Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Herting

Beurteilung der Aussagekraft von Endothelinmesswerten im Urin asphyktischer Früh- und Neugeborener bezüglich Hypoxie und anderer pathophysiologischer Grössen

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Georg Schunert
aus Bernkastel - Kues

Lübeck 2007

Für meine Kinder

Jonas, Julian und Luna

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jens Möller

2. Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Eric Metzen

Tag der mündlichen Prüfung: 21.09.2009

Zum Druck genehmigt, Lübeck, den: 12.09.2009

Abkürzungsverzeichnis 5
1 Einleitung und Zielsetzung 7
1.1 Fragestellung der Arbeit 7
1.2 Biochemische Grundlagen 8
1.2.1 Struktur von ET 8
1.2.2 Biosynthese von ET 8
1.2.3 Lokalisation und Differenzierung der ET-Rezeptoren 9
1.2.4 Vorkommen von ET in verschiedenen Körperflüssigkeiten und sein Abbau 10
1.3 Physiologische Grundlagen und klinische Bedeutung von ET 10
1.3.1 Gefäße 10
1.3.2 Lunge 11
1.3.3 Nieren 13
1.3.4 Woher stammt das ET im Urin? 16
1.4 Kardiopulmonale Adaptation in der Perinatalperiode 17
1.5 Zielsetzung und Vorgehensweise der Arbeit 18
2 Patientenkollektiv und Methoden 20
2.1 Patienten 20
2.2 Erhebung und Dokumentation weiterer Patientendaten 20
2.2.1 Einteilung des Patientenkollektivs in Untergruppen 20
2.3 Untersuchungsmaterial 21
2.3.1 Gewinnung und Konservierung des Urins 21
2.4 Bestimmung der ET-Konzentration im Urin 22
2.4.1 Probenextraktion 22
2.4.2 Trocknen und Rekonstituieren der Extrakte 22
2.4.3 RIA-Verfahren 23
2.5 Verwendete technische Geräte und chemische Substanzen 24
2.5.1 Zentrifuge 24
2.5.2 Extraktionssäulen C18 24
2.5.3 Verdampfer 25
2.5.4 Gamma-Zähler und Rechnereinheit 25
2.5.5 Chemikalien und Puffer 25
2.5.6 Antiseren und Standards 25
2.5.7 Weitere Geräte 26
2.6 Datenverarbeitung und Auswertung 27
2.6.1 Datenverarbeitung 27
2.6.2 Statistische Auswertung 27
3 Ergebnisse 28
3.1 Darstellung des Patientenkollektivs, bei dem die Daten erhoben wurden 28
3.2 ET in verschiedenen Einheiten im Verlauf über die ersten Tage und Vergleiche mit Werten aus der Literatur 29
3.2.1 ET-Konzentration 30
3.2.2 ET- Menge pro 24h und Körperoberfläche 33
3.3 Untersuchung möglicher Einflussgrößen auf die ET-Werte im Urin 37
3.3.1 Untersuchung der Beatmungsgruppen und Zustände 38
3.3.2 Verschiedene andere Einflüsse auf die Urin-ET-Werte 44
3.3.3 Interaktionen 50
3.4 Tabellarische Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse 52
4 Diskussion 53
4.1 Einleitung 53
4.2 Vergleich der ET-Werte im Urin von asphyktischen und gesunden Früh- und Neugeborenen dieser Untersuchung und anderer Studien 53
4.2.1 ET-Konzentration 53

4.2.2 ET pro Körperoberfläche und vierundzwanzig Stunden 55
4.3 Vergleich der ET-Werte im Urin von beatmeten und nicht beatmeten asphyktischen Neugeborenen 57
4.4 Einfluss von weiteren Faktoren auf ET-Werte im Urin 58
4.4.1 Körperoberfläche 58
4.4.2 Diurese 59
4.4.3 Katecholamine 60
4.4.4 Gestationsalter 60
4.4.5 Andere Parameter 60
4.5 Zusammenfassende Darstellung der relevanten Erkenntnisse dieser Arbeit 61
4.6 Kritik 62
5 Zusammenfassung 64
6 Literaturverzeichnis 66
7 Anhang 77
7.1 Normalverteilung 77
7.2 Tests der Innersubjekteffekte 78
7.3 ET Unterschiede über die ersten Tage 79
7.3.1 Konzentration 79
7.3.2 ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche 79
7.4 Zusammenfassung der Untersuchungen auf signifikante Unterschiede der verschiedenen ET-Werte im Urin in den Gruppen der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen an den ersten zwei Lebenstagen 80
7.5 ET im Urin und verschiedene Indikatoren für den Schweregrad der Asphyxie 81
7.6 ET und verschiedene Gestationsalter 82
7.7 Diurese und Beatmung 84
7.8 Flüssigkeitszufuhr 85
7.9 Geburtsmodus 86
7.10 Elektrolyte 87
7.11 CRP 87
7.12 Medikamentengabe 88
7.13 Katecholamine im Serum 90
7.14 Interaktionen 91
7.14.1 Körperoberfläche 91
7.14.2 Urinausscheidung 94
7.14.3 Dopamin im Serum 95
8 Danksagung 97
9 Lebenslauf 98

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
ANS	Atemnotsyndrom
Ca^{2+}	$Calcium^{2+}$
C	Cytosin
Cl	Chlorid
CRP	C-reaktives Protein
CsA Therapie	Cyclosporin A-Therapie
ECE	ET-Converting-Enzym
EDRF	endothelium derived relaxing factor
ET	Endothelin
ET-1-LI	Endothelin-1-like immunoreactivity
f	Frequenz
fiO_2	Air Mix, Anteil des reinen Sauerstoffs am Beatmungsgemisch
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunden
HELLP	Hämolysis, elevated liver enzymes, low platelet count- Syndrom
HUS	Hämolytisch- urämisches Sydnrom
J^{125}	Jod^{125}
mRNA	messanger-RNA
Na	Natrium
ng	Nannogramm
NO	Stickstoff-Monoxyd
NSB	non spezific binding
$paCO_2$	Kohlendioxydpartialdruck
PAF	platelet activating factor
paO_2	Sauerstoffpartialdruck
PEEP	positive endexpiratory pressure
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
Pmol	picomol
res.	respiratory
S17162	N-(2,3 dihydroxy propyl phosphonyl)-(S)-Leu-(S)-Trp-OH, disodium salt
T	Thymin

Ti	Verhältnis der Inspiration
TGF-ß	Transforming Groth Factor-ß

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Fragestellung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, Anhaltspunkte dafür zu finden, ob und inwiefern die Endothelinausscheidung im Urin asphyktischer Früh- und Neugeborener Hinweise auf deren Gesundheitszustand (z.B. hypoxische Zustände, Beatmung) geben kann. Die Frage lautet also „Können anhand von relativ leicht zu gewinnenden und zudem auch über 24 Stunden stabilen Endothelinmengen im Urin asphyktischer Früh- und Neugeborener Rückschlüsse auf evtl. vorhandene akute oder chronische Atemwegserkrankungen oder daraus resultierende Einschränkungen der Nierenfunktion gezogen werden?“ Es soll die Abhängigkeit der ET-Ausscheidung im Urin von verschiedenen Parametern, die asphyktische Früh- und Neugeborene kennzeichnen, untersucht werden.
Aufgrund der Bestrebungen in der Neonatologie sowenig wie möglich invasiv zu arbeiten schien es nicht vertretbar, parallel zu den aus dem Urin gewonnen ET-Mengen auch noch diejenigen aus dem Plasma zu gewinnen, was die Beantwortung obiger Frage wesentlich erleichtert hätte, können hier nur Hinweise für die eine oder andere Hypothese gesammelt werden.

Im Folgenden soll zunächst der aktuelle Kenntnisstand über die Bedeutung von ET und Zusammenhänge zwischen ET-Werten im Plasma und Urin zusammengefasst werden. Diese Erkenntnisse werden in der Diskussion bei der Beurteilung und Interpretation der in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse hinsichtlich der Fragestellung Berücksichtigung finden.

1.2 Biochemische Grundlagen

ET wurde in den 80er Jahren bei der Erforschung von im Endothel hergestellten Substanzen entdeckt. Hickey und Mitarbeiter[1] (1985) entdeckten einen bis dahin unbekannten Vasokonstriktor. 1988 isolierten Yanagisavara et al.[2] diesen Vasokonstriktor aus dem Kulturüberstand von Schweineendothelzellen, bestimmten seine chemische Struktur und nannten ihn ET.
Es handelt sich hierbei um ein Peptidhormon, welches eine Rolle in der lokalen wie auch in der systemischen Informationsübertragung spielt.

1.2.1 Struktur von ET

Abbildung 1 Endothelin-1

ET besteht aus 21 Aminosäuren[3]/[4] (Yanagisavara et al., 1988; Saudek et al. 1991) und besitzt mehrere Disulfidbrücken sowie eine helixartige Struktur. Es gibt drei Isoformen von ET beim Menschen die sich in ihrer Aminosäuresequenz und ihrem Molekulargewicht (ET-1 2491,9 ; ET-2 2546,9)[5] (Firth et al., 1992) [6] (Saida et al., 1989) unterscheiden. Die Struktur und Funktion von ET ähnelt dem Schlangengift Sarafotoxin[7] (Masaki et al., 1992) [8] (Heyl et al., 1993).

1.2.2 Biosynthese von ET

ET wird zunächst durch relativ komplexe Umwandlungen aus dem Präpro-ET mit 203 Aminosäuren produziert[9] (Inoue et al., 1989) [10] (Yanagisawa et al., 1989) [11] (Kimura et al., 1989). Dabei entsteht aus dem Big- oder Prä-ET das biologisch hundertvierzig mal wirksamere ET[12] (Matsumura et al., 1990) [13] (Xu et al., 1994) [14] (Hentschel et al., 1995) [15] (Yanagisawa et al., 1989). Der Transport an die Zelloberfläche wird vom

Mikrotubularsystem unterstützt[16] (Xu et al., 1994). Die Steuerung der Sekretion wird durch den Ca^{2+}-Calmodulinkomplex und Ausschüttung von intrazellulärem Ca^{2+}gesteuert[17] (Battistini et al., 1995).

1.2.2.1 Steuerung der Biosynthese

Die Expression des Präpro-ET-Gens wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst.
So stimulieren diverse Faktoren unter anderem Vasopressin, Angiotensin-II[18] (Etienne et al., 1990) [19] (Hunley et al., 1995) [20] (Emori et al., 1989), Adrenalin[21] (Noris et al., 1995) und Hypoxie[22] (Nir et al., 1994) die Produktion von Präpro-ET innerhalb von wenigen Minuten. Die Induktion und Expression der Präpro-ET-1 mRNA wird dabei über eine rezeptorgesteuerte intrazelluläre Calcium Mobilisation und Aktivierung von Proteinkinase C geregelt. An diesen Punkten beeinflussen wahrscheinlich die oben genannten Faktoren den Prozess[23] (Tasaka und Kitazumi, 1994).
Direkt hemmende Faktoren der ET-Synthese sind unter anderem NO und Vasodilatation[24] (Noris et al., 1995). NO spielt eine besondere Rolle in der Regulation der ET-Aktivität und kann die Produktion und die Wirksamkeit von ET auf verschiedenen Stufen hemmen. So vermindert es den Anstieg von intrazellulärem Ca^{2+} [25] (Hunley et al., 1995) und die Affinität des ET- Rezeptors zu seinem Liganden.

1.2.3 Lokalisation und Differenzierung der ET-Rezeptoren

ET-Rezeptoren sind an G-Proteine gekoppelt[26] (Arai et al. 1990) [27] (Sakurai et al., 1990). Die Expression der ET-Rezeptoren und die ET-1 Produktion laufen Hand in Hand[28] (Simonson, 1993). Im Folgenden werden die drei bekannten Rezeptoren beschrieben.
Der für ET-1 und ET-2 spezifische ET-A-Rezeptor[29] (Arai et al., 1990) bewirkt bei Aktivierung über eine Proteinkinase C vermittelte Ca^{2+}- Ausschüttung eine Vasokonstriktion[30] (Sakurai et al., 1990) [31] (Takigawa et al., 1995) [32](Aramori und Nankanishi, 1992)[33] (Enoki et al., 1995) [34] (Zhang et al., 1994) und ist überwiegend an Herz- und Gefäßmuskulatur[35] (Arai et al., 1993) [36] (Hosoda et al., 1992) sowie an Mesangium-Zellen [37] (Takeda et al., 1992) [38] (Kohan und Padilla, 1993) zu finden.
Der für jedes ET gleich affine ET-B-Rezeptor[39] (Arai et al., 1990) [40] (Sakurai et al., 1990) befindet sich vor allem an den Endothelzellen kleinerer Gefäße, an Bronchien[41] (Kon und Fogo, 1993), Glia und Plexuszellen des Gehirns, im Epithel der Tubuli der Nieren, in deren äußerem Mark und Kortex[42] (Kon und Fogo, 1993) [43] (Arai et al., 1990), sowie in der Herzmuskulatur und seltener an Zellen der glatten Muskulatur. Dort führt er zu einer Vasodilatation. ET-B-Rezeptoren spielen in der ständigen Produktion von Präpro-ET-1,

bei der Autoinduktion der ET-Synthese, bei der Regulation der Diurese, der Förderung der zellulären Proliferation und wahrscheinlich auch beim Abbau von ET-1 in den Zellmembranen der Lunge[44] (Kon und Fogo, 1993) [45](Hunley et al., 1995) [46] (Ozaki et al., 1995) [47] (Sokolovsky et al., 1990) [48] (Murphy et al., 1993) [49](Abassi et al., 1992) und in den Granulozyten[50] (Sessa et al., 1991) [51](Patrignani et al., 1991) eine Rolle. Man vermutet, dass Big-ET über den ET-B-Rezeptor zur erhöhten Diurese und Natriumausscheidung führt[52] (Konishi et al., 2002).
Das Verhältnis von ET-A und ET-B Rezeptoren ist speziesabhängig[53] (Benigni und Remuzzi, 1999). Der für ET-3 spezifische ET-C-Rezeptor kommt hauptsächlich in der Hypophyse vor. Seine Aktivierung führt zu einer Hemmung der Prolaktinausschüttung[54] (Samson et al., 1991).

1.2.4 Vorkommen von ET in verschiedenen Körperflüssigkeiten und sein Abbau

ET konnte bisher im Plasma, in der Milch, im Speichel, in der Amnionflüssigkeit [55] (Xu et al., 1999) und im Urin nachgewiesen werden. Es gibt verschiedene Methoden ET zu bestimmen (z.B. ELISA und Radioimmunassay). Häufig werden trotz niedriger ET-Plasmaspiegel erstaunliche Wirkungen von ET gefunden. Dieses scheint mit den unterschiedlichen Konzentrationen von ET im Plasma und im Gewebe erklärbar zu sein.
1991 wurde ET erstmals im Urin bestimmt. Die ET-Werte im Urin waren höher als die entsprechenden im Plasma[56] (Goligorsky et al., 1994) [57] (Ando et al., 1991) [58] (Berbinschi und Ketelslegers, 1989). ET im Urin ist mehr als 24 h stabil[59] (Worgall et al., 1994). Die Halbwertszeit von ET im Blut beträgt dagegen nur wenige Minuten[60] (Battistini et al., 1995). Es wird zur Hälfte während der ersten Lungenpassage durch die neutrale Endopeptidase abgebaut [61](Abassi et al. 1992). Der restliche Teil des ET`s wird durch Bindung an den ET-B Rezeptor unwirksam gemacht [62](Fukuroda et al.1994).

1.3 Physiologische Grundlagen und klinische Bedeutung von ET

1.3.1 Gefäße

In den Nierengefäßen[63] (Pernow et al., 1988) wie auch in den Gefäßen der Lunge[64] (de Nucci et al., 1988) [65] (Buchan et al., 1994) und im Koronarkreislauf wirkt ET vasokonstriktorisch[66] (Sudjarwo et al., 1993). Im systemischen Kreislauf kann es je nach

Rezeptortyp sowohl vasokonstriktorisch[67] (Weitzberg et al., 1991) als auch vasodilatierend[68] (Pons et al., 1991) wirken. Der vasokostriktorische Effekt ist größer als der jedes anderen Vasokonstriktors[69] (Simonson und Dunn, 1990). ET erhöht zusätzlich über verschiedene weitere Mechanismen den Blutdruck[70] (Niranjan et al., 1996)[71] (Spieker et al 2006).

In einigen Fällen konnte ebenfalls eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität durch ET nachgewiesen werden[72] (Hunley et al., 1995).

1.3.2 Lunge

In der Lunge wird ET vom Bronchialepithel[73] (Vittori et al., 1992), von den glatten Muskelzellen[74] (Mattoli et al., 1990), von den Makrophagen[75] (Ehrenreich et al., 1990) und von den Endothelzellen[76] (Visner et al., 1994) produziert. Es moduliert unter anderem den Tonus der Atemwege[77] (Kadowitz et al, 1991). Dies geschieht über ET-A-Rezeptoren in den großen Atemwegen und geht mit einer Steigerung der Prostaglandinsekretion[78] (Hay et al., 1993) einher. Über den ET-B-Rezeptor wird überwiegend eine Konstriktion der Bronchiolen ausgelöst[79] (Hay et al., 1993) [80] (Davenport et al., 1993) [81] (Fukuroda et al., 1994) [82] (Buchan et al., 1994).

Weitere Wirkungen von ET sind eine Erhöhung der makroziliären Clearance durch Förderung der Chloridsekretion[83] (Satoh et al., 1992) und eine Erhöhung der Frequenz des Zilienschlags[84] (Tamaoki et al., 1991). Es wirkt mitogen auf glatte Muskelzellen und Fibroblasten der Lunge[85] (Noveral et al., 1992) und der Gefäße[86] (Malarkey et al., 1995) [87] (Tomlinson et al., 1994) [88] (Zamora et al., 1993).

Zur ET-Auschüttung kommt es mit Hilfe verschiedenster Entzündungsmediatoren[89] (Morita et al., 1993) [90] (Ohlstein et al., 1990), und allergenvermittelt durch IgE[91] (Campbell et al., 1994). Die Expression von Präpro-ET-1 mRNA wird durch Endotoxine und entzündungsfördernde Cytokine in der Lunge auch direkt gefördert[92] (Nakano et al., 1994).

1.3.2.1 Asphyxie und Akutes Lungenversagen

Erhöhte Plasma-ET-Konzentrationen konnten durchgehend bei Patienten mit ARDS[93] (Nakano et al., 2007) [94] (Druml et al., 1993) [95] (Langleben et al., 1993) und bei Patienten, welche ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung eines akuten Lungenversagens haben, beobachtet werden[96] (Huribal et al., 1995) [97] (Ishibashi et al., 1994) [98] (Ihara et al., 1991) [99]

(Weitzberg et al., 1991b). In verschiedenen Tierexperimenten zeigte sich ebenfalls, dass ET an der Pathogenese des Lungenödems[100] (Schmeck et al., 1997) beteiligt ist.
Bei einer kleinen Gruppe von Neugeborenen (8 Patienten mit 17 Messungen innerhalb von 7 Tagen) mit Atemnot (Asphyxie) und Infektionen fanden Sulyok et al.[101] (1993) eine erhöhte ET-Konzentration im Urin sowie eine höhere tägliche ET-Ausscheidung pro Körperoberfläche gegenüber einer Vergleichsgruppe.
Dass bei Früh- und Neugeborenen die ET-Freisetzung durch Hypoxie gesteigert wird, beschreiben ebenfalls Nir et al.[102](1994) und Tekin et al. [103] (2007), die erhöhte ET-Werte im Plasma und Urin bei asphyktischen Neugeborenen fanden..

1.3.2.2 Pulmonale Hypertonie

Jede respiratorische Insuffizienz führt auch bei Früh- und Neugeborenen zu pulmonaler Hypertonie. In verschiedenen Studien, die sich mit pulmonaler Hypertonie beschäftigen, zeigten sich erhöhte ET-Werte in den betroffenen Gefäßgebieten. So wurden erhöhte ET-1 Plasmakonzentrationen bei Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie[104] (Cacoub et al., 1993a) und mit sekundärer pulmonaler Hypertonie, z.B. durch hypoxische Lungenerkrankungen[105] (Steward et al., 1991), angeborene Herzfehler[106] (Cacoub et al., 1993b), kongestive Kardiomyopathie[107] (Cody, 1992), Kollagenosen[108] (Vancheeswaran et al., 1994), pulmonale Thrombembolie[109] (Steward et al., 1991) und angeborene Herzklappenfehler[110] (Cacoub et al., 1993b) gefunden. Die Fähigkeit, ET in der Lunge abzubauen, scheint bei der primären pulmonalen Hypertonie bei gleichzeitig erhöhter ET-Produktion erniedrigt[111] (Steward et al., 1991). Der Plasmaspiegel von ET korreliert nicht in allen Fällen mit der Schwere der Erkrankung. Die ET-1 Konzentrationen in den Endothelien steht jedoch in Beziehung zur Höhe des pulmonal-vaskulären Widerstands[112] (Giaid et al., 1993). Bei der kongestiven Kardiomyopathie und anderen Herzerkrankungen fand sich eine direkte Korrelation zwischen der ET-1 Konzentration im Plasma und dem pulmonal-ateriellen Druck[113] (Cody, 1992) beziehungsweise der Schwere der Herzerkrankung[114] (Tsutamoto et al., 1994).
In vielen dieser Studien konnte bewiesen werden, dass der ET-Rezeptorantagonist BQ123 die pulmonale Hypertonie zumindest abschwächen konnte[115] (Okada et al., 1995b) [116] (Arcot et al., 1993) [117] (Teerlink et al., 1994).
Inhaliertes NO verminderte bei der pulmonalen Hypertension von Früh- und Neugeborenen die ET-1 Konzentration im Plasma[118] (Truog et al., 2002). Des weiteren kann NO die Sauerstoffsättigung asphyktischer Frühgeborener über zwei Mechanismen

verbessern: es kann extrapulmonale Shunts umkehren, indem es selektiv den pulmonal-vaskulären Widerstand reduziert und zweitens günstig den intra-pulmonalen Ventilations-Perfusions-Mismatch beeinflussen [119](Consensus Conference, 2004). Auch fanden sich erfolgversprechende Behandlungen mit Sildenafil und Bosentan bei der Behandlung der pulmonalen Hypertonie bei Kindern und Jugendlichen[120] (Raposo-Sonnenfeld et al., 2007).

1.3.2.3 Asthma und COPD

Die Kontraktion der glatten Muskulatur in den Bronchiolen und in den Ateriolen bei Asthma ist überwiegend Endothelin induziert und wirkt unter anderem über den Anstieg des interzellulären Ca^{2+} [121] (Perez-Zoghbi et al., 2007) .Die kontrahierende Wirkung des Endothelins auf die glatte Muskulatur wurde auch bei der Bestimmung von Lavageflüssigkeit während eines Asthmaanfalls beobachtet [122] (Sofia et al., 1993).

Während der akuten Exazerbation einer COPD wurde eine erhöhte ET-Ausscheidung im 24-Stunden-Urin gefunden, während sich die Werte im beschwerdefreien Zustand denen Gesunder annäherten[123] (Sofia et al., 1994). Dies gibt einen Hinweis darauf, dass eine erhöhte ET-Ausscheidung im Urin nicht nur mögliche pathologischen Zustände in der Niere widerspiegelt, sondern auch von anderen relativ schnell reversiblen Ereignissen, in diesem Falle in der Lunge, abhängt.

1.3.2.4 Lungenfibrose

ET-1 besitzt die Fähigkeit, das Fibroblastenwachstum[124] (Peacock et al., 1992) und die Kollagensynthese[125] (Kahaleh et al., 1991) anzuregen. Erwartungsgemäß konnten daher bei der Lungenfibrose und der Sklerodermie erhöhte ET-1 Plasmawerte gefunden werden[126] (Sofia et al., 1993) [127] (Uguccioni et al., 1995) [128] (Vancheeswaran et al., 1994) [129] (Kawaguchi et al., 1994). ET-1 wird sogar als auslösender Faktor der epithelial-mesenchymalen Umbildung bei der Lungenfibrose gesehen [130] (Kim et al., 2007) . Fibrotische Umbaureaktionen der Lunge spielen in der Neonatologie zumeist als sekundäre Prozesse eine Rolle.

1.3.3 Nieren

Die physiologischen und pathophysiologischen Beziehungen von ET zur Niere und deren Funktion sind eine wichtige Grundlage der hier zu bearbeitenden Fragestellung.

Hierbei muss beachtet werden, dass sich das Zusammenspiel zwischen Nieren und ET und dessen Ausscheidung während des Wachstumsprozesses der Nieren vom Frühgeborenem

zum Erwachsenen wahrscheinlich v.a. quantitativ verändern. Ergebnisse, die beim Erwachsenen und in Tierversuchen gewonnen wurden, sind also nur begrenzt auf das Früh- und Neugeborenenalter übertragbar. Untersuchungen von ET im Urin Neugeborener machen bei den Veröffentlichungen vor allem in den letzten Jahren nur einen kleinen Anteil aus.

Über ET-A-Rezeptoren in den glomerulären afferenten und efferenten Arteriolen[131] (Ferri et al., 1995) sowie in den Vasa recta[132] (Kohno et al., 1992) wird eine Vasokonstriktion vermittelt. ET-B-Rezeptoren finden sich im Mesangium und im Endothel des Glomerulums[133] (Abassi et al., 1992) [134] (Sulyok et al., 1993) und bewirken bei Aktivierung eine NO-Synthese. Im Vergleich zu Erwachsenen ist die Gesamtzahl von ET-Rezeptoren in der fetalen Niere höher[135] (Grone et al., 1990).

Hunley et al. gelang es durch eine systemische Infusion von ET und einen dadurch erhöhten Gefäßwiderstand den intrarenalen Blutfluss zu reduzieren[136] (Hunley et al., 1995). Diese Vasokonstriktion war etwa dreißig mal stärker als eine durch Angiotensin hervorgerufene und ist wahrscheinlich hauptsächlich ET-B-Rezeptor vermittelt.

Im distalen Tubulus[137] (Arai et al., 1990) [138] (MacCumber et al., 1989) und in den Sammelrohren[139] (Ferri et al., 1995) [140] (Yoshizumi et al., 1989) wirkt ET ebenfalls über ET-B-Rezeptoren durch Hemmung des cyclo-AMP als Vasopressin-Antagonist, vermindert dort also die Wasserpermeabilität und dadurch die Rückresorption von Wasser[141] (Kohan et al., 1993) [142] (Oishi et al., 1991) [143] (Tomita et al., 1990). Dieses bestätigen auch Untersuchungen von Clavell et al.[144] (1995). Ein entgegengesetzter Effekt ist über die Vermittlung des ET-A-Rezeptor auszulösen[145] (Chin et al. , 2001).

Sulyok et al.[146] (1993) beschreiben, dass die Konzentration von ET im Urin bei reifen Neugeborenen vom ersten Tag bis zum fünften Tag absinkt. Ebenso sinke die ET-Konzentration bei Frühgeborenen im Urin ab und erreiche nach den ersten sieben Tagen Werte wie bei reifen Neugeborenen. Diese Werte änderten sich dann innerhalb der ersten 2-5 Lebenswochen nicht mehr.

Mattyus et al.[147] (1994a) fanden im Gegensatz hierzu bei Frühgeborenen niedrigere ET-Konzentrationen (bei erhöhter ET-Tagesmenge) als bei reifen Neugeborenen.

Lees et al.[148] (1990) und Mattyus et al.[149] (1994a) bestimmten die ET-Werte im Urin von Säuglingen, die 28 bzw. 35 Gestationswochen alt waren, bezogen auf 1,73 m^2 Körperoberfläche und 24 h und fanden bei Frühgeborenen eine erhöhte ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche gegenüber reifen Neugeborenen.

Sulyok et al.[150] (1993) fanden vergleichbare Ergebnisse, bei jedoch insgesamt deutlich niedrigerer täglicher ET-Ausscheidung bezogen auf die Körperoberfläche (siehe auch

Abbildung 8). Zusätzlich stiegen bei den Frühgeborenen die ET-Mengen pro 24h und Körperoberfläche (entgegengesetzt zu ihren Ergebnissen bei der ET-Konzentration) auch noch über die ersten sieben Tage betrachtet an.

1.3.3.1 Nierenerkrankungen

Morabito et al.[151] (1994) [152] (1996) berichten über erhöhte ET-Konzentrationen im Urin bei Diabetes mellitus, welche sie mit dem entstehenden tubulären Nierenschaden in Verbindung bringen. Kon und Badr[153] (1991) bestätigen den Zusammenhang zwischen erhöhten ET-Konzentrationen im Urin und der Schwere der Nierenschäden.

Hentschel et al.[154] (1995) fanden gleichzeitig eine hohe ET-1 Konzentration und erhöhte spezifische Marker für reversible proximale Tubuli- und Sammelrohrschädigungen des inneren Marks im Urin. Eine erhöhte ET-Sekretion bei niedriger ET-Konzentration im Urin wird bei Neugeborenen und Kindern mit Diabetes mellitus und verschiedenen Nierenerkrankungen von McMahon et al.[155] (1993) und Worgall et al. [156] (1994) beschrieben. Bei der progressiven Niereninsuffizienz und der passiven Heymann Nephritis korrelieren der Nierenstatus sowie die Exkretion von Peptiden mit der Höhe der ET-1 Gen Expression[157] (Bruzzi et al., 1997) [158] (Zoja et al., 1998). Die schädigende Wirkung von ET zeigen Versuche, bei denen es durch Genverpflanzung zu einer vermehrten ET-1 und ET-2 Produktion in der Niere kam, woraufhin sich Nierenschäden einstellten[159] (Hocher et al., 1997).

ET scheint auch an der Entstehung der eingeschränkten Nierenfunktion bei akutem Leberversagen beteiligt zu sein[160] (Anand et al., 2002).

Unabhängig von der Diurese wurden erhöhte ET-Mengen im 24 h-Urin bei verschiedenen Nierenerkrankungen (fokale Glomerulosklerose, Lupusnephritis, Endstadium des Nierenversagens, membranöse proliferative Glomerulonephritis und IGA Nephrophathie) gefunden[161] (Ohta et al., 1991) [162] (Naruse et al., 1991) [163] (Roccatello, 1994).

Worgall et al.[164] (1994) fanden keine erhöhte ET-Ausscheidung im Urin bei Kindern mit nephrotischem Syndrom und stabiler Glomerulonephritis aber erhöhte ET-Ausscheidung im Urin bei chronischen Nierenerkrankungen, idiopathischer Hypercalciurie und nach Nierentransplantationen. Eine erhöhte Ausscheidung von ET im Urin bei Ratten mit fokaler segmentaler Glomerulosklerose fanden Chen et al.[165] (2001). [166] Dhaun et al . (2007) beschreiben eine nierenschützende Wirkung von ET-Rezeptor-Antagonisten bei chronischen Nierenerkrankungen .

1.3.4 Woher stammt das ET im Urin?

Diese Frage ist wichtig um die Bedeutung des ET im Urin für unsere Fragestellung beurteilen zu können. In einer Untersuchung von Ohta et al.[167] (1991) wurden Zusammenhänge zwischen ET im Urin, der glomerulären Filtrationsrate, der Filtrationsrate und der Plasmakonzentration von ET untersucht. Hierbei ergaben sich bei Erwachsenen keine Zusammenhänge.

Dass jenes ET, welches man im Urin nachweist, hauptsächlich in den Nieren selbst produziert wird und kaum aus dem Plasma stammt, legt ebenfalls ein Versuch nahe, bei dem sich markiertes ET ins Blut injiziert zu weniger als 1% im Urin wiederfand[168] (Abassi et al., 1992). Ein kleiner Teil des ETs im Urin stammt aus den ableitenden Harnwegen[169] (Saenz de Tejada et al., 1992). Auch der Nachweis von ET-mRNA in den glomerulären Kapillaren, in den Mesangiumzellen und in verschiedenen renalen Tubulizellen untermauert die renale Herkunft zumindest eines Teils des ETs im Urin[170] (MacCumber et al., 1989) [171] (Ujiie et al., 1992). 1994 beschreiben Mattyus et al.(1994a)[172] und Worgall et al.[173], dass bei gesunden Kindern ab 2 Jahren die ET-Menge im 24-h-Urin vergleichbar mit Erwachsenen ist, wenn man einen Körperoberflächenfaktor mit einberechnet. Daraus ziehen sie die Schussfolgerung, dass der ET-Gehalt im Urin bei dieser Probandengruppe hauptsächlich von der Größe der Nieren beeinflusst wird. Die ET-1-LI-Menge im Urin sei zumeist höher als die im Plasma (siehe 1.2.4)[174] (Ando et al., 1991).

Stammt das im Urin nachweisbare ET jedoch hauptsächlich von den Nieren selbst, so bleibt die Frage offen, warum in manchen Studien ET-Urinwerte pathologische Zustände wie z.B. eine akute Exazerbation der COPD ohne Nierenschäden mit signifikanten Korrelationen zum Krankheitsgeschehen widerspiegeln (siehe Kapitel 1.3.2.3). Eine kürzlich von Goddard et al. [175] (2007) veröffentlichte Studie scheint hier das „missing link“ gefunden zu haben. Sie zeigt, dass zwar kein direkter Zusammenhang zwischen ET im Plasma und demjenigen im Urin besteht (keine direkte Filtration), die ET-Ausscheidung in den Urin jedoch über ET-B-Rezeptoren beeinflusst wird und somit ein indirekter Zusammenhang zwischen ET im Plasma und demjenigen im Urin besteht.

Bei den Untersuchungen zur ET-Menge pro 24h im Urin gibt es zwei unterschiedliche Untersuchungsergebnisse, was die Rolle der Diurese betrifft: Ohta et al.[176] (1991) beschreiben, dass bei Gesunden, bei denen die Diurese durch zusätzliche Zufuhr von 500 ml physiologischer Kochsalzlösung angeregt wurde, die Gesamtexkretion von ET auf 24h gerechnet nicht zunimmt. Bei Kindern mit Nierenleiden hingegen fanden sie eine erhöhte

ET-Menge pro 24h. Aus diesen Ergebnisse schliessen sie, dass die ET-Ausscheidung nicht durch die Diuresemenge beeinflusst wird, sondern höchstwahrscheinlich durch den Gesundheitszustand der Nieren.

Mattyus et al.[177] (1994a) hingegen sehen einen Zusammenhang zwischen der ET-Ausscheidung pro 24h und der Diurese. Sie postulieren die Diuresemenge als einen Hauptfaktor für die Menge der ET-Ausscheidung und vermuten außerdem, dass die Erhöhung der täglichen ET-Ausscheidung bei Neugeborenen mit deren anfänglich zunehmenden Diurese zusammenhängen könnte.

1.4 Kardiopulmonale Adaptation in der Perinatalperiode

In dieser Studie betrachten wir unter anderem Frühgeborene mit Atemstörung. Deshalb ist es wichtig sich die physiologischen Veränderungen anzusehen um anschließend die pathophysiologischen Vorgänge besser einordnen zu können.

Die perinatale Umstellung des Kreislaufs und die grundlegende Änderung der Physiologie der Sauerstoffversorgung ist einer der kritischsten Zeitpunkte des menschlichen Lebens. Die vollständige Abhängigkeit der Sauerstoffzufuhr von der Plazenta, die ihrerseits von mütterlichen Kreislaufbedingungen abhängt, wird ersetzt durch eine autonome Sauerstoffaufnahme über Lunge und kleinen Kreislauf des Früh- bzw. Neugeborenen. Diese Kreislaufumstellung ist in ihrem Finetuning und zeitlichen Ablauf extrem komplex. Insbesondere können sich über Tage und Wochen Vorgänge wie der Abfall des pulmonalen Gefässwiderstands und der funktionelle Verschluss von Ductus arteriosus und Foramen ovale plötzlich wieder umkehren und die Sauerstoffversorgung des Kindes gefährden.

Sauerstoffmangel lebenswichtiger Organe stellt die schwerwiegendste Bedrohung des Feten und Neugeborenen dar. Sie kann intrauterin z. B. durch uteroplazentare Insuffizienz, Gestose, Hypotension, vorzeitige Lösung der Placenta, Nabelschnurvorfall oder -umschlingung, perinatal durch eine langdauernde oder überstürzte Geburt, Missverhältnis zwischen Becken und Kind oder durch kindliche angeborene Erkrankungen wie z.B. Myasthenia gravis, pulmonale Hypoplasie, Zwerchfellhernien oder Infektionen ausgelöst werden.

Normalerweise führt die physiologische Kompression und Dehnung des Thorax bei Geburt zum Lufteintritt in die Lunge. Dieser ist Vorraussetzung für die beginnende NO Produktion. NO wird dabei aus Arginin und dem bis zur Geburt zunächst stark begrenzten

Sauerstoff über eine komplexe Synthese u.a. von der NO- Synthase im Endothel gebildet. NO und Prostaglandin 2 führen zu einer Dilatation der Lungenarterien und somit zum Absinken des pulmonalen Gefäßwiderstands. Wird dieser Vorgang auf irgendeiner Stufe gestört, überwiegt das Endothelinsystem und es kommt zu einer Vasokonstriktion und somit zu einer pulmonalen Hypertension. Diese führt zu einem Missverhältnids zwischen Ventilation und Perfusion und ist eine wsentliche Ursache der Hypoxämie.

Eine wesentliche Ursache der Hypoxämie ist also ein Missverhältnis von Ventilation und Perfusion in der Lunge.

Jede Störung der pulmonalen Funktion führt zur sekundären pulmonalen Hypertension, welche ihrerseits den notwendigen Verschluss des Ductus arteriosus Botalli und des Foramen ovale verhindert und persistierende Rechts-Links-Shunts (fetale Zirkulation) nach sich zieht. Es kommt zu einem Circulus vitiosus mit zunehmender Sauerstoffuntersättigung.

Eine postnatale Asphyxie tritt in den zwei Varianten, der „blauen Asphyxie“ mit Dyspnoe, Atemstillstand, Zyanose und Bradykardie und der selteneren „weißen Asphyxie“ mit Blässe, Bradykardie und Hypotension bei Volumenmangel, auf. Warnzeichen der neonatalen Hypoxie sind verminderte Spontanatmung bis hin zur Apnoe, Bradykardie < 100 Schläge/min, neonatale Azidose mit einem pH<7, 2 aus der Nabelarterie und einem Apgar-Score in der ersten Minute <4 oder < 6 nach 5 Minuten.

Bei schwerer Asphyxie besteht das Risiko einer hypoxisch-ischämischen Encephalopathie.

1.5 Zielsetzung und Vorgehensweise der Arbeit

Die bisherigen Ausführungen haben gezeigt, dass ET auf vielfältige Weise und z.T. essentiell das pathophysiologische Geschehen an vielen Organsystemen beeinflusst. ET spielt eine wichtige Rolle bei verschiedensten z.T. auch lebensbedrohlichen Erkrankungen. Es besteht also die Hoffnung durch zunehmendes Wissen über Wirkweisen und Angriffspunkte von ET neue Behandlungsansätze für diese Erkrankungen zu entdecken. Vielversprechende Ansätze ergeben sich hier z.B. aus dem Einsatz von ET-Rezeptorantagonisten bei chronischen Nierenfunktionsstörungen und kardiovaskulären Erkrankungen[178] (Quaschning et al., 2003) wie der frühen Arteriosklerose[179] (Spieker et al., 2002), der Hypertonie und der chronischen Herzinsuffizienz[180] (Luscher et al., 2002) [181] (Philipp et al., 2002). Zur Blutdrucksenkung werden experimentell auch kombinierte ET Converting Enzymhemmer und Hemmer der neutralen Endopeptidase eingesetzt[182] (Tikkanen et al., 2002). In einigen Fällen konnten nierenprotektive Auswirkungen beim

Einsatz von ET- Antagonisten nachgewiesen werden [183] (Dhaun et al., 2007) [184] (Orth et al., 1998) ,[185] (Webb et al., 1998).

Da es bei Neugeborenen erheblich einfacher ist, Urin zu gewinnen als Serum, stellten wir uns die Frage, ob sich aus ET-Werten im Urin Rückschlüsse auf gewisse pathophysiologische Vorgänge wie z.B. Hypoxie oder Asphyxie ziehen lassen. Für die Beantwortung dieser Frage ist natürlich ein Wissen über die Herkunft des ETs im Urin essentiell (Kapitel 1.3.4) .

Aufgabe dieser Arbeit ist es, eine größere Anzahl von ET-Werten aus dem Urin asphyktischer Früh- und Neugeborener zu untersuchen und mit den vorhandenen Werten gesunder Früh- und Neugeborener aus der Literatur zu vergleichen. Dann werden die Gruppen der an den ersten beiden Tagen beatmeten bzw. nicht beatmeten asphyktischen Früh- und Neugeborenen bezüglich der ET-Werte im Urin an den ersten beiden Tagen miteinander verglichen. Anschließend wird noch einmal der Zeitraum der ersten vier Lebenstage betrachtet und dabei zwischen drei Gruppen, der der überhaupt nicht Beatmeten, der nur über zwei Tage Beatmeten und der vier Tage lang Beatmeten differenziert und verglichen. Schließlich erschien es aufgrund der aus der Literatur bekannten Zusammenhänge zwischen der akuten Exazerbation der COPD und ET im Urin (Kapitel 1.3.2.3) sinnvoll, auch die kurzfristigen Auswirkungen von Beatmung auf ET-Werte im Urin zu betrachten (siehe Kapitel3.3.1.3). In einem dritten Schritt wird der Einfluss verschiedener möglicher Kofaktoren, die ebenfalls den ET-Gehalt im Urin beeinflussen könnten und nicht zu vermeiden waren (Abbildung 12), untersucht, sowie auch mögliche Interaktionen zwischen diesen Kofaktoren und Beatmungsfaktoren (Abbildung 21).

2 Patientenkollektiv und Methoden

2.1 Patienten

Untersucht wurden 33 asphyktische Früh- und Neugeborene der Klinik für Pädiatrie der Universität zu Lübeck. Eingeschlossen wurden in die Studie Früh- und Neugeborene der 25. bis 40. Schwangerschaftswoche, die auf der Kinderintensivstation aufgenommen werden mussten und unter Asphyxie litten. Asphyxie wurde dabei definiert als pH aus der Nabelschnurarterie < 7,18 und 1-Minuten APGAR-Wert < 4 bzw. 5-Minuten APGAR-Wert < 7[186] (Möller et al., 1998). Ausgeschlossen wurden Kinder mit chromosomalen Störungen.

Beatmungsindikation war ein FIO_2 von 0,6 oder größer und /oder eine Hypercapnie mit einem pCO_2 kapilär gemessen von größer 65. Beatmungsziel war eine Normocapnie und pulsoximetrisch gemessene Sättigung von 88-95%.

2.2 Erhebung und Dokumentation weiterer Patientendaten

Die benötigten Patientendaten wurden in eigens für Studienzwecke angefertigten Erhebungsbögen dokumentiert. Neben den ET-Konzentrationen im Urin wurden das Kreatinin im Urin, die 24h-Urinmenge, das Gewicht, die Länge, das Gestationsalter, der Geburtsmodus, die APGAR-Werte 1-3, die pH-Werte des Nabelschnurbluts und des Bluts aus der Ferse, die Na- und Cl-Spiegel im Serum (aus der Ferse) und Urin, das CRP, die Leukozytenzahl, Noradrenalin und Adrenalin im Serum (aus der Ferse), das Aldosteron pro Kreatinin im Urin sowie die Gabe verschiedener Medikamente (Furosemid, Noradrenalin, Dopamin und Dobutamin, Fentanyl, NaCl-Substitution, Surfactant, Antibiotika) dokumentiert bzw. bestimmt und dokumentiert.

2.2.1 Einteilung des Patientenkollektivs in Untergruppen

Die Patienten wurden zum besseren Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur in eine Gruppe von Frühgeborenen (< 37. SSW) und Neugeborenen (> 37. SSW) eingeteilt.

Des weiteren wurde, um den Einfluss mechanischer Beatmung zu beleuchten, eine Unterteilung in eine Gruppe von überhaupt nicht beatmeten (Gruppe 0), von nur an den ersten beiden Tagen beatmeten (Gruppe 2) und von über die ersten vier Tage beatmeten Früh- und Neugeborenen (Gruppe 3) vorgenommen (siehe Schaubild). Des weiteren wurde eine Betrachtung der ET-Werte jeweils unter der bei ihnen zutreffenden Bedingung

(Zustand) „nicht beatmet“ bzw. „beatmet“ an jedem einzelnen der ersten 6 Lebenstage vorgenommen (siehe Kapitel 1.5).

Schaubild zur Aufteilung der Patienten in beatmete und nicht beatmete Gruppen über die ersten vier Tage

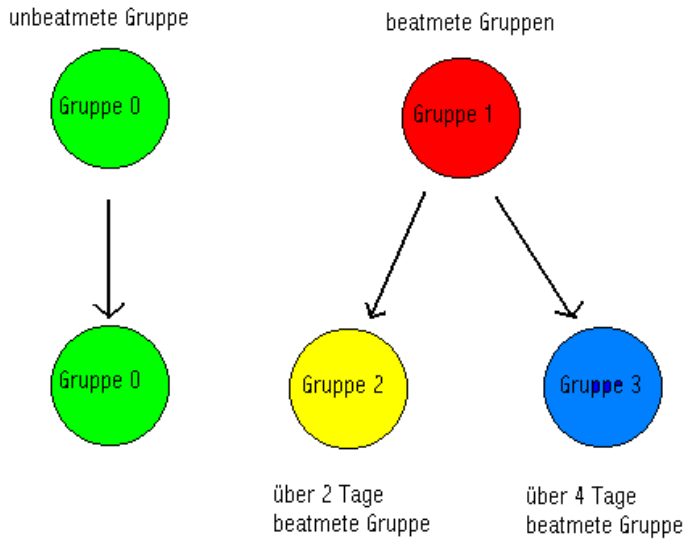


Abbildung 2

2.3 Untersuchungsmaterial

Es wurden jeweils 24h-Urinproben die über die ersten 6 Lebenstage gesammelt worden waren, untersucht. Die Erhebung und Auswertung der Daten war von einer Ethikkommission genehmigt worden. Nach einer Einführung durch die MTA, Frau D. Struwe, erfolgte die gesamte Bestimmung der ET-Werte aus dem Urin durch den Autor persönlich. Die Bestimmung der anderen oben erwähnten Parameter erfolgte im Rahmen der geförderten Katecholaminstudie und wurde dem Autor zur Verfügung gestellt.

2.3.1 Gewinnung und Konservierung des Urins

Der benötigte 24 h-Urin wurde mittels Vorklebebeutel aufgefangen. Die Beutel wurden in regelmäßigen Abständen gewechselt und kaltgestellt, um ein Denaturieren des ETs zu

verhindern. Der gesamte Urin eines Tages wurde dann bei Temperaturen unter -20° C gelagert.

2.4 Bestimmung der ET-Konzentration im Urin

Zur Bestimmung der ET-Konzentration im Urin war zunächst eine Extraktion des ETs aus einem ml des 24h-Sammelurins notwendig. Dieses wurde dann für eine Konzentrations-bestimmung mit Hilfe des RIA aufbereitet und gemessen.

2.4.1 Probenextraktion

Zur Probenextraktion war das vorsichtige langsame Auftauen des Urins notwendig, damit das ET nicht denaturiert. Während der nun folgend beschriebenen Untersuchung wurden die Urinproben und die gewonnenen Eluate auf Eis gelagert.
Der Urin wurde zentrifugiert, um etwaige Schwebstoffe zu entfernen. Anschließend wurde jeweils 1 ml Urin in 13x100 mm Röhrchen abpipettiert und mit 1,5 ml 4% iger Essigsäure (in destilliertem Wasser) angesäuert. Nachdem dies gründlich durchmischt worden war, wurde das Gemisch in die C18 Säule gegeben und durchlief diese ohne zusätzlichen Druck. Das Reagenzglas, in dem sich das Gemisch befand, wurde anschließen mit 5 ml destilliertem Wasser nachgespült. Dieses wurde ebenfalls durch die Säule geleitet. Um die Salze, welche sich in der Säule fest gesetzt hatten, zu lösen, wurde die Säule anschließend noch zweimal mit je 5 ml destilliertem Wasser und 25%igem Ethanol in destilliertem Wasser nachgespült. Der in der Säule verbliebene Rest an Flüssigkeit wurde zuletzt mit einem Peleusball vorsichtig herausgeblasen.
Um das ET, welches nun an die C18 Säule gebunden war, wieder herauszulösen, wurde es zweimal mit je 1 ml 4%iger Essigsäure in 86%igem Ethanol, welche jeweils in destilliertem Wasser gelöst waren, wieder freigespült. Dieses Eluat wurde in Sammelröhrchen aufgefangen. Der in der Säule verbliebene Flüssigkeitsrest wurde mit dem Peleusball vorsichtig ebenfalls in die Sammelröhrchen gepresst.

2.4.2 Trocknen und Rekonstituieren der Extrakte

Die Proben wurden anschließend mit Hilfe des Verdampfers (2.5.3) eingetrocknet bis kein Essigsäuregeruch mehr vorhanden war. Dann wurde das Extrakt mit 1 ml Assaypuffer rekonstituiert. Eine violette Farbe zeigte die korrekte Wiederherstellung an.

2.4.3 RIA-Verfahren

Das Radioimmunassayverfahren ist die älteste, aber immer noch eine wichtige Methode zur Bestimmung von Proteohormonen. In dieser Untersuchung wurde ein kompetitiver Radioimmunassay (Nichols Bad Nauheim) verwendet, um unsere Werte mit den meisten Werten aus der Literatur, die ebenfalls mit Radioimmunassays bestimmt wurden, optimal vergleichbar zu gestalten.

Während der Inkubationszeit (18 Stunden bei 2-8° C) konkurrierte mit J^{125} radioaktiv markiertes ET–1 mit dem unmarkierten ET aus dem Urin, den Standards (s.u.) oder der Kontrolle um einen ET-Antikörper vom Kaninchen, der bei dieser Reaktion nicht zwischen den markierten und unmarkierten Antigenen unterscheiden kann.

Anschliessend wurde unter ständiger Durchmischung ein Anti-Kaninchen-Präzipitierungsreagenz vom Esel hinzugegeben und mit dem Vortex 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das Anti-Kaninchen-Präzipitierungsreagenz band nun an den Kaninchen-ET-Antikörper plus gebundenem markierten und unmarkierten ET. Nach Zugabe von 1 ml destilliertem Wasser zu jeder Probe und anschließender Zentrifugation bei 2000 g bildete sich daraufhin ein Bodensatz aus gebundenen ET-Antikörperkomplexen. Der Überstand konnte nun einfach abgesaugt werden.

Die Röhrchen mit Bodensatz konnten jetzt im Gammer-Counter gemessen werden. Je mehr Impulse von dem radioaktiv markierten ET gezählt wurden um so niedriger war der ET-Gehalt im Urin gewesen. Der ET-Gehalt der Urinproben konnte anschließend aufgrund der Standardkurve, die anhand der mitgelaufenen Standardproben (6, 12, 24, 48, 96, 192 pg/ml), der Totalaktivität (nur zugegebenes radioaktiv markiertes ET), des NSB (unspezifische Bindung, Probe ohne Antikörper und somit Grundlage Zählraten ohne gebundenes ET), der Maximalbindung Null-Standdards (Bo) und einem Kontrollreagenz erstellt wurde, errechnet werden. Hierzu wurde der Mittelwert der NSB von jeder anderen mittleren Zählrate abgezogen, um die korrigierte Zählerrate (cpm) zu erhalten. Dann wurden die so korrigierten Standards durch die Maximalbindungs-Nullstandardprobe (Bo) geteilt und mit 100% multipliziert. Der so erhaltene Standardwert konnte auf einer Ordinate gegen die Standardkonzentrationen auf der Abszisse auf halblogarithmischem Papier aufgetragen werden. Mit den Probenwerten wurde entsprechend verfahren. Der ET-Wert wurde dann mit Hilfe der erstellten Standardkurven bestimmt und musste aufgrund der Beschaffenheit des Radioimmunassays noch mal halbiert werden.

Errechnung der Standards zum Erstellen der Standardkurve

$$\text{prozentuale Zählrate für einzelne Standards} = \frac{\text{mittlere Zählrate (des entspr. Standards)} - \text{NSB}}{\text{mittlere Zählrate BO} - \text{NSB}} * 100\%$$

Gleichung 1

Errechnung der prozentualen Probenzählrate

$$\text{prozentuale Zählrate für Proben} = \frac{\text{mittlere Zählrate (der Probe)} - \text{NSB}}{\text{mittlere Zählrate BO} - \text{NSB}} * 100\%$$

Gleichung 2

2.5 Verwendete technische Geräte und chemische Substanzen

2.5.1 Zentrifuge

Zum Zentrifugieren des Urins wurde eine Zentrifuge von Beckmann mit der Typenbezeichnung CL-GPKR330161 verwendet.

2.5.2 Extraktionssäulen C18

C18 Säulen enthalten eine auf Siliziumdioxyd basierende Verbindung, welche stark hydrophob ist. Sie dienen dazu, wasserlösliche Stoffe von wasserunlöslichen zu trennen. In unserem Fall waren dies Peptide, die aus dem Urin extrahiert werden mußten.
Die Säulen stammten von Waters (Eschborn Germany) unter dem Namen Sep-Pak Classic Cartridges. Vor dem Gebrauch wurden sie mit einem mitgelieferten Reservoir bestückt und nacheinander mit jeweils 5ml 100%igem Methanol, destilliertem Wasser und 4%iger Essigsäure vorbereitet.

2.5.3 Verdampfer

Mit dem Verdampfer (ohne weitere Typenbezeichnung der Firma Nichols Institute Bad Nauheim Germany) wurde das trockene Stickstoffgas mittels eines Verteilers in 48 dünne Plastikröhrchen geleitet, um die Eluate einzudampfen.

2.5.4 Gamma-Zähler und Rechnereinheit

Die Gammastrahlung im Rahmen des Radioimmunassays wurde von einem automatischen Gammazähler (Wallac 1470 WIZARD ™) gemessen. Die gemessenen Werte wurden direkt auf einen IBM Personalcomputer übertragen, der mit Hilfe eines spezifizierten allgemeingültigen RIA-Programms die Standardkurve erstellte und die entsprechenden ET-Werte berechnete.

2.5.5 Chemikalien und Puffer

Alle verwendeten Reagenzien waren von analytischem Reinheitsgrad. Die Substanzen und ihre Bezugsquellen sind im folgenden aufgelistet.
Essigsäure: Merck, Darmstadt
Ethanol: Merck, Darmstadt
Methanol: Merck, Darmstadt
Lyophilisierter Boratpuffer pH 8,4: Nichols Bad Nauheim

2.5.6 Antiseren und Standards

Lyophilisiertes J^{125} – markiertes ET: Nichols Bad Nauheim
Lyophilisiertes ET in Boratpuffer (als Standard): Nichols Bad Nauheim
Lyophilisiertes anti-ET (Antiserum vom Kaninchen in Boratpuffer): Nichols Bad Nauheim
Anti-Kaninchen IgG -beschichtete Zellulose in Suspension: Nichols Bad Nauheim

Die Intra-Varianz des Radioimmunassays unterliegt einem Variationskoeffizienten von 4,5%. Der Variationskoeffizient der Inter-Varianz beträgt 6,8%. Der Wiederfindungsprozentsatz von Standards beträgt zwischen 91-96%.
Der Radioimmunassay bestimmte ET-1. Die Kreuzreaktivität für ET-2 betrug 52%, für ET-3 96% und für Big-ET 7%. Die Kreuzreaktivität zu anderen Peptidhormonen betrug unter 0,1%.
Die oben beschriebenen Werte sind der Beschreibung der Firma Nichols Institute des Radioimmunassays entnommen. Sie liegen im Rahmen der handelsüblichen Radioimmunassays.

2.5.7 Weitere Geräte

Des weiteren wurden in dieser Studie noch folgende Geräte verwendet:
C18 Säulenständer für 24 Säulen: Waters Eschborn Germany
Eppendorfpipetten 4700
Vibrofix VF1 Electronic Janke und Kunkel IKA® Labortechnik
Multi-Tube-Vortexer SMI®
Reagenzgläser der Firma Sarstedt 12x75 mm
Präparatengläser-Kulturröhren (Firma Hassa) 13x100 mm
Sarstedt Urinmonovetten
Wasserstrahlpumpe mit angeschlossener Woulf'schernFlasche
Peleusball: Deutsch & Neumann

2.6 Datenverarbeitung und Auswertung

2.6.1 Datenverarbeitung

Die Bestimmung des ETs durch den Radioimmunassay erfolgte in pg pro ml und gibt somit die Konzentration des ETs an. Die erhobenen Daten wurden vom Autor in Exeltabellen übertragen. Um weitere Einflussfaktoren wie die Körperoberfläche und die Diurese zu berücksichtigen, erschien es sinnvoll, die Werte in die Einheit ET-Menge im 24h-Urin pro Körperoberfläche umzurechnen[1]. Die Körperoberfläche wurde nach der Formel: Körperoberfläche in m^2 = Wurzel aus (Gewicht (in kg) * Länge (in cm)) geteilt durch 3600 berechnet. Auf die Darstellung der Berechnungen bezgl. der ET-Konzentration pro Kreatininkonzentration wird im Folgenden verzichtet, da die Plasmakreatininmenge maßgeblich von der Muskelmasse abhängt. Aufgrund des bei Früh- und Neugeborenen im Katabolismus befindlichen Stoffwechsels werden diese Zusammenhänge zusätzlich verändert. Kreatinin-konzentrationen im Urin für sich betrachtet können daher nur einen sehr ungenauen Anhalt über die Filtrationsmengen geben. So ist es fraglich, welche Bedeutung es hat, ET pro Kreatinin im Urin zu bestimmen, wie es teilweise in der Literatur getan wird.

2.6.2 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS. Nach Beratungen mit dem Statistiker, Herrn Prof. Friedrichs und anderen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Biometrie und Statistik, erfolgte die Auswertung durch den Autor persönlich. Um die Daten auf Normalverteilung zu überprüfen, wurde der Kolmogorov- Smirnov Test verwendet. Die Tests auf signifikante Unterschiede wurden bei intervallskalierten und normalverteilten voneinander abhängigen Variablen mit dem t-Test nach Student durchgeführt. Bei nicht vorliegender Normalverteilung wurden bei abhängigen Stichproben der Wilcoxon-Test, bei unabhängigen Stichproben der U-Test von Mann und Whitney angewandt, um auf Signifikanzen zu überprüfen. Von einer signifikanten Korrelation wird wie international üblich bei einem Wert von $r < 0,05$, von einer hochsignifikanten Korrelation bei einem Wert von $r < 0,001$ gesprochen.

Bei Messwiederholungen über verschiedene Tage wurde im Vorfeld eine Signifikanz der Sphärizität beim Test auf Innersubjekteffekte im Rahmen des allgemeinen linearen Modells untersucht.

---

[1] Primäre Einheit pg /ml
ET-1 mit einem Molekulargewicht von 2491,9 g/mol
Umrechnungsfaktoren m (milli) >p(piko) $1:10^{-9}$; mikro >m(milli) $1:10^{-3}$

3 Ergebnisse

3.1 Darstellung des Patientenkollektivs, bei dem die Daten erhoben wurden

Es handelte sich bei dem Patientenkollektiv um dreiunddreißig asphyktische Früh- und Neugeborene. Das Gestationsalter lag zwischen 25 und 40 Wochen (Mittelwert: 30,82 Wochen, Median 30 Wochen), das Gewicht zwischen 740 und 3480 Gramm (Mittelwert 1576 g, Median 1320 g, 10. Perzentile < 800 g, 90. Perzentile >2530 g).

Die Zeitspanne zwischen der Geburt und der Intubation betrug zwischen 0 Minuten und 4 Stunden. Der Mittelwert betrug 0,46 Stunden, der Median 0,1 Stunde. Der grösste Anteil der Früh- und Neugeborenen wurde sofort nach der Geburt intubiert. Neun Patienten waren nicht intubationspflichtig.
Die Intubationsdauer betrug bei zwei Patienten zwei Tage und bei zweiundzwanzig Patienten vier Tage. An den Tagen fünf und sechs waren keine Patienten mehr beatmet. Die mittlere Beatmungsdauer betrug somit 3.8 Tage in der Gruppe der Beatmeten. Die unterschiedlichen Beatmungsdauern führten zu der oben beschriebenen Gruppen- und Statuseinteilung .
Von den 33 Patienten wurden 9 durch Sectio geboren und verteilten sich gleichmäßig über die Gestationsaltersgruppen. Auch das Geschlechterverhältnis war ausgewogen (16 weiblich, 17 männlich).

Grunderkrankungen und Komorbiditäten

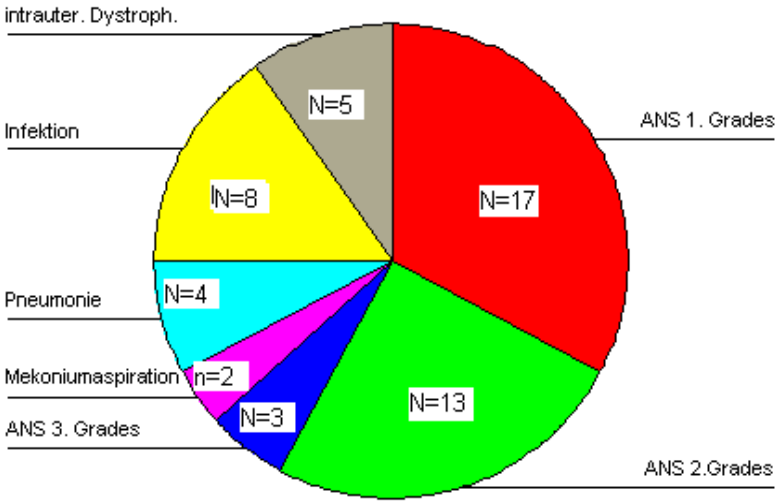


Abbildung 3

Abbildung 3 zeigt die anteiligen Verhältnisse der den asphyktischen Früh- und Neugeborenen von den behandelnden ÄrztInnen gegebenen Diagnosen, wobei jeweils mehrere Diagnosen bei einem Patienten üblich waren und hier berücksichtigt wurden. N gibt an, wie häufig die Diagnose gestellt wurde. Die drei häufigsten Diagnosen waren das Atemnotsyndrom ersten Grades (36 %), zweiten Grades (25%) und Infektionen (15%).

3.2 ET in verschiedenen Einheiten im Verlauf über die ersten Tage und Vergleiche mit Werten aus der Literatur

Im Folgenden wird die Entwicklung verschiedener ET-Werte im Urin über die ersten Lebenstage dargestellt. Die Verteilung der Werte wurde jeweils auf ihre Normalverteilung graphisch und über den Kolmogorov- Smirnov Test überprüft. Dabei ergab sich für die ET-Konzentration und die ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche keine signifikanten Abweichungen von der Normalverteilung (siehe7.1). Aufgrund der Messwiederholungen über verschiedene Tage, wurde im Vorfeld eine Signifikanz der Sphärizität beim Test auf Innersubjekteffekte im Rahmen des allgemeinen linearen Modells untersucht. Hier zeigten sich sowohl bei der ET-Konzentration (p=0,001) als auch bei ET-Werten pro 24h und

Körperoberfläche (p=0,027) signifikante Werte so dass die Untersuchungen auf signifikante Unterschiede mittels des t-Test zulässig sind (siehe7.2).
In einem zweiten Schritt wurden die Differenzen der ET-Werte im Urin zwischen den einzelnen Tagen auf signifikante Unterschiede überprüft.

3.2.1 ET-Konzentration

Bei der Auswertung des Radioimmunassays wurden primär ET-Konzentrationen im Urin in pg pro ml erhoben.
Die folgende Abbildung 4 zeigt die Entwicklung der ET-Konzentrationen im Urin im Verlauf der ersten Tage in der in der Literatur zumeist verwendeten Einheit pg pro ml.

ET- Konzentrationen im Urin über die ersten sechs Tage in pg/ml für die Gesamtgruppe

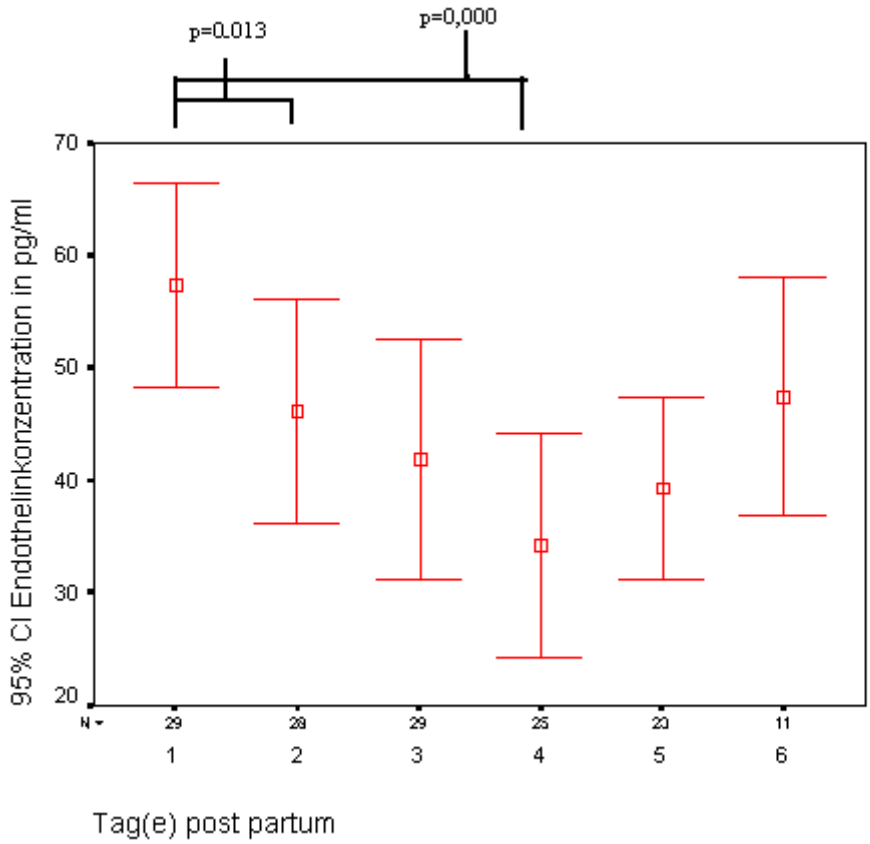


Abbildung 4

Es zeigt sich ein Abfall der ET-Konzentration über die ersten vier Tage und nachfolgend ein Anstieg an den Tagen fünf und sechs.

Bei der Untersuchung auf signifikante Unterschiede bei normalverteilten Gruppen mit dem t-Test nach Student ergibt sich für die Mittelwerte der ET-Konzentrationen vom ersten zum zweiten Tag ein signifikanter Unterschied. Vergleicht man die Unterschiede von Tag eins zu Tag vier sind diese höchst signifikant. Die ET-Mittelwerte des dritten und vierten Tages unterscheiden sich auf nicht signifikantem Niveau (Anhang7.3.1).
Es wird also die Beobachtung, dass die ET-Konzentration im Urin in pg/ml gemessen an den ersten vier Tagen nach der Geburt kontinuierlich abfällt, aus vorherigen Studien mit kleineren gesunden Probandenzahlen auch bei den von uns untersuchten asphyktischen Früh- und Neugeborenen bestätigt.

In Abbildung 5 werden die Urin-ET-Konzentrationen des ersten und des fünften Tages von gesunden, reifen Neugeborenen, die Sulyok et al. (1993)[187] veröffentlichte, mit den Werten, die von unserer Gesamtgruppe und von unseren reifen Neugeborenen erhoben wurden, verglichen, wobei diese in pmol/l umgerechnet wurden.

Vergleich der Literaturwerte mit eigenen ET- Konzentrationen im Urin

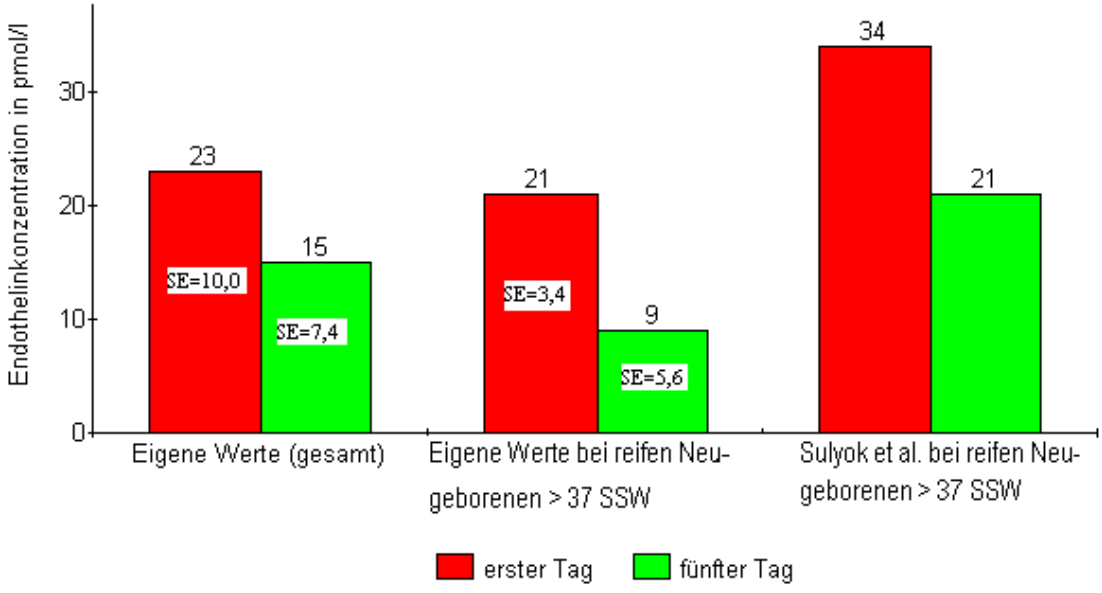


Abbildung 5

Die Werte von Sulyok et al. (1993)[188] fallen höher aus als die Ergebnisse dieser Studie.

Wenn wir unsere Gruppe der bei Geburt älter als siebenunddreißig Gestationswochen und somit reifen Neugeborenen isoliert betrachten (Mitte des Schaubildes), vergrößert sich tendenziell der Unterschied der Werte der beiden Untersuchungen eher, als dass er sich annähert.

Vergleich der eigenen ET- Konzentrationen mit anderen Werten von asphyktischen Früh- und Neugeborenen aus der Literatur

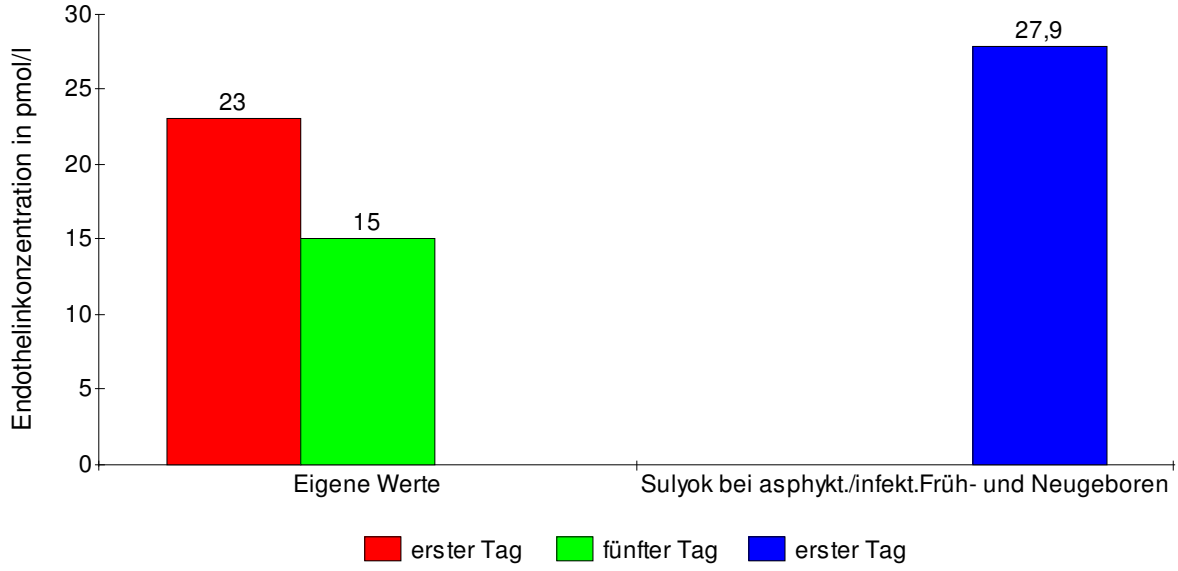


Abbildung 6

In Abbildung 6 werden die Urin-ET-Konzentrationen dieser Studie vom ersten und fünften Tag mit den Werten einer relativ kleinen Gruppe Früh- und Neugeborener von Sulyok et al. (1993)[189] verglichen, die ashyktisch war (n=10, 5-Minuten-APGAR < 6 und pH< 7,1) oder Infektionen hatte (n=6, klinische Symptome, positive Bakterienkultur und erhöhtes CRP), jedoch ohne Geburtsalter publiziert wurde. Auch im Vergleich hiermit liegen die Werte der hiesigen Studie niedriger.

3.2.2 ET- Menge pro 24h und Körperoberfläche

In verschiedenen Arbeiten wurden enge Zusammenhänge zwischen ET im Urin und der Körperoberfläche gefunden. Es ist deshalb in einigen Fällen sinnvoll, den ET-Wert durch die Körperoberfläche zu teilen, zum Beispiel um verschieden große Neugeborene miteinander vergleichen zu können. Es werden die Mittelwerte verglichen.

ET- Menge pro 24h und Körperoberfläche über die ersten sechs Tage für die Gesamtgruppe

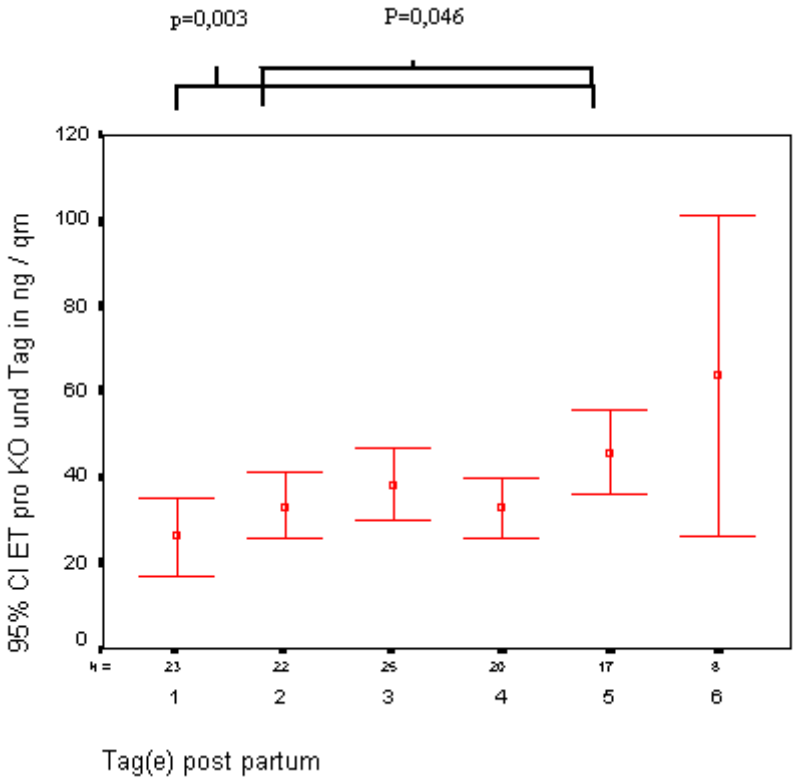


Abbildung 7

Die ET- Werte in ng /m^2 Körperoberfläche und 24h steigen über die ersten sechs Tage fast kontinuierlich an.

Die Untersuchung auf signifikante Unterschiede normalverteilter Daten mit dem t- Test nach Student ergeben für die Mittelwerte signifikante Unterschiede zwischen den Werten der Tage eins und fünf, sowie der Tage zwei und fünf (Anhang 7.3.2). Es ist also von einem signifikanten Anstieg der ET-Menge pro Körperoberfläche und 24h über die Tage hinweg auszugehen.

Um den Vergleich mit erwachsenen Patientengruppen zu ermöglichen, werden in der Literatur die Werte der ET-Menge pro Körperoberfläche und 24h im Urin häufig auf eine Bezugsgröße von 1,73 qm umgerechnet. Um die vorliegenden Werte dementsprechend vergleichen zu können, wurde diese Umrechnung auch hier vorgenommen.

Vergleich der eigenen ET-Werte pro 1,73 m^2 Körperoberfläche und 24h im Urin bei reifer Neugeborenen mit Werten aus der Literatur

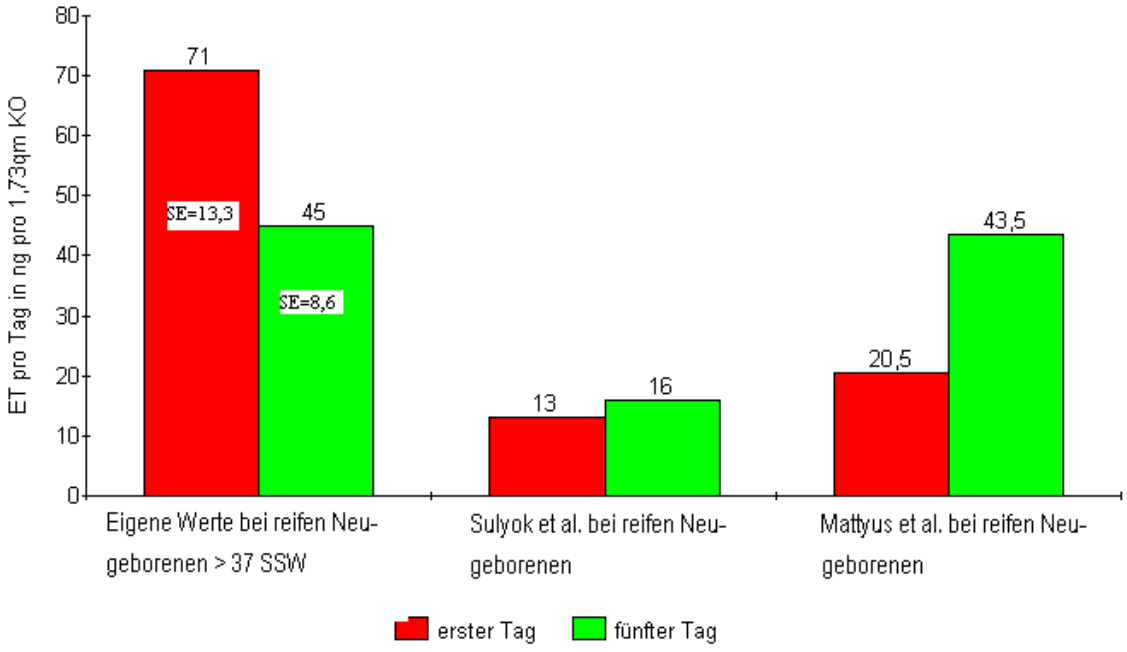


Abbildung 8

Vergleich der eigenen ET-Werte pro 1,73 m² Körperoberfläche und 24h im Urin bei Frühgeborenen mit Werten aus der Literatur (gesunde Frühgeborene)

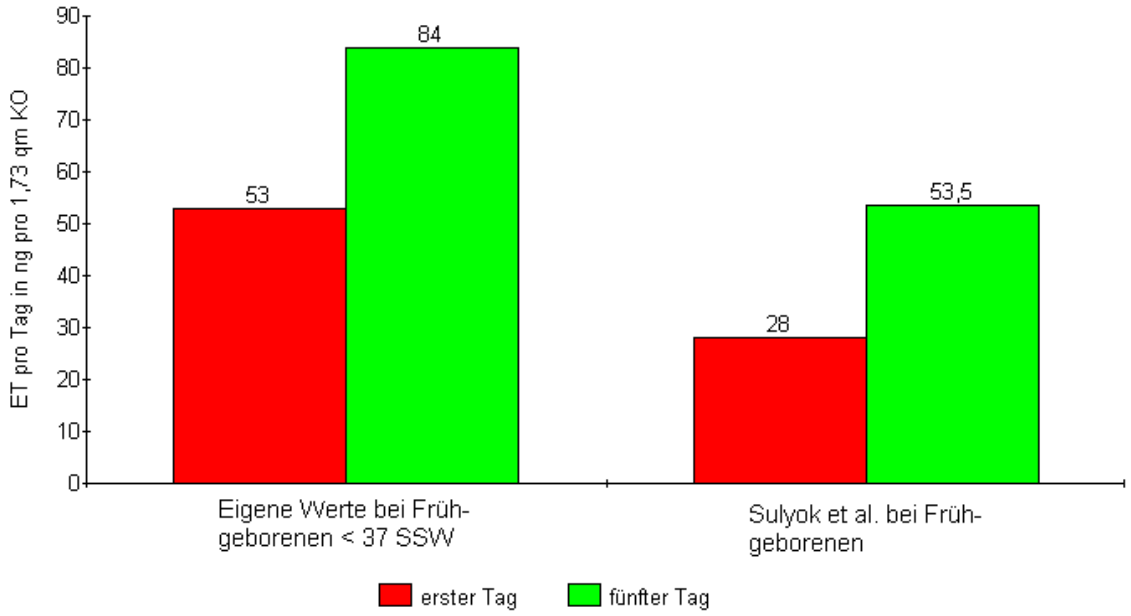


Abbildung 9

Vergleich der eigenen ET-Werte pro 1,73 m² Körperoberfläche und 24h im Urin bei Frühgeborenen der 28. SSW (gemittelt über die ersten 3 Lebenstage, 9 Werte von 3 asphyktischen Frühgeborenen) mit Werten aus der Literatur

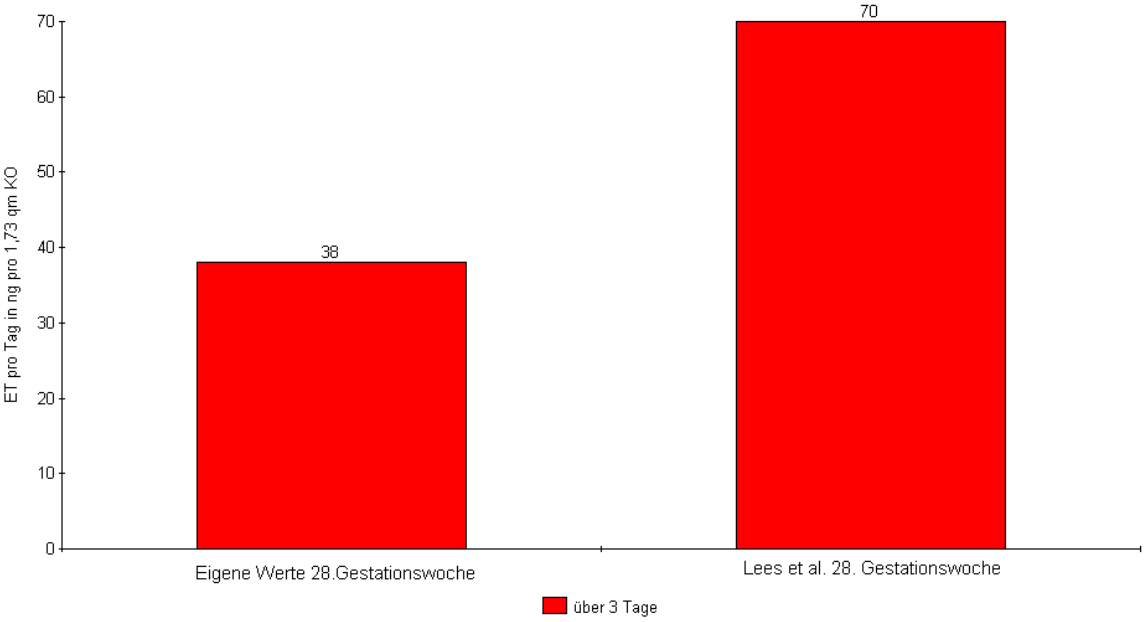
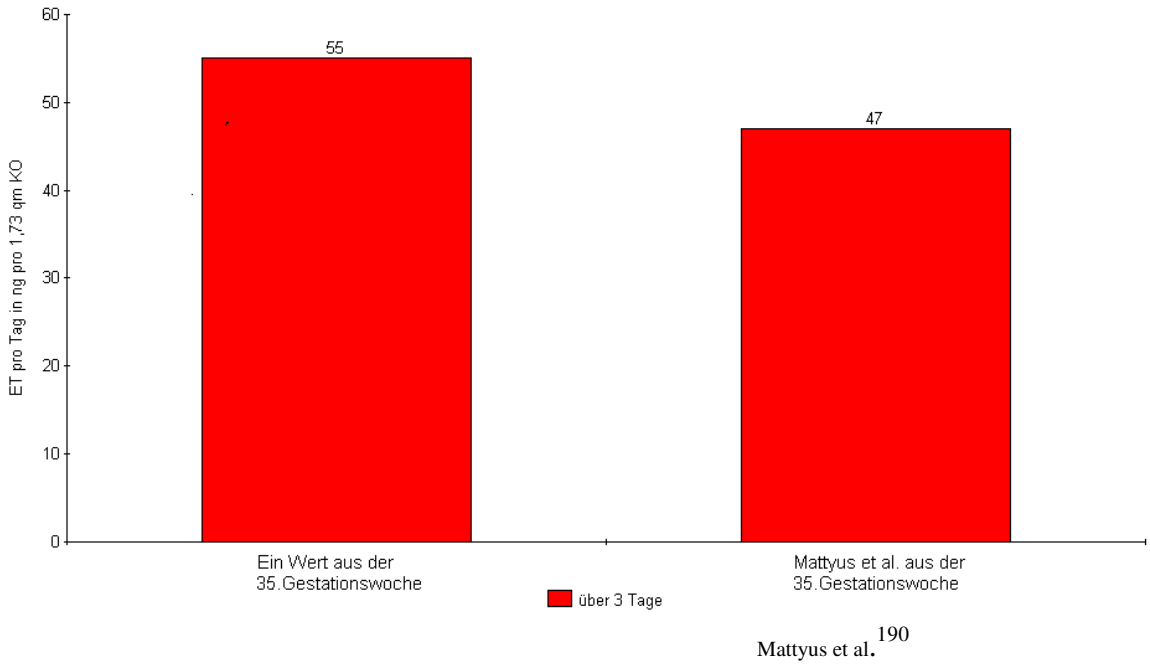


Abbildung 10

Vergleich der eigenen Werte von ET-Mengen pro 1,73 m^2 Körperoberfläche und 24h im Urin bei einem asphyktischen Frühgeborenen der 35. SSW (gemittelt über die ersten 3 Lebenstage aus 3 Werten von einem Frühgeborenen) mit Werten aus der Literatur



Mattyus et al.[190]

Abbildung 11

Die Darstellungen (Abbildungen 8-11) zeigen deutlich, dass die Ergebniswerte dieser Untersuchung asphyktischer Früh- und Neugeborener über allen Vergleichswerten aus der Literatur bei nicht bzw. weniger asphyktischen Früh- bzw. Neugeborenen liegen. Lediglich die Werte von Lees et al.[191] (1990) aus der 28.Gestationswoche sind mit den hier vorliegenden Werten in der Höhe vergleichbar, wobei davon auszugehen ist, ohne dass dies von Lees et al.[192] (1990) ausdrücklich erwähnt wird, dass die so jung Frühgeborenen wenigstens zum größten Teil an einer Atemstörung litten.

3.3 Untersuchung möglicher Einflussgrößen auf die ET-Werte im Urin

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluss der Beatmungsgruppen beziehungsweise der Beatmungszustände auf den ET-Wert im Urin zu untersuchen.
Um nicht falsch positive Aussagen bezüglich dieser Aufgabe zu machen, wurde dann der Einfuß anderer Faktoren auf den ET -Wert im Urin und anschliessend der Einfluss von Faktoren auf die verschiedenen in dieser Arbeit gebildeten Untergruppen (Kapitel Interaktionen 3.3.3) untersucht.

Schaubild zu den in dieser Arbeit untersuchten Einflussgrössen auf die ET-Werte im Urin

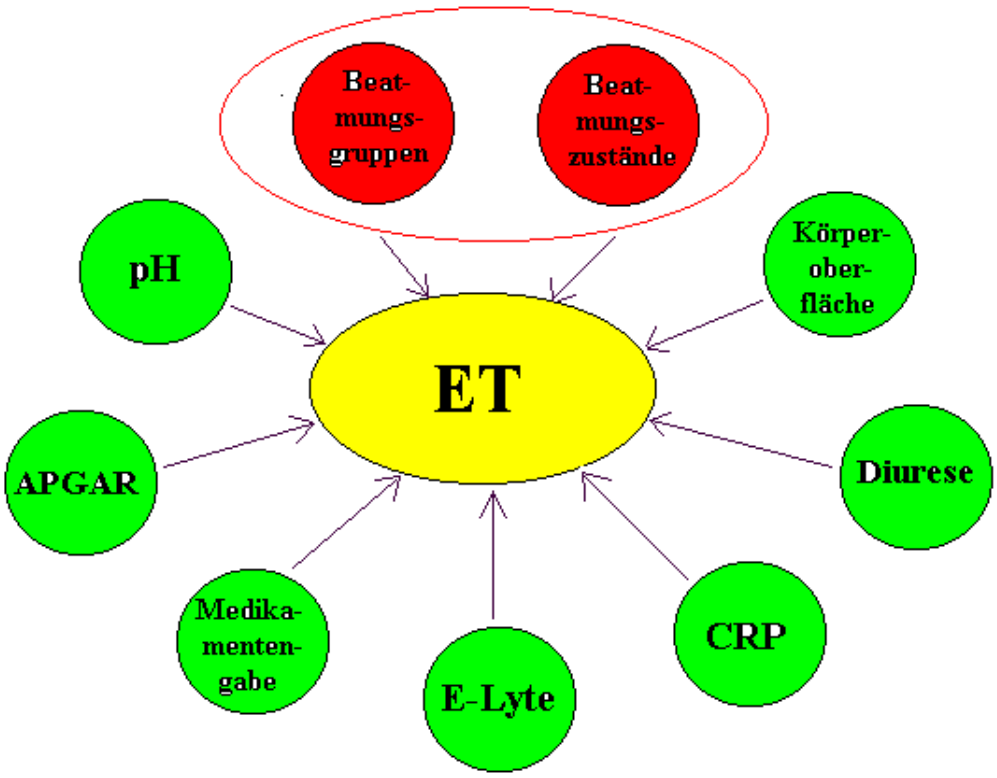


Abbildung 12

Zunächst werden die möglichen direkten Einflüsse der stattgefundenen Beatmung oder Nicht-Beatmung dann die des pH-Werts des Nabelschnurbluts, des pH-Wert aus der Ferse und der APGAR-Werte 1-3 als Asphyxie-Indikatoren, sowie der Körperoberfläche, der

Diurese, des CRPs, der Elektrolyte und verschiedener Medikamentengaben auf die ET-Werte im Urin untersucht.

3.3.1 Untersuchung der Beatmungsgruppen und Zustände

Im folgenden Kapitel werden die unterschiedlichen ET-Werte im Urin zwischen den beatmeten Gruppen und der nicht beatmeten Gruppe verglichen. Hierbei gibt es verschiedene Möglichkeiten der Vorgehensweise (siehe Kapitel 2.2.1).

3.3.1.1 Unterschiede zwischen den beatmeten Gruppen und der nicht beatmeten Gruppe an den ersten zwei Lebenstagen

Zunächst werden die ersten beiden Tage, an denen es eine kleine Gruppe nicht beatmeter Früh- und Neugeborener (N=8, Gruppe 0) und eine größere Gruppe beatmeter Früh- und Neugeborener (N=21, Gruppe 1) gibt, mit jeweils einem Urin-ET-Wert pro 24h bezüglich der verschiedenen Einheiten verglichen. Hierbei ist die ET-Konzentration im Urin an den ersten beiden Tagen bei den nicht beatmeten mit 64 pg/ml (Mittelwert) signifikant (p= 0,037) höher als bei den beatmeten Früh- und Neugeborenen mit 47 pg/ml. Die ET-Mengen pro 24h und Körperoberfläche ist bei beiden Gruppen innerhalb der zwei ersten Tage annähernd gleich (siehe7.4)

3.3.1.2 Unterschiede zwischen den beatmeten Gruppen und der nicht beatmeten Gruppe über die ersten vier Lebenstage

Als nächstes werden die Tage eins bis vier verglichen. Hier unterteilt sich die Gruppe eins in zwei Untergruppen wie in Kapitel 2.2.1 (Abbildung 2) beschrieben. In der Gruppe null bleiben jene, welche über die ganze Zeit nicht beatmet waren (N=9). Die zweite Gruppe bilden die Patienten, die nur zwei Tage lang beatmet waren und dann extubierten werden konnten (N=2). Die dritte Gruppe bilden Patienten, die vier Tage lang beatmet waren (N=22).

Da nicht bei allen Patienten täglich erfolgreich über vierundzwanzig Stunden Urin gesammelt werden konnte, gibt „n“ in den Graphiken die Anzahl der verwerteten Ergebnisse an.

Vergleich der ET-Konzentration im Urin zwischen den beiden beatmeten Gruppen und der nicht beatmeten Gruppe über die ersten vier Tage gemittelt

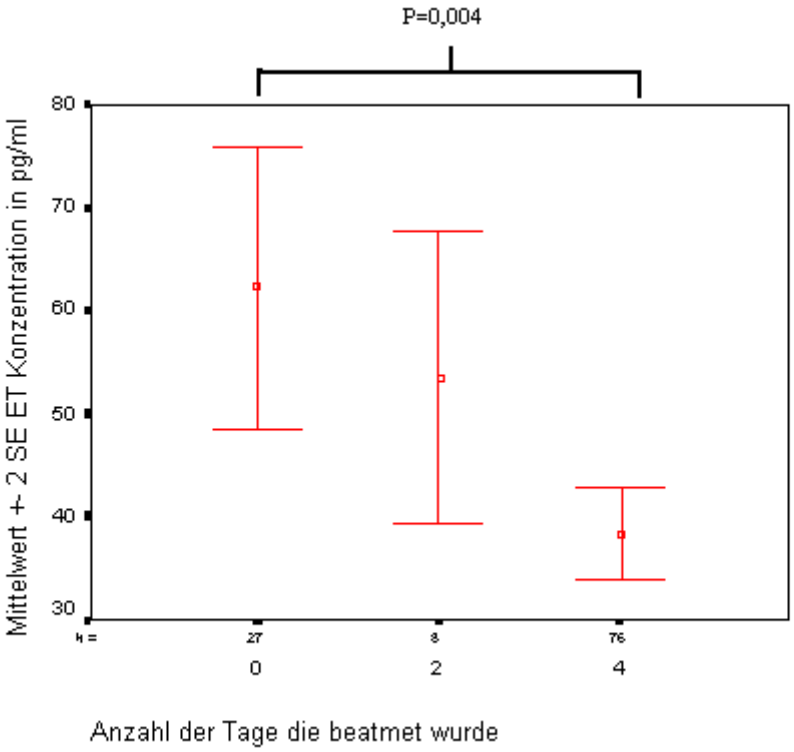


Abbildung 13

Die ET-Konzentrationen im Urin sind wie bei dem Ergebnis über die ersten zwei Tage bei den nicht beatmeten mit 62 pg/ml höher als bei den beatmeten Früh- und Neugeborenen mit 54 bzw. 38 pg/ml. Die nur über zwei Tage beatmeten Früh- und Neugeborenen zeigen einen Mittelwert zwischen den beiden anderen Gruppen.

Vergleich der ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin zwischen den beatmeten Gruppen und der nicht beatmeten Gruppe über die ersten vier Tage gemittelt

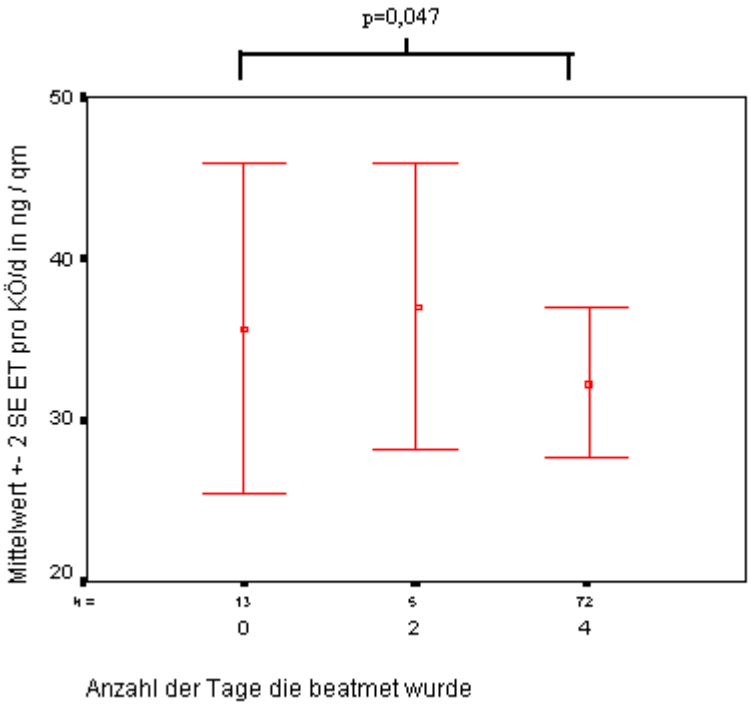


Abbildung 14

Die graphische Darstellung zeigt Unterschiede der ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche in ng/m^2. Bei den nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen ist die ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche mit 36,37 ng/m^2 höher als bei den über 4 Tage Beatmeten mit 32,28 ng/m^2. Die über 2 Tage Beatmeten (N=6) liegen mit 39,34 ng/m^2 noch geringfügig höher als die Unbeatmeten.

Zusammenfassung der Untersuchungen auf signifikante Unterschiede der verschiedenen ET-Werte im Urin zwischen der Gruppe der über vier Tage beatmeten und den nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen an den ersten vier Tagen

	ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Mann-Whitney-U	725,500	501,000
Z	-2,907	-1,159
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,004	,047

Statistik für Test

a Gruppenvariable: 0 = nicht beatmet; 1= beatmet in den ersten 1 bis 4 Tagen

Tabelle 1

Signifikante Unterschiede ergeben sich hierbei von der Gruppe der nicht beatmeten zu der Gruppe der über vier Tage beatmeten Früh- und Neugeborenen für die ET-Konzentration und die ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche. Zwischen der Gruppe der nicht beatmeten zu der Gruppe der über zwei Tage beatmeten Früh- und Neugeborenen für die ET-Konzentration und die ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.1.3 Unterschiede zwischen den ET-Mengen im Urin an den Tagen, an denen beatmet wurde und denjenigen, an denen nicht beatmet wurde

Um zusätzlich noch einmal mögliche akute Effekte von Beatmung auf ET-Werte im Urin asphyktischer Früh- und Neugeborener zu beleuchten, wurden die Einzelwerte noch einmal unabhängig von den untersuchten individuellen Patienten (nicht zugeordnet) - wie in den Kapiteln 1.5 und 2.2.1 beschrieben - betrachtet und ausgewertet. So lassen sich die Wertezahlen der nicht beatmeten Gruppe durch die erhobenen Werte aller Früh- und Neugeborener an den Tagen fünf und sechs, an denen nicht mehr beatmet wurde, vergrößern. Diese Vorgehensweise setzt unter anderem die Hypothese voraus, dass die ET-Werte im Urin bei den Beatmeten am fünften und sechsten Tag nicht natürlicherweise ansteigen (Kapitel 4.3),was aber auch nicht wahrscheinlich ist, da bei gesunden Neugeborenen der ET- Wert eher sinkt (1.3.3)

Vergleich der ET-Konzentration im Urin zwischen den Zuständen „beatmet“ und „nicht beatmet“ an den ersten sechs Tagen

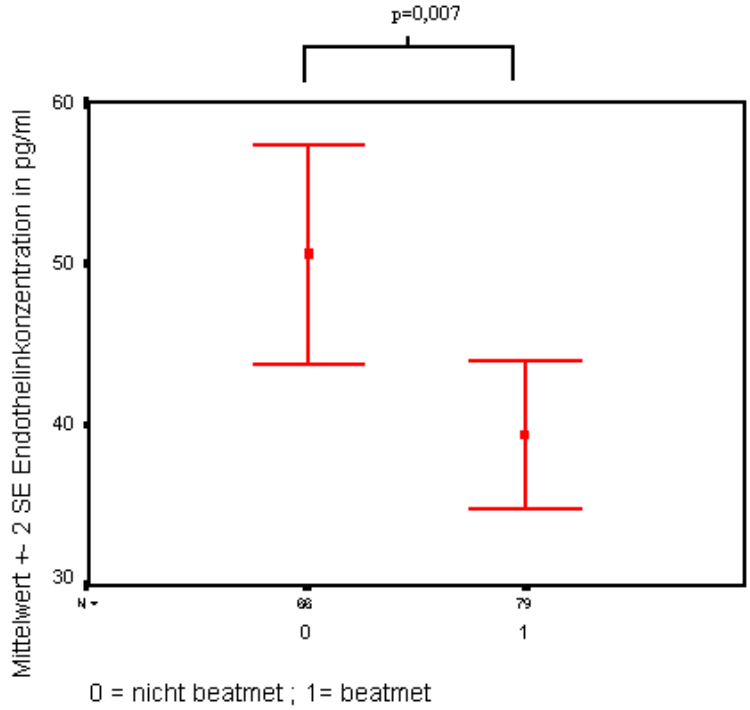


Abbildung 15

Vergleich der ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin zwischen den Zuständen „beatmet“ und „nicht beatmet“ an den ersten sechs Tagen

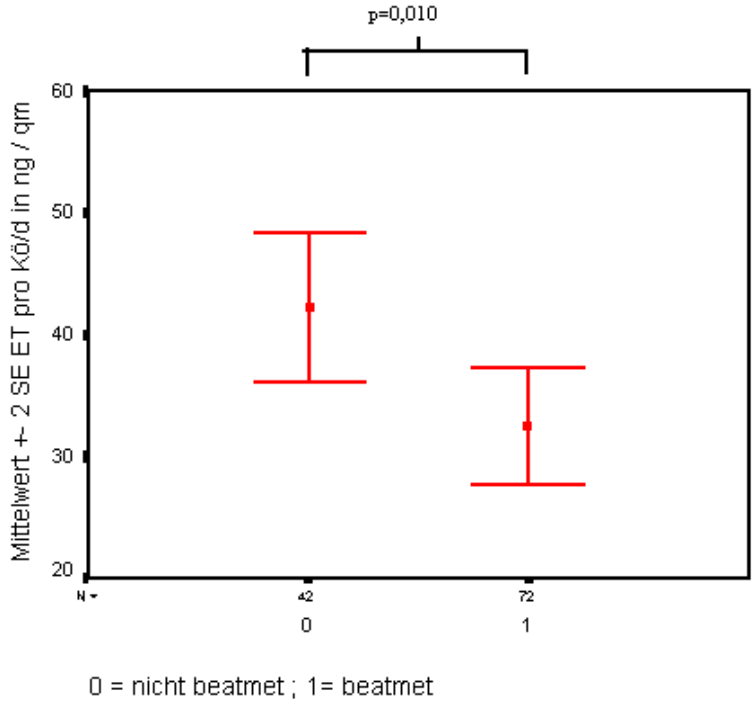


Abbildung 16

Zusammenfassung der Untersuchungen auf signifikante Unterschiede der ET-Werte im Urin zwischen den Zuständen „beatmet“ und „nicht beatmet“ an sechs Tagen gemessen

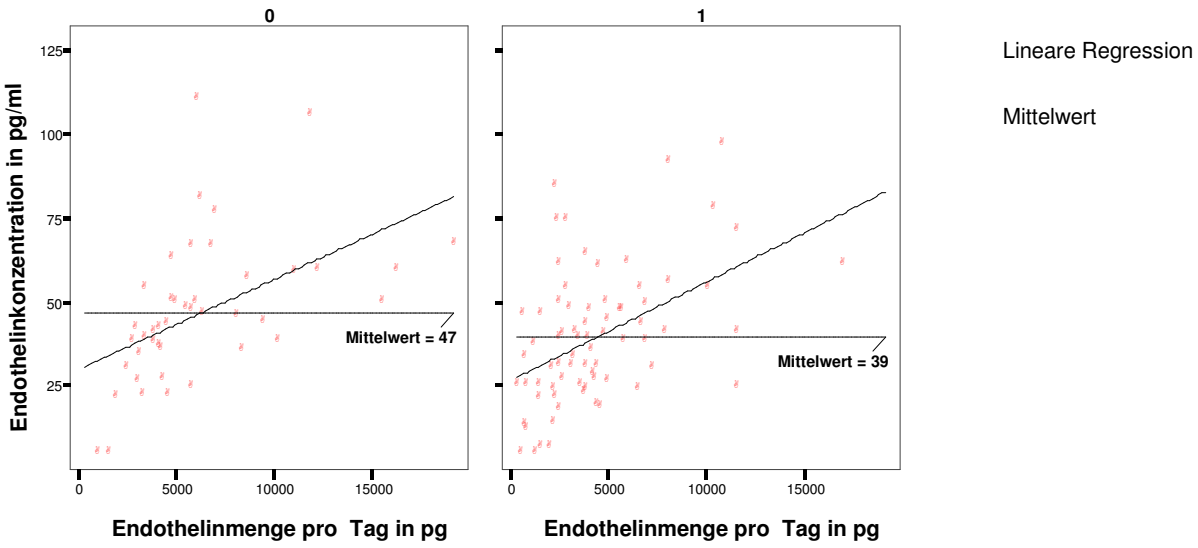
	ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng/qm
Mann-Whitney-U	1926,000	1116,000
Wilcoxon-W	5086,000	3817,000
Z	-2,704	-2,592
Asympt. Signifikanz (2-seitig)	,007	,010

a Gruppenvariable: 0= Gruppe 0 (nicht beatmet); 1= Gruppe 1 (beatmet)

Tabelle 2

Für alle zwei ET-Werte im Urin zeigen sich signifikante Unterschiede, wenn unabhängig von den Individuen die Werte der Tage, an denen beatmet wurde, denjenigen, an denen nicht beatmet wurde, gegenüberstellt werden. An den Tagen, an denen die Früh- und Neugeborenen nicht beatmet wurden, steigen demzufolge die ET-Werte im Urin signifikant an.

Darstellung des Verhältnisses der ET-Konzentration zur ET-Menge pro 24h im Vergleich der Zustände „beatmet“ und „nicht beatmet“



0= Zustand „nicht beatmet“ 1= Zustand „beatmet“

Abbildung 17

Die Darstellungen zeigen, dass in der gesamten Gruppe der asphyktischen Früh- und Neugeborenen die ET-Konzentrationen bei steigenden ET-Mengen pro 24h im Urin mit ansteigen. Der fiktive Schnittpunkt mit der Y- Achse entsprechend der ET-Konzentration ist bei dem Zustand „beatmet“ niedriger. Auch der Mittelwert liegt mit 39 pg/ml niedriger als beim Zustand „nicht beatmet“. D.h. bei gleicher ET-Tagesausscheidung liegt an den Tagen der Beatmung (Zustände „beatmet“) die ET-Konzentration etwas niedriger, was bedeutet, dass an diesen Tagen der Beatmung eine vergleichsweise etwas, jedoch nicht signifikant höhere Diurese stattgefunden haben muss, was sich in den folgenden Kapiteln bestätigt.

3.3.2 Verschiedene andere Einflüsse auf die Urin-ET-Werte

Im folgenden Kapitel werden die verschiedenen anderen Einflussfaktoren auf die ET-Werte im Urin untersucht. Hierbei handelt es sich zum Teil um schon in der Einleitung erwähnte in der Literatur beschriebene, aber auch um von uns für möglich erachtete noch nie untersuchte Faktoren.

3.3.2.1 Schwere der Atemstörung

Zusammenhänge zwischen ET und einigen Parametern, die für die Schwere der Asphyxie relevant sind fanden sich nicht. Untersucht wurden der pH-Wert der Nabelschnur und der pH aus der Ferse sowie die APGAR-Werte. (7.5)

3.3.2.2 ET und Körperoberfläche

Als wichtige Einflußgröße gilt die Körperoberfläche. Im Folgenden werden die Korrelationen zwischen der Körperoberfläche und den ET-Werten im Urin dargestellt.

Korrelationen zwischen der Körperoberfläche und den ET-Werten im Urin

Correlations Spearman’s rho

		ET-Konzentration in pg/ml
Körperoberfläche in m^2	Korrelations- koeffizient	-,178*
	Sig. (2-tailed)	,032
	N	145

Tabelle 3

Die signifikanten Korrelationen dieser Studie von ET zur Körperoberfläche bestätigen den engen Zusammenhang dieser beiden Parameter. Die ET-Konzentration korreliert signifikant negativ mit der Körperoberfläche.

3.3.2.3 ET und Gestationsalter

Da das Gestationsalter bekanntlich mit dem Geburtsgewicht korreliert und somit zumindest indirekt auch zwischen Gestationsalter und Körperoberfläche ein Zusammenhang besteht, sollte man davon ausgehen können, dass das Gestationsalter einen Einfluss auf die ET-Werte im Urin hat.

Im Anhang 7.6 sind tendenziell ansteigende ET-Mengen pro 24h und sinkende ET-Konzentrationen über die zunehmenden Gestationswochen dargestellt. Erklärbar ist dieses entgegengesetzte Verhalten von Tagesmenge und Konzentration durch die im Anhang auch dargestellte ansteigende Urinmenge bei zunehmendem Geburtsalter.

Wichtig jedoch ist die Untersuchung, ob das Gestationsalter einen von der Körperoberfläche unabhängigen Einfluss auf das ET im Urin besitzt. Dieses wird durch die Darstellung der Gestationsalter in bezug auf ET pro 24h und Körperoberfläche erreicht.

Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem Gestationsalter und dem ET pro 24h und standardisierter Körperoberfläche (1,73m²)

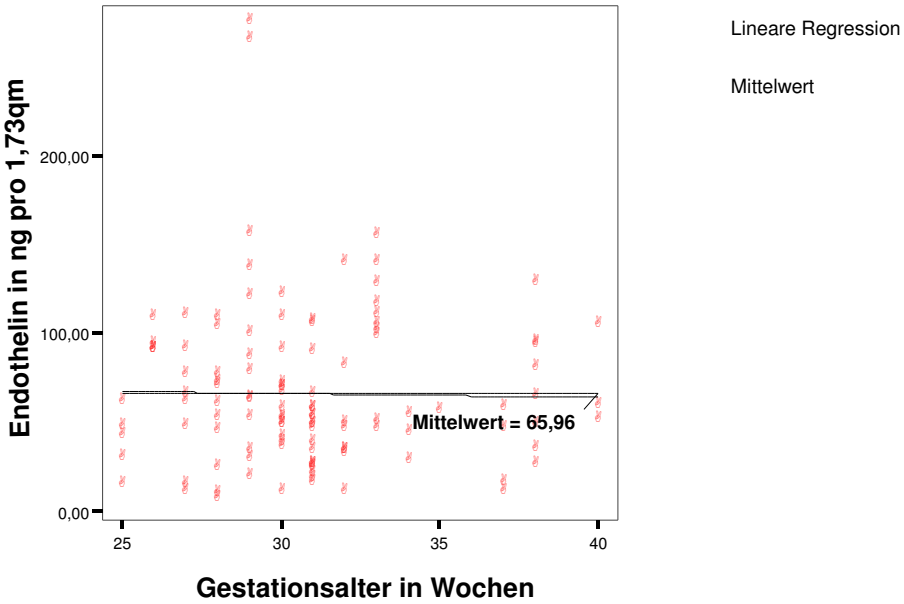


Abbildung 18

Bezieht man die standardisierte Körperoberfläche mit ein, so ergibt sich ein nahezu konstanter Wert über die verschiedenen Gestationsalter.
Das Gestationsalter hat also keinen direkten Einfluss auf die ET-Ausscheidung im Urin, sondern einen indirekten über den Faktor der Körperoberfläche.

3.3.2.4 ET und die Diurese

Wie in der Einleitung erwähnt scheint die Diurese einen Einfluss auf die ET-Ausscheidung auszuüben. Deshalb ist es interessant, sich die Urinmengen im Verlauf der Tage anzusehen.
Die Urinmengen pro 24h über die ersten sechs Tage betrachtet waren mit Ausnahme des fünften Tages von 74,96 ml am ersten Tag auf 172, 95 ml am sechsten Tag ansteigend. Um die Urinmenge unabhängig vom Körpergewicht betrachten zu können, wurde dieses im Folgenden in die Betrachtung mit einbezogen.

Durchschnittliche Urinmenge pro Stunde und Körpergewicht über die ersten sechs Tage

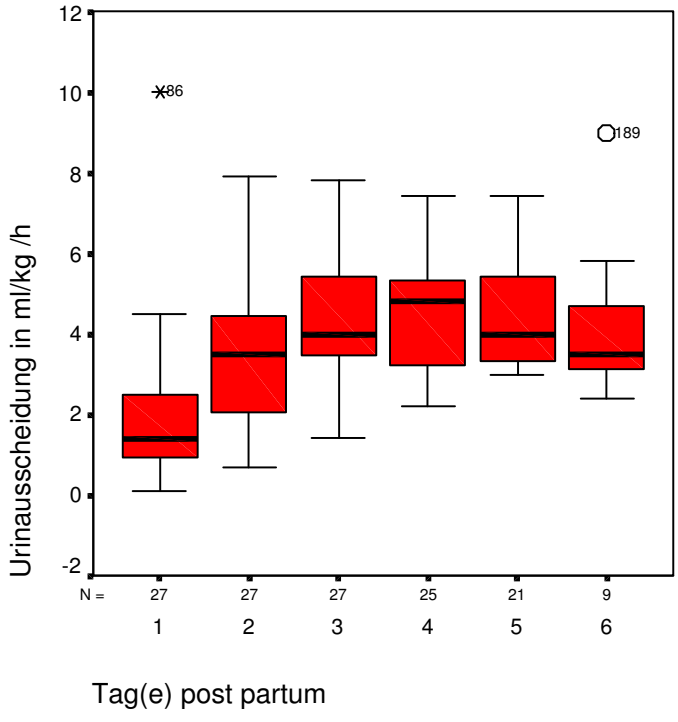


Abbildung 19

Die Urinmenge auf das Körpergewicht bezogen steigt innerhalb der ersten drei Tage von 2,02 ml/kg/h auf 4,31 ml/kg/h an und bleibt dann annähernd konstant. Der Urinmengenanstieg über die Tage relativiert sich also ab dem vierten Tag.

Untersuchung auf signifikante Korrelationen zwischen den ET-Werten im Urin und der Urinausscheidung

Correlations Spearman's rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng /m^2
Urinausscheidung in ml/kg /h	Korrelations-koeffizient	-,280**	,489**
	Sig. (2-tailed)	,002	,000
	N	118	116

Tabelle 4

Die Diurese korreliert hoch signifikant positiv mit der ET-Menge pro 24h im Urin und dem ET pro Körperoberfläche und 24h in ng/m² und signifikant negativ mit der ET-Konzentration im Urin.

Darstellung der ET-Menge im Urin pro 24 h in Abhängigkeit von der Urinausscheidung

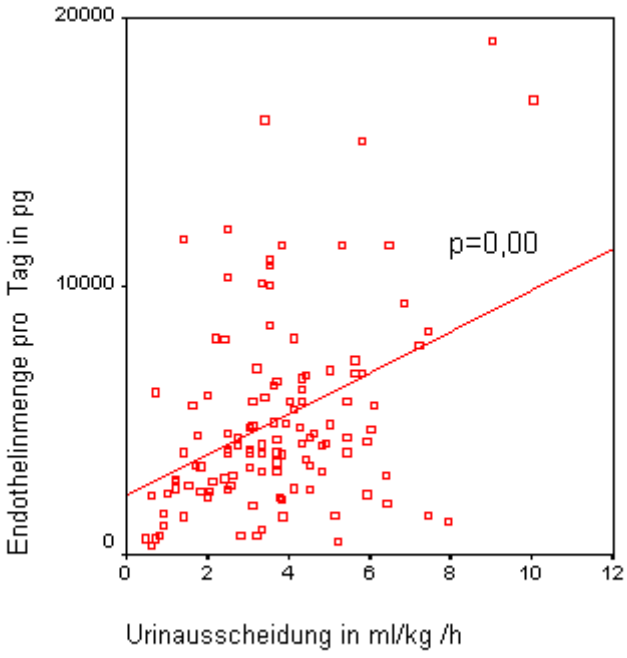


Abbildung 20

Die Abbildung zeigt die Abhängigkeit der ET-Menge pro 24h in pg von der Urinmenge in ml pro kg Körpergewicht und Stunde anhand der dazugehörigen Regressionsgerade.

Die ET-Tagesausscheidung steigt also mit steigender Urinmenge an.

Der Zusammenhang zwischen der ET-Konzentration im Urin und der Urinausscheidung getrennt für die Gruppen der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen ist im Anhang 7.7 dargestellt.

Zusätzlich wurde der Einfluss der Flüssigkeitszufuhr auf die ET-Werte im Urin untersucht. Die Flüssigkeitszufuhr steigt wie zu erwarten über die ersten sechs Tage an. Die Flüssigkeitszufuhr zeigt eine signifikante negative Korrelation mit der ET-Konzentration im Urin aber nicht mit der ET-Menge pro 24 h. Dies ist über den Verdünnungseffekt durch die bei höherer Flüssigkeitszufuhr gesteigerte Urinausscheidung leicht erklärbar (Anhang 7.8).

3.3.2.5 Geburtsmodus

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den ET-Werten im Urin und dem Geburtsmodus (Sectio oder vaginal) (Anhang 7.9).

3.3.2.6 Elektrolyte

Es ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Na- und Cl-Zufuhr und der ET-Ausscheidung im Urin. (Anhang 7.10).

Ebenfalls zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den Natrium- und Chloridspiegeln im Serum bzw. im Urin und den ET-Werten im Urin.

3.3.2.7 Infektionsparameter

Im Rahmen der Studie wurden als Infektionsparameter das C-reaktive Protein und seine Korrelationen zu den entsprechenden ET-Werten im Urin bestimmt.

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen dem CRP und den ET-Werten im Urin (Anhang 7.11).

3.3.2.8 Medikamentengabe

Bei dem untersuchten Patientenkollektiv wurden jeweils nur bei kleinen Subgruppen folgende Medikamente verabreicht: Antibiotika (Vankomyzin, Penicillin, Gentamycin und Amoxicillin), Surfactant, Furosemid, Fentanyl und Katecholamine. Um einen möglichen interferierenden Einfluss dieser Medikamente auszuschliessen, wurden die Korrelationen zwischen den verabreichten Substanzen und den ET-Werten im Urin bestimmt. Hierbei ergaben sich jedoch für keines der Medikamente außer für Furosemid signifikante Korrelationen mit den entsprechenden ET-Werten im Urin (siehe Anhang 7.12).

3.3.2.9 Katecholamine

Die Noradrenalin- und Adrenalinkonzentrationen im Serum zeigten keine signifikanten Korrelationen zu den ET-Werten im Urin.

Die Dopaminkonzentration im Serum korreliert signifikant negativ mit der ET-Konzentration im Urin, zeigt jedoch keine Zusammenhänge zur Einheit ET pro Tag und Körperoberfläche(siehe 7.13).

3.3.3 Interaktionen

Zusätzlich zu den direkten Einflüssen der Parameter auf die ET-Werte im Urin wurden die Interaktionen zwischen diesen möglichen grün gekennzeichneten (Körperoberfläche, Diurese, Leukozytenanzahl im Plasma, pH, CRP, APGAR-Werte, Medikamentengabe) und rot gekennzeichneten Beatmungsparametern untereinander untersucht, um keine falschen Kausalitäten bezüglich der Beeinflussung von ET im Urin herzustellen. Es werden hier v.a. die im vorigen Kapitel signifikanten Einflussfaktoren überprüft.

Zusammenhänge zwischen den verschiedenen möglichen Einflussfaktoren auf das ET im Urin untereinander

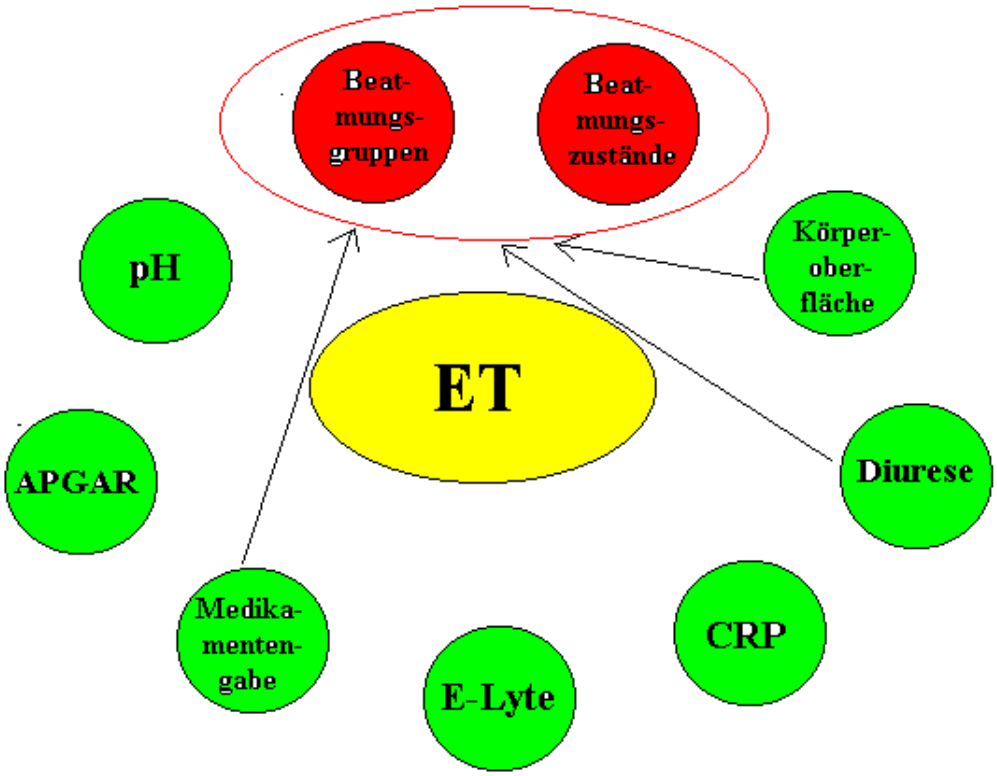


Abbildung 21

3.3.3.1 Körperoberfläche

Die Körperoberfläche spielt in den oben genannten Beziehungen eine entscheidende Rolle. Deshalb kommt der Betrachtung der ET-Einheit pro Körperoberfläche eine besondere Bedeutung zu. Um die Zusammenhänge etwas durchschaubarer zu gestalten, wurden mögliche Abhängigkeiten zwischen der Körperoberfläche und den Beatmungsgruppen bzw. –zuständen noch einmal genauer betrachtet. Hierbei fand sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Körperoberfläche zwischen den Gruppen 2 und 3 und der Gruppe 0, sowie kein signifikanter Unterschied bezüglich der Körperoberfläche zwischen den Gruppen 0 und 1 in den ersten beiden Lebenstagen.(7.14.1)

3.3.3.2 Diurese

Auch der enge Zusammenhang zwischen ET und der Diurese erfordert eine Überprüfung auf partielle Korrelationen zwischen der Diurese und den Beatmungsgruppen und -zuständen.

Die Untersuchungen zeigen, dass die Urinausscheidung nicht mit der Beatmungsdauer oder der Beatmung korreliert.(siehe7.14.2)

3.3.3.3 Dopaminkonzentration im Serum

Die Dopaminkonzentrationen im Serum sind in den beatmeten Guppen 2 und 3 und der nicht beatmeten Gruppe 0 ohne signifikante Unterschiede und beeinflussen somit den Vergleich der drei Gruppen im Hinblick auf die ET-Ausscheidung nicht. Ebenso verhält es sich mit den Gruppen 1 und 0, sowie den Zuständen „beatmet“ und „nicht beatmet“.(7.14.3)

3.4 Tabellarische Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse

	ET Konzentration	**ET pro Körper-oberfläche und 24 h**
ET über die ersten 6 Lebenstage	Zwischen Tag 1 und Tag 2 P=0,013 (abfallend)	Zwischen Tag 1 und Tag 5 P= 0,003 (ansteigend)
ET über die ersten 6 Lebenstage	Zwischen Tag 1 und Tag 4 P= 0,00 (abfallend)	Zwischen Tag 1 und Tag 6 P= 0,046 (ansteigend)
ET bezogen auf die Gruppen über 2 Tage beatmet oder nicht beatmet	P= 0,037 (nicht beatmet höher)	
ET bezogen auf die Gruppen über 4 Tage beatmet oder nicht beatmet	P=0,004 (nicht beatmet höher)	P=0,047 (nicht beatmet höher)
ET bezogen auf die Zustände beatmet oder nicht beatmet an je 6 Tagen	P=0,007 (nicht beatmet höher)	P=0,01 (nicht beatmet höher)
ET bezogen auf die Körperoberfläche	P=0.032 (negativ)	
ET bezogen auf die Urinmenge	P=0.002 (negativ)	P=0.00 (positiv)
ET mit Bezug zum Dopaminspiegel	P=0.016 (negativ)	

4 Diskussion

4.1 Einleitung

Die Betrachtungen und Interpretationen in dieser Diskussion erfolgen in Bezug auf die Relevanz der Ergebnisse für die Fragestellung, ob das im Urin messbare ET Hinweise auf Atmungsstörungen liefern kann. Hierbei wurde der derzeitige Wissensstand über die Herkunft des ETs im Urin zugrunde gelegt. Er wurde ausführlich in den Kapiteln 1.3.4 und 1.5 der Einleitung erläutert. Auf ihm beruht die Hypothese, dass das ET im Urin zum grössten Teil aus den Nieren selbst stammt, dessen Ausscheidung in den Urin jedoch ET-B-rezeptorgesteuert beeinflusst wird[193] (Abassi et al., 1992)[194] (Goddard et al. 2007). Es wäre daher grundsätzlich möglich, dass ET im Urin akute Stressereignisse wie eine Asphyxie, aber auch Beeinträchtigungen der Nierenfunktion abbildet.
In den nächsten Kapiteln erfolgt zunächst eine kritische Betrachtung der hier vorgestellten Ergebnisse im Vergleich mit bisherigen Ergebnissen und Erkenntnissen aus der Literatur.
Im zweiten Schritt erfolgt eine kritische Bewertung des Einflusses der Beatmung oder Nichtbeatmung asphyktischer Früh- und Neugeborener in bezug auf Gruppen mit unterschiedlicher Anzahl von Beatmungstagen und in bezug auf die „Beatmungszustände“.
Im Anschluss wird die Methode der indviduumsunabhängigen Betrachtung der „Beatmungszustände“ kritisch hinterfragt. Schliesslich werden die Ergebnisse bezüglich der möglichen mitbeeinflussenden Faktoren (Interaktionen) bewertet.
Eine abschließende Zusammenfassung sowie ein Ausblick auf neue Möglichkeiten, die sich ergeben und sinnvolle weitere Forschungsansätze bilden das Ende dieser Diskussion.

4.2 Vergleich der ET-Werte im Urin von asphyktischen und gesunden Früh- und Neugeborenen dieser Untersuchung und anderer Studien

4.2.1 ET-Konzentration

Bei der ET-Konzentration zeigte sich bei den Neugeborenen ein kontinuierlicher Abfall der Werte über 6 Tage, sowie bei den Frühgeborenen über die ersten vier Tage mit einem anschliessenden leichten Anstieg. Dieser generelle Konzentrationsabfall in den ersten Lebenstagen könnte einerseits durch eine zunehmende Flüssigkeitszufuhr und damit

Diurese, durch eine zunehmend in Gang kommende Nierenfunktion mit folgend höherer Diurese oder aber durch eine sinkende ET-Ausscheidung, was aber den Ergebnissen der ET-Mengen pro 24h und Körperoberfläche widerspräche, erklärt werden. Die Ergebnisse des ET-Konzentrationsabfalls im Urin während der ersten Lebenstage decken sich mit anderen Untersuchungen aus der Literatur (z.B.[195] Sulyok et al. 1993). Da mit zunehmender Diurese jedoch generell auch die ET-Ausscheidung im Urin steigt, was die Ergebnisse dieser Studie (Kapitel 3.3.2.4) wie auch die Untersuchung von Sulyok et al. (1993)[196] zeigen, muss der diuretische Effekt den der vermehrten ET-Ausscheidung übertreffen, was eine Untersuchung von Rascher et al. (1992)[197] bestätigt. Dort wurde nach oraler Flüssigkeitszufuhr eine 10fach erhöhte Diurese bei fünffach erhöhter ET-Ausscheidung gemessen.

Die in dieser Untersuchung bestimmten ET-Konzentrationen im Urin bei asphyktischen Früh- und Neugeborenen liegen, wie in Abbildung 5 deutlich zu ersehen ist, unter den Werten von Sulyok et al. (1993)[198] bei Neugeborenen. Dass unsere ET-Konzentrationen im Urin niedriger liegen als Werte nicht asphyktischer Neugeborener, entspricht den Erfahrungen von Mattyus et al.[199] (1994a), welche bei Frühgeborenen, die teilweise eine Atemstörung hatten, niedrigere ET-Konzentrationen bei erhöhter Tagesmenge fanden als bei denjenigen ohne Atemstörung. Eine Hypothese zu dieser Beobachtung könnte sein, dass asphyktische Früh- und Neugeborene eher intensivmedizinisch betreut werden und von daher wahrscheinlich eine höhere Flüssigkeitszufuhr erhalten mit entsprechend höherer Diurese als nicht intensivmedizinisch betreute Früh- und Neugeborene, die gestillt werden. Die höhere Diurese führt dann zu einer geringeren ET-Konzentration.

Die Werte Früh- und Neugeborener mit Asphyxie und Infektionen von Sulyok et al. (1993)[200] (Abbildung 6) liegen daher nur etwas höher als unsere Vergleichsgruppe. Einerseits ist aus der entsprechenden Veröffentlichung nicht ersichtlich, ob intensivmedizinisch betreut oder gar beatmet wurde, andererseits können Diskrepanzen der Ergebnisse auch aufgrund der verschiedenen Rahmenbedingungen, der Radioimmunassays und der darin verwendeten Antikörper entstehen.

Erklärbar wären diese Ergebnisse jedoch, wenn es sich bei Sulyok et al.s (1993)[201] Gruppe überwiegend um asphyktische nicht beatmete neugeborene Kinder handelte, da diese eine höhere ET-Konzentration haben (vergleiche Abbildung 13) als Beatmete.

In einer weiteren kürzlich veröffentlichten Studie von Tekin et al. [202] (2007) zeigen sich dagegen erhöhte ET-Konzentrationen sowohl im Plasma wie auch im Urin von asphyktischen Neugeborenen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe.

Für eine differenziertere Beurteilung der Aussagekraft von ET-Konzentrationen im Urin sind daher Informationen zur Flüssigkeitszufuhr und zur Diurese dringend erforderlich. ET-Ausscheidung im 24 Stunden-Urin oder die folgend beschriebene ET-Menge pro 24 Stunden und Körperoberfläche scheinen daher einfacher zu vergleichen und aussagekräftiger zu sein.

4.2.2 ET pro Körperoberfläche und vierundzwanzig Stunden

Diese ET-Einheit ist die bedeutendste von den gebräuchlichen Einheiten, da sie die wichtigen Faktoren Menge pro Zeiteinheit und die Größe des Körpers mit berücksichtigt.
Die ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche steigen über die ersten 6 Lebenstage für die Gesamtgruppe und für die Gruppe der Frühgeborenen vom ersten zum fünften und zweiten zum fünften Tag signifikant an, während sie für die Gruppe der Neugeborenen leicht abfallen (Abbildung 7). Die im Vergleich zu den zitierten Studien (Abbildung 8) erhöhten Werte aus der hier vorliegenden Untersuchung könnten auf der Asphyxie beruhen, die hier im Gegensatz zu den Vergleichsstudien vorgelegen hat. Die erfolgreiche Beatmung könnte dann den Rückgang der Werte erklären, während sie in den Vergleichsstudien physiologischerweise ansteigen. Auch bei Sulyok et al.[203] (1993) zeigten sich deutlich höhere Werte der Frühgeborenen gegenüber den Neugeborenen und wiederum deutlich erhöhte ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche von Frühgeborenen mit perinataler Pathologie (Asphyxie oder Infektion) gegenüber gesunden Frühgeborenen. Mattyus et al.[204] (1994a) beschreiben in ihrer Publikation, dass sie deutlich höhere ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche bei Frühgeborenen fanden, welche zum Teil beatmet gewesen seien. Insofern stützen sie die Vermutung, dass Asphyxie bzw. evtl. auch unspezifischer perinataler Stress zu einer erhöhten ET-Ausscheidung im Urin führt.
Als eine mögliche Ursache für die erhöhten ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche bei Frühgeborenen nehmen Mattyus et al. den Dehnungsreiz bei der mechanischen Beatmung an, differenzieren jedoch nicht zwischen den beatmeten und nicht beatmeten Frühgeborenen.
Die letzten beiden Referenzen in Abbildung 10 und Abbildung 11 zeigen ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche von zwei verschiedenen Gestationsaltersgruppen innerhalb der ersten drei Lebenstage. Hier zeigt sich ein deutlich höherer ET-Wert der in der 28. Gestationswoche Geborenen von Lees et al.[205] (1990) mit dem Wert 70,4 ng/24 Stunden x 1,73m^2 im Unterschied zu den in der 35. Gestationswoche Geborenen von Mattyus et al.[206]

(1994a) mit 47,5 ng/24 Stunden x 1,73m^2. Von Mattyus et al wurde u.a. vermutet, dass dieser Unterschied aufgrund des unterschiedlichen Gestationsalters zustande komme. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung zeigen jedoch, dass der ET-Wert pro 24h und 1,73 m² über die verschiedenen Gestationswochen (25. – 40.) unter gleichen Umständen (alle asphyktisch) annähernd gleich bleibt (Abbildung 18).

Unser Mittelwert über alle Gestationsalter beträgt 66,0 ng/24 h x 1,73m^2 (Abbildung 18)und liegt somit geringfügig unter dem von Lees et al.[207] (1990) (70,4 ng/24 h x 1,73m^2). Bei Frühgeborenen in der 28. Gestationswoche ist davon auszugehen, dass zumindest ein Grossteil von ihnen unter Atembeschwerden litt. So liesse sich erklären, warum dieses Ergebnis mit dem der vorliegenden Arbeit vergleichbar ist. Die sich daraus ergebende Hypothese wäre also, dass die höheren ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche Frühgeborener weniger direkt mit dem Gestationsalter zu tun haben, sondern viel mehr mit der Atemfunktionsstörung. Ist eine solche nämlich auch bei höherem Gestationsalter vorhanden, so steigen dort nach den Ergebnissen dieser Arbeit auch die ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche.

Zusammenfassend ist also festzustellen, dass die ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche der in dieser Arbeit untersuchten asphyktischen Früh- und Neugeborenen mit Ausnahme von Lees et al.[208] (1990) über allen bisher untersuchten Werten liegen.

Es scheint daher wahrscheinlich, dass der Unterschied der hier vorliegenden Daten im Vergleich zur Literatur durch den Vergleich unserer Gruppe asphyktischer Früh- und Neugeborener mit den anderen Gruppen nicht asphyktischer Früh- und Neugeborener zustande kommt. Die einzige Gruppe mit ähnlichen bzw. höheren Werten litt mit aller Wahrscheinlichkeit ebenfalls unter Atemstörungen. Eine weitere mögliche Ursache für die abweichenden ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche im Urin der verschiedenen Untersuchungen könnte in den unterschiedlichen verwendeten Riaverfahren begründet sein, was jedoch wenig wahrscheinlich ist. So kann dieses Ergebnis möglicherweise als stützender Hinweis für die Hypothese gelten, dass ET-Werte im Urin in gewissem Ausmass Lungenfunktionsstörungen widerspiegeln, wenn man sie mit einer Normkurve vergliche.

4.3 Vergleich der ET-Werte im Urin von beatmeten und nicht beatmeten asphyktischen Neugeborenen

In dieser Arbeit wurde der Einfluß der mechanischen Beatmung bei Früh- und Neugeborenen auf die verschiedenen ET-Einheiten untersucht. In der Literatur findet sich hierüber nur eine Mutmaßung. So versuchten Mattyus et al.[209] (1994a) den von ihnen bestimmten erhöhten ET-Gehalt pro 24h bei Frühgeborenen gegenüber reifen Neugeborenen durch mechanische Beatmung zu erklären.

Die hier vorliegenden Ergebnisse zeigen bei der getrennten Betrachtung der Gruppen von überhaupt nicht, über zwei oder vier Tage beatmeten Früh- und Neugeborenen bei beiden Parametern, der ET-Konzentration und der ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin signifikant erhöhte Werte für die Gruppe der nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen (Tabelle 1). Die erniedrigte ET-Konzentration im Urin bei den beatmeten Früh- und Neugeborenen könnte theoretisch auch die Folge eines Verdünnungseffekts durch eine höhere Flüssigkeitszufuhr sein. Dagegen spricht jedoch das Ergebnis aus Kapitel 3.3.3.2, dass die Diurese nicht signifikant differiert zwischen den Gruppen der beatmeten und der Gruppe der nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen.

Zwei Studien[210] (Vittori et al., 1992) [211] (Sofia et al., 1994) berichteten schon früh von akuten Atemnotzuständen mit erhöhten ET-Werte im Urin und Plasma, die sich bei Normalisierung der Atemnot ebenfalls rasch normalisierten. Lange konnte dieses Ergebnis nicht erklärt werden, da[212] Abassi et al. (1992) beschrieben, dass ET nur zum geringen Grad filtriert wird. Wie in Kapitel 4.1 erläutert fanden jedoch[213] Goddard et al.(2007) die fehlende Erklärung über den Zusammenhang zwischen ET im Urin und Plasma über die Vermittlung des ET-B-Rezeptors. Somit liessen sich der schon vermutete Zusammenhang zwischen ET im Plasma und im Urin auch ohne direkte Schädigung der Niere und die hiesigen Ergebnisse bzgl. des Einflusses von Beatmung erklären. Die Spekulation von Mattyus et al.[214] (1994a), die Beatmung an sich könnte den erhöhten ET-Spiegel erklären, wird durch die Ergebnisse dieser Untersuchung in Frage gestellt. Im Gegenteil ist zu vermuten, dass die höheren ET-Werte im Urin der asphyktischen Früh- und Neugeborenen dieser Arbeit und der vom Mattyus et al. durch ihre Atemfunktionsstörung bedingt sind.

Die Werte der hier vorliegenden Untersuchung liegen unter Nicht-Beatmung höher als

unter Beatmung. Eine Hypothese wäre dann, dass die Beatmung den „Asphyxiestress“ verringert.

Betrachtet man nun unter diesen Voraussetzungen die ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche im Urin beim Zustand „beatmet“oder „nicht beatmet“, so ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Beatmung bzw. Nicht-Beatmung (Kapitel 3.3.1.3). Hierbei liegen jeweils die ET-Werte an den Tagen der Nicht-Beatmung signifikant höher als an den Tagen der Beatmung. Problematisch an der Vorgehensweise ist, dass wir keine Werte für beatmete Früh- und Neugeborene an den Tagen fünf und sechs haben, mit denen wir beweisen könnten, dass der ET-Spiegel bei beatmungspflichtigen Neugeborenen über die ersten sechs Tage konstant bleibt und nicht einer Altersabhängigkeit postpartal unterliegt wie bei gesunden Neugeborenen.,

4.4 Einfluss von weiteren Faktoren auf ET-Werte im Urin

In früheren Studien wurde ein Einfluss von Urinmenge, Lebensalter, Gestationsalter, Körperoberfläche und Pathologie der Nieren auf die ET-Menge im Urin bei Früh- und Neugeborenen beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten ebenfalls auf einige dieser und weitere möglich erscheinende Einflüsse auf den ET-Gehalt im Urin wie Elektrolyte, Entzündungsparameter und Hormone untersucht. Die Faktoren, welche einen Einfluss auf den ET-Gehalt im Urin hatten, wurden in Kapitel 3.3.2 auf Interaktionen mit der beatmeten oder nicht beatmeten Gruppe untersucht, um in diesen Bereichen nicht zu falschen Schlussfolgerungen zu kommen. Aufgabe der folgenden Kapitel ist es, diese Ergebnisse aufzugreifen, mit den vorliegenden Vorergebnissen zu vergleichen und zu beurteilen.

4.4.1 Körperoberfläche

Die Körperoberfläche korreliert signifikant negativ mit der ET-Konzentration im Urin und signifikant positiv mit der ET-Ausscheidung pro 24h im Urin. Die negative Korrelation mit der ET-Konzentration lässt sich evtl. über eine höhere Diureseleistung bei nur mässig erhöhter ET-Ausscheidung erklären (siehe Erläuterung Kapitel4.2.1). Die signifikant positiven Korrelationen zwischen der Körperoberfläche und der ET-Menge pro 24h im Urin könnte hingegen ein weiterer Hinweis auf den renalen Ursprung des ETs im Urin sein mit der Hypothese, dass grössere Nieren entsprechend mehr produzieren. Bei der Betrachtung der Interaktionen wurden die Körperoberflächen getrennt für die Gruppen der

beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen untersucht. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Kapitel 3.3.3.1). Durch den Einbezug der Körperoberfläche in die ET-Einheit kann einer Verfälschung der Ergebnisse durch den direkten Einfluss selbiger vorgebeugt werden.

4.4.2 Diurese

Mattyus et al.[215] (1994a) haben insbesondere bei Früh- und Neugeborenen die positive Korrelation zwischen der Diurese und der ET-Ausscheidung pro 24h beschrieben. Hierbei spiele es keine Rolle, ob eine erhöhte Ausscheidung durch forcierte Maßnahmen zustande gekommen sei oder nicht. Auch in der vorliegenden Arbeit wurden eine signifikant positive Korrelation zwischen der ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin und der Diurese, welche teilweise durch die Gabe von Furosemid und die Höhe der Flüssigkeitszufuhr beeinflusst wurde gefunden (Kapitel 3.3.2.4). Es wird also deutlich, dass der signifikante Zusammenhang zwischen Diurese und ET im Urin nicht allein auf der Körperoberfläche und somit Nierengrösse basiert, da diese im ET pro 24h und Körperoberfläche berücksichtigt wurde. Bezüglich der signifikant positiven Korrelation zwischen ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin und der Diurese stellt sich daher die interessante Frage, ob die erhöhte Diurese eher die Ursache oder/und eher die Folge einer möglicherweise erhöhten renalen ET-Produktion ist. ET-1 soll dabei von den Sammelrohren des Nierenmarks gebildet werden, die über Vasopressin induzierte Wasserpermeabilität und tubuläre Wasserreabsorbtion vermindern und somit zu einer erhöhten Diurese beitragen (Oishi et al., 1991) [216].

Um die Zusammenhänge dieser Ergebnisse transparenter zu gestalten, wurde nach Unterschieden in den beiden Gruppen beatmeter und nicht beatmeter Früh- und Neugeborener und bei den Zuständen „beatmet“ und „nicht beatmet“ bezüglich der Diurese gesucht, um Interaktionen auszuschliessen. Hierbei ergaben sich keine Hinweise auf signifikante Interaktionen zwischen Beatmung und Diurese, obwohl sich alle ET-Werte getrennt für diese Gruppen signifikant voneinander unterscheiden. Die nicht beatmete Gruppe hatte also diureseunabhängig eine signifikant höhere ET-Konzentration und ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche (Abbildung 13 Abbildung 14). Das bedeutet, dass bei einer nicht durch Beatmung behandelten Atemstörung der Körper bei gleicher Urinmenge die Konzentration von ET im Urin erhöht. Bisher wurde von Mattyus et al.[217] (1994a) diskutiert, ob die ET-Ausscheidung pro 24h ausschließlich über die Diurese mit entsprechend leicht sinkenden oder ansteigenden Konzentrationen geregelt wird. Auch bei

dem Vergleich von reifen Neugeborenen von Sulyok et al.[218] (1993) mit den asphyktischen Neugeborenen dieser Arbeit wurden, wenn man die Beatmungsfaktoren nicht näher betrachtet, bei unseren Patienten niedrigere ET-Konzentrationen bei höheren ET-Mengen pro 24h und Körperoberfläche gefunden, was die obige Hypothese einer vermehrten Diurese unterstützen würde. Durch die Einbeziehung des möglichen Einflusses der Beatmung auf die hier vorliegenden Ergebnisse wird dies jedoch in Frage gestellt und stattdessen eine zusätzliche Beeinflussung des ET-Gehalts im Urin durch den Nieren- bzw. Lungenzustand angenommen.

4.4.3 Katecholamine

Schon Sulyok et al. (1993)[219] beschrieben einen signifikanten diureseabhängigen Anstieg der ET-Ausscheidung unter Dopamingabe, der wahrscheinlich durch die durch Dopamin verursachte Erhöhung der GFR, Natriurese sowie Diurese zu erklären ist und nicht über einen direkten Einfluss von Dopamin auf ET. Bei unseren relativ kleinen Patientenzahlen liess sich zwar kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Dopamingabe und den ET-Werten im Urin feststellen, jedoch eine signifikant negative Korrelation zwischen der Dopaminkonzentration im Serum und ET-Konzentration im Urin. Dies ist mit der durch Dopamin verursachten Steigerung der Diurese und der damit verbundenen Abnahme der ET-Konzentration im Urin zu erklären. Die Ergebnisse der beiden Gruppen beatmet und nicht beatmet unterscheiden sich bezüglich der Dopaminkonzentrationen im Serum nicht signifikant von einander.

4.4.4 Gestationsalter

Die ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche bleibt bei asphyktischen Früh- und Neugeborenen unterschiedlichen Gestationsalters gleich (Abbildung 18). Die ET-Konzentration nimmt dagegen mit steigendem Gestationsalter ab, was mit der zunehmenden Urinmenge pro 24 h erklärt werden kann (Anhangsabbildung 5).

4.4.5 Andere Parameter

Keine signifikanten Zusammenhänge ergaben sich zwischen den ET-Werten im Urin einerseits und dem Geburtsmodus, den Elektrolyten (Na/Cl), dem CRP und der Medikamentengabe andererseits.

Mattyus et al. (1994a)[220] untersuchten ähnlich wie in dieser Studie den Zusammenhang zwischen der Antibiotikagabe (Tobramycin und Mezocillin) und der ET-Ausscheidung im Urin. Auch sie fanden keinen signifikanten Einfluss der Antibiotika auf die ET-Ausscheidung.

4.5 Zusammenfassende Darstellung der relevanten Erkenntnisse dieser Arbeit

In dieser Arbeit wurden zunächst die Daten unserer asphyktischen Früh- und Neugeborenen mit den aus der Literatur vorhandenen Daten von meist nicht asphyktischen Früh- und Neugeborenen verglichen. Die unserer Meinung nach am aussagkräftigste Einheit ET pro 24h und Körperoberfläche war gegenüber den verglichenen Gruppen deutlich erhöht. Auch andere Autoren wie z.b. Sulyok et al. fanden unter asphyktischen Bedingungen deutlich erhöhte ET-Werte im Urin. Insgesamt lässt sich im Allgemeinen feststellen, dass die ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche im Urin bei asphyktischen Früh- und Neugeborenen am höchsten, bei nicht asphyktischen Frühgeborenen am zweithöchsten und bei Neugeborenen ohne Pathologie am niedrigsten ausfallen.
Auch Tekin et al. [221] (2007) fanden erhöhte ET-Werte im Plasma und noch einmal deutlicher im Urin von asphyktischen Neugeborenen gegenüber einer gesunden gematchten Kontrollgruppe.
ET ist im Serum von Erwachsenen und Tieren während unterschiedlicher pathologischer Zustände, die mit Atemnot verbunden sind, erhöht. Ausführlich wird dies in der Einleitung unter ET und Lunge (Kapitel 1.3.2.1 bis 1.3.2.4) dargestellt. Sofia et al.[222] (1994) beschreiben, dass die ET-Konzentration im Urin bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen im akuten Anfall kurzfristig erhöht ist. Dies zeigt, dass bei Erwachsenen die Möglichkeit der erhöhten ET-Ausscheidung im Urin bei Lungenerkrankungen ohne Schädigung der Nieren besteht. Eine nachvollziehbare Erklärung für den Weg der Beeinflussung von ET im Urin liefern die neusten Ergebnisse von [223] Goddard. et al.(2007) .

Anschließend wurden die Gruppen der beatmeten und der nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen auf Unterschiede bezüglich ihrer ET-Werte im Urin untersucht. In dieser Studie wurden signifikant niedrigere ET-Werte pro 24h und Körperoberfläche im Urin bei

den Beatmeten im Vergleich zu den nicht Beatmeten gefunden. Dies könnte auf eine durch die Beatmung in Besserung begriffene Asphyxie und daraus folgende niedrigere ET-Werte im Urin der beatmeten Gruppe zurückzuführen sein. Dies widerspricht der Annahme von Mattyus et al.[224] (1994a), dass mechanische Beatmung eine Ursache der erhöhten ET-Werte im Urin bei Frühgeborenen sein könnte

Um den Einfluss anderer Faktoren, die den ET-Urinwert beeinflussen, auf die Beatmung zu überprüfen und ggf. zu berücksichtigen, wurden die Auswirkungen der Körperoberfläche, der Diurese und der Katecholamine auf die beiden Gruppen der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen untersucht und keine störenden oder das Ergebnis verfälschenden Einflüsse gefunden.

Bei der differenzierteren Betrachtung der asphyktischen Zustände anhand der pH- und APGAR Werte ergaben sich in dieser Untersuchung keine signifikanten Korrelationen zu den ET-Werten im Urin. Dies ist bezüglich der oben erwähnten Hypothese der Bedeutung von ET als möglichem sensiblen Stresshormon verwunderlich und stellt den konkreteren Wert von ET als sensibler Indikator für pathophysiologische Vorgänge in Frage. gelang es jedoch einer Gruppe um Tekin (2007) einen Zusammenhang zwischen ET-Werten im Urin und dem 5-Minuten-APGAR-Score herzustellen. Hierzu wären weitere Untersuchungen notwendig, um detaillierter die mögliche Aussagekraft und Sensibilität der ET-Werte im Urin zu klären.

4.6 Kritik

Unsere Gruppe, an der die Daten erhoben war sehr heterogen. Ausserdem fehlte eine Vergleichsgruppe gesunder Früh- und Neugeborener, die deshalb aus der Literatur ergänzt wurde. Wie auch in vorhergehenden Studien beschrieben ist es jedoch nahezu unmöglich, genügend Patienten mit jeweils einem gleichen Krankheitsbild zu rekrutieren. Da es unter den Frühgeborenen in den ersten Tagen postpartal wenig Gesunde gibt - dieses war ja schon in früheren Studien ein Problem - und eine genügend große Gruppe beatmeter Früh- und Neugeborener benötigt wurde, um den Einfluss der Beatmungsfaktoren zu erforschen, wurde in dieser Studie, eine möglichst große Gruppe von erkrankten Früh- und Neugeborenen untersucht. Es wurden insgesamt verschiedenste mögliche Interaktionen zwischen den einzelnen Parametern in Erwägung gezogen und berücksichtigt, um über die sehr komplexen Vorgänge bezüglich ET im Urin eventuell neue und interessante Aspekte in Erfahrung zu bringen und die eine oder andere Hypothese zu untermauern.

Der Schwachpunkt liegt jedoch bei der Heranziehung von Werten gesunder Neugeborener aus der Literatur zum Vergleich mit den eigenen Werten erkrankter Neugeborener, da gewisse Unterschiede aufgrund der verschiedenen Fabrikate der Radioimmunassays immer auftreten können und daher schwer zu interpretieren sind.
Hier stellte sich glücklicherweise ein so deutlicher Unterschied zwischen den Werten aus der Literatur und unseren Werten heraus, dass dieses Problem wahrscheinlich vernachlässigt werden kann.

5 Zusammenfassung

ET, ein Peptidhormon, spielt im menschlichen Körper unter anderem eine wichtige Rolle bei der lokalen, wie auch der systemischen Weitergabe von Informationen. Es ist der potenteste Vasokonstriktor im menschlichen Körper und hat in den verschiedenen Organen unterschiedlichste Funktionen. So ist es im Serum von Menschen mit verschiedenen Formen von Asphyxie oder Nierenleiden erhöht. Auch im Urin findet sich ET. Dieses stammt zum grössten Teil aus der Niere selbst, welche in verschiedenen Zellen ET produziert. Es kann jedoch, da es u.a. vom Plasma-ET über den ET-B-Rezeptor gesteuert ausgeschieden wird[225] Goddard et al. (2007), dennoch Rückschlüsse auf Stressbelastung anderer Organe, die zu erhöhten ET-Werten im Serum führen, zulassen. Ziel dieser Arbeit war es deshalb, mit Hilfe der ET-Ausscheidung im Urin die bei Erwachsenen gefundenen Zusammenhänge zwischen Asphyxie und ET bei Früh- und Neugeborenen zu untersuchen. Es ist zwar anzunehmen, dass diese mehr Einflüssen unterliegt als das Serum-ET, was deshalb zu einer umfangreichen Analyse mitbeeinflussender Faktoren führte, wäre jedoch bei Früh- und Neugeborenen um einiges einfacher zu gewinnen als Serum-ET. Es sollte hierbei der Frage, ob verschiedene ET-Werte im Urin asphyktische Zustände bei Früh- und Neugeborenen reflektieren können, nachgegangen werden.

Es wurden bei dreiunddreißig asphyktischen Früh- und Neugeborenen mit einem Gestationsalter zwischen fünfundzwanzig und vierzig Wochen über sechs Tage hinweg die ET-Konzentration und das ET pro 24h und Köperoberfläche im Urin bestimmt.

Diese Werte wurden mit Werten gesunder und asphyktischer Früh- und Neugeborener aus der Literatur verglichen. Es zeigte sich, dass die asphyktischen Früh- und Neugeborenen deutlich mehr ET pro 24h und Körperoberfläche ausscheiden als die Vergleichsgruppen.

Anschließend wurden die Daten auf Unterschiede zwischen der beatmeten und der nicht beatmeten Untergruppe überprüft. Im Ergebnis fanden sich signifikant niedrigere ET-Werte im Urin bei beatmeten asphyktischen Früh- und Neugeborenen als bei Unbeatmeten.

Es fanden sich des weiteren eine Abhängigkeit der ET-Werte im Urin von der Diureseleistung und der Körperoberfläche, sowie z.T. von Katecholaminen. Keinen signifikanten Einfluss hatten pH- oder APGAR-Werte, das Gestationsalter und während der Studie verabreichte Medikamente.

Insgesamt wird die Hypothese, dass ET im Urin pathologische Zustände der Lunge wie Asphyxie und Auswirkungen von Beatmung abzubilden scheint, durch die hier vorliegenden Ergebnisse gestützt.

Die gewonnenen Erkenntnisse können in Zukunft Grundlagen für weitere Studien bieten, die zu Fortschritten in der klinische Diagnostik und Behandlung akuter und subakuter pathologischer Zustände wie z.B. der Asphyxie in der Pernatalperiode führen könnten.

6 Literaturverzeichnis

Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

Anand R, Harry D, Holt S, Milner P, Dashwood M, Goodier D, Jarmulowicz M, Moore K: ET is an important determinant of renal function in a rat model of acute liver and renal failure.Gut 2002 Jan; 50(1): 111-7

Ando K, Hirata Y, Takei Y, Kawakami M, Marumo F: Second ET-1-like immunoreaktivity in human urine. Nephron 1991; 57(1): 36-9

Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2

Arai H, Nakao K, Takaya K, Hosoda K, Ogawa Y, Nakanishi S, Imura H: The human ET-B receptor gene. Structural organization and chromosomal assignment. J Biol Chem 1993 Feb 15; 268(5): 3463-70

Aramori I, Nakanishi S: Coupling of two ET receptor subtypes to differing signal transduction in transfected Chinese hamster ovary cells. J Biol Chem 1992 Jun 25; 267(18): 12468-74

Arcot SS, Lipke DW, Gillespie MN, Olson JW: Alterations of growth factor transcripts in rat lungs during development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. Biochem Pharmacol 1993 Sep 14; 46(6): 1086-91

Battistini B, Brown M, Vane JR: Selective proteolitic activation and degradation of ETs and big ETs in parenchymal strips of the guinea-pig lung. Biochem Biophys Res Commun 1995 Feb 15; 207(2): 675-81

Benigni A, Remuzzi G ET antagonists. Lancet 1999 Jan 9; 353(9147):133-8

Berbinschi A, Ketelslegers JM: ET in urine. Lancet 1989 Jul 1; 2(8653): 46

Bruzzi I, Corna D, Zoja C, Orisio S, Schiffrin EL, Cavallotti D, Remuzzi G, Benigni A: Time course and localization of ET-1 gene expression in a model of renal disease progression. Am J Pathol 1997 Nov; 151(5): 1241-7

Buchan KW, Magnusson H, Rabe KF, Sumner MJ, Watts IS: Characterisation of the ET receptor mediating contraction of human pulmonary artery using BQ123 and Ro 46-2005. Eur J Pharmacol 1994 Aug 1; 260(2-3): 221-6

Cacoub P, Dorent R, Maistre G, Nataf P, Carayon A, Piette C, Godeau P, Cabrol C, Gandjbakhch I: ET-1 in primary pulmonary hypertension and the Eisenmenger syndrome. Am J Cardiol 1993 Feb 15; 71(5): 448-50

Cacoub P, Dorent R, Nataf P, Carayon A: ET-1 in pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993 Dec 23; 329(26): 1967-8

Campbell AM, Vignola AM, Chanez P, Godard P, Bousquet J: Low-affinity receptor for IgE on human bronchial epithelial cells in asthma. Immunology 1994 Aug; 82(4): 506-8

Chen HC, Guh JY, Chang JM, Tsai JC, Hwang SJ, Lai YH: Plasma and urinary ET-1 in focal segmental glomerulosclerosis. J Clin Lab Anal 2001; 15(2): 59-63

Chin A, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effects of tezosentan, a dual ET receptor antagonist, on the cardiovascular and renal systems of neonatal piglets. J Pediatr Surg 2001 Dec; 36(12): 1824-8

Clavell AL, Stingo AJ, Margulies KB, Brandt RR, Burnett JC: Role of ET receptor subtypes in the in vivo regulation of renal function. Am J Physiol 1995 Mar; 268(3 Pt 2): 455-60

Cody RJ: The potential role of ET as a vasoconstrictor substance in congestive heart failure. Eur Heart J 1992 Nov;13(11):1573-8

Davenport AP, O'Reilly G, Molenaar P, Maguire JJ, Kuc RE, Sharkey A, Bacon CR, Ferro A: Human ET receptors characterized using reverse transcriptase-polymerase chain reaction, in situ hybridization, and subtype-selective ligands BQ123 and BQ3020: evidence for expression of ETB receptors in human vascular smooth muscle. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22 Suppl 8: 22-5

De Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR: Pressor effects of circulating ET are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. Proc Natl Acad Sci U S A 1988 Dec; 85(24): 9797-800

Dhaun N, Ferro CJ, Davenport AP, Haynes WG, Goddard J, Webb DJ.:Haemodynamic and renal effects of endothelin receptor antagonism in patients with chronic kidney diseaseNephrol Dial Transplant. 2007 Jun 7; [Epub ahead of print]

Druml W, Steltzer H, Waldhausl W, Lenz K, Hammerle A, Vierhapper H, Gasic S, Wagner OF: ET-1 in adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1993 Nov; 148(5): 1169-73

Ehrenreich H, Anderson RW, Fox CH, Rieckmann P, Hoffman GS, Travis WD, Coligan JE, Kehrl JH, Fauci AS: ETs, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. J Exp Med 1990 Dec 1; 172(6): 1741-8

Emori T, Hirata Y, Ohta K, Shichiri M, Marumo F: Secretory mechanism of immunoreactive ET in cultured bovine endothelial cells.Biochem Biophys Res Commun 1989 Apr 14; 160(1): 93-100

Enoki T, Miwa S, Sakamoto A, Minowa T, Komuro T, Kobayashi S, Ninomiya H, Masaki T: Long-lasting activation of cation current by low concentration of ET-1 in mouse fibroblasts and smooth muscle cells of rabbit aorta. Br J Pharmacol 1995 Jun; 115(3): 479-85

Etienne A, Pannetier MC, Soulard C, Braquet P: Effects of ET on the lethality induced by platelet-activating factor or endotoxin in the mouse. Circ Shock 1990 Sep; 32(1): 77-81

Ferri C, Pittoni V, Piccoli A, Laurenti O, Cassone MR, Bellini C, Properzi G, Valesini G, De Mattia G, Santucci A: Insulin stimulates ET-1 secretion from human endothelial cells and modulates its circulating levels in vivo. J Clin Endocrinol Metab 1995 Mar; 80(3): 829-35

Firth H J, Ratcliffe P J: Organ distribution of the three rat ET messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. J Clin Invest 1992; 90: 1023-1031

Fukuroda T, Kobayashi M, Ozaki S, Yano M, Miyauchi T, Onizuka M, Sugishita Y, Goto K, Nishikibe M: ET receptor subtypes in human versus rabbit pulmonary arteries. J Appl Physiol 1994 May; 76(5): 1976-82

Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ: Expression of ET-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993 Jun 17; 328(24): 1732-9

Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12

Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.. Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12; [Epub ahead of print]

Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12

Goligorsky MS, Tsukahara H, Magazine H, Andersen TT, Malik AB, Bahou WF: Termination of ET signaling: role of nitric oxide. J Cell Physiol 1994 Mar; 158(3): 485-94

Grone HJ, Laue A, Fuchs E: Localization and quantification of [125I]-ET binding sites in human fetal and adult kidneys--relevance to renal ontogeny and pathophysiology. Klin Wochenschr 1990 Aug 2; 68(15): 758-67

Hay DW, Hubbard WC, Undem BJ: ET-induced contraction and mediator release in human bronchus. Br J Pharmacol 1993 Sep; 110(1): 392-8

Hay DW, Luttmann MA, Hubbard WC, Undem BJ: ET receptor subtypes in human and guinea-pig pulmonary tissues. Br J Pharmacol 1993 Nov; 110(3): 1175-83

Hentschel M, Gildein P, Brandis M, Zimmerhackl LB: ET (ET-1) is involved in the contrast media induced nephrotoxicity in children with congenital heart disease. Clin Nephrol 1995 Jan; 43 Suppl 1: 12-5

Heyl DL, Cody WL, He JX, Flynn MA, Welch KM, Reynolds EE, Doherty AM: Truncated analogues of ET and sarafotoxin are selective for the ETB receptor subtype. Pept Res 1993 Sep-Oct; 6(5): 238-41

Hickey K A, Rubanyi G, Paul R J, Highsmith RF: Characterisation of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothlial cells. Am J Physiol 1985; 248: 550-6

Hocher B, Thone-Reineke C, Rohmeiss P, Schmager F, Slowinski T, Burst V, Siegmund F, Quertermous T, Bauer C, Neumayer HH, Schleuning WD, Theuring F: ET-1 transgenic mice develop glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, and renal cysts but not hypertension. J Clin Invest 1997 Mar 15; 99(6): 1380-9

Hosoda K, Nakao K, Tamura N, Arai H, Ogawa Y, Suga S, Nakanishi S, Imura H: Organization, structure, chromosomal assignment, and expression of the gene encoding the human ET-A receptor. J Biol Chem 1992 Sep 15; 267(26):18797-804

Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V : Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

Huribal M, Cunningham ME, D'Aiuto ML, Pleban WE, McMillen MA: ET-1 and prostaglandin E2 levels increase in patients with burns. J Am Coll Surg 1995 Mar; 180(3): 318-22

Ihara Y, Sagawa N, Hasegawa M, Okagaki A, Li XM, Inamori K, Itoh H, Mori T, Saito Y, Shirakami G: Concentrations of ET-1 in maternal and umbilical cord blood at various stages of pregnancy. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 443-5

Inoue A, Yanagisawa M, Takuwa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T: The human preproET-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. J Biol Chem 1989 Sep 5; 264(25): 14954-9

Ishibashi M, Ito N, Fujita M, Furue H, Yamaji T: ET-1 as an aggravating factor of disseminated intravascular coagulation associated with malignant neoplasms. Cancer 1994 Jan 1; 73(1): 191-5

Kadowitz PJ, McMahon TJ, Hood JS, Feng CJ, Minkes RK, Dyson MC: Pulmonary vascular and airway responses to ET-1 are mediated by different mechanisms in the cat. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 374-7

Kahaleh MB: ET, an endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. Arthritis Rheum 1991 Aug; 34(8): 978-83

Kawaguchi Y, Suzuki K, Hara M, Hidaka T, Ishizuka T, Kawagoe M, Nakamura H: Increased ET-1 production in fibroblasts derived from patients with systemic sclerosis. Ann Rheum Dis 1994 Aug; 53(8): 506-10

Kim KK, Chapman HA.: Endothelin-1 as initiator of epithelial-mesenchymal transition: potential new role for endothelin-1 during pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol. 2007 Jul;37(1):38-47.

Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T, Shinimi O, Sugita Y, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T: Conversion of big ET-1 to 21-residue ET-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big ET-1. J Cardiovasc Pharmacol 1989; 13 Suppl 5: 5-7

Kohan DE, Padilla E: Osmolar regulation of ET-1 production by rat inner medullary collecting duct. J Clin Invest 1993 Mar; 91(3): 1235-40

Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Kurihara N, Takeda T: C-type natriuretic peptide inhibits thrombin- and angiotensin II-stimulated ET release via cyclic guanosine 3',5'-monophosphate. Hypertension 1992 Apr; 19(4): 320-5

Kon V, Badr KF: Biological actions and pathophysiologic significance of ET in the kidney. Kidney Int 1991 Jul; 40(1): 1-12

Kon V, Fogo A ET: potential role in development and disease. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 876-80

Konishi F, Okada Y, Takaoka M, Gariepy CE, Yanagisawa M, Matsumura Y.Role of ET ET(B) receptors in the renal hemodynamic and excretory responses to big ET-1. Eur J Pharmacol 2002 Sep 13; 451(2): 177-84

Langleben D, DeMarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ: ET-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1993 Dec; 148(6 Pt 1): 1646-50

Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

Luscher TF, Enseleit F, Pacher R, Mitrovic V, Schulze MR, Willenbrock R, Dietz R, Rousson V, Hurlimann D, Philipp S, Notter T, Noll G, Ruschitzka F: Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial. Hemodynamic and neurohumoral effects of selective ET A (ET(A)) receptor blockade in chronic heart failure: the Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial (HEAT). Circulation 2002 Nov 19; 106(21): 2666-72

MacCumber MW, Ross CA, Glaser BM, Snyder SH ET: visualization of mRNAs by in situ hybridization provides evidence for local action. Proc Natl Acad Sci U S A 1989 Sep; 86(18): 7285-9

Malarkey K, Chilvers ER, Lawson MF, Plevin R: Stimulation by ET-1 of mitogen-activated protein kinases and DNA synthesis in bovine tracheal smooth muscle cells. Br J Pharmacol 1995 Oct; 116(4): 2267-73

Masaki T, Yanagisavara M, Goto K: Physiologie and pharmacology of ETs. Med. Res.Rev. 1992; 12: 391-421

Matsumura Y, Ikegawa R, Tsukahara Y, Takaoka M, Morimoto S: Conversion of big ET-1 to ET-1 by two types of metalloproteinases derived from porcine aortic endothelial cells. FEBS Lett 1990 Oct 15; 272(1-2): 166-70

Mattoli S, Mezzetti M, Riva G, Allegra L, Fasoli A: Specific binding of ET on human bronchial smooth muscle cells in culture and secretion of ET-like material from bronchial epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1990 Aug; 3(2): 145-51

Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

McMahon LP, Redman CW, Firth JD: Expression of the three ET genes and plasma levels of ET in pre-eclamptic and normal gestations Clin Sci (Colch) 1993 Oct; 85(4): 417-24

Möller JC, Thielsen B, Schaible TF, Reiss I, Kohl M, Welp T, Gortner L: Value of Myocardial hypoxia markers (creatinine kinase and ist MB-fraction, troponin-T, QT-intervals) and serum creatinine for the retrospective diagnosis of perinatal asphyxia. Biol Neonate 1998; 73: 367-374

Morabito E, Corsico N, Serafini S, Martelli EA: Elevated urinary excretion of ETs in streptozotocin diabetic rats. Life Sci 1994; 54(11): 197-200

Morabito E, Corsico N, Serafini S, Martelli EA: Elevated urinary excretion of ET in insulin-dependent diabetes mellitus: no influence of physical exercise. Acta Paediatr 1996 Sep; 85(9): 1058-61

Morita T, Kurihara H, Yoshizumi M, Maemura K, Sugiyama T, Nagai R, Yazaki Y: Human polymorphonuclear leukocytes have dual effects on ET-1: the induction of ET-1 mRNA expression in vascular endothelial cells and modification of the ET-1 molecule. Heart Vessels 1993; 8(1): 1-6

Murphy LJ, Greenhough KJ, Turner AJ: Processing and metabolism of ET peptides by porcine lung membranes. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22 Suppl 8: 94-7

Nakano J, Takizawa H, Ohtoshi T, Shoji S, Yamaguchi M, Ishii A, Yanagisawa M, Ito K: Endotoxin and pro-inflammatory cytokines stimulate ET-1 expression and release by airway epithelial cells. Clin Exp Allergy 1994 Apr; 24(4): 330-6

Nakano Y, Tasaka S, Saito F, Yamada W, Shiraishi Y, Ogawa Y, Koh H, Hasegawa N, Fujishima S, Hashimoto S, Ishizaka A.Endothelin-1 level in epithelial lining fluid of patients with acute respiratory distress syndrome.Respirology. 2007 Sep;12(5):740-3

Naruse K, Naruse M, Watanabe Y, Yoshihara I, Ohsumi K, Horiuchi J, Monzen C, Kato Y, Nakamura N, Sugino N: Molecular form of immunoreactive ET in plasma and urine of normal subjects and patients with various disease states. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 506-8

Nir A, Clavell AL, Heublein D, Aarhus LL, Burnett JC: Acute hypoxia and endogenous renal ET. J Am Soc Nephrol 1994 May; 4(11): 1920-4

Niranjan V, Telemaque S, deWit D, Gerard RD, Yanagisawa M: Systemic hypertension induced by hepatic overexpression of human prepro ET-1 in rats. J Clin Invest 1996 Nov 15; 98(10): 2364-72

Noris M, Morigi M, Donadelli R, Aiello S, Foppolo M, Todeschini M, Orisio S, Remuzzi G, Remuzzi A: Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. Circ Res 1995 Apr; 76(4): 536-43

Noveral JP, Rosenberg SM, Anbar RA, Pawlowski NA, Grunstein MM: Role of ET-1 in regulating proliferation of cultured rabbit airway smooth muscle cells. Am J Physiol 1992 Sep; 263(3 Pt 1): 317-24

Ohlstein EH, Arleth A, Ezekiel M, Horohonich S, Ator MA, Caltabiano MM, Sung CP: Biosynthesis and modulation of ET from bovine pulmonary arterial endothelial cells. Life Sci 1990; 46(3): 181-8

Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F: Urinary excretion of ET-1 in normal subjects and patients with renal disease. Kidney Int 1991 Feb; 39(2): 307-11

Oishi R, Nonoguchi H, Tomita K, Marumo F: ET-1 inhibits AVP-stimulated osmotic water permeability in rat inner medullary collecting duct. Am J Physiol 1991 Dec; 261(6 Pt 2): 951-6

Okada M, Yamashita C, Okada M, Okada K: Role of ET-1 in beagles with dehydromonocrotaline-induced pulmonary hypertension. Circulation 1995 Jul 1; 92(1): 114-9

Orth SR, Esslinger JP, Amann K, Schwarz U, Raschack M, Ritz E: Nephroprotection of an ET(A)-receptor blocker (LU 135252) in salt-loaded uninephrectomized stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Hypertension 1998 Apr; 31(4): 995-1001

Ozaki S, Ohwaki K, Ihara M, Fukuroda T, Ishikawa K, Yano M: ETB-mediated regulation of extracellular levels of ET-1 in cultured human endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1995 Apr 17; 209(2): 483-9

Patrignani P, Del Maschio A, Bazzoni G, Daffonchio L, Hernandez A, Modica R, Montesanti L, Volpi D, Patrono C, Dejana E: Inactivation of ET by polymorphonuclear leukocyte-derived lytic enzymes Blood 1991 Nov 15; 78(10): 2715-20

Peacock AJ, Dawes KE, Shock A, Gray AJ, Reeves JT, Laurent GJ: ET-1 and ET-3 induce chemotaxis and replication of pulmonary artery fibroblasts. Am J Respir Cell Mol Biol 1992 Nov; 7(5): 492-9

Perez-Zoghbi JF, Sanderson MJ.: Endothelin-induced contraction of bronchiole and pulmonary arteriole smooth muscle cells is regulated by intracellular Ca2+ oscillations and Ca2+ sensitization Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jul 6; [Epub ahead of print].

Pernow J, Boutier JF, Franco-Cereceda A, Lacroix JS, Matran R, Lundberg JM: Potent selective vasoconstrictor effects of ET in the pig kidney in vivo. Acta Physiol Scand 1988 Dec; 134(4): 573-4

Philipp S, Monti J, Pagel I, Langenickel T, Notter T, Ruschitzka F, Luscher T, Dietz R, Willenbrock R: Treatment with darusentan over 21 days improved cGMP generation in patients with chronic heart failure.Clin Sci (Lond) 2002 Aug; 103 Suppl 48: 249-

Pons F, Touvay C, Lagente V, Mencia-Huerta JM, Braquet P: Bronchopulmonary and pressor activities of ET-1 (ET-1), ET-2, ET-3, and big ET-1 in the guinea pig. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 326-8

Quaschning T, Ruschitzka F, Stallmach T, Shaw S, Morawietz H, Goettsch W, Hermann M, Slowinski T, Theuring F, Hocher B, Luscher TF, Gassmann M. Erythropoietin-induced excessive erythrocytosis activates the tissue ET system in mice. FASEB J 2003 Feb; 17(2): 259-61

Raposo-Sonnenfeld I, Otero-Gonzalez I, Blanco-Aparicio M, Ferrer-Barba A, Medrano-Lopez C.: Treatment with sildenafil, bosentan, or both in children and young

people with idiopathic pulmonary arterial hypertension and Eisenmenger's syndrome. Rev Esp Cardiol. 2007 Apr;60(4):366-72

Rascher W, Mant F, Kleschin K, Feth F, Worgall S: Endothelin excretion in children with renal diseases. Pediatr Nephrol 1992 Abstract

Roccatello D, Mosso R, Ferro M, Polloni R, De Filippi PG, Quattrocchio G, Bancale E, Cesano G, Sena LM, Piccoli G: Urinary ET in glomerulonephritis patients with normal renal function Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 323-30

Saenz de Tejada I, Mueller JD, de Las Morenas A, Machado M, Moreland RB, Krane RJ, Wolfe HJ, Traish AM: ET in the urinary bladder. I. Synthesis of ET-1 by epithelia, muscle and fibroblasts suggests autocrine and paracrine cellular regulation. J Urol 1992 Oct; 148(4): 1290-8

Saida K, Mitsui Y, Ishida N: A novel peptide, vasoactiv intestinal contraktor of a new (ET) peptide family. J Biol Chem 1989; 264: 14613-13616

Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 732-5

Samson WK, Skala KD, Alexander B, Huang FL: Possible neuroendocrine actions of ET-3. Endocrinology 1991 Mar; 128(3): 1465-73

Satoh M, Shimura S, Ishihara H, Nagaki M, Sasaki H, Takishima T: ET-1 stimulates chloride secretion across canine tracheal epithelium. Respiration 1992; 59(3): 145-50

Saudek V, Hoflack J, Pelton J T: Solution conformation of ET-1 by 1H NMR, CD, and molecular modeling. Int J Pept Protein Res 1991; 37: 174-179

Schmeck J, Koch T, Häusssle A; Rothfischer W, Neuhof H, van Ackeern K: ET-1 induced pulmonary edema is no caused by enhanced capillary permeability in blood free perfused rabbit lungs. App. Cardiopul. Pathophysol. 1997 Abstract

Sessa WC, Kaw S, Zembowicz A, Anggard E, Hecker M, Vane JR: Human polymorphonuclear leukocytes generate and degrade ET-1 by two distinct neutral proteases. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 34-8

Simonson MS, Dunn MJ ET. Pathways of transmembrane signaling. Hypertension 1990 Feb; 15(2 Suppl): I5-12

Simonson MS: ETs: multifunctional renal peptides.1: Physiol Rev 1993 Apr; 73(2): 375-41

Sofia M, Mormile M, Faraone S, Alifano M, Zofra S, Romano L, Carratu L: Increased ET-like immunoreactive material on bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma and patients with interstitial lung disease. Respiration 1993; 60(2): 89-95

Sofia M, Mormile M, Faraone S, Carratu P, Alifano M, Di Benedetto G, Carratu L: Increased 24-hour ET-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respiration 1994; 61(5): 263-8

Sokolovsky M,Galron R,Kloog Y, Bdolah A, Indig F E, Blumenberg S, Fleminger G: ET are more sensitive than sarafotoxin to neutral endopeptidase: possible physiological significance. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 4702-4706

Spieker LE, Flammer AJ: The vascular endothelium in hypertension. Handb Exp Pharmacol. 2006;(176 Pt 2):249-83

Spieker LE, Hurlimann D, Ruschitzka F, Corti R, Enseleit F, Shaw S, Hayoz D, Deanfield JE, Luscher TF, Noll G: Mental stress induces prolonged endothelial dysfunction via ET-A receptors. Circulation 2002 Jun 18; 105(24): 2817-20

Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D: Increased plasma ET-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? Ann Intern Med 1991 Mar 15; 114(6): 464-9

Sudjarwo SA, Hori M, Takai M, Urade Y, Okada T, Karaki H: A novel subtype of ET B receptor mediating contraction in swine pulmonary vein. Life Sci 1993; 53(5): 431-7

Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

Takeda M, Breyer MD, Noland TD, Homma T, Hoover RL, Inagami T, Kon V: ET-1 receptor antagonist: effects on ET- and cyclosporine-treated mesangial cells. Kidney Int 1992 Jun; 41(6): 1713-9

Takigawa M, Sakurai T, Kasuya Y, Abe Y, Masaki T, Goto K: Molecular identification of guanine-nucleotide-binding regulatory proteins which couple to ET receptors. Eur J Biochem 1995 Feb 15; 228(1): 102-8

Tamaoki J, Kanemura T, Sakai N, Isono K, Kobayashi K, Takizawa T: ET stimulates ciliary beat frequency and chloride secretion in canine cultured tracheal epithelium. Am J Respir Cell Mol Biol 1991 May; 4(5): 426-31

Tasaka K, Kitazumi K: The control of ET-1 secretion. Gen Pharmacol 1994 Oct; 25(6): 1059-69

Teerlink JR, Loffler BM, Hess P, Maire JP, Clozel M, Clozel JP : Role of ET in the maintenance of blood pressure in conscious rats with chronic heart failure. Acute effects of the ET receptor antagonist Ro 47-0203 (bosentan). Circulation 1994 Nov;90(5):2510-8

Tekin N, Dinleyici EC, Aksit MA, Kural N, Erol K.:Plasma and urinary Endothelin-1 concentrations in asphyxiated newbors.Neuro Endocrinol Lett. 2007 Jun 12;28(3):284-288 [Epub ahead of print]

Tikkanen I, Tikkanen T, Cao Z, Allen TJ, Davis BJ, Lassila M, Casley D, Johnston CI, Burrell LM, Cooper ME: Combined inhibition of neutral endopeptidase with angiotensin converting enzyme or ET converting enzyme in experimental diabetes. J Hypertens. 2002 Apr; 20(4): 599-603.

Tomita K, Nonoguchi H, Marumo F: Effects of ET on peptide-dependent cyclic adenosine monophosphate accumulation along the nephron segments of the rat. J Clin Invest 1990 Jun; 85(6): 2014-8

Tomlinson PR, Wilson JW, Stewart AG: Inhibition by salbutamol of the proliferation of human airway smooth muscle cells grown in culture. Br J Pharmacol 1994 Feb; 111(2): 641-7

Truog WE, Pallotto E, Clark P, Banks B, Kaftan HA, Ekekezie II, Norberg M, Ballard RA: Interaction of endogenous ET-1 and inhaled nitric oxide in term and preterm infants. Clin Sci (Lond) 2002 Aug; 103 Suppl 48: 294-297

Uguccioni M, Pulsatelli L, Grigolo B, Facchini A, Fasano L, Cinti C, Fabbri M, Gasbarrini G, Meliconi R: ET-1 in idiopathic pulmonary fibrosis. J Clin Pathol 1995 Apr; 48(4): 330-4

Ujiie K, Terada Y, Nonoguchi H, Shinohara M, Tomita K, Marumo F: Messenger RNA expression and synthesis of ET-1 along rat nephronsegments.1: J Clin Invest 1992 Sep; 90(3): 1043-8

Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, Black CM: Circulating ET-1 levels in systemic sclerosis subsets—a marker of fibrosis or vascular dysfunction? J Rheumatol 1994 Oct; 21(10): 1838-44

Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, Black CM: Circulating ET-1 levels in systemic sclerosis subsets--a marker of fibrosis or vascular dysfunction? J Rheumatol 1994 Oct; 21(10): 1838-44

Visner GA, Staples ED, Chesrown SE, Block ER, Zander DS, Nick HS: Isolation and maintenance of human pulmonary artery endothelial cells in culture isolated from transplant donors. Am J Physiol 1994 Oct; 267(4 Pt 1): 406-13

Vittori E, Marini M, Fasoli A, De Franchis R, Mattoli S: Increased expression of ET in bronchial epithelial cells of asthmatic patients and effect of corticosteroids. Am Rev Respir Dis 1992 Nov; 146(5 Pt 1): 1320-5

Webb DJ, Monge JC, Rabelink TJ, Yanagisawa M ET: new discoveries and rapid progress in the clinic. Trends Pharmacol Sci 1998 Jan; 19(1): 5-8

Weitzberg E, Ahlborg G, Lundberg JM: Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of ET-1 in human splanchnic and renal tissues. Biochem Biophys Res Commun 1991 Nov 14; 180(3): 1298-303

Weitzberg E, Lundberg JM, Rudehill A: Elevated plasma levels of ET in patients with sepsis syndrome. Circ Shock 1991 Apr; 33(4): 222-7

Worgall S, Manz F, Kleschin K, Feth F, Rascher W: Elevated urinary excretion of ET-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow rate. Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 331-7

Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M: ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big ET-1. Cell 1994 Aug 12; 78(3): 473-85

Xu L, Liu P, Yan D: Study on the relationship between perinatal hypoxia and concentration of endothelin-1 in amniotic fluid. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 1999 Oct; 34 (10): 591-3

Yanagisawa M, Inoue A, Takuwa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T: The human preproET-1 gene: possible regulation by endothelial phosphoinositide turnover signaling. J Cardiovasc Pharmacol 1989; 13 Suppl 5: 13-7

Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi, M, MitsuiY, Onda H, Fuijino M, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988; 332:411-415

Yanagisawa M, Masaki T: Molecular biology and biochemistry of the ETs. Trends. Pharmacol Sci 1989 Sep; 10(9): 374-8

Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Yazaki Y: Hemodynamic shear stress stimulates ET production by cultured endothelial cells Biochem Biophys Res Commun 1989 Jun 15; 161(2): 859-64

Zamora MA, Dempsey EC, Walchak SJ, Stelzner TJ: BQ123, an ETA receptor antagonist, inhibits ET-1-mediated proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1993 Oct; 9(4): 429-33

Zhang H, Inazu M, Weir B, Daniel E: ET-1 inhibits inward rectifier potassium channels and activates nonspecific cation channels in cultured endothelial cells. Pharmacology 1994 Jul; 49(1): 11-22

Zoja C, Liu XH, Abbate M, Corna D, Schiffrin EL, Remuzzi G, Benigni A: Angiotensin II blockade limits tubular protein overreabsorption and the consequent upregulation of ET 1 gene in experimental membranous nephropathy. Exp Nephrol 1998 Mar-Apr; 6(2): 121-31

7 Anhang

7.1 Normalverteilung

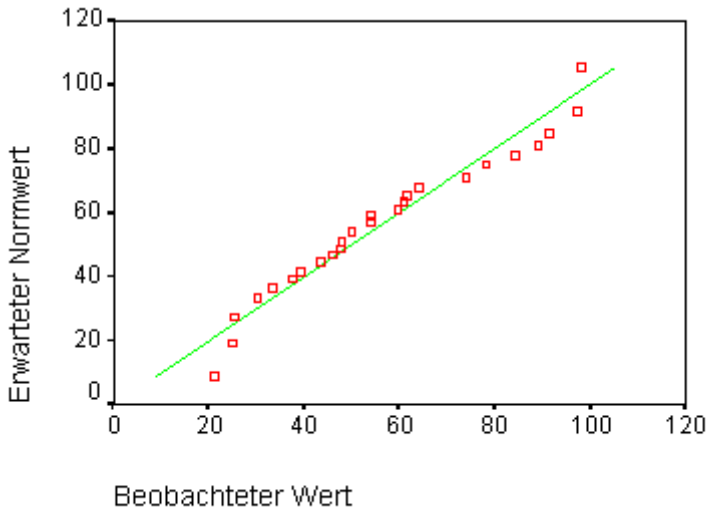
Im Folgenden werden die Werte mit dem Kolmogorov – Smirnov Test auf Normalverteilung untersucht.

		ET in pg / ml am 1.Tag	ET in pg / ml am 2.Tag	ET in pg / ml am 3.Tag	ET in pg / ml am 4.Tag	ET in pg / ml am 5.Tag	ET in pg / ml am 6.Tag
N		29	28	29	25	23	11
Normal Parameters(a,b)	Mean	57,2069	46,0714	41,9862	34,3120	39,4000	47,4364
	Std. Deviation	23,82481	25,55049	28,00071	24,17017	18,55243	15,81413
Kolmogorov-Smirnov Z		,567	,975	,741	,891	,637	,466
Asymp. Sig. (2-tailed)		,905	,298	,642	,406	,811	,982

Anhangstabelle 1

Normalverteilungsdiagramm

Darstellung der erwarteten Häufigkeit in Abhängigkeit der beobachteten Häufigkeit (Q-Q Diagramm) von ET-Konzentration im Urin in pg/ml am ersten Tag



Anhangsabbildung 1

Überprüfung der ET-Werte pro 24h und Körperoberflächen auf Normalverteilung anhand des One-Sample Kolmogorov-Smirnov Testes

		ET in ng /m² Körper-oberfläche am 1. Tag	ET in ng /m² Körper-oberfläche am 2. Tag	ET in ng /m² Körper-oberfläche am 3. Tag	ET in ng /m² Körper-oberfläche am 4. Tag	ET in ng /m² Körper-oberfläche am 5. Tag	ET in ng /m² Körper-oberfläche am 6. Tag
N		23	22	25	20	17	8
Normal Parameters(a,b)	Mean	31,5969	33,7318	38,5058	33,1498	46,0000	64,3592
	Std. Deviation	21,3268	17,05560	20,74902	15,71933	19,57752	44,82614
Kolmogorov-Smirnov Z		1,069	,795	,711	,551	,554	,473
Asymp. Sig. (2-tailed)		0,23 Auf Anraten des Statistikers strichen wir einen Ausreißerwert bei der Untersuchung auf Normalverteilung, da sich ansonsten die weiteren Werte verfälschten.	,552	,693	,921	,919	,979

Anhangstabelle 2

7.2 Tests der Innersubjekteffekte

ET Konzentration über die Tage

Quelle		Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
ET Konzentration	Sphärizität angenommen	4754,838	4	1188,709	5,178	,001

ET-Werten pro 24h und Körperoberfläche

Quelle		Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
ET24kö	Sphärizität angenommen	3283,593	4	820,898	3,310	,027

Anhangstabelle 3

7.3 ET Unterschiede über die ersten Tage

7.3.1 Konzentration

Paired Samples Test

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Sig. (2-tailed)
Pair 1	ET in pg/ml am 1. Tag - ET in pg/ml am 2.Tag	16,0800	29,78355	5,95671	,013
Pair 2	ET in pg/ml am 1. Tag - ET in pg/ml am 3. Tag	11,1120	30,38602	6,07720	,080
Pair 3	ET in pg/ml am 1. Tag - ET in pg/ml am 4. Tag	23,4286	24,80196	5,41223	,000
Pair 4	ET in pg/ml am 4. Tag - ET in pg/ml am 5. Tag	-7,9700	18,67577	4,17603	,072

Anhangstabelle 4

7.3.2 ET-Menge pro 24h und Körperoberfläche

Paaren 1	Endothelin in ng pro Körperoberfläche am 1. Tag - Endothelin in ng pro Körperoberfläche am 5. Tag	-24,27382	23,81510	,003
Paaren 2	Endothelin in ng pro Körperoberfläche am 2.Tag - Endothelin in ng pro Körperoberfläche am 5. Tag	-12,82318	21,70666	,046

Test bei gepaarten Stichproben

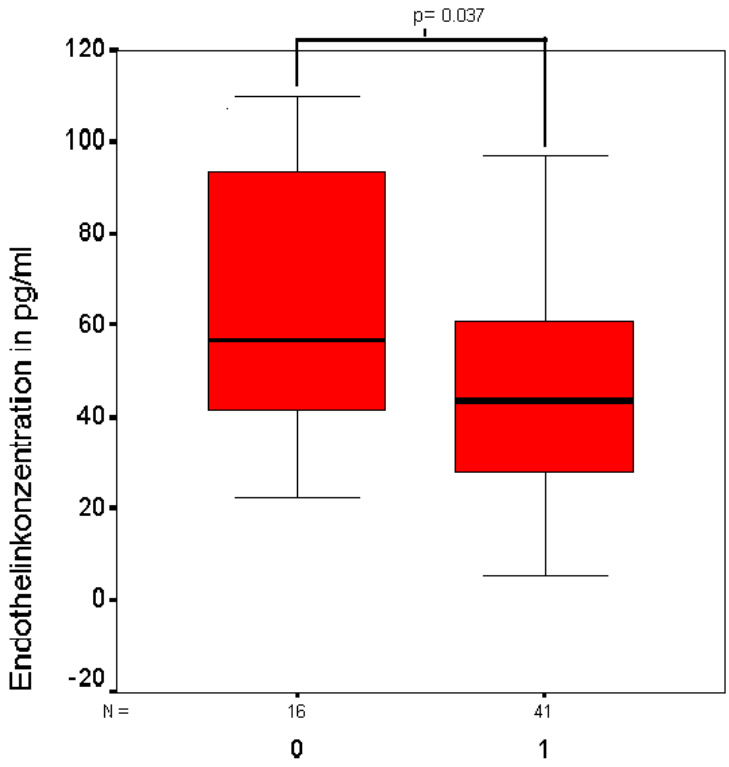
Anhangstabelle 5

7.4 Zusammenfassung der Untersuchungen auf signifikante Unterschiede der verschiedenen ET-Werte im Urin in den Gruppen der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen an den ersten zwei Lebenstagen

	ET-Konzentration in pg/ml der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen an den ersten zwei Lebenstagen	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2 der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen an den ersten zwei Lebenstagen
Mann-Whitney-U	210,500	128,000
Z	-2,087	-,696
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,037	,487

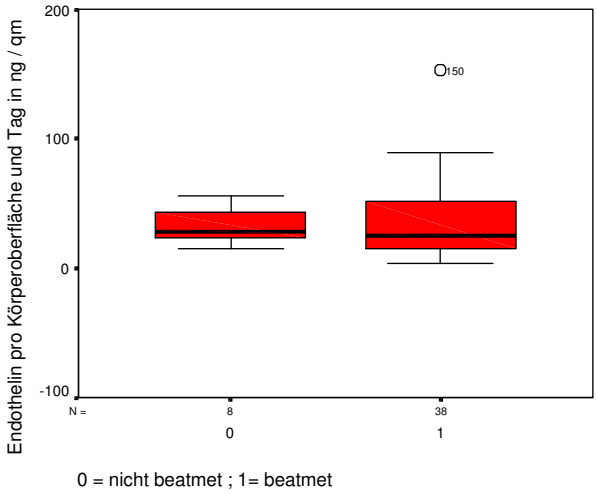
Anhangstabelle 6

Vergleich der ET-Konzentration im Urin der beatmeten Gruppe mit der nicht beatmeten Gruppe an den ersten zwei Tagen



Anhangsabbildung 2

Vergleich der ET-Menge pro 24 h und Körperoberfläche im Urin zwischen der beatmeten und der nicht beatmeten Gruppe über die ersten zwei Lebenstage



Anhangsabbildung 3

7.5 ET im Urin und verschiedene Indikatoren für den Schweregrad der Asphyxie

Correlation Spearman's rho

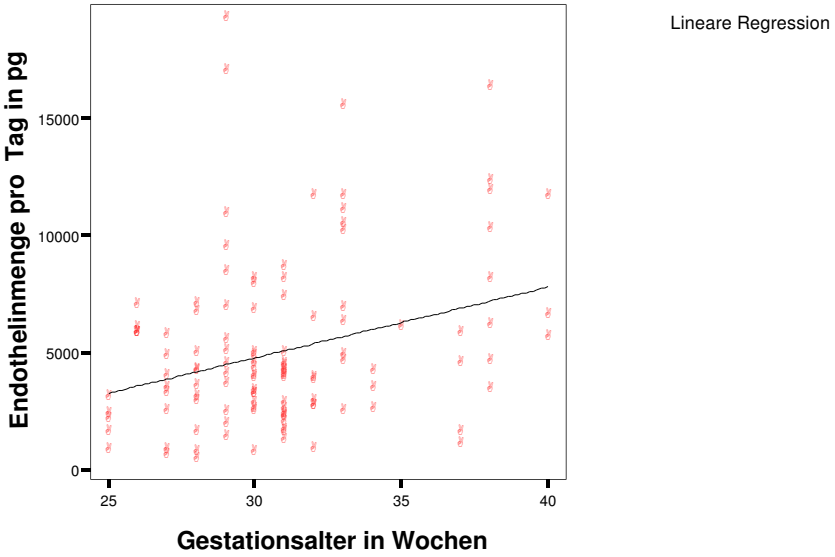
		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
pH-NABEL	Korrelations- koeffizient	,060	-,196
	Sig. (2-tailed)	,606	,147
	N	77	56
pH-Arterie	Korrelations- koeffizient	,038	-,161
	Sig. (2-tailed)	,664	,102
	N	130	104
AP 1	Korrelations- koeffizient	-,036	,038
	Sig. (2-tailed)	,690	,715
	N	125	96
AP 2	Korrelations- koeffizient	,121	,119
	Sig. (2-tailed)	,170	,237
	N	129	100
AP 3	Korrelations koeffizient	-,030	-,186
	Sig. (2-tailed)	,736	,063
	N	129	100

Anhangstabelle 7

Für keinen der gewählten Asphyxie-Parameter ergibt sich eine signifikante Korrelation mit den ET-Werten im Urin der asphyktischen Früh- und Neugeborenen.

7.6 ET und verschiedene Gestationsalter

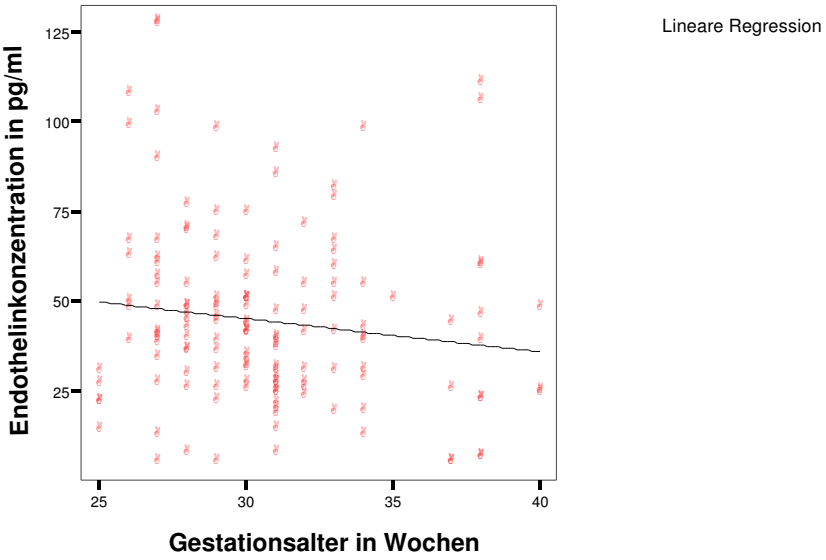
ET-Menge pro 24h in den einzelnen Gestationswochen



Anhangsabbildung 4

In der Abbildung ist die Verteilung der ET-Menge pro 24h in den einzelnen Gestationswochen dargestellt und zeigt, dass die ET-Menge pro 24h im Urin tendenziell über die Anzahl der Gestationswochen ansteigt.

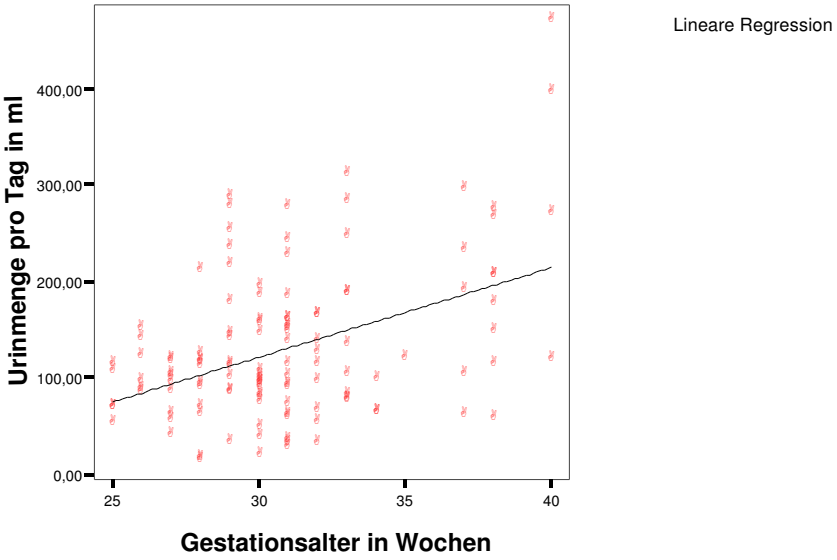
ET-Konzentration in den einzelnen Gestationswochen



Anhangsabbildung 5

Die ET-Konzentration ist, wie auch in Kapitel 4.2.1 erläutert, häufig entgegengesetzt zur Tagesmengenausscheidung verlaufend, da hohe ET-Ausscheidungen auch tendenziell mit hoher Diurese einhergehen.

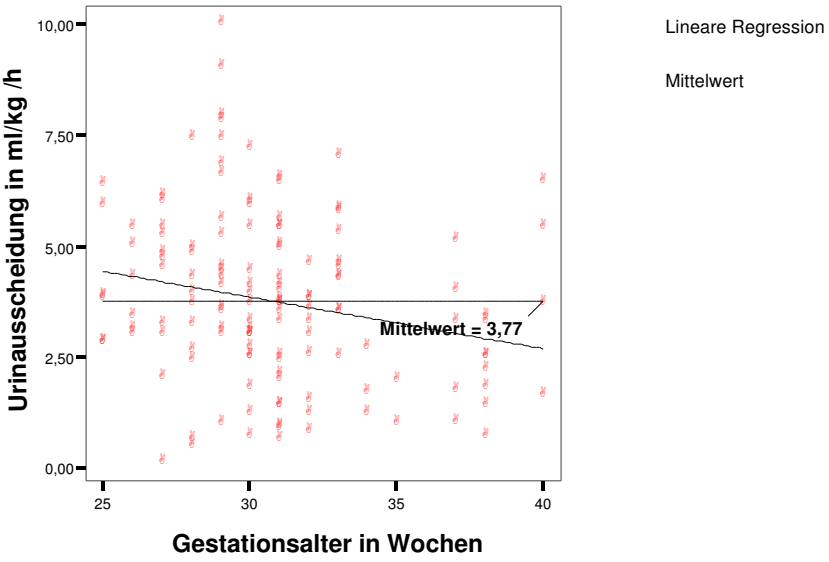
Urinmenge pro 24h in den einzelnen Gestationswochen



Anhangsabbildung 6

Verhältnis von ET-Konzentration und ET-Tagesmenge lässt sich gut über die zunehmende Urinmenge mit steigendem Gestationsalter erklären.

Urinmenge pro kg und h in den einzelnen Gestationswochen



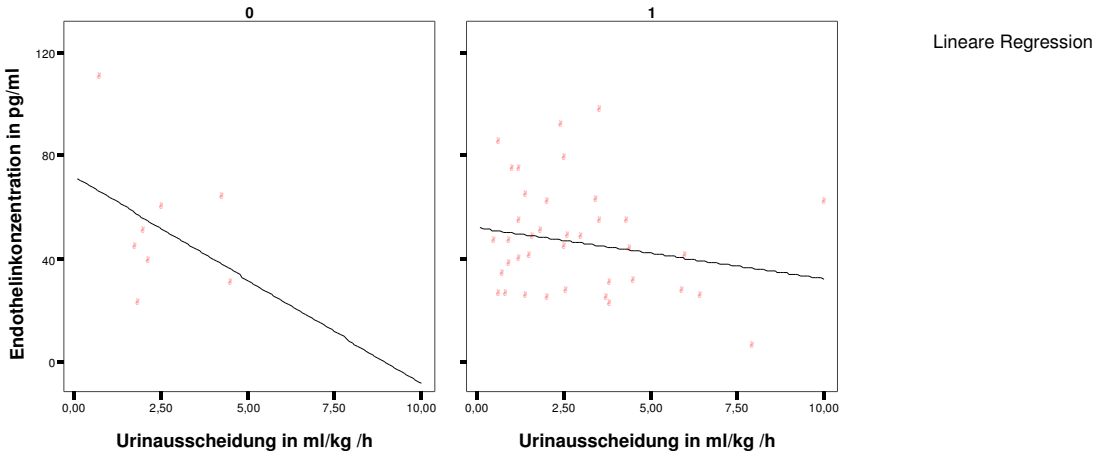
Anhangsabbildung 7

Unter Berücksichtigung des Körpergewichts beziehungsweise der Körperoberfläche ist die Urinmenge über die Gestationswochen annähernd konstant.

7.7 Diurese und Beatmung

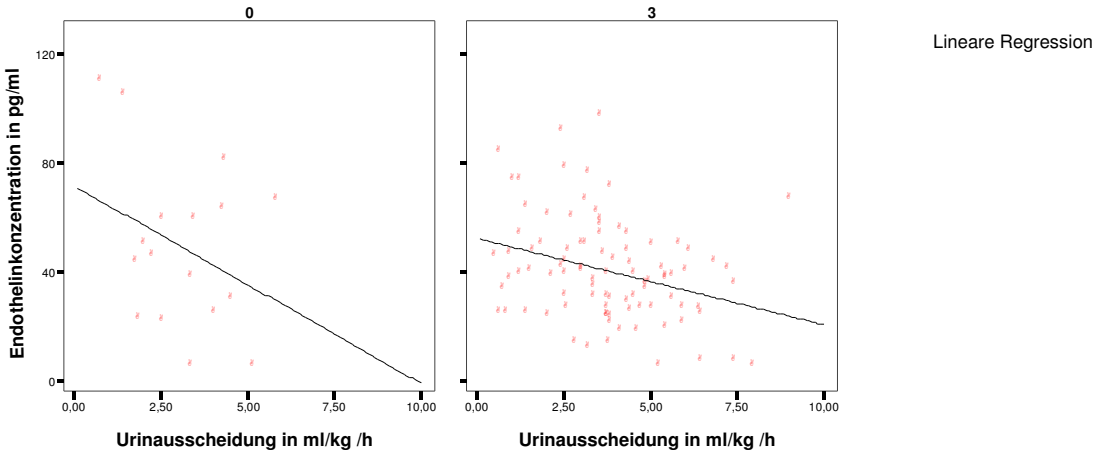
Die Abbildungen zeigen für die verschiedenen Gruppen die sinkende ET-Konzentration mit ansteigender Urinmenge

Gruppe 0 und 1 (über 2 Tage Beatmung)



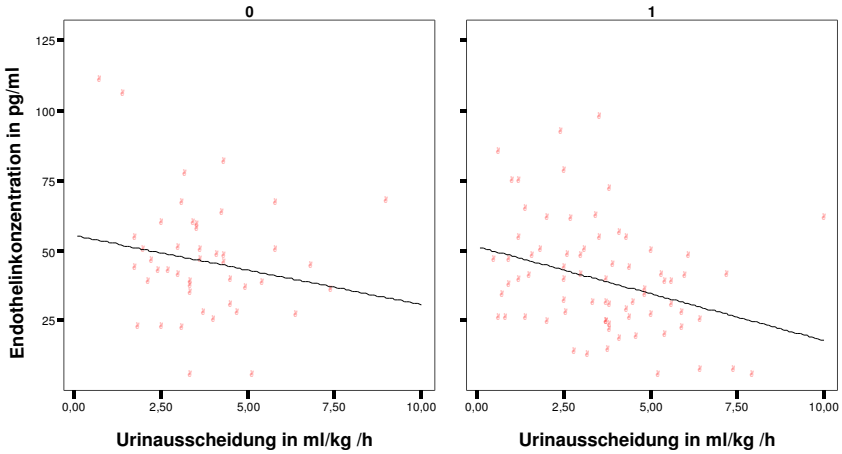
Anhangsabbildung 8

Gruppe 0 und 3 (über 4 Tage Beatmung)



Anhangsabbildung 9

Zustände 0 und 1



Lineare Regression

Anhangsabbildung 10

7.8 Flüssigkeitszufuhr

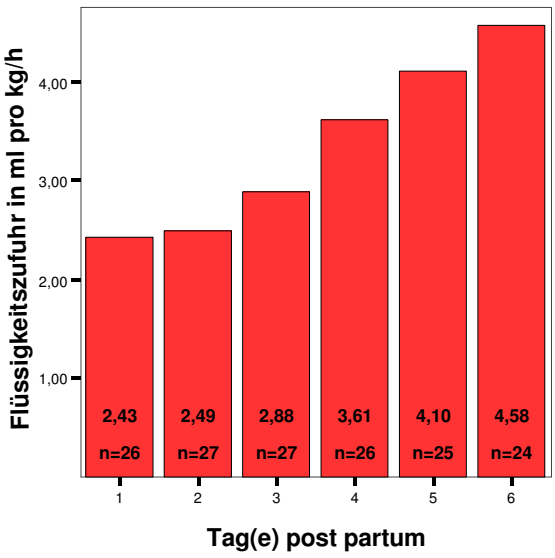
Flüssigkeitszufuhr und Urinausscheidung

Korrelationen Spearman-Rho

		Urinausscheidung in ml/kg /h	Urinmenge pro 24h in ml
Flüssigkeitszufuhr in ml	Korrelationskoeffizient	,315	,220
	Sig. (2-seitig)	,001	,032
	N	105	95

Anhangstabelle 8

Flüssigkeitszufuhr über die ersten sechs Tage



Balken zeigen Mittelwerte

Anhangstabelle 9

Untersuchung auf signifikante Unterschiede der Urinausscheidung bezogen auf die Zustände „beatmet“ und „nicht beatmet“

Statistik für Test

	Urinausscheidung in ml/kg /h
Mann-Whitney-U	2104,000
Z	-,208
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,835

Anhangstabelle 10

a Gruppenvariable: 0 = Zustand nicht beatmet 1=Zustand beatmet

Untersuchung auf signifikante Korrelationen zwischen der Flüssigkeitszufuhr und den ET-Werten im Urin

Korrelationen Spearman-Rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET-Menge pro 24h in pg	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Flüssigkeits-zufuhr in ml	Korrelations-koeffizient	-,283	,071	,136
	Sig. (2-seitig)	,002	,507	,201
	N	115	90	90

Anhangstabelle 11

7.9 Geburtsmodus

Vergleich auf signifikante Unterschiede der ET-Werte im Urin in den unterschiedlichen Geburtsartsgruppen nach dem Mann-Whitney-U Test

Statistik für Test

	ET-Menge pro 24h in pg	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / qm	ET-Konzentration in pg/ml
Mann-Whitney-U	1378,000	1429,000	1759,500
Z	-,370	-,066	-1,230
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,711	,948	,219

a Gruppenvariable: Geburtsart

Anhangstabelle 12

7.10 Elektrolyte

Korrelationen zwischen der Na- und Cl-Zufuhr und den ET-Werten im Urin

Korrelationen Spearman's rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Natriumzufuhr in mmol/kg/ Tag	Korrelations-koeffizient	-,009	,102
	Sig. (2-seitig)	,923	,344
	N	111	89
Chloridzufuhr in mmol/kg/Tag	Korrelations-koeffizient	,060	,006
	Sig. (2-seitig)	,562	,955
	N	97	84

Anhangstabelle 13

7.11 CRP

Korrelationen zwischen dem C-reaktiven Protein und den ET-Werten im Urin

Korrelationen Spearman-Rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
C-reaktives Protein	Korrelations-koeffizient	-,133	,074
	Sig. (2-seitig)	,139	,458
	N	126	103

Anhangstabelle 14

7.12 Medikamentengabe

Korrelationen zwischen der Gabe von Antibiotika und den ET-Werten im Urin

Korrelationen Spearman-Rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Penicillin	Korrelations-koeffizient	,136	-,127
	Sig. (2-seitig)	,104	,173
	N	145	116
Gentamycin	Korrelations-koeffizient	-,128	,025
	Sig. (2-seitig)	,124	,787
	N	145	116
Vancomycin	Korrelations-koeffizient	,134	,179
	Sig. (2-seitig)	,109	,541
	N	145	116
Amoxocillin	Korrelations-koeffizient	-,155	,119
	Sig. (2-seitig)	,163	,205
	N	145	116

Anhangstabelle 15

Korrelationen zwischen der Gabe von Surfactant und den ET-Werten im Urin

Korrelationen Spearman-Rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Surfactant	Korrelations-koeffizient	,060	-,091
	Sig. (2-seitig)	,477	,334
	N	143	115

Anhangstabelle 16

Korrelationen zwischen der Fentanyl-Gabe und den ET-Werten im Urin

Correlations Spearman's rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Fentanyl	Korrelations-koeffizient	-,137	-,009
	Sig. (2-tailed)	,238	,940
	N	76	68

Anhangstabelle 17

Korrelationen zwischen der Dopamin-, Dobutamin- und Noradrenalingabe und den ET-Werten im Urin

Correlations Spearman's rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Dopamin-gabe	Korrelations-koeffizient	,033	-,001
	Sig. (2-tailed)	,814	,992
	N	55	51
Dobutamin-gabe	Korrelations-koeffizient	,040	-,052
	Sig. (2-tailed)	,832	,788
	N	31	29
Noradrenalin-gabe	Korrelations-koeffizient	,543	,548
	Sig. (2-tailed)	,068	,160
	N	12	8

Anhangstabelle 18

7.13 Katecholamine im Serum

Korrelationen zwischen den Noradrenalin- und Adrenalinkonzentrationen im Serum und den ET-Werten im Urin

Correlations Spearman's rho

		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Noradrenalinkonzentration im Serum	Korrelationskoeffizient	-,117	-,035
	Sig. (2-tailed)	,451	,885
	N	44	20
Adrenalinkonzentration im Serum	Korrelationskoeffizient	,203	,355
	Sig. (2-tailed)	,202	,136
	N	41	19

Anhangstabelle 19

Korrelationen zwischen der Dopaminkonzentration im Serum und den ET-Werten im Urin

Correlations Spearman's rho

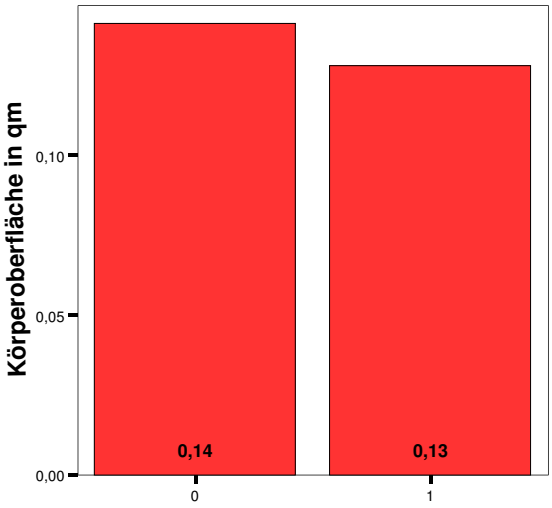
		ET-Konzentration in pg/ml	ET pro Körperoberfläche und 24h in ng / m^2
Dopamin im Serum in pg/ml	Korrelations- koeffizient	-,392	-,125
	Sig. (2-tailed)	,016	,670
	N	37	14

Anhangstabelle 20

7.14 Interaktionen

7.14.1 Körperoberfläche

Darstellung der Verteilung der Körperoberfläche in den Gruppen 0 und 1



0= Gruppe 0 (nicht beatmet); 1= Gruppe 1 (beatmet)

Anhangsabbildung 11

Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen den Körperoberflächen der Gruppe 1 und der Gruppe 0

	Körperoberfläche in m^2
Mann-Whitney-U	424,000
Z	-,115
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,908

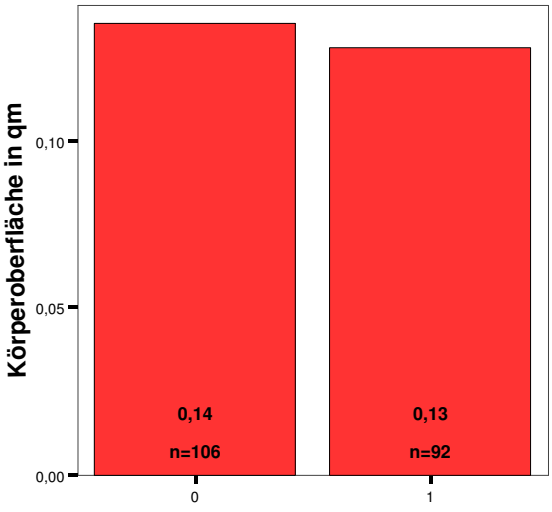
Anhangstabelle 21

Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen den Körperoberflächen der Gruppen 2 und 3 (beatmet über zwei bzw. 4 Tage) einerseits und der Gruppe 0 (nicht beatmet) andererseits

	Körperoberfläche in m^2
Gruppe 0= nicht beatmet; Gruppe Gruppe 3= über vier Tage beatmet	
Mann-Whitney-U	3420,000
Z	-,432
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,666
Gruppe 0= nicht beatmet; Gruppe 2= über zwei Tage beatmet	
Mann-Whitney-U	324,000
Z	,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	1,000

Anhangstabelle 22

Darstellung der Verteilung der Körperoberfläche bei den Zuständen „nicht beatmet“ =0 und „beatmet“ =1



Balken zeigen Mittelwerte

Anhangstabelle 23

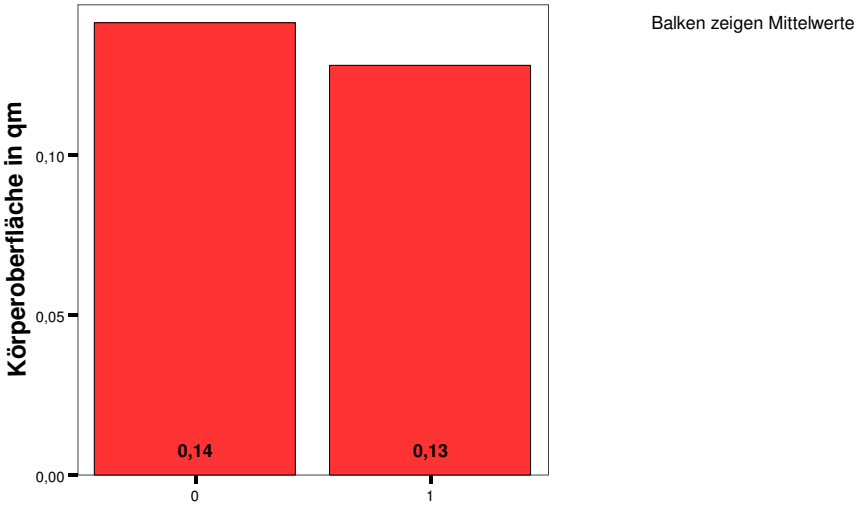
Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen den Zuständen „nicht beatmet“ =0 und „beatmet“ =1 bezüglich der Körperoberfläche

Statistik für Test

	Körperoberfläche in m^2
Mann-Whitney-U	4864,000
Z	-,030
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,976

Anhangstabelle 24

Darstellung der Verteilung der Körperoberfläche in den Gruppen 0 und 1 in den ersten zwei Lebenstagen



0= Gruppe 0 (nicht beatmet); 1= Gruppe 1 (beatmet)

Anhangsabbildung 12

Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen den Körperoberflächen der Gruppe 1 und der Gruppe 0 1 in den ersten zwei Lebenstagen

	Körperoberfläche in m^2
Mann-Whitney-U	424,000
Z	-,115
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,908

Anhangstabelle 25

7.14.2 Urinausscheidung

Untersuchung auf signifikante Unterschiede der Urinausscheidung in den Gruppen 0 und 1 an den ersten beiden Tagen

Statistik für Test (über zwei Tage betrachtet)

	Urinausscheidung in ml/kg /h
Mann-Whitney-U	181,000
Z	-,499
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,618

a Gruppenvariable: 0= Gruppe 0 (nicht beatmet); 1= Gruppe 1 (beatmet)

Anhangstabelle 26

Untersuchung auf signifikante Unterschiede in der Urinausscheidung zwischen den Gruppen 0, 2 und 3 über die ersten vier Tage

Statistik für Test

	Urinausscheidung in ml/kg/h zwischen Gruppe 0 und Gruppe 3	Urinausscheidung in ml/kg/h zwischen Gruppe 0 und Gruppe 2
Mann-Whitney-U	505,000	35,000
Z	-1,571	-,959
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,116	,338

Anhangstabelle 27

Untersuchung auf signifikante Unterschiede der Urinausscheidung bezogen auf die Zustände „beatmet“ und „nicht beatmet“

Statistik für Test

	Urinausscheidung in ml/kg /h
Mann-Whitney-U	2104,000
Z	-,208
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,835

Anhangstabelle 28

a Gruppenvariable: 0 = Zustand nicht beatmet 1=Zustand beatmet

7.14.3 Dopamin im Serum

Bei der Überprüfung auf Normalverteilung der Dopaminspiegel getrennt für die Gruppen der beatmeten und nicht beatmeten Früh- und Neugeborenen mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest ergaben sich signikante Unterschiede von der Normalverteilung.

Untersuchung auf signifikante Unterschiede bzgl. der Dopaminkonzentration im Serum zwischen den Gruppen 0, 2 und 3

	Dopamin im Serum in pg pro ml
Gruppe 0= nicht beatmet; Gruppe 3= über vier Tage beatmet	
Mann-Whitney-U	215,500
Z	-,527
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,598
Gruppe 0= nicht beatmet; Gruppe 2= über zwei Tage beatmet;	
Mann-Whitney-U	33,500
Z	-,568
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,570

Anhangstabelle 29

Untersuchung auf signifikante Unterschiede bzgl. der Dopaminkonzentration im Serum zwischen den Gruppen 0 und 1

Statistik für Test

	Dopamin im Serum in pg pro ml
Mann-Whitney-U	24,000
Z	-,463
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,643
Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,694

Anhangstabelle 30

Untersuchung auf signifikante Unterschiede bei den Zuständen „nicht beatmet" =0 und „beatmet" =1 bezgl. der Dopaminkonzentration im Serum

Statistik für Test

	Dopamin im Serum in pg pro ml
Mann-Whitney-U	222,500
Z	-,352
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,725

Anhangstabelle 31

8 Danksagung

Mein herzlicher Dank für die Vertretung und Korrektur dieser Arbeit gilt Herrn Prof. Dr. J. Möller, der mich mit viel Engagement unterstützt hat. Ebenso danke ich Herrn PD Dr. I. Reiss für die Überlassung des und Anregung zum Thema dieser Arbeit und seine Betreuung während der Datenerhebung und ersten Auswertung.

Ebenfalls danke ich Frau Dr. Nitsche und ihrem Team für die Überlassung von Urinprobenmaterial, welches im Rahmen der von Fakultätsgeldern geförderten Katecholaminstudie gesammelt wurde.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dagmar Struwe, medizinisch technische Assistentin an der Klinik für Pädiatrie, die mich in die Techniken der Probenbehandlung und der Durchführung des Radioimunassays einführte.

Dem Statistiker Herrn Prof. Friedrichs verdanke ich fachliche und aufmunternde Unterstützung und wertvolle Kritik bei der statistischen Auswertung der Daten.

Mein persönlicher Dank gilt meiner Frau Tanja für ihre Gedult, für das Korrekturlesen, sowie wertvolle Kritik.

9 Lebenslauf

Name:	Georg Johannes Schunert
Anschrift:	Bahnhofstr. 33, 24601 Wankendorf
Geb. am:	07.01.1968, Bernkastel-Kues
Familienstand:	verheiratet, 3 Kinder

Schulbildung:

1974-1978	Grundschule, Münster
1978-1988	Friedensschule, Münster Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst:

1988-1990	Chirurgie, St. Franziskus-Hospital, Münster

Hochschulbildung:

1990-1992	Studium der Humanmedizin, Wilhelms-Universität, Münster
1992-1996	Studium der Humanmedizin, Medizinische Universität zu Lübeck
08/1992	Ärztliche Vorprüfung
08/1993	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/1996	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
06/1997	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr:

04-08/96	Psychiatrie, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Medizinische Universität zu Lübeck
08-11/96	Innere Medizin, Kreiskrankenhaus Heide, Dithmarschen
11/96-03/97	Chirurgie, Kreiskrankenhaus Heide, Dithmarschen

Beruflicher Werdegang:

07/97-06/98	Arzt im Praktikum, Neurochirurgie, Kreiskrankenhaus Heide, Dithmarschen
07/98-02/99	Arzt im Praktikum, Psychiatrie, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Medizinische Universität zu Lübeck
03/-09/99	wissenschaftlicher Assistent, Psychiatrie, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Medizinische Universität zu Lübeck
09/99-02/01	Assistenzarzt, Psychiatrie, Ostseezentrum für seelische Gesundheit, Fachklinik Neustadt, Holstein
06/01-07/02	Assistenzarzt, Neurologie, Berufsgenossenschaftliches Unfallkrankenhaus Hamburg
08/02-08/03	Assistenzarzt, Innere Medizin, Integratives Gesundheitszentrum, Boizenburg
11/02-09/03	Ausbildung zum Notarzt in Hamburg und Boizenburg
08/03-11/03	Assistenzarzt, Chirurgie, Integratives Gesundheitszentrum, Boizenburg
02/04-02/05	Assistenzarzt, allgemeinmedizinische und naturheilkundliche Praxis Dr. Hinz, Altenholz und Dr. Hecker, Kiel Wellsee
seit 03/05	Assistenzarzt, Curtius Klinik für Psychosomatik und psycho-therapeutische Medizin, Bad Malente
09/05	Anerkennung als Facharzt für Allgemeinmedizin

Promotionsarbeit:

08/94-08/95	Datenerhebung Nachweis und Funktion von Endothelin im Urin asphyktischer Früh- und Neugeborenen, Prof. Dr. med. Möller, Universität Lübeck
02/02-06	Datenauswertung, Verfassen und Korrektur der Promotionsarbeit

Wankendorf, 2.2.2008

[1] Hickey K A, Rubanyi G, Paul R J, Highsmith RF: Characterisation of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothlial cells. Am J Physiol 1985; 248: 550-6

[2] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi, M, MitsuiY, Onda H, Fuijino M, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988; 332:411-415

[3] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, MitsuiY, Onda H, Fuijino M, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.Nature 1988; 332: 411-415

[4] Saudek V, Hoflack J, Pelton J T: Solution conformation of ET-1 by 1H NMR, CD, and molecular modeling. Int J Pept Protein Res 1991; 37: 174-179

[5] Firth H J, Ratcliffe P J: Organ distribution of the three rat ET messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. J Clin Invest 1992; 90: 1023-1031

[6] Saida K, Mitsui Y, Ishida N: A novel peptide, vasoactiv intestinal contraktor of a new (ET) peptide family. J Biol Chem 1989; 264: 14613-13616

[7] Masaki T, Yanagisavara M, Goto K: Physiologie and pharmacology of ETs. Med. Res.Rev. 1992; 12: 391-421

[8] Heyl DL, Cody WL, He JX, Flynn MA, Welch KM, Reynolds EE, Doherty AM: Truncated analogues of ET and sarafotoxin are selective for the ETB receptor subtype. Pept Res 1993 Sep-Oct; 6(5): 238-41

[9] Inoue A, Yanagisawa M, Takuwa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T: The human preproET-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. J Biol Chem 1989 Sep 5; 264(25): 14954-9

[10] Yanagisawa M, Inoue A, Takuwa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T: The human preproET-1 gene: possible regulation by endothelial phosphoinositide turnover signaling. J Cardiovasc Pharmacol 1989; 13 Suppl 5: 13-7

[11] Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T, Shinimi O, Sugita Y, Yanagisawa M, Goto K, Masaki T: Conversion of big ET-1 to 21-residue ET-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big ET-1. J Cardiovasc Pharmacol 1989; 13 Suppl 5: 5-7

[12] Matsumura Y, Ikegawa R, Tsukahara Y, Takaoka M, Morimoto S: Conversion of big ET-1 to ET-1 by two types of metalloproteinases derived from porcine aortic endothelial cells. FEBS Lett 1990 Oct 15; 272(1-2): 166-70

[13] Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M: ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big ET-1. Cell 1994 Aug 12; 78(3): 473-85

[14] Hentschel M, Gildein P, Brandis M, Zimmerhackl LB: ET (ET-1) is involved in the contrast media induced nephrotoxicity in children with congenital heart disease. Clin Nephrol 1995 Jan; 43 Suppl 1: 12-5

[15] Yanagisawa M, Masaki T: Molecular biology and biochemistry of the ETs. Trends. Pharmacol Sci 1989 Sep; 10(9): 374-8

[16] Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M: ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big ET-1. Cell 1994 Aug 12; 78(3): 473-85

[17] Battistini B, Brown M, Vane JR: Selective proteolitic activation and degradation of ETs and big ETs in parenchymal strips of the guinea-pig lung. Biochem Biophys Res Commun 1995 Feb 15; 207(2): 675-81

[18] Etienne A, Pannetier MC, Soulard C, Braquet P: Effects of ET on the lethality induced by platelet-activating factor or endotoxin in the mouse. Circ Shock 1990 Sep; 32(1): 77-81

[19] Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V: Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

[20] Emori T, Hirata Y, Ohta K, Shichiri M, Marumo F: Secretory mechanism of immunoreactive ET in cultured bovine endothelial cells.Biochem Biophys Res Commun 1989 Apr 14; 160(1): 93-100

[21] Noris M, Morigi M, Donadelli R, Aiello S, Foppolo M, Todeschini M, Orisio S, Remuzzi G, Remuzzi A: Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. Circ Res 1995 Apr; 76(4): 536-43

[22] Nir A, Clavell AL, Heublein D, Aarhus LL, Burnett JC: Acute hypoxia and endogenous renal ET. J Am Soc Nephrol 1994 May; 4(11): 1920-4

[23] Tasaka K, Kitazumi K: The control of ET-1 secretion. Gen Pharmacol 1994 Oct; 25(6): 1059-69

[24] Noris M, Morigi M, Donadelli R, Aiello S, Foppolo M, Todeschini M, Orisio S, Remuzzi G, Remuzzi A: Nitric oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. Circ Res 1995 Apr; 76(4): 536-43

[25] Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V: Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

[26] Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2

[27] Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 732-5

[28] Simonson MS: ETs: multifunctional renal peptides.1: Physiol Rev 1993 Apr; 73(2): 375-41

[29] Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor.Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2

[30] Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 732-5

[31] Takigawa M, Sakurai T, Kasuya Y, Abe Y, Masaki T, Goto K: Molecular identification of guanine-nucleotide-binding regulatory proteins which couple to ET receptors. Eur J Biochem 1995 Feb 15; 228(1): 102-8

[32] Aramori I, Nakanishi S: Coupling of two ET receptor subtypes to differing signal transduction in transfected Chinese hamster ovary cells. J Biol Chem 1992 Jun 25; 267(18): 12468-74

[33] Enoki T, Miwa S, Sakamoto A, Minowa T, Komuro T, Kobayashi S, Ninomiya H, Masaki T: Long-lasting activation of cation current by low concentration of ET-1 in mouse fibroblasts and smooth muscle cells of rabbit aorta. Br J Pharmacol 1995 Jun; 115(3): 479-85

[34] Zhang H, Inazu M, Weir B, Daniel E: ET-1 inhibits inward rectifier potassium channels and activates nonspecific cation channels in cultured endothelial cells. Pharmacology 1994 Jul; 49(1): 11-22

[35] Arai H, Nakao K, Takaya K, Hosoda K, Ogawa Y, Nakanishi S, Imura H: The human ET-B receptor gene. Structural organization and chromosomal assignment. J Biol Chem 1993 Feb 15; 268(5): 3463-70

[36] Hosoda K, Nakao K, Tamura N, Arai H, Ogawa Y, Suga S, Nakanishi S, Imura H: Organization, structure, chromosomal assignment, and expression of the gene encoding the human ET-A receptor. J Biol Chem 1992 Sep 15; 267(26):18797-804

[37] Takeda M, Breyer MD, Noland TD, Homma T, Hoover RL, Inagami T, Kon V: ET-1 receptor antagonist: effects on ET- and cyclosporine-treated mesangial cells. Kidney Int 1992 Jun; 41(6): 1713-9

[38] Kohan DE, Padilla E: Osmolar regulation of ET-1 production by rat inner medullary collecting duct. J Clin Invest 1993 Mar; 91(3): 1235-40

[39] Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2(50)

[40] Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 732-5

[41] Kon V, Fogo A ET: potential role in development and disease. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 876-80

[42] Kon V, Fogo A ET: potential role in development and disease. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 876-80

[43] Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2

[44] Kon V, Fogo A ET: potential role in development and disease.Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 876-80

[45] Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V: Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

[46] Ozaki S, Ohwaki K, Ihara M, Fukuroda T, Ishikawa K, Yano M: ETB-mediated regulation of extracellular levels of ET-1 in cultured human endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1995 Apr 17; 209(2): 483-9

[47] Sokolovsky M,Galron R,Kloog Y, Bdolah A, Indig F E, Blumenberg S, Fleminger G: ET are more sensitive than sarafotoxin to neutral endopeptidase: possible physiological significance. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 4702-4706

[48] Murphy LJ, Greenhough KJ, Turner AJ: Processing and metabolism of ET peptides by porcine lung membranes. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22 Suppl 8: 94-7

[49] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR: Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[50] Sessa WC, Kaw S, Zembowicz A, Anggard E, Hecker M, Vane JR: Human polymorphonuclear leukocytes generate and degrade ET-1 by two distinct neutral proteases. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 34-8

[51] Patrignani P, Del Maschio A, Bazzoni G, Daffonchio L, Hernandez A, Modica R, Montesanti L, Volpi D, Patrono C, Dejana E: Inactivation of ET by polymorphonuclear leukocyte-derived lytic enzymes Blood 1991 Nov 15; 78(10): 2715-20

[52] Konishi F, Okada Y, Takaoka M, Gariepy CE, Yanagisawa M, Matsumura Y.Role of ET ET(B) receptors in the renal hemodynamic and excretory responses to big ET-1. Eur J Pharmacol 2002 Sep 13; 451(2): 177-84

[53] Benigni A, Remuzzi G ET antagonists. Lancet 1999 Jan 9; 353(9147):133-8

[54] Samson WK, Skala KD, Alexander B, Huang FL: Possible neuroendocrine actions of ET-3. Endocrinology 1991 Mar; 128(3): 1465-73

55 Xu L, Liu P, Yan D: Study on the relationship between perinatal hypoxia and concentration of endothelin-1 in amniotic fluid. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 1999 Oct; 34 (10): 591-3

[56] Goligorsky MS, Tsukahara H, Magazine H, Andersen TT, Malik AB, Bahou WF: Termination of ET signaling: role of nitric oxide. J Cell Physiol 1994 Mar; 158(3): 485-94

[57] Ando K, Hirata Y, Takei Y, Kawakami M, Marumo F: Second ET-1-like immunoreaktivity in human urine. Nephron 1991; 57(1): 36-9

[58] Berbinschi A, Ketelslegers JM: ET in urine. Lancet 1989 Jul 1; 2(8653): 46

[59] Worgall S, Manz F, Kleschin K, Feth F, Rascher W: Elevated urinary excretion of ET-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow rate. Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 331-7

[60] Battistini B, Brown M, Vane JR: Selective proteolitic activation and degradation of ETs and big ETs in parenchymal strips of the guinea-pig lung. Biochem Biophys Res Commun 1995 Feb 15; 207(2): 675-81

[61] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[62] Fukuroda T, Kobayashi M, Ozaki S, Yano M, Miyauchi T, Onizuka M, Sugishita Y, Goto K, Nishikibe M: ET receptor subtypes in human versus rabbit pulmonary arteries. J Appl Physiol 1994 May; 76(5): 1976-82

[63] Pernow J, Boutier JF, Franco-Cereceda A, Lacroix JS, Matran R, Lundberg JM: Potent selective vasoconstrictor effects of ET in the pig kidney in vivo. Acta Physiol Scand 1988 Dec; 134(4): 573-4

[64] De Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR: Pressor effects of circulating ET are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. Proc Natl Acad Sci U S A 1988 Dec; 85(24): 9797-800

[65] Buchan KW, Magnusson H, Rabe KF, Sumner MJ, Watts IS: Characterisation of the ET receptor mediating contraction of human pulmonary artery using BQ123 and Ro 46-2005. Eur J Pharmacol 1994 Aug 1; 260(2-3): 221-6

[66] Sudjarwo SA, Hori M, Takai M, Urade Y, Okada T, Karaki H: A novel subtype of ET B receptor mediating contraction in swine pulmonary vein. Life Sci 1993; 53(5): 431-7

[67] Weitzberg E, Ahlborg G, Lundberg JM: Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of ET-1 in human splanchnic and renal tissues. Biochem Biophys Res Commun 1991 Nov 14; 180(3): 1298-303

[68] Pons F, Touvay C, Lagente V, Mencia-Huerta JM, Braquet P: Bronchopulmonary and pressor activities of ET-1 (ET-1), ET-2, ET-3, and big ET-1 in the guinea pig. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 326-8

[69] Simonson MS, Dunn MJ ET. Pathways of transmembrane signaling. Hypertension 1990 Feb; 15(2 Suppl): I5-12

[70] Niranjan V, Telemaque S, deWit D, Gerard RD, Yanagisawa M: Systemic hypertension induced by hepatic overexpression of human prepro ET-1 in rats. J Clin Invest 1996 Nov 15; 98(10): 2364-72

[71] Spieker LE, Flammer AJ, Lüscher TF: The vascular endothelium in hypertension. Handb Exp Pharmacol. 2006;(176 Pt 2):249-83

[72] Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V : Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

[73] Vittori E, Marini M, Fasoli A, De Franchis R, Mattoli S: Increased expression of ET in bronchial epithelial cells of asthmatic patients and effect of corticosteroids. Am Rev Respir Dis 1992 Nov; 146(5 Pt 1): 1320-5

[74] Mattoli S, Mezzetti M, Riva G, Allegra L, Fasoli A: Specific binding of ET on human bronchial smooth muscle cells in culture and secretion of ET-like material from bronchial epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1990 Aug; 3(2): 145-51

[75] Ehrenreich H, Anderson RW, Fox CH, Rieckmann P, Hoffman GS, Travis WD, Coligan JE, Kehrl JH, Fauci AS: ETs, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. J Exp Med 1990 Dec 1; 172(6): 1741-8

[76] Visner GA, Staples ED, Chesrown SE, Block ER, Zander DS, Nick HS: Isolation and maintenance of human pulmonary artery endothelial cells in culture isolated from transplant donors. Am J Physiol 1994 Oct; 267(4 Pt 1): 406-13

[77] Kadowitz PJ, McMahon TJ, Hood JS, Feng CJ, Minkes RK, Dyson MC: Pulmonary vascular and airway responses to ET-1 are mediated by different mechanisms in the cat. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 374-7

[78] Hay DW, Hubbard WC, Undem BJ: ET-induced contraction and mediator release in human bronchus. Br J Pharmacol 1993 Sep; 110(1): 392-8

[79] Hay DW, Luttmann MA, Hubbard WC, Undem BJ: ET receptor subtypes in human and guinea-pig pulmonary tissues. Br J Pharmacol 1993 Nov; 110(3): 1175-83

[80] Davenport AP, O'Reilly G, Molenaar P, Maguire JJ, Kuc RE, Sharkey A, Bacon CR, Ferro A: Human ET receptors characterized using reverse transcriptase-polymerase chain reaction, in situ hybridization, and subtype-selective ligands BQ123 and BQ3020: evidence for expression of ETB receptors in human vascular smooth muscle. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22 Suppl 8: 22-5

[81] Fukuroda T, Kobayashi M, Ozaki S, Yano M, Miyauchi T, Onizuka M, Sugishita Y, Goto K, Nishikibe M: ET receptor subtypes in human versus rabbit pulmonary arteries. J Appl Physiol 1994 May; 76(5): 1976-82

[82] Buchan KW, Magnusson H, Rabe KF, Sumner MJ, Watts IS: Characterisation of the ET receptor mediating contraction of human pulmonary artery using BQ123 and Ro 46-2005. Eur J Pharmacol 1994 Aug 1; 260(2-3): 221-6

[83] Satoh M, Shimura S, Ishihara H, Nagaki M, Sasaki H, Takishima T: ET-1 stimulates chloride secretion across canine tracheal epithelium. Respiration 1992; 59(3): 145-50

[84] Tamaoki J, Kanemura T, Sakai N, Isono K, Kobayashi K, Takizawa T: ET stimulates ciliary beat frequency and chloride secretion in canine cultured tracheal epithelium. Am J Respir Cell Mol Biol 1991 May; 4(5): 426-31

[85] Noveral JP, Rosenberg SM, Anbar RA, Pawlowski NA, Grunstein MM: Role of ET-1 in regulating proliferation of cultured rabbit airway smooth muscle cells. Am J Physiol 1992 Sep; 263(3 Pt 1): 317-24

[86] Malarkey K, Chilvers ER, Lawson MF, Plevin R: Stimulation by ET-1 of mitogen-activated protein kinases and DNA synthesis in bovine tracheal smooth muscle cells. Br J Pharmacol 1995 Oct; 116(4): 2267-73

[87] Tomlinson PR, Wilson JW, Stewart AG: Inhibition by salbutamol of the proliferation of human airway smooth muscle cells grown in culture. Br J Pharmacol 1994 Feb; 111(2): 641-7

[88] Zamora MA, Dempsey EC, Walchak SJ, Stelzner TJ: BQ123, an ETA receptor antagonist, inhibits ET-1-mediated proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1993 Oct; 9(4): 429-33

[89] Morita T, Kurihara H, Yoshizumi M, Maemura K, Sugiyama T, Nagai R, Yazaki Y: Human polymorphonuclear leukocytes have dual effects on ET-1: the induction of ET-1 mRNA expression in vascular endothelial cells and modification of the ET-1 molecule. Heart Vessels 1993; 8(1): 1-6

[90] Ohlstein EH, Arleth A, Ezekiel M, Horohonich S, Ator MA, Caltabiano MM, Sung CP: Biosynthesis and modulation of ET from bovine pulmonary arterial endothelial cells. Life Sci 1990; 46(3): 181-8

[91] Campbell AM, Vignola AM, Chanez P, Godard P, Bousquet J: Low-affinity receptor for IgE on human bronchial epithelial cells in asthma. Immunology 1994 Aug; 82(4): 506-8

[92] Nakano J, Takizawa H, Ohtoshi T, Shoji S, Yamaguchi M, Ishii A, Yanagisawa M, Ito K: Endotoxin and pro-inflammatory cytokines stimulate ET-1 expression and release by airway epithelial cells. Clin Exp Allergy 1994 Apr; 24(4): 330-6

[93] Nakano Y, Tasaka S, Saito F, Yamada W, Shiraishi Y, Ogawa Y, Koh H, Hasegawa N, Fujishima S, Hashimoto S, Ishizaka A.Endothelin-1 level in epithelial lining fluid of patients with acute respiratory distress syndrome.Respirology. 2007 Sep;12(5):740-3

[94] Druml W, Steltzer H, Waldhausl W, Lenz K, Hammerle A, Vierhapper H, Gasic S, Wagner OF: ET-1 in adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1993 Nov; 148(5): 1169-73

[95] Langleben D, DeMarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ: ET-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1993 Dec; 148(6 Pt 1): 1646-50

[96] Huribal M, Cunningham ME, D'Aiuto ML, Pleban WE, McMillen MA: ET-1 and prostaglandin E2 levels increase in patients with burns. J Am Coll Surg 1995 Mar; 180(3): 318-22

[97] Ishibashi M, Ito N, Fujita M, Furue H, Yamaji T: ET-1 as an aggravating factor of disseminated intravascular coagulation associated with malignant neoplasms. Cancer 1994 Jan 1; 73(1): 191-5

[98] Ihara Y, Sagawa N, Hasegawa M, Okagaki A, Li XM, Inamori K, Itoh H, Mori T, Saito Y, Shirakami G: Concentrations of ET-1 in maternal and umbilical cord blood at various stages of pregnancy. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 443-5

[99] Weitzberg E, Lundberg JM, Rudehill A: Elevated plasma levels of ET in patients with sepsis syndrome. Circ Shock 1991 Apr; 33(4): 222-7

[100] Schmeck J, Koch T, Häusssle A; Rothfischer W, Neuhof H, van Ackeern K: ET-1 induced pulmonary edema is no caused by enhanced capillary permeability in blood free perfused rabbit lungs. App. Cardiopul. Pathophysol. 1997 Abstract

[101] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[102] Nir A, Clavell AL, Heublein D, Aarhus LL, Burnett JC: Acute hypoxia and endogenous renal ET. J Am Soc Nephrol 1994 May; 4(11): 1920-4

[103] Tekin N, Dinleyici EC, Aksit MA, Kural N, Erol K.:Plasma and urinary Endothelin-1 concentrations in asphyxiated newbors.Neuro Endocrinol Lett. 2007 Jun 12;28(3):284-288 [Epub ahead of print]

[104] Cacoub P, Dorent R, Nataf P, Carayon A: ET-1 in pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993 Dec 23; 329(26): 1967-8

[105] Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D: Increased plasma ET-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? Ann Intern Med 1991 Mar 15; 114(6): 464-9

[106] Cacoub P, Dorent R, Maistre G, Nataf P, Carayon A, Piette C, Godeau P, Cabrol C, Gandjbakhch I: ET-1 in primary pulmonary hypertension and the Eisenmenger syndrome. Am J Cardiol 1993 Feb 15; 71(5): 448-50

[107] Cody RJ: The potential role of ET as a vasoconstrictor substance in congestive heart failure. Eur Heart J 1992 Nov;13(11):1573-8

[108] Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, Black CM: Circulating ET-1 levels in systemic sclerosis subsets—a marker of fibrosis or vascular dysfunction? J Rheumatol 1994 Oct; 21(10): 1838-44

[109] Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D: Increased plasma ET-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? Ann Intern Med 1991 Mar 15; 114(6): 464-9

[110] Cacoub P, Dorent R, Maistre G, Nataf P, Carayon A, Piette C, Godeau P, Cabrol C, Gandjbakhch I: ET-1 in primary pulmonary hypertension and the Eisenmenger syndrome. Am J Cardiol 1993 Feb 15; 71(5): 448-50

[111] Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D: Increased plasma ET-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? Ann Intern Med 1991 Mar 15; 114(6): 464-9

[112] Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ: Expression of ET-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. N Engl J Med 1993 Jun 17; 328(24): 1732-9

[113] Cody RJ: The potential role of ET as a vasoconstrictor substance in congestive heart failure. Eur Heart J 1992 Nov; 13(11): 1573-8

[114] Tsutamoto T, Wada A, Maeda Y, Adachi T, Kinoshita M: Relation between ET-1 spillover in the lungs and pulmonary vascular resistance in patients with chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 1994 May; 23(6): 1427-33

[115] Okada M, Yamashita C, Okada M, Okada K: Role of ET-1 in beagles with dehydromonocrotaline-induced pulmonary hypertension. Circulation 1995 Jul 1; 92(1): 114-9

[116] Arcot SS, Lipke DW, Gillespie MN, Olson JW: Alterations of growth factor transcripts in rat lungs during development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. Biochem Pharmacol 1993 Sep 14; 46(6): 1086-91

[117] Teerlink JR, Loffler BM, Hess P, Maire JP, Clozel M, Clozel JP : Role of ET in the maintenance of blood pressure in conscious rats with chronic heart failure. Acute effects of the ET receptor antagonist Ro 47-0203 (bosentan). Circulation 1994 Nov;90(5):2510-8

[118] Truog WE, Pallotto E, Clark P, Banks B, Kaftan HA, Ekekezie II, Norberg M, Ballard RA: Interaction of endogenous ET-1 and inhaled nitric oxide in term and preterm infants. Clin Sci (Lond) 2002 Aug; 103 Suppl 48: 294-297

[119] Consensus Conference: Inhaled nitric oxide therapy in neonates and children: reaching a European consensus. Intensive Care Med 2004; 30: 372-380

[120] Raposo-Sonnenfeld I, Otero-Gonzalez I, Blanco-Aparicio M, Ferrer-Barba A, Medrano-Lopez C.: Treatment with sildenafil, bosentan, or both in children and young people with idiopathic pulmonary arterial hypertension and Eisenmenger's syndrome. Rev Esp Cardiol. 2007 Apr;60(4):366-72

[121]Perez-Zoghbi JF, Sanderson MJ.: Endothelin-induced contraction of bronchiole and pulmonary arteriole smooth muscle cells is regulated by intracellular Ca2+ oscillations and Ca2+ sensitization Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jul 6; [Epub ahead of print].

[122] Sofia M, Mormile M, Faraone S, Alifano M, Zofra S, Romano L, Carratu L: Increased ET-like immunoreactive material on bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma and patients with interstitial lung disease. Respiration 1993; 60(2): 89-95

[123] Sofia M, Mormile M, Faraone S, Carratu P, Alifano M, Di Benedetto G, Carratu L: Increased 24-hour ET-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respiration 1994; 61(5): 263-8

[124] Peacock AJ, Dawes KE, Shock A, Gray AJ, Reeves JT, Laurent GJ: ET-1 and ET-3 induce chemotaxis and replication of pulmonary artery fibroblasts. Am J Respir Cell Mol Biol 1992 Nov; 7(5): 492-9

[125] Kahaleh MB: ET, an endothelial-dependent vasoconstrictor in scleroderma. Enhanced production and profibrotic action. Arthritis Rheum 1991 Aug; 34(8): 978-83

[126] Sofia M, Mormile M, Faraone S, Alifano M, Zofra S, Romano L, Carratu L: Increased ET-like immunoreactive material on bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma and patients with interstitial lung disease. Respiration 1993; 60(2): 89-95

[127] Uguccioni M, Pulsatelli L, Grigolo B, Facchini A, Fasano L, Cinti C, Fabbri M, Gasbarrini G, Meliconi R: ET-1 in idiopathic pulmonary fibrosis. J Clin Pathol 1995 Apr; 48(4): 330-4

[128] Vancheeswaran R, Magoulas T, Efrat G, Wheeler-Jones C, Olsen I, Penny R, Black CM: Circulating ET-1 levels in systemic sclerosis subsets--a marker of fibrosis or vascular dysfunction? J Rheumatol 1994 Oct; 21(10): 1838-44

[129] Kawaguchi Y, Suzuki K, Hara M, Hidaka T, Ishizuka T, Kawagoe M, Nakamura H: Increased ET-1 production in fibroblasts derived from patients with systemic sclerosis. Ann Rheum Dis 1994 Aug; 53(8): 506-10

[130] Kim KK, Chapman HA.: Endothelin-1 as initiator of epithelial-mesenchymal transition: potential new role for endothelin-1 during pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol. 2007 Jul;37(1):38-47.

[131] Ferri C, Pittoni V, Piccoli A, Laurenti O, Cassone MR, Bellini C, Properzi G, Valesini G, De Mattia G, Santucci A: Insulin stimulates ET-1 secretion from human endothelial cells and modulates its circulating levels in vivo. J Clin Endocrinol Metab 1995 Mar; 80(3): 829-35

[132] Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Kurihara N, Takeda T: C-type natriuretic peptide inhibits thrombin- and angiotensin II-stimulated ET release via cyclic guanosine 3',5'-monophosphate. Hypertension 1992 Apr; 19(4): 320-5

[133] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR: Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[134] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[135] Grone HJ, Laue A, Fuchs E: Localization and quantification of [125I]-ET binding sites in human fetal and adult kidneys--relevance to renal ontogeny and pathophysiology. Klin Wochenschr 1990 Aug 2; 68(15): 758-67

[136] Hunley TE, Iwasaki S, Homma T, Kon V: Nitric oxide and ET in pathophysiological settings. Pediatr Nephrol 1995 Apr; 9(2): 235-44

[137] Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S: Cloning and expression of a cDNA encoding an ET receptor. Nature 1990 Dec 20-27; 348(6303): 730-2

[138] MacCumber MW, Ross CA, Glaser BM, Snyder SH ET: visualization of mRNAs by in situ hybridization provides evidence for local action. Proc Natl Acad Sci U S A 1989 Sep; 86(18): 7285-9

[139] Ferri C, Pittoni V, Piccoli A, Laurenti O, Cassone MR, Bellini C, Properzi G, Valesini G, De Mattia G, Santucci A Insulin stimulates ET-1 secretion from human endothelial cells and modulates its circulating levels in vivo. J Clin Endocrinol Metab 1995 Mar; 80(3): 829-35

[140] Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Yazaki Y: Hemodynamic shear stress stimulates ET production by cultured endothelial cells Biochem Biophys Res Commun 1989 Jun 15; 161(2): 859-64

[141] Kohan DE, Padilla E: Osmolar regulation of ET-1 production by rat inner medullary collecting duct. J Clin Invest 1993 Mar; 91(3): 1235-40

[142] Oishi R, Nonoguchi H, Tomita K, Marumo F: ET-1 inhibits AVP-stimulated osmotic water permeability in rat inner medullary collecting duct. Am J Physiol 1991 Dec; 261(6 Pt 2): 951-6

[143] Tomita K, Nonoguchi H, Marumo F: Effects of ET on peptide-dependent cyclic adenosine monophosphate accumulation along the nephron segments of the rat. J Clin Invest 1990 Jun; 85(6): 2014-8

[144] Clavell AL, Stingo AJ, Margulies KB, Brandt RR, Burnett JC: Role of ET receptor subtypes in the in vivo regulation of renal function. Am J Physiol 1995 Mar; 268(3 Pt 2): 455-60

[145] Chin A, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effects of tezosentan, a dual ET receptor antagonist, on the cardiovascular and renal systems of neonatal piglets. J Pediatr Surg 2001 Dec; 36(12): 1824-8

[146] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[147] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[148] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[149] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[150] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[151] Morabito E, Corsico N, Serafini S, Martelli EA: Elevated urinary excretion of ETs in streptozotocin diabetic rats. Life Sci 1994; 54(11): 197-200

[152] Morabito E, Corsico N, Serafini S, Martelli EA: Elevated urinary excretion of ET in insulin-dependent diabetes mellitus: no influence of physical exercise. Acta Paediatr 1996 Sep; 85(9): 1058-61

[153] Kon V, Badr KF: Biological actions and pathophysiologic significance of ET in the kidney. Kidney Int 1991 Jul; 40(1): 1-12

[154] Hentschel M, Gildein P, Brandis M, Zimmerhackl LB: ET (ET-1) is involved in the contrast media induced nephrotoxicity in children with congenital heart disease. Clin Nephrol 1995 Jan; 43 Suppl 1: 12-5

[155] McMahon LP, Redman CW, Firth JD: Expression of the three ET genes and plasma levels of ET in pre-eclamptic and normal gestations Clin Sci (Colch) 1993 Oct; 85(4): 417-24

[156] Worgall S, Manz F, Kleschin K, Feth F, Rascher W: Elevated urinary excretion of ET-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow rate. Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 331-7

[157] Bruzzi I, Corna D, Zoja C, Orisio S, Schiffrin EL, Cavallotti D, Remuzzi G, Benigni A: Time course and localization of ET-1 gene expression in a model of renal disease progression. Am J Pathol 1997 Nov; 151(5): 1241-7

[158] Zoja C, Liu XH, Abbate M, Corna D, Schiffrin EL, Remuzzi G, Benigni A: Angiotensin II blockade limits tubular protein overreabsorption and the consequent upregulation of ET 1 gene in experimental membranous nephropathy. Exp Nephrol 1998 Mar-Apr; 6(2): 121-31

[159] Hocher B, Thone-Reineke C, Rohmeiss P, Schmager F, Slowinski T, Burst V, Siegmund F, Quertermous T, Bauer C, Neumayer HH, Schleuning WD, Theuring F: ET-1 transgenic mice develop glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, and renal cysts but not hypertension. J Clin Invest 1997 Mar 15; 99(6): 1380-9

[160] Anand R, Harry D, Holt S, Milner P, Dashwood M, Goodier D, Jarmulowicz M, Moore K: ET is an important determinant of renal function in a rat model of acute liver and renal failure.Gut 2002 Jan; 50(1): 111-7

[161] Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F: Urinary excretion of ET-1 in normal subjects and patients with renal disease. Kidney Int 1991 Feb; 39(2): 307-11

[162] Naruse K, Naruse M, Watanabe Y, Yoshihara I, Ohsumi K, Horiuchi J, Monzen C, Kato Y, Nakamura N, Sugino N: Molecular form of immunoreactive ET in plasma and urine of normal subjects and patients with various disease states. J Cardiovasc Pharmacol 1991; 17 Suppl 7: 506-8

[163] Roccatello D, Mosso R, Ferro M, Polloni R, De Filippi PG, Quattrocchio G, Bancale E, Cesano G, Sena LM, Piccoli G: Urinary ET in glomerulonephritis patients with normal renal function Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 323-30

[164] Worgall S, Manz F, Kleschin K, Feth F, Rascher W: Elevated urinary excretion of ET-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow rate. Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 331-7

[165] Chen HC, Guh JY, Chang JM, Tsai JC, Hwang SJ, Lai YH: Plasma and urinary ET-1 in focal segmental glomerulosclerosis. J Clin Lab Anal 2001; 15(2): 59-63

[166] Dhaun N, Ferro CJ, Davenport AP, Haynes WG, Goddard J, Webb DJ.:Haemodynamic and renal effects of endothelin receptor antagonism in patients with chronic kidney diseaseNephrol Dial Transplant. 2007 Jun 7; [Epub ahead of print]

[167] Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F: Urinary excretion of ET-1 in normal subjects and patients with renal disease. Kidney Int 1991 Feb; 39(2): 307-11

[168] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[169] Saenz de Tejada I, Mueller JD, de Las Morenas A, Machado M, Moreland RB, Krane RJ, Wolfe HJ, Traish AM: ET in the urinary bladder. I. Synthesis of ET-1 by epithelia, muscle and fibroblasts suggests autocrine and paracrine cellular regulation. J Urol 1992 Oct; 148(4): 1290-8

[170] MacCumber MW, Ross CA, Glaser BM, Snyder SH: ET: visualization of mRNAs by in situ hybridization provides evidence for local action. Proc Natl Acad Sci U S A 1989 Sep; 86(18): 7285-9

[171] Ujiie K, Terada Y, Nonoguchi H, Shinohara M, Tomita K, Marumo F: Messenger RNA expression and synthesis of ET-1 along rat nephronsegments.1: J Clin Invest 1992 Sep; 90(3): 1043-8

[172] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[173] Worgall S, Manz F, Kleschin K, Feth F, Rascher W: Elevated urinary excretion of ET-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow rate. Clin Nephrol 1994 Jun; 41(6): 331-7

[174] Ando K, Hirata Y, Takei Y, Kawakami M, Marumo F: Second ET-1-like immunoreaktivity in human urine. Nephron 1991; 57(1): 36-9

[175] Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12

[176] Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F: Urinary excretion of ET-1 in normal subjects and patients with renal disease. Kidney Int 1991 Feb; 39(2): 307-11

[177] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[178] Quaschning T, Ruschitzka F, Stallmach T, Shaw S, Morawietz H, Goettsch W,

Hermann M, Slowinski T, Theuring F, Hocher B, Luscher TF, Gassmann M. Erythropoietin-induced excessive erythrocytosis activates the tissue ET system in mice. FASEB J 2003 Feb; 17(2): 259-61

[179] Spieker LE, Hurlimann D, Ruschitzka F, Corti R, Enseleit F, Shaw S, Hayoz D, Deanfield JE, Luscher TF, Noll G: Mental stress induces prolonged endothelial dysfunction via ET-A receptors. Circulation 2002 Jun 18; 105(24): 2817-20

[180] Luscher TF, Enseleit F, Pacher R, Mitrovic V, Schulze MR, Willenbrock R, Dietz R, Rousson V, Hurlimann D, Philipp S, Notter T, Noll G, Ruschitzka F: Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial. Hemodynamic and neurohumoral effects of selective ET A (ET(A)) receptor blockade in chronic heart failure: the Heart Failure ET(A) Receptor Blockade Trial (HEAT). Circulation 2002 Nov 19; 106(21): 2666-72

[181] Philipp S, Monti J, Pagel I, Langenickel T, Notter T, Ruschitzka F, Luscher T, Dietz R, Willenbrock R: Treatment with darusentan over 21 days improved cGMP generation in patients with chronic heart failure.Clin Sci (Lond) 2002 Aug; 103 Suppl 48: 249-253

[182] Tikkanen I, Tikkanen T, Cao Z, Allen TJ, Davis BJ, Lassila M, Casley D, Johnston CI, Burrell LM, Cooper ME: Combined inhibition of neutral endopeptidase with angiotensin converting enzyme or ET converting enzyme in experimental diabetes. J Hypertens. 2002 Apr; 20(4): 599-603.

[183] Dhaun N, Ferro CJ, Davenport AP, Haynes WG, Goddard J, Webb DJ.:Haemodynamic and renal effects of endothelin receptor antagonism in patients with chronic kidney diseaseNephrol Dial Transplant. 2007 Jun 7; [Epub ahead of print]

[184] Orth SR, Esslinger JP, Amann K, Schwarz U, Raschack M, Ritz E: Nephroprotection of an ET(A)-receptor blocker (LU 135252) in salt-loaded uninephrectomized stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Hypertension 1998 Apr; 31(4): 995-1001

[185] Webb DJ, Monge JC, Rabelink TJ, Yanagisawa M ET: new discoveries and rapid progress in the clinic. Trends Pharmacol Sci 1998 Jan; 19(1): 5-8

[186] Möller JC, Thielsen B, Schaible TF, Reiss I, Kohl M, Welp T, Gortner L: Value of Myocardial hypoxia markers (creatinine kinase and ist MB-fraction, troponin-T, QT-intervals) and serum creatinine for the retrospective diagnosis of perinatal asphyxia. Biol Neonate 1998; 73: 367-374

[187] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[188] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[189] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[190] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994a May; 83(5): 468-72

[191] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[192] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[193] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[194] Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12

[195] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[196] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[197] Rascher W, Mant F, Kleschin K, Feth F, Worgall S: Endothelin excretion in children with renal diseases. Pediatr Nephrol 1992 Abstract

[198] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[199] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[200] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[201] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[202] Tekin N, Dinleyici EC, Aksit MA, Kural N, Erol K.:Plasma and urinary Endothelin-1 concentrations in asphyxiated newbors.Neuro Endocrinol Lett. 2007 Jun 12;28(3):284-288 [Epub ahead of print]

[203] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[204] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[205] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[206] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[207] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[208] Lees WE, Kalinka S, Meech J, Capper SJ, Cook ND, Kay J: Generation of human ET by cathepsin. EFEBS Lett 1990 Oct 29; 273(1-2): 99-102

[209] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[210] Vittori E, Marini M, Fasoli A, De Franchis R, Mattoli S: Increased expression of ET in bronchial epithelial cells of asthmatic patients and effect of corticosteroids. Am Rev Respir Dis 1992 Nov; 146(5 Pt 1): 1320-5

[211] Sofia M, Mormile M, Faraone S, Carratu P, Alifano M, Di Benedetto G, Carratu L: Increased 24-hour ET-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respiration 1994; 61(5): 263-8

[212] Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR Role of neutral endopeptidase in the metabolism of ET. Hypertension 1992 Jul; 20(1): 89-95

[213] Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.. Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12; [Epub ahead of print]

[214] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[215] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[216] Oishi R, Nonoguchi H, Tomita K, Marumo F: ET-1 inhibits AVP-stimulated osmotic water permeability in rat inner medullary collecting duct. Am J Physiol 1991 Dec; 261(6 Pt 2): 951-6

[217] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[218] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[219] Sulyok E, Ertl T, Adamovits K, Hovanyovszky S, Rascher W: Urinary ET excretion in the neonate: influence of maturity and perinatal pathology. Pediatr Nephrol 1993 Dec; 7(6): 881-5

[220] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[221] Tekin N, Dinleyici EC, Aksit MA, Kural N, Erol K.:Plasma and urinary Endothelin-1 concentrations in asphyxiated newbors.Neuro Endocrinol Lett. 2007 Jun 12;28(3):284-288 [Epub ahead of print]

[222] Sofia M, Mormile M, Faraone S, Carratu P, Alifano M, Di Benedetto G, Carratu L: Increased 24-hour ET-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respiration 1994; 61(5): 263-8

[223] Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.. Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12; [Epub ahead of print]

[224] Mattyus I, Zimmerhackl LB, Schwarz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tulassay T: Renal excretion of ET in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 1994 May; 83(5): 468-72

[225] Goddard J, Johnston NR, Cumming AD, Webb DJ.:Fractional urinary excretion of endothelin-1 is reduced by acute ETB receptor blockade.Am J Physiol Renal Physiol. 2007 Sep 12