

Aus dem Institut für Physiologie  
(Abteilung Herz-Kreislaufphysiologie)  
Heinrich-Heine Universität-Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. J. Schrader

**Die Kardioprotektion durch Sevofluran gegen den Reperfusionsschaden  
nach vorangegangenem kardioplegischem Herzstillstand ist unabhängig  
von der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung**

**Untersuchung an isolierten Rattenherzen**

**Dissertation**

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**

**Der medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine- Universität  
Düsseldorf**

**vorgelegt von**

**Anna You**

**2008**

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

**gez.:** Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf  
Dekan  
**Referent:** Prof. Dr. med. Volker Thämer  
**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

**Für meine Eltern**

## **Inhalt**

1.	Einleitung.....	1
2.	Material und Methodik.....	6
2.1	Präparation und Messungen.....	6
2.2	Versuchsprotokoll.....	8
2.3	Datenanalyse und Statistik.....	10
3.	Ergebnisse.....	12
3.1	Enddiastolischer Druck.....	13
3.2	Myokardfunktion.....	16
3.3	Koronarvaskulärer Widerstand.....	17
3.4	Infarktgröße.....	19
4.	Diskussion.....	21
	Literaturverzeichnis.....	30
	Danksagung.....	34
	Lebenslauf.....	35
	Zusammenfassung.....	37

## **1. Einleitung**

Eine Myokardischämie, d.h. die Unterbrechung der Durchblutung am Herzen, kann zu schwerwiegenden Folgen wie Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen führen. Schon nach 20 Minuten kann ein Verschluss einer Koronararterie einen irreversiblen Zellschaden zur Folge haben.

Eine geplante Myokardischämie tritt im klinischen Alltag sowohl bei einer Ballondilatation einer stenosierten Koronararterie (regionale Myokardischämie) als auch bei der Anwendung der extrakorporalen Zirkulation (Herzlungenmaschine) auf, die für Operationen am offenen Herzen routinemässig eingesetzt wird (globale Myokardischämie). Dabei handelt es sich um koronare Bypassoperationen und Operationen zur Wiederherstellung der Herzklappenfunktion oder Herzklappenersatz. Alle Operationen am offenen Herzen gehen mit einer Ischämie des gesamten Herzens und anschliessender Reperfusion einher.

Zwar ist die letztendliche Wiederherstellung der Koronardurchblutung für das Überleben der Kardiomyozyten zwingend notwendig, doch kann paradoxerweise gerade die Reperfusion zu einer Vergrösserung des durch die transiente Myokardischämie entstandenen Myokardschadens führen. Demnach muss man zwischen dem Ischämieschaden, also dem Anteil am Gesamtschaden, der sich während der fehlenden Perfusion selbst entwickelt und dem Reperfusionsschaden, der während und durch die Reperfusion selbst ausgelöst wird, unterscheiden. Der Ischämieschaden ist ein Resultat des Sauerstoffdefizits und kann durch eine Senkung des Sauerstoffbedarfs während der Ischämie reduziert werden. Dies kann sowohl durch eine Temperaturerniedrigung, durch die Verwendung einer kardioplegischen Lösung oder aber durch die Gabe eines geeigneten Anästhetikums erreicht werden. Im Gegensatz zu Wirkungen der Anästhetika gegen den Reperfusionsschaden sind anti-ischämische Effekte dieser Substanzen schon lange bekannt. Bereits 1969 beschrieben Spiekermann und Mitarbeiter eine Protektion gegen den ischämischen Schaden durch Halothan<sup>1</sup>: Die Gabe von Halothan während einer myokardialen Ischämie reduzierte die Infarktgrösse bei Hunden. Es

konnte in mehreren Untersuchungen gezeigt werden, dass Inhalationsanästhetika das Sauerstoffdefizit während einer Koronarischämie vermindern und so zu einer Reduktion des ischämischen Zellschadens führen<sup>2,3</sup>. In den zitierten Arbeiten wurden die Pharmaka jedoch schon vor oder während der Ischämie gegeben. Diese Untersuchungen erlauben daher nicht, zwischen anti-ischämischen Effekten und spezifischen Einflüssen der Inhalationsanästhetika auf den Reperfusionsschaden zu unterscheiden.

Der Reperfusionsschaden ist definiert als eine metabolische, funktionelle und strukturelle Störung bei der Wiederherstellung des Koronarflusses. Der Reperfusionsschaden kann nicht nur zur raschen Entwicklung einer Myokardnekrose (früher letaler Reperfusionsschaden) sondern auch zu Reperfusionarrhythmien, zu einer reversiblen postischämischen myokardialen Dysfunktion („myokardiales Stunning“) oder aber zu einem „No-reflow“ Phänomen führen, bei dem es trotz Wiedereröffnung der zuvor verschlossenen Koronararterie aufgrund gestörter Mikrozirkulation zu keiner Wiederherstellung der Koronarperfusion kommt (verzögerter letaler Reperfusionsschaden)<sup>4</sup>.

Interessanterweise und von potentiell grosser klinischer Bedeutung ist die Beobachtung, dass der Reperfusionsschaden durch Modifizierung der Reperusionsbedingungen vermindert werden kann<sup>5</sup>. In verschiedenen experimentellen Studien hat sich gezeigt, dass unter anderem durch die Verwendung eines Inhalationsanästhetikums der Reperfusionsschaden verringert werden kann<sup>6-8</sup>.

Schlack und Mitarbeiter beschrieben Mitte der 90er Jahre erstmalig spezifische Effekte von Halothan gegen den Reperfusionsschaden<sup>9</sup>. An isoliert perfundierten Rattenherzen war die durch Halothan ausgelöste kardioprotektive Wirkung stärker ausgeprägt, wenn die Substanz erst zum Zeitpunkt der Reperfusion gegeben wurde. Dies galt sowohl im Vergleich zu einer Gabe vor der Ischämie als auch im Vergleich zur Applikation während der Ischämie. Diese Beobachtung entspricht der klassischen Definition des Reperfusionsschadens, dass nämlich die Zellnekrose durch Modifikation der Reperusionsbedingungen reduziert werden kann. Versuche an Kaninchenherzen ergaben das gleiche Ergebnis nach regionaler Myokard-

ischämie *in vivo* <sup>7</sup>. Unsere Arbeitsgruppe konnte ausserdem zeigen, dass neben der Gabe von Halothan auch andere neuere volatile Anästhetika, wie zum Beispiel Sevofluran und Desfluran, *in vitro* und *in vivo* den Reperfusionsschaden sowohl nach globaler als auch nach regionaler Myokardischämie reduzieren <sup>6,8</sup>.

Wie bereits oben dargestellt, tragen sowohl der durch die Ischämie verursachte Zellschaden als auch der durch die Reperfusion verursachte Zellschaden zum Gesamtschaden nach einer vorübergehenden Ischämie bei. Beide Anteile scheinen aber nicht ganz unabhängig voneinander beeinflussbar zu sein.

Zur Reduktion des ischämischen Schadens wird im klinischen Alltag bei Herzoperationen, die unter Einsatz der Herzlungenmaschine durchgeführt werden, das Herz durch Perfusion der Koronararterien mit kardioplegischer Lösung stillgestellt. Dabei kommen verschiedene kardioplegische Lösungen zum Einsatz.

Es kann zwischen “extrazellulären” und “intrazellulären” kardioplegischen Lösungen unterschieden werden. “Extrazelluläre” Lösungen enthalten Natriumionen in einer Konzentration von mehr als 70 mmol/l, Kaliumionen in einer Konzentration von 5-30 mmol/l sowie eine normale Blutkonzentration an Kalzium [z.B. St. Thomas Hospital kardioplegische Lösung (STH)]. “Intrazelluläre” Lösungen enthalten Natriumionen in einer Konzentration von weniger als 70 mmol/l, Kaliumionen in einer Konzentration von 3-125 mmol/l und entweder kein Kalzium [z.B. University of Wisconsin kardioplegische Lösung (UW)] oder aber eine sehr geringe Kalziumkonzentration [Bretschneider’s kardioplegische Lösung (HTK)] <sup>10</sup>. Interessanterweise scheint die Reduktion des Reperfusionsschaden durch ein Inhalationsanästhetikum jedoch in einem stärkerem Maße von der Zusammensetzung der kardioplegischen Lösung abzuhängen, mit der das Herz vorher stillgelegt wurde <sup>11,12</sup>. Jedenfalls gab es in unserem Labor in diesem Zusammenhang eine Reihe von Hinweisen: An isolierten Rattenherzen konnte gezeigt werden, dass die durch die Gabe von Halothan zum Zeitpunkt der frühen Reperfusion induzierte Kardioprotektion von der Kalziumkonzentration der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung abhängig ist <sup>11</sup>. In einer isolierten

Rattenherzpräparation führte die zusätzliche Applikation von Enfluran, Isofluran, Sevofluran und Desfluran in der frühen Reperfusion nach kardioplegischem Herzstillstand durch HTK-Lösung nach Bretschneider zu einer im Vergleich zur alleinigen Gabe von HTK vor globaler Ischämie weiteren Verbesserung der postischämischen Funktion und einer zusätzlichen Reduktion des Zellschadens. Im Gegensatz dazu hatte Halothan überraschenderweise keinen weiteren Einfluss auf die funktionelle Erholung und den Zellschaden nach Anwendung der kardioplegischen Bretschneider-Lösung (HTK). Hingegen führte Halothan nach Gabe einer modifizierten HTK-Lösung mit einer 10-fach höheren Kalziumkonzentration (0,15 mmol/l) zu einer Reduktion der Kreatinkinasefreisetzung während der Reperfusion als Mass für den Zellschaden und zu einer Erhöhung des postischämischen Sauerstoffverbrauchs, was auf einen grösseren Anteil vitaler Kardiomyozyten schliessen lässt <sup>11</sup>. Die funktionelle Erholung (myokardiales Stunning) wurde allerdings nicht verbessert. Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass die Protektion durch Halothan von der Kalziumkonzentration der kardioplegischen Lösung abhängig ist und möglicherweise auf einen spezifischen Mechanismus zurückzuführen ist. An anoxisch-reperfundierten Kardiomyozyten konnte gezeigt werden, dass Halothan durch Hemmung des Kalzium-abhängigen Kalziumkanals (Ryanodin-Rezeptor) die Kalziumoszillationen am sarkoplasmatischen Retikulum reduziert und hierdurch die reoxygenationsbedingte Hyperkontraktur aufhebt <sup>13</sup>. Diese Beobachtung scheint eine naheliegende Erklärung für die protektive Wirkung von Halothan gegen den Reperfusionsschaden zu sein.

Sevofluran ist ein vergleichsweise neues volatiles Anästhetikum, das günstige Eigenschaften im Hinblick auf seinen Einsatz zur Anästhesie von Patienten im Rahmen von herzchirurgischen Operationen aufweist. Es konnte gezeigt werden, dass im Gegensatz zu einer Narkose mit dem intravenösen Anästhetikum Propofol die Gabe von Sevofluran zur Anästhesie von Patienten, die sich einem Aortenklappenersatz- oder einer koronaren Bypassoperation unterziehen mussten, zu einer verbesserten postoperativen myokardialen Funktion und zu einer Verringerung des Zellschadens führte <sup>14,15</sup>.

Möglicherweise aber hängen die durch Sevofluran induzierten kardioprotektiven Effekte davon ab, welche kardioplegische Lösung zuvor eingesetzt wurde.

Aus diesen Beobachtungen leitete sich die Fragestellung für die hier vorliegenden Untersuchungen ab:

Ist die durch Sevofluran induzierte Protektion gegen den Reperfusionsschaden vom Kalziumgehalt der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung abhängig?

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurden isoliert perfundierte Rattenherzen mit drei unterschiedlichen kardioplegischen Lösungen, die zu den am meisten in Europa genutzten Lösungen in der Organtransplantation (UW) und Kardiochirurgie (HTK, STH) gehören, behandelt.

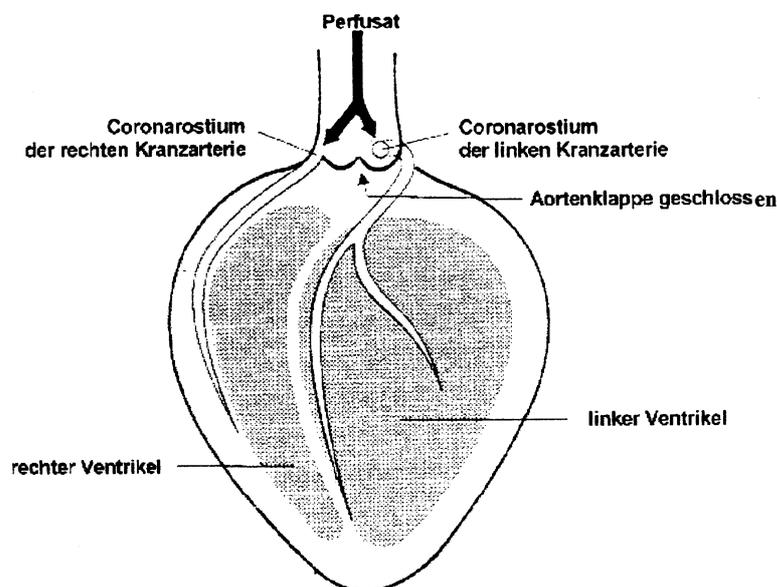
Die Herzen wurden für die gleiche Zeitdauer stillgestellt. Mit Beginn der Reperfusion wurde allen Herzen Sevofluran, das in der Reperfusionslösung gelöst war, appliziert. Als Variablen der Myokardfunktion und des Zellschadens wurden der linksventrikulär entwickelte Druck und die Infarktgröße gemessen.

Die Versuche sollten die klinische Situation einer Operation während einer Kardioplegie im Modell simulieren. Sie sollten zur Beantwortung der Frage beitragen, ob es während der Anwendung eines bestimmten Inhalationsanästhetikums von Bedeutung ist, auf welche Art das Herz zuvor stillgelegt wurde.

## 2. Material und Methodik

### 2.1 Präparation und Messungen

Die Versuche wurden an isolierten Rattenherzen ( $n = 63$ ) in einer Langendorffpräparation durchgeführt. Dazu wurden 300g bis 350g schwere männliche Wistar-Ratten in einen mit Enflurandampf gesättigten Glasbehälter überführt. Nach Erreichen eines tiefen Narkosestadiums, erkennbar am Sistieren der Spontanatmung, wurden die Herzen entnommen und auf ein Langendorff-Perfusionssystem überführt. Das Prinzip der Methode besteht darin, Blut oder eine andere, zur Erhaltung der Herztätigkeit geeignete, mit Sauerstoff angereicherte Flüssigkeit durch eine Kanüle, die in den Anfangsteil der Aorta (Aorta ascendens) eingebunden wird, herzwärts zu drücken. Dabei schließen sich infolge des retrograd gerichteten Perfusionsflusses druckabhängig die Aortenklappen - so wie beim Herzen in situ während der Diastole -, und die Flüssigkeit muß ihren Weg durch die Koronararterien nehmen (Abb.1). Die Perfusion kann entweder mit einem konstanten Druck (so wie in unseren Versuchen) oder aber mit einem konstanten Fluss erfolgen. Nach Durchlaufen des Coronargefäßsystems fließt das Perfusat dann aus dem Sinus coronarius bzw. dem eröffneten rechten Vorhof ab.



**Abb. 1:** Perfusionswege am Langendorff-Herzen (Ventral-Ansicht des Herzens).

Als Perfusionslösung wurde ein modifizierter mit Carbogen (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) oxygenierter Krebs-Henseleit-Puffer mit folgender Zusammensetzung (in mM) gewählt: NaCl 116; KCl 4,7; MgSO<sub>4</sub> 1,1; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,17; NaHCO<sub>3</sub> 24,9; CaCl<sub>2</sub> 2,52, Glucose 8,3 und Pyruvat 2,0. Die Temperatur der Perfusionslösung wurde bei 38° C konstant gehalten. Es wurde druckkonstant mit einem Perfusionsdruck von 100 cmH<sub>2</sub>O perfundiert. Die Herzfrequenz (HF) wurde mittels Ventrikelstimulation bei 375 Schlägen pro Minute, was oberhalb der Spontanfrequenz lag, konstant gehalten. Zur Messung des linksventrikulären Druckes wurde ein Latexballon (Größe Nr. 5, Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland) über eine Inzision in den linken Vorhof und die offene Mitral-Klappe in den linken Ventrikel eingeführt. Der Ballon wurde an der Spitze einer rostfreien Stahlkanüle (5,9 cm Länge) fixiert, die mit einem Druckaufnehmer (Gould P23, Cleveland, OH, USA) verbunden war. Zu Beginn eines jeden Versuches wurde der Ballon mit saliner Lösung gefüllt, so dass der linksventrikulär enddiastolische Druck (LVEDD) 10-12 mmHg betrug. Das Volumen des Ballons wurde für den Rest des Versuches konstant gehalten. Der Koronarfluss wurde mit einem Ultrasonic Doppler-Flussmeßkopf (In-Line-Flowprobe 2N, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) gemessen. Nach abgeschlossener Versuchspräparation wurde das Herz in einer Glaskammer plaziert. Während der Ischämie-Phase wurde diese Glaskammer mit Stickstoff begaster, physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, um eine Diffusion von Sauerstoff in das ischämische Myokard zu verhindern. Die Myokardtemperatur wurde während des gesamten Versuches bei 38° C konstant gehalten.

Nach einer 10-minütigen Stabilisierungsphase wurde durch eine komplette Unterbrechung des Perfusatflusses zum Herzen hin eine 30-minütige Ischämie durchgeführt. Die 7° C kalte kardioplegische Lösung wurde dem Herzen für die Dauer von zwei Minuten mit einer Flussgeschwindigkeit von 2 ml/min über eine Infusionspumpe (Modell 5003, Precidior Infors, Basel, Schweiz) für die ersten 2 Minuten der Ischämie appliziert.

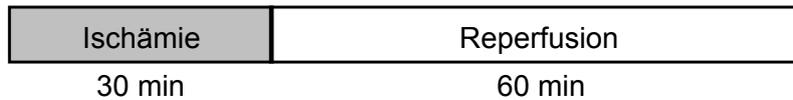
Zur Bestimmung der Infarktgröße wurde am Versuchsende das Herz eingefroren und dann nach Bestimmung des Herzgewichtes in 1 mm dicke Scheiben geschnitten.

Diese Scheiben wurden in 0.75 % gepufferter Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid Lösung (TTC) bei 37°C für die Dauer von 15 Minuten eingelegt und anschließend in 4 %iger Formaldehydlösung über 24 Stunden fixiert. Das Bild jeder einzelnen Scheibe wurde digitalisiert (StudioScan Iisi, AGFA, Leverkusen, Germany). TTC färbt NADPH-abhängig vitales Gewebe rot, während nekrotisches Myokard seine graue Farbe behält, so dass innerhalb des Risikogebietes (rechter und linker Ventrikel) vitales und nekrotisches Gewebe zu unterscheiden sind<sup>16</sup>. Die Größe der roten und grauen Areale jeder einzelnen Scheibe wurden daraufhin mittels computerassistierter Planimetrie (Sigma Scan Pro 5 computer Software, SPSS Science Software, Chicago, IL, USA) bestimmt und anschliessend die Infarktgröße errechnet. Die Infarktgröße wird als Prozent des Risikogebietes, angegeben.

## **2.2 Versuchsprotokoll**

Das Versuchsprotokoll der verschiedenen Gruppen ist in Abbildung 2 dargestellt. Die Herzen wurden randomisiert sieben Gruppen zugewiesen (jeweils n=9). In allen Gruppen folgte nach einer 10-minütigen Stabilisierungsphase eine 30-minütige Ischämie und eine 60-minütige Reperfusion. Die Kontrollgruppe wurde nicht weiter behandelt. Das Versuchsprotokoll wurde nur durchgeführt, wenn die zuvor bestimmten Qualitätskriterien [linksventrikulär entwickelter Druck (LVED) > 95 mmHg unter Ausgangsbedingungen und kein Kammerflimmern während der Stabilisationsperiode] erfüllt waren.

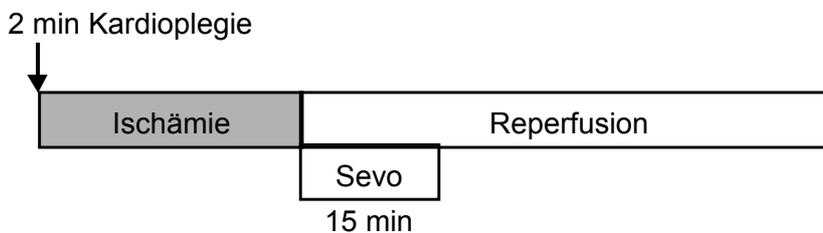
## 1. Kontrolle



## 2. Kardioplegie (UW, HTK, STH)



## 3. Kardioplegie + Sevofluran (UW+Sevo, HTK+Sevo, STH+Sevo)



**Abb.2:** Versuchsprotokoll

Drei Gruppen erhielten je eine der drei 7° C kalten kardioplegischen Lösungen [University of Wisconsin's Kardioplegie (UW), Bretschneider's Kardioplegie (HTK), St. Thomas Hospital's Kardioplegie (STH)] während der ersten zwei Minuten der Ischämie mit einem Fluß von 2 ml min<sup>-1</sup> (Infusionspumpe, Modell 5003, Precidior Infors, Basel, Schweiz). Drei weiteren Behandlungsgruppen (UW+Sevo, HTK+Sevo, STH+Sevo) wurde zusätzlich zum kardioplegischen Herzstillstand zu Beginn der Ischämie, 3.8 % Sevofluran (entspricht 1.5 MAC in der Ratte; MAC=minimale alveoläre Konzentration: alveoläre Konzentration bei der 50% aller Tiere auf den Hautschnitt nicht mehr mit Abwehrbewegungen reagieren) während der ersten 15 Minuten der Reperfusion (gemessen am Gasausfluß aus dem Oxygenator, Capnomac ultima, Datex, Helsinki, Finnland) über das Perfusat in gelöster Form appliziert. Die UW-Kardioplegie (DuPont Pharmazie, Bad Homburg, Deutschland), hatte folgende Zusammensetzung: Kaliumcarbonat (100 mmol l<sup>-1</sup>), Raffinose (30 mmol l<sup>-1</sup>), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (25 mmol l<sup>-1</sup>), MgSO<sub>4</sub> (5 mmol l<sup>-1</sup>), Adenosin

(5 mmol l<sup>-1</sup>), reduziertes Glutathion (3 mmol l<sup>-1</sup>), Dexamethason (16 mmol l<sup>-1</sup>), Allopurinol (1 mmol l<sup>-1</sup>) und Hydroxyethylstärke (50 mg l<sup>-1</sup>). Die STH-Kardioplegie enthielt NaCl (110 mmol l<sup>-1</sup>), KCl (16 mmol l<sup>-1</sup>), MgCl<sub>2</sub> (16 mmol l<sup>-1</sup>), CaCl<sub>2</sub> (1.2 mmol l<sup>-1</sup>), NaHCO<sub>3</sub> (10 mmol l<sup>-1</sup>). Die HTK-Kardioplegie (HTK-Kardioplegie, Köhler, Alsbach, Deutschland) hatte eine Zusammensetzung aus NaCl (15 mmol l<sup>-1</sup>), KCl (9 mmol l<sup>-1</sup>), K-Ketoglutarat (1 mmol l<sup>-1</sup>), MgCl<sub>2</sub> (4 mmol l<sup>-1</sup>), Histidin (180 mmol l<sup>-1</sup>), Histidin-HCl (18 mmol l<sup>-1</sup>), Tryptophan (2 mmol l<sup>-1</sup>), Mannitol (30 mmol l<sup>-1</sup>), CaCl<sub>2</sub> (0.015 mmol l<sup>-1</sup>).

### 2.3 Datenanalyse und Statistik

Der linksventrikuläre Druck und die Druckanstiegs- und Druckabfallgeschwindigkeit im linken Ventrikel (dP/dt) wurden kontinuierlich auf einem Schreiber (Gould, Mark 260, Cleveland, OH, USA) aufgezeichnet. Der linksventrikulär entwickelte Druck (LVED) ist definiert als die Differenz von LV systolischem Spitzendruck und LV enddiastolischem Druck (LVEDD). Alle hämodynamischen Daten wurden mit 500 Hertz mittels Analog-Digital-Wandler (Data Translation 2801, Marlboro, MA, USA) digitalisiert und auf einen Computer übertragen. Die globale linksventrikuläre (LV) Endsystole wurde als Zeitpunkt der maximalen LV Druckabfallgeschwindigkeit (dP/dt<sub>min</sub>) definiert und die LV Enddiastole als der Beginn des schnellen Aufstrichs des dP/dt-Signals. Die Systolendauer ist entsprechend als Zeitintervall von Enddiastole zu Endsystole definiert.

Alle Meßvariablen sind als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben. Statistische Vergleiche (SPSS, SPSS Inc., USA) wurden zwischen den Gruppen, denen zusätzlich zur kardioplegischen Lösung Sevofluran mit dem Krebs-Henseleit-Perfusat zu Beginn der Reperfusion appliziert wurde und den Gruppen, die jeweils nur die kardioplegische Lösung erhielten (UW vs. UW+Sevo, HTK vs. HTK+Sevo, STH vs. STH+Sevo), durchgeführt. Als statistischer Test zur Erfassung der hämodynamischen Variablen wurde eine Zwei-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Ließ sich dabei ein Gruppeneffekt feststellen, wurde der Student's *t*-

Test als post-hoc-Test bei jedem Messzeitpunkt angewendet. Der Vergleich aller anderen Variablen erfolgte durch einen Student's *t*-Test mit Bonferroni Korrektur. Um einen Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den anderen Gruppen (Kontrolle vs. UW, HTK, STH, und vs. UW+Sevo, HTK+Sevo, STH+Sevo) zu erfassen, wurde ein Dunnett's Test in Bezug zur Kontrollgruppe durchgeführt. Zeigte sich in diesem Test ein Gruppenunterschied in der Hämodynamik wurde ein Student's *t*-Test angewendet, um Differenzen zu den verschiedenen Zeitpunkten zu erfassen. Ein P-Wert  $< 0,05$  galt als statistisch signifikant.

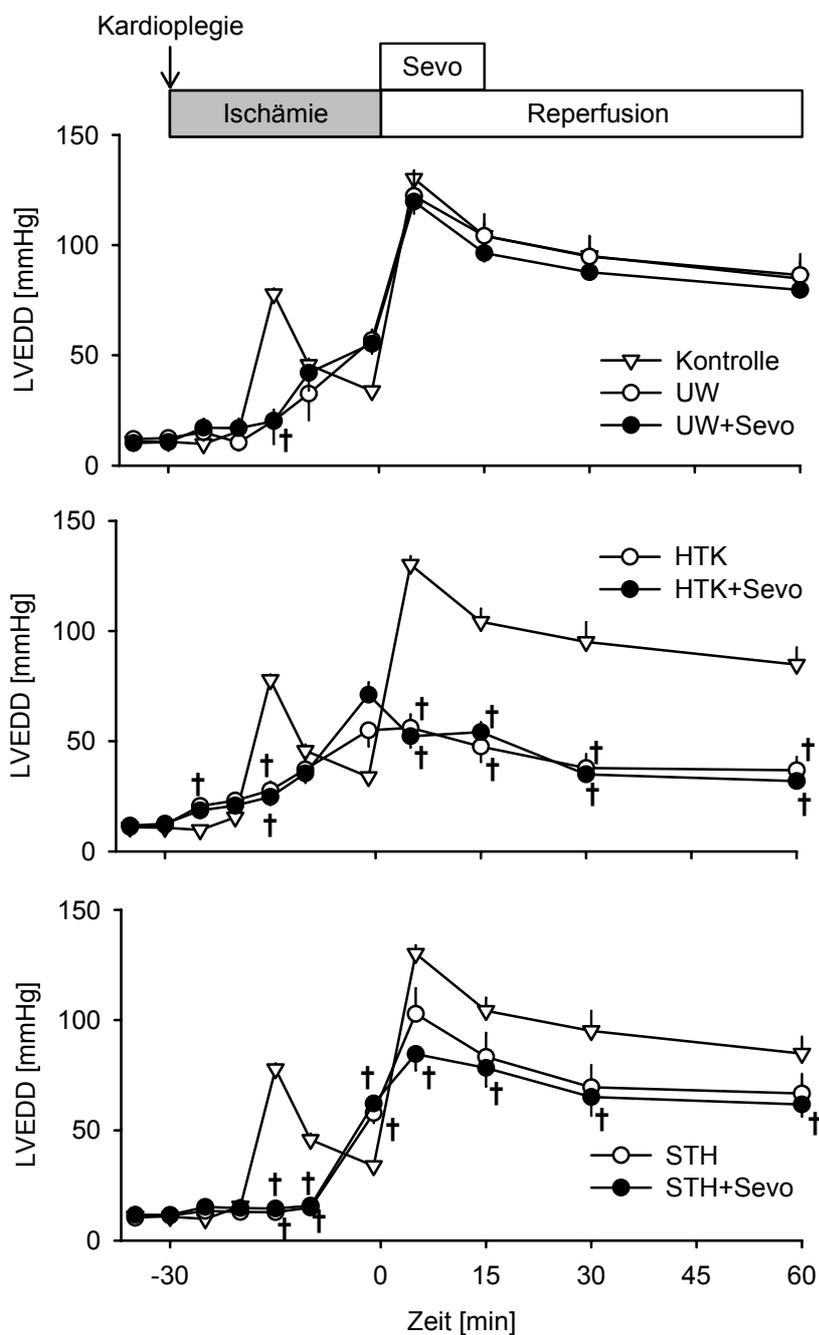
### **3. Ergebnisse**

Insgesamt dreiundsechzig Herzen gingen in die Auswertung der Ischämie-Reperfusion-Versuche ein.

Sieben Gruppen wurden gebildet (jeweils n = 9 Tiere). Drei Gruppen erhielten je eine der drei kardioplegischen Lösungen (UW, HTK, STH) zu Beginn der Ischämie. Drei anderen Gruppen (UW+Sevo, HTK+Sevo, STH+Sevo) wurde zusätzlich zur kardioplegischen Lösung Sevofluran während der ersten 15 Minuten der Reperfusion appliziert. Eine Gruppe diente als Kontrolle (Abbildung 2).

### 3.1 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck

Abbildung 3 zeigt den linksventrikulär enddiastolischen Druck während der Ischämie und Reperfusion.



**Abb. 3:** Veränderungen des linksventrikulär enddiastolischen Druckes (LVEDD) vor und während der Ischämie und Reperfusion. Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes. SEVO=Sevofluranapplikation. †P < 0,05 gegen Kontrolle.

Unter isovolumetrischen Bedingungen am isolierten Herzen ist der LVEDD ein direkter Parameter für die Myokardkontraktur. Während der Ischämie konnte man eine kontinuierliche Zunahme des LVEDD in allen Gruppen beobachten. Der Anstieg des LVEDD in der Kontrollgruppe begann jedoch früher und war auch ausgeprägter im Vergleich zu den anderen Gruppen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe verzögerte sich in den allein mit kardioplegischer Lösung behandelten Herzen die Kontraktorentwicklung während der Ischämie (Tabelle 1, Abbildung 3). Mit Beginn der Reperfusion zeigte sich in allen Gruppen eine weitere Zunahme des LVEDD (Reperfusionskontraktur). Im Vergleich zur Kontrollgruppe war jedoch sowohl in der HTK-, in der HTK+Sevo- als auch STH+Sevo-Gruppe die Zunahme des LVEDD während der Reperfusion signifikant geringer. Die UW-, UW+Sevo- als auch die STH-Gruppe ließen keinen statistischen Unterschied zur Kontrollgruppe erkennen (Tabelle 1 und Abbildung 3). Auch nach 60-minütiger Reperfusion war der LVEDD sowohl in der HTK- und HTK+Sevo-Gruppe als auch in der STH+Sevo-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe niedriger, entsprechend einer Reduktion der Reperfusionskontraktur. Im Vergleich dazu zeigten weder die UW- und UW+Sevo-Gruppe noch die STH-Gruppe eine Reduktion des LVEDD im Vergleich zur Kontrollgruppe am Ende der Reperfusion (Tabelle 1 und Abbildung 3).

LV/EDD [mm Hg]	Ausgangsbedingungen			Ischämie					Reperfusion		
	0 min	5 min	5 min	5 min	15 min	25 min	29 min	5 min	15 min	30 min	60 min
Kontrolle	11,0±0,7	10,8±0,8	9,8±0,8	77,8±2,6	36,6±2,9	33,8±3,2	130,1±3,9	104,2±6,0	95,1±9,1	84,8±7,8	
UW	12,0±1,9	12,4±2,0	15,2±3,9	20,4±10,6†	60,9±5,6	56,9±4,8	122,3±11,5	104,2±9,8	94,8±9,0	86,4±9,6	
UW+Sevo	10,2±1,0	10,6±1,0	17,2±4,1	20,1±5,3†	61,2±5,8	55,2±4,5	119,7±5,5	96,4±3,9	87,7±3,4	79,7±3,2	
HTK	11,1±1,6	12,1±1,2	20,6±6,1†	27,7±4,0†	48,2±7,0	55,0±7,4	56,2±6,1†	47,5±7,0†	37,9±6,4†	36,9±6,1†	
HTK+Sevo	11,7±0,7	12,6±0,9	18,6±3,4	24,8±3,8†	54,9±6,2	71,1±5,8	52,3±5,2†	54,2±4,5†	35,0±2,9†	32,0±2,6†	
STH	10,3±0,8	11,3±0,9	13,4±1,4	12,8±2,5†	33,9±7,6†	57,8±4,5†	102,8±11,7	83,3±11,0	69,5±10,1	66,8±8,9	
STH+Sevo	11,7±1,0	11,6±1,5	15,3±2,0	14,5±1,3†	31,4±4,7†	62,1±3,4†	84,6±7,6†	78,3±8,6†	65,1±8,5†	61,7±5,6†	

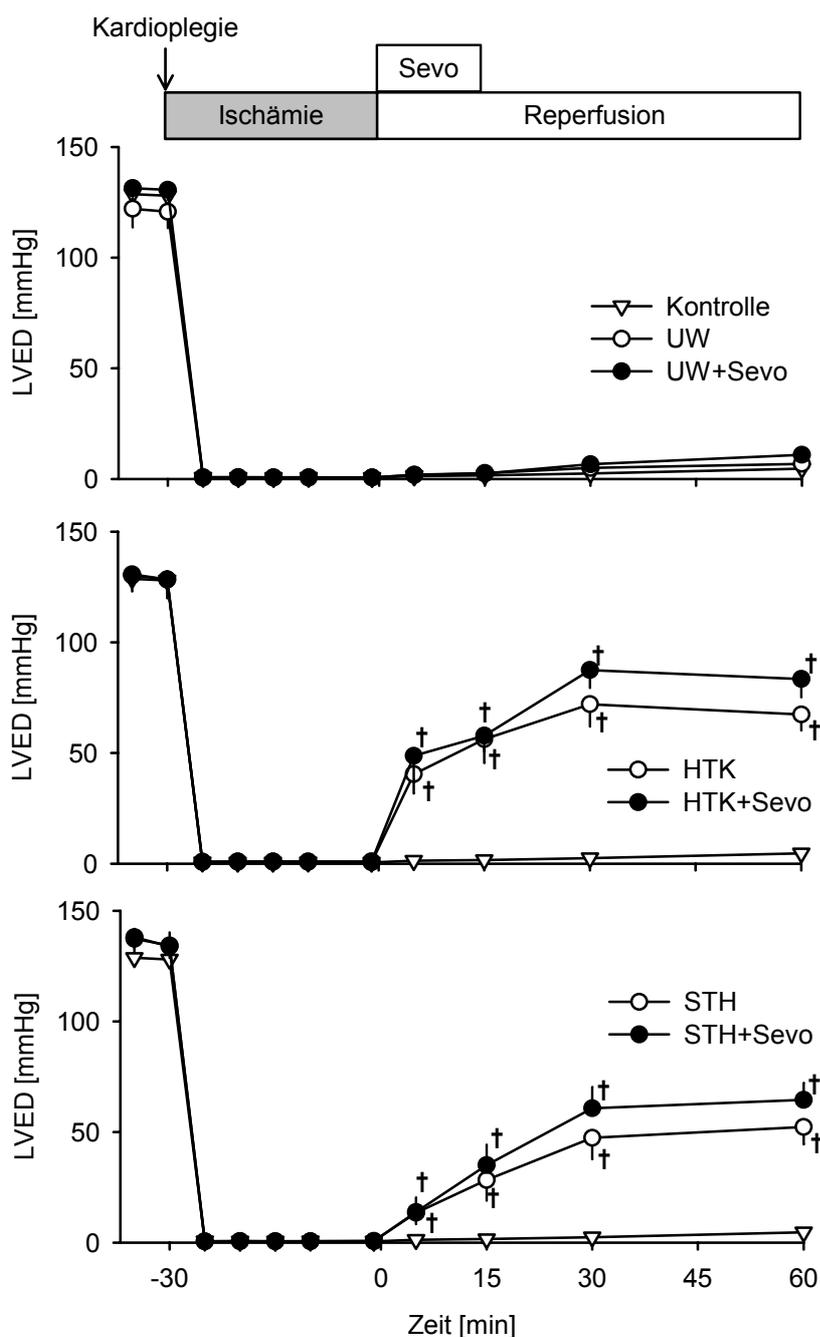
**Tabelle 1:** Linksventrikulär enddiastolischer Druck vor und während der Ischämie und Reperfusion.

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes.

†P < 0.05 gegen Kontrolle

### 3.2. Myokardfunktion

Am linksventrikulär entwickelten Druck (LVED) während der Systole lässt sich die Myokardfunktion ablesen. Der LVED ist definiert als die Differenz von LV systolischem Spitzendruck und LV enddiastolischem Druck (LVEDD). Abbildung 4 und Tabelle 2 zeigen den LVED als Variable der kontraktilen Funktion.



**Abb. 4:** Veränderungen des linksventrikulär entwickelten Druckes (LVED) vor und während der Ischämie und Reperfusion. Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes. SEVO=Sevofluranapplikation. †P < 0,05 gegen Kontrolle.

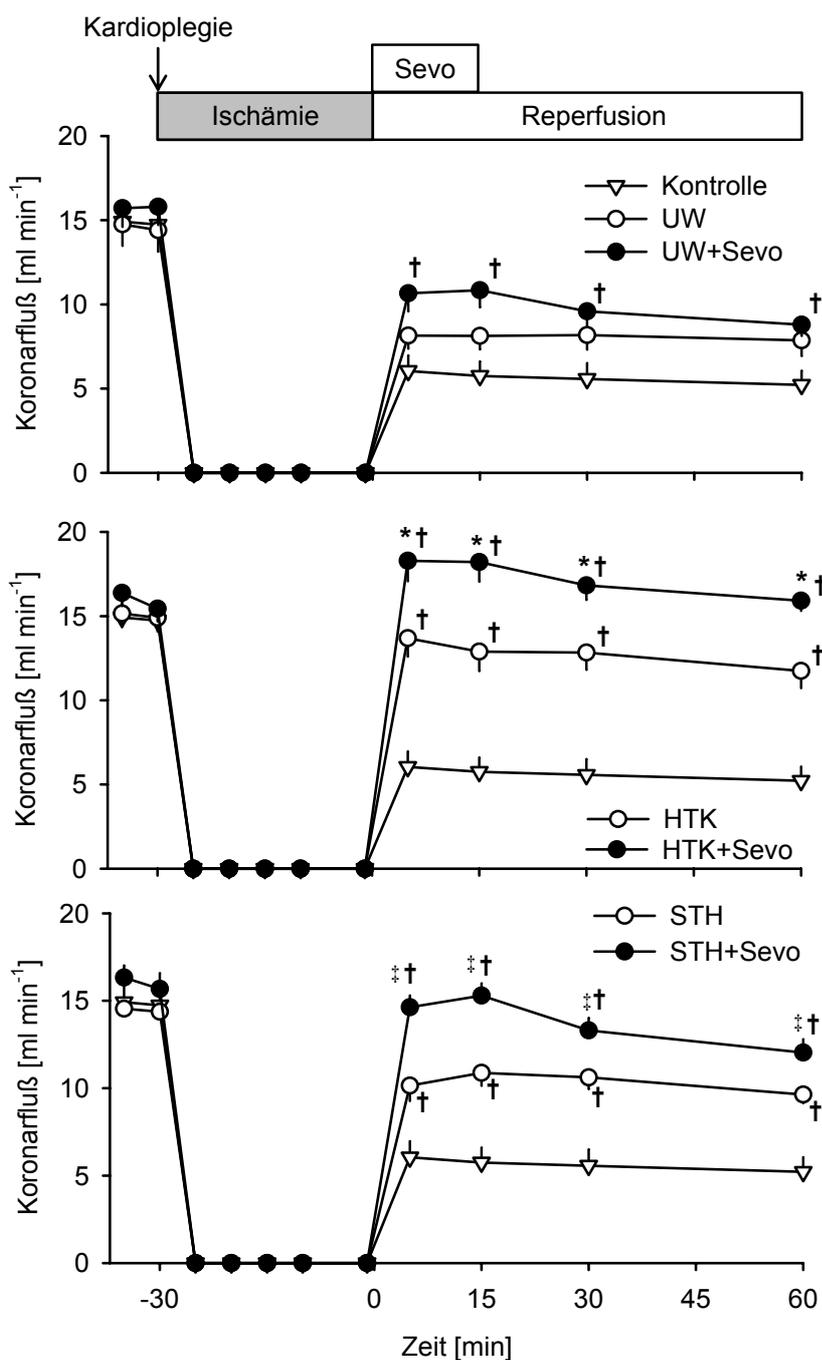
Unter Ausgangsbedingungen war der LVED in allen Gruppen vergleichbar. Mit Beginn der Ischämie sank der LVED in allen Gruppen auf Null. Während der Reperfusionperiode blieben die LVED-Werte in der Kontrollgruppe, der UW- und der UW+Sevo-Gruppe niedrig, entsprechend einer schlechten Funktionserholung. Im Gegensatz dazu zeigten die Herzen sowohl der HTK- und HTK+Sevo- als auch der STH- und STH+Sevo-Gruppe eine deutlich bessere Funktionserholung im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abbildung 4 und Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Linksventrikulär entwickelter Druck (LVED) vor Ischämie und während der Reperfusion. SEVO=Sevofluranapplikation. Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes. \*P<0.05 vs. Kontrolle

LVED [mmHg]	Ausgangsbedingungen		Reperfusion			
	0 min	5 min	5 min	15 min	30 min	60 min
Kontrolle	128,7 $\pm$ 5,2	128,0 $\pm$ 4,1	1,3 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 1,5
UW	122,1 $\pm$ 8,4	120,8 $\pm$ 7,4	1,9 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,7	5,0 $\pm$ 1,7	6,8 $\pm$ 2,1
UW+Sevo	131,4 $\pm$ 5,2	130,7 $\pm$ 4,6	1,8 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,5	6,7 $\pm$ 2,3	10,9 $\pm$ 1,9
HTK	130,2 $\pm$ 5,4	128,4 $\pm$ 5,6	40,5 $\pm$ 8,7*	56,2 $\pm$ 10,8*	72,0 $\pm$ 10,1*	67,4 $\pm$ 7,2*
HTK+Sevo	130,7 $\pm$ 7,7	128,4 $\pm$ 8,5	48,7 $\pm$ 11,0*	57,9 $\pm$ 7,4*	87,4 $\pm$ 8,1*	83,5 $\pm$ 8,3*
STH	138,0 $\pm$ 4,9	133,9 $\pm$ 5,3	13,5 $\pm$ 5,2*	28,4 $\pm$ 9,4*	47,4 $\pm$ 9,7*	52,3 $\pm$ 7,4*
STH+Sevo	137,3 $\pm$ 4,5	134,3 $\pm$ 5,9	13,8 $\pm$ 6,6*	35,1 $\pm$ 9,1*	60,7 $\pm$ 9,7*	64,5 $\pm$ 7,7*

### 3.3 Koronarfluß und koronarvaskulärer Widerstand

Bei konstantem Perfusionsdruck ist der Koronarfluß umgekehrt proportional dem koronarvaskulären Widerstand. Der Koronarfluß ist in Abbildung 5 und Tabelle 3 dargestellt.



**Abb. 5:** Koronarfluß vor und während der Ischämie und Reperfusion. Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes. SEVO=Sevofluranapplikation. \*  $P < 0,05$  HTK gegen HTK+Sevo; ‡  $P < 0,05$  STH gegen STH+Sevo; †  $P < 0,05$  gegen Kontrolle.

Der Koronarfluß war in der Kontrollgruppe während der gesamten Reperfusion niedriger als in den anderen Gruppen. Die Kombination von kardioplegischer Lösung und Sevofluran führte im Vergleich zur alleinigen Behandlung mit

kardioplegischer Lösung zu einem Anstieg des Koronarflusses entsprechend einem Abfall des koronarvaskulären Widerstands.

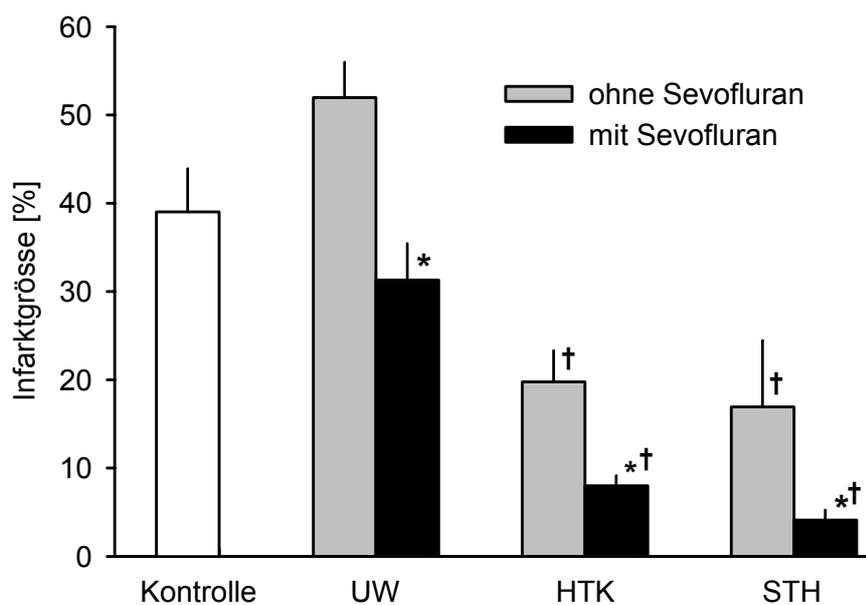
**Tabelle 3:** Koronarfluß vor der Ischämie und während der Reperfusion.  
Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes. SEVO=Sevofluranapplikation.  
\* P < 0,05 HTK gegen HTK+Sevo; ‡ P < 0,05 STH gegen STH+Sevo; † P < 0,05 gegen Kontrolle

Koronarfluß [ml/min]	Ausgangsbedingungen		Reperfusion			
	0 min	5 min	5 min	15 min	30 min	60 min
Kontrolle	14,9 $\pm$ 1,0	14,7 $\pm$ 0,9	6,1 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 0,9	5,6 $\pm$ 0,9	5,2 $\pm$ 0,8
UW	14,8 $\pm$ 1,3	14,4 $\pm$ 1,3	8,2 $\pm$ 0,8	8,1 $\pm$ 0,8	8,2 $\pm$ 0,9	7,9 $\pm$ 0,9
UW+Sevo	15,7 $\pm$ 1,1	15,8 $\pm$ 1,1	10,7 $\pm$ 1,1†	10,8 $\pm$ 1,0†	9,6 $\pm$ 0,9†	8,8 $\pm$ 0,7†
HTK	15,2 $\pm$ 0,8	14,9 $\pm$ 0,8	13,7 $\pm$ 1,1†	12,9 $\pm$ 1,2†	12,8 $\pm$ 1,0†	11,8 $\pm$ 1,0†
HTK+Sevo	16,4 $\pm$ 0,8	15,4 $\pm$ 0,8	18,3 $\pm$ 1,2†*	18,2 $\pm$ 1,2†*	16,8 $\pm$ 0,9†*	15,9 $\pm$ 0,6†*
STH	14,6 $\pm$ 0,4	14,4 $\pm$ 0,4	10,2 $\pm$ 0,9†	10,9 $\pm$ 0,7†	10,6 $\pm$ 0,7†	9,6 $\pm$ 0,5†
STH+Sevo	16,3 $\pm$ 0,7	15,7 $\pm$ 0,9	14,6 $\pm$ 0,7†‡	15,3 $\pm$ 0,7†‡	13,3 $\pm$ 0,7†‡	12,0 $\pm$ 0,8†‡

### 3.4 Infarktgrösse

Als Variable des Zellschadens wurde die Infarktgrösse bestimmt. Sie wurde als Prozent der Fläche des rechten und linken Ventrikels bestimmt. Die Infarktgrößen der einzelnen Gruppen sind in Abbildung 6 dargestellt. Die Infarktgrösse in der Kontrollgruppe betrug 39 %. Die alleinige Gabe von UW konnte die Infarktgrösse nicht reduzieren (UW 52 %, P = 0.60 vs. Kontrolle). Die Kombination von UW-Kardioplegie und Sevoflurangabe hatte jedoch im Vergleich zur alleinigen Gabe von UW-Kardioplegie eine Reduktion der Infarktgrösse zur Folge (UW+Sevo 31 %, P = 0.007 vs. UW). Durch die Gabe von HTK-Kardioplegie konnte die Infarktgrösse im Vergleich zur Kontrolle ebenfalls reduziert werden (HTK 20 %, P = 0.003 vs. Kontrolle). Die zusätzliche Gabe von Sevofluran führte zu einer weiteren Infarktgrößenabnahme

(HTK+Sevo 8 %,  $P = 0.03$  vs. HTK). Die Infarktgrösse wurde durch Gabe von STH ebenfalls gesenkt (STH 17 %,  $P < 0.001$  vs. Kontrolle) und konnte durch die zusätzliche Gabe von Sevofluran weiter reduziert werden (STH+Sevo 4 %,  $P = 0.002$  vs. STH).



**Abb.6:** Infarktgrösse in Prozent des rechten und linken Ventrikels am Ende der Reperfusionperiode. Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes.  
 \*  $P < 0,05$  Kardioplegie gegen Kardioplegie+Sevofluran;  
 †  $P < 0,05$  gegen Kontrolle.

## **4. Diskussion**

Die beiden wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit sind, dass Sevofluran eine Kardioprotektion gegen den Reperfusionsschaden am isolierten Rattenherzen nach globaler Ischämie bewirkt, und dass diese Wirkung unabhängig von der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung und somit der Zusammensetzung der jeweiligen Lösungen ist. Selbst wenn die alleinige Applikation der kardioplegischen Lösung keine Reduktion der Infarktgrösse zur Folge hat (UW), wirkt die zusätzliche Gabe von Sevofluran in jedem Fall protektiv.

### **4.1 Kritik der Methodik**

In dieser Studie wurde an isolierten Rattenherzen eine Warmischämie von 30 Minuten Dauer (Kontrolle) induziert und mit einer Ischämie gleicher Dauer verglichen, zu deren Beginn die Gabe von 4 ml kalter kardioplegischer Lösung stand. Zusätzlich wurde der Effekt von Sevofluran auf den myokardialen Reperfusionsschaden nach vorheriger Gabe von drei verschiedenen kardioplegischen Lösungen untersucht. Sevofluran wurde nur in der frühen Reperfusion appliziert, um eine antiischämische Wirkung auszuschließen und um ausschließlich den Effekt von Sevofluran auf den Reperfusionsschaden zu betrachten. Die beobachteten Unterschiede in den gemessenen Infarktgrößen können nur durch die Anwendung von verschiedenen kardioplegischen Lösungen und nicht durch die kurzzeitige Abkühlung des Herzens durch die Infusion von kalter kardioplegischer Lösung erklärt werden, da die Anwendung der jeweiligen kardioplegischen Lösung in Bezug auf den Zeitpunkt der Gabe, der Dauer und der Temperatur in allen Gruppen identisch war. Eine komplette und partielle Blockade der kontraktilen Elemente kann ebenfalls den myokardialen Reperfusionsschaden reduzieren<sup>13</sup>, indem der frühe Zellschaden,

der durch die Hyperkontraktur in der Reperfusion verursacht wird, verhindert wird<sup>17</sup>. Man kann nicht ausschließen, dass der negativ inotrope Effekt von Sevofluran zu der Kardioprotektion beiträgt. Für ein ähnliches Inhalationsanästhetikum wie Halothan konnte jedoch gezeigt werden, dass die Reduktion des Reperfusionsschadens unabhängig von einem negativ inotropen Effekt ist<sup>7</sup>. Deshalb scheint der negativ inotrope Effekt nicht die alleinige Ursache zu sein. Sevofluran wurde nur in einer Konzentration (3.8 % entsprechend 1.5 MAC der Ratte) für die Dauer von 15 min gegeben. Unsere Arbeitsgruppe konnte in früheren Untersuchungen am Rattenherz in vivo nachweisen, dass bereits eine Konzentration von 1 MAC eine maximale Protektion bewirkt, selbst wenn sie nur für 2 min appliziert wird<sup>18</sup>. Es lässt sich somit ausschliessen, dass die verwendete Dosierung sowie die Applikationsdauer einen entscheidenden Einfluss auf das Ausmass des maximal möglichen Protektionseffekt hatte. Die Konzentration von Sevofluran wurde weder in der kardioplegischen Lösung noch im Myokard selbst bestimmt. Unsere Arbeitsgruppe konnte aber in früheren Untersuchungen am gleichen Tiermodell zeigen, dass diese Konzentration zu einer ausgeprägten Protektion gegen den Reperfusionsschaden führt, so dass von einer wirksamen Anästhetikakonzentration in der Krebs-Henseleit Perfusionslösung auszugehen ist<sup>8</sup>. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen dieser Studie.

Die Experimente wurden an isolierten, kristallin perfundierten Rattenherzen durchgeführt. Somit liessen sich die Auswirkungen auf bestimmte Teilaspekte des Reperfusionsschadens, wie z.B die Adhäsion und Aktivierung von Granulozyten mit konsekutiver Freisetzung von Sauerstoffradikalen<sup>19</sup>, nicht untersuchen.

Die verwendeten kardioplegischen Lösungen unterscheiden sich in ihrer gesamten Zusammensetzung und nicht nur im Kalziumgehalt. So enthält die UW-Lösung z.B. Raffinose und Hydroxyethylstärke, während die HTK-Lösung

neben Histidin und Tryptophan auch Mannitol enthält. Es ist demnach nicht auszuschließen, dass diese Unterschiede Einfluß auf unsere Ergebnisse haben.

## 4.2 Ergebnisdiskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass nur die Gabe von kardioplegischen Lösungen, die Kalzium enthielten (HTK und STH), die Infarktgröße verkleinerten. Die durch die Infusion kalter Kardioplegielösung zu Beginn der Ischämie bedingte kurzzeitige Temperaturerniedrigung spielte keine Rolle, denn die kalte UW hatte keine Reduktion der Infarktgröße zur Folge. Sevofluran verkleinerte in jedem Fall die Infarktgröße, unabhängig von der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung.

### 4.2.1 Pathophysiologie von myokardialer Ischämie und Reperfusion

Myokardiale Ischämie/Reperfusionssituationen treten u.a. als Ursache eines Angina pectoris - Anfalls bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (regionale Ischämie) als auch während koronarvaskulären und Herzklappenoperationen (globale Ischämie) auf. Obgleich die Wiederherstellung der Koronarperfusion unabdingbare Voraussetzung für eine Reduktion der Myokardinfarktgröße ist, so kann doch paradoxerweise gerade die Reperfusion zu einer Vergrößerung des durch die transiente Myokardischämie entstandenen Myokardschadens führen. Demnach wird durch den Vorgang der Reperfusion Myokard letal geschädigt, das vor Beginn der Reperfusion am Ende der Ischämie noch vital war. Der Reperfusionsschaden kann vier verschiedene Formen annehmen<sup>4</sup>:

1. Myokardiales Stunning: Dabei handelt es sich um einen Zustand der reversiblen kontraktilen Dysfunktion. Solche Myokardareale erlangen ihre normale Funktion wieder nach Stunden bis Tagen von Reperfusion.

2. No-reflow Phänomen: Dabei handelt es sich um einen Zustand bei dem auf mikrovaskulärer Ebene kein Blutfluss trotz Wiedereröffnen der zuvor verschlossenen Koronararterie erfolgt.
3. Reperfusionarrhythmien.
4. Letaler Reperfusionsschaden: Dabei führt der Vorgang der Reperfusion zu einer Nekrose von Myokardarealen, die durch die vorangegangene Ischämie selbst noch nicht letal geschädigt waren.

Die durch die Ischämie-/Reperfusionssituation gestörte kardiomyozytäre Kalziumhomöostase spielt bei der Entstehung des Zellschadens und der postischämischen kontraktilen Dysfunktion eine entscheidende Rolle.

Während der Ischämie kommt es durch Energieverarmung zu einer Überladung der Kardiomyozyten mit Natrium- und insbesondere Kalziumionen. Dadurch kommt es zur Ischämiekontraktur, die in unseren Versuchen in allen Gruppen anhand des Anstieges des LVEDD's nachweisbar war<sup>13</sup>.

Während der Reperfusion kommt es dann durch die Wiederaufnahme der Energieproduktion zu einer Aktivierung zweier Ionen-Pumpen, der Natriumpumpe des Sarkolems ( $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ ) und der Kalziumpumpe des sarkoplasmatischen Retikulums ( $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ ). Wenn die Speicherkapazität des sarkoplasmatischen Retikulums überschritten ist, treten Zyklen kontinuierlicher Freisetzung und Wiederaufnahme von Kalziumionen auf, die als "Kalziumoszillationen" bezeichnet werden<sup>13</sup>. Hohe Kalziumkonzentration zu Beginn der Reperfusion führen zu einer Aktivierung kontraktiler Elemente der Myofibrillen mit nachfolgender Zytolyse (=letaler Reperfusionsschaden). Dieser plötzliche Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration zu Beginn der Reperfusion wird auch als "Kalziumparadox" bezeichnet<sup>20</sup>.

#### 4.2.2 Kardioplegische Lösungen

Kardioplegische Lösungen erhöhen die Ischämietoleranz des Myokards, indem sie einen raschen Herzstillstand herbeiführen und somit energiereiche Phosphate, die zur Aufrechterhaltung der Ionenhomöostase durch energieverbrauchende Ionenpumpen erforderlich sind, konservieren. Es kann zwischen “extrazellulären” und “intrazellulären” kardioplegischen Lösungen unterschieden werden. “Extrazelluläre” Lösungen enthalten Natriumionen in einer Konzentration von mehr als 70 mmol/l und Kaliumionen in einer Konzentration von 5-30 mmol/l (z.B. STH). “Intrazelluläre” Lösungen enthalten Natriumionen in einer Konzentration von weniger als 70 mmol/l und Kaliumionen in einer Konzentration von 3-125 mmol/l (z.B. UW) <sup>10</sup>. Die in dieser Studie verwendeten kardioplegischen Lösungen sind die meist genutzten Lösungen in der Organtransplantation (UW) und Kardiochirurgie (HTK, STH) in Europa. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Anwendung aller drei Lösungen zu Beginn der Ischämie zu einer Verzögerung der Ischämiekontraktur führen (siehe Abbildung 3, S. 13). Bei Anwendung von HTK und STH ging dies auch mit einem Anstieg der postischämischen Myokardfunktion und einer Reduktion der Infarktgrösse im Vergleich zu Kontrollherzen einher. Überraschenderweise galt dies aber nicht für UW als der einzigen kardioplegischen Lösung, die kein Kalzium enthielt. UW ist die am meisten verwendete Lösung in der Transplantationschirurgie <sup>21</sup>. Wesentlich dabei ist, dass die Lösung die Ischämietoleranz gegenüber einer *Kaltischämie*, wie sie nach Entnahme von Organen regelmässig durchgeführt wird, erhöht. Grundlage für den protektiven Effekt dieser Lösung ist eine hohe Kaliumkonzentration. Die protektive Wirkung ist temperaturabhängig, und es ist bekannt, dass diese Lösung bei Temperaturen von über 15° C eine endotheliale Dysfunktion und eine fortschreitende Zunahme des koronarvaskulären Widerstandes am Herzen bewirkt <sup>22</sup>. Dies könnte die tendenzielle Infarktgrößenzunahme in der UW-

Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe erklären, da unsere Versuche bei einer konstanten Temperatur von 38 °C durchgeführt worden sind, um einen Temperatureffekt auszuschließen.

#### *4.2.3 Myokardiale Ischämie/Reperfusion und volatile Anästhetika*

Es ist bekannt, dass einige Inhalationsanästhetika den myokardialen Reperfusionsschaden reduzieren <sup>6-8,23</sup>, auch wenn das Herz zuvor zum Schutz vor einem vorangehenden ischämischen Schaden mit einer kardioplegischen Lösung behandelt worden ist <sup>11,12</sup>. Für Halothan konnte gezeigt werden, dass die Verringerung des myokardialen Reperfusionsschadens vom Kalziumgehalt der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung abhängig ist; nach Behandlung des Herzens mit einer kardioplegischen Lösung mit einer hohen Kalziumkonzentration wies Halothan eine zusätzliche Protektion gegen den Reperfusionsschaden auf. Dieser Effekt konnte jedoch nach der Gabe von einer kardioplegischen Lösung mit niedrigem Kalziumgehalt nicht mehr gezeigt werden <sup>11</sup>. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass Halothan das Herz durch Hemmung der Kalziumoszillationen am sarkoplasmatischen Retikulum in der frühen Reperfusion gegen den Reperfusionsschaden schützt <sup>13</sup>.

Da für Halothan gezeigt worden ist, dass der Kalziumgehalt der kardioplegischen Lösung einen Einfluß auf die Kardioprotektion hat <sup>11</sup>, stellten wir die Hypothese auf, dass verschiedene kardioplegische Lösungen ebenso die Wirkung von Sevofluran auf den Reperfusionsschaden beeinflussen.

Die Wirkung von Sevofluran auf den Reperfusionsschaden und die zugrunde liegenden zellulären Mechanismen sind in mehreren neueren Studien untersucht worden: Dabei konnte nachgewiesen werden, dass die durch Sevofluran induzierte Öffnung von ATP-sensitiven Kaliumkanälen ein für die Protektion entscheidender Mechanismus ist, da der protektive Effekt durch die Gabe von 5-Hydroxydecanoate, einem spezifischen Blocker dieser Kanäle, aufgehoben

werden kann<sup>24,25</sup>. Möglicherweise wirkt die Öffnung mitochondrialer ATP-sensitiver Kaliumkanäle über eine Depolarisierung der Mitochondrienmembran, was einen energiesparenden Effekt hat und somit konsekutiv zur Bewahrung der Kalziumhomöostase beiträgt<sup>26</sup>. Der protektive Effekt der Sevoflurangabe während früher Reperfusion kann zudem durch die Gabe von Lidocain, einem Lokalanästhetikum, das Natriumkanäle blockiert, aufgehoben werden<sup>27</sup>.

Varadarajan und Mitarbeiter konnten nachweisen, dass die Gabe von Sevofluran während der Reperfusion zu einer Reduktion der systolischen und diastolischen Kalziumkonzentration am isolierten Meerschweinchenherz führt<sup>23</sup>. Diese Ergebnisse konnten in einer jüngst erschienenen Publikation bestätigt werden<sup>28</sup>. Die Autoren wiesen eine reduzierte intramyozytäre Natrium- und Kalziumkonzentration am Ende der Reperfusion nach Anwendung von Sevofluran nach. Entscheidend dabei ist, dass dieser protektive Effekt nicht nur während der 10-minütigen Sevoflurangabe direkt zu Beginn der 60-minütigen Reperfusion sondern auch noch bis zum Ende der Reperfusion nachweisbar war. Analog zur ischämischen oder aber einer pharmakologischen Präkonditionierung, bei der eine kurze subletale Ischämie bzw. Pharmakongabe vor den Folgen einer sich anschliessenden längeren Ischämie schützt<sup>29</sup>, wurde ein solcher Protektionseffekt, der durch eine kurzzeitige subletale Ischämie oder aber eine Pharmakongabe während der frühen Reperfusion ausgelöst wird und dann während der weiteren Reperfusion wirksam ist, „Postkonditionierung“ genannt<sup>30</sup>.

Die reduzierte intramyozytäre Natrium- und Kalziumkonzentration ging einher mit einer Verbesserung der Mitochondrienfunktion und einer erhöhten Konzentration von ATP während der Reperfusion<sup>28</sup>. Über welchen zellulären Mechanismus die intrazelluläre Kalziumkonzentration auch nach Sevoflurangabe anhaltend gesenkt wird bleibt ungeklärt. Dieser scheint sich aber von dem für Halothan gezeigten Mechanismus zu unterscheiden, da unsere Ergebnisse entgegen unserer initialen Hypothese zeigen, dass die Gabe von

Sevofluran während der frühen Reperfusion unabhängig von der zuvor gegebenen kardioplegischen Lösung sich immer protektiv auswirkt. Nach Kardioplegie mit UW-Lösung konnte Sevofluran während der frühen Reperfusion die Infarktgröße um 40% reduzieren, nach Kardioplegie mit HTK- und STH-Lösung um jeweils 60 und 76%. Demnach scheinen die oben beschriebenen durch die Gabe von Sevofluran während früher Reperfusion induzierten protektiven Mechanismen unabhängig von der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung abzulaufen.

Im Vergleich zu den Gruppen, die nur mit Kardioplegie und nicht mit Sevofluran behandelt wurden, konnten wir in den zusätzlich mit Sevofluran behandelten Herzen keine verbesserte funktionale Erholung feststellen. Die Beobachtung, dass trotz der sehr geringen Infarktgrößen von 8% (HTK+SEVO) bzw. 4% (STH+Sevo) der LVED zum Ende der Reperfusion immer noch deutlich geringer war als unter Ausgangsbedingungen deutet darauf hin, dass myokardiales Stunning vorliegt. Demnach hat Sevofluran zwar keinen Effekt auf das myokardiale Stunning, es schützt jedoch das Myokard vor dem letalen Reperfusionsschaden. Diese Schlußfolgerung ist auf die Situation nach Herzstillstand durch Applikation von kardioplegischer Lösung zu beschränken. Coetzee und Mitarbeiter führten ähnliche Experimente am isolierten Rattenherz als „working heart“ durch <sup>31</sup>. Sie fanden einen schädlichen Effekt einer Sevofluran-Gabe auf das Herzzeitvolumen und die myokardiale Arbeit während der frühen Reperfusion nach ischämischem kardioplegischen Herzstillstand mit STH. Diese Ergebnisse konnte von Coetzee et al. nicht erklärt werden und stehen im Widerspruch zu den in der vorliegenden Studie erhobenen Daten. In einer Studie aus unserem Labor konnten wir feststellen, dass es einen Schwellenwert von 1 MAC (2.4 %) in der Ratte gibt, oberhalb dessen sich Sevofluran protektiv auf den Reperfusionsschaden auswirkt <sup>18</sup>. Coetzee et al. untersuchten eine wesentlich geringere Sevoflurankonzentration von 0.9 % (vs.

3.8 % in unserer Studie) bei der keine Effekte auf den Reperfusionsschaden zu erwarten sind. Sie haben darüberhinaus keine Variablen für das Ausmaß des Zellschadens bestimmt, was somit in ihrer Studie keine direkte Schlußfolgerung eines Sevofluraneffektes auf den letalen Reperfusionsschaden zuläßt. Ihre Ergebnisse unterstützen jedoch die Hypothese, dass Sevofluran keinen Effekt auf das myokardiale Stunning nach einem kardioplegischem Herzstillstand hat.

In der hier vorgestellten Untersuchung konnte am isolierten Rattenherz gezeigt werden, dass Sevofluran in einer Konzentration von 1.5 MAC den Reperfusionsschaden nach einem vorangegangenen kardioplegischem Herzstillstand mit UW, HTK und STH unabhängig von der verwendeten kardioplegischen Lösung reduziert, während die Erholung der myokardialen Funktion („Stunning“) nicht beeinflußt wird.

Die zusätzliche Gabe von Sevofluran in einer Ischämie/Reperfusionssituation scheint demnach auch dann von Vorteil zu sein, wenn das Herz zuvor durch eine geeignete kardioplegische Lösung vor dem ischämischen Schaden geschützt wurde.

## Literaturverzeichnis

1. Spiekermann PG, Brückner JB, Kübler W et al. Präischämische Belastung und Wiederbelebenszeiten des Herzens. *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch* 1969; **33**: 358-64
2. Davis RF, DeBoer LW, Rude RE et al. The effect of halothane anesthesia on myocardial necrosis, hemodynamic performance, and regional myocardial blood flow in dogs following coronary artery occlusion. *Anesthesiology* 1983; **59**: 402-11
3. Marijic J, Stowe DF, Turner LA et al. Differential protective effects of halothane and isoflurane against hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea pig heart. *Anesthesiology* 1990; **73**: 976-83
4. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *NEJM* 2007; **357**: 1121-35
5. Rosenkranz ER, Buckberg GD. Myocardial protection during surgical coronary reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983; **1**: 1235-46
6. Preckel B, Schlack W, Comfère T et al. Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane, and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart *in vivo*. *Br J Anaesth* 1998; **81**: 905-12
7. Schlack W, Preckel B, Barthel H et al. Halothane reduces reperfusion injury after regional ischaemia in the rabbit heart *in vivo*. *Br J Anaesth* 1997; **79**: 88-96
8. Schlack W, Preckel B, Stunneck D et al. Effects of halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane, and desflurane on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1998; **81**: 913-9
9. Schlack W, Hollmann M, Stunneck D et al. Effects of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1996; **76**: 860-7
10. Michel P, Vial R, Rodriguez C et al. A comparative study of the most widely used solutions for cardiac graft preservation during hypothermia. *J Heart Lung Transplant* 2002; **21**: 1030-9

11. Preckel B, Schlack W, Thamer V. Enflurane and isoflurane, but not halothane, protect against myocardial reperfusion injury after cardioplegic arrest with HTK solution in the isolated rat heart. *Anesth Analg* 1998; **87**: 1221-7
12. Preckel B, Thamer V, Schlack W. Beneficial effects of sevoflurane and desflurane against myocardial reperfusion injury after cardioplegic arrest. *Can J Anaesth* 1999; **46**: 1076-81
13. Siegmund B, Schlack W, Ladilov YV et al. Halothane protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hypercontracture. *Circulation* 1997; **96**: 4372-9
14. Cromheecke S, Pepermans V, Hendrickx E et al. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing aortic valve replacement with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2008; **103**: 289-96
15. De Hert SG, ten Broecke PW, Mertens E et al. Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology* 2002; **97**: 42-9
16. Klein HH, Puschmann S, Schaper J et al. The mechanism of the tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1981; **393**:287-297
17. Schlack W, Uebing A, Schäfer M et al. Intracoronary SIN-1C during reperfusion reduces infarct size in dog. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; **25**: 424-31
18. Obal D, Preckel B, Scharbatke H et al. One MAC of sevoflurane already provides protection against reperfusion injury in the rat heart in vivo. *Br J Anaesth* 2001; **87**: 905-11
19. Mullane KM, Young M. The contribution of neutrophil activation and changes in endothelial function to myocardial ischemia-reperfusion injury. In: Yellon DM, Jennings RB: *The Pathophysiology of Reperfusion and Reperfusion injury*. New York, Raven Press, 1992: 59-83
20. Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1998; **38**: 291-300

21. Ledingham SJ, Katayama O, Lachno DR et al. Prolonged cardiac preservation. Evaluation of the University of Wisconsin preservation solution by comparison with the St. Thomas' Hospital cardioplegic solutions in the rat. *Circulation* 1990; **82**: IV351-IV358
22. Amrani M, Ledingham S, Jayakumar J et al. Detrimental effects of temperature on the efficacy of the University of Wisconsin solution when used for cardioplegia at moderate hypothermia. *Circulation* 1992; **86**: II280-8
23. Varadarajan SG, An J, Novalija E et al. Sevoflurane before or after ischemia improves contractile and metabolic function while reducing myoplasmic Ca<sup>2+</sup> loading in intact hearts. *Anesthesiology* 2002 ; **96**: 125-33
24. Obal D, Dettwiler S, Favoccia C et al. The influence of mitochondrial K<sub>ATP</sub>-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat heart *in vivo*. *Anesth Analg* 2005 ; **101**: 1252-60
25. Masui K, Kashimoto S, Furuya A et al. Isoflurane and Sevoflurane during reperfusion prevent recovery from ischaemia in mitochondrial KATP channel blocker pretreated hearts. *Eur J Anaesthesiol* 2006 ; **23** : 123-9
26. Liu Y, Sato T, Seharaseyon J et al. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels : viable candidate effectors of ischemic preconditioning. *Ann N Y Acad Sci* 1999 ; **87** : 27-37
27. Yan M, Chen C, Zhang F et al. Lidocaine abolishes the myocardial protective effect of sevoflurane post-conditioning. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008 ; **52** : 111-6
28. Deyhimy DI, Fleming NW, Brodtkin IG et al. Anesthetic preconditioning combined with postconditioning offers no additional benefit over preconditioning or postconditioning alone. *Anesth Analg* 2007 ; **105** : 16-24
29. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986 ; **74** : 1124-36
30. Staat P, Rioufol G, Piot C et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005 ; **112** : 2143-8

31. Coetzee JF, le Roux PJ, Genade S, Lochner A. Reduction of postischemic contractile dysfunction of the isolated rat heart by sevoflurane: comparison with halothane. *Anesth Analg* 2000; **90**: 1089-97

## **Danksagung**

Mein erster Dank gilt Herrn Universitätsprofessor Dr. Volker Thämer aus dem Institut für Herz-Kreislaufphysiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, in dessen Labor diese Arbeit durchgeführt wurde, für die Möglichkeit wissenschaftlich arbeiten zu können und dessen Beratung und hilfreiche Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit unerlässlich war.

Mein Dank gilt auch besonders Herrn Priv.-Doz. Dr. Dirk Ebel aus der Klinik für Anästhesiologie, der mich bei dieser Arbeit betreut und mich bei der Durchführung der Experimente tatkräftig unterstützt hat.

Darüber hinaus danke ich Herrn Prof. Dr. Wolfgang Schlack, Herrn Priv.-Doz. Dr. Jost Müllenheim und Herrn Priv.-Doz. Dr. Benedikt Preckel aus der Klinik für Anästhesiologie für die Unterstützung und kritische Durchsicht dieser Arbeit.

## Lebenslauf

### *Persönliche Angaben*

Anna You  
7 Parkshiel  
South Shields, NE34 8BU,  
Great Britain

Telefon: 0044 191 4558636

E-Mail: [youa@gmx.de](mailto:youa@gmx.de)

Geburtstag: 04.03.1977

Geburtsort: Nettetal

Familienstand: verheiratet

### *Beruflicher Werdegang*

Seit 2/2008 Career Start General Practitioner, St. Bede Medical Centre, Sunderland Teaching Primary Care Trust, UK

2/2005-2/2008 GP Training Scheme, Northern Deanery, UK

2/2004-2/2005 Pre-registration House Officer, South Tyneside NHS Foundation Trust, South Shields, UK

### *Qualifikationen*

7/2008 MRCGP (Membershipexamen Royal College of GP's)

2/2008 Certification of Completion of Training for General Practice (CCT), (entspricht Facharzt für Allgemeinmedizin)

5/2007 Diploma of the Royal College of Obstetrics and Gynaecology (DRCOG)

12/2004 Staatsexamen Medizin ( Note 2,50)

***Hochschulbildung***

4/1997-12/2003           Medizinstudium Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

***Freiwilliges Soziales Jahr***

10/1996-4/1997           Adam Romboy Seniorenzentrum, Rheidt-  
Mönchengladbach

***Schulbildung***

1994-1996                Bischöfliche Marienschule Mönchengladbach

1987-1994                Gymnasium Neuwerk Mönchengladbach

**South Shields, 01. Dezember 2008**

## Zusammenfassung

**Einleitung:** Sevofluran vermindert den Reperfusionsschaden am Herzen auch nach vorangehendem Schutz gegen den ischämischen Schaden durch eine kardioplegische Lösung. Dies könnte jedoch von der Zusammensetzung der verwendeten kardioplegischen Lösung abhängig sein. Wir haben daher die Wirkung von Sevofluran auf den Reperfusionsschaden nach kardioplegischem Herzstillstand mit drei verschiedenen kardioplegischen Lösungen untersucht. Die zu untersuchenden kardioplegischen Lösungen waren die University of Wisconsin (UW)-, die Bretschneider's (HTK)- und die St. Thomas'Hospital (STH)-Kardioplegie.

**Material und Methodik:** Isolierte Rattenherzen in einer Langendorffpräparation wurden bei konstanter Herzfrequenz ( $375 \text{ min}^{-1}$ ) druckkonstant ( $100 \text{ cmH}_2\text{O}$ ) mit Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert. Die Herzen wurden einer 30-minütigen Ischämie ( $38^\circ\text{C}$ ) und einer anschließenden 60-minütigen Reperfusion unterzogen. 7 Gruppen (jeweils  $n=9$ ) wurden untersucht. 3 Gruppen erhielten University of Wisconsin (UW), Bretschneider's (HTK) oder St. Thomas (STH) kardioplegische Lösung während der ersten 2 min der Ischämie (2 ml/min). In 3 weiteren Gruppen (UW+Sevo, HTK+Sevo, STH+Sevo) wurde zusätzlich zu einer der drei kardioplegischen Lösungen 1,5 MAC Sevofluran während der ersten 15 min der Reperfusion über einen Membranoxygenator appliziert. Eine Gruppe diente als unbehandelte Kontrolle (Kon). Der linkventrikulär entwickelte Druck (LVED) und die Infarktgröße wurden gemessen. Jede Kardioplegie+Sevofluran-Gruppe wurde mit der jeweiligen Kardioplegie-Gruppe (Student's *t*-Test, Bonferroni-Korrektur), die Kardioplegie-Gruppe mit der Kontrolle verglichen (Dunnett's Test).

**Ergebnisse:** Unter Ausgangsbedingungen war der LVED in allen Gruppen vergleichbar ( $130 \pm 2 \text{ mmHg}$ ). Durch die Gabe von HTK und STH konnte nach 60-minütiger Reperfusion eine verbesserte Erholung des LVED von 5 mmHg in der Kontrollgruppe auf 67 mmHg (HTK) und 52 mmHg (STH, beide  $P < 0,05$ ) beobachtet werden. Eine UW-Gabe hingegen zeigte keine Verbesserung der myokardialen Funktion (7 mmHg). Die zusätzlich mit Sevofluran behandelten Gruppen zeigten zum Ende der Versuche keine signifikanten Unterschiede des LVED im Vergleich zu den Gruppen, die nur mit einer kardioplegischen Lösung behandelt wurden (UW+Sevo 11, HTK+Sevo 83, STH+Sevo 64 mmHg,  $P = \text{n.s.}$ ). Die Infarktgröße konnte durch die Gabe von HTK und STH im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert werden (Kontrolle 39, HTK 20, STH 17 %,  $P < 0,05$ ). Die Gabe von UW führte zu keiner Reduktion der Infarktgröße (UW 52%). Die zusätzliche Gabe von Sevofluran während der Reperfusion nach kardioplegischem Herzstillstand konnte die Infarktgröße in allen Gruppen reduzieren (UW+Sevo 31, HTK+Sevo 8, STH+Sevo 4 %,  $P < 0,05$ ).

**Schlußfolgerung:** Der Schutz gegen den Reperfusionsschaden durch Sevofluran ist unabhängig von der zuvor verwendeten kardioplegischen Lösung.