura fulminans bei einem Säugling (Devictor et al 1980), und bei einem Neugeborenen mit hyalinen Membranen (Beverley et al 1979) wurde eine schnelle klinische Besserung nach Natrium-Nitroprussid-Gabe erreicht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß das Komplementsystem eine Rolle in der Pathophysiologie dieser Krankheitsbilder gespielt hat, und daß der positive Effekt des Natrium-Nitroprussid nicht nur auf die systemische

und pulmonale Vasodilatation, sondern auch auf die antientzündliche Wirkung zurückzuführen ist.

5. Schlußfolgerung:

Die von uns durchgeführte prospektive Untersuchung bestätigt, daß auch bei Kindern während einer Herz-Lungen-Maschinen-Operation eine signifikante Aktivierung der Komplement-Kette über den alternativen Pathway stattfindet. Der klassische Pathway scheint beim Kind im Gegensatz zum Erwachsenen durch den Heparin-Protamin-Komplex nicht wesentlich aktiviert zu werden. Die Komplement-Aktivierung ist von der Dauer des extrakorporalen Kreislaufs unabhängig. Wir konnten eine Beziehung zwischen dem Grad der Komplement-Aktivierung und dem Auftreten einer besonders gravierenden Komplikation, dem postoperativen Polyorganversagen, jenseits der Neugeborenenperiode zeigen. Neugeborene entwickelten in unserer Serie trotz erheblicher C3-Konversion und C5_a-Freisetzung keine gravierenden, Herz-Lungen-Maschine-bedingten Komplikationen. Dies könnte durch eine physiologische Unreife der Komplementrezeptoren von Neutrophilen Neugeborener und durch die präoperative Behandlung mit Prostaglandin E1 zum Teil erklärbar sein. Natrium-Nitroprussid hat in vitro und möglicherweise ebenfalls in vivo einen die Komplement-Aktivierung hemmenden Effekt, der den alternativen Pathway betrifft. Weitere prospektive Untersuchungen zur Prüfung dieses Effektes sind vorgesehen.

6. Literatur:

1. Antonsen S et al. Neutrophil lysosomal enzyme release and complement activation during cardiopulmonary bypass. Scand J Thorac surg 1987,21:47-52
2. Benzing G III et al. Nitroprusside and epinephrine for treatment of low output in children after heart surgery. Ann Thorac Surg 1970,27:523-528
3. Berger M. Complement deficiency and neutrophil dysfunction as risk factors for bacterial infection in newborns and the role of granulocyte transfusion in therapy. Res Infect Dis 1990, 12 (Suppl. 4): 401-409
4. Beverley DW et al. Early use of sodium nitroprusside in respiratory distress syndrome. Arch Dis Child 1979,54:403-407

5. Bihari et al.
The therapeutic value of vasodilator
prostaglandins in
multiple organ failure associated with
sepsis.
Intensive Care Med 1988, 15:2-7

6. Boonstra PW et al. Reduced platelet
activation and improved
hemostasis after cardiectomy suction
during clinical membrane
oxygenator perfusions.
J Thorac Cardiovasc Surg 1985,89:900-906

7. Bruce MC. et al. Impaired surface
membrane expression of
C3bi but not C3b receptors on neonatal
neutrophils.
Ped Res 1987,21: 306-311

8. Cavarocci NC et al. Evidence for
complement activation by
protamine-heparin interaction after
cardiopulmonary bypass.
Surgery 1985,98:525-531

9. Chenoweth D et al. Complement activation
during cardio- pulmonary bypass.
N Engl J Med 1981,304:497-503

10. Chopra J et al. PGE1 inhibits
neutrophil adherence and
neutrophil-mediated injury to cultured
endothelial cells.
Am Rev Respir Dis 1988,138:915-920

11. Davies GC et al. Elevated plasma
fibrinopeptide A and thromboxane B2
levels during cardiopulmonary bypass.
Circulation 1980,61:808-814

12. Devictor D et al. Prévention des nécroses
distales au cours du purpura fulminans
chez l'enfant.
Arch Fr Ped 1980,37:421-422

13. Fry DE. Diagnosis and epidemiology of
multiple organ failure.
In: Deitsch EA, ed. Multiple
organ failure-pathophysiology and basic
concept of therapy - EA Deitch
Thieme Medical Publishers inc. New York -
Georg Thieme Verlag
Stuttgart - New York - 1990: pp 13-25.

14. Goldstein IM. Complement: Biologically active products in Inflammation: basic principles and clinical correlates, pp 55-74. Ed. by JI Gallin, IM Goldstein and R. Snyderman. Raven Press, Ltd, New York, 1988
15. Katlic MR et al. Sodium nitroprusside in the treatment of extreme pyrexia. N Eng J Med 1978,299:154
16. Kirklin J et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. J Thorac cardiovasc Surg 1983,86:845-857
17. Kirklin J et al. Effects of protamine administration after cardiopulmonary bypass on complement, blood elements and the hemodynamic state. Ann Thorac Surg 1986,41:193-199

18. Kozin F et Cochrane CG. The contact activation system of plasma. Biochemistry and pathophysiology. In Inflammation: Basic principles and clinical correlates. pp 101-120. Edited by JI Gallin, IM Goldstein and R Snyderman. Raven Press, Ltd, New York 1988
19. Kunathai S et al. Nitroprusside in children after cardio-pulmonary bypass: a study of thiocyanate toxicity. Pediatr Cardiol 1989,10:121-124
20. Mammen EF et al. Hemostasis changes during cardiopulmonary surgery. Sem Thromb Hemostasis 1985,11:281-292
21. Mei Pang L et al. Increased circulating Bradykinin during hypothermia and cardiopulmonary bypass in children. Circulation 1979,60:1503-1507
22. Merri S et al. Complement activation during cardiopulmonary bypass in children. Complement 1988,5:46-54

23. Müller-Eberhard HJ. Complement: Chemistry and pathway.
In Inflammation: basic principles and clinical correlates.
pp 21-53. Ed. by JI Gallin, IM Goldstein and R Snyderman.
Raven Press, Ltd, New York, 1988
24. Nagaoka H et al. Inhibition of kinin formation by a kallikrein inhibitor during extracorporeal circulation in open-heart surgery.
Circulation 1975,52:325-332
25. Nuytinck JKS et al. Acute generalized microvascular injury by activated Complement and hypoxia: the basis of the adult respiratory distress syndrom and multiple organ failure?
Br J Exp Path 1986,67:537-548
26. Royall JA et Levin DL. Adult respiratory distress syndrome in pediatric patients.
J pediat 1988,112:169-179

27. Salama A et al. Deposition of terminal C5b-9 complexes on erythrocytes and leucocytes during cardiopulmonary bypass.
N Engl J Med 1988,318:408-413
28. Seghaye MC et al. Multiple system organ failure after cardiopulmonary bypass in infants and children.
Thorac Cardiovasc Surgeon 1993;41: 49-53
29. van Oeveren W et al. Deleterious effects of cardiopulmonary bypass: a prospective study of bubble and membrane oxygenators.
J Thorac Cardiovasc Surg 1985,89:888-889
30. Volanakis JE. Complement activation caused by different oxygenators.
J Thorac Cardiovasc Surg 1989,98:292-295
31. Westaby S et al. Complement activation and morbidity after cardiopulmonary bypass.
In proceedings of "thirty years of extracorporeal circulation. Edited by Hagel, Klöverkorn, Mayr and Sebening. Deutsches Herzzentrum, 1984. pp 389-395

32. Yarborough KA et al. Hydrodynamic
hemolysis in extracorporeal machines.
J. Thorac Cardiovasc Surg 1966,52:550-557

Tabelle I

Patientenzahl	Diagnose	Oper. Verfahren	NNP ja	NNP nein
Gruppe I, n = 13	D-TGA (n=10)	Switch (n=9)	n=5	n=4
	TAPVR (n=2)	Senning	n=1	n=1
	Hypo VD PS (n=1)	Korrektur (n=2) Komm PK	n=1	n=1
Gruppe II, n = 30	VSD (n=5)	Verschluss	n=3	n=2
	ASD (n=1)	Verschluss	n=1	
	KAVK (n=6)	Korrektur	n=2	n=4
	TOF (n=6)	Korrektur	n=5	n=1
	TB (n=2)	Korrektur	n=2	
	DORV (n=2)	Korrektur	n=2	
	D-TGA (n=1)	Senning		n=1
	TA (n=2)	Fontan	n=2	
	TA (n=1)	Atrioseptostomie	n=1	
	BWG (n=1)	Korrektur		n=1
	Tumor in VS (n=1)	Extirpation		n=1
	subPS (n=1)	Resektion		n=1
	Isomerismus (n=1)	Mod. Fontan	n=1	
Gruppe III, n=16	VSD (n=2)	Verschluss	n=2	
	ASD (n=3)	Verschluss	n=3	
	TOF (n=5)	Korrektur	n=3*	n=2
	TA (n=1)	Fontan	n=1	
	SV, TGA (n=2)	Mod. Fontan	n=1	n=1
	DORV, TGA (n=1)	Mos. Fontan		n=1
	valv AS (n=1)	Komm AK	n=1	
	MS (n=1)	Rekonstruktion		

Legende:

DTGA: D-Transposition der großen Arterien.
TAPVC: Totale Lungenvenenfehleinnüpfung.
Hypo.VD+PS: Hypoplastischer rechter Ventrikel+Pulmonalstenose.
Komm. : Kommissurotomie; PK: Pulmonalklappe; AOK: Aortenklappe
VSD: Ventrikelseptumdefekt.
ASD: Vorhofseptumdefekt.
KAVK: Kompletter atrioventrikulärer Kanal.
TOF: Fallot'sche Tetralogie.
TB: Taussig-Bing-Komplex.
DORV: Double outlet right Ventrikel
TA: Tricuspidalatresie.
BWG: Bland-White-Garland-Syndrom.
VS: linker Ventrikel.
SPS: Subpulmonalstenose.
SV: univentrikuläres Herz. AOS: valvuläre Aortenstenose.
MS: Mitralkstenose.
NNP: Natriumnitroprussid
* Ein Patient mit TOF wurde wegen bestehendem ASD reoperiert.

Tabelle II

Definition des postoperativen Versagen vitaler Organe

Niereninsuffizienz: Diurese ≤ 1 ml/kg/h
+ Kreatinin ≥ 100 μ mol/l

Respiratorische Insuffizienz: Mechanische Beatmung
unter FiO₂ $\geq 0,4$ für mehr als
5 Tage po *

Leberversagen: SGOT ≥ 500 IU/L
+ PTZ ≤ 50 %

Neurologische Beteiligung: Krampfanfälle oder Coma**

* bestehender intracardialer Rechts-Links-Shunt
ausgeschlossen.
** sedierte Patienten ausgeschlossen.

po: postoperativ;
SGOT: Glutamoxaloacetische Transaminasen;
PTZ: Prothrombin-Zeit

Tabelle III: Dauer der Herzlungenmaschine

Gruppe	POV		NNP ja		NNP nein
Gruppe I, n = 13	POV ja n = 0		n = 0		n = 0
	POV nein n = 13	m = 71	n = 7 (35 - 116)	m = 66	n = 6 (35 - 90)
Gruppe II, n = 30	POV ja n = 4	m = 62	n = 4 (42 - 108)		n = 0
	POV nein n = 26	m = 60	n = 15 (35 - 116)	m = 54	n = 11 (35 - 126)
Gruppe III, n = 17*	POV ja n = 6	m = 77	n = 4 (87 - 152)	m = 142	n = 2 (116 - 168)
	POV nein n = 10	m = 61	n = 9 (32 - 124)	m = 83	n = 2 (69 - 98)

NNP: Natriumnitroprussid; POV: Polyorganversagen
m: Medianwert; Herzlungenmaschinendauer (min.)
*: ein Patient wurde reoperiert

Komplementsystem und EKK

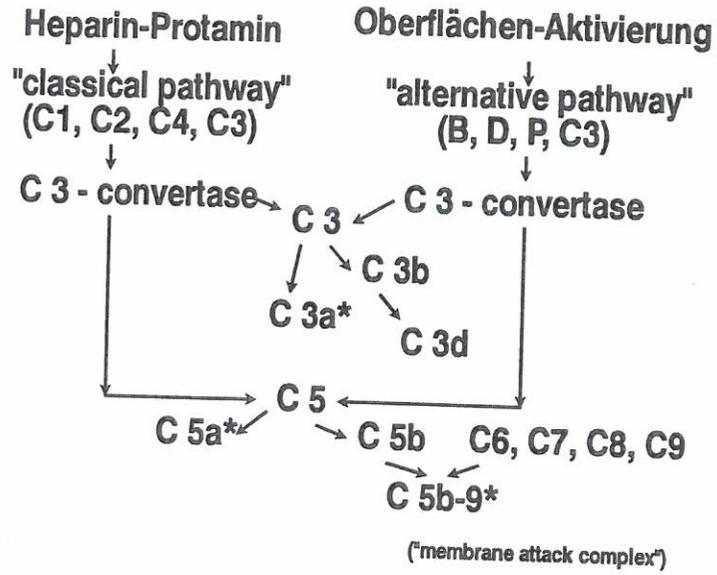


Abb.: 1

C3d/C3 während und nach extrakorporalem Kreislauf (EKK)

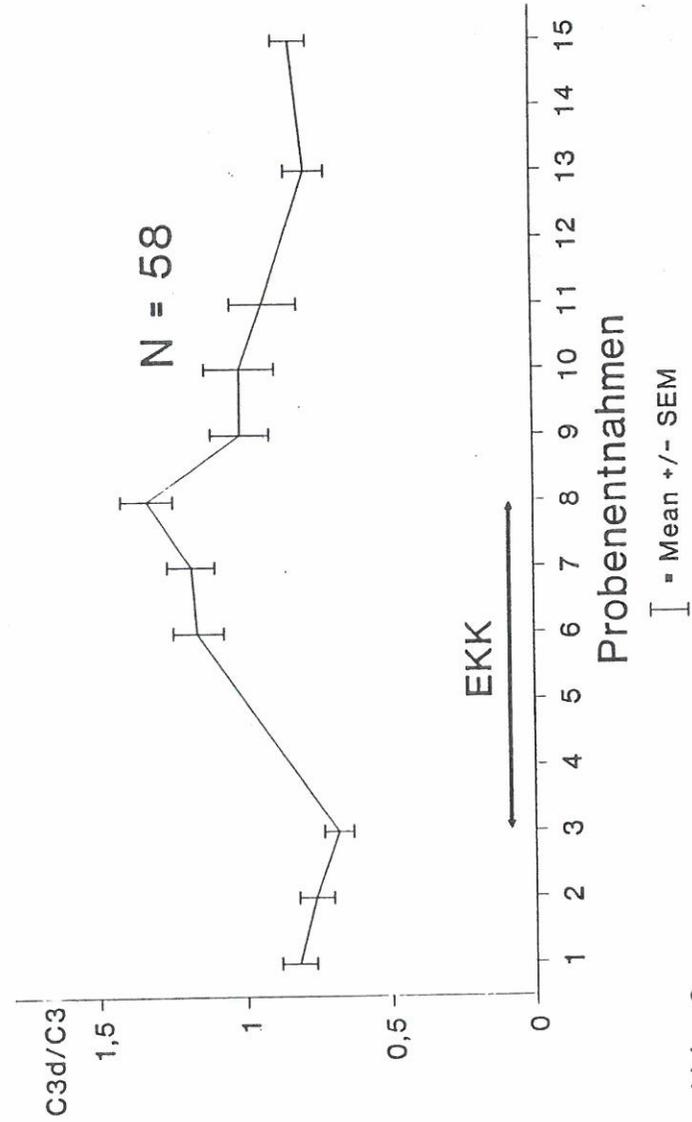


Abb.: 2

C3d/C3 während und nach extrakorporalem Kreislauf (EKK) bei Patienten mit und ohne Polyorganversagen (POV)

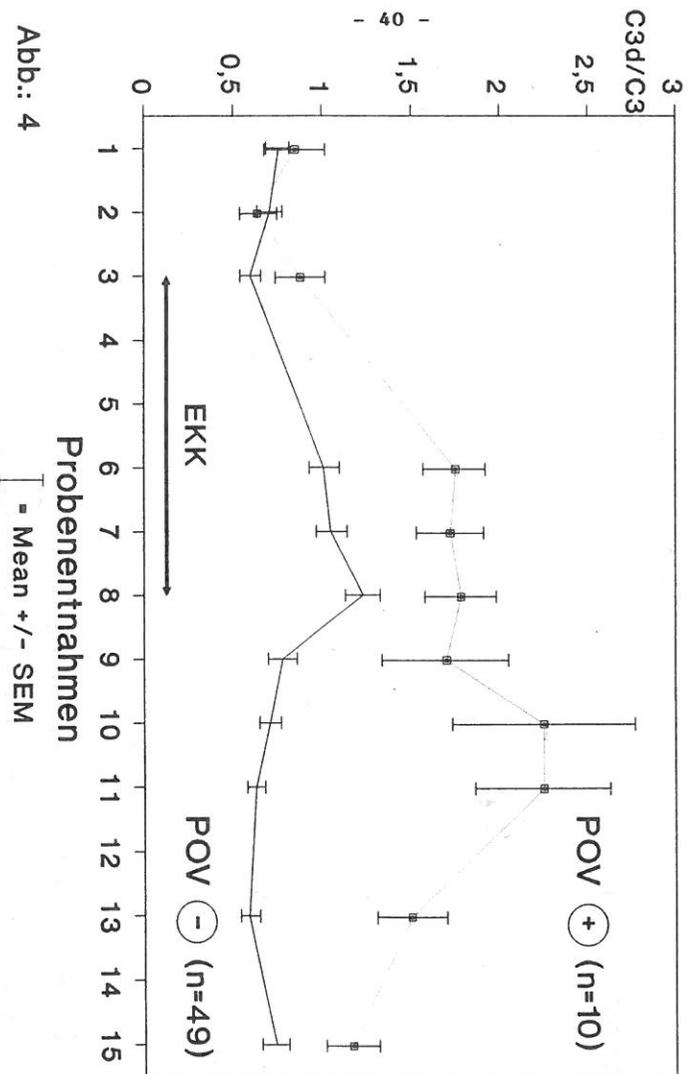


Abb.: 4

C3d/C3 während und nach extrakorporalem Kreislauf (EKK)

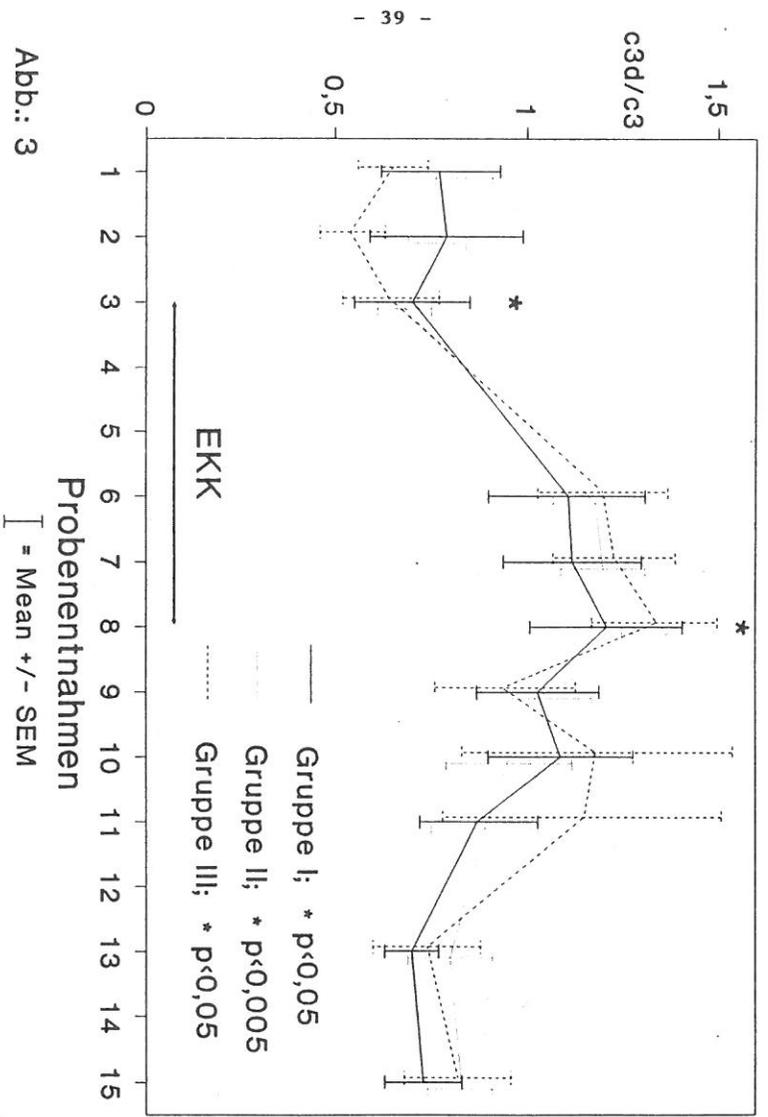


Abb.: 3

Probenentnahmen
 I = Mean +/- SEM

C4 während und nach extrakorporalem Kreislauf (EKK) bei Patienten mit und ohne Polyorganversagen (POV)

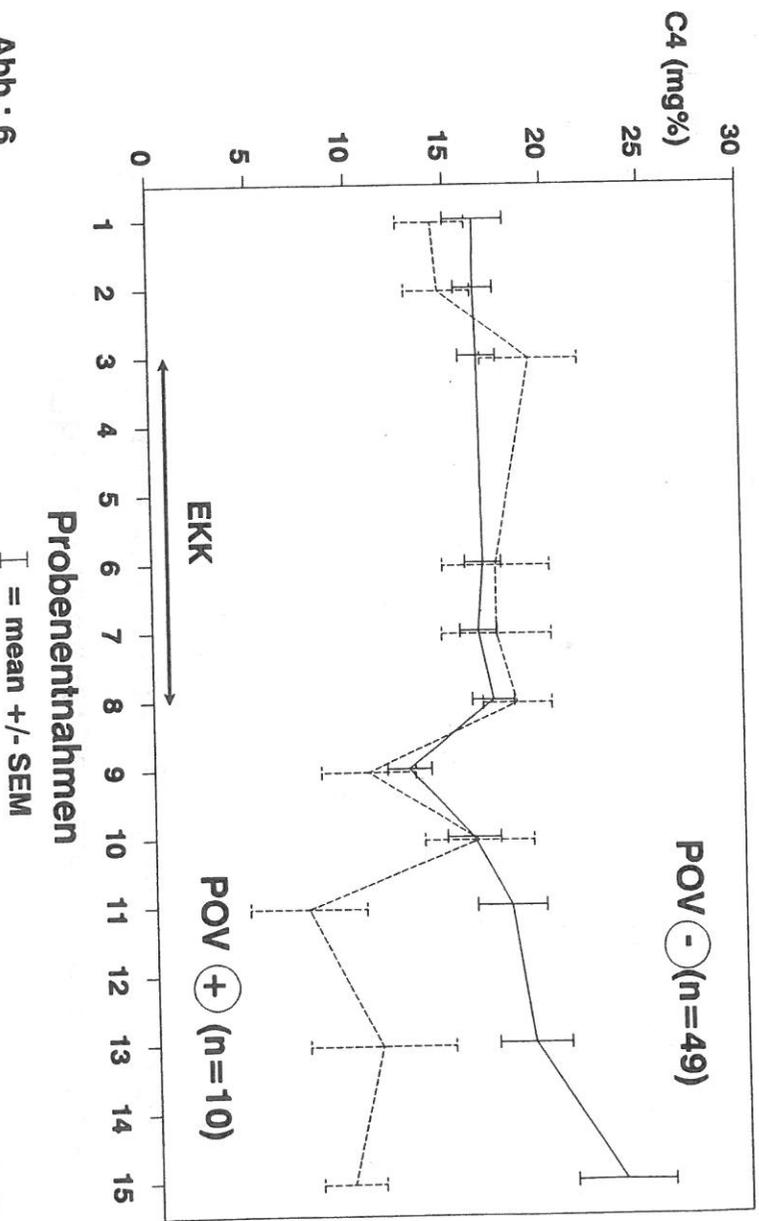


Abb.: 6

C3d/C3 während und nach extrakorporalem Kreislauf (EKK) bei Patienten mit und ohne Natriumnitroprussid (NNP)

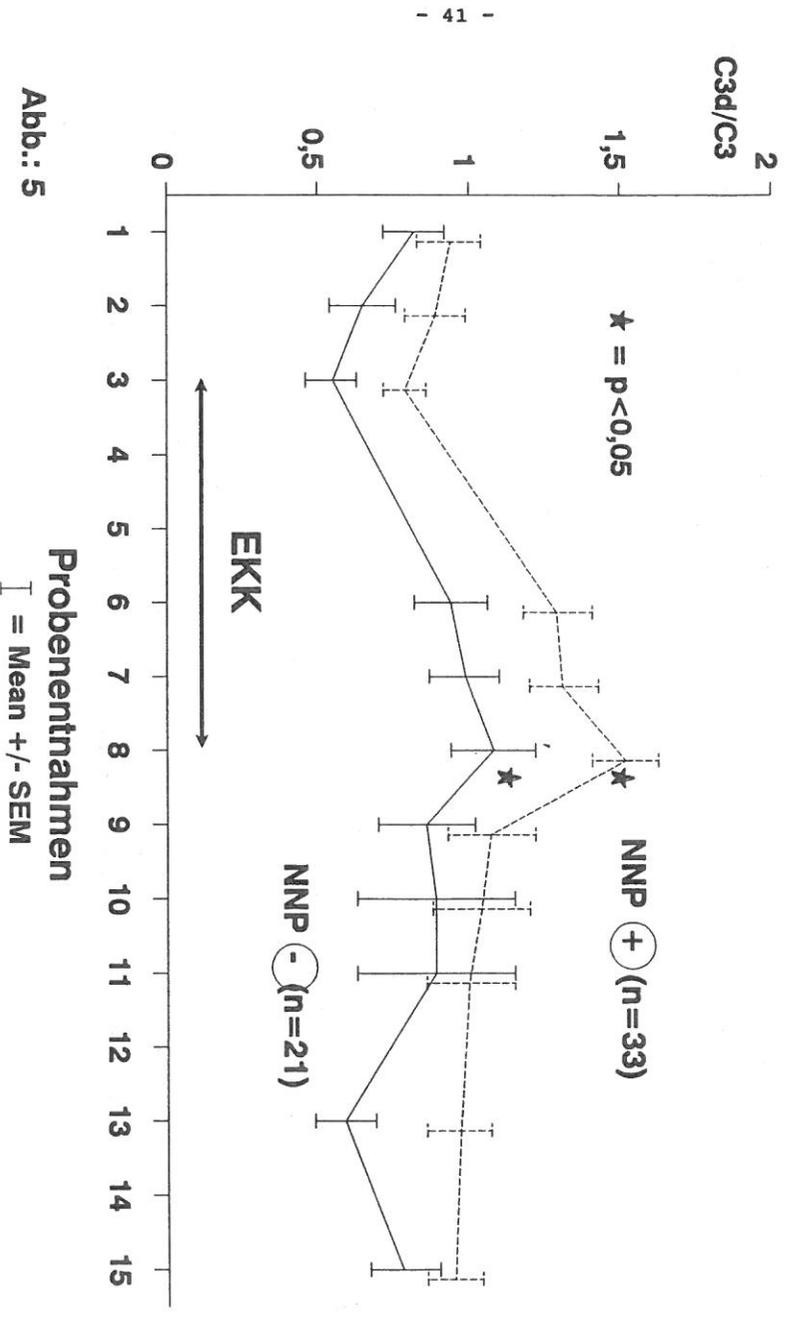


Abb.: 5

8. Lebenslauf:

Geburtstag	24, April 1958
Geburtsort	Verviers, Belgien
1970 bis 1976	Gymnasium Lycée Royal de Verviers, Verviers, Belgien
Juni 1986	Reifeprüfung
Oktober 1976 bis Juli 1983	Medizinstudium an der Medizinischen Fakultät der Universität Lüttich, Belgien
August 1983 bis September 1988	Facharztweiterbildung in Kinderheilkunde an der Universität Lüttich, Belgien (Prof. F. Geubelle)
Oktober 1988	Anerkennung als Facharzt für Kinderheilkunde (Belgisches Ministerium für das Gesundheitswesen)
Seit Oktober 1987	Assistenzärztin an der Klinik für Kinderkardiologie, RWTH Aachen (Prof. G. von Bernuth)

Präkallikreine (PK) und extrakorporaler Kreislauf (EKK)
Patienten mit und ohne Polyorganversagen (POV)

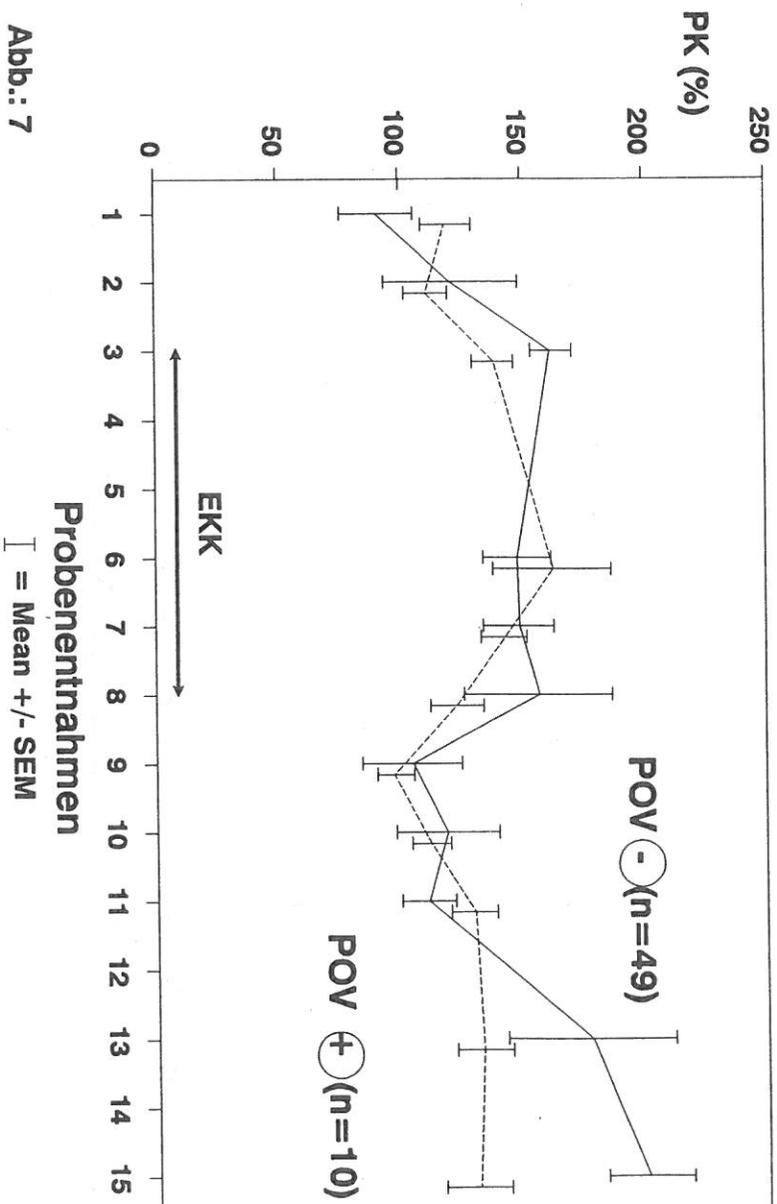


Abb.: 7

Probenentnahmen
I = Mean +/- SEM

FOTODRUCK J. MAINZ GmbH
Süsterfeldstr. 83, D - 52072 Aachen
Telefon: (0241) 873434, Telefax: (0241) 875577