

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR ANÄSTHESIOLOGIE

PROF. DR. B. M. GRAF

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**UNTERSUCHUNG DER ROLLE VON CYCLOOXYGENASE-2 VERMITTELT
GEBILDETEN PROSTAGLANDINEN BEIM EVENTERATIONSSYNDROM**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der

Medizinischen Fakultät

der Universität Regensburg

vorgelegt von

Barbara Meßmann

2008

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR ANÄSTHESIOLOGIE

PROF. DR. B. M. GRAF

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**UNTERSUCHUNG DER ROLLE VON CYCLOOXYGENASE-2 VERMITTELT
GEBILDETEN PROSTAGLANDINEN BEIM EVENTERATIONSSYNDROM**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der

Medizinischen Fakultät

der Universität Regensburg

vorgelegt von

Barbara Meßmann

2008

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Bucher

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Chris Woertgen

Tag der mündlichen Prüfung: 13.03.2009

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	4
2	MATERIAL UND METHODEN	6
2.1	PATIENTEN UND STUDIENDESIGN	6
2.2	ANALYTIK	8
2.2.1	<i>Allgemeine Laborgeräte</i>	8
2.2.2	<i>Bestimmung der 6-keto-PGF_{1α} im Plasma und im Urin</i>	8
2.2.3	<i>Bestimmung von Creatinin im Urin</i>	8
2.2.4	<i>Bestimmung von Parecoxib und Valdecoxib</i>	8
2.3	STATISTIK	12
3	ERGEBNISSE	13
3.1	6-KETO-PGF _{1α} IN PLASMA UND URIN	13
3.2	PARECOXIB UND VALDECOXIB IM PLASMA	14
3.3	HÄMODYNAMIK UND OXYGENSIERUNGSINDEX	15
4	DISKUSSION	17
5	ZUSAMMENFASSUNG	20
6	LITERATURVERZEICHNIS	21
7	LEBENS LAUF	23
8	DANKSAGUNG	24

1 EINLEITUNG

Bei abdominal-chirurgischen Eingriffen kommt es nach Eröffnung des Peritoneums und Exploration der Bauchhöhle durch den Chirurgen häufig zum plötzlichen Auftreten der Symptome Blutdruckabfall, Tachykardie und Gesichtserythem. Dieser Symptomenkomplex wird auch als „mesenteric traction syndrome“ oder „Eventerationssyndrom“ bezeichnet (1-4). Das klinische Bild dieser Eventerationsreaktion reicht von unbedeutenden diskreten Kreislaufreaktionen bis zu ausgeprägten, prolongierten Hypotensionen, die eine differenzierte Katecholamintherapie notwendig machen (5-7).

Die Eventerationsreaktion wird auf die Freisetzung vasodilatierender Cyclooxygenase-Produkte wie Prostaglandin- I_2 (PGI_2) zurückgeführt und offensichtlich durch Manipulation des Dünndarms mit Zug am Mesenterium ausgelöst (2, 8-10). Die zentrale Rolle von Prostanoiden bei der Vermittlung des Eventerationssyndroms wird durch die zeitliche Koinzidenz der Kreislaufsymptome mit erhöhten Serum-Konzentrationen von 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ (stabiler PGI_2 -Metabolit) sowie auch durch die prophylaktische Wirksamkeit von Ibuprofen, einem unselektiven Hemmstoff beider Isoformen der Cyclooxygenase, Cyclooxygenase-1 und Cyclooxygenase-2, belegt (9-11). Dabei verhindert die präoperative Gabe von Ibuprofen sowohl den Anstieg der 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ -Konzentration im Serum als auch die Kreislaufveränderungen beim Eventerationssyndrom. Wegen einer möglichen Beeinträchtigung der Blutgerinnung ist Ibuprofen jedoch nicht als Standardprophylaxe des Eventerationssyndroms in die Klinik eingeführt.

Seit einigen Jahren stehen in Deutschland selektive Cyclooxygenase-2 Inhibitoren zur Verfügung, welche die Blutgerinnung nicht relevant beeinträchtigen. Seit März 2002 ist Dynastat[®] 40 mg mit dem Inhaltsstoff Parecoxib, einer Prodrug des selektiven COX-2 Inhibitors Valdecoxib (s. Abb. 1), zur Behandlung postoperativer Schmerzen zugelassen. Parecoxib (Dynastat[®]) ist der erste injizierbare, selektive Cyclooxygenase-2-Inhibitor in Deutschland. Parecoxib ist eine gut wasserlösliche Prodrug, welche *in vivo* schnell und nahezu vollständig durch Hydrolyse zu Valdecoxib und Propionsäure umgewandelt wird. Diese Umwandlung erfolgt unabhängig von der Leber- und Nierenfunktion. Nach i.v.-Applikation von 40 mg setzt die Wirkung bereits nach 7-10 Minuten ein und dauert 12-24 Stunden. Die C_{max} wird bei der i.m.-Gabe erst nach 1,5 Stunden erreicht, nach i.v.-Applikation

aber schon nach 0,5 Stunden. In einer Studie an Probanden, die 50 mg Parecoxib intravenös erhalten hatten, fielen die Plasmakonzentrationen von Parecoxib mit der Halbwertszeit von 0,69 Stunden ab. Die maximalen Plasmakonzentrationen von Valdecoxib wurden nach 0,6 Stunden erreicht und betragen 1,02 mg/l. Die Eliminationshalbwertszeit von Valdecoxib betrug 7,9 Stunden (12). Valdecoxib wird in der Leber unter Beteiligung der Isoenzyme des Cytochrom-P450-Systems CYP3A4 und CYP2C9 umfangreich metabolisiert. Die Sulfonamiduntereinheit wird CYP-unabhängig glukuronidiert. Wechselwirkungen werden hauptsächlich durch Interaktionen mit den metabolisierenden Enzymsystemen verursacht. CYP2C9-Hemmer wie z.B. Fluconazol und CYP_{3A4}-Hemmer wie z.B. Ketoconazol erhöhen die Valdecoxibplasmaspiegel. Enzyminduktoren wie Rifampicin oder Phenytoin beschleunigen dagegen die Metabolisierung von Valdecoxib. Auch Interaktionen an CYP_{2D6} wurden beschrieben. Die Plasmaproteinbindung von Valdecoxib liegt im therapeutischen Dosierungsbereich bei 98 %. Außerdem wird die Substanz stark an Erythrozyten gebunden. Das Verteilungsvolumen wird mit 55 l, die Eliminationshalbwertszeit mit 8-11 h und die Plasma-Clearance mit 6 l/h angegeben. Bei älteren Patienten und bei Patienten mit Leberfunktionsstörungen ist die Clearance reduziert.

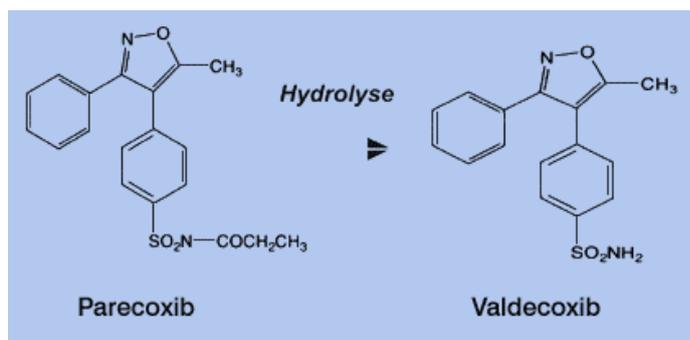


Abb. 1: Chemische Strukturen von Parecoxib und Valdecoxib

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob eine perioperative Medikation mit Dynastat[®] in der Prophylaxe des Eventerationsyndroms wirksamer als Placebo ist. Dabei sollte auch die Rolle von Cyclooxygenase-2 abhängigen Prostaglandinen bei der Vermittlung des Eventerationsyndroms untersucht werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten und Studiendesign

Nach Zustimmung der örtlichen Ethikkommission und nach Aufklärung und schriftlichem Einverständnis wurden 40 erwachsene Patienten, die sich einem nicht-laparoskopisch durchgeführten abdominal-chirurgischen operativen Eingriff unterziehen mussten, in die Studie eingeschlossen und einem prospektiv randomisierten, doppelt-blinden, Placebo-kontrollierten Protokoll zugeführt. Dabei wurden je 20 Patienten mit den Cyclooxygenase-2-Inhibitor Parecoxib oder Placebo behandelt. Kein Patient erhielt steroidale oder nicht-steroidale antiinflammatorische Medikamente einschließlich Aspirin, welche die Aktivität der Cyclooxygenase hätten beeinflussen können.

Die Prämedikation mit Clorzepam (Tranxilium[®], 20-30mg) wurde am Abend vor der Operation oral verabreicht. 13 Patienten (8 aus der Placebogruppe, 5 aus der Parecoxibgruppe) erhielten ergänzend eine thorakale Epiduralanästhesie mit Ropivacain 0,75 % und Sufentanil mit einer sensorischen Zielblockade von ungefähr T4 bis L2. Die Anästhesieeinleitung erfolgte mit Propofol 2-3 mg/kg i.v. und Fentanyl 3-5 µg/kg i.v.. Nach Injektion von Rocuronium 0,6 mg/kg i.v. erfolgte die endotracheale Intubation. Die Anästhesie wurde mit Sevofluran oder Desfluran und ergänzend mit Fentanyl i.v. oder Ropivacain epidural nach den individuellen Bedürfnissen der Patienten aufrechterhalten.

Ungefähr 40 Minuten vor der Eventeration erhielten die Patienten 0,6 mg/kg Parecoxib i.v. (Dynastat[®], 20 mg/ml, n=20) oder Placebo (NaCl 0,9%, 0,03 ml/kg, n=20). Die Herzfrequenz und der invasiv in der A. radialis gemessene arterielle Blutdruck wurden mit einem Sirecust 9000 Monitor (Siemens) überwacht. Der arterielle Sauerstoffdruck (paO₂) wurde in heparinisiertem Vollblut mit dem Blutgasanalysegerät Rapidpoint TM 405 (Bayer) gemessen und der Sauerstoffanteil am inspirierten Atemgas des Patienten (FiO₂) zur Berechnung des Oxygenierungsindex (paO₂/FiO₂) dokumentiert. Ca. 40 Minuten vor (-40 min., unmittelbar vor Verabreichung der Prüfsubstanz), unmittelbar vor (0) sowie 5, 10 und 30 Minuten nach der Eventeration wurden die hämodynamischen Messungen durchgeführt und die Blutproben für die Blutgasanalyse sowie zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von 6-keto-PGF_{1α}, Parecoxib und Valdecoxib gewonnen. Die Blutentnahmen zur Bestimmung der Prostaglandin- und

Medikamentenkonzentrationen erfolgten mit Lithium-Heparin-Monovetten (Sarstedt), welche mit Indomethacin (0,2 mg/4 ml gesamte Blutmenge) versetzt waren, um einer *ex vivo* Prostanoidsynthese vorzubeugen. Der Urin wurde in den Zeitintervallen -40 Minuten bis 0 Minuten und 0 Minuten bis 30 Minuten nach Eventeration gesammelt. Die Blutproben wurden unmittelbar nach Entnahme zentrifugiert und das Plasma und der Urin wurden bei -70 °C bis zur Analyse gelagert.

In einer post-anästhesiologischen Visite fand eine abschließende körperliche Untersuchung statt und es wurden Änderungen der Begleitmedikation oder unerwünschte Ereignisse abgefragt. Der Studienablauf ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1 Zeitplan der Studie

Tag	Voruntersuchung -7 bis -1	OP-Tag 0	Post-anästh. Visite 1 bis 3
Einverständniserklärung	X		
Medizinische Anamnese	X		
Körperliche Untersuchung	X		X
Schwangerschaftstest	X		
Ein-/Ausschlusskriterien	X	X	
Applikation Prüfmedikation		X	
Blutentnahme für Kinetik ¹⁾		X	
Sammelurin ²⁾		X	
Unerwünschte Ereignisse		X	X
Begleitmedikation	X	X	X

1) Zu den Zeitpunkten -40, 0, 5, 10, 30 min

2) In den Fraktionen -40-0 min, 0-30 min

Der Zeitplan am Studientag ist in Abbildung 2 illustriert.

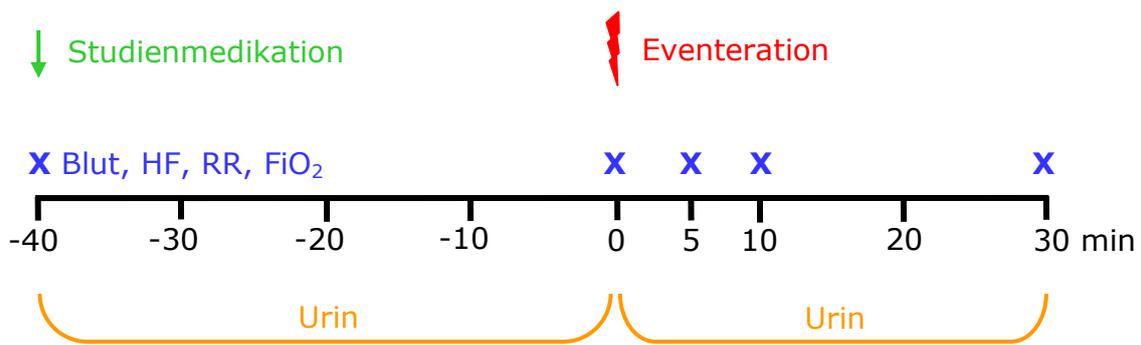


Abb. 2: Zeitplan am Studientag

2.2 Analytik

2.2.1 Allgemeine Laborgeräte

Minifuge 2 oder Megafuge 1. 0R, Fa. Kenko, Osterode

REAX 2000 Mixer (Vortex Typ), Fa. Heidolph, Kelheim

REAX 2 Mischer (Über-Kopf-Schüttler), Fa. Heidolph, Kelheim

Finnpipette digital, Fa. VWR, Darmstadt

Eppendorf-Multipette, Fa. VWR, Darmstadt

Brand-Dispensette, Fa. VWR, Darmstadt

2.2.2 Bestimmung der 6-keto-PGF_{1α} im Plasma und im Urin

6-keto-PGF_{1α} wurde im Plasma und im Urin mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Kits (Cayman Chemical) bestimmt. Alle Proben wurden in Doppelbestimmung analysiert. Die Präzision des Assays war besser als 20 % und die Nachweisgrenze betrug 11 pg/ml.

2.2.3 Bestimmung von Creatinin im Urin

Creatinin wurde im Urin photometrisch mit Hilfe der Jaffé-Methode (13) bestimmt.

2.2.4 Bestimmung von Parecoxib und Valdecoxib

Parecoxib und der aktive Metabolit Valdecoxib wurden mit Hilfe der HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) und photometrischer Detektion bei 210 nm in Anlehnung an eine publizierte Methode bestimmt (14).

Substanzen und Chemikalien

Parecoxib (Dynastat 40 mg, eine Durchstechflasche enthält 40 mg Parecoxib als 42.36 mg Parecoxib-Natrium, ChB. 140280, Exp. 10.2005), Valdecoxib (Bextra, eine Tablette enthält 20 mg Valdecoxib, ChB.107230, Exp.: 08.2005) wurden über die Apotheke des Universitätsklinikums bezogen. Rofecoxib ($C_{17}H_{14}O_4S$ [314.4] LotNo LRRH350, content 100.0 %) wurde von MSD, Haar, bezogen. Methanol und Acetonitril HPLC-gerade waren von Fa. Baker, Groß-Gerau. Die sonstigen Chemikalien (p.A. Qualität) wurden von der Fa. E. Merck, Darmstadt, bezogen. Wasser wurde über eine Milli-Q-Vierfach Wasseraufbereitungsanlage, Fa. Millipore, Eschborn, gereinigt.

Chromatographische Apparatur

Die chromatographische Apparatur bestand aus einer Pumpe LC 10AS, einem Autosampler SIL-10A, einem photometrischen Detektor SPD-10A (gesetzt auf 210 nm), einer Steuer-/Integrationssoftware Class-LC10 (alles Fa. Shimadzu, Duisburg) und einem Säulenofen ERC 125 (Fa. ERC, Riemerling).

Chromatographisches Trennsystem

Die chromatographische Trennung erfolgte an einer Fertigsäule (i.D. 150x4,6nm) gefüllt mit Synergi Hydro RP der Fa. Phenomenex, Aschaffenburg. Der Eluent wurde gemischt aus 20 mM NaH_2PO_4 :MeCN=60/40 (v/v), eingestellt auf pH 6.3 mit 1 M NaOH. Bei einem Fluss von 1.0 ml/min und einer Temperatur von 30 °C eluierten Parecoxib nach 5.6 min, Indomethacin (Stabilisator) nach 6.3 min, Rofecoxib (interner Standard) nach 8.4 min und Valdecoxib nach 10.3 min. Die Retentionszeiten von Parecoxib und Indomethacin reagierten sehr empfindlich auf Änderungen des pH. Gegebenenfalls musste der Eluent mit Natronlauge oder Phosphorsäure nachkorrigiert werden.

Lösungen und Verdünnungen

Die Stammlösung Rofecoxib (100 mg/L) wurde in Acetonitril/0.1 % Phosphorsäure (50/50, v/v) hergestellt (15). (Rofecoxib oxidiert an der Luft und der Lactonring wird im basischen pH-Bereich gespalten.) Die Stammlösung Parecoxib 400 µl/ml wurde hergestellt, indem der Inhalt einer Durchstechflasche mit 42.4 mg Parecoxib-Natrium in einem 100 ml-Messkolben eingewogen und mit Wasser aufgefüllt wurde. Die Stammlösungen von Indomethacin (100 mg/L) und Valdecoxib (200 mg/L) wurden ebenfalls in Wasser hergestellt. Die Lösungen von Indomethacin wurden

aus Reinsubstanz, die von Valdecoxib aus einer handelsüblichen Tablette hergestellt, indem eine Tablette mit 20 mg Valdecoxib als Wirkstoff im 100 ml Messkolben eingewogen und mit Wasser aufgefüllt wurde. Die Suspension wurde im Ultraschallbad behandelt, bis die Suspension gleichmäßig trüb erschien. Ein Aliquot der Lösung wurde durch einen Sterilfilter abfiltriert, um die unlöslichen Hilfsstoffe abzutrennen.

Probenvorbereitung

Serum wurde im Eiswasserbad aufgetaut um zu verhindern, dass das eventuell noch vorhandene Parecoxib zu Valdecoxib hydrolysiert. In einem 1,5 ml-Eppendorf-Cup wurden 200 µl Serum mit 20 µl iS Rofecoxib (50 µl/ml) versetzt und 2 Sekunden gemixt (Reax-2000 Mixer). Dann wurden 400 µl MeCN zugegeben (Multipette oder Dispensette), kurz gemixt und 15 min im Kühlschrank inkubiert. Vom Niederschlag wurde abzentrifugiert (2 min; ca. 10000 g) und 200 µl Überstand wurden in HPLC-Minivials überführt. Ein Aliquot von 10 µl wurde in die Apparatur injiziert.

Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgte über mit Valdecoxib und Parecoxib dotierte Proben in Serum bzw. in Wasser für Urin. Entweder wurden Verdünnungsreihen in Doppelbestimmung mitgeführt oder es erfolgte eine Einpunktkalibrierung in Dreifachbestimmung bei mittlerer Konzentration. Zur Qualitätssicherung wurden dotierte Serumproben in Doppelbestimmung bei jedem Assay mitgeführt.

Auswertung

Die Auswertung der chromatographischen Peaks erfolgte über die Class 10 Software (Fa. Shimadzu, Duisburg). Die Peakhöhen und -flächen wurden in das Excel 7.0 Programm (Fa. Microsoft) übertragen und nach der Methode des Internen Standards über die Höhen ausgewertet.

Da die Auswertung über die Peakflächen und Peakhöhen zum gleichen Ergebnis führen sollte, wurden übereinstimmende Werte zwischen beiden Auswertungsmethoden gleichzeitig als Indiz gewertet, dass keine Fehler bei der Datenübertragung passiert waren.

Validierungsdaten

Vor der Analyse der Patientenproben wurde die Methode validiert. Die Nachweisgrenze „on column“ ($S/N = 3/1$) war für Parecoxib 200 pg, für Rofecoxib 350 pg und für Valdecoxib 250 pg. Die Linearität wurde im Bereich von 0,1-2 mg/l (Parecoxib) bzw. 0,2-4 mg/l (Valdecoxib) überprüft und bestätigt. Der Korrelationskoeffizient der Ausgleichsgeraden war besser als 0,9996.

Die Präzision, bestimmt an Hand der bei jedem Assay ($n=5$) mitgeführten Kontrollproben, war besser als 10 % (Konzentration 3 und 0,3 $\mu\text{g/ml}$ Parecoxib und beziehungsweise 6 und 0,6 $\mu\text{g/ml}$ Valdecoxib). Die Abweichung der Messwerte vom Sollwert (Bias) betrug weniger als 5 %.

Validierungsdaten bei der Analyse realer Patientenproben

Die Präzision bei der Wiederholungsanalyse realer Patientenproben war etwas schlechter. Um einen Überblick über die zu erwartenden Konzentrationen zu gewinnen, wurden die Plasmaproben eines jeden Patienten vor Applikation und 40 Minuten danach vorab analysiert und dann ein zweites Mal nach etwa 2 Monaten zusammen mit allen anderen Proben (45, 50 und 110 Minuten) analysiert. Die Übereinstimmung zwischen den beiden Analysen wurde als Maß für die Inter-Assay-Präzision bei realen Plasmaproben von Patienten genommen. Während die Plasmakonzentrationen von Valdecoxib 40 Minuten nach Injektion von Parecoxib bei allen 20 untersuchten Patienten bei beiden Analysen über der Bestimmungsgrenze lagen, war dies bei Parecoxib nur bei 9 Patienten der Fall. Die Konzentrationen der Wiederholungsanalyse betrugen 85 ± 14 % (Parecoxib, $n=9$, Bereich 0.15-0.54 $\mu\text{g/ml}$) bzw. 91.5 ± 5.0 % (Valdecoxib, $n=20$, Bereich 0.48-1.02 $\mu\text{g/ml}$) der Werte der ersten Analyse. Die Korrelation der zweiten mit der ersten Analyse war gut ($r = 0.94$, $n = 9$ für Parecoxib; $r = 0.989$, $n = 20$ für Valdecoxib). Die systematisch niedrigeren Konzentrationen bei der Nachanalyse können auf einem Kalibrierungsfehler beruhen oder auf einer Instabilität der Proben, die für die zweite Analyse nochmals aufgetaut werden mussten. Um eine Entscheidung zu treffen, bedürfte es weiterer Untersuchungen.

Wiederfindung

Die Wiederfindung für Parecoxib und Valdecoxib wurde an Hand der dotierten Standardproben und für den internen Standard Rofecoxib auch aus den Patientenproben bestimmt. Sie betrug für Parecoxib 110.2 ± 5.6 , für Valdecoxib 107.2 ± 3.3 % und für den internen Standard Rofecoxib 114.6 ± 8.3 %.

Die Wiederfindung war demnach für alle Substanzen vergleichbar. Zu der scheinbar mehr als quantitativen Wiederfindung kann beitragen, dass der Volumenverlust durch das ausgefällte Protein nicht berücksichtigt wurde.

Probenstabilität

Die Proben waren in der Injektionslösung mindestens über Nacht bei Raumtemperatur stabil.

Selektivität und Spezifität

In verschiedenen Seren gesunder Probanden wurden keine interferierenden Peaks zu den Retentionszeiten von Parecoxib, Indomethacin, Rofecoxib oder Valdecoxib gefunden, ebensowenig in den Proben der 20 Patienten.

2.3 Statistik

Primäres Zielkriterium der Studie war die Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1 α} zum Zeitpunkt 10 Minuten nach Eventeration. Eine auf der Literatur (9, 11) basierte Powerberechnung ($\alpha=0.05$, Power 80 %) ergab einen Bedarf von 17 Patienten in jeder Gruppe um einen klinisch relevanten Unterschied in der Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1 α} von 400 pg/ml vs. 100 pg/ml zwischen Placebo und Parecoxib bei einer Standardabweichung von 400 pg/ml bzw. 100 pg/ml zu entdecken (Hintze J (2001) NCSS und PASS. Number Cruncher Statistical Systems. Kaysville, Utah). Die statistische Analyse wurde mit SPSS 12.0. durchgeführt. Die Daten wurden als Mittelwert \pm SEM angegeben. Die Analyse der demographischen Daten und des Behandlungserfolgs erfolgte mit einem ungepaarten *t*-Test. Die Variationen der Daten über die Zeit wurde mit Hilfe einer Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen analysiert. $P<0.05$ wurde als signifikant erachtet.

3 ERGEBNISSE

Die demographischen Daten der Patienten sind in Tabelle 2 aufgeführt. Es gab keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen in Bezug auf Alter, Geschlecht und Body Mass Index (BMI), ASA-Status oder hinsichtlich der Begleitmedikation wie β -adrenerge Rezeptorantagonisten, ACE-Inhibitoren, AT_1 -Rezeptorantagonist, Kalziumantagonisten oder Diuretika.

Tab. 2. Demographische Daten der Patienten

	Placebo (n=20)	Parecoxib (n=20)	
Alter (J)	60 \pm 3	58 \pm 3	ns
Geschlecht (w/m)	8/12	8/12	ns
BMI (kg/m ²)	26 \pm 0,8	27 \pm 0,9	ns
ASA I/II/III	4/11/5	0/18/2	ns
EDA	8	5	ns

Mittelwert \pm SE, Body Mass Index (BMI), ASA Status (ASA), Epiduralanästhesie (EDA), nicht signifikant (ns)

3.1 6-keto-PGF_{1 α} in Plasma und Urin

5, 10 und 30 Minuten nach Eventeration kam es zu einem deutlichen Anstieg der Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1 α} (Abb. 1).

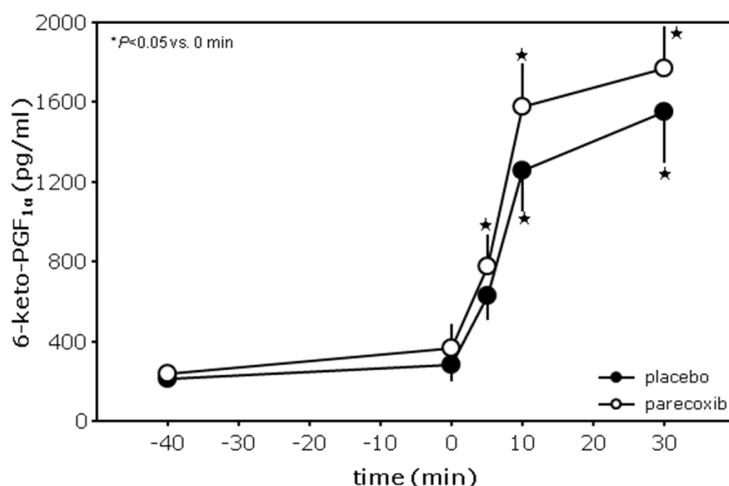


Abb. 1. Plasmakonzentrationen von 6-keto-PGF_{1 α} vor und nach Eventeration in der Placebo- und der Parecoxibgruppe. Zeitpunkt 0 ist unmittelbar vor Eventeration. Mittelwert \pm SE von 20 Patienten pro Gruppe; * P <0,05 vs. 0 min.

Die Urinausscheidung von 6-keto-PGF_{1α} war im Zeitraum von 0 bis 30 Minuten nach Eventeration im Vergleich zum Zeitraum von -40 bis 0 Minuten vor Eventeration erhöht (Abb. 2). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Plasmakonzentration und der Urinausscheidung von 6-keto-PGF_{1α} zwischen den Gruppen zu den individuellen Zeitpunkten von 6-keto-PGF_{1α}.

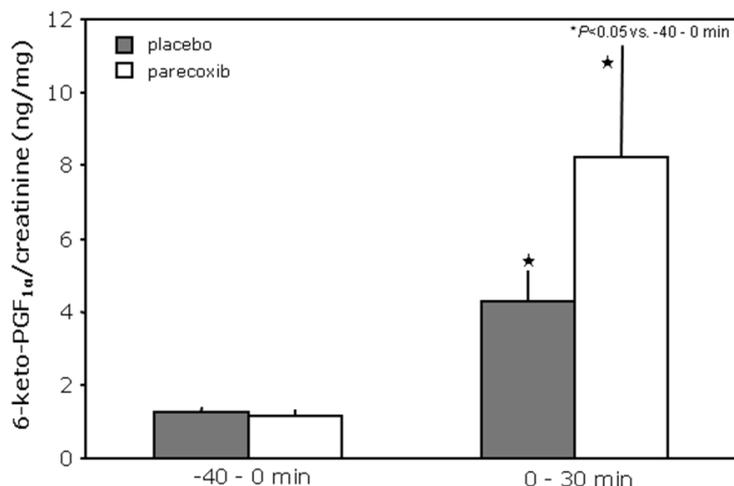


Abb. 2. Urinausscheidung von 6-keto-PGF_{1α} vor und nach Eventeration in der Placebo- und der Parecoxibgruppe. Zeitpunkt 0 ist unmittelbar vor Eventeration. Die Konzentration von 6-keto-PGF_{1α} ist auf die Konzentration von Kreatinin in derselben Urinfraktion bezogen. Mittelwert±SE von 20 Patienten pro Gruppe; **P*<0,05 vs. -40-0 min.

3.2 Parecoxib und Valdecoxib im Plasma

Die mittlere Plasmakonzentration von Valdecoxib betrug 0,76 mg/l zum Zeitpunkt 0 und fiel auf 0,62 mg/l 30 Minuten nach Eventeration (Abb. 3).

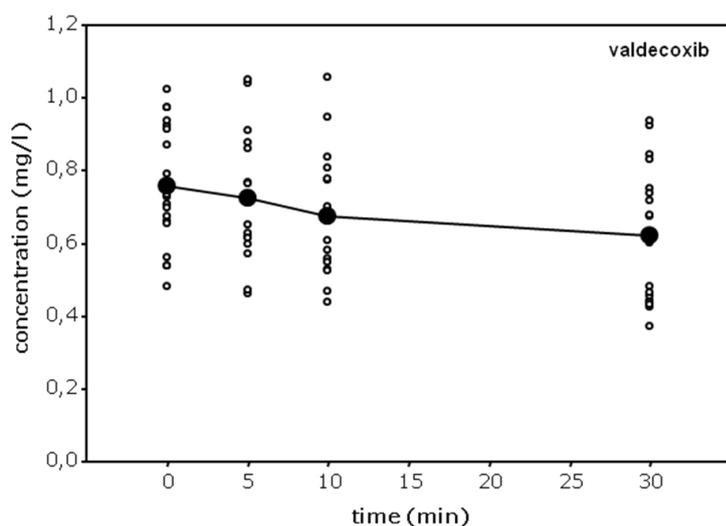


Abb. 3. Individuelle (offene Kreise) und mittlere (geschlossene Kreise) Plasmakonzentrationen von Valdecoxib in der Parecoxibgruppe (n=20). Zeitpunkt 0 ist unmittelbar vor Eventeration.

Die mittlere Plasmakonzentration von Parecoxib betrug 0,19 und 0,12 mg/l zu den Zeiten 0 und 5 Minuten nach Eventeration und war danach unterhalb der Nachweisgrenze.

3.3 Hämodynamik und Oxygenierungsindex

Die Herzfrequenz nahm 5, 10 und 30 Minuten nach Eventeration in beiden Gruppen zu ohne signifikante Änderung des arteriellen Blutdrucks. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu den individuellen Zeiten hinsichtlich der Herzfrequenz und des Blutdrucks (Tabelle 3).

Tab. 3. Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und Oxygenierungsindex vor und nach Eventeration in der Placebo- und in der Parecoxibgruppe

Gruppegp		-40 min	0 min	5 min	10 min	30 min
HF (min ⁻¹)	Placebo	63 ± 2	61 ± 3	67 ± 3	74 ± 4*	76 ± 3*
	Parecoxib	61 ± 4	58 ± 3	68 ± 3*	76 ± 3*	75 ± 3*
RR _{mittel} (mmHg)	Placebo	71 ± 4	76 ± 3	85 ± 3	81 ± 3	82 ± 3
	Parecoxib	71 ± 2	73 ± 4	80 ± 3	78 ± 4	77 ± 2
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	Placebo	456 ± 21	452 ± 29	439 ± 26	425 ± 25	415 ± 25
	Parecoxib	398 ± 29	384 ± 26	364 ± 26	333 ± 29* [†]	316 ± 29* [†]

Mittelwert±SE, n=20 pro Gruppe, Herzfrequenz (HF), mittlerer arterieller Blutdruck (RR_{mittel}), Zeitpunkt 0 ist unmittelbar vor Eventeration, *P<0,05 vs. 0 min, [†]P<0,05 vs. Placebo

Der Oxygenierungsindex nahm 10 und 30 Minuten nach Eventeration in der Parecoxibgruppe ab, mit einem signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen zu diesen Zeitpunkten. Jedoch war der Oxygenierungsindex in der Parecoxibgruppe bereits vor Verabreichung der Studienmedikation (-40 Minuten) im Vergleich zur Placebogruppe tendenziell erniedrigt (P=0,11), was auf einen möglichen vorbestehenden Unterschied zwischen beiden Studiengruppen (Tabelle 3) hinweist.

Tab. 4. Herzfrequenz und arterieller Blutdruck vor und nach Eventeration bei Patienten ohne (∅ EDA, n=27) oder mit ergänzender thorakaler Epiduralanästhesie (EDA, n=13).

Grupp		-40 min	0 min	5 min	10 min	30 min
HF (min ⁻¹)	∅ EDA	64 ± 3	60 ± 2	69 ± 3*	78 ± 3* [†]	80 ± 3* [†]
	EDA	58 ± 4	59 ± 3	64 ± 3	67 ± 3	67 ± 3
RR _{mittel} (mmHg)	∅ EDA	71 ± 3	74 ± 3	85 ± 3*	83 ± 3*	83 ± 2* [†]
	EDA	72 ± 5	77 ± 6	78 ± 4	73 ± 4	73 ± 3

Mittelwert±SE, Herzfrequenz (HF), mittlerer arterieller Blutdruck (RR_{mittel}), Zeitpunkt 0 ist unmittelbar vor Eventeration, *P<0,05 vs. 0 min, [†]P<0,05 vs. EDA

Weiterhin kam es nach Eventration zu einem signifikanten Anstieg der Herzfrequenz und des mittleren arteriellen Blutdrucks bei den Patienten ohne Epiduralanästhesie, während diese Kreislaufparameter bei Patienten mit begleitender thorakaler Epiduralanästhesie stabil blieben (Tabelle 4).

4 DISKUSSION

Mehrere Studien zeigten einen Anstieg in der mittleren Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1α} auf bis zu 950 pg/ml (16), 1169 pg/ml (2), 1689 pg/ml (17), 1950 pg/ml, 2955 pg/ml (11), 3168 pg/ml (10) oder 3179 pg/ml (9) nach Eventeration. Diese beschriebenen Werte für unbehandelte Patienten sind vergleichbar mit den Plasmakonzentrationen von 6-keto-PGF_{1α}, die wir nach Eventeration gefunden haben. PGI₂ wird in der gastrointestinalen Mukosa und in verschiedenen Anteilen der arteriellen Gefäßwand gebildet und freigesetzt (18, 19). Die Vorbehandlung der Patienten mit nicht-selektiven Cyclooxygenase-Inhibitoren wie Ibuprofen oder Aspirin verhindert die Freisetzung von PGI₂ nach Eventeration (9-11, 16). Die routinemäßige Prämedikation von abdominal-chirurgischen Patienten mit Ibuprofen oder Aspirin kann aufgrund der möglichen Beeinträchtigung der Blutgerinnung nicht empfohlen werden. Selektive Cyclooxygenase-2-Inhibitoren wären hier eine sinnvolle alternative Medikation. Der sofortige Anstieg der PGI₂-Konzentration nach Eventeration deutet darauf hin, dass diese PGI₂-Synthese durch eine konstitutiv exprimierte Cyclooxygenase erfolgt. Berichte über eine beachtliche basale Cyclooxygenase-2-Expression in der Adventitia und im Endothel mesenterialer Arterien (20) sowie im Magen (21) lenkten unser Interesse auf die Bedeutung dieses Cyclooxygenase-Isoenzym für die PGI₂-Synthese nach Eventeration. Zur Überprüfung dieses Sachverhalts führten wir eine prospektiv randomisierte, doppelt-blinde, plazebo-kontrollierte Studie mit 40 Patienten durch, die ungefähr 40 Minuten vor der Eventeration entweder Parecoxib oder Plazebo erhielten. Parecoxib ist eine wasserlösliche Prodrug und wird im Organismus innerhalb von 15 Minuten zum aktiven Metaboliten Valdecoxib hydrolysiert, der nach ungefähr 30 Minuten seine Plasmaspitzenkonzentration erreicht (12). Laut unserer HPLC-Analyse lag die mittlere Plasmakonzentration von Valdecoxib in der Parecoxibgruppe unmittelbar vor Eventeration bei 0,76 mg/l, was auf eine ausreichende Dosierung von Parecoxib zur Hemmung der Cyclooxygenase-2 in unserer Studie hindeutet (12).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine selektive Hemmung der Cyclooxygenase-2 die Freisetzung von PGI₂ nach Eventeration nicht beeinträchtigt. Dies deutet auf eine untergeordnete Rolle der Cyclooxygenase-2 und eine überwiegende Rolle der Cyclooxygenase-1 für die Bildung von PGI₂ nach Eventeration hin, da nicht-selektive

Cyclooxygenase Inhibitoren die PGI₂-Freisetzung nach Eventeration verhindern können (2, 9, 11).

Der protektive Effekt nicht-selektiver Cyclooxygenase-Inhibitoren auf die hämodynamischen Veränderungen (9, 11) nach Eventeration wie Verminderung des systemisch vaskulären Widerstands (3, 8-10), Senkung des arteriellen Blutdrucks (3, 8, 10, 11, 22) sowie Erhöhung der Herzfrequenz (2, 3, 8, 9, 11, 17) und des Herzindex (3, 8-10, 17) deutet darauf hin, dass PGI₂ diese kardiovaskulären Veränderungen vermittelt. In der vorliegenden Arbeit kommt es nach Eventeration zu einem signifikanten Anstieg von PGI₂ mit Zunahme der Herzfrequenz allerdings ohne arterielle Hypotension. Diese Ergebnisse von uns sowie Daten anderer Autoren, dass sich der Blutdruckabfall 30 min nach Eventeration trotz noch erhöhter Plasmawerte von PGI₂ wieder normalisiert, stellen die Rolle PGI₂ bei der Vermittlung der arteriellen Hypotension in Frage (9, 11, 23).

Es gibt einige Studien, die keine signifikante Abnahme des arteriellen Blutdrucks nach Eventeration beschreiben (2, 9, 23). Man könnte vermuten, dass ein durch erhöhte Plasmakonzentrationen von vasodilatierendem PGI₂ möglicherweise erniedrigter systemisch vaskulärer Widerstand durch die Herzfrequenzzunahme mit folglichem Anstieg des Herzindex wieder ausgeglichen werden könnte. Darüber hinaus beeinflussen viele Faktoren den arteriellen Blutdruck während chirurgischer Eingriffe, wie beispielsweise die Tiefe der Narkose, der intravasale Volumenstatus oder die Aktivität endogener Vasopressoren. So wurden erhöhte Plasmakonzentration von Adrenalin, Vasopressin und Renin nach Eventeration berichtet (23), welche die arterielle Hypotension kompensieren könnten. Die Hypothese, dass die hämodynamischen Veränderungen in der vorliegenden Arbeit auf einer sympathischen Stimulation aufgrund einer inadäquaten Analgesie und weniger auf erhöhten Plasmakonzentrationen von PGI₂ basieren, wird durch unsere Daten gestützt, die eine Zunahme von Herzfrequenz und arteriellem Blutdruck nach Eventeration vor allem bei Patienten ohne Epiduralanästhesie zeigen.

Weiterhin könnte man im Hinblick auf die Seltenheit schwerer hämodynamischer Reaktionen eine kleine Subpopulation von Patienten vermuten, die eine schwere Hypotension nach Eventeration entwickeln und die uns jedoch nicht in unserer Studie detektiert werden. Diese Subpopulation von Patienten könnte möglicherweise unterschiedlich auf Cyclooxygenase-Inhibitoren reagieren, was eine

Limitation der Größe unserer Studienpopulation darstellt.

Die Oxygenierung ist beschriebenermaßen nach Eventeration beeinträchtigt. Dabei ist der Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks invers mit der Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1α} korreliert (2) und kann durch die Vorbehandlung der Patienten mit nicht-selektiven Cyclooxygenase-Inhibitoren (11) verhindert werden. In der vorliegenden Studie nahm der Oxygenierungsindex in der Parecoxibgruppe signifikant ab. Dies ist insoweit in Übereinstimmung mit der Literatur, als dass in unserer Studie die Plasmakonzentrationen von 6-keto-PGF_{1α} in der Parecoxibgruppe tendenziell höher waren als in der Placebogruppe. Darüber hinaus war der Oxygenierungsindex wie bereits erwähnt 10 und 30 min nach Eventeration in der Parecoxibgruppe vermindert.

Dies ist die erste klinische Studie, die die Rolle der Cyclooxygenase-2 für die PGI₂-Synthese nach Eventeration untersucht. Unsere Daten zeigen eine deutliche Zunahme von PGI₂-Freisetzung nach Eventeration, welche nicht durch eine Vorbehandlung der Patienten mit einem selektiven Cyclooxygenase-2 Inhibitor beeinflusst werden konnte. Wir schlussfolgern, dass die durch Zug am Mesenterium induzierte PGI₂-Bildung während abdominal-chirurgischer Eingriffe durch die Cyclooxygenase-1 vermittelt wird.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel unserer Untersuchungen war es, die Rolle von Cyclooxygenase-2 abhängigen Prostanoiden bei der Vermittlung des Eventerationssyndroms bei offenen abdominal-chirurgischen Eingriffen zu untersuchen. In einer prospektiv randomisierten, doppelt-blinden, Placebo-kontrollierten Studie wurden 40 Patienten, die sich einem offenen abdominal-chirurgischen Eingriff unterziehen mussten, mit dem selektiven Cyclooxygenase-2 Inhibitor Parecoxib (n=20) oder Placebo (n=20) vorbehandelt. Herzfrequenz, arterieller Blutdruck, Oxygenierungsindex sowie die Plasmakonzentration des stabilen PGI₂-Metaboliten 6-keto-PGF_{1α} wurden in beiden Gruppen vor der Injektion von Parecoxib (-40 min), unmittelbar vor Eventeration (0 min), und 5, 10, und 30 min danach verglichen. Zusätzlich wurden die Plasmakonzentrationen von Valdecoxib, dem aktiven Metaboliten der Prodrugs Parecoxib, bestimmt.

Die Plasmakonzentrationen von Valdecoxib waren im therapeutischen Bereich. Die Plasmakonzentrationen von 6-keto-PGF_{1α} und die Herzfrequenz waren nach Eventeration in beiden Gruppen erhöht. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen zu den individuellen Zeitpunkten hinsichtlich der Herzfrequenz, des arteriellen Blutdrucks und der Plasmakonzentration von 6-keto-PGF_{1α}. Der Oxygenierungsindex war in der Parecoxib-Gruppe 10 und 30 min nach Eventeration vermindert mit einer signifikanten Differenz zwischen den beiden Studiengruppen zu diesen Zeitpunkten.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die PGI₂-Freisetzung nach Eventeration durch die Cyclooxygenase-1 vermittelt wird.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Seeling, W. (1990) Mesenteric traction syndrome. *Ann Surg* **211**, 247-248
2. Seeling, W., Heinrich, H., and Oettinger, W. (1986) [The eventration syndrome: prostacyclin liberation and acute hypoxemia due to eventration of the small intestine]. *Anaesthesist* **35**, 738-743
3. Seltzer, J. L., Ritter, D. E., Starsnic, M. A., and Marr, A. T. (1985) The hemodynamic response to traction on the abdominal mesentery. *Anesthesiology* **63**, 96-99
4. Seeling, W., Ahnefeld, F. W., Grunert, A., Heinrich, H., Lotz, P., Rosenberg, G., and Wieser, E. (1986) [Aortofemoral bifurcation bypass. Effect of the anesthesia procedure (NLA, thoracic continuous catheter peridural anesthesia) on circulation, respiration and metabolism. Homeostasis and oxygen transport]. *Anaesthesist* **35**, 80-92
5. Greek, C. R., Jr., and Couper, N. B. (1989) Prolonged hypotension secondary to mesenteric traction during a transabdominal approach to a thoracoabdominal aneurysm. *J Cardiothorac Anesth* **3**, 341-343
6. Latson, T. W., Reinhart, D. J., Allison, P. M., Whitten, C. W., and Valentine, R. J. (1992) Ketorolac tromethamine may be efficacious in treating hypotension from mesenteric traction. *J Cardiothorac Vasc Anesth* **6**, 456-457
7. Comunale, M. E., and Neilly, S. A. (1992) Use of somatostatin analog in the treatment of hypotension during bowel surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* **6**, 606-608
8. Gottlieb, A., Skrinska, V. A., O'Hara, P., Boutros, A. R., Melia, M., and Beck, G. J. (1989) The role of prostacyclin in the mesenteric traction syndrome during anesthesia for abdominal aortic reconstructive surgery. *Ann Surg* **209**, 363-367
9. Hudson, J. C., Wurm, W. H., O'Donnel, T. F., Jr., Kane, F. R., Mackey, W. C., Su, Y. F., and Watkins, W. D. (1990) Ibuprofen pretreatment inhibits prostacyclin release during abdominal exploration in aortic surgery. *Anesthesiology* **72**, 443-449
10. Seltzer, J. L., Goldberg, M. E., Larijani, G. E., Ritter, D. E., Starsnic, M. A., Stahl, G. L., and Lefer, A. M. (1988) Prostacyclin mediation of vasodilation following mesenteric traction. *Anesthesiology* **68**, 514-518
11. Brinkmann, A., Seeling, W., Wolf, C. F., Kneitingner, E., Junger, S., Rockemann, M., Oettinger, W., and Georgieff, M. (1994) [The effect of thoracic epidural anesthesia on the pathophysiology of the eventration syndrome]. *Anaesthesist* **43**, 235-244
12. Cheer, S. M., and Goa, K. L. (2001) Parecoxib (parecoxib sodium). *Drugs* **61**, 1133-1141; discussion 1142-1133

13. Schneiderka, P., Pacakova, V., Stulik, K., Kloudova, M., and Jelinkova, K. (1993) High-performance liquid chromatographic determination of creatinine in serum, and a correlation of the results with those of the Jaffe and enzymic methods. *J Chromatogr* **614**, 221-226
14. Ramakrishna, N. V., Vishwottam, K. N., Wishu, S., and Koteshwara, M. (2004) Quantitation of Valdecocixib in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection using liquid-liquid extraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **802**, 271-275
15. Mao, B., Abraham, A., Ge, Z., Ellison, D. K., Hartman, R., Prabhu, S. V., Reamer, R. A., and Wyvratt, J. (2002) Examination of rofecoxib solution decomposition under alkaline and photolytic stress conditions. *J Pharm Biomed Anal* **28**, 1101-1113
16. Krausz, M. M., Utsunomiya, T., McIrvine, A. J., Allen, P. D., Levine, L., Mannick, J. A., Shepro, D., and Hechtman, H. B. (1983) Modulation of cardiovascular function and platelet survival by endogenous prostacyclin released during surgery. *Surgery* **93**, 554-559
17. Hudson, J. C., Wurm, W. H., O'Donnell, T. F., Jr., Shoenfeld, N. A., Mackey, W. C., Callow, A. D., Su, Y. F., and Watkins, W. D. (1988) Hemodynamics and prostacyclin release in the early phases of aortic surgery: comparison of transabdominal and retroperitoneal approaches. *J Vasc Surg* **7**, 190-198
18. Moncada, S., Herman, A. G., Higgs, E. A., and Vane, J. R. (1977) Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the anti-thrombotic properties of vascular endothelium. *Thromb Res* **11**, 323-344
19. Moncada, S., Salmon, J. A., Vane, J. R., and Whittle, B. J. (1978) Formation of prostacyclin and its product 6-oxo-PGF₁α by the gastric mucosa of several species [proceedings]. *J Physiol* **275**, 4P-5P
20. Taberner, A., Reimund, J. M., Chasserot, S., Muller, C. D., and Andriantsitohaina, R. (2003) Cyclooxygenase-2 expression and role of vasoconstrictor prostanoids in small mesenteric arteries from patients with Crohn's disease. *Circulation* **107**, 1407-1410
21. Iseki, S. (1995) Immunocytochemical localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the rat stomach. *Histochem J* **27**, 323-328
22. Woehlck, H., Antapli, M., and Mann, A. (2004) Treatment of refractory mesenteric traction syndrome without cyclooxygenase inhibitors. *J Clin Anesth* **16**, 542-544
23. Brinkmann, A., Seeling, W., Wolf, C. F., Kneiting, E., Schonberger, C., Vogt, N., Orend, K. H., Buchler, M., Radermacher, P., and Georgieff, M. (1998) Vasopressor hormone response following mesenteric traction during major abdominal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* **42**, 948-956

7 LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Barbara Meßmann
Adresse: Vimystr. 6, 85354 Freising
Tel.: 0160 / 7533197
Geburtstag: 16.01.1981
Geburtsort: Schwabmünchen
Religion: römisch-katholisch
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Vater: Peter Meßmann, Fachlehrer
Mutter: Adelheid Meßmann, Verwaltungsangestellte

Schulbildung

Juni 2001 Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
1999 – 2001 Anton-Bruckner-Gymnasium, Straubing
1992 – 1999 Gymnasium der Ursulinen, Straubing
1991 – 1992 Hauptschule Dingolfing
1987 – 1991 Grundschule Altstadt, Dingolfing

Studium

12.2007 Erteilung der Approbation
11.2007 Staatsexamen Zahnmedizin
Studienabschluss
04.2005 Zahnärztliche Vorprüfung
10.2003 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
SS2002 – WS2007 Universität Regensburg:
Zahnmedizin
WS2001/2002 Universität Regensburg:
Lehramt Gymnasium, Deutsch/Geschichte

Berufstätigkeit

seit 02.2008 Assistenz Zahnärztin
Praxis Dr. Wolfgang Kronseder
Lange Zeile 23
85435 Erding
Tel.: 08122 / 18111

8 DANKSAGUNG

Diese Arbeit entstand unter Mithilfe etlicher freundlicher Menschen, denen ich an dieser Stelle meinen ganz herzlichen Dank aussprechen möchte.

Ganz besonderer Dank für die Überlassung des Themas, seiner vorbildlichen und unterstützenden Betreuung (er war fast immer verfügbar und in der Nähe) und seiner Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten gilt Herrn PD Dr. med. Michael Bucher. Seine freundliche Art und Weise und seine wertvolle Hilfe haben mir bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit sehr geholfen.

Desweiteren möchte ich Prof. Dr. rer. nat. Frieder Kees für die fachliche Diskussion über Analytik von Blutproben, die technischen Ratschläge sowie der Bereitstellung der HPLC-Anlage sowie die vertrauensvolle Kooperation meinen ganz besonderen Dank aussprechen.

Für die Laboreinweisung und Probenaufbereitung möchte ich mich herzlich bei Frau Gertraud Wilberg bedanken.

Bei Herrn Dr. Marek Zelenka, Herrn Dr. Stefan Rath und Herrn Dr. Dirk Lutz bedanke ich mich recht herzlich für die freundliche Unterstützung während der Operationen.

Ein spezielles Dankeschön gilt meinen Laborkolleginnen des Lehrstuhls für Pharmakologie der Universität Regensburg für die ständige Bereitschaft zu helfen und fachliche sowie technische Probleme zu lösen.

Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken. Sie haben mir mein Studium ermöglicht und mich immer unterstützt.

Zuletzt danke ich meinem lieben Freund Tom für die Geduld, die er mir während der Zeit dieser Arbeit entgegengebracht hat. Als Dank, weil er während meines Studiums immer an mich geglaubt hat, möchte ich ihm meine Arbeit widmen.