

**Effekte der ischämischen Fern-Präkonditionierung auf Melatonin
und den antioxidativen Status – explorative Pilotstudie an
kardiochirurgischen Patienten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Thomas Recht

aus Bonn

2017

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Georg Baumgarten
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Wilhelm Röll

Tag der Mündlichen Prüfung: 13.10.2017

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. A. Hoeft

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1 Kardiochirurgische Operationen	7
1.2 Verwendung der Herz-Lungen-Maschine, Komplikationen von extrakorporaler Zirkulation.....	8
1.2.1 Grundlagen	8
1.2.2 Allgemeine Pathologien, SIRS	9
1.2.3 Spezifische Pathologien bezogen auf ausgewählte Organsysteme	10
1.3 Ischämie- und Reperfusionsschaden (IRS)	12
1.3.1 Definition	12
1.3.2 Molekulare Mechanismen	13
1.3.3 Ischämie- und Reperfusionsschaden in der Kardiochirurgie	14
1.4 Ischämische (Fern-)Präkonditionierung	14
1.4.1 Entwicklung des Verfahrens.....	14
1.4.2 Wirkungsmechanismen.....	15
1.4.3 Aktuelle Anwendungen, Probleme, Ausblick	17
1.4.3.1 RIPHeart-Studie	18
1.5 Oxidativer Stress	18
1.5.1 Freie Radikale, reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, Antioxidantien ...	18
1.5.2 Melatonin als Antioxidans.....	20
1.6 Fragestellung der Arbeit	22
2. Material und Methoden.....	23
2.1 Ausgangssituation und Ethikvotum.....	23
2.2 Studiendesign	23
2.2.1 Studienpopulation	24
2.2.1.1 Einschlusskriterien	24
2.2.1.2 Ausschlusskriterien	24
2.2.2 Patientenselektion.....	25
2.2.3 Randomisierung.....	26
2.2.4 Anästhesie und operativer Verlauf	26
2.2.5 Studienintervention.....	27
2.2.6 Studiendurchführung Substudie	28
2.3 Laborleistungen	30

2.4	Statistische Auswertung	31
3.	Ergebnisse	33
3.1	Allgemeine Daten	33
3.1.1	Demografische Daten.....	33
3.1.2	Vorerkrankungen.....	35
3.1.3	Operative Eingriffe.....	35
3.1.4	Dauer des kardiopulmonalen Bypasses, Aortenklemmzeit	37
3.1.5	Intensivstationsverweildauer und Beatmungsdauer	38
3.2	Perioperative Dynamik von Melatonin, eSOD, eGPx und 8-OHdG.....	40
3.2.1	Melatonin.....	41
3.2.2	Superoxiddismutase (eSOD) und Glutathionperoxidase (eGPx).....	43
3.2.3	8-Hydroxydesoxyguanosin	46
3.3	Einfluss des präoperativen Melatoninspiegels	48
3.4	Troponinverlauf.....	48
4.	Diskussion.....	50
4.1	Dynamik von Superoxiddismutase und Glutathionperoxidase	51
4.2	Oxidativer Stress anhand von 8-Hydroxydesoxyguanosin.....	53
4.3	Melatonin	54
4.4	Troponin	56
4.5	Unabhängige Effekte anderer perioperativer Faktoren	56
4.6	Einflussfaktoren, Methodenkritik	57
4.6.1	Demografische Daten.....	57
4.6.2	Begleitmedikation	59
4.6.2.1	Benzodiazepine.....	59
4.6.2.2	Beta-Rezeptorenblocker.....	59
4.6.2.3	Propofol.....	60
4.7	Einfluss von Beleuchtung auf Melatoninkonzentrationen.....	60
4.8	Statistische Limitationen	61
4.9	Ausblick	61
5.	Zusammenfassung.....	63
6.	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	65
7.	Literaturverzeichnis	66
8.	Danksagung	80

Abkürzungsverzeichnis

8-OHdG	8-Hydroxydesoxyguanosin
ANV	Akutes Nierenversagen
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
CPB	Cardiopulmonary Bypass
CRF	Case Report Form
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EF	Ejektionsfraktion
eGPx	extrazelluläre Glutathion-Peroxidase
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
eSOD	extrazelluläre Superoxiddismutase
GABA	γ -Aminobuttersäure
GPx	Glutathion-Peroxidase)
HLM	Herz-Lungen-Maschine
I.E.	Internationale Einheiten
ICU	Intensive Care Unit
IL	Interleukin
IMC	Intermediate Care
IPC	Ischemic Preconditioning
IQR	Interquartile Range, Interquartilsabstand
IRS	Ischämie- und Reperfusionsschaden
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
mPTP	Mitochondrial Permeability Transition Pores
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MT	Melatonin
OP	Operationssaal
OPCAB	Off-Pump Coronary Artery Bypass
PCI	Perkutane Koronarintervention

RIC	Remote Ischemic Conditioning
RIPC	Remote Ischemic Preconditioning
RIPHeart	Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery (RIPHeart-Study)
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	Superoxiddismutase
STEMI	ST-Elevation Myocardial Infarction
TEA	Thrombendarteriektomie
TIVA	Totale Intravenöse Anästhesie
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
ZKS	Zentrum für Klinische Studien

1. Einleitung

1.1 Kardiochirurgische Operationen

Allein in Deutschland werden jährlich in 78 kardiochirurgischen Abteilungen ca. 100.000 Operationen am Herzen durchgeführt. Den größten Teil machten im Jahr 2015 mit ca. 37 % immer noch die koronaren Bypass-Operationen aus, deren Anteil in den letzten Jahren allerdings leicht zurückging. „Hintergrund dieser Entwicklung ist, dass die ‚Koronare Herzkrankheit‘ (KHK) in steigendem Maße durch eine Katheterintervention mit Einsetzen eines Stents behandelt wird.“ (Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, 2016).

Das Alter der Patienten und somit die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen von weiteren Begleiterkrankungen (u.a. Herzinsuffizienz, Niereninsuffizienz, Lungenerkrankungen, arterielle Gefäßerkrankungen, Herzrhythmusstörungen – insbesondere Vorhofflimmern, Diabetes mellitus) steigt hierbei stetig. Während der Anteil der über 80-Jährigen Patienten 2006 noch bei 9,6 % lag (Gummert et al., 2007), stieg er in den folgenden Jahren kontinuierlich bis zu einem Wert von 14,8 % im Jahr 2015 an (Beckmann et al., 2016). Auch in Zukunft ist mit einem weiteren Aufwärtstrend zu rechnen. Diese Entwicklung führt dazu, dass weitere Konzepte entwickelt werden müssen, die durchgeführte herzchirurgische Operation an der Komorbidität des Patienten zu orientieren, um die perioperativ erhöhte Komplikationsrate und Letalität weiter zu verringern (Trummer und Beyersdorf, 2005).

Obwohl die Komplikationsrate insbesondere auch für schwere Komplikationen wie Niereninsuffizienz, Schlaganfall und respiratorische Probleme nach herzchirurgischen Eingriffen bei über 75-Jährigen deutlich höher als in einem jüngeren Patientenkollektiv ist, kann nach erfolgreicher Operation und perioperativ komplikationsarmem Verlauf eine altersentsprechende Lebenserwartung und auch Lebensqualität erreicht werden, die ohne Durchführung der Operation nicht zu erreichen gewesen wäre (Friedrich et al., 2009; Olsson et al., 1996; Trummer und Beyersdorf, 2005). Eine Studie, die das Outcome von sehr alten Patienten (85 Jahre und älter) im Rahmen von offenen herzchirurgischen Eingriffen untersucht hat, kommt zu dem Schluss, dass 85 % des untersuchten Patientenkollektivs postoperativ in der Lage war, zu Hause zu leben und Aktivitäten des täglichen

Lebens ohne Unterstützung zu verrichten, auch der weitere Lebenswille schien ungebrochen (Yokose et al., 2016).

Durch Fortschritte in Chirurgie, Kardiotechnik, Kardioanästhesie und Intensivmedizin ist es gelungen, trotz steigenden Patientenalters und der zunehmenden präoperativen Multimorbidität über die letzten 10 Jahre das niedrige Gesamtmortalitätslevel im Bereich von 2,7 % (2015) für alleinige Bypasschirurgie und 4,4 % (2015) für alleinige Herzklappenchirurgie konstant zu halten (Beckmann et al., 2016; Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, 2016; Friedrich et al., 2009).

Ein zunehmender Anteil an Operationen wird heutzutage bereits unter Verzicht auf eine extrakorporale Zirkulation mittels der Herz-Lungen-Maschine (HLM) durchgeführt (OPCAB, „off-pump coronary artery bypass“). Außerdem gewinnen minimalinvasive Verfahren weiter an Bedeutung. Dennoch bleiben Operationen unter Einsatz der HLM weiterhin das Standardverfahren zur chirurgischen Koronarrevaskularisation (Hake et al., 2007). Die Relation zwischen Verfahren mit HLM und Verfahren ohne HLM betrug im Jahr 2015 ca. 5:1 (Beckmann et al., 2016).

1.2 Verwendung der Herz-Lungen-Maschine, Komplikationen von extrakorporaler Zirkulation

1.2.1 Grundlagen

Erst durch die Entwicklung der Herz-Lungen-Maschine, die erstmals 1953 bei dem Verschluss eines Vorhofseptumdefekts einer 18-jährigen Patientin eingesetzt wurde (Cohn, 2003; Gibbon, 1954), trat die extrakorporale Zirkulation ihren Siegeszug an. Umfangreiche Weiterentwicklungen im Rahmen des technologischen und medizinischen Fortschritts ermöglichten die heutige moderne Herzchirurgie, bei der komplizierte Eingriffe am offenen Herzen zur täglichen klinischen Routine geworden sind.

Das Grundprinzip der heute eingesetzten HLM ist nahezu unverändert geblieben. Das, mit hohen Heparindosen gerinnungsgehemmte, venöse Blut wird normalerweise im

rechten Vorhof drainiert, es fließt mit der Schwerkraft passiv ins venöse Reservoir und wird von hier aus, unter Zwischenschaltung von Blasen- und Partikelfiltern sowie Messfühlern und Rückschlagventilen, mit Hilfe von in Deutschland vornehmlich verwandten Rollerpumpen durch den Oxygenator gepumpt. Von hier aus wird das oxigenierte und dekarboxilierte Blut über eine Kanüle in der Regel der Aorta Ascendens zugeführt. Je nach dem Erfordernis des Eingriffs sind Modifikationen bezüglich der Kanülierungspositionen und der Einsatz zusätzlicher Elemente möglich. Während des CPB wird mit Hilfe einer Kardioplegielösung ein diastolischer Herzstillstand induziert (Baehner et al., 2012).

Die häufigsten Standardeingriffe unter Verwendung der HLM waren im Jahr 2015 in Reihenfolge der in Deutschland durchgeführten Eingriffe: koronare Bypassoperationen, Herzklappenchirurgie, Eingriffe an der thorakalen Aorta, Eingriffe bei kindlichen Herzfehlern, sonstige Eingriffe, Implantation von kardialen Assist-Devices. Hinzu kamen 283 Herztransplantationen (Beckmann et al., 2016).

1.2.2 Allgemeine Pathologien, SIRS

Neben den Möglichkeiten, die eine Operation im kardiopulmonalen Bypass („cardiopulmonary Bypass“, CPB) unter Zuhilfenahme einer Herz-Lungen-Maschine eröffnet, ist sie auch Ausgangspunkt für systemische und organspezifische Komplikationen. Die extrakorporale Zirkulation und der hiermit einhergehende Kontakt des Blutes mit künstlichen Oberflächen (Schläuche, Membranen), die mechanische Einwirkung der Rollerpumpen auf Blutbestandteile, sowie der unphysiologische laminare, nicht-pulsatile Blutfluss lösen eine Immunreaktion und in der Folge eine Ganzkörper-Entzündungsreaktion aus, die häufig die Definitionskriterien eines „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) erfüllt. Zudem kommt ein nicht unerhebliches operatives Trauma, das unabhängig von der Verwendung der HLM ist (Baehner et al., 2012; Kirklin et al., 1983; Larmann und Theilmeier, 2004; Westaby, 1987). Im Zusammenhang mit einem SIRS treten häufig Organkomplikationen auf, die letztlich in ein Multiorganversagen münden können, welches auch heutzutage noch mit einer hohen Letalität behaftet ist (Laffey et al., 2002).

Studien zeigten, dass eine längere Phase des CPB an der HLM mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines SIRS einhergeht, bzw. dieses auch länger anhält (Furunaga et al., 1996; Hirai, 2003).

1.2.3 Spezifische Pathologien bezogen auf ausgewählte Organsysteme

Lunge: Eine postoperative pulmonale Dysfunktion ist eine häufig auftretende Komplikation nach kardiopulmonalem Bypass. Die Spanne reicht von einer arteriellen Hypoxämie, die bei nahezu 100 % der Patienten nachzuweisen ist, bis hin zu einem akuten Lungenversagen (ARDS, „acute respiratory distress syndrome“), das bei 0,4 - 2 % der Fälle auftritt (Wynne und Botti, 2004). Neben der o.g. Entzündungsreaktion kommt hier eine Minderperfusion und -ventilation zum Tragen (Weissman, 2004). In der Phase des CPB ist der Blutfluss durch die Lunge auf den Fluss durch die Bronchialarterien limitiert. Schlensak et. al. (2002) stellten die Hypothese auf, dass dieser Blutfluss während des CPB zu gering sei, um eine Lungenischämie abzuwenden. Im Tierexperiment konnten sie zeigen, dass der Blutfluss der Bronchialarterien während des CPB auf 13 % des Ausgangswertes abnahm. Dies äußerte sich auch in einem dreifach erhöhten Laktatspiegel im Lungengewebe zum Ende des CPB, sowie einer Verdopplung der Alveolarseptendicke (Schlensak et al., 2002).

Herz: Diverse Untersuchungen haben gezeigt, dass der Anstieg der kardialen Enzyme im Blut (Kreatinkinase [CK], Kreatinkinase-Isoenzym aus Herzmuskelzellen [CK-MB] aus Herzmuskelzellen sowie Troponine) nach Bypass-Operationen unter Verwendung eines CPB signifikant höher ausfällt, als nach vergleichbaren Operationen im Off-pump-Verfahren (OPCAB) (Kobayashi et al., 2005; Masuda et al., 2002; Penttilä et al., 2001). Die Höhe des postoperativen Plasmaspiegels der genannten Enzyme ist jedoch auch ein unabhängiger Prädiktor für das Auftreten von postoperativen Komplikationen und korreliert mit der Krankenhausmortalität sowie dem vermehrten Auftreten von nicht-tödlichen kardialen Ereignissen innerhalb der ersten zwei Jahre nach dem Eingriff (Fellahi et al., 2003; Hashemzadeh und Dehdilani, 2009). Während des CPB im kardioplegen Herzstillstand werden nach Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) im Myokard selbst eine Reihe von pro-

inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin(IL)-1, IL-6, IL-8 und Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) vermehrt ausgeschüttet (Gasz et al., 2006; Valen et al., 2001). Auch Signalproteine wie Toll-Like-Rezeptor(TLR)-4 stehen in Zusammenhang mit der myokardialen Entzündungsreaktion nach globaler Ischämie und Reperfusion, aus der eine klinisch relevante kardiale Dysfunktion resultieren kann (Cha et al., 2008). Obwohl die zugrundeliegende kardiale Erkrankung (z.B. koronare Herzkrankheit, Klappenfunktionsstörung) operativ therapiert wurde, sind temporäre Störungen der Pumpfunktion bis hin zum Low-Cardiac-Output-Syndrom häufige Komplikationen nach kardiopulmonalem Bypass (McKinlay et al., 2004). Die Inzidenz von Rhythmusstörungen, insbesondere postoperativem Vorhofflimmern als Auslöser für weitere Komplikationen ist mit über 30 % sehr hoch (Mathew et al., 2004). „Der kardioplegische Herzstillstand kann demnach also keinesfalls als schützender Ruhezustand des Herzens betrachtet werden, sondern ist vielmehr eine verlangsamte Ischämiephase“ (Baehner et al., 2012).

Nieren: Auch die Nierenfunktion wird durch extrakorporale Zirkulation häufiger beeinträchtigt als durch andere Eingriffe. Hierbei ist der Grad der Schädigung auch direkt von der Dauer des CPB abhängig (Boldt et al., 2003). Die Genese der Nierenschädigung ist multifaktoriell. Neben einer Hämodilution zu Beginn des CPB und damit verbundenem Hämatokrit-Abfall, einem veränderten Flussprofil (pulsatil versus nicht-pulsatil), den Auswirkungen von artifizieller Hypothermie und einer kontinuierlichen Hämolyse durch Einwirkung der HLM-Pumpen, ist auch die systemische Inflammationsreaktion und direkte renotubuläre Schädigung durch Zytokine und reaktive Sauerstoffspezies in Betracht zu ziehen (Karkouti et al., 2009; Mao et al., 2014; Provenchère et al., 2003; Rosner et al., 2008; Sheridan und Bonventre, 2000). Während eine leichte Erhöhung der Retentionsparameter sehr häufig zu beobachten ist, wird die Wahrscheinlichkeit für ein akutes Nierenversagen (ANV) mit Dialysepflichtigkeit mit 1-5 % angegeben (Mao et al., 2014). Ein solches ANV ist ein unabhängiger Prädiktor für Morbidität und Mortalität (Provenchère et al., 2003; Rosner et al., 2008).

Gehirn: Neurologische Komplikationen sind ein wichtiger Faktor bezogen auf die perioperative Morbidität und führen zu deutlich verlängerten Krankenhausliegezeiten, auch die Mortalitätsrate steigt je nach Ausprägung der Komplikation bis auf das 10-fache an (Laffey et al., 2002). Durch Manipulation an der herznahen Aorta beim Kanülieren für die HLM können atherosklerotische Plaques freigesetzt werden und zu – mittlerweile allerdings eher selten auftretenden – Makroembolien führen, Quellen für Mikroembolien sind atheromatöser Detritus, Fettpartikel aus dem Kardiotomiesauger und Gasembolien. Diese stellen weiterhin ein relevantes Problem dar (Brooker et al., 1998; McKhann et al., 2006). In postoperativ durchgeführten Magnetresonanztomographiestudien konnten bei 25-50 % der Patienten zum Teil auch klinisch inapparente, neu aufgetretene Hirnläsionen detektiert werden (Sun et al., 2012). Schlaganfälle treten bei 1-3 % der Patienten auf, weniger schwerwiegende Pathologien, wie z.B. zerebrale Krampfanfälle bei 5-10 %. Eine postoperative kognitive Dysfunktion ist die häufigste klinische Manifestation einer Hirnschädigung nach einem herzchirurgischen Eingriff. Sie tritt unterschiedlichen Quellenangaben zufolge unmittelbar postoperativ bei 14-80 % der Patienten auf (Laffey et al., 2002; Newman et al., 2001; Sun et al., 2012) und ist auch nach 6 Monaten noch bei 24 % nachweisbar (Newman et al., 2001). Als Gründe hierfür werden eine Kombination von Embolisierung, Hypoperfusion und Inflammationsreaktion infolge eines Ischämie- und Reperfusionsschadens angeführt, die alle mit einem CPB assoziiert sind (Bruggemans, 2013).

1.3 Ischämie- und Reperfusionsschaden (IRS)

1.3.1 Definition

Wie bereits 1960 erstmals nach histologischen Untersuchungen eines reperfundierten ischämischen Hundemyokards beschrieben wurde, resultiert eine Myokardnekrose nach vorübergehendem Verschluss eines Koronargefäßes (z.B. im Rahmen eines Myokardinfarkts) nicht allein aus den in der primären Ischämiephase entstandenen Schäden, sondern auch aus einem zusätzlichen Schaden, der erst nach erfolgter Reperfusion eintritt (Jennings et al., 1960). Eine frühe Wiedereröffnung eines verschlossenen Koronargefäßes ist zurzeit die effektivste Therapiemethode, um die Größe von Infarktarealen zu

verringern und das klinische Outcome eines Patienten zu verbessern. Paradoxe Weise kann die einsetzende Reperfusion über unterschiedliche Pathomechanismen zu weiterem Zelluntergang von unmittelbar vorher noch vitalem Myokardgewebe beitragen und so die positiven Effekte der Reperfusion reduzieren (Yellon und Hausenloy, 2007). Der Reperfusionsschaden macht bis zu 50 % des totalen Myokardschadens aus (Simonis et al., 2012). Dies kann laut Yellon und Hausenloy (2007) einer der Gründe für Mortalitätsraten von bis zu 10 % und der Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Herzinsuffizienz von bis zu 25 % nach akutem Myokardinfarkt und erfolgter optimaler Reperfusion sein.

Ischämie- und Reperfusionsschäden sind nicht allein ein myokardiales Phänomen, sondern lassen sich in ähnlicher Form auch an anderen Organsystemen wie z.B. Lunge (Schlensak et al., 2002), Nieren (Rosner et al., 2008) und Gehirn (Bruggemans, 2013) nachweisen.

1.3.2 Molekulare Mechanismen

Durch G-Protein-gekoppelte Rezeptoren wird eine intrazelluläre Enzymkaskade ausgelöst, die zur Aktivierung subzellulärer Elemente, insbesondere der Mitochondrien, führt. Stickstoff-Monoxid (NO), Protein-Kinasen und die Mitochondrial Permeability Transition Pores (mPTP), unselektive Kanäle für kleine Proteine in der Mitochondrienmembran, spielen eine zentrale Rolle (Stämpfli et al., 2013). Durch eine Kombination aus oxidativem Stress durch die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“, ROS) (Zorov et al., 2006) einer Störung des intrazellulären Kalziumhaushalts mit Überladung der Zellen (Stone et al., 1989), schnellen pH-Wert-Veränderungen (Lemasters et al., 1998) und einem starken inflammatorischen Reiz durch die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (Vinten-Johansen, 2004) werden durch Interaktion die mPTP geöffnet und es kommt über einen ungezielten Einstrom zum Zusammenbruch des elektrochemischen Potentials über der Mitochondrienmembran. Durch den Efflux von mitochondrialen Proteinen in das Zytosol wird die Caspasekaskade aktiviert und hierüber der Zelltod eingeleitet (Abdallah et al., 2011; Lemasters et al., 1998). (Haller et al., 2016).

1.3.3 Ischämie- und Reperfusionsschaden in der Kardiochirurgie

In der Herzchirurgie ist das Phänomen des Ischämie- und Reperfusionsschadens von größter Relevanz, da es bei vielen Eingriffen regelhaft „zu einer Abklemmung des Herzens von seiner natürlichen Blutversorgung und damit zu einer geplanten Ischämie kommt“ (Haller et al., 2016). Um diese in ihrem Ausmaß einzudämmen, werden kardioplegische Lösungen appliziert, die einen Herzstillstand auslösen und somit den Sauerstoffverbrauch um ca. 90 % reduzieren (Chambers und Fallouh, 2010). Darüber hinaus ist es Gegenstand intensiver Forschung, Strategien zu entwickeln, den Ischämie- und Reperfusionsschaden zu begrenzen. Viele wissenschaftliche Ansätze beruhen auf dem Prinzip der „ischämischen (Fern-)Präkonditionierung“.

1.4 Ischämische (Fern-)Präkonditionierung

1.4.1 Entwicklung des Verfahrens

Das Konzept von ischämischer Präkonditionierung („Ischemic Preconditioning“, IPC) beruht auf der Annahme, dass wiederholte kurze Ischämien in einem Organ eine Vorbereitung oder Konditionierung des Organs auf spätere prolongierte Ischämien zur Folge haben. Dies konnte im Tierexperiment erstmals 1986 von Murry et. al. nachgewiesen werden. Bei Hunden wurde nach 40-minütigem Verschluss einer Koronararterie eine Reduktion der resultierenden Infarktgröße auf 25 % im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt, nachdem zuvor vier jeweils fünfminütige Phasen von Ischämie und Reperfusion herbeigeführt worden waren, die ihrerseits zu kurz waren, um zu einem relevanten Zellschaden zu führen. Nach einer längeren Ischämiephase von drei Stunden war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar (Murry et al., 1986). Als klinisches Korrelat wurde postuliert, dass nach vorangegangenen Episoden von Angina Pectoris, die oftmals einem Myokardinfarkt vorausgehen, der Zelltod verzögert eintritt, und somit die Chancen für eine erfolgreiche Behandlung vergrößert sind (Murry et al., 1986). Diese Annahme konnte in späteren klinischen Studien untermauert werden (Solomon et al., 2004; Tomoda und Aoki, 1999).

In der Folge fiel auf, dass nach Durchführung einer ischämischen Präkonditionierung in einem definierten Koronarversorgungsareal des Herzens und anschließendem Auslösen

eines Infarkts in einem anderen Areal auch hier die Infarktgröße zu reduzieren war (Przyklenk et al., 1993). 1996 fand man heraus, dass sich auch kurze Ischämien und nachfolgende Reperfusion in nicht-kardialen Gewebe (Präkonditionierung durch Verschlüsse der A. mesenterica anterior oder A. renalis sinistra) kardioprotektiv auswirken (Gho et al., 1996). 1997 wurde eine erfolgreiche (Fern-)Präkonditionierung durch Skelettmuskelischämie infolge von elektrischer Stimulation und Reduktion des femoralen Blutflusses gezeigt (Birnbaum et al., 1997). Die heutzutage gängige Form der ischämischen Fern-Präkonditionierung („Remote Ischemic Preconditioning“, RIPC) wird üblicherweise durch drei bis vier Zyklen fünfminütiger Ischämie, gefolgt von fünfminütiger Reperfusion am Oberarm (seltener untere Extremität) mittels eines Tourniquets (oder suprasystolisch aufgepumpter Blutdruckmanschette) durchgeführt (Hausenloy et al., 2016; Stämpfli et al., 2013). Das Verfahren wurde erstmals 2002 beschrieben (Kharbanda et al., 2002).

1.4.2 Wirkungsmechanismen

Die molekularen Mechanismen und das pathophysiologische System, das zu RIPC beiträgt, sind komplex und bis heute, 30 Jahre nach Erstbeschreibung des IPC, noch nicht vollständig entschlüsselt worden (Haller et al., 2016; Hausenloy et al., 2016). Der aktuelle Stand der Wissenschaft geht von der Existenz eines noch nicht identifizierten, „im Blut zirkulierenden und übertragbaren kardioprotektiven Faktors“ aus (Haller et al., 2016).

Zusammenfassend wird angenommen, dass RIPC eine neuro-humorale Antwort auslöst, die dann eine Kaskade von nachgeschalteten Effekten in Gang setzt, um eine Wirksamkeit am Endorgan zu erreichen (Hausenloy et al., 2016). Hinweisend für eine nervale Komponente sind frühe Beobachtungen im Rahmen von tierexperimentellen Studien, bei denen nach Vorbehandlung mit dem Ganglienblocker Hexamethonium der kardioprotektive Effekt von vorübergehender Mesenterialischämie ausblieb (Gho et al., 1996). Gestützt wurden diese Beobachtungen durch Versuche, bei denen Nervenbahnen durchtrennt wurden oder eine nervenschädigende Erkrankung, wie z.B. diabetische Neuropathie, vorlag. Versuche, die unter diesen Umständen durchgeführt wurden, zeigten

keinen protektiven Effekt der RIPC mehr (Jensen et al., 2012; Lim et al., 2010). Entgegen- gesetzt gelang auch durch direkte Nervenstimulation des N. femoralis mit topischem Capsaicin die Auslösung eines kardioprotektiven Effekts (Jensen et al., 2012).

Unabhängig von diesen neuronalen Anteilen konnte durch Perfusion von isolierten Tier- herzen mit Serum von Patienten oder Tieren, an denen vorher RIPC durchgeführt wurde, die Größe eines hervorgerufenen Infarkts im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die Serum eines unbehandelten Organismus erhielt, gemindert werden (Haller et al., 2016; Redington et al., 2012).

Hieraus folgt, dass neuronale Bahnen zwar eine Rolle in der Entstehung eines kardio- protektiven Signals zu spielen scheinen, nicht aber bei der Übermittlung (Haller et al., 2016). Es wird die Entstehung eines dialysierbaren humoralen Faktors vermutet, dessen Freisetzung eine intakte Nervenverbindung erfordert (Redington et al., 2012). Überlegun- gen gehen dahin, dass es sich hierbei um Apolipoprotein A1 (ApoA1) handeln könnte (Hibert et al., 2013). Eine Vorbehandlung von Ratten mit ApoA1 zeigte eine ähnliche Kardioprotektion wie sie mit RIPC zu erreichen war (Kalakech et al., 2014).

Intrazellulär werden, kurz zusammengefasst nach Haller et. al. (2016), im Weiteren dann verschiedene Signalkaskaden aktiviert, über die Einfluss auf Adenosintriphosphat (ATP)- gesteuerte Kaliumkanäle (K_{ATP}), mitochondrial Permeability Transition Pore (mPTP), die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und die Konzentration von zirkulieren- dem Stickstoffmonoxid (NO) ausgeübt wird. Vornehmlich werden der RISK (Reperfusion Injury Salvage Kinase)- und der SAFE (Survivor Activating Factor Enhancement)-Path- way als intrazelluläre Signalwege zur Verhinderung des Zelluntergangs beschrieben (Haller et al., 2016). RISK besteht aus Phosphatidylinositol-3-Kinase, Proteinkinase B und den p42/p44-extrazellulärsignalregulierten Kinasen 1 und 2. Eine Aktivierung von RISK durch Phosphorylierung schützt das Myokard von durch Reperfusion hervorgerufenem Zelluntergang (Hausenloy und Yellon, 2004). Der SAFE-Pathway fasst einen Signalweg aus Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α), Janus-Kinase (JAK) und dem Transkriptions- faktor STAT3 zusammen. Die Myokardprotektion beider Signalwege erfolgt unabhängig voneinander, Interaktionen werden vermutet (Lecour, 2009).

1.4.3 Aktuelle Anwendungen, Probleme, Ausblick

In den 30 Jahren nach Entdeckung des Phänomens der ischämischen Präkonditionierung sind enorme Anstrengungen – über 10.000 Publikationen befassen sich mit dem Themengebiet – unternommen worden, die zugrundeliegenden Mechanismen zu verstehen und einen Nutzen für die klinische Praxis daraus abzuleiten (Hausenloy et al., 2016).

Eine aktuelle Meta-Analyse von Studien, die anhand von in vivo Tiermodellen den myokardialen Ischämie- und Reperfusionsschaden in Abhängigkeit von RIPC untersucht, kommt zu dem Ergebnis, dass die durchschnittliche Infarktgröße der RIPC-Gruppen im Vergleich zu Kontrollgruppen um 22,8 % gesenkt werden kann. Da eine deutliche Heterogenität zwischen den einzelnen Studien festzustellen war und vielfach auch das Studiendesign Mängel aufwies, konnte keine allgemeine Empfehlung abgeleitet werden (Bromage et al., 2016).

Eine weitere Meta-Analyse über 5317 aus 44 Studien kam zu dem Ergebnis, dass RIC eine signifikante Reduktion der kardialen Biomarker Troponin, Kreatinkinase MB (CK-MB) hervorruft und auch die Rate von relevanten kardiovaskulären und zerebralen unerwünschten Ereignissen signifikant geringer ausfiel (Le Page et al., 2015).

Bei diesen Ergebnissen ist jedoch zu beachten, dass klinische Endpunkte in diesen Analysen nur sekundär untersucht wurden. Die Ergebnisse von zwei großen randomisierten, kontrollierten, multizentrischen Studien, die RIPC bei herzchirurgischen Patienten unter dem Gesichtspunkt von klinisch gewählten Endpunkten untersuchten (RIPHeart-Studie [Meybohm et al., 2015] s.u. und ERRICA-Studie [Hausenloy et al., 2015]), kamen entgegen der ursprünglichen Erwartungen zu dem Schluss, dass RIPC keinen Vorteil in Bezug auf die untersuchten Endpunkte brachte (Haller et al., 2016). Retrospektiv betrachtet, könnte die Verwendung des Narkotikums Propofol Einfluss auf die Effektivität der RIPC gehabt haben (Haller et al., 2016), da dieses mittlerweile durch Interaktion mit dem neuronalen Transfer des RIPC-Signals für seinen negativen Einfluss hierauf bekannt ist (Kottenberg et al., 2014; Kottenberg et al., 2012).

1.4.3.1 RIPHeart-Studie

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt sich um eine lokal am Universitätsklinikum Bonn durchgeführte Substudie zur oben bereits genannten RIPHeart-Studie. Aus diesem Grund soll die Hauptstudie hier kurz vorgestellt werden.

Bei der RIPHeart-Studie handelte sich um eine multizentrische klinische Studie zur Prüfung des Einflusses von RIPC bei herzchirurgischen Patienten unter klinischen Gesichtspunkten. Die Studie wurde als Doppelblindstudie ausgelegt, bei der ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) gegen eine Kontrollgruppe getestet wurde. Im Rekrutierungszeitraum Januar 2011 bis Mai 2014 wurden insgesamt 1403 Patienten in 14 Prüfzentren an deutschen Universitätskliniken eingeschlossen. Bezogen auf die kombinierten primären Endpunkte (Mortalität, Myokardinfarkt, Schlaganfall und/oder akutes Nierenversagen innerhalb des Krankenhausaufenthaltes bis zum Entlassungszeitpunkt - jedoch maximal 14 Tage postoperativ) und der sekundären Endpunkte (Beatmungsdauer, ICU/IMC-Verweildauer, Krankenhausverweildauer, Troponinausschüttung, Kreatininverlauf, kumulative Vasopressorendosis, neuauftretendes Vorhofflimmern, Inzidenz des postoperativen Delirs) konnte keine signifikante Differenz zwischen den untersuchten Gruppen festgestellt werden, auch nicht in Subgruppenanalysen (Meybohm et al., 2015; Meybohm et al., 2012).

Trotz diverser Nachweise für die protektive Wirkung des Verfahrens im Modell konnte ein klinischer Vorteil für die Patienten durch RIPC bisher nicht nachgewiesen werden. „Daher kann man derzeit auch noch keine generelle Empfehlung für den klinischen Einsatz des RIC geben“ (Haller et al., 2016).

1.5 Oxidativer Stress

1.5.1 Freie Radikale, reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, Antioxidantien

Forschungsergebnisse weisen seit längerer Zeit darauf hin, dass ein Ischämie- und Reperfusionsschaden vornehmlich auf die Einwirkung von „Freien Radikalen“ (hochreaktive, instabile Atome oder Moleküle, die mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen in

ihrer äußeren Hülle unabhängig existieren können) zurückgeführt werden kann (Dhalla et al., 2000; Dröge, 2002; Kloner et al., 1989; Simpson und Lucchesi, 1987). Die Bezeichnungen reaktive Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“, ROS) und reaktive Stickstoffspezies („reactive nitrogen species“, NOS) sind Sammelbegriffe für unterschiedliche Radikalmoleküle.

ROS sind stark zytotoxisch und können die Zelle auf vielfältige Weise schädigen. Insbesondere werden Membranschädigungen aufgrund von Lipidperoxidation, DNA-Schäden und Modifikationen an zellulären Proteinen hervorgerufen (Dhalla et al., 2000; Dröge, 2002; Tossios und Mehlhorn, 2004). Während reaktive Sauerstoff- und Stickstoff-Spezies in der Vergangenheit hauptsächlich als schädlich bekannt waren, weiß man mittlerweile um die (patho-)physiologische Bedeutung mit Beteiligung an körpereigenen Abwehrsystemen (Galano et al., 2011; Roth et al., 2004).

ROS und RNS entstehen in kleiner Menge im Rahmen des normalen Zellmetabolismus und werden zunächst durch physiologische Antioxidantien neutralisiert, die in fünf Klassen eingeteilt werden: Enzyme (z.B. Superoxiddismutase, Katalase und Glutathionperoxidase), Peptide (z.B. Glutathion); Phenolverbindungen (Vitamin E und pflanzliche Flavonoide), Stickstoffverbindungen und Carotinoide (v.a. Beta-Carotin). Weitere Wirkstoffe können durch andere Mechanismen antioxidative Wirkungen erzeugen: Vitamin C z.B. hilft, Vitamin E wieder aufzubereiten und N-Acetylcystein (NAC) stellt eine wichtige Komponente des Glutathions zur Verfügung (Tossios und Mehlhorn, 2004).

Während und infolge eines ischämischen Ereignisses ist die Aktivität der Antioxidantien reduziert, die Menge der ROS und RNS nimmt zu. Das entstehende Ungleichgewicht von ROS, RNS und antioxidativen Systemen wird als „Oxidativer Stress“ bezeichnet (Tossios und Mehlhorn, 2004).

Während der Reperfusionphase kommt es zu einer weiteren übermäßigen Freisetzung von freien Radikalen, die nur unzureichend neutralisiert werden können. Dies führt zur Modifikation von Phospholipiden und Proteinen als Zellmembranbestandteilen, zur Beeinträchtigung von sarkolemaler Calcium-ATPase und Natrium-Kalium-ATPase und somit

zu Zellschädigung und Untergang (Dhalla et al., 2000; Tossios und Mehlhorn, 2004). Bei allen Formen von kritischen Erkrankungen wie z.B. Sepsis, Trauma, schweren Brandverletzungen, Organversagen wird das Auftreten von oxidativem Stress oder eines reduzierten antioxidativen Status beschrieben und ist mit einer Verschlechterung der Prognose assoziiert (Roth et al., 2004). Gerade die Freisetzung von freien Radikalen in der frühen Phase der Reperfusion in Kombination mit der IR-induzierten Abnahme der antioxidativen Aktivität macht das Myokard extrem anfällig und ist häufig Auslöser für maligne Herzrhythmusstörungen (Moens et al., 2005).

Aus diesen Gründen ist es aktuell von großem akademischen und auch praktischen Interesse, Strategien für eine effiziente Inaktivierung freier Radikaler und für eine Vermeidung von oxidativem Stress zu entwickeln, sowie ein breiteres Verständnis der Vorgänge zu erlangen (Galano et al., 2011).

Hier gelangte das Neurohormon Melatonin in den Fokus, das als ubiquitär vorkommendes und vielseitiges Molekül die meisten der wünschenswerten Eigenschaften eines guten Antioxidans aufweist. Aktuelle Review-Artikel beinhalten eine überwältigende Menge an Daten, die eine Schutzwirkung Melatonins gegen oxidativen Stress und auch deutliche kardioprotektive Effekte belegen, wenn auch die zugrundeliegenden Mechanismen teilweise noch unklar sind (Galano et al., 2011; Reiter et al., 2014; Yang et al., 2014).

1.5.2 Melatonin als Antioxidans

Melatonin ist ein Neurohormon, dass überwiegend von den Pinealozyten in der Glandula pinealis als Teil des Epithalamus, aber u.a. auch in Retina, Cerebellum, Haut, Ovar, Leber, Pankreas und Niere aus Serotonin gebildet wird (Axelrod und Weissbach, 1960; Galano et al., 2011; McCord und Allen, 1917). Die Synthese des Hormons folgt einer starken circadianen Rhythmik (Borjigin et al., 1999; Klein und Weller, 1972; Quay, 1963). Es wird von allen bisher untersuchten Tier- und Pflanzenarten produziert und kommt aufgrund seiner guten Lipid- und Wasserlöslichkeit weitverbreitet vor (Galano et al., 2011; Reiter et al., 2014). Innerhalb des Organismus werden dem Melatonin vielfältige Funktio-

nen zugeschrieben. Hierbei wird zwischen Rezeptor-vermittelten und Rezeptor-unabhängigen Wirkungsmechanismen unterschieden. Rezeptorabhängige Wirkungen sind beispielsweise circadiane Rhythmik, saisonale Fortpflanzung, Schlafförderung, Blutdruckmodulation, Immunmodulation, Knochenwachstum und viele weitere. Von Relevanz ist an dieser Stelle die Stimulation der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Katalase (CAT) (Reiter et al., 2014), die schon lange als wichtigste Enzyme des zellulären antioxidativen Abwehrsystems bekannt sind (Pigeolet et al., 1990) und das Blockieren von Transkriptionsfaktoren für proinflammatorische Zytokine (Dominguez-Rodriguez et al., 2012).

Rezeptorunabhängige Wirkungen von Melatonin und seinen Metaboliten erklären sich durch die Radikalfänger-Eigenschaft für reaktive Sauerstoffspezies („reactive oxygen species“, ROS) und reaktive Stickstoffspezies („reactive nitrogen species“, RNS). Hierdurch ergibt sich eine Schutzwirkung gegen ionisierende Strahlung, UV-Strahlung, Schwermetalltoxizität, Alkohol- und Medikamententoxizität sowie gegen oxidativen Stress infolge von Ischämie- und Reperfusionsschäden (Reiter et al., 2014).

Aufgrund des weit verbreiteten Vorkommens, seiner nachgewiesenen Wirkung als Breitspektrum-Antioxidans (Tan et al., 2002), seiner Fähigkeit, physiologische Barrieren zu überwinden und der ubiquitären Verfügbarkeit in allen Zellen (Menendez-Pelaez und Reiter, 1993), der Regenerationsfähigkeit (Mahal et al., 1999), seiner weiterhin antioxidativ wirksamen Metaboliten (Tan et al., 2001), und nicht zuletzt der geringen akuten und chronischen Toxizität der Substanz, werden Melatonin die meisten Eigenschaften zugesprochen, die der Vorstellung eines idealen Antioxidans von Galano et al. (2011) entsprechen.

Obwohl Melatonin vielfacher Gegenstand aktueller Forschung ist, was sich in einer jährlich steigenden Anzahl von Melatonin-bezogenen Publikationen – insbesondere auch im Hinblick auf die Eigenschaft als Antioxidans – zeigt (Galano et al., 2011), sind seine Fähigkeiten, molekulare Schäden durch freie Radikale zu reduzieren zwar bekannt und höchst reproduzierbar, mechanistisch aber noch nicht ausreichend untersucht (Reiter et al., 2014). Dies gab unter anderem den Ausschlag für die vorliegende Untersuchung.

1.6 Fragestellung der Arbeit

Die Zielsetzung der vorliegenden Substudie war es – unter den vorgegebenen Bedingungen der RIPHeart-Studie – die Auswirkungen von RIPC auf oxidativen Stress und die extrazellulären Konzentrationen von Melatonin sowie der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GPx3) zu untersuchen.

Weiterhin wurden die Auswirkung der präoperativen Melatoninkonzentration auf das Niveau von oxidativem Stress und Effekte auf die Konzentrationen der antioxidativen Enzyme SOD und GPx untersucht.

Um das Level des oxidativen Stresses abzuschätzen, wurde 8-Hydroxydesoxyguanosin (8-OHdG) bestimmt, welches sich als guter Biomarker für durch oxidativen Stress hervorgerufene DNA-Schädigungen erwiesen hat (Kaneo et al., 1996; Kroese und Scheffer, 2014; Shigenaga und Ames, 1991).

2. Material und Methoden

2.1 Ausgangssituation und Ethikvotum

Im Rahmen der RIPHeart-Studie (Meybohm et al., 2015) einer multizentrischen klinischen Studie zur Prüfung des Einflusses der ischämischen Fern- (Remote) Präkonditionierung bei herzchirurgischen Patienten wurde im Bereich der Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin am Universitätsklinikum Bonn eine Substudie durchgeführt, um unter den gegebenen Studienbedingungen darüber hinaus die o.g. Fragestellungen zu klären.

Alle Untersuchungen an Probanden sind auf der Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebunds und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt worden.

Dem lokalen Amendment zum Ethikantrag der RIPHeart-Studie zur Durchführung einer Substudie wurde seitens der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn zugestimmt (Lfd. Nr. 161/11, 13.02.2012). Dem Ethikantrag zur RIPHeart-Studie wurde bereits vorab durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (AZ.: A 165/08) und durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (Lfd. Nr. 161/11, 22.07.2011) zugestimmt.

2.2 Studiendesign

Die klinische Prüfung wurde neben der multizentrisch-ausgelegten Hauptstudie als monozentrische prospektive, randomisierte Untersuchung durchgeführt. Patienten, behandelnde Ärzte, Prüfer und Datenmanager waren hinsichtlich der Intervention (RIPC vs. Placebo) verblindet. Die Durchführung der Intervention erfolgte durch einen Studienassistenten unverblindet.

2.2.1 Studienpopulation

Die Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen denen der RIPHeart-Studie. Die im Folgenden genannten Bedingungen mussten erfüllt sein.

2.2.1.1 Einschlusskriterien

1. elektiver herzchirurgischer Eingriff an der Herz-Lungen-Maschine, insbesondere aortokoronare Bypassoperation, Aortenklappenersatz, Mitralklappenersatz oder -rekonstruktion, Aorta ascendens Ersatz oder Kombinationseingriff
2. Alter \geq 18 Jahre
3. Schriftliche Einwilligungserklärung des Patienten/der Patientin.

2.2.1.2 Ausschlusskriterien

In Bezug auf den Eingriff:

1. Off-pump Verfahren; Minimal-invasive Eingriffe über laterale Thorakotomie; Aorta descendens Ersatz; gleichzeitige Carotis-TEA; selektive antegrade Hirnperfusion während HLM-Stillstand
2. Voroperation an Herz / Aorta

In Bezug auf die kardiale Anamnese:

3. Schwere linksventrikuläre Funktionsstörung (EF \leq 30 %)
4. Chronisches Vorhofflimmern oder intermittierendes Vorhofflimmern innerhalb der letzten 6 Monate präoperativ; Medikamentöse Einnahme von Digitalis-Präparaten, Amiodaron und/oder Antiarrhythmika Klasse I (z.B. Ajmalin, Flecainid, Propafenon, Tocainid)
5. Implantierter Herzschrittmacher oder Defibrillator
6. Myokardinfarkt innerhalb der letzten 7 Tage präoperativ; instabile Angina pectoris innerhalb der letzten 24 h präoperativ mit bereits präoperativem positivem Troponin T Anstieg

In Bezug auf weitere Begleiterkrankungen:

7. Schwere Niereninsuffizienz (Kreatininwert i.S. > 2,0 mg/dl (> 176 µmol/l))
8. Schwere Leberinsuffizienz (spontan INR > 1,8 und/oder Bilirubin i. S. > 8,8 mg/dl (> 150 µmol/l) und/oder nach ärztlicher Einschätzung)
9. Schwere Lungenerkrankung (SpO₂ < 85 % bei Raumluft und/oder FeV₁ ≤ 50 % und/oder nach ärztlicher Einschätzung)
10. Schwere Alkoholabusus
11. Schlaganfall innerhalb der letzten 2 Monate präoperativ
12. NIH Stroke Scale > 2 präoperativ
13. Schwere neurologische Erkrankungen (z.B. Morbus Parkinson, Multiple Sklerose, Morbus Alzheimer, präoperatives Delir und/oder nach ärztlicher Einschätzung)
14. Akute Infektionen mit Antibiotikatherapie innerhalb der letzten 7 Tage präoperativ
15. Medikamentöse Einnahme von Sulfonylharnstoffen (Glibenclamid) und Nicorandil, die innerhalb von 24 h präoperativ nicht pausiert wurden, da für beide Medikamente Interaktionen mit potentiellen Konditionierungsmechanismen gezeigt wurden
16. Peripher arterielle Verschlusskrankheit Stadium IV
17. Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II

Weitere:

18. Teilnahme an anderen klinischen Prüfungen innerhalb der letzten 30 Tage
19. Infauste Prognose aufgrund von Nebenerkrankungen
20. Weitergehende Beziehung zum Prüfer (z.B. Mitarbeiter, Verwandte, Kollegen)
21. Frauen während der Schwangerschaft und Stillzeit
22. Sprach-/ Verständigungsprobleme im Rahmen der Aufklärung
23. Mangelnde Kooperationsbereitschaft (Compliance)

2.2.2 Patientenselektion

Die Patientenselektion für die durchgeführte Substudie richtete sich nach dem für die RIPHeart-Studie praktizierten Verfahren. Anhand des Aufnahme- und OP-Plans der Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie des Universitätsklinikums Bonn wurde durch das Studien-

Team ein tägliches Screening der Patientenakten von zur Operation anstehenden Patienten im Hinblick auf die o.g. Ein- und Ausschlusskriterien vorgenommen. Bei Erfüllen aller Kriterien wurde durch einen bevollmächtigten Prüfarzt ein umfassendes Aufklärungsgespräch mit dem potentiellen Studienteilnehmer geführt. Nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung des Patienten erfolgte der Studieneinschluss. Hierbei war eine Teilnahme an der Hauptstudie RIPHeart ohne Substudienteilnahme möglich, hingegen eine Substudienteilnahme ohne Einwilligung zur RIPHeart-Studie ausgeschlossen.

2.2.3 Randomisierung

Die Randomisierung in die beiden Studienarme der RIPHeart-Studie (RIPC: aktives Aufpumpen der Blutdruckmanschette am Patientenoberarm, Kontrollgruppe: aktives Aufpumpen der Blutdruckmanschette am Dummy-Arm) erfolgte, wie im Studienprotokoll vorgesehen, durch den unverblindeten Studienassistenten mittels eines automatisierten internetbasierten Dienstes, der durch das Zentrum für Klinische Studien Leipzig (ZKS Leipzig) zur Verfügung gestellt wurde. Eine gesonderte Randomisierung für die Substudie wurde nicht durchgeführt.

2.2.4 Anästhesie und operativer Verlauf

Der Ablauf am Operationstag folgte mit wenigen Abweichungen der allgemeinen Klinikroutine der Herzchirurgie des Universitätsklinikums Bonn. Die Anästhesie wurde durch ein Team aus einem/einer Facharzt/Fachärztin für Anästhesiologie und einem/einer Fachkrankenschwester/-in für Anästhesiologie und Intensivmedizin betreut. Die Patienten erhielten zunächst in Lokalanästhesie eine arterielle Kanüle zur invasiven Blutdruckmessung, es folgte die Narkoseeinleitung mit Sufentanil, Propofol und Cis-Atracurium über einen periphervenösen Zugang. Die Narkoseaufrechterhaltung wurde – entgegen der sonstigen Praxis – im Rahmen des Studiensettings der RIPHeart-Studie ausschließlich als totale intravenöse Anästhesie (TIVA) mit Propofol und Sufentanil durchgeführt, da nicht alle an der multizentrischen Hauptstudie beteiligten Kliniken die Möglichkeit einer Anästhesiegasinspeisung in die HLM hatten. Nach Intubation folgte die Anlage eines zentralen Venenkatheters, einer großlumigen venösen Schleuse und eines Harnblasenkatheters. Daran

schloss sich der Transport aus dem Einleitungsraum in den Operationssaal an. Hier wurde parallel zu den weiteren OP-Vorbereitungen die Studienintervention (s.u.) vorbereitet und – sobald der Erhalt der Verblindung gewährleistet werden konnte – durchgeführt. Nach medianer Sternotomie und ggf. erforderlicher Präparation der Bypass-Gefäße erfolgte die Heparin-gabe zur Vollheparinisierung, die Kanülierung zum Anschluss an die HLM sowie der Beginn des kardiopulmonalen Bypasses währenddessen eine milde systemische Hypothermie angewandt wurde. Die activated clotting time (ACT) wurde während der Prozedur > 400 s gehalten. Nach Ende des CPB wurde die initiale Heparindosis durch Protamin-Applikation antagonisiert (Bypass-OP zu 80 %, Herzklappen-OP zu 100 %). Nach Abschluss der operativen Maßnahmen wurden alle Patienten noch intubiert und kontrolliert beatmet auf die Intensivstation verbracht.

2.2.5 Studienintervention

Nach Abschluss von Narkoseeinleitung und parallel zur OP-Vorbereitung und ggf. dem OP-Beginn im OP-Saal wurde mit der Studienintervention begonnen. Hierzu wurde eine Blutdruckmanschette am Patientenarm und eine weitere Blutdruckmanschette an einem Dummy-Arm (Plastikrohr) angebracht, welcher mittels einer Klemme unterhalb des Patientenarms fixiert wurde. Beide wurden mit OP-Tüchern abgedeckt, um die doppelte Verblindung von Patient, Operateur und Anästhesist zu gewährleisten. Durch den unverblindeten Studienassistenten wurde nun die dem Randomisierungsergebnis entsprechende Manschette für eine Zeitspanne von fünf Minuten mit einem Druck von 200 mmHg (bzw. mindestens 30 mmHg höher als der invasiv gemessene systolische arterielle Blutdruck des Patienten) aufgepumpt, anschließend wurde der Druck abgelassen und für eine weitere fünfminütige Zeitspanne pausiert. Dieses Procedere wurde viermal wiederholt, wobei zu beachten war, dass der vierte Zyklus vor Beginn des kardiopulmonalen Bypasses an der HLM beendet sein musste. Um die Verblindung nicht zu gefährden, wurde sichergestellt, dass die arterielle Blutdruckmessung sowie die Pulsoxymetrie nicht am Interventionsarm abgeleitet wurden.

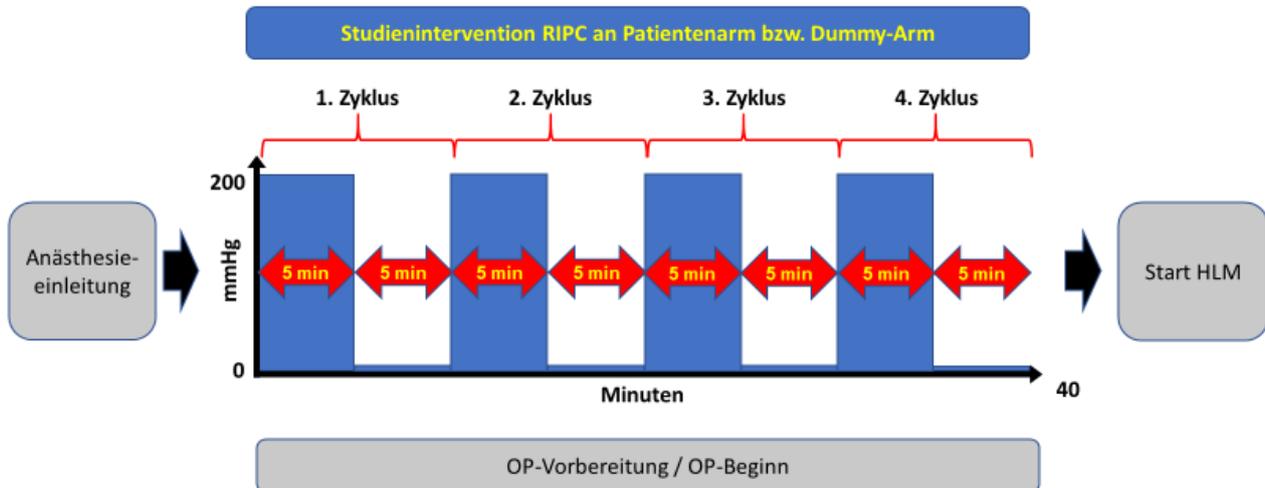


Abb. 1: Zeitlicher Ablauf der Studienintervention RIPC. Es wurden vor Beginn des kardiopulmonalen Bypasses an der HLM 4 Zyklen zu je 5 min Ischämie mittels am Oberarm (bzw. Dummy-Arm) suprasystolisch aufgepumpter Blutdruckmanschette und 5 min Reperfusion angewendet. Parallel hierzu erfolgten die OP-Vorbereitungen und ggf. OP-Beginn. Modifiziert nach Working Instruction zur RIPHeart-Studie.

2.2.6 Studiendurchführung Substudie

Der operative Eingriff des Studienpatienten wurde, neben dem zur Durchführung der RIPC-Studienintervention erforderlichen Studienassistenten, durch mindestens ein weiteres Mitglied des Studienteams im OP begleitet. Hierdurch wurde die zeitgerechte Gewinnung der notwendigen Blutproben sowie deren Weiterverarbeitung gewährleistet. Für die im Rahmen der Studienteilnahme erforderlichen Blutentnahmen galt die Regel, dass Abnahmen nur über bereits liegende Gefäßzugänge (zentraler Venenkatheter, arterieller Zugang) zu erfolgen hatten.

Es wurden zu den folgenden Zeitpunkten Proben genommen:

- T0: Nach Anästhesieinduktion, vor Beginn der Studienintervention
- T1: Nach Abschluss der Studienintervention
- T2: OP-Ende (Hautnaht)

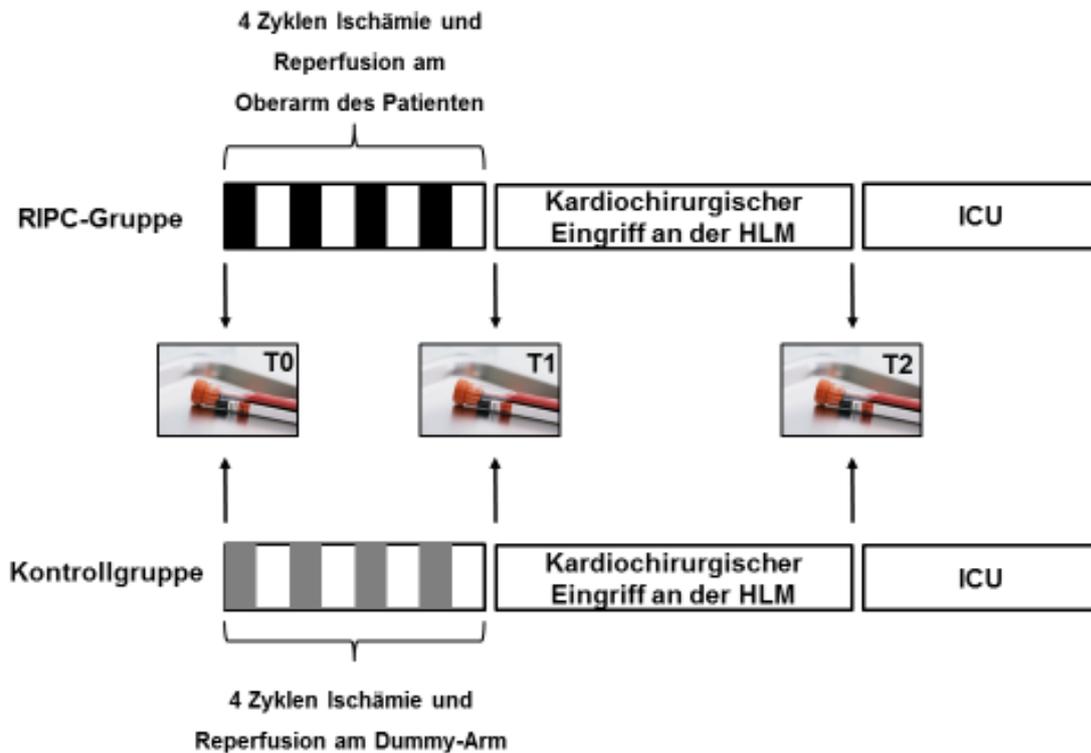


Abb. 2: Studienablauf bei RIPC- und Kontrollgruppe mit Kennzeichnung der Blutentnahmezeitpunkte. T0: nach Anästhesieinduktion, vor Beginn der Studienintervention, T1: nach Abschluss der Studienintervention, T2: OP-Ende (Hautnaht). HLM: Herz-Lungen-Maschine, ICU: Intensivstation.

Die Blutproben wurden zunächst in handelsüblichen EDTA-Röhrchen (S-Monovette® Sarstedt) gewonnen und im Anschluss für fünf Minuten bei 3000 g zentrifugiert. Der Überstand (Plasma) wurde abpipettiert und in temperaturbeständige Polypropylen-Eppendorf-Reaktionsgefäße umgefüllt. Die Proben wurden hierbei je Zeitpunkt für spätere Analysen in zehn Aliquots zu je 100 µl Plasma aufgeteilt und bei -80 °C tiefgefroren.

2.3 Laborleistungen

Die speziellen Laborleistungen wurden in den Forschungslaboratorien der Neonatologie (Laborleiter: Prof. Dr. med. A. Müller) und der Reproduktionsmedizin (Laborleiterin: Dr. rer. nat. J. Liebenthron) durchgeführt und sind in den jeweiligen Laboratorien etablierte Verfahren.

Folgende Laborkits kamen hierbei zum Einsatz:

Bestimmung der Plasma-Melatoninkonzentration

Radioimmunoassay: Melatonin direct Serum/Plasma/Saliva RIA, IBL-International GmbH, Hamburg

Nach Herstellerangaben waren die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten 3,9-6,9 % in einem Bereich von 28,8 bis 266 pg/ml und 6,2-16,0 % in einem Bereich von 3,5 bis 281 pg/ml. Die mittlere Wiederfindungsrate von MT betrug 102 %, die Sensitivität des Tests 0,9 pg/ml.

Bestimmung der Plasma-eSOD-Konzentration

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Cu-Zn-Superoxid-Dismutase (SOD) ELISA, IBL-International GmbH, Hamburg

Die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten betragen 5,1 % bzw. 5,8 %.

Bestimmung der Plasma-eGPx-Konzentration

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): GPX3 (human) ELISA Kit, Adipogen AG, Liestal, Schweiz

Laut Herstellerangaben hat der Assay eine eGPx-Sensitivität von 100 pg/ml und detektiert eGPx-Konzentrationen zwischen 0,5 und 32 ng/ml.

Bestimmung der Plasma-8-OHdG-Konzentration

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): 8-OHdG Check ELISA (high sensitive), IBL-International GmbH, Hamburg

Die Sensitivität des Assays betrug 0,5 ng/ml. Der Messbereich wurde mit 0,5-200 ng/ml angegeben.

Kreatinin-Bestimmung

Kreatinin-Bestimmungen aus den zu Studienzwecken gewonnenen Serumproben wurden entsprechend der klinischen Routinediagnostik durch das Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Klinische Pharmakologie (Laborleiterin: Prof. Dr. med. Dipl. Biol. B. Stoffel-Wagner) durchgeführt.

Messverfahren: VIS Photometrie; Reagenz: CRE2 Flex[®]-Reagenzkassette, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH; Gerät: Dimension Vista[®] System, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH.

Troponin-Bestimmung

Troponin-I-Werte wurden im Rahmen der klinischen Routinediagnostik im Zentrallabor (s.o.) mittels homogenem Sandwich-Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) bestimmt und zu Studienzwecken dem klinischen Arbeitsplatzsystem (KAS) des Klinikums entnommen.

Reagenz: CTNI Flex[®] reagent cartridge, Hersteller: Siemens Healthcare Diagnostics GmbH; Gerät: Dimension Vista, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH

2.4 Statistische Auswertung

Die deskriptiven statistischen Analysen wurden mit SPSS Statistics Version 21.0 (IBM Corporation 2012, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Variablen wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov Test auf Normalverteilung getestet. Da die eSOD-, e-GPx-, 8-OHdG- und MT-Level keiner Normalverteilung unterlagen, wurde für den Gruppenvergleich der zweiseitige nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Die nichtparametrischen Friedman- und Wilcoxon-Tests für gepaarte Stichproben wurden für die Interferenzstatistik verwendet. Korrelationskoeffizienten und schrittweise multiple lineare Regressionsanalysen wurden für die Analyse von Assoziationen zwischen Interventionsgruppen sowie MT-, eSOD-, eGPx- und 8-OHdG-Spiegeln eingesetzt.

Für alle Analysen wurden p-Werte $< 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

In dieser Substudie wurde ein kleines Patientenkollektiv von $N = 32$ untersucht. Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine Pilotstudie handelt, wurde auf eine vorherige Fallzahlkalkulation verzichtet.

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeine Daten

Der Zeitraum für die Rekrutierung der Patienten unserer Substudie war April 2012 bis September 2013 (abweichend vom Rekrutierungszeitraum der RIPHeart-Hauptstudie: Januar 2011 bis Mai 2014). Insgesamt wurden 35 Patienten in die Substudie eingeschlossen. Alle Teilnehmer unterzogen sich einer elektiven kardiochirurgischen Operation unter Einsatz der HLM. Zwei Patienten zogen im Nachhinein ihre zuvor erteilte Einwilligung zur Studienteilnahme zurück. Ein Patient wurde nicht im geplanten Zeitfenster operiert, zudem konnten hier aus organisatorischen Gründen keine Blutproben entnommen werden. Für die vorliegende Auswertung standen demnach 32 Patientendatensätze zur Verfügung. Von den 32 verbliebenen Studienpatienten wurden 15 in die RIPC-Gruppe und 17 in die Kontrollgruppe randomisiert.

3.1.1 Demografische Daten

Die Geschlechterverteilung im Gesamtpatientenkollektiv zeigte ein Überwiegen des männlichen Geschlechts, hierbei traten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Studienarmen auf.

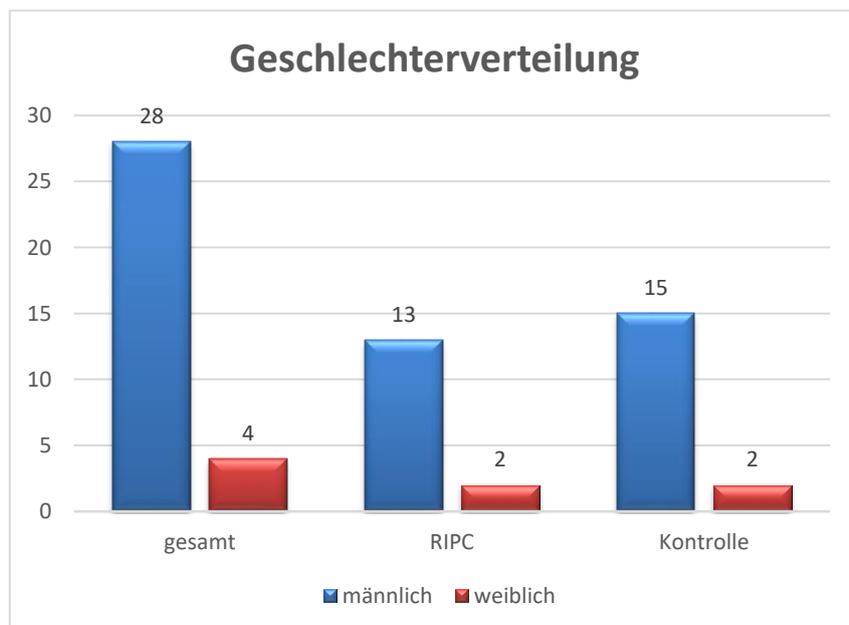


Abb. 3: Geschlechterverteilung im Studienkollektiv; im Balkendiagramm sind absolute Zahlen angegeben.

Auch in Bezug auf Alter, Körpergröße und Körpergewicht waren die Unterschiede zwischen RIPC- und Kontrollgruppe nicht signifikant (Tab. 1). Bei einem Median von 67 (Interquartilsabstand IQR: 75-61) war der jüngste Teilnehmer im Studienkollektiv 37 Jahre, der älteste 82 Jahre alt. Die Kriterien für Übergewicht erfüllten 71,9 % der Studienteilnehmer ($\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$), als adipös galten 23,1 % ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), ein Teilnehmer erfüllte die Kriterien der Adipositas Per magna ($\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$).

Tab. 1: Demografische Daten. Es sind Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Zwischen den beiden untersuchten Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf.

	RIPC-Gruppe (n = 15)	Kontrollgruppe (n = 17)	p-Wert
Geschlecht (m/w)	13 / 2	15 / 2	0,893
Alter (Jahre)	66 ± 10	68 ± 10	0,600
Größe (cm)	175 ± 8	175 ± 8	0,921
Gewicht (kg)	87 ± 12	86 ± 14	0,728
BMI (kg/m^2)	28,7 ± 5,4	27,7 ± 3,2	0,539

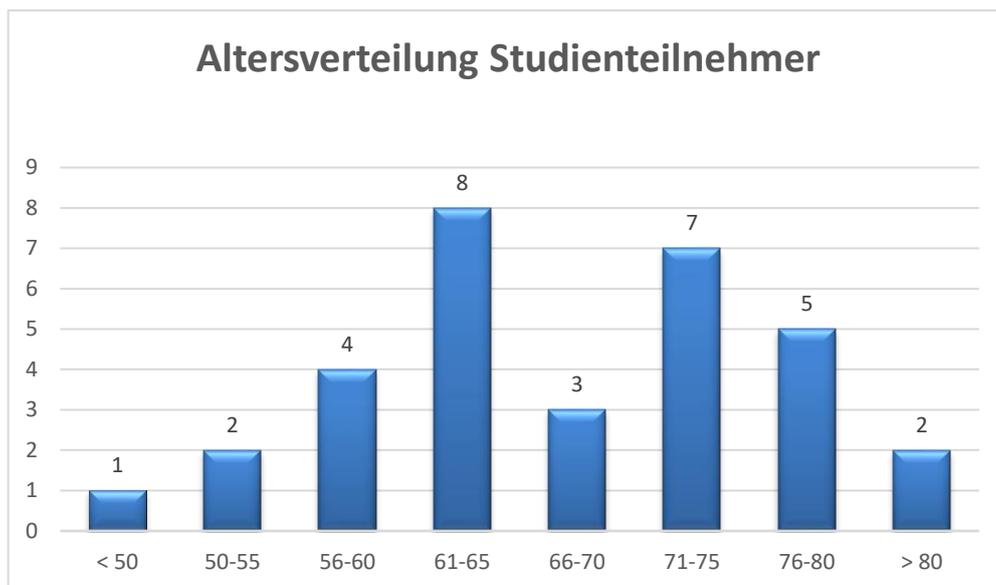


Abb. 4: Altersverteilung im Studienkollektiv, angegeben sind absolute Zahlen.

3.1.2 Vorerkrankungen

Hinsichtlich der – für das kardiovaskuläre Risikoprofil relevanten – Vorerkrankungen zeigten sich im Gruppenvergleich, wie aus Tab. 2 ersichtlich, keine signifikanten Differenzen. Aktive Raucher (N = 4) wurden nur in der RIPC-Gruppe dokumentiert, unter Einbeziehung der Raucheranamnese (≥ 6 Monate Nichtraucher) war der Unterschied nicht mehr signifikant. Isoliert betrachtet betrug der p-Wert für die Eigenschaft „Aktives Rauchen“ 0,038.

Tab. 2: Relevante Vorerkrankungen im Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe. Angaben in absoluten Zahlen und in Prozent der entsprechenden Randomisierungsgruppe.

	RIPC-Gruppe (n = 15)	Kontrollgruppe (n = 17)	p-Wert
KHK	13 (86.7 %)	15 (88.2 %)	0,893
Klappenvitium	8 (53.3 %)	4 (23,5 %)	0,144
Herzinsuffizienz	6 (40.0 %)	7 (41.2 %)	0,946
Art. Hypertonie	13 (86.7 %)	13 (76.5 %)	0,659
Aktives Rauchen	4 (26.7 %)	0 (0 %)	0,108
Raucheranamnese	12 (80.0 %)	12 (70,6 %)	
Diabetes mellitus	3 (20.0 %)	6 (35.3 %)	0,444
Hyperlipidämie	11 (73,3 %)	13 (76,5 %)	0,838
COPD	2 (13.3 %)	1 (5.9 %)	0,589

3.1.3 Operative Eingriffe

Die operativen Eingriffe, die bei den in unsere Substudie eingeschlossenen Patienten durchgeführt wurden, sind in Tab. 3 und Abb. 5 aufgeführt. Die Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen wiesen keine statistische Signifikanz auf ($p > 0,05$). Den größten Anteil machten mit 59 % über das Gesamtkollektiv alleinige aortokoronare Bypassoperationen (ACB) aus. Unter Einbeziehung von Kombinationseingriffen erhielten insgesamt 81 % der Studienteilnehmer eine Bypass-Operation.

Tab. 3: Kardiochirurgische Eingriffe bei Studienteilnehmern nach Randomisierungsgruppe. ACB: aortokoronare Bypassoperation, AKE: Aortenklappenersatz, MKR/MKE: Mitralklappenrekonstruktion/-ersatz.

Bei Studienpatienten durchgeführte operative Eingriffe

		RIPC-Gruppe	Kontrollgruppe	Gesamt
Eingriff	ACB	7	12	19
	AKE	2	2	4
	AKE + ACB	4	2	6
	MKR / MKE	1	0	1
	ACB + sonstige OP	0	1	1
	AKE + sonstige OP	1	0	1
Gesamt		15	17	32

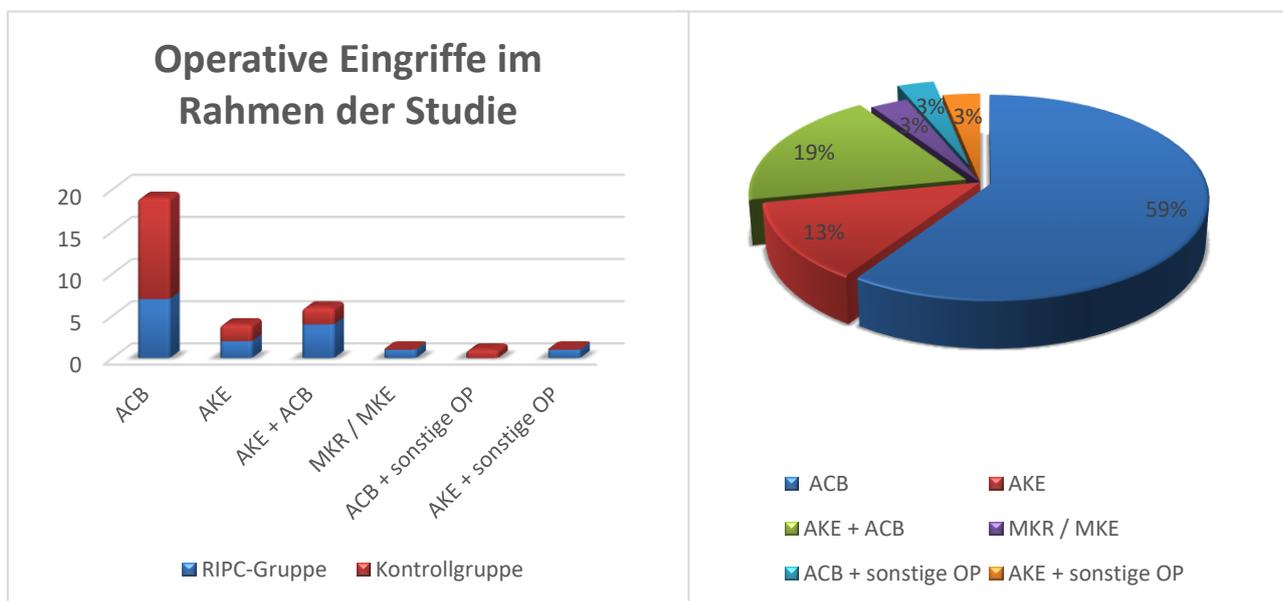


Abb. 5: Kardiochirurgische Eingriffe bei Studienteilnehmern nach Randomisierungsgruppe und prozentual vom Gesamtkollektiv. ACB: aortokoronare Bypassoperation, AKE: Aortenklappenersatz, MKR/MKE: Mitralklappenrekonstruktion/-ersatz.

3.1.4 Dauer des kardiopulmonalen Bypasses, Aortenklammzeit

In Bezug auf die relevanten intraoperativen Größen, wie der Dauer des kardiopulmonalen Bypasses an der Herz-Lungen-Maschine und der Aortenklammzeit (= Ischämiezeit) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen festgestellt werden. In unserem Kollektiv betragen die mittleren Aortenklammzeiten 84 ± 29 min (RIPC) bzw. 73 ± 16 min (Kontrollgruppe). Der Median lag bei 73 min (IQR: 106-63) in der RIPC-Gruppe bzw. bei 72 min (IQR: 80-62) in der Kontrollgruppe. Bei insgesamt 3 Patienten wurde eine Klammzeit von ≤ 50 min erreicht, bei 7 Patienten betrug die Klammzeit ≥ 100 min.

Die Aortenklammzeit war ein unabhängiger Prädiktor für die Melatonin- ($s\beta: -0,440$; $p = 0,013$) und eSOD-Spiegel ($s\beta: 0,392$; $p = 0,029$) bei Ende der OP. Bei langer Klammzeit waren die Melatonin-Werte im Vergleich niedriger und die eSOD-Werte höher.

Tab. 4: Dauer des kardiopulmonalen Bypasses und Aortenklammzeit. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Angaben in Minuten.

	RIPC-Gruppe (n = 15)	Kontrollgruppe (n = 17)	p-Wert
Dauer des CPB	118 ± 33	113 ± 23	0,655
Aortenklammzeit	84 ± 29	73 ± 16	0,390

3.1.5 Intensivstationsverweildauer und Beatmungsdauer

Weder bei der Verweildauer auf einer Intensivstation auf der Intensivstation (ICU) noch bei der Beatmungsdauer der Studienpatienten gab es signifikante Unterschiede zwischen der RIPC- und der Kontrollgruppe ($p > 0,05$). Definitionsgemäß wurden Aufenthalte auf der IMC-Station dem Intensivaufenthalt hinzugerechnet, nicht aber ein Aufenthalt auf der kardiochirurgischen Überwachungsstation. Mediane und IQR sind aus Tab. 5 ersichtlich. Mittelwerte und SD weichen bei der ICU-Verweildauer deutlich ab (RIPC: $133,7 \pm 367,4$; Kontrollgruppe: $69,8 \pm 66,5$), da ein Extremwert mit 61 Tagen Langzeit-Intensivstations-Verlauf enthalten ist. Bei der Beatmungsdauer wurde dieser Fall nicht ausgewertet, da im Studienprotokoll bei > 30 Tagen ICU-Aufenthalt keine Erhebung mehr vorgesehen war. Mittelwerte und SD betragen hier: $13,65 \pm 3,2$ (RIPC) bzw. $18,8 \pm 10,5$ (Kontrollgruppe).

Tab. 5: ICU-Verweildauer und Dauer der invasiven Beatmung. Angaben in Stunden: Median und IQR.

	RIPC-Gruppe (n = 15)	Kontrollgruppe (n = 17)	p-Wert
Verweildauer ICU	21,8 (69,3-21,6)	42,8 (115,6-21,8)	0,486
Beatmungsdauer	14,0 (15,8-11,7)	16,1 (22,2-12,2)	0,068

Das Patientenalter war ein Prädiktor für die Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation (sß: 0,419; $p = 0,042$).

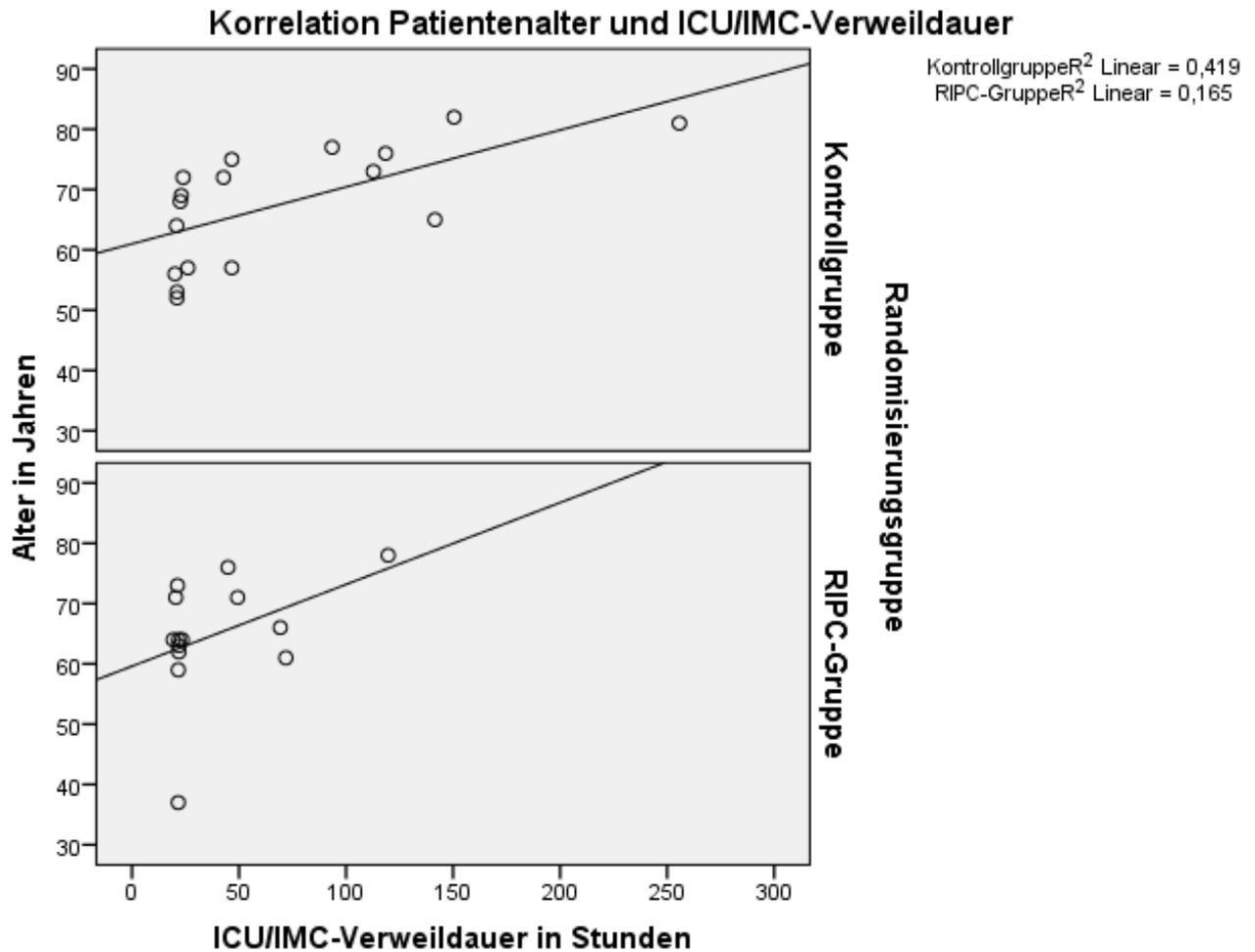


Abb. 6: Das Patientenalter war Prädiktor für die Dauer des ICU-Aufenthaltes. In dieser Grafik wurde in der RIPC-Gruppe ein Langzeit-Intensiv-Verlauf (60 Tage ICU-Aufenthalt aufgrund von Komplikationen) aus Darstellungsgründen nicht berücksichtigt.

3.2 Perioperative Dynamik von Melatonin, eSOD, eGPx und 8-OHdG

Um circadiane Einflüsse – besonders auf die Melatonin-Konzentration – zu vermeiden, wurden nur Patienten in die Analyse einbezogen, die morgens an erster Position im OP-Plan operiert wurden.

Um die Effekte von möglicher Hämodilution im Verlauf der Operation auf die gemessenen Werte von Melatonin, eSOD, eGPx und 8-OHdG auszuschließen, wurde zu den vorgegebenen Blutabnahmezeitpunkten ebenfalls die Kreatinin-Konzentration bestimmt. Weder in der RIPC- noch in der Kontrollgruppe veränderten sich die Kreatinin-Spiegel signifikant von T0 nach T2 ($p = 0,248$ bzw. $p = 0,422$). Darüber hinaus zeigte auch der Median (IQR) der Kreatinin-Spiegel zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2 keine signifikante Differenz zwischen beiden Gruppen (0,86 mg/dl (0,92-0,82) vs. 0,99 mg/dl (1,10-0,84), 0,86 mg/dl (0,98-0,80) vs. 0,93 mg/dl (1,05-0,84) und 0,79 mg/dl (1,01-0,74) vs. 0,91 mg/dl (1,07-0,78)). Siehe Abb. 7.

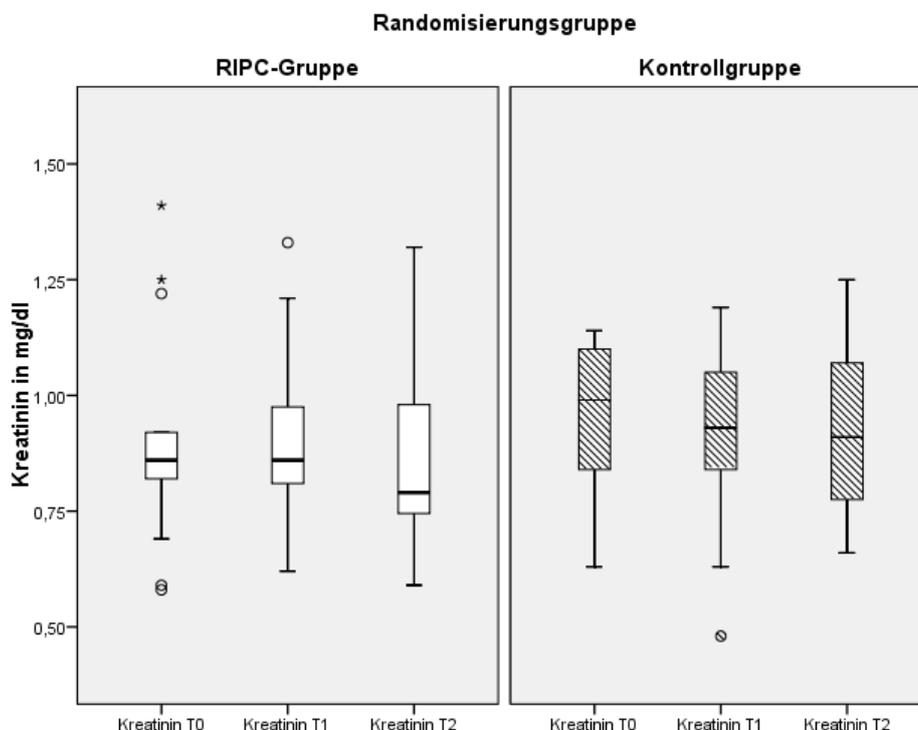


Abb. 7: Serumkreatininwerte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2. In beiden Gruppen traten keine signifikanten Veränderungen vom präoperativen Zeitpunkt (T0) zum postoperativen Zeitpunkt (T2) auf. Auch zwischen RIPC- und Kontrollgruppe gab es keine signifikanten Unterschiede. Extremwerte: \circ 1,5-3 x IQR; * > 3 x IQR.

3.2.1 Melatonin

Im Gruppenvergleich zeigte sich zum Zeitpunkt OP-Ende (T2) ein signifikant höheres Melatonin-Niveau auf der RIPC-Seite ($p = 0,013$), nachdem zuvor sowohl bei der RIPC- als auch bei der Kontrollgruppe ein signifikanter Konzentrationsabfall zwischen den präoperativ (T0) und bei OP-Ende (T2) gemessenen Melatonin-Werten festgestellt werden konnte (für RIPC $p = 0,001$, für Kontrollgruppe $p < 0,001$).

Beim Kontroll-Kollektiv zeigte sich zudem ein signifikanter Abfall der Melatoninkonzentration im Interventions-Intervall T0 auf T1 ($p = 0,001$), der in der RIPC-Gruppe schwächer ausgeprägt war und keine statistische Signifikanz erreichte.

Die multiple Regressionsanalyse zeigte einen unabhängigen Einfluss der RIPC-Intervention auf die Melatoninkonzentration zum OP-Ende (Standardisierter Koeffizient Beta ($s\beta$): 0,488; $p = 0,007$). Die Melatonin-Spiegel am OP-Ende waren nach Anwendung von RIPC höher als in der Kontrollgruppe ohne Intervention.

Tab. 6: Melatoninwerte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2. Angaben: Median und IQR; a: T0 vs. T1; b: T0 vs. T2

		RIPC (N = 15)	Kontrolle (N = 17)	p-Wert
Melatonin (pg/ml)	T0	9,3 (11,0-6,2)	10,1 (12,9-7,5)	0,202
	T1	6,3 (9,8-4,5)	7,1 (8,1-5,9)	0,852
	T2	1,9 (2,9-0,5)	0,2 (0,9-0,0)	0,013
	p-Wert	0,061 ^a 0,001 ^b	0,001 ^a <0,001 ^b	

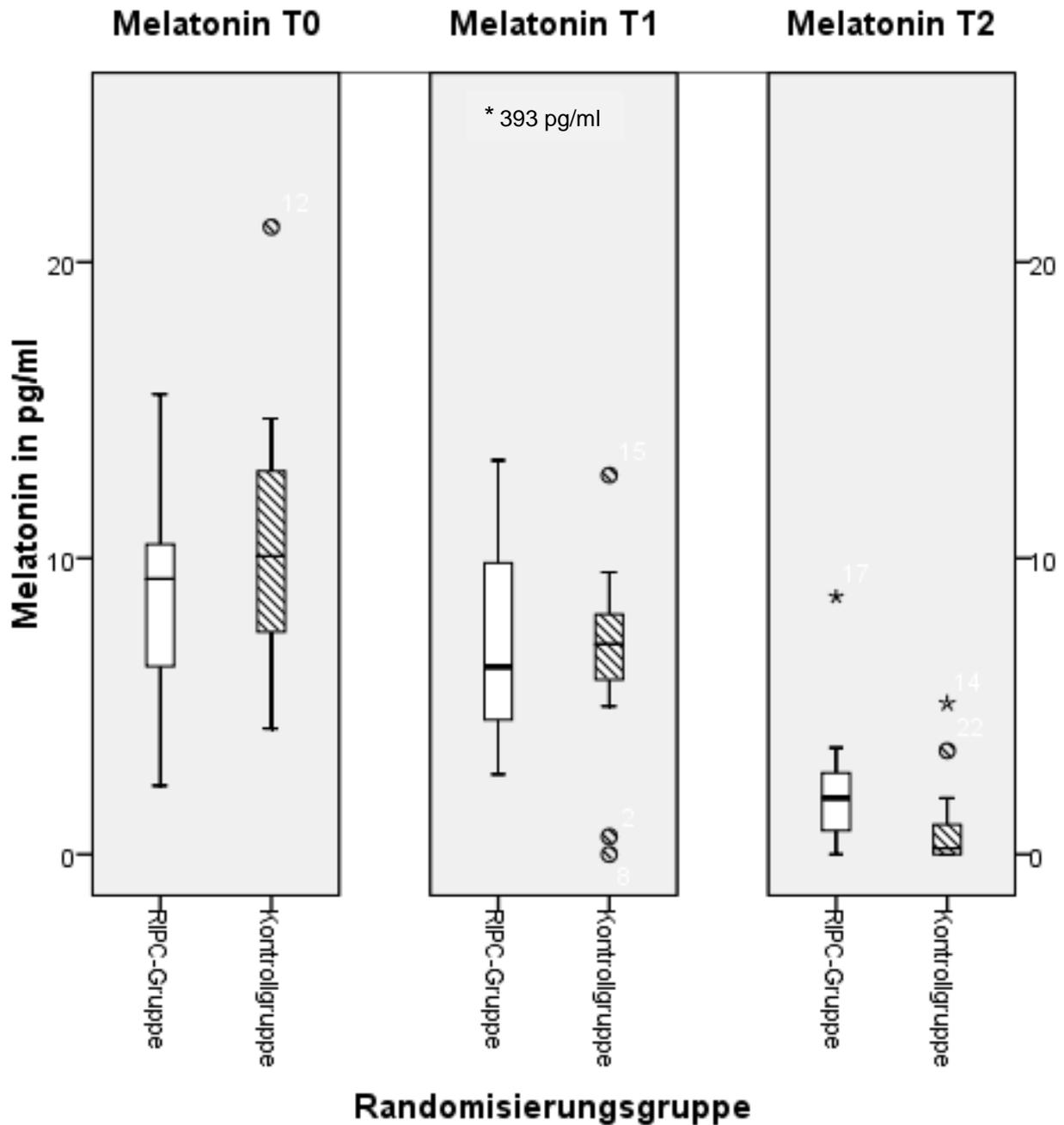


Abb. 8: Melatoninmessungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2, jeweils Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe. Bei beiden Gruppen signifikanter Abfall von T0 nach T2. Zum Zeitpunkt T2 signifikant höhere Melatoninwerte bei RIPC- im Vergleich mit Kontrollgruppe. Extremwerte: ○ 1,5-3 x IQR; * > 3 x IQR.

3.2.2 Superoxiddismutase (eSOD) und Glutathionperoxidase (eGPx)

Die eSOD-Spiegel stiegen während des kardiopulmonalen Bypasses signifikant an (für RIPC $p = 0.005$, für Kontrolle $p = 0,001$), während die eGPx-Spiegel abfielen (für RIPC $p = 0,001$, für Kontrolle $p < 0,001$). Für beide Enzyme konnten zu keinem der untersuchten Zeitpunkte signifikante Differenzen zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden.

Tab. 7: eSOD und eGPx-Werte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2. Angaben: Median und IQR; a: T0 vs. T1; b: T0 vs. T2.

		RIPC (N = 15)	Kontrolle (N = 17)	p-Wert
eSOD (ng/ml)	T0	47 (82-34)	48 (73-40)	0,911
	T1	50 (88-40)	49 (63-41)	0,628
	T2	106 (168-86)	100 (121-74)	0,520
	p-Wert	0,281 ^a 0,005 ^b	0,148 ^a 0,001 ^b	
eGPx (ng/ml)	T0	2349 (3006-1792)	1855 (2312-1692)	0,114
	T1	2209 (2848-1835)	1980 (2170-1664)	0,142
	T2	1764 (1854-1469)	1544 (1800-1291)	0,132
	p-Wert	0,691 ^a 0,001 ^b	0,795 ^a <0,001 ^b	

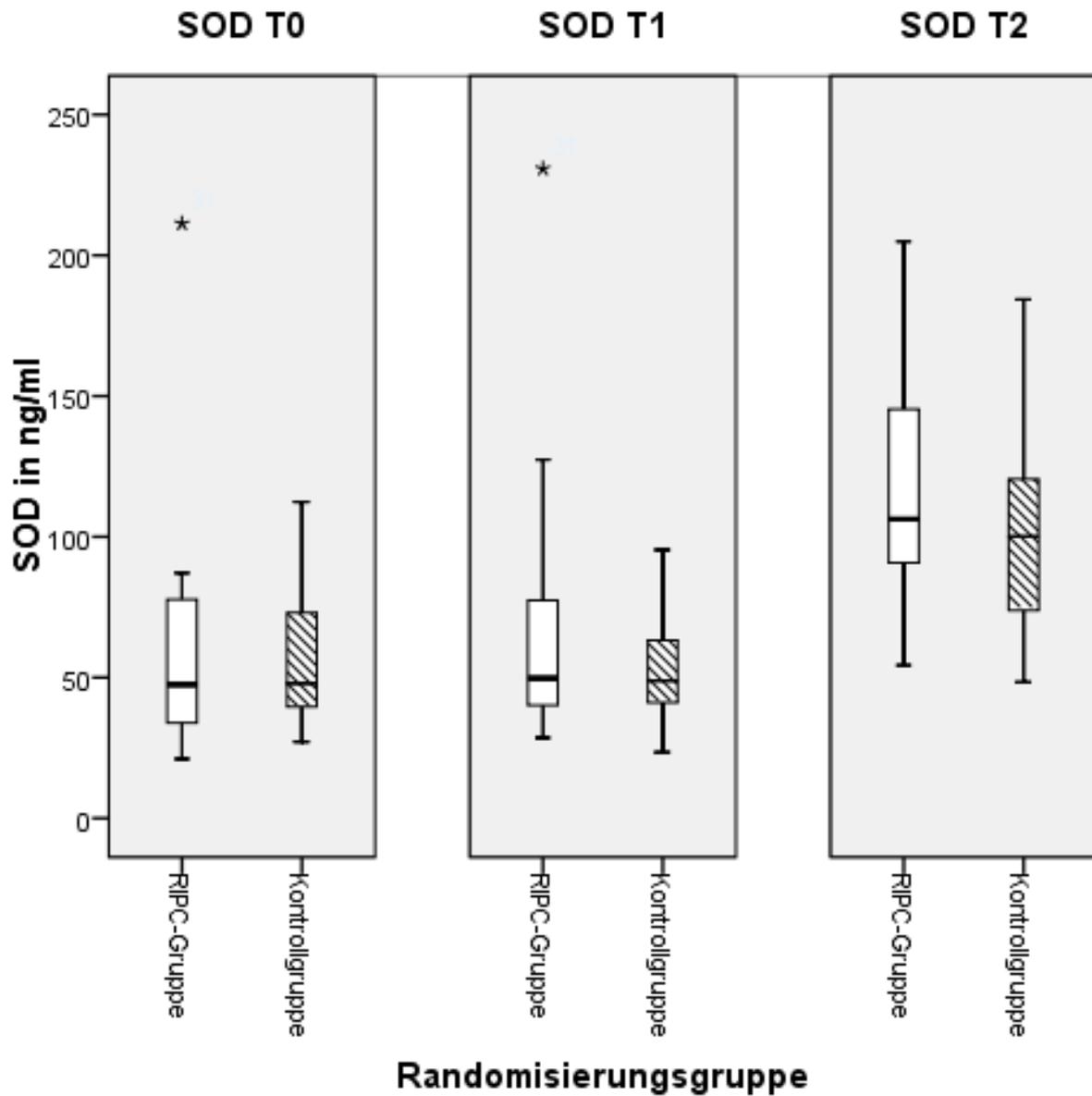


Abb. 9: eSOD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2, jeweils Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe. Bei beiden Gruppen signifikanter Anstieg von T0 nach T2. Zwischen den Randomisierungsgruppen waren die Differenzen zu keinem der Zeitpunkte signifikant. Extremwerte: ○ 1,5-3 x IQR; * > 3 x IQR.

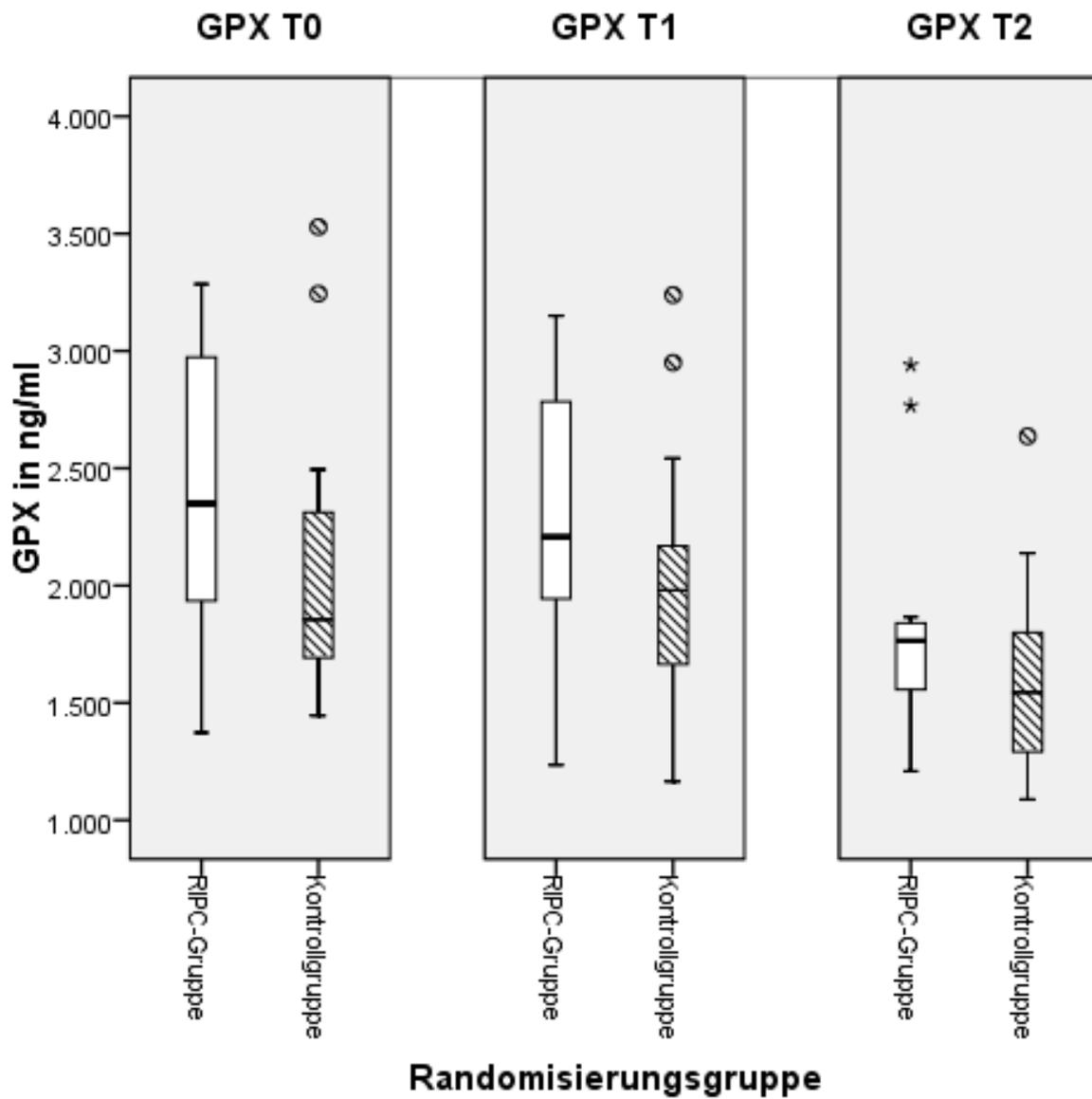


Abb. 10: eGPx-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2, jeweils Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe. Bei beiden Gruppen signifikanter Abfall von T0 nach T2. Zwischen den Randomisierungsgruppen waren die Differenzen zu keinem Zeitpunkt signifikant. Extremwerte: \circ 1,5-3 x IQR; * > 3 x IQR.

3.2.3 8-Hydroxydesoxyguanosin

Die systemischen 8-OHdG-Spiegel fielen während des kardiopulmonalen Bypass signifikant ab. Dieser Effekt war in beiden Gruppen unabhängig nachzuweisen (für RIPC $p = 0,001$, für Kontrolle $p = 0,003$).

Patienten mit einem vorbekannten Diabetes mellitus zeigten einen höheren Grad an oxidativem Stress (8-OHdG) bei OP-Ende im Vergleich zu nicht entsprechend vorerkrankten Teilnehmern (sß: 0,425; $p = 0,013$).

Die postoperativen 8-OHdG-Spiegel wurden unabhängig von einer Gruppenzuordnung weiterhin durch die präoperative Melatoninkonzentration beeinflusst. Nähere Ausführungen hierzu siehe 3.3.

Tab. 8: 8-OHdG-Werte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2. Angaben: Median und IQR; a: T0 vs. T1; b: T0 vs. T2.

		RIPC (N = 15)	Kontrolle (N = 17)	p-Wert
8-OHdG (ng/ml)	T0	2,2 (2,6-1,8)	2,5 (3,2-1,9)	0,313
	T1	2,0 (2,6-1,6)	2,1 (4,7-1,9)	0,428
	T2	1,6 (2,0-1,1)	1,5 (3,3-1,5)	0,246
	p-Wert	0,508 ^a 0,001 ^b	0,088 ^a 0,003 ^b	

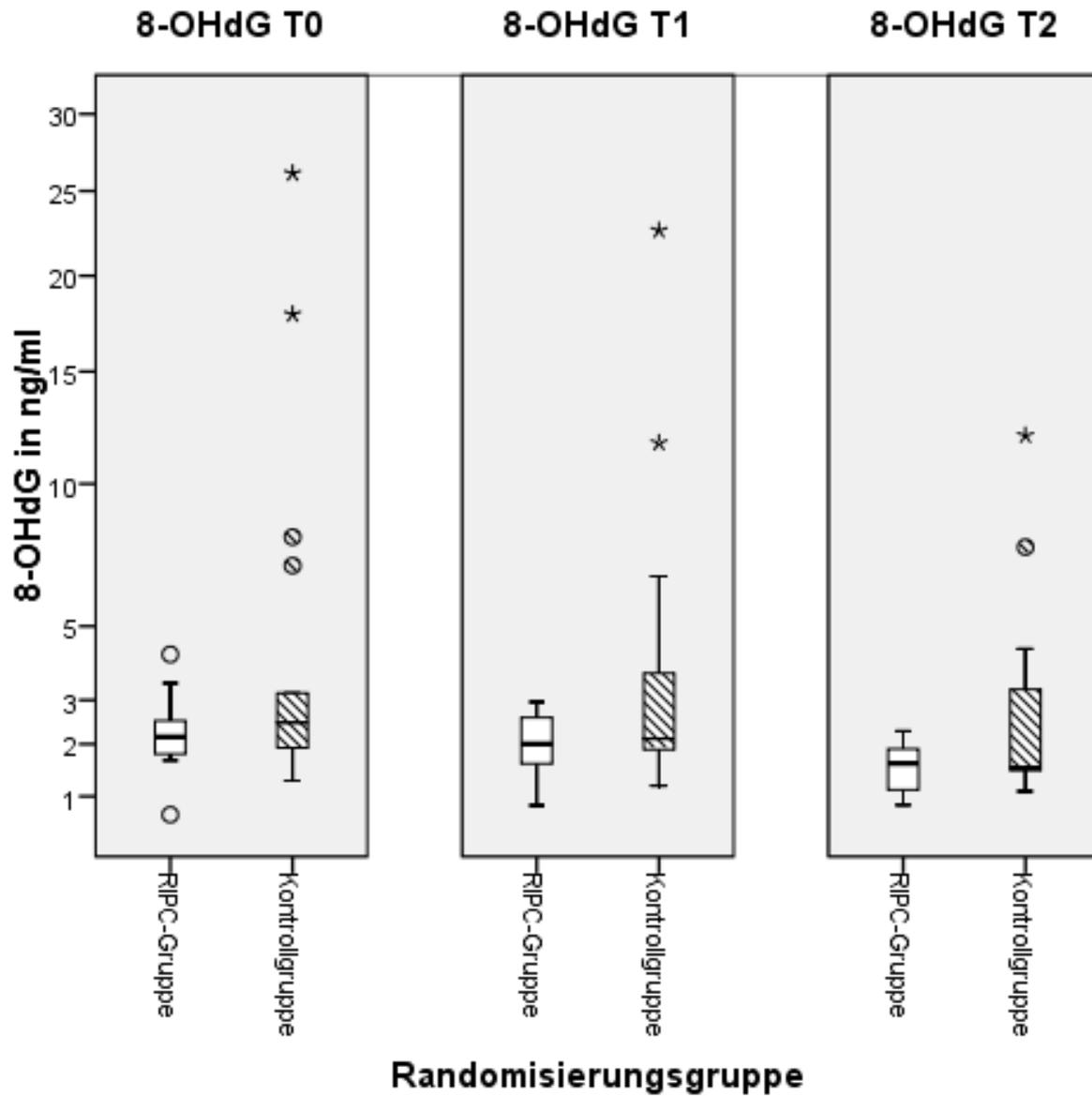


Abb. 11: 8-OHdG-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2, jeweils Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe. Bei beiden Gruppen signifikanter Abfall von T0 nach T2. Zwischen den Randomisierungsgruppen waren die Differenzen zu keinem Zeitpunkt signifikant. Extremwerte: \circ 1,5-3 x IQR; * > 3 x IQR.

3.3 Einfluss des präoperativen Melatoninspiegels

Die basale Melatoninkonzentration zeigte sich als unabhängiger Prädiktor für die eGPx- und 8-OHdG-Spiegel zum OP-Ende (sß: -0,390; p = 0,030 bzw. sß: -0,332; p = 0,047). Bei niedriger basaler Melatonin-Konzentration wurden zum OP-Ende niedrige eGPx-Spiegel gemessen und umgekehrt. Entgegengesetzt verhielt es sich für 8-OHdG. Hier wurden bei niedriger basaler Melatonin-Konzentration am Ende der OP hohe 8-OHdG-Spiegel gemessen, hohe basale Melatonin-Spiegel waren ein Prädiktor für niedrigere 8-OHdG-Spiegel.

3.4 Troponinverlauf

In dieser Studie konnten keine signifikanten Korrelationen zwischen den 6 Stunden postoperativ bestimmten Troponin I-Spiegeln und Konzentrationen von Melatonin, SOD oder GPx zu den Zeitpunkten T0, T1 und T2 gezeigt werden ($p > 0,05$). Auch im Vergleich zwischen den Randomisierungsgruppen war, wie aus Abb. 12 ersichtlich, kein signifikanter Unterschied in den bestimmten Troponin I-Werten nachweisbar.

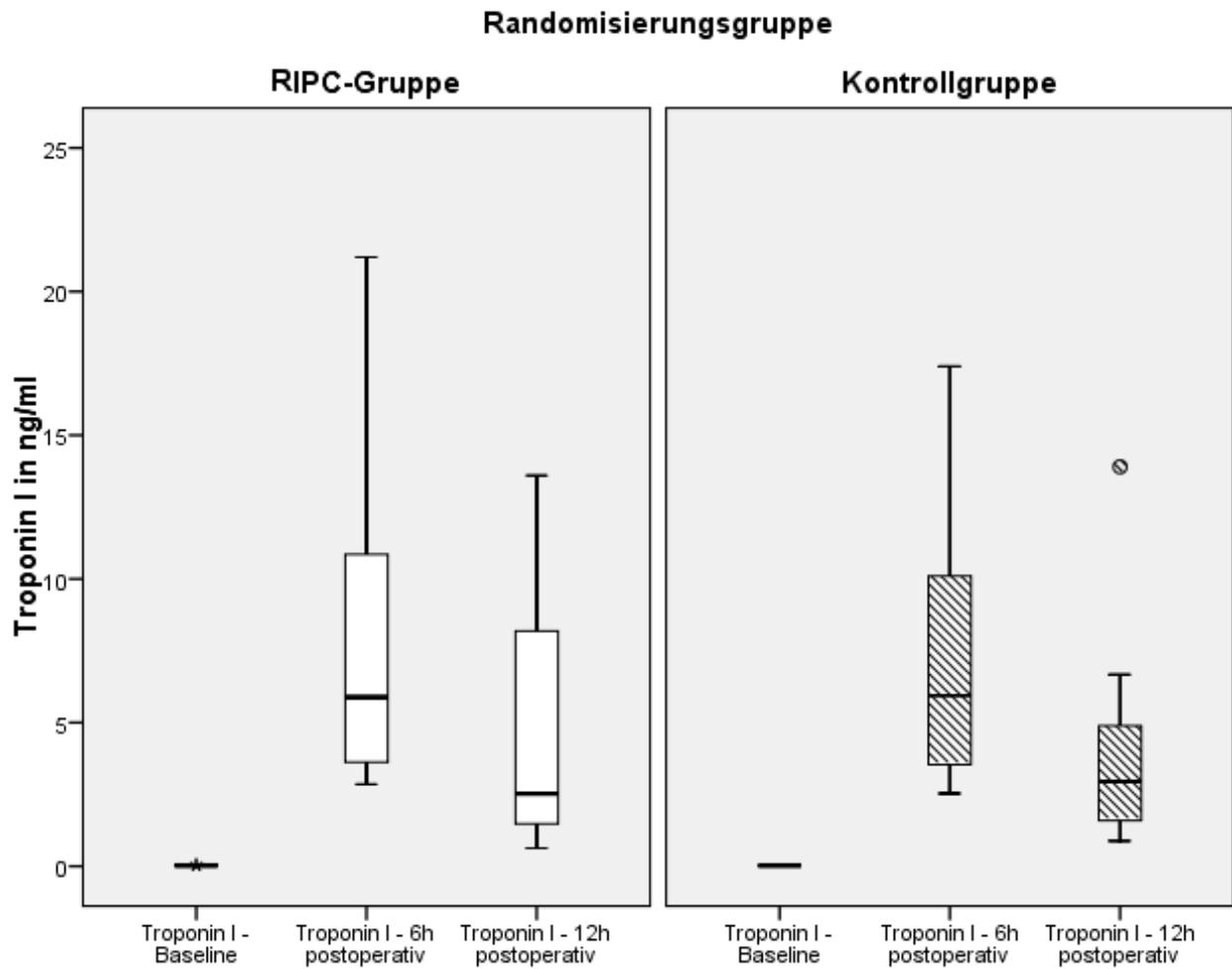


Abb. 12: Perioperative Troponin-Bestimmung. Baseline am präoperativen Tag, dann 6h und 12h postoperativ gemäß Studienprotokoll der Hauptstudie. Erwartungsgemäß signifikanter Anstieg von Baseline nach 6h postoperativ und dann wieder Abfall bis 12h postoperativ. Zwischen den Randomisierungsgruppen waren die Differenzen zu keinem Zeitpunkt signifikant. Extremwerte: \circ 1,5-3 x IQR; * $>$ 3 x IQR.

4. Diskussion

Eine durch Ischämie und nachfolgende Reperfusion hervorgerufene Myokardschädigung ist in der Kardiochirurgie eine alltägliche und vielfach unumgängliche Problematik. Viele Eingriffe erfordern regelhaft die „Abklemmung des Herzens von seiner natürlichen Blutversorgung“ und bedingen damit eine geplante Ischämiephase (Haller et al., 2016) mit Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und oxidativem Stress, die zur Auslösung einer proinflammatorischen und proapoptotischen Signalkaskade führt, welche die Organfunktionen und somit das klinische Outcome beeinflusst (Zakkar et al., 2015). Die Entwicklung von Strategien, die darauf abzielen, die eintretende Schädigung zu begrenzen, ist daher seit Langem von großem Interesse. Hier hat sich besonders das Verfahren der Ischämischen Fern-Präkonditionierung („Remote Ischemic Preconditioning“, RIPC) als vielversprechender Ansatz hervorgetan. Die zugrundeliegenden Mechanismen der mittlerweile vielfach gezeigten kardioprotektiven Wirkung von RIPC sind allerdings auch nach intensiver Forschungsanstrengung in den letzten Jahrzehnten noch nicht vollständig entschlüsselt worden (Haller et al., 2016; Hausenloy et al., 2016).

Es wird angenommen, dass nach kurzer Ischämie- und darauf folgender Reperfusionsphase eine Substanz oder ein kardioprotektiver neuro-humoraler Faktor ausgewaschen und dann mit dem Blutstrom transportiert wird (Haller et al., 2016; Hausenloy et al., 2016; Heusch, 2015). Hinweisend hierauf waren Studien, die eine protektive Wirkung einer Vollblut- oder Serumtransfusion eines präkonditionierten Organismus auf einen nicht-präkonditionierten nachwiesen (Dickson et al., 1999; Redington et al., 2012).

Weiterhin wurde unter ischämischer Präkonditionierung im Modell im Gegensatz zu Kontrollgruppen ein Anstieg der Genexpression und Aktivität von endogenen Antioxidantien wie Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GPx) beobachtet, der für eine Kardioprotektion mitverantwortlich gemacht wird (Hoshida et al., 1993; Park et al., 2016). Mayo et al. fanden heraus, dass die Zugabe von physiologischen Serumkonzentrationen des Pinealhormons Melatonin in zwei neuronalen Zellreihen zu einem Anstieg der mRNA sowohl von SOD als auch von GPx führte (Mayo et al., 2002).

In der vorliegenden Substudie wurden an einem kleinen Patientenkollektiv von N = 32 die Auswirkungen von RIPC auf oxidativen Stress (8-OHdG) und die extrazellulären Konzentrationen von Melatonin sowie der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (eSOD) und Glutathionperoxidase (eGPx) untersucht. In diesem Zusammenhang wurde auch die Auswirkung der präoperativen Melatoninkonzentration auf das Niveau von oxidativem Stress und Effekte auf die Konzentrationen von eSOD und eGPx betrachtet.

4.1 Dynamik von Superoxiddismutase und Glutathionperoxidase

Im Gegensatz zu den oben genannten Studien von Hoshida et al. (1993) und Park et al. (2016), bei denen allerdings Herz- bzw. Skelettmuskelgewebe am Tiermodell untersucht wurde, konnten wir in der vorliegenden Untersuchung keine signifikanten Unterschiede der durchschnittlichen eSOD und eGPx-Spiegel im Plasma zwischen der RIPC- und der Kontrollgruppe nachweisen. Hier ist das sicherlich relativ kleine Studienkollektiv zu bedenken und diverse Streueinflüsse, denen eine Untersuchung unter klinischen Gesichtspunkten unterliegt. Bei unserer Untersuchung fanden wir allerdings in beiden Gruppen signifikant erhöhte postoperative eSOD-Werte im Vergleich mit den präoperativen, während die postoperativen eGPx-Spiegel im Vergleich zu ihren präoperativen Werten abfielen. Übereinstimmend mit dieser Feststellung wurde von Zitta et al. (2015) ein signifikanter Anstieg der SOD im Herzgewebe kardiochirurgischer Patienten nach kardiopulmonalem Bypass nachgewiesen. McDonald et al. (2012) zeigten anhand eines in-vitro CPB-Kreislaufs ebenfalls einen SOD-Anstieg über die Zeit. Dieser Anstieg scheint vor dem Hintergrund interessant, dass durch Haramaki et al. (1998) im ischämischen Herzen in Abhängigkeit von der Schwere des vorliegenden Ischämie- und Reperfusionsschadens eine verbrauchsbedingte Abnahme von endogenen Antioxidantien nachzuweisen war. Allerdings wurde SOD nicht untersucht. Primär betroffen waren hydrophile Antioxidantien (hier: Ascorbat, Glutathion). Erst bei schwerer Ischämie, durch Applikation von H₂O₂ simuliert, fielen auch die Spiegel der lipophilen Antioxidantien ab (hier: Ubiquinol 9, Vitamin E).

Eine mögliche Erklärung für den eSOD-Anstieg ist das Vorkommen von eSOD in hohen Konzentrationen im Bereich des Endothels und der Adventitia von Blutgefäßen (Oury et al., 1996). Man könnte spekulieren, dass in diesen Bereichen akkumuliertes eSOD als

Reaktion auf den, im Zusammenhang mit einer Reperfusion stehenden, oxidativen Stress freigesetzt wird. Andererseits ist auch ein Zusammenhang mit der für die extrakorporale Zirkulation notwendigen Heparinisierung des Patienten denkbar. Extrazelluläre SOD verfügt über eine Heparin-Bindungsdomäne mit einer je nach Unterklassen unterschiedlichen Affinität für Heparin (Sandström et al., 1992). Karlsson und Marklund (1988; 1987) zeigten nach intravenöser Injektion von Heparin in-vivo eine unmittelbare Freisetzung des Enzyms. Im Rahmen der genannten Studien wurden geringere Heparindosierungen appliziert (200 I.E./kgKG), als für eine Vollheparinisierung zur Ermöglichung des HLM-Betriebes üblicherweise verabreicht werden (400-500 I.E./kgKG).

In unserer Untersuchung zeigte sich auch eine Korrelation zwischen der Aortenklammdauer und dem postoperativen Anstieg von eSOD. García-de-la-Asunción et al. (2013) beschrieben, dass Klemmzeiten oberhalb von 50 Minuten zu höheren Spiegeln von Markern des oxidativen Stresses führen. In unserem Kollektiv betrug die mittleren Aortenklammzeiten 84 ± 29 min (RIPC) bzw. 73 ± 16 min (Kontrollgruppe). Nur bei insgesamt 3 Patienten konnte eine Zeit von ≤ 50 min erreicht werden, bei 7 Patienten betrug die Klemmzeit ≥ 100 min. Die Korrelation zwischen Aortenklammzeit und eSOD-Spiegel könnte auch der Tatsache geschuldet sein, dass bei länger dauerndem kardiopulmonalen Bypass ggf. Nachinjektionen von Heparin notwendig werden, die dann zu einer neuerlichen eSOD Freisetzung geführt haben könnten.

Die im Verlauf der Operation gesunkenen GPx-Spiegel könnten durch zwei mögliche Mechanismen erklärt werden. Einerseits sind für eine normale Funktion der antioxidativen Enzyme Spurenelemente unerlässlich, für GPx insbesondere Selen (Bulger und Maier, 2001). Durch die Anwendung des kardiopulmonalen Bypasses wird eine Akute-Phase-Reaktion, gefolgt von einer systemischen inflammatorischen Reaktion ausgelöst, die mit einer Umverteilung von Vitaminen und Spurenelementen aus den zirkulierenden Kompartiment hin zu Geweben und Organen einhergeht (Berger und Shenkin, 2006; Visser, 2010). McDonald et al. (2012) zeigten unter Laborbedingungen eine durch einen HLM-Kreislauf hervorgerufene signifikante Abnahme von Selen, Kupfer und Zink. Andererseits könnte eine Abnahme der Serumkonzentration von GPx im Laufe des Eingriffs auch durch Verbrauch im Rahmen von antioxidativen Vorgängen und der Detoxifikation von ROS begründet werden.

4.2 Oxidativer Stress anhand von 8-Hydroxydesoxyguanosin

Oxidativer Stress, definiert durch ein entstehendes Ungleichgewicht zwischen der Entstehung von freien Radikalen – vor allem reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies – und deren Elimination (Galano et al., 2011), kann zu irreversiblen Zellschädigungen führen. Eine übermäßige Produktion von ROS, die nicht mehr durch entsprechende Antioxidantien abgefangen werden kann, führt zu Lipidperoxidation, Denaturierung von Proteinen und DNA-Schäden (Dröge, 2002) und somit in der Folge zu gestörter Zelldifferenzierung, Zellalterung und Apoptose (Case et al., 2008).

Andererseits werden subletale Mengen an ROS, die während kurzer Ischämie- und Reperfusionszyklen erzeugt werden, als essentiell für die Entstehung eines kardioprotektiven Effekts durch ischämischen Präkonditionierung angesehen (Zuo et al., 2013). Studien von Osada et al. (1994) und Tanaka et al. (1994) konnten zeigen, dass nach Vorbehandlung mit SOD als Radikalfänger der kardioprotektive Effekt von IPC abgeschwächt wurde.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde eine Bestimmung von 8-Hydroxydesoxyguanosin (8-OHdG) als Marker für durch oxidativen Stress hervorgerufene DNA-Schädigungen durchgeführt und im Hinblick auf einen Unterschied zwischen beiden Studienarmen ausgewertet. Morihira et al. (2006) konnten anhand tierexperimenteller Daten nach vorangegangener ischämischer Präkonditionierung am Zielorgan niedrigere Werte von 8-OHdG als in Kontrollgruppen nachweisen. Dies wurde durch eine Untersuchung von Arvola et al. (2016) bestätigt, die die Auswirkungen von RIPC auf 8-OHdG-Spiegel anhand eines Experiments mit Ferkeln unter kardiopulmonalem Bypass untersuchten und auch hier eine Abnahme des oxidativen Stresses feststellen konnten.

Im Gegensatz zu den oben genannten tierexperimentellen Untersuchungen konnten wir dies anhand unseres kleinen Studienkollektivs und bei Durchführung der Untersuchung unter klinischen Einflussfaktoren nicht bestätigen. In unseren Daten zeigten sich die 8-OHdG Plasmaspiegel unabhängig von der Durchführung einer RIPC-Studienintervention. Jedoch konnten wir eine inverse Korrelation zwischen den präoperativen Melatoninspiegeln und den postoperativen 8-OHdG-Spiegeln nachweisen, was auf das

protektive Potential von Melatonin in Bezug auf DNA-Schäden unter einem kardiochirurgischen Eingriff an der HLM hindeutet. Weiterhin konnten wir interessanterweise zeigen, dass die Spiegel im Verlauf des Eingriffs vom präoperativen Zeitpunkt bis zum postoperativen Zeitpunkt in beiden Gruppen signifikant abnahmen.

4.3 Melatonin

Wie bereits ausgeführt, zeigten sich in unserer Untersuchung niedrige präoperative Melatoninkonzentrationen mit höheren postoperativen 8-OHdG-Konzentrationen korreliert und umgekehrt. Diese Feststellung steht im Einklang mit aktueller Literatur. Review-Artikel zur Thematik (Galano et al., 2011; Ramis et al., 2015) stellen heraus, dass Melatonin aufgrund seiner breiten antioxidativen Eigenschaften inklusive antioxidativ wirksamer Metaboliten, der Fähigkeit morphophysiologische Barrieren zu überwinden und auch in intrazelluläre Kompartimente (wie v.a. Mitochondrien) einzudringen, in der Lage ist, u.a. vor DNA-Schädigungen zu schützen. Yu et al. (2014) konnten nach Melatoninbehandlung eine verbesserte postschämische Herzfunktion, Verringerung von Infarktgröße und apoptotischem Index sowie einen verminderten Anstieg der Serum-Kreatinkinase und Lactat-Dehydrogenase zeigen. Außerdem stellten sie am Myokard erhöhte SOD-Spiegel fest, die sie auf eine signifikante Abschwächung von oxidativem Stress zurückführten.

Melatoninkonzentrationen im Blut unterliegen üblicherweise einem zirkadianen Expressionsmuster mit niedrigen Werten tagsüber und einem nächtlichen Peak bei etwa 2:00-3:00 Uhr nachts, der allerdings Schwankungen unterliegen kann (Klein, 1979; Laakso et al., 1994). Guo et al. (2002) untersuchten den perioperativen Melatoninverlauf unter Kardiochirurgie mit kardiopulmonalem Bypass anhand von 12 Patienten und kamen zu dem Ergebnis, dass es während und nach einem kardiochirurgischen Eingriff zunächst zur Aufhebung dieses zirkadianen Musters kommt. Die Rückkehr zum normalen tageszeitlichen Rhythmus sei in den meisten Fällen nach ca. 24 h eingetreten. Chenevard et al. (2008) fanden später heraus, dass die genannten Veränderungen nicht ausschließlich vom Einsatz der Herz-Lungen-Maschine abhängig sind, sondern gleichermaßen bei

Patienten auftraten, die sich großen, aber nicht-kardiochirurgischen Operationen unterzogen.

Untersuchungen von Sokullu et al. (2009) zeigten, dass Patienten, die sich am Morgen einem herzchirurgischen Eingriff unterzogen, höhere prä-, intra- und postoperative Melatoninplasmakonzentrationen und hieraus gefolgert auch niedrigere Konzentrationen von Markern für einen Ischämie- und Reperfusionsschaden aufwiesen, als Patienten, die nachmittags operiert wurden.

Bei den Teilnehmern unserer Studie fand die Anästhesieeinleitung morgens zwischen 7:30 und 8:00 Uhr statt. Die Blutproben zum Baseline-Zeitpunkt wurden unmittelbar im Anschluss abgenommen. Erwartungsgemäß waren die gemessenen Konzentrationen bei allen Patienten relativ niedrig und nahmen im Laufe der Operation und auf die Mittagszeit zu noch weiter ab. Interessanterweise konnten wir in der RIPC-Gruppe einen langsameren Rückgang der Melatoninkonzentration als in der Kontrollgruppe feststellen.

Ein möglicher Grund hierfür soll im Folgenden näher ausgeführt werden: Denkbar ist beispielsweise eine Abnahme der hepatischen Melatonin-Clearance infolge Zytokin-induzierter Suppression von Cytochrom P450-Isoenzymen. Der Abbau von zirkulierendem Melatonin geschieht überwiegend durch 6-Hydroxylierung in hepatischen Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenasen. Das Produkt wird dann weiter sulfatiert (70 %) oder glucuronidiert (30 %) und als 6-Hydroxymelatonin und N-Acetyl-Serotonin mit dem Urin ausgeschieden (Facciola et al., 2001; Young et al., 1985).

Durch inflammatorische Reize und Einwirkung von reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies kommt es zu einer Herabregulation von Cytochrom P450-Isoenzymen (Morgan, 2001). Dies könnte beispielsweise durch eine ischämische Präkonditionierung ausgelöst werden. Die genauen Auswirkungen von IPC/RIPC auf inflammatorische Vorgänge sind bis heute allerdings noch nicht vollständig geklärt. Guimarães Filho et al. (2015) zeigten anhand eines Rattenmodells, dass durch RIPC die plasmatischen Interleukin-6-Spiegel in der frühen Phase der Reperfusion nach Ischämie anstiegen. Albrecht et al. (2013) konnten in einer experimentellen Pilotstudie an kardiochirurgischen Patienten anhand von Serumproben und rechtsatrialen Biopsien zeigen, dass RIPC neben einem Anstieg des

hypoxia induced factor-1 α (HIF-1 α) zu einer Regulierung von Apoptose und Inflammation im entnommenen Gewebe und zu einer Beeinflussung der zirkulierenden Zytokinspiegel führt. Die Zytokinspiegel waren im Vergleich mit einer Kontrollgruppe unmittelbar nach der RIPC-Intervention signifikant erhöht, nicht aber nach Ende des kardiopulmonalen Bypasses.

Da wir in der vorliegenden Arbeit weder die Expression von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen noch CYP-Isoformen untersucht haben, bleibt an dieser Stelle unklar, ob die hepatische Melatonin-Clearance in unserer RIPC-Gruppe auf eine Zytokin-induzierte Suppression von hepatischen Cytochrom P450-Isoenzymen zurückgeführt werden kann.

4.4 Troponin

In der vorliegenden Substudie konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen RIPC- und Kontrollgruppe in Bezug auf den postoperativen Troponin-Verlauf festgestellt werden. Diese Beobachtung stand im Einklang mit den Ergebnissen der RIPHeart-Hauptstudie und somit der Untersuchung eines weit größeren Gesamtpatientenkollektivs (Meybohm et al., 2015). Hausenloy et al. (2015) kamen mit der ebenfalls groß angelegten ERRICA-Studie zu einem ähnlichen Ergebnis. Eine Meta-Analyse mit Auswertung von 9 kleineren Studien und insgesamt 704 Patienten von D'Ascenzo et al. (2012) hatte signifikant niedrigere Troponin I- und T-Werte nach RIPC-Intervention gezeigt. Für die Analyse wurden hier allerdings ausschließlich Bypass-Operationen berücksichtigt.

4.5 Unabhängige Effekte anderer perioperativer Faktoren

In unserem Studienkollektiv zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Patientenalter und der Länge des erforderlichen Aufenthaltes auf einer Intensiv- bzw. IMC-Station. Diese Beobachtung deckt sich mit denen anderer Autoren (Flegler und Paro, 2015; Ozen et al., 2015; Rosenfeld et al., 2006).

Zudem konnten wir zeigen, dass an Diabetes mellitus erkrankte Patienten zum Ende der OP höhere Werte für oxidativen Stress (8-OHdG) aufwiesen, als nicht entsprechend vorerkrankte Studienteilnehmer. Andere Autoren fanden bei Diabetikern chronisch erhöhte Konzentrationen von 8-OHdG im Vergleich mit gesunden Probanden (Al-Aubaidy und Jelinek, 2011; Araki und Nishikawa, 2010). Jensen et al. (2012) untersuchten den Einfluss von Diabetes mellitus auf die Wirkung von RIPC. Hierzu wendeten sie Dialysat von jeweils 8 Typ II-Diabetikern und gesunden Probanden – einmal vor und einmal nach einem RIPC-Stimulus – an isolierten humanen atrialen Trabekeln an. Sie konnten demonstrieren, dass Diabetes mellitus per se zu einer chronischen intrinsischen Aktivierung von kardio-protectiven Mechanismen führt und hierdurch eine zusätzliche protektive Wirkung durch RIPC ausbleibt (Jensen et al., 2012).

4.6 Einflussfaktoren, Methodenkritik

4.6.1 Demografische Daten

Die Geschlechterverteilung in unserem kleinen Kollektiv zeigte ein deutliches Überwiegen des männlichen Geschlechts (87,5 %). Dieser Umstand ist in etwas schwächerer Ausprägung auch in der deutlich größer angelegten RIPHeart-Hauptstudie (74,2 % ♂ bei 1385 ausgewerteten Patienten) (Meybohm et al., 2015) und auch anderen großen kardiochirurgischen Studien nachweisbar, wie z.B. ERRICA-Studie (71,5 % ♂, 1596 ausgewertete Patienten) (Hausenloy et al., 2015). Im Vergleich zwischen den beiden Studienarmen zeigten sich jeweils keine signifikanten Unterschiede.

Das durchschnittliche Alter der Studienpatienten betrug in unserer Untersuchung 66 ± 10 Jahre (RIPC) bzw. 68 ± 10 Jahre (Kontrollgruppe) und unterschied sich somit nicht wesentlich vom Studienkollektiv der Hauptstudie ($65,8 \pm 10,7$ Jahre RIPC bzw. $66,0 \pm 10,0$ Kontrollgruppe). Auch das von Friedrich et al. (2009) mit 68,8 Jahren angegebene durchschnittliche Alter aller kardiochirurgischen Patienten 2007 in Deutschland liegt in diesem Bereich.

Das Patientenalter könnte insoweit von Relevanz sein, als Studien zeigen konnten, dass an alterndem Myokard die kardioprotektiven Effekte von (direkter) ischämischer Präkonditionierung nur noch abgeschwächt nachweisbar sind (Abete et al., 1996; Fenton et al., 2000). Dies betrifft naturgemäß genau die Zielgruppe, die das höchste Risiko für kardiale Erkrankungen aufweist (Calabrese, 2016). Nachdem RIPC sich in diversen experimentellen Untersuchungen als schlagkräftiges Instrument zur Verminderung von Ischämie- und Reperfusionsschäden erwiesen hat (Calabrese, 2016), ließ sich bedauerlicherweise auch in groß angelegten klinischen Studien kein Vorteil im Hinblick auf klinisch gewählte Outcomeparameter nachweisen (Hausenloy et al., 2015; Meybohm et al., 2015). Behmenburg et al. (2016) nahmen dies zum Anlass, um den Einfluss des Alters nun auch für RIPC zu untersuchen, im Gegensatz zu vorangegangenen Studien mit ausschließlich am Zielorgan durchgeführter ischämischer Präkonditionierung. Die Ergebnisse zeigten ein vollständiges Ausbleiben der RIPC-vermittelten Kardioprotektion am gealterten Rattenherz.

In diesem Zusammenhang erscheint auch eine Arbeit von Abete et al. (1997) interessant, die sich mit Kardioprotektion durch das Auftreten von Angina Pectoris vor einem akuten Myokardinfarkt befasst. Auch hier waren die Effekte an älteren Patienten weniger offensichtlich. Calabrese (2016) nimmt an, dass der altersbedingte Verlust einer durch ischämische Präkonditionierung bedingten kardioprotektiven Wirkung ein durch Umwelteinflüsse veränderbarer Prozess sein könnte.

4.6.2 Begleitmedikation

Als relevante Begleit- und/oder Dauermedikation im Hinblick auf die Studienergebnisse sollen an dieser Stelle Benzodiazepine, Beta-Rezeptorenblocker und Propofol näher besprochen werden. Weitere Interaktionen können nicht ausgeschlossen werden.

4.6.2.1 Benzodiazepine

Die Standardprämedikation vor kardiochirurgischen Eingriffen in unserem Klinikum besteht aus einer einmaligen Dosis von 3,75-7,5 mg Midazolam oral am Morgen der Operation. Es gibt Hinweise darauf, dass die Verabreichung von Benzodiazepinen zu einer Suppression der Melatonin-Spiegel durch Einwirkung auf den GABA-Rezeptorkomplex führt (Golombek et al., 1992; McIntyre et al., 1993; Reber et al., 1998). Unter diesem Gesichtspunkt ist die Beeinflussung der gemessenen Werte durch Gabe von Midazolam als Prämedikation möglich.

4.6.2.2 Beta-Rezeptorenblocker

Eine Untersuchung von Stoschitzky et al. (1999) zeigte, dass die nächtliche Melatonin-Sekretion auch durch die Einnahme von β -Blockern supprimiert werden kann. Eine spezifische Inhibition von adrenergen β 1-Rezeptoren in der Glandula pinealis und in der Folge eine verringerte Melatonin-Ausschüttung wurden für die Substanzen Atenolol und Propranolol nachgewiesen, interessanterweise nicht für Carvedilol. Da ein großer Anteil der kardiochirurgischer Patienten β -Blocker einnehmen (genaue Zahlen wurden für das vorliegende Kollektiv nicht erfasst), ist auch hier eine Beeinflussung denkbar. Sakotnik et al. (1999) stellten jedoch heraus, dass bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung ohnehin bereits eine geringere Melatonin-Synthese zu verzeichnen ist und diese durch zusätzliche Verabreichung eines β -Blockern nicht mehr weiter abfällt.

4.6.2.3 Propofol

Alle Patienten der vorliegenden Untersuchung erhielten aufgrund des Reglements der RIPHeart-Studie eine totale intravenöse Anästhesie (TIVA) mit Propofol als Anästhetikum. Im Nachgang der Hauptstudie wurde die Frage aufgeworfen, ob der ausbleibende Studienerfolg auf die Verwendung von Propofol zurückgeführt werden kann (Meybohm et al., 2015). Eine Untersuchung von Kottenberg et al. (2014) legt nahe, dass das Medikament aktiv in die kardioprotektiven Signalwege von RIPC eingreift und hierdurch gegebenenfalls einen vorteilhaften Effekt verhindert. Andererseits kann Propofol (2,6-diisopropylphenol) selbst auch eine Vitamin E (Alpha-Tocopherol)-ähnliche antioxidative Wirkung entfalten (Murphy et al., 1992; Zakkar et al., 2015). Lim et al. (2005) zeigten, dass allein hierdurch eine protektive Wirkung im Hinblick auf einen Ischämie- und Reperfusionsschaden ausgeübt wird. Da die Wirkung von ischämischer Präkonditionierung – zumindest teilweise – durch von der Anwesenheit von Sauerstoffradikalen vermittelt wird (Tanaka et al., 1994), ist auch denkbar, dass die antioxidative Wirkung von Propofol hier entgegenwirkt.

4.7 Einfluss von Beleuchtung auf Melatoninkonzentrationen

Beleuchtung hat bekanntermaßen einen supprimierenden Einfluss auf die – vor allem nächtliche – Melatoninsekretion (Lewy et al., 1980). Das Ausmaß der Suppression ist hierbei abhängig von der Wellenlänge und Intensität des ausgestrahlten Lichts (Brainard et al., 2015; Brainard et al., 1985; Wright und Lack, 2001). Im Rahmen unserer Studie wurden keine Lichtintensitäten gemessen, nach Anästhesieeinleitung im OP wurden jedoch bei allen Patienten die Augen verschlossen und sorgfältig mit Tape abgedeckt. Der mögliche Einfluss der perioperativen Lichtexposition konnte bei der Datenauswertung nicht berücksichtigt werden.

4.8 Statistische Limitationen

Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine nur lokal durchgeführte und mit klinik-eigenen Mitteln finanzierte Substudie handelte, war die mögliche Patientenzahl begrenzt. Eine vorherige Fallzahlkalkulation wurde aufgrund der Eigenschaft als Pilotstudie nicht durchgeführt. 32 Patienten gingen letztlich in die Auswertung ein. Aus diesem Grund ist die Aussagekraft – gerade für Subpopulationen – erwartungsgemäß eingeschränkt. Andererseits ist die Kollektivgröße von vergleichbaren, ebenfalls unter klinischen Bedingungen durchgeführten Untersuchungen, selten größer gewählt: z.B. Zitta et al. (2014): 35 Patienten, Guo et al. (2002): 12 Patienten, García-de-la-Asunción et al. (2013): 30 Patienten, Sokullu et al. (2009): 40 Patienten, Mentese et al. (2014): 23 Patienten.

4.9 Ausblick

Es gibt unterschiedliche Ansätze, die alle darauf abzielen, das operative Trauma und negative Auswirkungen des kardiopulmonalen Bypasses zu reduzieren. Einerseits werden neue HLM-Systeme mit biokompatiblen und verkleinerten Oberflächen entwickelt, die die ausgelöste inflammatorische Reaktion, die Absorption von wichtigen Spurenelementen und das Niveau des oxidativen Stresses eindämmen (Baehner et al., 2012; McDonald et al., 2014). Andererseits werden zunehmend Versuche unternommen, Antioxidantien und Spurenelemente als essentielle Grundlage für die Synthese von Antioxidantien zu substituieren, oder auch der Kardioplegielösung beizumischen, um den durch einen CPB bedingten oxidativen Stress zu mindern (Türker et al., 2016; Zakkar et al., 2015). Auch alternative Verfahren, wie „Off-pump“-Eingriffe kommen, wenn möglich, vermehrt zum Einsatz (Gummert et al., 2007).

Nachdem Guo et al. (2002) bereits die Frage aufgeworfen hatten, ob die Verabreichung Melatonin vor einem kardiochirurgischen Eingriff sinnvoll ist, wurde von Dwaich et al. (2016) eine Studie an 45 Patienten durchgeführt und die orale Gabe unterschiedlicher Melatonin-Dosierungen gegen Placebo getestet. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass der auftretende Ischämie- und Reperfusionsschaden dosisabhängig gemindert wurde. Genade et al. (2006) hatten anhand eines Versuchs an isolierten Rattenherzen festgestellt, dass der Zeitpunkt einer Melatonin-Gabe von entscheidender Bedeutung ist.

Bei Verabreichung in der Reperfusionphase wurde eine Kardioprotektion nachgewiesen, bei Gabe vor und während eines Präkonditionierungsprotokolls wurde der positive Effekt der IPC hingegen aufgehoben. Daraufhin applizierten Dominguez-Rodriguez et al. (2017) im Rahmen der MARIA-Studie Patienten mit einem ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI) im Rahmen der Koronarintervention (PCI) Melatonin intravenös und intracoronar. Hier konnte kein Unterschied bei der resultierenden Infarktgröße festgestellt werden. Vielmehr wurde ein unerwünschter Effekt in Bezug auf Ventrikelvolumina und die linksventrikuläre Pumpfunktion gemessen.

Ein weiterer aktueller Ansatz ist auch die Substitution von Selen. Stoppe et al. (2011) zeigten, dass eine niedrige Selen-Konzentration am Ende eines kardiochirurgischen Eingriffs ein unabhängiger Prädiktor für die Entwicklung eines postoperativen Multiorganversagens war, und dass zudem die Mehrzahl der kardiochirurgischen Patienten an einem Selenmangel leiden. Der größte Teil der sogenannten Selenoproteine, zu denen auch Glutathionperoxidase (GPx) gehört, weist eine ausgeprägte antioxidative Charakteristik auf. Erste vielversprechende Ergebnisse deuteten auf eine Kardioprotektion durch Selen-Substitution hin (Benstoem et al., 2015). Anhand einer groß angelegten internationalen multizentrischen Studie (SUSTAIN CSX™-Trial, NCT02002247), an der auch unsere Klinik als Prüfzentrum teilnimmt, soll diese Annahme aktuell näher evaluiert werden (Stoppe et al., 2014).

5. Zusammenfassung

Allein in Deutschland werden jährlich ca. 100.000 Operationen am Herzen durchgeführt. Hierbei steigen das durchschnittliche Patientenalter und, damit verbunden, auch die bestehenden Komorbiditäten stetig an. Diese Entwicklung führt dazu, dass neue Konzepte entwickelt werden müssen, um die hierdurch erhöhte perioperative Komplikationsrate und Letalität weiter zu senken. In den letzten Jahren hat sich hier die ischämische Fernpräkonditionierung (RIPC) als vielversprechender Ansatz für eine Organprotektion gezeigt, ein Verfahren bei dem durch Herbeiführen mehrerer kurzer Zyklen von Ischämie und Reperfusion – beispielsweise durch suprasystolisch aufgepumpte Blutdruckmanschette am Arm – eine protektive Wirkung im Hinblick auf Zelluntergang durch eine folgende längere Ischämiephase erzielt wird. Die zugrundeliegenden genauen Wirkmechanismen sind allerdings bis heute nicht vollständig geklärt.

In der vorliegenden Untersuchung, die als lokale Substudie der nationalen Multicenterstudie RIPHeart-Study (Meybohm et al., 2012) durchgeführt wurde, sollte anhand von kardiochirurgischen Patienten untersucht werden, ob oxidativer Stress und endogene Antioxidantien eine Rolle in den Wirkungsmechanismen von RIPC spielen. Im Rahmen der Untersuchung wurden die Auswirkungen von RIPC auf oxidativen Stress (hier: 8-Hydroxydesoxyguanosin, 8-OHdG als Biomarker) und die extrazellulären Konzentrationen von Melatonin sowie der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GPx) untersucht. Weiterhin wurde der Einfluss der präoperativ gemessenen Melatoninkonzentration auf das Niveau von oxidativem Stress und die Konzentrationen der antioxidativen Enzyme SOD und GPx analysiert.

Als Hauptergebnis fanden wir heraus, dass die Durchführung von RIPC im Vergleich mit einer Kontrollgruppe in einer signifikant höheren postoperativen Melatoninkonzentration resultiert. Eine Auswirkung der Intervention auf der extrazellulären Konzentration von SOD, GPx oder 8-OHdG konnte nicht nachgewiesen werden. Im Gesamtkollektiv kam es zu einem signifikanten Anstieg von SOD während des kardiopulmonalen Bypasses an der Herz-Lungen-Maschine, während die GPx-Spiegel abfielen. Höhere präoperative Melatonin-Spiegel zeigten sich als unabhängiger Prädiktor für niedrigere Level von oxidativem Stress zum Ende der Operation.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden als Online-Vorabveröffentlichung publiziert in:

Struck R, Wittmann M, **Recht T**, Baumgarten G, Meybohm P, Müller A, Bagci S. Effect of remote ischemic preconditioning on the melatonin and antioxidative status: a pilot study in patients undergoing cardiac surgery. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. 2017; doi: 10.23736/S0021-9509.17.09736-1. [Epub ahead of print]

6. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Zeitlicher Ablauf der Studienintervention RIPC	28
Abb. 2: Studienablauf bei RIPC- und Kontrollgruppe mit Kennzeichnung der Blutentnahmezeitpunkte	29
Abb. 3: Geschlechterverteilung im Studienkollektiv	33
Abb. 4: Altersverteilung im Studienkollektiv	34
Abb. 5: Kardiochirurgische Eingriffe bei Studienteilnehmern nach Randomisierungsgruppe und prozentual vom Gesamtkollektiv	36
Abb. 6: Das Patientenalter war Prädiktor für die Dauer des ICU-Aufenthaltes.....	39
Abb. 7: Serumkreatininwerte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2	40
Abb. 8: Melatoninmessungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2	42
Abb. 9: eSOD-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2	44
Abb. 10: eGPx-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2	45
Abb. 11: 8-OHdG-Messungen zu den Zeitpunkten T0 bis T2	47
Abb. 12: Perioperative Troponin-Bestimmung	49
Tab. 1: Demografische Daten	34
Tab. 2: Relevante Vorerkrankungen im Vergleich zwischen RIPC- und Kontrollgruppe	35
Tab. 3: Kardiochirurgische Eingriffe bei Studienteilnehmern nach Randomisierungsgruppe	36
Tab. 4: Dauer des kardiopulmonalen Bypasses und Aortenklammzeit.	37
Tab. 5: ICU-Verweildauer und Dauer der invasiven Beatmung.....	38
Tab. 6: Melatoninwerte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2	41
Tab. 7: eSOD und eGPx-Werte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2.....	43
Tab. 8: 8-OHdG-Werte zu den Untersuchungszeitpunkten T0 bis T2	46

7. Literaturverzeichnis

Abdallah Y, Kasseckert SA, Iraqi W, Said M, Shahzad T, Erdogan A, Neuhofer C, Gündüz D, Schlüter K-D, Tillmanns H, Piper HM, Reusch HP, Ladilov Y. Interplay between Ca²⁺ cycling and mitochondrial permeability transition pores promotes reperfusion-induced injury of cardiac myocytes. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 2478–2485

Abete P, Ferrara N, Cacciatore F, Madrid A, Bianco S, Calabrese C, Napoli C, Scognamiglio P, Bollella O, Cioppa A, Longobardi G, Rengo F. Angina-induced protection against myocardial infarction in adult and elderly patients: a loss of preconditioning mechanism in the aging heart? *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 947–954

Abete P, Ferrara N, Cioppa A, Ferrara P, Bianco S, Calabrese C, Cacciatore F, Longobardi G, Rengo F. Preconditioning does not prevent postischemic dysfunction in aging heart. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1777–1786

Al-Aubaidy HA, Jelinek HF. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 899–904

Albrecht M, Zitta K, Bein B, Wennemuth G, Broch O, Renner J, Schuett T, Lauer F, Maahs D, Hummitzsch L, Cremer J, Zacharowski K, Meybohm P. Remote ischemic preconditioning regulates HIF-1 α levels, apoptosis and inflammation in heart tissue of cardio-surgical patients: a pilot experimental study. *Basic Res Cardiol* 2013; 108: 314

Araki E, Nishikawa T. Oxidative stress: A cause and therapeutic target of diabetic complications. *J Diabetes Investig* 2010; 1: 90–96

Arvola O, Haapanen H, Herajärvi J, Anttila T, Puistola U, Karihtala P, Anttila V, Juvonen T. Remote Ischemic Preconditioning Attenuates Oxidative Stress during Cardiopulmonary Bypass. *Heart Surg Forum* 2016; 19: E192-197

Axelrod J, Weissbach H. Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science*. 1960; 131: 1312

Baehner T, Boehm O, Probst C, Poetzsch B, Hoeft A, Baumgarten G, Knuefermann P. Kardiopulmonaler Bypass in der Herzchirurgie. *Anaesthesist* 2012; 61: 846–856

Beckmann A, Funkat A-K, Lewandowski J, Frie M, Ernst M, Hekmat K, Schiller W, Gummert JF, Welz A. German Heart Surgery Report 2015: The Annual Updated Registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 2016; 64: 462–474

Behmenburg F, Heinen A, Bruch LV, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning is Blocked in the Aged Rat Heart in Vivo. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2016;

Benstoem C, Goetzenich A, Kraemer S, Borosch S, Manzanares W, Hardy G, Stoppe C. Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know? *Nutrients* 2015; 7: 3094–3118

Berger MM, Shenkin A. Update on clinical micronutrient supplementation studies in the critically ill. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 711–716

Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic Preconditioning at a Distance. *Circulation* 1997; 96: 1641–1646

Boldt J, Brenner T, Lehmann A, Suttner SW, Kumle B, Isgro F. Is kidney function altered by the duration of cardiopulmonary bypass? *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 906–912

Borjigin J, Li X, Snyder SH. The pineal gland and melatonin: molecular and pharmacologic regulation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 53–65

Brainard GC, Hanifin JP, Warfield B, Stone MK, James ME, Ayers M, Kubey A, Byrne B, Rollag M. Short-wavelength enrichment of polychromatic light enhances human melatonin suppression potency. *J Pineal Res* 2015; 58: 352–361

Brainard GC, Lewy AJ, Menaker M, Fredrickson RH, Miller LS, Weleber RG, Cassone V, Hudson D. Effect of light wavelength on the suppression of nocturnal plasma melatonin in normal volunteers. *Ann N Y Acad Sci* 1985; 453: 376–378

Bromage DI, Pickard JM, Rossello X, Ziff OJ, Burke N, Yellon DM, Davidson SM. Remote ischaemic conditioning reduces infarct size in animal in vivo models of ischaemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Res* 2016; cvw219

Brooker RF, Brown WR, Moody DM, Hammon JW, Reboussin DM, Deal DD, Ghazi-Birry HS, Stump DA. Cardiotomy suction: a major source of brain lipid emboli during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 1651–1655

Bruggemans EF. Cognitive dysfunction after cardiac surgery: Pathophysiological mechanisms and preventive strategies. *Neth. Heart J. Mon. J Neth Soc Cardiol Neth Heart Found* 2013; 21: 70–73

Bulger EM, Maier RV. Antioxidants in critical illness. *Arch Surg* 2001; 136: 1201–1207

Calabrese EJ. Pre- and post-conditioning hormesis in elderly mice, rats, and humans: its loss and restoration. *Biogerontology* 2016; 17: 681–702

Case J, Ingram DA, Haneline LS. Oxidative stress impairs endothelial progenitor cell function. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 1895–1907

Cha J, Wang Z, Ao L, Zou N, Dinarello CA, Banerjee A, Fullerton DA, Meng X. Cytokines link Toll-like receptor 4 signaling to cardiac dysfunction after global myocardial ischemia. *Ann Thorac Surg* 2008; 85: 1678–1685

Chambers DJ, Fallouh HB. Cardioplegia and cardiac surgery: pharmacological arrest and cardioprotection during global ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther* 2010; 127: 41–52

Chenevard R, Suter Y, Erne P. Effects of the heart-lung machine on melatonin metabolism and mood disturbances. *Eur J Cardio-Thorac Surg* 2008; 34: 338–343

Cohn LH. Fifty years of open-heart surgery. *Circulation* 2003; 107: 2168–2170

D'Ascenzo F, Cavallero E, Moretti C, Omede P, Sciuto F, Rahman IA, Bonser RS, Yunseok J, Wagner R, Freiburger T, Kunst G, Marber MS, Thielmann M, Ji B, Amr YM, Modena MG, Zoccai GB, Sheiban I, Gaita F. Remote ischaemic preconditioning in coronary artery bypass surgery: a meta-analysis. *Heart Br Card Soc* 2012; 98: 1267–1271

Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie. Gesamtzahl der herzchirurgischen Eingriffe auf stabilem Niveau [Internet]. 2016, Pfad: http://www.dgthg.de/de/pm_LstStat, Zugriffsdatum: 24.10.2016

Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 446–456

Dickson EW, Reinhardt CP, Renzi FP, Becker RC, Porcaro WA, Heard SO. Ischemic preconditioning may be transferable via whole blood transfusion: preliminary evidence. *J Thromb Thrombolysis* 1999; 8: 123–129

Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Reiter RJ. Melatonin and cardiovascular disease: myth or reality? *Rev Espanola Cardiol Engl Ed* 2012; 65: 215–218

Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, de la Torre-Hernandez JM, Gonzalez-Gonzalez J, Garcia-Camarero T, Consuegra-Sanchez L, Garcia-Saiz MDM, Aldea-Perona A, Virgos-Aller T, Azpeitia A, Reiter RJ, MARIA Investigators. Effect of intravenous and intracoronary melatonin as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: Results of the Melatonin Adjunct in the acute myocardial infarction treated with Angioplasty trial. *J Pineal Res* 2017; 62

Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47–95

Dwaich KH, Al-Amran FGY, Al-Sheibani BIM, Al-Aubaidy HA. Melatonin effects on myocardial ischemia-reperfusion injury: Impact on the outcome in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery. *Int J Cardiol* 2016; 221: 977–986

Facciola G, Hidestrand M, von Bahr C, Tybring G. Cytochrome P450 isoforms involved in melatonin metabolism in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 56: 881–888

Fellahi J-L, Gué X, Richomme X, Monier E, Guillou L, Riou B. Short- and long-term prognostic value of postoperative cardiac troponin I concentration in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 2003; 99: 270–274

Fenton RA, Dickson EW, Meyer TE, Dobson JG. Aging reduces the cardioprotective effect of ischemic preconditioning in the rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 1371–1375

Flegler S, Paro FM. Factors Associated with Intubation Time and ICU Stay After CABG. *Braz J Cardiovasc Surg* 2015; 30: 631–635

Friedrich I, Simm A, Kötting J, Thölen F, Fischer B, Silber R-E. Der alte Patient in der Herzchirurgie. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 416–422

Furunaga A, Tsuboi H, Itoh H, Kawamura T, Minami Y, Gohra H, Katoh T, Fujimura Y, Esato K. [Significance of systemic inflammatory response syndrome at cardiopulmonary bypass]. *Zasshi J Nihon Kyobu Geka Gakkai* 1996; 44: 790–794

Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res* 2011; 51: 1–16

García-de-la-Asunción J, Pastor E, Perez-Griera J, Belda FJ, Moreno T, García-del-Olmo E, Martí F. Oxidative stress injury after on-pump cardiac surgery: effects of aortic cross clamp time and type of surgery. *Redox Rep. Commun. Free Radic Res* 2013; 18: 193–199

Gasz B, Lenard L, Racz B, Benko L, Borsiczky B, Cserepes B, Gal J, Jancso G, Lantos J, Ghosh S, Szabados S, Papp L, Alotti N, Roth E. Effect of cardiopulmonary bypass on cytokine network and myocardial cytokine production. *Clin Cardiol* 2006; 29: 311–315

Genade S, Ytrehus K, Lochner A. Melatonin prevents cardioprotection induced by a multi-cycle ischaemic preconditioning protocol in the isolated perfused rat heart. *Cardiovasc J S Afr* 2006; 17: 239–244

Gho BCG, Schoemaker RG, Doel MA van den, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial Protection by Brief Ischemia in Noncardiac Tissue. *Circulation* 1996; 94: 2193–2200

Gibbon JH. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 37: 171–185

Golombek DA, Escolar E, Burin LJ, De Brito Sánchez MG, Fernández Duque D, Cardinali DP. Chronopharmacology of melatonin: inhibition by benzodiazepine antagonism. *Chronobiol Int* 1992; 9: 124–131

Guimarães Filho MAC, Cortez E, Garcia-Souza ÉP, Soares V de M, Moura AS, Carvalho L, Maya MC de A, Pitombo MB. Effect of remote ischemic preconditioning in the expression of IL-6 and IL-10 in a rat model of liver ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir Bras* 2015; 30: 452–460

Gummert JF, Funkat A, Beckmann A, Schiller W, Hekmat K, Ernst M, Krian A. Cardiac surgery in Germany during 2006: a report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 55: 343–350

Guo X, Kuzumi E, Charman SC, Vuylsteke A. Perioperative melatonin secretion in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Anesth Analg* 2002; 94: 1085–1091, table of contents

Hake U, Dahm M, Böning A, Massoudy P, Schmitz C, Tzanova I. Koronaroperationen ohne Herz-Lungen-Maschine. *Dtsch Arztebl* 2007; 104: 2127–2132

Haller PM, Kiss A, Wojta J, Podesser BK, Huber K. Kardioprotektion über den Arm? *Herz* 2016; 1–8

Haramaki N, Stewart DB, Aggarwal S, Ikeda H, Reznick AZ, Packer L. Networking antioxidants in the isolated rat heart are selectively depleted by ischemia-reperfusion. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 329–339

Hashemzadeh K, Dehdilani M. Postoperative cardiac troponin I is an independent predictor of in-hospital death after coronary artery bypass grafting. *J Cardiovasc Surg* 2009; 50: 403–409

Hausenloy DJ, Barrabes JA, Bøtker HE, Davidson SM, Di Lisa F, Downey J, Engstrom T, Ferdinandy P, Carbrera-Fuentes HA, Heusch G, Ibanez B, Iliodromitis EK, Insele J, Jennings R, Kalia N, Kharbanda R, Lecour S, Marber M, Miura T, Ovize M, Perez-Pinzon MA, Piper HM, Przyklenk K, Schmidt MR, Redington A, Ruiz-Meana M, Vilahur G, Vinten-Johansen J, Yellon DM, Garcia-Dorado D. Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery. *Basic Res Cardiol* 2016; 111: 70

Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, Ariti C, Jenkins DP, Kolvekar S, Knight R, Kunst G, Laing C, Nicholas J, Pepper J, Robertson S, Xenou M, Clayton T, Yellon DM, ERICCA Trial Investigators. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery. *N Engl J Med* 2015; 373: 1408–1417

Hausenloy DJ, Yellon DM. New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 448–460

Heusch G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ Res* 2015; 116: 674–699

Hibert P, Prunier-Mirebeau D, Beseme O, Chwastyniak M, Tamareille S, Lamon D, Furber A, Pinet F, Prunier F. Apolipoprotein a-I is a potential mediator of remote ischemic preconditioning. *PloS One* 2013; 8: e77211

Hirai S. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 9: 365–370

Hoshida S, Kuzuya T, Fuji H, Yamashita N, Oe H, Hori M, Suzuki K, Taniguchi N, Tada M. Sublethal ischemia alters myocardial antioxidant activity in canine heart. *Am J Physiol* 1993; 264: H33-39

Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol* 1960; 70: 68–78

Jensen RV, Støttrup NB, Kristiansen SB, Bøtker HE. Release of a humoral circulating cardioprotective factor by remote ischemic preconditioning is dependent on preserved neural pathways in diabetic patients. *Basic Res Cardiol* 2012; 107: 285

Kalakech H, Hibert P, Prunier-Mirebeau D, Tamareille S, Letournel F, Macchi L, Pinet F, Furber A, Prunier F. RISK and SAFE signaling pathway involvement in apolipoprotein A-I-induced cardioprotection. *PLoS One* 2014; 9: e107950

Kaneo T, Tahara S, Matsuo M. Non-linear accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidized DNA damage, during aging. *Mutat Res* 1996; 316: 277–285

Karkouti K, Wijeyesundera DN, Yau TM, Callum JL, Cheng DC, Crowther M, Dupuis J-Y, Frenes SE, Kent B, Laflamme C, Lamy A, Legare J-F, Mazer CD, McCluskey SA, Rubens FD, Sawchuk C, Beattie WS. Acute kidney injury after cardiac surgery: focus on modifiable risk factors. *Circulation* 2009; 119: 495–502

Karlsson K, Marklund SL. Heparin-induced release of extracellular superoxide dismutase to human blood plasma. *Biochem J* 1987; 242: 55–59

Karlsson K, Marklund SL. Plasma clearance of human extracellular-superoxide dismutase C in rabbits. *J Clin Invest* 1988; 82: 762–766

Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA, Vogel M, Sorensen K, Redington AN, MacAllister R. Transient Limb Ischemia Induces Remote Ischemic Preconditioning In Vivo. *Circulation* 2002; 106: 2881–2883

Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 845–857

Klein DC. Circadian rhythms in the pineal gland. *Endocr. Rhythms*. Raven Press New York; 1979. p. 203–223

Klein DC, Weller JL. Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Science* 1972; 177: 532–533

Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation* 1989; 80: 1115–1127

Kobayashi J, Tashiro T, Ochi M, Yaku H, Watanabe G, Satoh T, Tagusari O, Nakajima H, Kitamura S, Japanese Off-Pump Coronary Revascularization Investigation (JOCRI) Study Group. Early outcome of a randomized comparison of off-pump and on-pump multiple arterial coronary revascularization. *Circulation* 2005; 112: 1338–343

Kottenberg E, Musiolik J, Thielmann M, Jakob H, Peters J, Heusch G. Interference of propofol with signal transducer and activator of transcription 5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2014; 147: 376–382

Kottenberg E, Thielmann M, Bergmann L, Heine T, Jakob H, Heusch G, Peters J. Protection by remote ischemic preconditioning during coronary artery bypass graft surgery with isoflurane but not propofol - a clinical trial. *Acta Anaesthesiol Scand* 2012; 56: 30–38

Kroese LJ, Scheffer PG. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and cardiovascular disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16: 452

Laakso M-L, Porkka-Heiskanen T, Alila A, Stenberg D, Johansson G. Twenty-Four-Hour Rhythms in Relation to the Natural Photoperiod: A Field Study in Humans. *J Biol Rhythms* 1994; 9: 283–293

Laffey JG, Boylan JF, Cheng DCH. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002; 97: 215–252

Larmann J, Theilmeyer G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2004; 18: 425–438

Le Page S, Bejan-Angoulvant T, Angoulvant D, Prunier F. Remote ischemic conditioning and cardioprotection: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Basic Res Cardiol* 2015; 110: 11

Lecour S. Activation of the protective Survivor Activating Factor Enhancement (SAFE) pathway against reperfusion injury: Does it go beyond the RISK pathway? *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47: 32–40

Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 177–196

Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 1980; 210: 1267–1269

Lim KHH, Halestrap AP, Angelini GD, Suleiman M-S. Propofol is cardioprotective in a clinically relevant model of normothermic blood cardioplegic arrest and cardiopulmonary bypass. *Exp Biol Med* Maywood NJ 2005; 230: 413–420

Lim SY, Yellon DM, Hausenloy DJ. The neural and humoral pathways in remote limb ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol* 2010; 105: 651–655

Mahal HS, Sharma HS, Mukherjee T. Antioxidant properties of melatonin: a pulse radiolysis study. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 557–565

Mao H, Katz N, Ariyanon W, Blanca-Martos L, Adýbelli Z, Giuliani A, Danesi TH, Kim JC, Nayak A, Neri M, Virzi GM, Brocca A, Scalzotto E, Salvador L, Ronco C. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Blood Purif* 2014; 37 Suppl 2: 34–50

Masuda M, Morita S, Tomita H, Kurisu K, Nishida T, Tominaga R, Yasui H. Off-pump CABG attenuates myocardial enzyme leakage but not postoperative brain natriuretic peptide secretion. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 8: 139–144

Mathew JP, Fontes ML, Tudor IC, Ramsay J, Duke P, Mazer CD, Barash PG, Hsu PH, Mangano DT, Investigators of the Ischemia Research and Education Foundation, Multi-center Study of Perioperative Ischemia Research Group. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery. *JAMA* 2004; 291: 1720–1729

Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martin V, Rodriguez C. Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. *Cell Mol Life Sci CMLS* 2002; 59: 1706–1713

McCord CP, Allen FP. Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *J Exp Zool Part Ecol Genet Physiol* 1917; 23: 207–224

McDonald CI, Fraser JF, Coombes JS, Fung YL. Oxidative stress during extracorporeal circulation. *Eur J Cardio-Thorac Surg* 2014; 46: 937–943

McDonald CI, Fung YL, Fraser JF. Antioxidant trace element reduction in an in vitro cardiopulmonary bypass circuit. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2012; 58: 217–222

McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM. Alterations to plasma melatonin and cortisol after evening alprazolam administration in humans. *Chronobiol Int* 1993; 10: 205–213

McKhann GM, Grega MA, Borowicz LM, Baumgartner WA, Selnes OA. Stroke and encephalopathy after cardiac surgery: an update. *Stroke J Cereb Circ* 2006; 37: 562–571

McKinlay KH, Schinderle DB, Swaminathan M, Podgoreanu MV, Milano CA, Messier RH, El-Moalem H, Newman MF, Clements FM, Mathew JP. Predictors of inotrope use during separation from cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 18: 404–408

Menendez-Pelaez A, Reiter RJ. Distribution of melatonin in mammalian tissues: the relative importance of nuclear versus cytosolic localization. *J Pineal Res* 1993; 15: 59–69

Mentese U, Dogan OV, Turan I, Usta S, Dogan E, Mentese SO, Demir S, Ozer T, Aykan AC, Alver A. Oxidant-antioxidant balance during on-pump coronary artery bypass grafting. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 263058

Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, Coburn M, Schaelte G, Böning A, Niemann B, Roesner J, Kletzin F, Strouhal U, Reyher C, Laufenberg-Feldmann R, Ferner M, Brandes IF, Bauer M, Stehr SN, Kortgen A, Wittmann M, Baumgarten G, Meyer-Treschan T, Kienbaum P, Heringlake M, Schön J, Sander M, Treskatsch S, Smul T, Wolwender E, Schilling T, Fuernau G, Hasenclever D, Zacharowski K, RIPHeart Study Collaborators. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *N Engl J Med* 2015; 373: 1397–1407

Meybohm P, Zacharowski K, Cremer J, Roesner J, Kletzin F, Schaelte G, Felzen M, Strouhal U, Reyher C, Heringlake M, Schon J, Brandes I, Bauer M, Knuefermann P, Wittmann M, Hachenberg T, Schilling T, Smul T, Maisch S, Sander M, Moormann T, Boening A, Weigand MA, Laufenberg R, Werner C, Winterhalter M, Treschan T, Stehr SN, Reinhart K, Hasenclever D, Brosteanu O, Bein B. Remote ischaemic preconditioning for heart surgery. The study design for a multi-center randomized double-blinded controlled clinical trial--the RIPHeart-Study. *Eur Heart J* 2012; 33: 1423–1426

Moens AL, Claeys MJ, Timmermans JP, Vrints CJ. Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *Int J Cardiol* 2005; 100: 179–190

Morgan ET. Regulation of cytochrome p450 by inflammatory mediators: why and how? *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem* 2001; 29: 207–212

Morihira M, Hasebe N, Baljinnnyam E, Sumitomo K, Matsusaka T, Izawa K, Fujino T, Fukuzawa J, Kikuchi K. Ischemic preconditioning enhances scavenging activity of reactive oxygen species and diminishes transmural difference of infarct size. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H577-583

Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth* 1992; 68: 613–618

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124–1136

Newman MF, Kirchner JL, Phillips-Bute B, Gaver V, Grocott H, Jones RH, Mark DB, Reves JG, Blumenthal JA, Neurological Outcome Research Group and the Cardiothoracic Anesthesiology Research Endeavors Investigators. Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med* 2001; 344: 395–402

Olsson M, Janfjäll H, Orth-Gomér K, Undén A, Rosenqvist M. Quality of life in octogenarians after valve replacement due to aortic stenosis. A prospective comparison with younger patients. *Eur Heart J* 1996; 17: 583–589

Osada M, Takeda S, Sato T, Komori S, Tamura K. The protective effect of preconditioning on reperfusion-induced arrhythmia is lost by treatment with superoxide dismutase. *Jpn Circ J* 1994; 58: 259–263

Oury TD, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase in vessels and airways of humans and baboons. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 957–965

Ozen A, Unal EU, Songur M, Kocabeyoglu SS, Hanedan O, Yilmaz M, Turkcan BS, Cicekcioglu F, Kaplan S, Birincioglu CL. Coronary artery bypass grafting in the octogenarians: should we intervene, or leave them be? *J Geriatr Cardiol JGC* 2015; 12: 147–152

Park UJ, Kim HT, Cho WH, Park JH, Jung HR, Kim MY. Remote Ischemic Preconditioning Enhances the Expression of Genes Encoding Antioxidant Enzymes and Endoplasmic Reticulum Stress-Related Proteins in Rat Skeletal Muscle. *Vasc Spec Int* 2016; 32: 141–149

Penttilä HJ, Lepojärvi MV, Kiviluoma KT, Kaukoranta PK, Hassinen IE, Peuhkurinen KJ. Myocardial preservation during coronary surgery with and without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 565–571

Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary M-D, Remacle J. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev* 1990; 51: 283–297

Provenchère S, Plantefève G, Hufnagel G, Vicaut E, De Vaumas C, Lecharny J-B, Depoix J-P, Vrtovsniak F, Desmots J-M, Philip I. Renal dysfunction after cardiac surgery with normothermic cardiopulmonary bypass: incidence, risk factors, and effect on clinical outcome. *Anesth Analg* 2003; 96: 1258–1264, table of contents

Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893–899

Quay WB. Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod. *Gen Comp Endocrinol* 1963; 3: 473–479

Ramis MR, Esteban S, Miralles A, Tan D-X, Reiter RJ. Protective Effects of Melatonin and Mitochondria-targeted Antioxidants Against Oxidative Stress: A Review. *Curr Med Chem* 2015; 22: 2690–2711

Reber A, Huber PR, Ummenhofer W, Gürtler CM, Zurschmiede C, Drewe J, Schneider M. General anaesthesia for surgery can influence circulating melatonin during daylight hours. *Acta Anaesthesiol Scand* 1998; 42: 1050–1056

Redington KL, Disenhouse T, Strantzas SC, Gladstone R, Wei C, Tropak MB, Dai X, Manlihot C, Li J, Redington AN. Remote cardioprotection by direct peripheral nerve stimulation and topical capsaicin is mediated by circulating humoral factors. *Basic Res Cardiol* 2012; 107: 241

Reiter RJ, Tan DX, Galano A. Melatonin: exceeding expectations. *Physiol Bethesda Md* 2014; 29: 325–333

Rosenfeld R, Smith JM, Woods SE, Engel AM. Predictors and outcomes of extended intensive care unit length of stay in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Card Surg* 2006; 21: 146–150

Rosner MH, Portilla D, Okusa MD. Cardiac surgery as a cause of acute kidney injury: pathogenesis and potential therapies. *J Intensive Care Med* 2008; 23: 3–18

Roth E, Manhart N, Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 161–168

Sakotnik A, Liebmann PM, Stoschitzky K, Lercher P, Schauenstein K, Klein W, Eber B. Decreased melatonin synthesis in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 1999; 20: 1314–1317

Sandström J, Carlsson L, Marklund SL, Edlund T. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase C and formation of variants with reduced heparin affinity. *J Biol Chem* 1992; 267: 18205–18209

Schlensak C, Doenst T, Preusser S, Wunderlich M, Kleinschmidt M, Beyersdorf F. Cardiopulmonary bypass reduction of bronchial blood flow: a potential mechanism for lung injury in a neonatal pig model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 1199–1205

Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9: 427–434

Shigenaga MK, Ames BN. Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: a biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1991; 10: 211–216

Simonis G, Strasser RH, Ebner B. Reperfusion injury in acute myocardial infarction. *Crit Care* 2012; 16: 1

Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 13–30

Sokullu O, Sanioğlu S, Kurç E, Sargin M, Deniz H, Tartan Z, Aka SA, Bilgen F. Does the circadian rhythm of melatonin affect ischemia-reperfusion injury after coronary artery bypass grafting? *Heart Surg Forum* 2009; 12: E95-99

Solomon SD, Anavekar NS, Greaves S, Rouleau JL, Hennekens C, Pfeffer MA. Angina pectoris prior to myocardial infarction protects against subsequent left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1511–1514

Stämpfli S, Lüscher T, Flammer A. Remote Ischemic Preconditioning. *Schweiz Med Forum* 2013; 13: 603–605

Stone D, Darley-Usmar V, Smith DR, O'Leary V. Hypoxia-reoxygenation induced increase in cellular Ca²⁺ in myocytes and perfused hearts: the role of mitochondria. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 963–973

Stoppe C, McDonald B, Rex S, Manzanares W, Whitlock R, Fremes S, Fowler R, Lamarche Y, Meybohm P, Habberthür C, Rossaint R, Goetzenich A, Elke G, Day A, Heyland DK. Sodium Selenite Administration IN Cardiac Surgery (SUSTAIN CSX-trial): study design of an international multicenter randomized double-blinded controlled trial of high dose sodium-selenite administration in high-risk cardiac surgical patients. *Trials* 2014; 15: 339

- Stoppe C, Schälte G, Rossaint R, Coburn M, Graf B, Spillner J, Marx G, Rex S. The intraoperative decrease of selenium is associated with the postoperative development of multi-organ dysfunction in cardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2011; 39: 1879–1885
- Stoschitzky K, Sakotnik A, Lercher P, Zweiker R, Maier R, Liebmann P, Lindner W. Influence of beta-blockers on melatonin release. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; 55: 111–115
- Sun X, Lindsay J, Monsein LH, Hill PC, Corso PJ. Silent brain injury after cardiac surgery: a review: cognitive dysfunction and magnetic resonance imaging diffusion-weighted imaging findings. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 791–797
- Tan D, Reiter RJ, Manchester LC, Yan M, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 181–197
- Tan DX, Manchester LC, Burkhardt S, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Shohami E, Huo YS, Hardeland R, Reiter RJ. N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. *FASEB J* 2001; 15: 2294–2296
- Tanaka M, Fujiwara H, Yamasaki K, Sasayama S. Superoxide dismutase and N-2-mercaptopyrionyl glycine attenuate infarct size limitation effect of ischaemic preconditioning in the rabbit. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 980–986
- Tomoda H, Aoki N. Comparison of protective effects of preinfarction angina pectoris in acute myocardial infarction treated by thrombolysis versus by primary coronary angioplasty with stenting. *Am J Cardiol* 1999; 84: 621–625
- Tossios P, Mehlhorn U. Freie Radikale und Antioxidantien in der Herzchirurgie. *Blickpkt Mann* 2004; 2: 36–39
- Trummer G, Beyersdorf F. Herzchirurgische Eingriffe beim älteren Patienten. *Dtsch Med Wochenschr* 2005; 130: 731–734
- Türker FS, Doğan A, Ozan G, Kıbar K, Erişir M. Change in Free Radical and Antioxidant Enzyme Levels in the Patients Undergoing Open Heart Surgery with Cardiopulmonary Bypass. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016: 1783728
- Valen G, Paulsson G, Vaage J. Induction of inflammatory mediators during reperfusion of the human heart. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 226–232
- Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 481–497
- Visser J. Micronutrients: do small things matter? *South Afr. J. Clin. Nutr.* [Internet]. 2010 Pfad: <http://www.ajol.info/index.php/sajcn/article/view/52776>, Zugriffsdatum: 23.02.2017

- Weissman C. Pulmonary complications after cardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 8: 185–211
- Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass. A systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit. *Intensive Care Med* 1987; 13: 89–95
- Wright HR, Lack LC. Effect of light wavelength on suppression and phase delay of the melatonin rhythm. *Chronobiol Int* 2001; 18: 801–808
- Wynne R, Botti M. Postoperative pulmonary dysfunction in adults after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: clinical significance and implications for practice. *Am J Crit Care* 2004; 13: 384–393
- Yang Y, Sun Y, Yi W, Li Y, Fan C, Xin Z, Jiang S, Di S, Qu Y, Reiter RJ, Yi D. A review of melatonin as a suitable antioxidant against myocardial ischemia-reperfusion injury and clinical heart diseases. *J Pineal Res* 2014; 57: 357–366
- Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007; 357: 1121–1135
- Yokose S, Miura T, Hashizume K, Hisata Y, Hisatomi K, Tanigawa K, Eishi K. Long-Term Quality of Life after Cardiac and Thoracic Aortic Surgery for Very Elderly Patients 85 Years or Older. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2016; 22: 298–303
- Young IM, Leone RM, Francis P, Stovell P, Silman RE. Melatonin is metabolized to N-acetyl serotonin and 6-hydroxymelatonin in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 114–119
- Yu L, Sun Y, Cheng L, Jin Z, Yang Y, Zhai M, Pei H, Wang X, Zhang H, Meng Q, Zhang Y, Yu S, Duan W. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: role of SIRT1. *J Pineal Res* 2014; 57: 228–238
- Zakkar M, Guida G, Suleiman M-S, Angelini GD. Cardiopulmonary bypass and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 189863
- Zitta K, Meybohm P, Bein B, Gruenewald M, Lauer F, Steinfath M, Cremer J, Zacharowski K, Albrecht M. Activities of cardiac tissue matrix metalloproteinases 2 and 9 are reduced by remote ischemic preconditioning in cardiosurgical patients with cardiopulmonary bypass. *J Transl Med* 2014; 12: 94
- Zitta K, Meybohm P, Gruenewald M, Cremer J, Zacharowski KD, Scholz J, Steinfath M, Albrecht M. Profiling of cell stress protein expression in cardiac tissue of cardiosurgical patients undergoing remote ischemic preconditioning: implications for thioredoxin in cardioprotection. *J Transl Med* 2015; 13: 34

Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1757: 509–517

Zuo L, Roberts WJ, Tolomello RC, Goins AT. Ischemic and hypoxic preconditioning protect cardiac muscles via intracellular ROS signaling. *Front Biol* 2013; 8: 305–311

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte all denjenigen meinen Dank aussprechen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit maßgeblich unterstützt haben.

Herrn Professor Dr. med. Georg Baumgarten danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die stets unkomplizierte Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Maria Wittmann für die gute Betreuung, jederzeitige Ansprechbarkeit und Motivation, die Arbeit zu Ende zu führen.

Ich danke Herrn PD Dr. med. Soyhan Bağcı für die Zusammenarbeit bei Planung der Studie und Durchführung der Laboruntersuchungen.

Zudem möchte ich mich beim Studienteam der Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin für die Unterstützung bei der Studiendurchführung bedanken, insbesondere bei Herrn Rafael Struck.

Zuletzt danke ich dem gesamten Team des kardiochirurgischen OP's für die Hilfsbereitschaft und Kooperation.