

Aus der
Klinik für Anästhesiologie
der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Benedikt Pannen

Additive Effekte von klassischer und Sevofluran-
induzierter Präkonditionierung in vivo

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Mirco Bauer

2011

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

Gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. Müllenheim
Koreferent: Prof. Dr. Decking

Die wissenschaftlichen Experimente, die der vorliegenden Arbeit zu Grunde liegen, wurden von mir in Zusammenarbeit mit Herrn Priv.-Doz. Dr. Jost Müllenheim durchgeführt. Dazu zählen insbesondere die Durchführung der Versuchsreihen inklusive der Aufbereitung der Kaninchenherzen, die Erhebung der Ergebnisse sowie der Erstellung der Graphiken und Tabellen des Ergebnisteiles.

Die Methode ist angelehnt an mehrere im selben Labor und von der gleichen Arbeitsgruppe durchgeführte Studien mit gleichem oder ähnlichem Versuchsaufbau.

Priv.-Doz. Dr. Dirk Ebel war als Assistenzarzt Mitglied der Arbeitsgruppe, Dr. Jan Fräßdorf, Dr. Florian Otto und Dr. Andre Heinen waren zeitgleich mit mir in dieser Arbeitsgruppe als Doktoranden tätig. Wie in einer Arbeitsgruppe üblich haben wir uns, falls erforderlich, gegenseitig gelegentlich unterstützt.

Herr Prof. Wolfgang Schlack und Herr Priv.-Doz. Benedikt Preckel waren als Leiter der Arbeitsgruppe an den Versuchen beteiligt.

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|---|-----------|
| EINFÜHRUNG | 6 |
| METHODEN | 14 |
| CHIRURGISCHE PRÄPARATION | 15 |
| LPC-PROTOKOLL | 17 |
| KLASSISCHE PRÄKONDITIONIERUNG UND MYOKARDINFARKTPROTOKOLL | 19 |
| INFARKTGRÖßENBESTIMMUNG | 22 |
| STUDIENPROTOKOLL | 24 |
| DATENVERARBEITUNG | 25 |
| HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN | 26 |
| STATISTISCHE ANALYSEN | 26 |
| ERGEBNISSE | 28 |
| HÄMODYNAMISCHE VARIABLEN | 28 |
| RISIKOGEBIET UND INFARKTGRÖßE | 35 |
| DISKUSSION | 38 |
| METHODENKRITIK | 38 |
| INFARKTGRÖßENBESTIMMUNG UND DAUER DER REPERFUSION | 40 |
| SARKOLEMMALE UND MITOCHONDRIALE KALIUKANÄLE | 41 |
| INTERPRETATION DER ERGEBNISSE | 43 |
| PRÄKONDITIONIERUNG DURCH SEVOFLURAN | 45 |
| SPÄTE ISCHÄMISCHE PRÄKONDITIONIERUNG | 49 |
| INTERAKTION VON LPC UND SEVOFLURAN-INDUZIERTER PRÄKONDITIONIERUNG | 51 |
| KLINISCHE RELEVANZ UND AUSBLICK | 54 |
| ZUSAMMENFASSUNG | 60 |
| LITERATURVERZEICHNIS | 61 |
| DANKSAGUNG | 75 |
| LEBENS LAUF | 76 |

Wesentliche Ergebnisse dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

Müllenheim J, Ebel D, Bauer M, Otto F, Heinen A, Fräßdorf J, Preckel B, Schlack W:

Sevoflurane confers additional cardioprotection after ischemic late preconditioning in rabbits.

Anesthesiology, 99(3), 624-631, September 2003

Einführung

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen seit langem zu den häufigsten Todesursachen in den Industrienationen. Waren zunächst überwiegend Männer betroffen, so leiden nun auch vermehrt Frauen an Erkrankungen des Herz- und Kreislaufsystems. Insgesamt starben nach Angaben des statistischen Bundesamtes im Jahr 2009 in Deutschland 135413 Menschen an einer koronaren Herzkrankheit (KHK), wobei die höheren Altersklassen mehr betroffen waren als die jüngeren. Die KHK war mit ihren akuten Manifestationen wie Myokardinfarkt und plötzlicher Herztod wie bereits in den letzten Jahren die häufigste Todesursache. Im Jahr 2009 verstarben in Deutschland 56.226 Menschen an einem akuten Myokardinfarkt. Auch in Zukunft ist mit einer weiten Verbreitung der KHK mit ihren akuten und chronischen Manifestationen zu rechnen.

Die KHK verursacht durch zumeist arteriosklerotische Veränderungen an den Herzkranzgefäßen eine myokardiale Ischämie, also eine unzureichende Durchblutung mit folglich ungenügender Sauerstoffversorgung des Herzmuskels, in deren Folge es unter anderem zu akuten Ereignissen wie Myokardinfarkt und plötzlichem Herztod kommen kann. Mit zunehmender Krankheitsdauer wird das Auftreten von chronischen Manifestationsformen wie Herzinsuffizienz oder persistierenden Herzrhythmusstörungen immer wahrscheinlicher. Auch im Rahmen kardialer Operationen wie zum Beispiel einem Herzklappenersatz, einer kardialen Bypassoperation oder Eingriffen an der Hauptschlagader, der Aorta, können passagere oder auch anhaltende Myokardischämien mit anschließender Reperfusion und ihren Folgen auftreten.

Eine Ischämiezeit von 20 Minuten führt zu einer Herzmuskelzellnekrose, also einem Zelltod. Nach Verschluss einer Koronararterie kann nur durch

möglichst frühzeitige Rekanalisierung die Ausbildung einer Myokardnekrose verhindert werden.¹ Hingegen zeigte sich, dass passagere subletale Ischämieperioden eine erhebliche Verzögerung des Zellunterganges bei einer nachfolgenden längeren Ischämie bewirken und somit einen endogenen Protektionsmechanismus darstellen. Dieses Phänomen ist als „ischämische Präkonditionierung“ bekannt und wurde 1986 erstmals von Murry et al. in einem Versuch an anästhesierten Hunden beschrieben.² Es zeigte sich, dass vier fünfminütige regionale Ischämieperioden mit jeweils nachfolgender fünfminütiger Reperfusion vor einer 40-minütigen infarktauslösenden Ischämie zu einer deutlichen Infarktgrößenreduktion von zu erwartenden 30% des Risikogebietes auf 7% führten.

Auch an anderen Säugetierspezies wie Ratten, Kaninchen und Schweinen konnte dieser endogene Protektionsmechanismus der ischämischen Präkonditionierung nachgewiesen werden.^{3,4,5} Im Verlauf konnten schließlich zwei Phasen der Protektion unterschieden werden. Unmittelbar auf einen ischämischen Stimulus folgt ein initialer protektiver Effekt, der dem Myokard für etwa zwei bis drei Stunden Schutz bietet. Diese erste Phase wird als klassische Präkonditionierung oder early preconditioning (EPC) bezeichnet. Circa 24 Stunden nach dem initialen präkonditionierenden Stimulus folgte eine erneute protektive Phase, die das Myokard für bis zu drei Tage vor den Folgen einer Ischämie-Reperfusionssituation schützt.⁶ Diese zweite Phase wird als späte Präkonditionierung oder late preconditioning (LPC) bezeichnet.

Beide Phasen der Präkonditionierung lassen sich auf verschiedenen Wegen auslösen, einerseits zum Beispiel endogen durch kurze Ischämien⁷, andererseits aber auch pharmakologisch durch Aktivierung von myokardialen Adenosin-⁸, α -adrenergen⁹, muskarinischen-¹⁰, Opioid-

^{11,12} oder Bradykininrezeptoren¹³ (pharmakologisch induzierte Präkonditionierung).

In folgenden Studien zum Beispiel fanden sich deutliche Hinweise auf die kardioprotektiven Effekte der frühen und späten Präkonditionierung auch an menschlichem Myokard. Arstall et al. zeigten an isolierten menschlichen Herzmuskelzellen protektive Effekte sowohl durch eine frühe als auch durch eine späte Präkonditionierung in vitro.¹⁴ In einer retrospektiven Datenauswertung von Patienten mit akutem Myokardinfarkt stellten Klöner et al. fest, dass diejenigen Patienten, die in den Tagen vor ihrem Infarktereignis eine Angina-Pectoris-Symptomatik (Präinfarktangina) verspürt hatten, ein signifikant kleineres Infarktareal als die Patienten der Vergleichsgruppe ohne vorausgegangene Symptomatik aufwiesen. Dieses wurde als Effekt der späten Präkonditionierung gewertet.^{15,16}

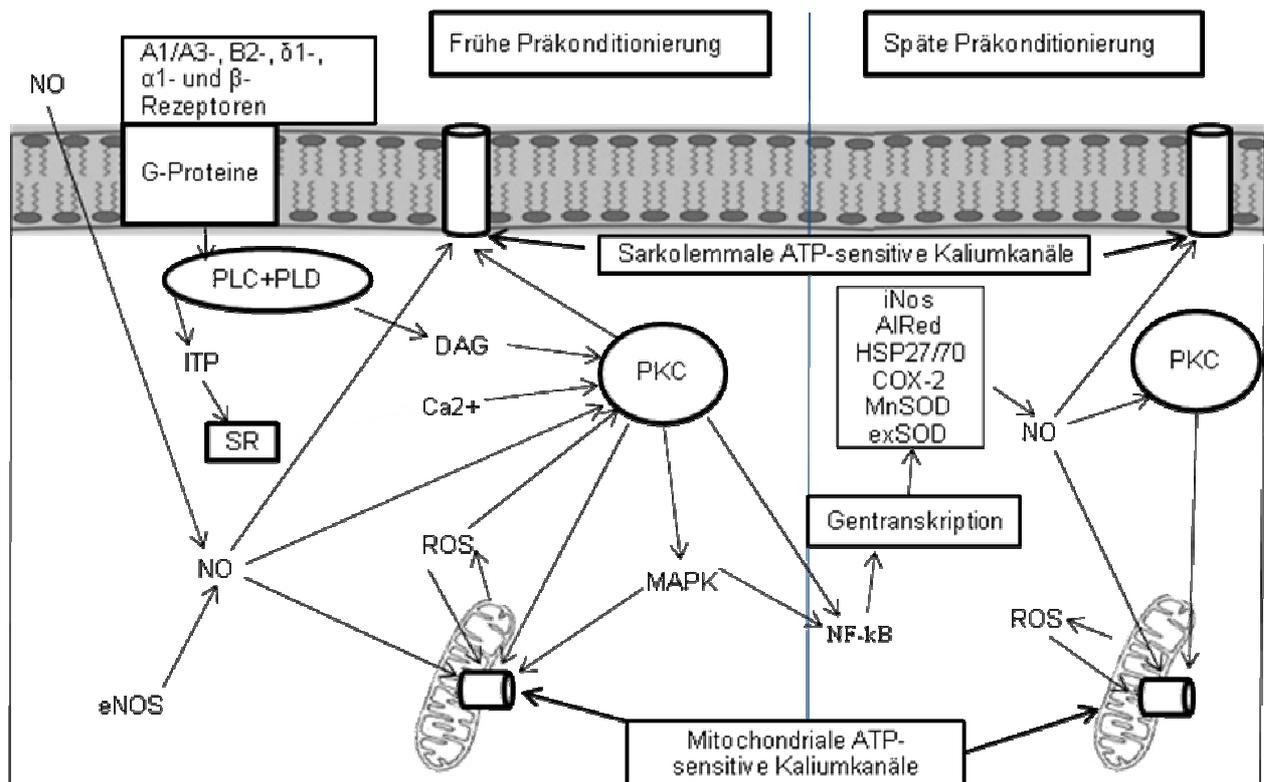
Klinische Beobachtungen an koronarkranken Patienten stützen die Annahme, dass auch die frühe ischämische Präkonditionierung einen für Menschen bedeutenden Protektionsmechanismus darstellt. So ermöglicht das sogenannte „warm-up-Phänomen“¹⁷ einem Patienten, eine initial wegen Angina pectoris abgebrochene Belastung nach einem belastungsfreien Intervall ohne Beschwerden erneut durchzuführen. Einen weiteren Hinweis auf den kardioprotektiven Effekt der frühen ischämischen Präkonditionierung gibt die Beobachtung, dass im Rahmen einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) das Ausmaß der pektanginösen Beschwerdesymptomatik und der elektrokardiographisch nachweisbaren Ischämiezeichen während einer wiederholten Ballonangioplastie im Vergleich zur ersten signifikant vermindert ist.¹⁸

Es wird deutlich, von welcher erheblicher klinischer Relevanz die Aufklärung der zugrundeliegenden Pathomechanismen von früher und

später Präkonditionierung ist. So könnte man sich deren kardioprotektive Effekte gezielt zu Nutzen machen. Denkbar wäre einerseits der Einsatz von Medikamenten, die eine pharmakologisch Präkonditionierung induzieren oder eine endogene ischämische Präkonditionierung verstärken können, zum Beispiel im Rahmen kardialer Eingriffe, bei denen Ischämie- Reperfusionssituationen zu erwarten sind. Andererseits könnte man den Einsatz solcher Substanzen vermeiden, die diese kardioprotektiven Effekte blockieren. Für koronarkranke Patienten wäre außerdem eine Dauertherapie mit Medikamenten vorstellbar, die eine pharmakologische Präkonditionierung induzieren und somit eine medikamentöse Kardioprotektion bewirken.

Bisher konnten aber trotz zahlreicher Untersuchungen die der frühen und späten Präkonditionierung zugrunde liegenden genauen Mechanismen auf zellulärer Ebene noch nicht vollständig geklärt werden. Abbildung 1 zeigt den bisher postulierten Signaltransduktionsweg der frühen und späten Präkonditionierung.

Für den kardioprotektiven Effekt der frühen ischämischen Präkonditionierung ist die Öffnung der mitochondrialen Adenosin-tri-Phosphat-(ATP)-abhängigen Kaliumkanäle (K_{ATP} -Kanäle) wesentlich. Über die Freisetzung von Sauerstoffradikalen^{19,20} kommt es zur Aktivierung der Proteinkinase C^{21,22}, was wiederum zu einer Aktivierung von Tyrosinkinasen^{23,24} und Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAP-Kinasen²⁵) führt. Diese sind ihrerseits als Trigger und/oder Mediatoren der Protektion wesentlich.^{26,27,28}



Adenosin A1 und A3 (A1/A3), Bradykinin 2 (B2), δ 1-opioid (δ 1), α 1-adrenerge (α 1) and β -adrenerge (β) Rezeptoren, Phospholipase C und D (PLC+PLD), inhibitorische Guanin-nucleotidbindende Proteine (G Proteine). Diazylglyzerol (DAG), Inositol-1,4,5-triphosphat (ITP), aktivierte Protein Kinase C (PKC), Mitogen-aktivierte Protein Kinasen (MAPK). Stickstoffmonoxid (NO), endotheliale NO-Synthase (eNOS), Reaktive Sauerstoffspezies (ROS), Sarkoplasmatisches Retikulum (SR), der Transkriptor NF-kB, induzierbare NO-Synthase (iNOS), Aldosereduktase (AIRed), Hitzeschockproteine (HSP), Cyclooxygenase 2 (COX-2), Mangan-Superoxiddismutase (MnSOD), extrazelluläre Superoxiddismutase (exSOD)

Abbildung 1: An der Auslösung der frühen bzw. späten Präkonditionierung beteiligte Signaltransduktionsketten

Bekannt ist außerdem, dass auch verschiedene Anästhetika einen Einfluss auf den ATP-abhängigen Kaliumkanal haben. Die Kenntnis der genauen Effekte der üblicherweise zur Narkoseführung eingesetzten Anästhetika auf die myokardiale Präkonditionierung wäre demnach insbesondere bei Operationen, in denen myokardiale Ischämie-Reperfusionssituationen zu erwarten sind, von erheblicher Bedeutung. In zurückliegenden Untersuchungen, sowohl in vitro als auch in vivo, wurde festgestellt, dass der Effekt der klassischen Präkonditionierung auch durch die Gabe von halogenisierten Inhalationsanästhetika, zum Beispiel Sevofluran, hervorgerufen werden kann.²⁹⁻³⁵ Auch eine klinische

Untersuchung von Belhomme et al. zeigte, dass volatile Anästhetika über den Mechanismus einer pharmakologisch induzierten frühen Präkonditionierung eine Verminderung des Myokardschadens (Reduktion der postoperativen Troponin I- und Kreatinkinase CK-MB-Freisetzung) bewirken können.³⁶ Eine Studie von Julier et al. ergab, dass durch Sevofluran-Präkonditionierung im Rahmen von koronaren Bypass-Operationen deutlich weniger brain natriuretic peptide (BNP), ein sensitiver biochemischer Marker der myokardialen Dysfunktion, als in der Placebogruppe freigesetzt wurde.³⁷ In einer weiteren Arbeit der gleichen Arbeitsgruppe kam es bei den mit Sevofluran präkonditionierten Patienten zu weniger kardialen Spät ereignissen (Infarkte, Arrhythmien, plötzlicher Herztod, Herzinsuffizienz) als bei der Kontrollgruppe innerhalb des Beobachtungszeitraumes von einem Jahr.³⁸ Cromheecke et. al. stellten in ihrer Arbeit fest, dass es auch bei Aortenklappenersatz-Operationen bei höhergradigen Aortenklappenstenosen durch eine Präkonditionierung mit Sevofluran postoperativ zu einem deutlich höheren Schlagvolumen und zu einer geringeren Troponin-I-Ausschüttung kam als in der Kontrollgruppe mit Propofol.³⁹

Die genauen Abläufe, die die frühe pharmakologische Präkonditionierung durch volatile Anästhetika induzieren, sind bisher nur unzureichend geklärt. Die Aktivierung von Adenosinrezeptoren⁴⁰, α - und β -adrenergen Rezeptoren⁴¹, inhibitorischen G-Proteinen⁴², der Proteinkinase C^{43,44} mit den Untergruppen alpha, delta und epsilon^{45,46}, Kalzium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II (CaMK II)⁴⁷, die Protein Tyrosin Kinasen (PTKs)⁴⁸, die mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK) p38⁴⁹ wie auch die Generation von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS)⁵⁰⁻⁵³ und die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen^{44,54} sind jedoch ebenso wesentlich wie bei der ischämischen (endogenen) Präkonditionierung.

K_{ATP} -Kanäle wurden erstmals 1983 in kardialen ventrikulären Myozyten beschrieben.⁵⁵ Zu Beginn wurde der Beeinflussung sarkolemmaler K_{ATP} -Kanälen (s K_{ATP} -Kanäle) ein kardioprotektiver Effekt zugeschrieben.⁵⁶ Nachdem im Verlauf eigenständige mitochondriale K_{ATP} -Kanäle (m K_{ATP} -Kanäle) entdeckt und sowohl für die sarkolemmalen als auch die mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle spezifische Blocker [Hoechst-*Marion-Roussel* 1098 (HMR-1098) und 5-Hydroxydecanoat (5-HD)] entwickelt wurden, ergaben sich Hinweise, dass die mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle die größere Rolle bei der Kardioprotektion spielen.^{57, 58} Viele Studien der letzten Jahre konnten eine Beteiligung beider K_{ATP} -Kanäle zeigen.
31,59,60,61

Auch die Signal-Transduktions-Kaskade von klassischer und später Präkonditionierung unterscheidet sich deutlich. Jedoch konnte sowohl bei der ischämisch als auch der pharmakologisch induzierten frühen und späten Präkonditionierung die Aktivierung von mitochondrialen und/oder sarkolemmalen K_{ATP} -Kanälen als ein Schlüsselmechanismus nachgewiesen werden.^{62,63}

Obwohl beide Phasen der endogenen Präkonditionierung gut beschrieben sind, weiß man bislang wenig über eine potentielle Interaktion der beiden protektiven Effekte und der zugrunde liegenden Mechanismen. Ergebnisse aus unserem Labor zeigten zusätzliche kardioprotektive Effekte durch die Kombination klassischer und später Präkonditionierung, wobei die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen eine entscheidende Rolle spielt.⁶³

Ungeklärt hingegen ist, ob sich eine durch LPC induzierte Kardioprotektion durch eine zusätzliche, pharmakologisch induzierte Präkonditionierung (PC) mit Sevofluran noch weiter steigern lässt.

Folglich sollte in dieser Studie untersucht werden, ob es erstens eine mögliche Interaktion zwischen später und Sevofluran-induzierter

Präkonditionierung gibt, sowie zweitens, ob die Öffnung der mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle bei dieser Kombination die Protektion vermittelt. Hierzu wurde der selektive mitochondriale K_{ATP} -Kanal-Blocker 5-HD verwendet.

Methoden

Die Studie berücksichtigt die von der „American Physiological Society“ veröffentlichten Richtlinien zur Pflege und Nutzung von Tieren. Die Genehmigung für die der Arbeit zugrunde liegenden Tierversuche wurde durch die Bezirksregierung Düsseldorf erteilt.

In einer ersten Operation wurde unseren Versuchstieren ein Koronararterienokkluder implantiert, der zunächst nicht verschlossen wurde, so dass der Blutfluss in den Koronarien noch nicht beeinträchtigt war.

Nach 10 Tagen Erholungszeit wurde bei den Tieren der LPC-, der LPC+EPC-, der LPC+Sevo und der LPC+Sevo+5-HD-Gruppen durch Verschluss des Okkluders eine regionale Myokardischämie zur Induktion der späten Präkonditionierung am wachen Tier ausgelöst (siehe LPC-Protokoll). 24 Stunden später wurden die Tiere dieser Gruppen erneut operiert und ebenso wie die Tiere der Kontroll- und Sevo-Gruppe zur Messung der hämodynamischen Parameter instrumentiert (siehe LPC- und Myokardinfarkt-Protokoll). In der Gruppe LPC+EPC erfolgte ergänzend eine frühe Präkonditionierung, ebenfalls durch Verschluss des Okkluders mit nachfolgender Ischämie. Die Tiere der Sevo-, LPC+Sevo- und der LPC+Sevo+5-HD-Gruppen wurden medikamentös mit Sevofluran allein oder zusammen mit 5-Hydroxycanoat behandelt.

Chirurgische Präparation

(zur Implantation des Koronararterienokkluders)

Die chirurgische Präparation erfolgte in einer, in unserem Labor bereits in mehreren Versuchsreihen durchgeführten Art und Weise, erstmals beschrieben durch Fräßdorf⁶⁴.

Bei 82 weißen Neuseeländerkaninchen mit einem Körpergewicht (KG) von 2,4 - 3,2 kg (Mittelwert 2,8 kg) punktierten wir nach Lokalanästhesie mit einer Lidocain- und Prilocainhaltigen Salbe (EMLA[®]) eine laterale Ohrvene und legten dorthinein eine Venenverweilkanüle, worüber die intravenöse (i.v.) Anästhesie mit Xylazin (Stresnil[®], 6 mg/kg KG), Ketamin (Ketanest[®], 6 mg/kg KG) und Propofol (DISOPRIVAN[®], 10 mg/kg KG) eingeleitet wurde. Anschließend erfolgte die endotracheale Intubation (Tubus 3,0 mm Innendurchmesser) und zunächst eine manuelle Beatmung mit einem Neugeborenen-Beatmungsbeutel. Dann rasierten wir die linke Thoraxwand, desinfizierten die Haut mit einem Antiseptikum (BRAUNOL[®]) und brachten die Tiere in den Operationssaal.

Alle chirurgischen Eingriffe an den Kaninchen wurden unter größter Sorgfalt in Bezug auf die Einhaltung steriler Bedingungen durchgeführt, zudem erhielten die Tiere als antibiotische Prophylaxe präoperativ Cephazolin (GRAMAXIN[®], 35 mg / kg KG) i.v.

Für die Dauer der Operation wurden die Kaninchen dann maschinell beatmet (Sulla 808, Dräger AG, Lübeck, Deutschland), wobei die Beatmungsfrequenz zwischen 30-35/min mit einem Hubvolumen zwischen 15 und 20 ml lag und mittels Kapnometrie (Datex Capnomac Ultima, Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland) kontrolliert wurde. Angestrebt wurde hierfür ein endexpiratorischer Kohlendioxidpartialdruck (etCO₂) von 35 mmHg. Die ausreichende

Narkosetiefe wurde durch regelmäßige Kontrolle der nun fehlenden Muskelreflexe überwacht und durch Propofol-Bolusgaben nach Bedarf eingestellt.

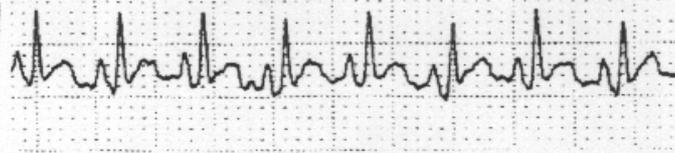
Zunächst eröffneten wir nach einer linksseitigen lateralen Thorakotomie im vierten Interkostalraum das Perikard durch eine kleine Inzision. Anschließend wurde ein Hauptast der linken Koronararterie identifiziert und mit einer atraumatischen Nadel (Ethicon 5/0, 1-metrisch, TF) mit zwei 5-0 Prolene-Nähten in einem Abstand von maximal 1 mm zwischen den beiden Ligaturen umstochen. Zumeist erfolgte dieser Eingriff am Hauptast der linken Koronararterie im ersten Viertel der Strecke von der Herzbasis bis zur Herzspitze. Dann wurde ein Spiraltubus (2,5 mm innerer Durchmesser, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) mit einem Ende intrathorakal nahe der beiden Koronararterienumstechungen platziert, dort mit dem Perikard vernäht und dann subkutan getunnelt zwischen den beiden Schulterblättern ausgeleitet und an der Haut fixiert. Die beiden Fadenpaare wurden durch den Tubus nach extern gezogen und das Tubuslumen dann mit Vaseline luftdicht verschlossen, um der Entstehung eines Pneumothorax vorzubeugen. Schließlich wurde der Thorax schichtweise verschlossen, das Operationsgebiet mit einem sterilen Verband abgedeckt und zusätzlich mit einer Weste (Kaninchen-Weste, Größe M, Byron, Grand Island, NY, USA) geschützt.

Die postoperative Analgesie bestand aus Piritramid (DIPIDOLOR[®], 2 mg/kg KG), zudem erhielten die Tiere eine antibiotische Infektionsprophylaxe mit Amoxicillin (DUPHAMOX[®], 15 mg/kg KG) als Einmalgabe.

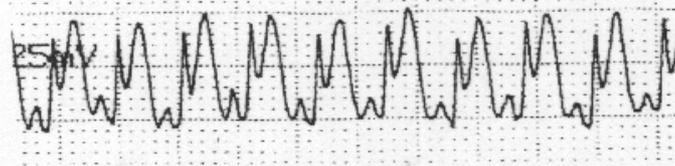
LPC-Protokoll

Nach einer Erholungsphase von 10 Tagen wurde durch Zug an dem ersten Paar der Fäden der Koronararterienokkluder für fünf Minuten verschlossen und damit der Blutfluss in dem betroffenen Ast der Koronararterie unterbrochen, was eine reversible Ischämie im distalen Versorgungsgebiet zur Folge hatte. Kontrolliert und verifiziert wurde dieses mittels Ableitung eines Elektrokardiogramms (EKG) (SC 9000, Siemens AG, Düsseldorf, Deutschland), in dem sich unmittelbar nach Okklusion des Koronararterienastes ischämietypische ST-Streckenhebungen zeigten. Nach Ablauf der fünf Minuten wurde durch Öffnung des Okkluders die induzierte Ischämie beendet und zudem der Faden entfernt, um eine sichere Reperfusion zu gewährleisten. Der Nachweis der erfolgreichen Wiederherstellung des koronaren Blutflusses erfolgte wiederum im EKG, das einen Rückgang der ST-Streckenhebungen mit schließlich vollständiger Normalisierung des Stromlinienverlaufes innerhalb von 5 Minuten bei jedem Tier abbildete (siehe Abbildung 2, wie bereits vorbeschrieben bei Fräβdorf ⁶⁴).

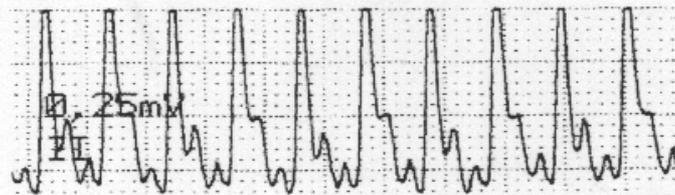
Ausgangsbedingungen



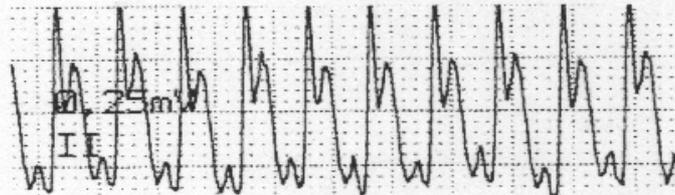
1 Minute Okklusion



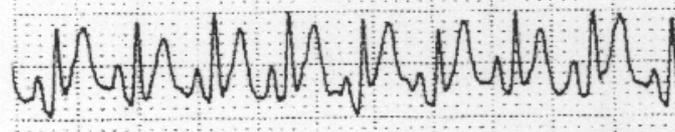
3 Minuten Okklusion



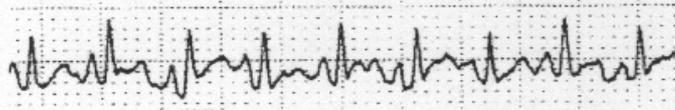
5 Minuten Okklusion



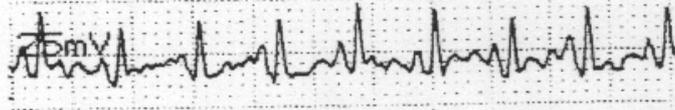
1 Minute Reperfusion



3 Minuten Reperfusion



5 Minuten Reperfusion



**Abbildung 2: Beispielhaftes EKG während der späten
Präkonditionierung eines Versuchstieres
(mit freundlicher Genehmigung übernommen aus⁶⁴)**

Klassische Präkonditionierung und Myokardinfarktprotokoll

Nach intravenöser Narkoseeinleitung mit Propofol (10 mg/kg KG) wurden die Tiere endotracheal intubiert und maschinell beatmet, wie bereits oben beschrieben. Eine suffiziente Narkosetiefe wurde durch eine kontinuierliche Infusion von α -Chloralose (40 mg/kg KG/h) aufrechterhalten und anhand der Kontrolle fehlender Muskelbewegungen und –reflexe und ausbleibender hämodynamischer Reaktionen auf chirurgische Stimuli überwacht. Regelmäßig wurden präoperativ, vor, und nach der Studie außerdem Blutgasanalysen, Hämoglobinkonzentrations- und Hämatokritbestimmungen durchgeführt, zudem erfolgten Oberflächen-EKG-Ableitungen.

Die im Folgenden näher beschriebene Instrumentierung zur Bestimmung verschiedener hämodynamischer Parameter ist in Abbildung 3 anschaulich dargestellt worden (mit freundlicher Genehmigung aus⁶⁴).

Die Tiere erhielten zur Kompensation intraoperativer Flüssigkeitsverluste eine Dauerinfusion einer 0,9%igen NaCl-Lösung (15 ml/kg KG/h) über eine in der rechten Vena jugularis communis platzierte Venenverweilkanüle (VenflonTM, 1,2mm, Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden). Über einen durch die linke Arteria carotis communis in den Aortenbogen eingeführten, mit 0,9%iger Kochsalzlösung gefüllten 20-Gauge-Teflonkatheter, der mit einem Drucktransducer (PD 23, Gould, Cleveland, Ohio, USA) verbunden wurde, konnten intraaortale Druckmessungen durchgeführt werden. Mittels eines Ultraschallflussmesskopfes (4S, T208, Transonic System Inc., Ithaca, NY, USA), der nach medianer Thorakotomie und Eröffnung des Perikards um die Aorta ascendens gelegt wurde, konnte das Herzzeitvolumen (HZV) minus der Koronardurchblutung gemessen werden. Die Messung des linksventrikulären Druckes erfolgte über ein

Katheterspitzenmanometer (Sensodyn S PO SF-1, Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), das über den linken Vorhof in den linken Ventrikel platziert wurde. Zusätzlich führten wir Temperaturmessungen im Herzbeutel durch (GTH 1160, Digital Thermometer, Geisinger Elektronik, Deutschland). Die intraperikardiale Temperatur wurde mit Hilfe einer Wärmematte und einer Infrarotlampe zwischen 38,3 °C und 38,7 °C konstant gehalten.

Das noch in situ befindliche zweite Paar Fäden um den Koronararterienast wurde freipräpariert und mit einem Plastikröhrchen übergezogen, womit der Koronararterienast sowohl für die Auslösung des EPC (5 Minuten) als auch für die Auslösung der Ischämie (30 Minuten) verschlossen werden konnte.

Am Ende der Präparation erhielten die Kaninchen 500 i.E. Heparin (LIQUEMIN®).

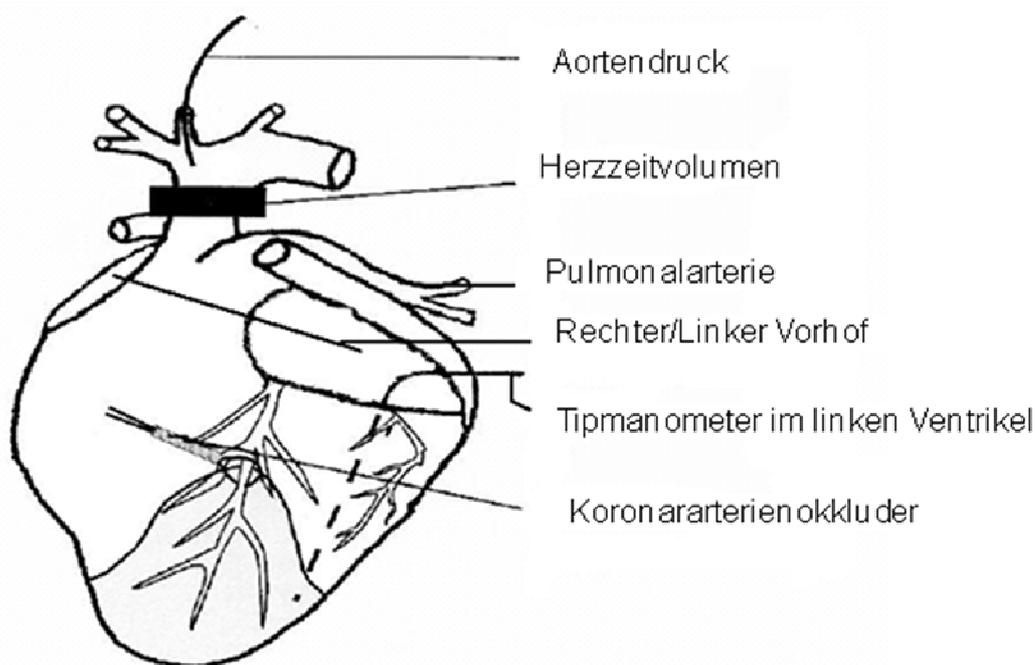


Abbildung 3: Instrumentierung des Herzens zur Bestimmung der hämodynamischen Messvariablen (mit Genehmigung kopiert aus⁶⁴)

Die ersten hämodynamischen Messungen wurden 20 Minuten nach Ende der Präparation durchgeführt. Die hämodynamischen Messwerte wurden während des Versuchsablaufes kontinuierlich erhoben.

Durch Verschluss des Koronararterienastes ließ sich die frühe Präkonditionierung induzieren. Der sichere Verschluss war durch eine gut erkennbare, umgehend nach Okklusion auftretende, bläulich livide Verfärbung des Epikards im abhängigen Versorgungsgebiet sowie durch die ebenfalls sofort sich demarkierenden ischämietypischen ST-Strecken-Hebungen im EKG nachweisbar.

Nach fünf Minuten anhaltender Koronarokklusion folgte durch Öffnen des Okkluders eine 10-minütige Reperfusionphase, in der sowohl die Perikardzyanose als auch die EKG-Veränderungen vollständig rückläufig waren.

Bei den Gruppen Sevo, LPC+Sevo und LPC+Sevo+5-HD verabreichten wir anstelle der klassischen Präkonditionierung Sevofluran in einer minimalen alveolären Konzentration (MAK) von 2% (entspricht 1 MAK) über die Dauer von fünf Minuten, in diesen Gruppen folgte dann noch eine Auswaschphase für die Dauer von 10 Minuten.

Anschließend führten wir, dieses nun bei allen Tieren in gleicher Weise, durch Zuziehen des verbliebenen zweiten Fadenpaares eine Koronararterienokklusion mit nachfolgender Ischämie für die Dauer von 30 Minuten herbei. An diese Ischämiephase schloss sich eine 120-minütige Reperfusionphase an, die Erfolgskontrolle fand wieder wie bereits oben beschrieben statt. Kam es hierbei zu Kammerflimmern, so erfolgte sofort eine interne elektrische Defibrillation (5J, DCS 261 Defibrillator, Piekser, Ratingen, Deutschland).

Infarktgrößenbestimmung

Nach Ende der zweistündigen Reperfusionphase injizierten wir 20 ml eiskalte Kaliumchloridlösung (16 mmol/l) direkt in den linken Vorhof und verursachten damit einen Herzstillstand, wonach die Herzen zügig explantiert und an eine modifizierte Langendorff-Apparatur überführt wurden. Hiermit konnten über eine Knopfkanüle und einen Dreiwegehahn die Koronarien luftfrei retrograd über die Aortenwurzel perfundiert werden. Zunächst wurden Blutreste aus den Koronargefäßen gewaschen, indem das Herz für fünf Minuten mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung mit einem Perfusionsdruck von 40 cm Wassersäule perfundiert wurde. Es folgte dann bei erneut verschlossenem Koronararterienokkluder die Perfusion des Herzens mit einer 0,2%igen Evans-Blau-Lösung für 10 Minuten (Perfusionsdruck ebenfalls 40 cm Wassersäule). Nach weiterer Spülung der Koronarien mit physiologischer Kochsalzlösung, wodurch die Farblösung intravasal ausgewaschen wurde, demarkierte sich nun gut erkennbar das Ischämie-Reperfusion-Gewebe (Risikogebiet) als ungefärbtes Areal.

Die Präparate wurden im Eisfach eingefroren und zur weiteren Aufbereitung transversale Schnitte in 2 mm Schichtdicke angefertigt. Anschließend wurde der rechte Ventrikel entfernt, da sich die Auswertungen unserer Studie ausschließlich auf den linken Ventrikel beziehen. Nach Inkubation der Schnitte für 15 Minuten in einer gepufferten 0,75%igen Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung bei 38 °C stellte sich schließlich vitales Gewebe rotgefärbt dar, während das nekrotische Gewebe nicht angefärbt wurde. Abbildung 4 zeigt ein Beispiel eines Schnittes des linken Ventrikels nach Aufbereitung und Färbung. Der obere blau gefärbte Anteil ist vitales Myokardgewebe, der

weiße Bereich stellt das Infarktgebiet dar, welches von rot angefärbtem Risikogebiet umgeben ist.

Die Größenbestimmung von linkem Ventrikel, Risikogebiet und tatsächlicher Infarktzone erfolgte mittels EDV-unterstützter Planimetrie. Nach 24 Stunden im Wärmeschrank bei 45 °C wurden alle Scheiben schließlich gewogen und es wurden so ihre jeweiligen Trockengewichte bestimmt, die dann ins Verhältnis zu den durch die Planimetrie bestimmten Flächen gesetzt wurden, um so das Gewicht der einzelnen Scheiben errechnen zu können.

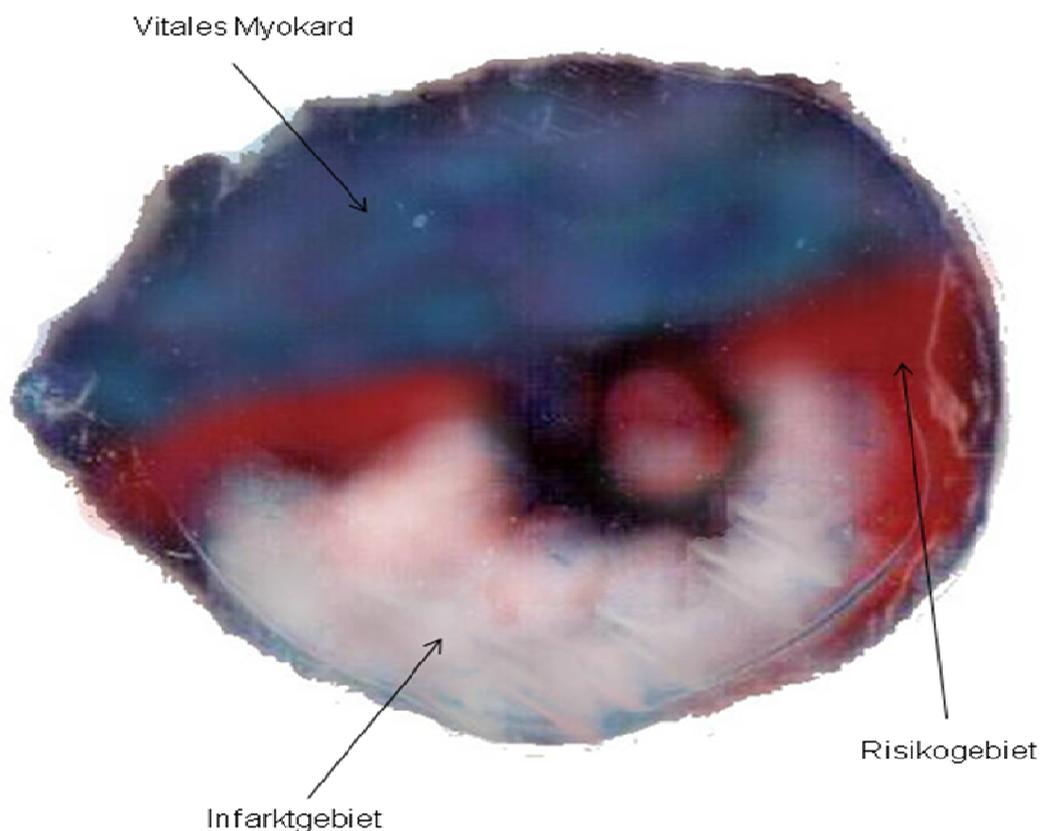
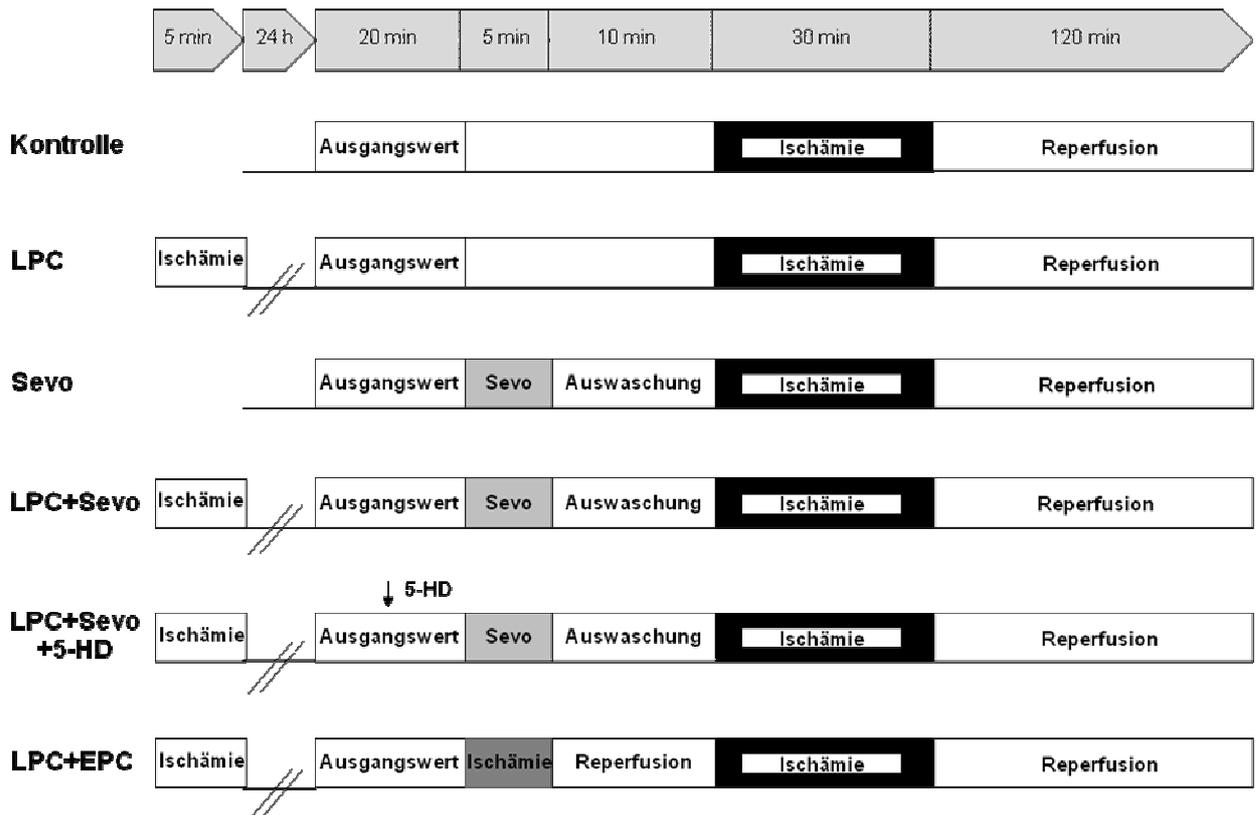


Abbildung 4: Schnitt des linken Ventrikel nach Aufbereitung und Färbung

Studienprotokoll

Die 73 Kaninchen wurden vor dem ersten Eingriff in sechs Versuchsgruppen randomisiert. In Abbildung 5 ist das Versuchsprotokoll schematisch für die einzelnen Gruppen über den Zeitverlauf dargestellt. Bei allen Versuchstieren folgte am Ende des Protokolls auf die 30-minütige, per Verschluss des Koronarokkluders induzierte regionale Myokardischämie, eine zweistündige Reperfusionphase.

Die Tiere der Kontrollgruppe (Gruppe Kon, n=14) wurden zuvor keiner weiteren Behandlung unterzogen. Bei den Tieren der LPC-Gruppe (n=15) erfolgte 24 Stunden vor der 30-minütigen Myokardischämie eine Präkonditionierung durch eine Koronarokklusion über fünf Minuten am wachen Tier. Kaninchen der Sevo-Gruppe (n=15) erhielten 10 Minuten vor der 30-minütigen Ischämie inhalativ Sevofluran in einer endtidalen Konzentration von 1 MAK über die Dauer von fünf Minuten. In der LPC+Sevo-Gruppe (n=10) erfolgte 24 Stunden vor der Sevoflurangabe zusätzlich eine späte Präkonditionierung. Die Kaninchen der LPC+Sevo+5-HD-Gruppe (n=10) erhielten 10 Minuten vor der Sevoflurangabe intravenös den K_{ATP} -Kanal-Blocker 5-HD (5 mg/kg KG), um die Rolle der K_{ATP} -Kanäle im Rahmen der späten Präkonditionierung zu untersuchen. In der LPC+EPC-Gruppe (n=9) wurde im Abstand von 24 Stunden erst spät und dann früh präkonditioniert, gefolgt von einer 10-minütigen Reperfusionphase, bevor das Studienprotokoll mit der 30-minütigen Ischämie fortgesetzt wurde.



LPC = späte Präkonditionierung; Sevo = Sevofluran; 5-HD = 5-Hydroxydecanoat; EPC = frühe Präkonditionierung; h = Stunde; min = Minute; (Gruppen: Kontrolle n=14, LPC n=15, LPC+EPC n=9, LPC+Sevo n=10, Sevo n=15, LPC+Sevo+5-HD n=10)

Abbildung 5: Studienprotokoll

Datenverarbeitung

Den Aortendruck (AOP), das Herzzeitvolumen (HZV), den linksventrikulären Druck und dessen erste Ableitung nach der Zeit (dP/dt) zeichneten wir kontinuierlich mit einem Mehrkanaltintenschreiber (Recorder 2800, Gould Inc., Cleveland, Ohio, USA) auf. Die Daten wurden dann zu den Messzeitpunkten mittels eines Analog-Digital-Konverters (Data Translation, Marlboro, MA, USA) mit einer Übertragungsfrequenz von 500 Hertz digitalisiert und später an einem Personalcomputer weiterverarbeitet.

Hämodynamische Variablen

Als Maß für die globale systolische Funktion wurden der linksventrikuläre Spitzendruck (LVSD) und die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) gemessen. Das Minimum des dP/dt (dP/dt_{min}) definierte das Ende der Systole und der steile Anstieg des dP/dt_{max} das Ende der Diastole. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDD) und die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation (τ) wurden als Variablen zur Bestimmung der linksventrikulären diastolischen Funktion herangezogen. Die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation errechneten wir anhand folgender Formel:

$$P(t) = P_0 \cdot \exp(-t/\tau),$$

wobei P_t der Druck zum Zeitpunkt t ist, P_0 der LVEDD und τ die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation.

Das Frequenz-Druck-Produkt (FDP) als wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches wird aus dem Produkt aus Herzfrequenz (HF) und LVSD berechnet. Aus dem mittleren Aortendruck (AOP_{mean}) und dem HZV berechneten wir den systemischen vaskulären Widerstand (SVR), wobei der rechtsatriale Druck bei geöffnetem Thorax als 0 mmHg angenommen wurde.

Statistische Analysen

Alle Daten sind als Mittelwert mit Standardabweichung (SD) angegeben. Die Bestimmung der statistischen Analysen der Infarktgrößen erfolgten durch den Student's t-Test bei gleicher Abweichung oder durch den Alternate Welch t-Test bei unterschiedlicher Abweichung mit Bonferroni-Holmes-Korrektur.

Die 2-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) für Zeit- und Behandlungs-(Gruppen-) Effekte setzen wir zur statistischen Analyse der hämodynamischen Messungen ein. Zeigte sich eine Signifikanz zwischen den Gruppen, so führten wir für den betreffenden Zeitpunkt eine Einwegsvarianzanalyse mit anschließendem Student's t-Test mit Bonferroni-Holmes-Korrektur für Mehrfachvergleiche durch. Zeiteffekte innerhalb einer Gruppe wurden durch eine Einwegsvarianzanalyse mit anschließendem Dunnetts Post-Hoc-Test mit dem Ausgangswert als Kontrolle analysiert.

Für alle erhobenen Messungen betrachteten wir Unterschiede ab einem P-Wert kleiner 0,05 als signifikant.

Ergebnisse

Wir begannen unsere Versuchsreihe an 82 Kaninchen, wobei die Untersuchungen nur an 73 Tieren vollständig wie geplant durchgeführt werden konnten, da neun der Kaninchen an therapierefraktärem Kammerflimmern während der durch Koronararterienokklusion hervorgerufenen myokardialen Ischämiephase oder in der Reperfusionsphase verstarben.

Die verbliebenen Tiere wurden randomisiert in sechs Gruppen eingeteilt: Bei den 15 Tieren der Gruppe LPC induzierten wir ausschließlich eine späte Präkonditionierung, bei den neun Tieren in der Gruppe LPC+EPC induzierten wir zusätzlich eine frühe Präkonditionierung. Die 10 Tiere in der Gruppe LPC+Sevo erhielten ergänzend zur späten Präkonditionierung das Medikament Sevofluran, die 15 Tiere in der Gruppe Sevo erhielten inhalativ Sevofluran ohne vorhergehende späte Präkonditionierung. In der Gruppe LPC+Sevo+5-HD bekamen die 10 Tiere zusätzlich zur späten Präkonditionierung neben Sevofluran auch 5-Hydroxydecanoat. Die Kontrollgruppe (Gruppe Kon) bestand aus 14 Tieren (siehe Abbildung 5: Studienprotokoll).

Hämodynamische Variablen

Zur Messung der Hämodynamik bestimmten wir das Herzzeitvolumen (HZV), die Herzfrequenz (HF) und den linksventrikulären Spitzendruck (LVSD) und daraus das Frequenz-Druck-Produkt (FDP) als wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches (Abbildung 6,7,8 und 9). Als weiterer Parameter für die globale systolische Funktion wurde die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) im linken Ventrikel gemessen. Des Weiteren erfolgte eine Beurteilung der

linksventrikulären diastolischen Funktion anhand des linksventrikulären enddiastolischen Druckes (LVEDD) und der Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation (τ) sowie eine Bestimmung des systemischen vaskulären Widerstand (SVR) aus dem mittleren Aortendruck (AOP_{mean}) und HZV (Tabelle 1).

Die Ausgangswerte der HF (Abbildung 6), des LVSD (Abbildung 7) und des HZV (Abbildung 8) unterschieden sich zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0 min) zwischen den einzelnen Gruppen nicht signifikant. Das FDP (Abbildung 9) wies somit ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Die Herzfrequenz der Tiere aller Gruppen lag im Mittel bei 256 ± 3 /min, das HZV bei 218 ± 13 ml/min und der LVSD bei 96 ± 5 mmHg. Für das FDP ergab sich zu diesem Zeitpunkt ein Mittelwert von $24,8 \pm 1,4$ mmHg $\text{min}^{-1} 10^3$.

Die intravenöse Bolusinjektion von 5 mg/kg KG 5-HD hatte keinen unmittelbaren Einfluss auf die hämodynamischen Parameter.

Die EPC in der Gruppe LPC+EPC wurde durch eine fünfminütige passagere Koronarokklusion induziert (Zeitpunkt 5 min). Diese reversible myokardiale Ischämie führte zu einer Abnahme des LVSD um 8% und des HZV um 10%, die Herzfrequenz blieb davon unbeeinflusst (Abbildung 7 und 8).

Die alleinige Sevofluran-Inhalation in der Gruppe Sevo führte zu einer Reduktion des LVSD um 6% und zu einem Anstieg des HZV um 12%, die Herzfrequenz ändert sich wiederum nicht signifikant.

Auch in den Gruppen LPC+Sevo und LPC+Sevo+5-HD führte die Sevofluranapplikation zu einem Abfall des LVSD, das HZV stieg und die Herzfrequenz blieb stabil.

In allen drei mit Sevofluran behandelten Gruppen kam es unter der Sevofluraninhalation zu einem Abfall sowohl des systemischen Gefäßwiderstandes um durchschnittlich 17% (Tabelle 1C) als auch der

maximalen linksventrikulären Druckerhöhungsgeschwindigkeit um durchschnittlich 17% (Tabelle 1B). Während der 10-minütigen Sevofluran-Auswaschphase waren diese Veränderungen in der Hämodynamik rückläufig, so dass sich insgesamt vor Beginn der 30-minütigen Myokardischämie kein signifikanter Unterschied zu den Ausgangswerten ergab.

In der LPC+EPC Gruppe zeigte sich ein Anstieg des SVR um 4% während der frühen Präkonditionierung. Vergleichbar zu den mit Sevofluran behandelten Gruppen wies die maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit einen Abfall von 19% auf. Auch diese Veränderungen waren während der folgenden 10-minütigen Reperfusionphase wieder rückläufig und so im Vergleich zu den Ausgangswerten nicht signifikant.

Im Verlauf der bei den Tieren aller Gruppen gleichermaßen durchgeführten 30-minütigen Koronararterienokklusion und des damit ausgelösten myokardialen Infarktgeschehens kam es in allen sechs Gruppen erwartungsgemäß zu Veränderungen in der Hämodynamik. So nahm der linksventrikuläre Spitzendruck fünf Minuten nach Verschluss des Koronararterienokkluders um im Mittel 7% ab (Abbildung 7), die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit verringerte sich um durchschnittlich 16% (Tabelle 1B) und das Herzzeitvolumen verringerte sich im Mittel um 10% (Abbildung 8) in allen Gruppen. Für das Frequenz-Druck-Produkt ergaben sich zwischen den einzelnen Gruppen während der gesamten 30-minütigen Myokardischämie keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 9).

Nach 25-minütiger Ischämiezeit zeigte sich außerdem eine Verschlechterung der linksventrikulären Relaxation mit einem Anstieg von τ um 24% und des linksventrikulären enddiastolischen Drucks (LVEDD) um 6 ± 5 mmHg (Tabelle 1A) gegenüber den Ausgangswerten.

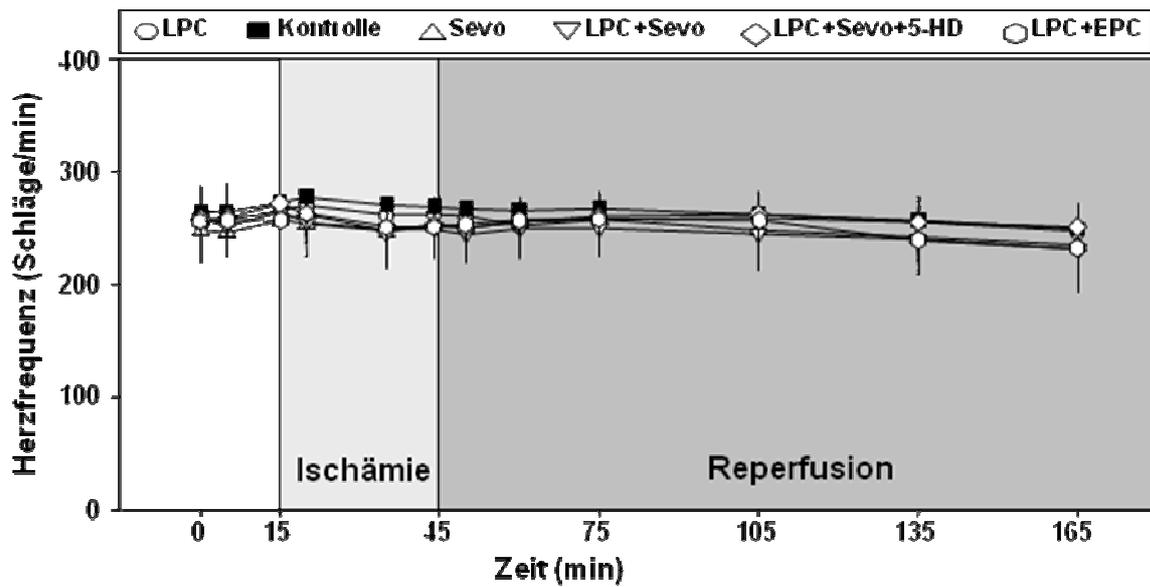
Nach Ablauf der zweistündigen Reperfusionphase blieb der LVEDD als Zeichen der anhaltend eingeschränkten linksventrikulären Relaxation im Mittel um $4,4 \pm 3,0$ mmHg erhöht. Auch die myokardiale Kontraktilität blieb am Ende der Reperfusionphase eingeschränkt, was sich in einer Verminderung des LVSD (Abbildung 7) und der dP/dt_{\max} (Tabelle 1B) widerspiegelte. Der Abfall des linksventrikulären Spitzendrucks im Vergleich zu den Ausgangswerten war statistisch signifikant ($P < 0,05$) für die Gruppen Sevo (- 26%), LPC+Sevo (- 25%) und LPC (- 28%). dP/dt_{\max} verringerte sich im Mittel in allen sechs Gruppen um 36% zu den Ausgangswerten. Das FDP als wesentliche Determinante für den myokardialen Sauerstoffverbrauch war am Ende der Reperfusionphase in allen Gruppen im Mittel um 21% im Vergleich zu den Ausgangswerten erniedrigt (Abbildung 9).

Zusammenfassend zeigte sich am Ende der Reperfusionphase eine signifikante Reduktion der myokardialen Kontraktilität nach Behandlung mit Sevofluran sowohl mit als auch ohne vorhergehende späte Präkonditionierung (Gruppe Sevo und LPC+Sevo). Auch die alleinige späte Präkonditionierung (Gruppe LPC) führte zu einer anhaltenden Einschränkung der myokardialen Kontraktilität.

| | Ausgangswert | SEVO/EPC | Auswaschung | Ischämie | | | Reperfusion | | |
|--|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--|
| | 0 | 5 | 15 | 5 | 25 | 5 | 30 | 120 | |
| A: LVEDD (mmHg) | | | | | | | | | |
| Kontrolle | 5,4 ± 5,2 | 5,5 ± 5,7 | 6,7 ± 5,9 | 10,0 ± 7,6 | 9,1 ± 5,2 | 9,6 ± 5,6 | 8,4 ± 5,2 | 8,1 ± 5,1 | |
| LPC | 5,1 ± 3,2 | 5,2 ± 3,1 | 6,6 ± 2,9 | 9,5 ± 7,7 | 13,7 ± 8,2 | 13,2 ± 8,3 | 12,9 ± 10,4 | 13,2 ± 8,9 | |
| SEVO | 3,9 ± 3,5 | 4,4 ± 4,0 | 5,1 ± 4,9 | 5,9 ± 5,0 | 7,3 ± 6,1 | 7,1 ± 5,8 | 6,5 ± 5,4 | 5,9 ± 4,4 | |
| LPC+SEVO | 2,7 ± 1,8 | 7,4 ± 6,4 | 8,4 ± 4,7 | 7,5 ± 4,6 | 7,3 ± 4,6 | 8,8 ± 8,2 | 4,8 ± 4,3 | 6,2 ± 4,5 | |
| LPC+SEVO+5-HD | 5,2 ± 3,7 | 7,0 ± 4,7 | 7,0 ± 4,2 | 9,1 ± 6,0 | 7,7 ± 4,2 | 9,3 ± 3,9 | 7,7 ± 3,8 | 10,0 ± 6,9 | |
| LPC+EPC | 3,1 ± 1,8 | 6,6 ± 5,7 | 4,3 ± 2,5 | 8,5 ± 7,7 | 9,2 ± 7,7 | 10,3 ± 6,6 | 7,7 ± 5,0 | 6,8 ± 4,4 | |
| B: dP/dtmax (mmHg s⁻¹) | | | | | | | | | |
| Kontrolle | 4538 ± 1588 | 4671 ± 1536 | 4956 ± 1555 | 4075 ± 1348 | 3907 ± 1580 | 3339 ± 1557 | 4003 ± 1621 | 2995 ± 1243 | |
| LPC | 3906 ± 1370 | 4025 ± 1406 | 4087 ± 1250 | 3514 ± 1104 | 3269 ± 984 | 2729 ± 1082 | 2720 ± 1015 | 2257 ± 976* | |
| SEVO | 4228 ± 1730 | 3633 ± 1744 | 4385 ± 1694 | 3424 ± 1197 | 3528 ± 1332 | 2989 ± 1271 | 3300 ± 1413 | 2255 ± 1025* | |
| LPC+SEVO | 4231 ± 1269 | 3347 ± 1500 | 4579 ± 1119 | 3480 ± 1322 | 3278 ± 1284 | 3004 ± 1276 | 3006 ± 1193 | 2391 ± 1141* | |
| LPC+SEVO+5-HD | 4599 ± 1540 | 3887 ± 1420 | 4942 ± 1516 | 3314 ± 1517 | 3352 ± 1451 | 3180 ± 1246 | 3534 ± 1121 | 2710 ± 972 | |
| LPC+EPC | 4122 ± 1031 | 3351 ± 1262 | 3982 ± 1364 | 3673 ± 1403 | 3484 ± 1420 | 3402 ± 1331 | 4267 ± 959 | 3792 ± 1056 | |
| C: SVR (mmHg min l⁻¹) | | | | | | | | | |
| Kontrolle | 402 ± 117 | 403 ± 76 | 405 ± 107 | 445 ± 159 | 413 ± 110 | 406 ± 118 | 394 ± 93 | 376 ± 141 | |
| LPC | 347 ± 94 | 355 ± 89 | 365 ± 87 | 396 ± 84 | 414 ± 141 | 343 ± 76 | 358 ± 101 | 331 ± 115 | |
| SEVO | 412 ± 156 | 347 ± 161 | 404 ± 171 | 415 ± 126 | 420 ± 175 | 383 ± 139 | 386 ± 150 | 328 ± 115 | |
| LPC+SEVO | 407 ± 116 | 345 ± 104 | 437 ± 122 | 438 ± 127 | 391 ± 83 | 347 ± 51 | 334 ± 64 | 327 ± 77 | |
| LPC+SEVO+5-HD | 367 ± 99 | 293 ± 64 | 373 ± 85 | 384 ± 179 | 310 ± 40 | 305 ± 55 | 304 ± 48 | 305 ± 91 | |
| LPC+EPC | 364 ± 96 | 379 ± 123 | 366 ± 78 | 396 ± 103 | 425 ± 190 | 356 ± 104 | 408 ± 144 | 379 ± 91 | |
| D: τ (ms) | | | | | | | | | |
| Kontrolle | 19,8 ± 13,8 | 20,4 ± 13,7 | 20,5 ± 14,1 | 24,5 ± 17,6 | 28,2 ± 31,0 | 24,2 ± 20,2 | 22,6 ± 18,2 | 27,9 ± 26,1 | |
| LPC | 20,4 ± 12,2 | 19,9 ± 11,0 | 19,6 ± 9,1 | 23,0 ± 12,5 | 23,6 ± 12,3 | 18,6 ± 4,6 | 18,3 ± 4,3 | 27,2 ± 12,3 | |
| SEVO | 17,2 ± 11,6 | 17,1 ± 9,9 | 18,8 ± 10,7 | 20,2 ± 9,8 | 22,1 ± 10,3 | 21,0 ± 9,4 | 21,2 ± 10,6 | 29,5 ± 17,6 | |
| LPC+SEVO | 15,6 ± 2,5 | 16,0 ± 2,9 | 15,8 ± 3,0 | 19,0 ± 2,8 | 18,1 ± 2,8 | 17,3 ± 3,2 | 17,2 ± 4,0 | 23,3 ± 10,5 | |
| LPC+SEVO+5-HD | 14,9 ± 3,3 | 15,3 ± 2,0 | 15,4 ± 3,3 | 19,6 ± 7,3 | 18,6 ± 2,8 | 18,9 ± 4,6 | 16,6 ± 2,1 | 17,6 ± 2,1 | |
| LPC+EPC | 15,7 ± 2,9 | 17,1 ± 3,0 | 15,6 ± 2,7 | 18,2 ± 3,4 | 18,6 ± 2,8 | 22,1 ± 8,6 | 18,7 ± 2,5 | 20,6 ± 5,3 | |

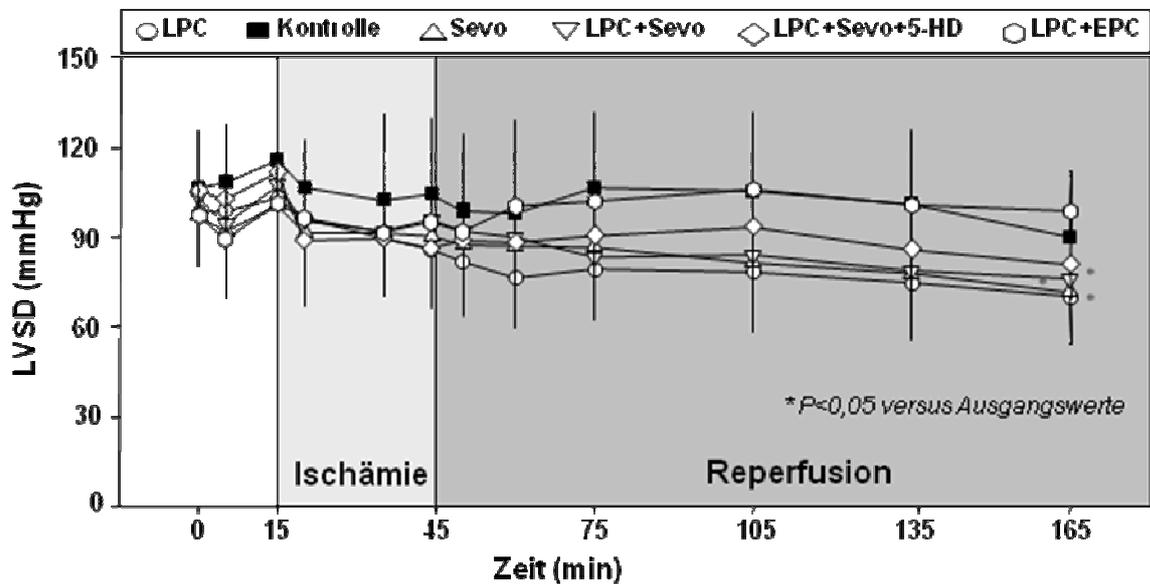
Daten als Mittelwert (MW) ± Standardabweichung . LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Druck; dP/dtmax =maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit; SVR= systemischer vaskulärer Widerstand; SEVO = Sevofluran; LPC= späte Präkonditionierung; EPC= frühe Präkonditionierung; *P<0.05 vs. Kontrolle

Tabelle 1: Hämodynamische Variablen



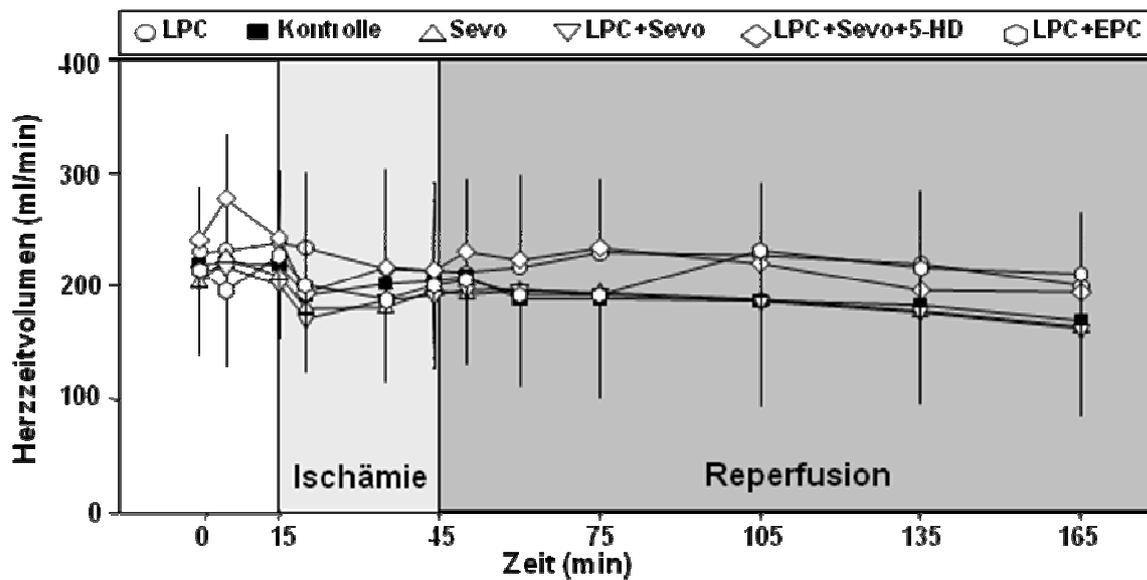
LPC= späte Präkonditionierung, Sevo = Sevofluran, 5-HD= 5-Hydroxydecanoat, EPC= frühe Präkonditionierung, LVSD = linksventrikulärer Spitzendruck; Messpunkte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD).

Abbildung 6: Herzfrequenz



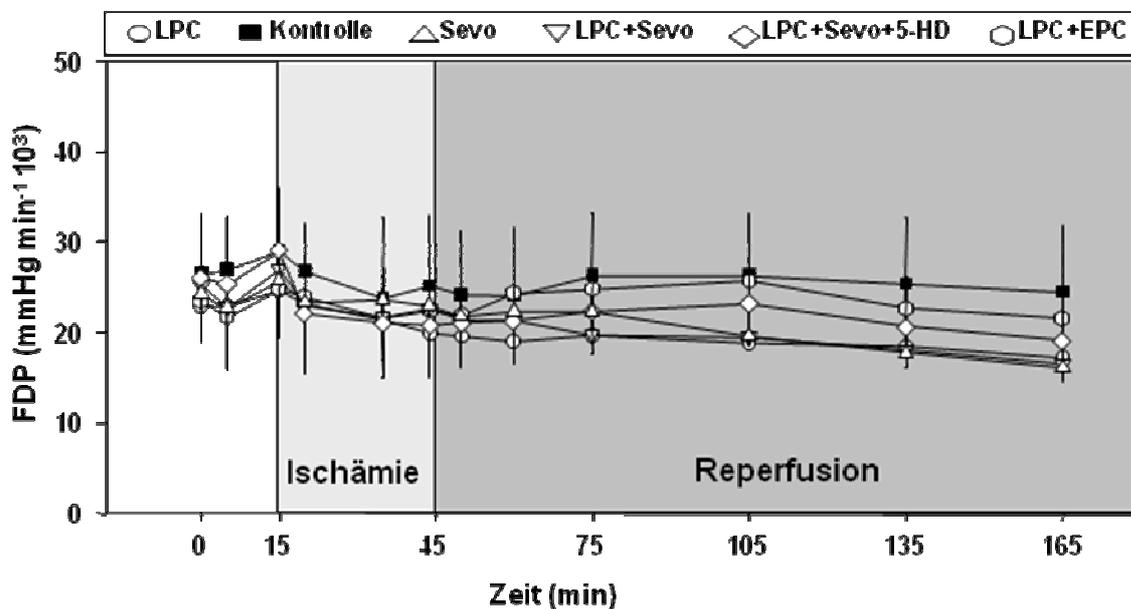
LPC= späte Präkonditionierung, Sevo = Sevofluran, 5-HD= 5-Hydroxydecanoat, EPC= frühe Präkonditionierung, LVSD = linksventrikulärer Spitzendruck; Messpunkte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD). * $P < 0,05$ versus Ausgangswerte

Abbildung 7: Linksventrikulärer Spitzendruck



LPC= späte Präkonditionierung, Sevo = Sevofluran, 5-HD= 5-Hydroxydecanoat, EPC= frühe Präkonditionierung, LVSD = linksventrikulärer Spitzendruck; Messpunkte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD).

Abbildung 8: Herzzeitvolumen



LPC= späte Präkonditionierung, Sevo = Sevofluran, 5-HD= 5-Hydroxydecanoat, EPC= frühe Präkonditionierung, LVSD = linksventrikulärer Spitzendruck; Messpunkte als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD).

Abbildung 9: Frequenz-Druck-Produkt

Risikogebiet und Infarktgröße

Zur Bestimmung der Risikogebiete und der Infarktgrößen wurde allein der linke Ventrikel ausgewertet (siehe Methoden: Infarktgrößenbestimmung). Die Daten für Körpergewicht des Kaninchens, Gewicht des linken Ventrikels, des Risikogebietes und der Infarktzone sowie des prozentualen Anteils des Risikogebietes vom linken Ventrikel sind, unterteilt für die sechs Gruppen, in Tabelle 2 dargestellt.

| | Körpergewicht (g) | LV-Gewicht (g) | Risikogebiet (g) | Risikogebiet/LV (%) | Infarktgröße (g) |
|---------------|-------------------|----------------|------------------|---------------------|------------------------|
| Kontrolle | 2789 ± 191 | 0,76 ± 0,09 | 0,36 ± 0,10 | 48,0 ± 15,2 | 0,18 ± 0,08 |
| LPC | 2778 ± 120 | 0,80 ± 0,28 | 0,41 ± 0,17 | 54,4 ± 25,3 | 0,11 ± 0,07 δ |
| Sevo | 2777 ± 204 | 0,82 ± 0,16 | 0,38 ± 0,2 | 46,9 ± 21,6 | 0,10 ± 0,10 $^{\circ}$ |
| LPC+Sevo | 2827 ± 119 | 0,87 ± 0,26 | 0,40 ± 0,24 | 45,6 ± 16,3 | 0,06 ± 0,05 \square |
| LPC+Sevo+5-HD | 2811 ± 127 | 0,80 ± 0,11 | 0,39 ± 0,20 | 47,7 ± 21,3 | 0,16 ± 0,12 \bullet |
| LPC+EPC | 2771 ± 259 | 0,71 ± 0,07 | 0,45 ± 0,19 | 63,2 ± 25,2 | 0,05 ± 0,05 |

Daten als Mittelwerte (MW) ± Standardabweichung (SD). LV = Linker Ventrikel; Sevo = Sevofluran; LPC= Späte Präkonditionierung; EPC= Frühe Präkonditionierung; 5-HD= 5-Hydroxydecanoate; $^{\circ}P = 0.001$ im Vergleich zur Kontroll-Gruppe; $\delta P < 0.001$ im Vergleich zur Kontroll-Gruppe; $\bullet P = 0.024$ im Vergleich zur LPC+Sevo-Gruppe; $\square P = 0.046$ im Vergleich zur LPC-Gruppe

Tabelle 2: Risikogebiet und Infarkte

Das mittlere linksventrikuläre Trockengewicht betrug $0,79 \pm 0,19$ g und unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Hinsichtlich des Risikogebietes, das der nach Ischämie reperfundierten Zone im linken Ventrikel entspricht, maßen die Trockengewichte im Mittel $0,39 \pm 0,18$ g und hatten somit einen Anteil von $50,6 \pm 21,2$ % am linken Ventrikel. Auch hier gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

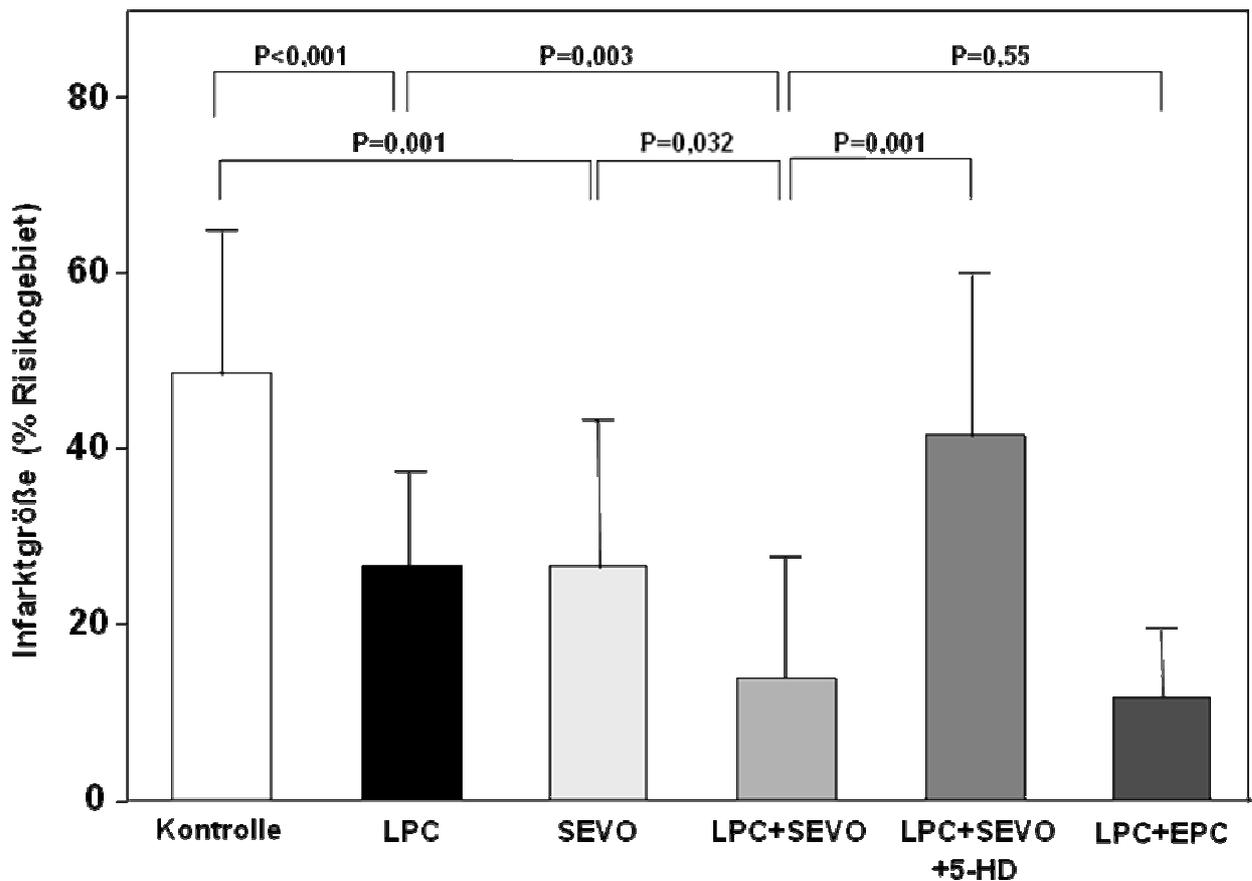
Die Größe der Infarktzone war jedoch in den Gruppen LPC, Sevo, LPC+Sevo und LPC+EPC signifikant kleiner als in der Kontrollgruppe und in der LPC+Sevo+5-HD- Gruppe (Tabelle 2). Ergänzend hierzu ist in Abbildung 7 die am Risikogebiet anteilige Infarktgröße für die einzelnen Gruppen dargestellt. In der Kontrollgruppe wiesen die Tiere eine Infarktgröße von $45 \pm 16\%$ des Risikogebietes auf. Durch die späte Präkonditionierung in der Gruppe LPC konnte die Infarktgröße signifikant auf $27 \pm 11\%$ ($P < 0,001$ vs. Kon) reduziert werden. Die alleinige Gabe von Sevofluran (Gruppe Sevo) senkte die Infarktgröße ebenfalls signifikant auf $27 \pm 17\%$ ($P = 0,001$ vs. Kontrolle). Die zusätzliche Sevoflurangabe nach zuvor erfolgter später Präkonditionierung (Gruppe LPC+Sevo) führte zu einer weiteren signifikanten Reduktion der Infarktgröße auf $14 \pm 8\%$ ($P = 0,003$ vs. LPC; $P = 0,032$ vs. Sevo).

Auch die Kombination von später und früher Präkonditionierung (Gruppe LPC+EPC) führte zu einer vergleichbar signifikanten Abnahme der Infarktgröße auf $12 \pm 8\%$ ($P < 0,001$ vs. Kontrolle). Die Infarktgröße der LPC+EPC-Gruppe wies jedoch keinen Unterschied zu der LPC+Sevo-Gruppe auf ($P = 0,55$ vs. LPC+EPC).

Durch die Gabe von 5-HD konnte der gesteigerte kardioprotektive Effekt von später Präkonditionierung und pharmakologisch-induzierter Präkonditionierung mit Sevofluran (Gruppe LPC+Sevo) aufgehoben werden (Infarktgröße LPC+Sevo+5-HD, $41 \pm 19\%$, $P = 0,001$ vs. LPC+Sevo).

Zusammenfassend ergab sich somit, dass sowohl die späte Präkonditionierung (LPC) als auch die medikamentös induzierte Präkonditionierung mit Sevofluran (Sevo) zu einer Reduktion der Infarktgröße führten. Durch Kombination beider Maßnahmen (LPC+Sevo) zeigte sich ein additiver kardioprotektiver Effekt. Durch

Blockade des mitochondrialen K_{ATP} -Kanals wurde dieser Effekt wieder aufgehoben (LPC+Sevo+5-HD). Eine kombinierte frühe und späte Präkonditionierung (LPC+EPC) hatte einen vergleichbar ausgeprägten kardioprotektiven Effekt wie die Kombination aus Sevofluran-Behandlung und später Präkonditionierung (LPC+Sevo).



Sevo=Sevofluran; LPC=Späte Präkonditionierung; EPC=Frühe Präkonditionierung; 5-HD=5-Hydroxydecanoat

Abbildung 7: Infarktgrößen

Diskussion

Als wesentliches Ergebnis dieser Studie lässt sich festhalten, dass die durch Gabe von Sevofluran induzierte medikamentöse Präkonditionierung nach zuvor mittels reversibler Ischämie induzierter später Präkonditionierung zu einer additiven Kardioprotektion am Kaninchenherzen in vivo führt. In diesem Zusammenhang spielt die Öffnung von ATP-sensitiven Kaliumkanälen eine Schlüsselrolle.

Methodenkritik

Bei allen unseren Versuchstieren verursachten wir im Versuchsverlauf durch Verschluss einer Koronararterie mit Hilfe eines zuvor implantierten Koronararterienokkluders einen Myokardinfarkt. Die Ischämiedauer, die Myokardtemperatur und eine eventuell vorhandene kollaterale Blutversorgung sind für die tatsächliche Ausbildung einer Myokardzellnekrose, dem Infarkt, und ihrer Ausdehnung im minderperfundierten Gebiet von entscheidender Bedeutung.

Alle Versuchstiere wurden gleichermaßen einer 30minütigen Ischämiedauer unterzogen. Nach dieser Zeit kommt es bekanntermaßen zu einer irreversiblen Myokardzellnekrose.

Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Temperaturschwankungen zu vermeiden, wurde die Körpertemperatur der Kaninchen während des gesamten Versuches innerhalb des Perikards gemessen und mittels Wärmelampe und Infrarotlampe konstant bei $38,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Bereits eine Temperaturabweichung von 1°C kann zu einer Veränderung der Infarktgröße von ungefähr 10 Prozent führen.⁶⁵

Bezüglich der Kollateralisierung ist bekannt, dass die arterielle Kollateraldurchblutung bei Kaninchenherzen nur sehr schwach ausgebildet und damit für die Sauerstoffversorgung des Myokards unerheblich ist.⁶⁶ Es war daher nicht erforderlich, den Kollateralblutfluss im Ischämiegebiet zu bestimmen.

Allerdings sind in früheren Studien die Diffusion und der retrograde Blutfluss durch Thebesii-Venen zur alternativen Sauerstoffversorgung beschrieben worden.⁶⁷ In sehr kleinen Ischämiegebieten ist eine ausreichende Sauerstoffversorgung des betroffenen Myokards über sehr kurze Diffusionsstrecken sowie über die retrograde Durchblutung durch die Thebesii-Venen möglich, so dass auf diese Weise eine Infarzierung verhindert werden kann. Als Grenze gelten hierfür Risikogebiete mit weniger als 0,05 g Trockengewicht, weshalb solche Herzen mit einem Risikogebiet kleiner als 0,05 g Trockengewicht aus der Versuchsreihe ausgeschlossen worden wären.

Als Anästhetikum wählten wir α -Chloralose, das häufig in physiologischen und pharmakologischen Studien eingesetzt wird.⁶⁸ Da α -Chloralose bekanntermaßen keine eigenen antiischämischen Eigenschaften besitzt^{69,70,71}, waren keine störenden Einflüsse auf die Signaltransduktionskette zu erwarten.

Für volatile Anästhetika, auch für das in unserer Versuchsreihe verwendete Sevofluran, konnte in verschiedenen tierexperimentellen in vitro- und/oder in vivo- Untersuchungen ein pharmakologisch präkonditionierender und damit kardioprotektiver Effekt beobachtet werden. Von Barbituraten wie Thiopental^{72,73} und razemischem Ketamin^{74,75} weiß man hingegen, dass sie den kardioprotektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung blockieren.

Um die Rolle der mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle bei der kombinierten ischämischen und pharmakologischen Präkonditionierung genauer zu

untersuchen, setzten wir den spezifischen mitochondrialen K_{ATP} -Kanal-Blocker 5-HD ein. McCullough et al. hatte zuvor an Rattenherzen in vitro gezeigt, dass 5-HD in der von uns verwendeten Dosierung ein spezifischer Blocker mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle ist und keine signifikanten Einflüsse auf die Hämodynamik und die Aktionspotentialdauer hat.⁷⁶

Infarktgrößenbestimmung und Dauer der Reperfusion

Als anerkannte und zuverlässige Anfärbemethode zur Größenbestimmung von Myokardinfarkten gilt die Triphenyltetrazoliumchlorid- (TTC)- Färbung.^{77,78}

TTC reagiert mit membranständigen Diaphorasen, die NADH und NADPH als Ko-Faktoren benötigen. So wird TTC in vitalem Myokard zu einem roten Formazanfarbstoff reduziert. Fehlen diese Ko-Faktoren wie bei frischen Infarkten, so bleiben die Reduzierung des TTC und somit auch die Bildung des roten Farbkomplexes aus. Bei älteren Infarkten fehlen zudem die Diaphorasen und Dehydrogenasen, weshalb TTC nicht zu dem roten Formazanfarbstoff reduziert werden kann. Da zu Beginn der Reperusionsphase die Co-Faktoren aus den nekrotischen Zellen ausgewaschen werden, kann nur die Anfärbung von vitalen Zellen mit intakten Zellmembranen stattfinden. Bei zu kurzer Reperusionszeit wiederum werden nicht alle Co-Faktoren aus den nekrotischen Zellen ausgespült. Somit können über Anfärbung von nur vermeintlich vitalem Myokard fälschlicherweise zu kleine Infarktgebiete bestimmt werden.

Viele Untersucher, wie auch wir, haben als Reperusionszeit eine Dauer von zwei Stunden gewählt. Birnbaum et al untersuchten den Einfluss einer unterschiedlich langen Reperusionsdauer auf die Infarktgrößenentwicklung. Beim Vergleich einer zwei- und vierstündigen

bzw. einer drei- und sechsständigen Reperfusiondauer ergaben sich signifikant unterschiedliche Ergebnisse zwischen der Zwei- und Vier-Stunden-Messung, während die Drei- und Sechs-Stunden-Messung vergleichbare Ergebnisse lieferten. Daraus schlossen die Untersucher, dass die Demarkierung des Infarktgebietes erst nach etwa drei Stunden abgeschlossen ist.⁷⁹ Cohen et al. konnten hingegen zeigen, dass eine 90-minütige Reperfusion nach 20-minütiger Ischämie ausreichend ist.⁸⁰ Montrucchio et al konnten in ihrer Versuchsreihe zeigen, dass sich nach einer 40-minütigen Ischämie bei einer zweistündigen Reperfusion ein gleich großes Infarktareal wie bei einer 24-stündigen Reperfusion darstellt.⁸¹ Dies legt nahe, dass unterschiedliche Untersuchungsbedingungen zu Unterschieden hinsichtlich der erforderlichen Reperfusiondauer führen.

Sarkolemmale und mitochondriale K_{ATP} -Kanäle

Im Jahre 1983 wurden durch Noma die Kaliumkanäle in der Herzmuskulatur erstmals beschrieben.⁵⁵ Kaliumkanäle konnten im Verlauf genauer untersucht werden. Ein Kaliumkanal besteht aus einer porenbildenden Untereinheit (Kir 6.2) und einem Regulatorprotein, dem Sulfonylharnstoffrezeptor (sulfonylurea receptor, SUR). Drei SUR sind bekannt und bilden zusammen mit Kir 6.2 die unterschiedlichen Typen der K_{ATP} -Kanäle.

Zu Beginn brachte man die Kardioprotektion mit der Öffnung sarkolemmaler K_{ATP} -Kanäle in der Plasmamembran in Verbindung.⁵⁶

Der protektive Effekt der Kaliumkanalöffnung wurde zunächst einer Aktionspotentialverkürzung mit verminderter Kalziumüberladung der Zelle zugerechnet. Im Verlauf zeigte jedoch eine Studie von Hamada et

al. eine Unabhängigkeit der Kardioprotektion von der Aktionspotentialdauer.⁸²

Nach Entdeckung der mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle in der inneren Mitochondrienmembran folgten weitere Studien, welche eine wichtige Rolle dieser Kanäle im Rahmen der Kardioprotektion zeigen konnten.^{57,58}

Dabei hatte der spezifische sK_{ATP} -Kanal-Blocker HMR-1098 in mehreren Studien mit ischämisch oder medikamentös induzierter Präkonditionierung die Kardioprotektion nicht aufgehoben.

Andere Studien kamen im Verlauf allerdings zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. So konnten Suzuki et al an isolierten Myozyten aus Mäuseherzen eine Beteiligung der sK_{ATP} -Kanäle nachweisen, indem sie mit HMR-1098 die Kardioprotektion nach ischämischer Präkonditionierung aufhoben. 5-HD als spezifischer mitochondrialer K_{ATP} -Kanal-Blocker konnte die Versuche nicht beeinflussen.⁸³ Light et al. führten eine Studie mit isolierten rechtsventrikulären Myozyten aus Ratten durch, hierbei zeigte sich eine Wirksamkeit von mK_{ATP} -Kanälen in der Hypoxiephase und eine Wirksamkeit von sK_{ATP} -Kanälen in der Reoxygenierungsphase.⁵⁹ Toller et al konnten in einer in vivo Studie an mit Desfluran präkonditionierten Hunden die entstandene Kardioprotektion mit HMR-1098 sowie dem unspezifischen K_{ATP} -Kanalblocker Glibenclamid aufheben.³¹ Die Projektgruppe um Hanouz konnte an isoliertem menschlichem Myokard eine Einbindung von sK_{ATP} -Kanälen und mK_{ATP} -Kanälen bei Ketamin-induzierter Präkonditionierung zeigen, durch HMR-1098 und 5-HD wurde die Kardioprotektion geblockt.⁶⁰ In einer weiteren Arbeit von Hanouz mit Desfluran-induzierter Präkonditionierung zeigte HMR-1098 im Gegensatz zu 5-HD und Glibenclamid keinen blockierenden Einfluss auf die Kardioprotektion.⁴¹ Zwei weitere Studien von Uecker et al⁸⁴ und Zaugg et al⁴³ konnten ebenfalls keine Beteiligung sK_{ATP} -Kanäle nachweisen.

Anderweitige Studien konnten allerdings positive Einflüsse bei der sK_{ATP} -Kanal-vermittelten Kardioprotektion zeigen.^{61,85,86,87}

Marinovic führte eine 2006 veröffentlichte Studie an isolierten Rattenmyozyten in vitro durch. Eine anästhesiologische Präkonditionierung mit Isofluran wurde bei Gabe von HMR-1098 während der oxidativen Stressphase oder über das gesamte Experiment aufgehoben. Erfolgte die Gabe von HMR-1098 lediglich in der Präkonditionierungsphase mit Isofluran, so hatte es keinen Effekt auf die Präkonditionierung. Marinovic führte die so verschiedenen Ergebnisse in den einzelnen Studien auf die unterschiedlichen Versuchsbedingungen (isolierte Herzen vs. isolierte Myozyten vs. in vivo, Ischämie-Protokolle, Messendpunkte, etc.) zurück.⁸⁸

Interpretation der Ergebnisse

Der erhebliche endogene kardioprotektive Effekt einer ischämischen Präkonditionierung wurde bei allen bisher untersuchten Tieren^{3,4,5} ebenso wie beim Menschen beobachtet.¹⁴

Die Signaltransduktionskette der ischämischen Präkonditionierung ist noch nicht vollständig aufgeklärt, in Kenntnis der bisherigen Untersuchungsergebnisse imponiert allerdings der K_{ATP} -Kanal als ein wesentlicher Bestandteil.^{14,15,16}

In unserer Untersuchung führte die Gabe von 1 MAK Sevofluran endtidal über fünf Minuten vor der 30-minütigen Ischämie zu einer Infarktgrößenreduzierung von 40% im Vergleich zur Kontrollgruppe.

In einer vorangegangenen Studie unserer Arbeitsgruppe, die unter identischen Bedingungen durchgeführt wurde [Tierversuchsmodell, Anästhesie-Methoden, Ischämie (30 Minuten)- und Reperfusionsdauer (2 Stunden)], reduzierte die ischämische Präkonditionierung durch eine

fünfminütige Ischämie die Infarktgröße um 47% gegenüber der Kontrollgruppe.⁶⁰ Somit können wir die Resultate anderer Studien bestätigen, welche ergaben, dass eine Vorbehandlung mit Sevofluran^{33-35,89,90} oder anderen volatilen Anästhetika^{30,31,36} zu einer gleichermaßen ausgeprägten Kardioprotektion führt wie die ischämische Präkonditionierung.

Vor dieser Studie wurden jedoch keine Untersuchungen über eine mögliche additive Wirkung von später ischämischer und pharmakologisch induzierter Präkonditionierung publiziert.

Gerade für Patienten mit koronarer Herzerkrankung könnte LPC ein entscheidender Mechanismus im klinischen Alltag sein.

In diesem Kontext, und darauf basiert unsere Studie, ist es von großem Interesse, ob eine pharmakologisch induzierte Präkonditionierung eine zusätzliche Kardioprotektion nach LPC bewirkt. Zusätzlich haben wir uns mit der Frage beschäftigt, welche Rolle die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen in diesem Kontext spielt.

Eine mögliche Ursache für die beobachtete additive Kardioprotektion von Sevofluran- und LPC- induzierter Präkonditionierung könnte eine nur unvollständige Aktivierung des LPC-Mechanismus in unserer Studie sein. Dies erscheint unwahrscheinlich, da das Ausmaß der LPC-induzierten Infarktreaktion jener in vorangegangenen Studien unserer Arbeitsgruppe⁵⁶ und anderer Forschungsgruppen^{91,92} entsprach. Zusätzlich zeigten Baxter et al., dass bereits eine fünfminütige Koronararterienokklusion zu einer maximal möglichen Kardioprotektion durch LPC führt.⁹¹ In einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe konnten die Ergebnisse von Baxter et al. bestätigt werden, indem wir bei gleicher Präparation und unter gleichen Versuchsbedingungen wie in der vorliegenden Studie vier fünfminütige Präkonditionierungen hintereinander durchgeführt haben. Dabei stellten wir fest, dass beide

Protokolle zu einer gleichermaßen ausgeprägten Kardioprotektion führten.⁹³ Demnach ist die Interaktion von LPC und Sevofluran komplizierter. Um die Interaktion zu erklären, ist es hilfreich, die Signal-Transduktionswege von Sevofluran induzierter Präkonditionierung beziehungsweise LPC darzulegen.

Präkonditionierung durch Sevofluran

Obwohl der genaue Weg der Kardioprotektion durch Sevofluran noch nicht vollständig geklärt ist, hat sich gezeigt, dass verschiedene Mechanismen ineinander greifen.

In der Signaltransduktionskaskade spielt unter anderem die Öffnung von mitochondrialen K_{ATP} -Kanälen eine entscheidende Rolle. Durch die Applikation des spezifischen K_{ATP} -Kanalblockers 5-HD vor der Verabreichung volatiler Anästhetika konnte sowohl die mittels Sevofluran^{33,34,44,89} als auch die mittels Isofluran^{29,33,94-96} und Desfluran³¹ induzierte Präkonditionierung aufgehoben werden.

Die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen durch Sevofluran hat nicht nur eine protektive Wirkung auf die Kardiomyozyten, sondern führt auch, wie in anderen Studien gezeigt, zu vasodilatierenden Effekten an zerebralen⁹⁷ und koronaren Gefäßen, welche jeweils durch Glibenclamid als ebenfalls spezifischen K_{ATP} -Kanalblocker aufgehoben wurden.⁹⁹

An et al. konnten zeigen, dass eine Präkonditionierung mit Sevofluran zu einer Verminderung des zytosolischen Kalziumeinstromes, jedoch zu einer Erhöhung der kontraktile Sensibilität und einer Verbesserung der postischämischen kardialen Funktion mit verringertem permanentem Schaden führt. Diese Effekte wurden durch die vorherige Gabe spezifischer K_{ATP} -Kanalblocker blockiert.³⁵ Weitere ältere Studien mit anderen selektiven pharmakologischen K_{ATP} -Kanalöffnern zeigten

ebenfalls, dass es über eine Änderung der ionischen Balance zu einem verminderten Kalzium-Einstrom in die Zelle kommt.^{99,100}

Zwei Studien haben die Effekte von Sevofluran auf die Öffnung mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle untersucht, indem sie die Flavoprotein-Oxidationsmethode nutzten. Kohro et al. zeigten, dass Sevofluran einen dosisabhängigen Anstieg der Oxidation von Flavoproteinen induziert, was zu einer vermehrten Öffnung von mitochondrialen K_{ATP} -Kanälen führt.⁵⁴ Eine Studie von Zaugg und Mitarbeitern ergab, dass Sevofluran die Diazoxid-vermittelte Aktivierung mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle verstärkt.⁴³

Weitere Studien zeigten, dass außer der Öffnung von mitochondrialen K_{ATP} -Kanälen sowohl die Proteinkinase C (PKC)-Aktivierung mit ihren Isomeren δ und ϵ als auch die Produktion von ROS bei der Sevofluran-induzierten Präkonditionierung eine Rolle spielen. Dabei ergaben sich jedoch unterschiedliche Ergebnisse.

Bouwman et al. zeigten, dass bei der Sevofluran-induzierten Präkonditionierung die Aktivierung der PKC- δ , jedoch nicht der PKC- ϵ , am isolierten Rattenherzen zu einer Kardioprotektion führt.⁴⁶ PKC- δ wurde dabei einerseits von Sevofluran direkt als auch indirekt über eine gesteigerte intrazelluläre ROS-Produktion aktiviert und verlagerte sich daraufhin aus dem Zytosol in das Sarkolemm der Kardiomyozyten. Die mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle wiederum wurden sowohl durch Sevofluran direkt als auch über die intrazelluläre ROS-Produktion und die PKC- δ -Aktivierung indirekt geöffnet, die Kaliumkanäle ihrerseits führten jedoch nicht zu einer PKC- δ -Aktivierung.

Interessanterweise zeigte sich in einer ebenfalls mit Sevofluran durchgeführten Studie von Novalija et al. an isolierten Meerschweinchenherzen, dass es zu einer ischämischen Präkonditionierung durch PKC- ϵ , jedoch nicht durch PKC- δ kam. Unter

Gabe zweier spezifischer Blocker konnte lediglich durch die Gabe des PKC- ϵ -spezifischen Blockers PP149 die Kardioprotektion durch Sevofluran aufgehoben werden, der PKC- δ -spezifische Blocker PP101 blieb hingegen ohne Wirkung.¹⁰¹

Auch die Rolle der ROS-Produktion innerhalb der Signal-Transduktionskaskade bei der medikamentös induzierten Kardioprotektion durch volatile Anästhetika wird weiterhin diskutiert. So beschreibt Bouwman die ROS-Produktion als Induktor der PKC- δ -Translokation.⁴⁶

Eine andere Studie hingegen zeigte, dass es bei der Kardioprotektion auch unabhängig von einer folgenden PKC- δ -Translokation zu einer Kardioprotektion durch ROS-Produktion kommt, was nahe legt, dass es auch einen unabhängigen Signalweg der Kardioprotektion durch ROS geben muss.¹⁰²

Bouwman et al. konnten zuletzt auch eine Sevofluran-induzierte PKC- α -Aktivierung durch vorherige ROS-Produktion, jedoch ohne Öffnung von K_{ATP} -Kanälen, nachweisen. Über diesen Aktivierungsmechanismus kam es ebenfalls zu einer Kardioprotektion mit einer verbesserten postischämischen Kontraktilität der Herzmuskulatur.¹⁰³

Eine weitere Studie aus der Gruppe um Bouwman an isolierten Rattenherzen ergab, dass auch der Natrium⁺-/Kalzium²⁺-Austauscher (NCX) bei der Sevofluran-induzierten Kardioprotektion involviert ist, vermutlich indem über einen NCX-vermittelten erhöhten Kalzium-Einstrom die Translokation von PKC- δ herbeigeführt wird. Dies konnte anhand spezifischer NCX-Blocker bewiesen werden, da diese die durch Sevofluran hervorgerufene Kardioprotektion aufhoben. Dabei erfolgte die Gabe der NCX-Blocker während der Präkonditionierungsphase.¹⁰⁴

Eine Studie von An et al. an isolierten Kaninchenherzen, welche sich ebenfalls mit dem NCX und der Präkonditionierung durch Sevofluran

beschäftigte, hingegen ergab, dass es durch die Gabe von Sevofluran zu einem verminderten systolischen Einstrom von Kalzium in die Zelle während der Reperfusion kommt. Durch zusätzliche Gabe der spezifischen NCX-Blocker, hier jedoch im Unterschied zu der Studie von Bouwman et al. in der Reperfusionsphase appliziert, kam es zu einem erniedrigten diastolischen Einstrom von Kalzium. Sowohl die Sevofluran- als auch die NCX-Blocker-Gabe führten auch in dieser Studie zu einer verstärkten Kardioprotektion, welche bei additiver Gabe ein Maximum erreichte.¹⁰⁵

Hier erscheinen weitere Studien erforderlich, um den tatsächlichen Wirkungsmechanismus bei der Sevofluran-vermittelten Kardioprotektion via NCX und zytosolischer Kalzium-Konzentration zu verstehen.

Lange et al. fanden außerdem β 1-adrenerge Signal-Transduktionswege als Teil der Sevofluran- und Desfluran-induzierten Kardioprotektion, indem sie bei Versuchen am Kaninchenherzen in vivo zusätzlich zu den Inhalationsanästhetika den β 1-spezifischen Blocker Esmolol einsetzten, welcher die kardioprotektiven Effekte der beiden Anästhetika deutlich verringerte. Hierbei zeigte sich eine Diskrepanz zu der ischämischen Präkonditionierung, welche durch die Gabe von Esmolol nicht beeinflusst wurde.¹⁰⁶

Anneck und Mitarbeiter führten eine Studie durch, mit der sie die Effekte von Sevofluran im Rahmen der chirurgischen Therapie thorako-abdomineller Aortenaneurysmen beurteilen wollten. Hierbei ergab sich an ihrem Modell an Schweinen, dass die Applikation von Sevofluran im Gegensatz zu Propofol zu einem deutlich verminderten Reperfusionsschaden führte. Zusätzlich benötigten die Schweine der Sevoflurangruppe deutlich weniger Katecholamine in der Reperfusionszeit als die Tiere der Propofolgruppe, auch kam es zu einer verminderten Ausschüttung der Serummarker Laktatdehydrogenase

(LDH), Aspartat-Transaminase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT) in der Sevoflurangruppe.¹⁰⁷

In einer Arbeit von Larsen et al. wurde erneut die kardioprotektive Wirksamkeit von Sevofluran, ebenfalls am Schwein, untersucht. Die Tiere wurden in drei Gruppen (Kontrolle, Sevofluran Intervention und ischämische Präkonditionierung) eingeteilt, wobei die Sevofluran-Gruppe zwei fünfminütige Inhalationszyklen mit Sevofluran 4% als Präkonditionierung erhielt. Es ergab sich lediglich in der Gruppe der ischämisch präkonditionierten Tiere eine signifikante Reduktion der Infarktgröße. Sevofluran führte ebenfalls zu einer Reduktion der Infarktgröße, diese war jedoch statistisch nicht signifikant.¹⁰⁸

Yvon et al. konnten an isolierten menschlichen Myozyten nachweisen, dass die durch Sevofluran-Präkonditionierung induzierte Kardioprotektion über die Aktivierung von Adenosin-A1-Rezeptoren abläuft. Dieser Effekt wurde durch einen spezifischen Blocker inhibiert.⁶¹

Bei Studien mit anderen volatilen Anästhetika zeigten sich auch die Aktivierung von Phosphoinositid-3-Kinasen (PI3K)¹⁰⁹, Proteinkinase B (PKB)¹⁰⁹ und die mitogen-aktivierten Proteinkinasen ERK $\frac{1}{2}$.¹¹⁰⁻¹¹²

Aus den vorstehend erwähnten Arbeiten wurde deutlich, dass es mehrere, am ehesten parallel verlaufende Signaltransduktionswege im Rahmen der Präkonditionierung mittels volatiler Anästhetika gibt, welche in der Zukunft weiterer Forschung bedürfen.

Späte ischämische Präkonditionierung

Die Signaltransduktionskaskade von LPC ist noch nicht vollständig verstanden, jedoch wird die Stickstoffmonoxid- (NO-) Hypothese von Bolli et al. allgemein akzeptiert.¹¹³ Sie besagt, dass die präkonditionierende Ischämie zu einer gesteigerten NO-Produktion

durch die endotheliale NO-Synthase (eNOS) führt und die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) induziert, was wiederum zu einer Aktivierung einer Signaltransduktionskaskade bestehend aus Proteinkinase C (PKC) und Tyrosinkinasen (PTKs) führt. Dies resultiert in einer gesteigerten Transkription der NO-Synthase (iNOS) mit konsekutiv erhöhter NO-Produktion während der infarktinduzierenden Ischämie. Sasaki et al. lieferten den Beweis, dass NO eine Öffnung von K_{ATP} in kardialen Myozyten bewirkt.¹¹⁴ Tatsächlich ist das Öffnen der K_{ATP} -Kanäle nicht nur bei ischämischer und pharmakologisch induzierter EPC, sondern auch bei der LPC ein Schlüsselmechanismus.⁶³

In den letzten Jahren ist der Mechanismus der LPC weiter entschlüsselt worden. So konnten am Beginn der Signaltransduktionskaskade zusätzlich zu der PKC und den PTKs (im speziellen die Untergruppen Src und Lck) auch Interleukin 6 (IL-6)¹¹⁵, die Janus-Tyr-Kinasen (JAK) 1 und 2^{116,117}, Adenosin A_1 -Rezeptor-Agonisten¹¹⁸, α_1 -adrenerge Rezeptoren (AR)¹¹⁹ und die Beteiligung kardialer Nervenfasern¹¹⁹ sowie δ_1 -Opioid-Rezeptor-Agonisten^{118,120} nachgewiesen werden.

Im weiteren Verlauf der Kaskade entdeckte man die durch JAK aktivierten Signal-Transduktoren und Aktivatoren der Transkription (STAT) 1 und 3¹²⁰ (über eine Phosphorylation von Tyrosin 701/705 und Serin 727)^{121,122}, der Transkriptor NF- κ B (bestehend aus den Heterodimeren p50 und p65)^{120,123,124} sowie die mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPK) p38¹²⁵ und p44/42¹²⁶.

Im Rahmen dieser Aktivierung kommt es zur Neusynthese von Proteinen, welche als Mediatoren zur myokardialen Protektion führen. Zu dieser Gruppe gehören die iNOS^{119,127}, die eNOS¹²⁸, die Cyclooxygenase-2 (COX-2)^{119,129} über die Prostaglandine PGI₂ und PGE¹³⁰, die Aldose-Reduktase¹³¹, die extrazelluläre Superoxiddismutase¹³² und die Mangan-Superoxiddismutase¹³³.

Interaktion von LPC und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung

In unserer Studie führt die Kombination von LPC und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung zu einer ähnlich ausgeprägten Kardioprotektion wie die Kombination von LPC und EPC. Beide Kombinationen verringerten die Infarktgröße nochmals gegenüber der Einzelanwendung. Die unterschiedlichen Infarktgrößen sind nicht durch Unterschiede in der Größe des Risikogebietes, der Temperatur oder hämodynamischer Parameter während der Ischämie und Reperfusion erklärbar. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen ein entscheidender Faktor bei der Interaktion von LPC und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung ist, da die Gabe des K_{ATP} -Kanalblockers 5-HD vor der Sevoflurangabe die kardioprotektiven Effekte durch pharmakologische Präkonditionierung mit Sevofluran nach LPC blockierte. In einer vorangegangenen Studie unserer Arbeitsgruppe unter gleichen Versuchsbedingungen und mit gleichen Infarkt-Protokollen wurde nachgewiesen, dass die alleinige Gabe von 5-HD keinen Einfluss auf die Infarktgröße hat.⁶³

Bei der Interaktion von LPC und Sevofluran-induzierter PC erscheint in diesem Zusammenhang die Vermutung nahe liegend, dass LPC über den bereits im Kapitel der späten ischämischen Präkonditionierung genauer beschriebenen Mechanismus unter anderem zu einem Anstieg der Konzentration von NO während der Infarkt-induzierenden Ischämie führt.¹⁰⁰ Dies führt zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit von K_{ATP} -Kanälen¹¹⁴, welche durch Sevofluran-induzierte Präkonditionierung noch weiter verstärkt wird. Obwohl der relative Anteil der mitochondrialen im Verhältnis zu den sarkolemmalen K_{ATP} -Kanälen während der medikamentös und ischämisch induzierten Präkonditionierung weiterhin Thema von Forschungen ist, gibt es eindeutige Beweise, dass 5-HD ein

selektiver Blocker der mitochondrialen K_{ATP} -Kanäle ist.¹³⁴ Daher nehmen wir an, dass die additiven protektiven Effekte vor allem durch Öffnung von mitochondrialen K_{ATP} getriggert werden.

Es ist jedoch weiterhin noch nicht vollständig geklärt, wie die K_{ATP} -Kanalöffnung die Entwicklung einer Myokardnekrose während der Ischämie verzögert. Die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen wird jedenfalls nicht länger nur als Endeffektor bei der Vermittlung der kardioprotektiven Wirkung durch Präkonditionierung, sondern mittlerweile vielmehr auch als ein Aktivator weiterer Kinasen und Endeffektoren angenommen (siehe Abb. 1).¹³⁵

Eine andere mögliche Erklärung für die beobachtete additive Kardioprotektion durch LPC und Sevofluran-induzierte Präkonditionierung in dieser Studie ist, dass es zur Interaktion spezieller Enzyme wie zum Beispiel der Proteinkinase C kommt, welche die K_{ATP} -Kanalaktivität regulieren¹³⁶ oder durch die K_{ATP} -Kanalöffnung aktiviert werden¹³⁷. Bekannt ist, dass die Aktivierung der Proteinkinase C sowohl ein wesentlicher Bestandteil der Signaltransduktionskaskade von LPC⁷⁰ als auch der von pharmakologisch induzierter PC durch volatile Anästhetika wie Isofluran^{43,138}, Sevofluran⁴³ und Halothan³⁰ ist. Weiterhin konnte die Stimulation der Inositoltriphosphat- (IP₃-) Produktion durch Sevofluran im Skelettmuskel gezeigt werden¹³⁹. IP₃ wiederum aktiviert die Proteinkinase C¹⁴⁰.

Die durch Sevofluran-Präkonditionierung erzielte Kardioprotektion zeigt sich nicht nur in den kardialen Myozyten, sondern auch im Endothel der koronaren Gefäße. Eine Vorbehandlung mit Sevofluran vor einer Ischämie verbessert, ebenso wie eine ischämische Präkonditionierung, die postischämische Kontraktilität, steigert die koronare Vasodilatation und steigert die Produktion von NO. Diese protektiven Effekte können jedoch durch eine Blockade der K_{ATP} -Kanäle mit einem spezifischen

Blocker aufgehoben werden.³⁴ NO inhibiert die Leukozytenadhäsion und –migration in reperfundiertes Gewebe¹⁴¹ und verhindert somit das postischämische „No reflow“- Phänomen. Hierbei nimmt man an, dass es über die vermehrte NO-Freisetzung durch LPC und Sevofluran-induzierte Präkonditionierung zu einer verstärkten Protektion des Endothels mit dadurch verminderter myokardialer Nekrose kommt.

Cohen und Mitarbeiter untersuchten in einer Studie die Auswirkung auf die myokardiale Kontraktilität einer EPC mittels fünfminütiger Ischämie vor einer 30-minütigen Koronarischemie. Im Anschluss daran wurde über drei Tage die Zunahme der Wandverdickung als Maß für myokardiale Kontraktilität gemessen. Frühestens nach einem Tag war an den Herzen der EPC-Gruppe eine bessere Erholung der Kontraktilität als in der Vergleichsgruppe zu beobachten. Cohen et al. zufolge befanden sich die Herzen nach der Ischämie im Stadium der reversiblen kontraktile Dysfunktion (Stunning), welches erst nach etwa 24 Stunden rückläufig ist. Daher konnten erst nach Ablauf eines Tages Unterschiede hinsichtlich der funktionellen Erholung registriert werden. Bei den ischämisch präkonditionierten Tieren wurden neben der besseren Erholung der Kontraktilität zudem kleinere Infarktgebiete gemessen. Zur globalen Herzfunktion, zum Ventrikeldruck und zu dP/dt_{max} machten Cohen et al. in ihrer Studie keine Angaben.¹⁴²

Hinsichtlich der oben genannten hämodynamischen Parameter konnten wir in unserer Versuchsreihe keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen feststellen. In unserer Studie war die signifikante Reduktion der Infarktgröße durch LPC und Sevofluran-induzierte Präkonditionierung nicht von einer besseren funktionellen Erholung der Herzen begleitet. Andere Studien hingegen konnten einen protektiven Effekt von Sevofluran-induzierter Präkonditionierung oder LPC im Hinblick auf myokardiales „Stunning“ beobachten.^{35,79,143}

Ursächlich hierfür könnte die in unserer Studie kurze Reperfusiondauer von nur zwei Stunden gewesen sein, da sich die Herzen Cohen et al. zufolge zu diesem Zeitpunkt noch im Stadium des Stunnings befanden und sich allenfalls nach Ablauf von 24 Stunden signifikante Unterschiede hätten zeigen können.

Klinische Relevanz und Ausblick

Die myokardiale ischämische Präkonditionierung ist nach wie vor ein vor allem experimentelles Phänomen, welches zunächst in Tierversuchen, jedoch seit längerem auch in klinischen Studien vermehrt untersucht wurde, jedoch bisher noch nicht ausreichend dokumentiert wurde. Viele Studien konnten bereits zeigen, dass eine ischämische Präkonditionierung auch an humanem Myokard ausgelöst werden kann.^{14,15,144-146} Andere Studien konnten im Verlauf den klinischen Nutzen einer medikamentös induzierten Präkonditionierung durch volatile Anästhetika, insbesondere in der Bypasschirurgie, aber auch im Rahmen von Aortenklappenersatz-Operationen nachweisen.^{37-39,147-153}

Bei koronarkranken Patienten mit rezidivierenden pectanginösen Episoden wird angenommen, dass es über den Weg der rezidivierenden passageren reversiblen Ischämien zu einer myokardialen Präkonditionierung und damit zu einem wesentlichen Protektionsmechanismus vor möglichen folgenden ischämischen Ereignissen (Myokardinfarkt, akutes Koronarsyndrom) kommt. Ein Beispiel für den möglichen Einsatz volatiler Anästhetika ist die perkutane transluminale Koronarangioplastie, bei welcher sich potentielle Folgeschäden im Rahmen myokardialer Ischämien während einer längeren Interventionsdauer bei komplizierten Stenosen reduzieren ließen.

Ein weiteres Einsatzgebiet für die medikamentös induzierbare Kardioprotektion besteht im Rahmen der Klappenvitien- und Bypasschirurgie, da hierdurch bei gleicher Operationsdauer geringere Myokardschäden durch Sauerstoffmangel entstünden. Auf diesem Gebiet sind mittlerweile viele Studien erfolgt, auf einige davon wird im Verlauf noch eingegangen.

Das Ziel bei den zuvor beschriebenen Patienten ist es, den durch eine endogene Präkonditionierung entstandenen Schutz nicht nur zu erhalten, sondern medikamentös nach Möglichkeit noch zu verstärken. Die Nutzung geeigneter Medikamente bewirkt, wie zunächst in Tierversuchen gezeigt, eine pharmakologische Präkonditionierung, die die Folgen von zu erwartenden und nicht vermeidbaren Myokardischämien reduzieren oder aber die Prognose bei akzidentiellen myokardialen Ischämien verbessern könnte.

Die von uns in dieser Studie gezeigten additiven kardioprotektiven Effekte von LPC und Sevofluran-induzierter PC ließen bereits vermuten, dass eine vorbestehende Kardioprotektion nach Angina pectoris durch die routinemäßige Nutzung volatiler Anästhetika im Rahmen kardiochirurgischer Operationen noch verstärkt werden kann.

Um sich die kardioprotektiven Effekte einer gezielten pharmakologischen Präkonditionierung zu Nutzen machen zu können, ist die detaillierte Kenntnis der zugrunde liegenden zellulären Mechanismen von wesentlicher Bedeutung. Aus tierexperimentellen Untersuchungen ging hervor, dass die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen ein wesentlicher Bestandteil der Signaltransduktionskette der frühen und späten Präkonditionierung ist. Eine Blockade dieser K_{ATP} -Kanäle hat nachteilige Auswirkungen auf die kardioprotektiven Effekte von EPC und LPC. Daher sollte nach Möglichkeit der Einsatz solcher Medikamente, die die kardioprotektiven Effekte einer ischämischen Präkonditionierung blockieren, vermieden

werden. Zu nennen sind hier Barbiturate wie Thiopental^{72,73} und auch razemisches Ketamin^{74,75}. Hingegen sind Anästhetika, die die K_{ATP} -Kanäle positiv beeinflussen und die kardioprotektiven Effekte einer ischämischen Präkonditionierung fördern, zur Narkoseführung empfehlenswert. Hierzu zählen sowohl die bisher untersuchten volatilen Anästhetika Enfluran³⁰, Isofluran^{32,36,154}, Sevofluran^{33,34,155} und Desfluran³¹ als auch die Opiate.

De Hert und Mitarbeiter verglichen in mehreren Studien im Rahmen koronarer Bypass-Operationen eine intravenöse geführte Narkose mit Propofol mit einer Inhalationsanästhesie mit Sevofluran. Eine dieser Studien erfolgte an Normalrisikopatienten, eine andere an Hochrisikopatienten (älter als 70 Jahre, Koronare-3-Gefäßerkrankung, Ejektionsfraktion kleiner 50%). In beiden Studien zeigten sich in den Sevoflurangruppen eine verminderte Ausschüttung kardialer Enzyme und eine deutlich bessere kardiale Funktion als in den Propofolgruppen.^{147,148} Eine aktuelle Studie der selben Arbeitsgruppe mit Bypass-operierten Patienten konnte eine verminderte Ein-Jahres-Mortalität bei Sevofluran-präkonditionierten Patienten nachweisen.¹⁴⁹

Eine weitere Arbeit von de Hert und Mitarbeitern 2006 im Rahmen von Aortenklappenersatz-Operationen ergab eine verminderte Troponin-I-Ausschüttung sowie ein erhöhtes dP/dt_{max} bei Sevofluran-präkonditionierten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe.³⁹

Eine 2007 erschienene Studie von Lucchinetti et al., ebenfalls Sevofluran versus Propofol, konnte eine echokardiographisch schlechtere Pumpfunktion und stärker angestiegene kardiale Enzyme in der Propofolgruppe nachweisen.¹⁵⁰

Garcia et al. führten im Rahmen koronarer Bypass-Operationen eine Studie mit Präkonditionierung mit Sevofluran oder Placebo durch und beobachteten das Patientengut für ein Jahr. Hierbei kam es in der

Sevoflurangruppe zu einer geringeren Anzahl an kardialen Spätkomplikationen wie der Herzinsuffizienz.³⁸

In einer aktuellen Studie von Bein und Kollegen 2008 führte eine Präkonditionierung mit Sevofluran vor der Bypass-Operation zu einem vermindertem Anstieg der Herzenzyme Troponin T und spezifischer Kreatinkinase (CK-MB), was einem vermindertem Zellschaden entspricht. Außerdem konnte echokardiographisch postinterventionell eine verbesserte Pumpfunktion sowohl im Vergleich zu einer kontinuierlichen Sevofluran- als auch Propofolgabe gezeigt werden.¹⁵¹

Landoni und weitere Autoren führten 2007 eine Meta-Analyse durch, die eine deutlich reduzierte Herzinfarkt- und Sterberate bei Sevofluran- und Desfluran-präkonditionierten Patienten ergab.¹⁵² In einer Meta-Analyse um Landoni und Bignami bei Patienten, die eine Präkonditionierung mit volatilen Anästhetika erhielten, stellte sich eine verminderte 30-Tages- als auch Gesamt-Mortalität im Vergleich zu den Kontrollgruppen heraus.¹⁵³

Eine aktuelle Studie von Fräßdorf et al. zeigte eine Präkonditionierung durch Sevofluran in an Menschen durchgeführten kardialen Bypass-Operationen durch Messung von Troponin I 4 Stunden postoperativ. Dabei kam es jedoch auf das Präkonditionierungs-Protokoll an, denn nur bei Gabe von zwei 5-minütigen Zyklen Sevofluran präoperativ konnte die Präkonditionierung gezeigt werden, ein einzelner 5-Minuten-Zyklus hatte keinerlei Auswirkung auf den Troponinwert.¹⁵⁵

Eine Studie von Wang et al. an während Bypass-Operationen entnommenen humanen Myozyten konnte, wie auch zuvor mehrfach in tierexperimentellen Studien beschrieben, eine ischämische Präkonditionierung durch instabile und stabile Angina pectoris zeigen. In dieser Untersuchung wurden erhöhte Plasmaspiegel von IL-6 und TNF- α in den Gruppen der Patienten mit instabiler Angina pectoris gemessen,

was wiederum zu einer vermehrten Expression von NF-kB, STAT 3, iNOS und COX-2 sowie einer verminderten Ausschüttung der kardialen Marker CK-MB und Troponin I führte.¹⁴⁶

Es gibt hingegen jedoch auch Studien, welche keinen oder nur einen geringen Benefit einer Inhalationsanästhesie oder Präkonditionierung mit Sevofluran nachweisen konnten.

In einer Arbeit von Piriou et al. mit einer Präkonditionierung mit Sevofluran über 15 Minuten vor der Bypass-OP und einer Kontrollgruppe zeigten sich auch postinterventionell vergleichbare Ergebnisse bezüglich der gemessenen Parameter Troponin I, Proteinkinase C, Tyrosinkinase und p38Map-Kinase. Es ergaben sich lediglich ein leicht erhöhter kardialer Index und eine niedrige Notwendigkeit der Gabe positiv inotroper Substanzen in der Sevo-Gruppe.¹⁵⁶

Jakobsen et al. konnten ebenfalls nur geringe Vorteile einer Sevoflurangabe anstelle einer Propofol-geführten Anästhesie zeigen und dies auch nur bei Patienten mit einer geringgradigen koronaren Herzerkrankung zeigen. Bei schwerer erkrankten Patienten mit hohem perioperativen Stress zeigte sich sogar ein leichter Vorteil der intravenösen Propofol-geführten Anästhesie.¹⁵⁷

Das Ziel fortführender Studien sollte es daher sein, die Möglichkeiten der Kardioprotektion noch genauer zu untersuchen und schon bestehende Ergebnisse zu überprüfen. Weitere Untersuchungsschwerpunkte sollten in Zukunft auf die mit Myokardinfarkten häufig verbundenen Risikofaktoren (Adipositas, Hypercholesterinämie, Nikotinabusus und Hypertonie) und Komorbiditäten wie Diabetes mellitus und generalisierte arterielle Verschlusskrankheit gesetzt werden. Eine vor längerer Zeit publizierte Studie unserer Arbeitsgruppe zum Beispiel ergab, dass eine hyperglykämie Entgleisung eines Diabetes mellitus bei Kaninchen in vivo die LPC-induzierte Kardioprotektion aufhebt und dass die

Kardioprotektion auch durch schnell wirksame Insuline nicht wieder hergestellt werden kann (Ebel et al.).¹⁵⁸ Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch weitere Studien an diabetischen Tieren.¹⁵⁹⁻¹⁶¹ In diesem Zusammenhang wäre auch die Untersuchung hinsichtlich des Outcome bei KHK-Patienten, welche mit Glibenclamid behandelt werden, interessant.

Tang et al. führten eine Studie zur ischämischen Präkonditionierung und Hypercholesterinämie an Kaninchenherzen in vivo durch, hier kam es ebenfalls zu einer verminderten Kardioprotektion.¹⁶²

Die Studiengruppe um R. Bolli hat in den letzten Jahren zudem vermehrt eine Kardioprotektion über Gentherapie mit iNOS und COX-2 auslösen können. Die Studiengruppe injizierte bei Mäusen iNOS oder COX-2 über Adenoviren bzw. rekombinante adeno-assoziierte Viren (rAAV) intramyokardial und führten die Tierversuche 72 Stunden, acht Wochen sowie ein Jahr später durch. Es zeigte sich selbst nach einem Jahr noch eine ausgeprägte Kardioprotektion, welche ebenfalls über den bekannten LPC-Mechanismus die Kardioprotektion vermittelt.^{163,164}

Weitere noch nicht abgeschlossene Versuche mit der extrazellulären Superoxiddismutase (ecSOD) ergaben bisher ebenfalls eine vermehrte Kardioprotektion nach 12 Monaten.¹⁶⁵ Von besonderem Interesse ist hierbei, dass ecSOD im Gegensatz zu den intrazellulär wirkenden iNOS und COX-2 ein extrazellulär wirkendes Protein ist. Auch auf diesem Gebiet sollten weitere Studien erfolgen, um Herzkranken und Hochrisikopatienten in Zukunft eine höchstmögliche und langfristige Kardioprotektion zu ermöglichen.

Zusammenfassung

Additive Effekte von klassischer und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung in vivo

Fragestellung: Die kurzzeitige Gabe des volatilen Anästhetikums Sevofluran führt zu einer pharmakologischen Präkonditionierung durch Öffnung adenosin-triphosphat-abhängiger Kalium- (K_{ATP} -) Kanäle, die dem Mechanismus der ischämischen frühen Präkonditionierung (EPC) ähnelt. Die späte ischämische Präkonditionierung (LPC) ist ein wichtiger kardioprotektiver Mechanismus bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit. Wir untersuchten, ob die Kombination aus LPC und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung die kardioprotektiven Effekte verstärkt und ob geöffnete K_{ATP} -Kanäle hierbei eine Rolle spielen.

Methodik: 73 Kaninchen erhielten einen Koronararterienokkluder. Nach zehntägiger Erholungsphase wurden die mit α -Chloralose anästhesierten Tiere einer regionalen Myokardischämie über 30 Minuten und anschließenden 120-minütigen Reperfusion ausgesetzt (I/R). In der LPC-Gruppe (n=15) erfolgte 24 Stunden vor I/R die LPC durch eine fünfminütige Koronararterienokklusion am wachen Tier. In der LPC+EPC-Gruppe (n=9) wurde zusätzlich 10 Minuten vor I/R eine EPC durch eine fünfminütige Koronararterienokklusion induziert. Die Tiere der LPC+SEVO-Gruppe (n=10) erhielten 10 Minuten vor I/R statt EPC 1 MAC Sevofluran inhalativ über fünf Minuten, in der Sevo-Gruppe (n=15) erfolgte die Sevoflurangabe ohne vorhergehende LPC. In der LPC+SEVO+5-HD-Gruppe (n=10) wurden nach LPC 5mg/kg des K_{ATP} -Kanalkblockers 5-HD 10 Minuten vor der Sevoflurangabe intravenös appliziert. In der Kontrollgruppe (KON, n=14) erfolgte keinerlei Präkonditionierung.

Ergebnisse: Die Infarktgröße in % des Risikogebietes (IS, TTC-Färbung) wurde durch LPC von $45\pm 16\%$ (MW \pm SD, KON) auf $27\pm 11\%$ ($P < 0,001$ vs. KON) und durch Sevofluran auf $27\pm 17\%$ ($P < 0,001$ vs. KON) reduziert. Die zusätzliche Sevofluran-Gabe nach LPC verringerte die Infarktgröße nochmals auf $14\pm 8\%$ (LPC+SEVO, $P = 0,003$ vs. LPC; $P = 0,049$ vs. SEVO), was ähnlich dem Ergebnis von LPC+EPC ($12\pm 8\%$, $P = ns$ vs. LPC+SEVO) ist. Der Kaliumkanalblocker 5-HD hebt die durch LPC+Sevo induzierten kardioprotektiven Effekte auf (LPC+SEVO+5-HD, $41\pm 19\%$, $P = 0,001$ vs. LPC+SEVO).

Interpretation: Die Kombination aus klassischer ischämischer und Sevofluran-induzierter Präkonditionierung hat additive kardioprotektive Effekte auf Kaninchenherzen. Dabei spielt die Öffnung K_{ATP} -abhängiger Kanäle eine entscheidende Rolle.

Literaturverzeichnis

1. Strasser R, Vogt A, Schaper W: Myokardprotektion durch Präkonditionierung. Experimentelle und klinische Bedeutung. Zeitschrift für Kardiologie 1996; 84:79-89
2. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986; 74:1124-1136.
3. Liu Y, Downey JM. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. Am J Physiol 1992; 263: H1107-H1112.
4. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson, RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A₁ adenosine receptors in rabbit heart. Circulation 1991; 84: 350-356.
5. Vahlhaus C, Schulz R, Post H, Onallah R, Heusch G. No prevention of ischemic preconditioning by protein kinase C inhibitor staurosporine in swine. Circ Res 1996; 79: 407-414.
6. Marber MS, Latchmann DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. Circulation 1993; 88:1264-1272.
7. Bernardo NL, D'Angelo M, Okubo S, Joy A, Kukreja RC. Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. Am J Physiol. 1999; 276: H1323-H1330.
8. Heidland UE, Heintzen MP, Schwartzkopff B, Strauer BE: Preconditioning during percutaneous transluminal coronary angioplasty by endogenous and exogenous adenosine. Am Heart J; 2000; 140: 813-20
9. Tsuchida A, Liu A, Liu GS, Cohen MV, Downey JM: Alpha-1-adrenergic agonists precondition rabbit myocardium independent of adenosine by direct activation of protein kinase C. Circ Res 1994; 75: 576-85.
10. Yao Z, Gross GJ: Acetylcholine mimics ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in dogs. Am.J.Physiol. 1993; 264: H2221-H2225.
11. Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ: Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a Glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. Circ Res 1996; 78: 1100-4.
12. Mc Pherson BC, Yao Z: Signal Transduction of opioid-induced cardioprotection in ischemia-reperfusion. Anesthesiology 2001; 94: 1082-88
13. Hartmann JC, Wall TM, Hulliger TG, Shebuski RJ: Reduction of myocardial infarct size in rabbits by Ramiprilat: Reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. Journal of Cardiovascular Pharmacology 1993; 21: 996-1003.

14. Arstall MA, Zhao YZ, Hornberger L, Kennedy SP, Buchholz RA, Osathanondh R, Kelly RA. Human ventricular myocytes in vitro exhibit both early and delayed preconditioning responses to simulated ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 1998;30:1019-25
15. Kloner RA, Shook T, Antman EM, Cannon CP, Przyklenk K, Yoo K, McCabe CH, Braunwald E, TIMI-9B investigators: Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome. *Circulation* 1998; 97: 1042-45
16. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson M, Poole WK, Cannon CP, McCabe CH, Braunwald E, TIMI-4 investigators: Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. *Circulation* 1995; 91: 37-47
17. Okazaki Y, Kodama K, Sato H, Kitakaze M, Hirayama A, Mishima M, Hori M, Inoue M: Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am. Coll. Cardiol.* 1993; 21: 1597-1604
18. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld J Jr., Herrmann HC, Laskey WK: Adaption to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic and metabolic features. *Circulation* 1990; 82: 2044-51
19. Yao ZH, Tong J, Tan XH, Li CQ, Sha TH, Kim WC, Vanden Hoek TL, Becker LB, Head CA, Schumacker PT: Role of reactive oxygen species in acetylcholine-induced preconditioning in cardiomyocytes. *Am J Physiol* 1999; 277:H2504-09
20. McPherson BC, Yao ZH: Morphine mimics preconditioning via free radical signals and mitochondrial K_{ATP} -channels in myocytes. *Circulation* 2001; 103: 290-95
21. Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV: Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical time sequence of protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 915-20
22. Gopalakrishna R, Anderson WB: Ca^{2+} - and phospholipids-independent activation of protein kinase C by selective oxidative modification of the regulatory domain. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86: 6758-62
23. Baines CP, Wang L, Cohen MV, Downey JM: Protein tyrosine kinase is downstream of protein kinase C for ischemic preconditioning's anti-infarct effect in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 383-92
24. Fryer RM, Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ: Pretreatment with tyrosine kinase inhibitors partially attenuates ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol* 1998; 275: H2009-15
25. Weinbrenner C, Liu GS, Cohen MV, Downey JM: Phosphorylation of tyrosine 182 of p38 mitogen-activated protein kinase correlates with the protection of preconditioning in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 2383-91

26. Downey JM, Cohen MV: Do mitochondrial K_{ATP} channels serve as triggers rather than end-effectors of ischemic preconditioning's protection. *Basic Res Cardiol* 2000; 95: 272-74
27. Hattori R, Otani H, Uchiyama T, Imamura H, Cui J, Maulik N, Cordis GA, Zhu L, Das DK: Src tyrosine kinase is the trigger but not the mediator of ischemic preconditioning. *Am J Physiol* 2001; 281: H1066-74
28. Maulik N, Yoshida T, Zu YL, Sato M, Banerjee A, Das DK: Ischemic preconditioning triggers tyrosine kinase signaling: a potential role for MAPKAP kinase 2. *Am J Physiol* 1998; 275: H1857-64
29. Kersten JR, Schmeling TJ, Hettrick DA, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Mechanism of myocardial protection by isoflurane. *Anesthesiology* 1996; 85: 794-807
30. Cope DK, Impasto WK, Cohen MV, Downey JM: Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997; 86: 699-709
31. Toller WG, Gross ER, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphat-dependent potassium channels – Mechanism of desflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 2000; 92: 1731-39
32. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC: Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K_{ATP}-channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997; 87: 361-70
33. Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC: Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology* 1999; 91: 1437-46
34. Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF: Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 1999; 91: 701-12
35. An J, Varadarajan SG, Novalija E, Stowe DF: Ischemic and anesthetic preconditioning reduces cytosolic [CA²⁺] and improves Ca²⁺ responses in intact hearts. *Am J Physiol* 2001; 281: H1508-H1523
36. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasché P: Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100: 340-4
37. Julier K, da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, Chassot PG, Schmid ER, Turiner MI, von Seggesser LK, Pascht T, Spahn DR, Zaugg M: Preconditioning by Sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology* 2003 Jun; 98(6): 1315-27

38. Garcia C, Julier k, Bestmann L, Zollinger A, von Segesser LK, Pasch T, Spahn DR, Zaugg M: Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery. *Br J Anaesth.* 2005 Feb; 94(2): 159-65
39. Cromheecke S, Pepermans V, Hendrickx E, Lorsomradee S, Ten Broecke PW, Stockman BA, Rodrigus IE, De Hert SG: Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing aortic valve replacement with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 2006 Aug; 103(2): 289-96, table of contents
40. Kersten JR, Orth KG, Pagel PS, Mei DA, Gross GJ, Warltier DC: Role of adenosine in isoflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 1997; 86: 1128-39
41. Hanouz JL, Yvon A, Massetti M, Lepage O, Babatasi G, Khayat A, Bricard H, Gerard JL: Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology* 2002; 97: 33-41
42. Toller WG, Kersten JR, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC: Isoflurane preconditions myocardium against infarction via activation of inhibitory guanine nucleotide binding proteins. *Anesthesiology* 2000; 92: 1400-07
43. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC: Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K_{ATP} -channels via multiple signalling pathways. *Anesthesiology* 2002; 97: 4-14
44. Kaneda K, Miyamae M, Sugioka S, Ocosa C, Inamura Y, Domae N, Kotani J, Figueredo VM: Sevoflurane enhances ethanol-induced cardiac preconditioning through modulation of protein kinase c, mitochondrial KATP channels, and nitric oxide synthase, in guinea pig hearts. *Anesth Analg.* 2008 Jun; 106(6): 9-16, table of contents
45. Ocosa C, Miyamae M, Sugioka S, Kaneda K, Inamura Y, Onishi A, Domae N, Kotani J, Figueredo VM: Acute memory phase of sevoflurane preconditioning is associated with sustained translocation of protein kinase C-alpha and epsilon, but not delta, in isolated guinea pig hearts. *Eur J Anaesthesiol.* 2009 Jul; 26(7): 582-8
46. Bouwman RA, Musters RJP, van Beek-Harmsen BJ, de Lange JJ, Boer C: Reactive oxygen species precede protein kinase C- δ activation independent of adenosine triphosphate-sensitive mitochondrial channel opening in sevoflurane-induced cardioprotection. *Anesthesiology* 2004; 100: 506-514
47. Lange M, Smul TM, Redel A, Lotz C, Jazbutyte V, Schnupp V, Roemer N, Kehl F: Differential role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in desflurane-induced preconditioning and cardioprotection by metoprolol: metoprolol blocks desflurane-induced preconditioning. *Anesthesiology.* 2008 Jul; 109(1): 72-80
48. Stadnicka A, Kwok WM, Warltier DC, Bosnjak ZJ: protein tyrosine kinase-dependent modulation of isoflurane effects on cardiac sarcolemmal K(ATP) channel. *Anesthesiology.* 2002; 97: 1198-208

49. Weber NC, Toma A, Wolter JI, Wirthle NM, Schlack W, Preckel B: Mechanisms of xenon- and isoflurane-induced preconditioning – a potential link to the cytoskeleton via the MAPKAPK-2/HSP-27 pathway. *Br J Pharmacol.* 2006; 146: 445-55
50. Novalija E, Varadarajan SG, Camara AK, An J, Chen Q, Riess ML, Hogg N, Stowe DF: Anesthetic preconditioning: triggering role of reactive oxygen and nitrogen species in isolated hearts. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2002; 283: H44-H52
51. Tanaka K, Weihrauch D, Kehl F, Ludwig LM, Ladisa JF, Jr., Kersten JR, Pagel PS, Wartier DC: Mechanism of preconditioning by isoflurane in rabbits: a direct role for reactive oxygen species. *Anesthesiology* 2002; 97: 1485-90
52. Ludwig LM, Tanaka K, Eells JT, Weihrauch D, Pagel PS, Kersten JR, Wartier DC: Preconditioning by isoflurane is mediated by reactive oxygen species generated from mitochondrial electron transport chain complex III. *Anesth.Analg.* 2004; 99: 1308-15
53. Riess ML, Kevin LG, McCormick J, Jiang MT, Rhodes SS, Stowe DF: Anesthetic preconditioning: the role of free radicals in sevoflurane-induced attenuation of mitochondrial electron transport in Guinea pig isolated hearts. *Anesth.Analg.* 2005; 100: 46-53
54. Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ: Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel. *Anesthesiology* 2001; 95: 1435-40
55. Noma A, Shibasaki T: Membrane current through adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea-pig ventricular cells. *J Physiol.* 1985 Jun; 363: 462-80
56. Gross GJ, Auchampach JA: Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res.* 1992 Feb; 70(2): 223-33
57. Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V, Murray HN, Darbenzio RB, D'Alonzo AJ, Lodge NJ, Smith MA, Grover GJ: Cardioprotective Effect of Diazoxide and Its Interaction With Mitochondrial ATP-Sensitive K⁺ Channels Possible Mechanism of Cardioprotection. *Circ Res.* 1997 Dec; 81(6): 1072-82
58. Liu Y, Sato T, Seharaseyon J, Szewczyk A, O'Rourke B, Marbán E: Mitochondrial ATP-dependent potassium channels. Viable candidate effectors of ischemic preconditioning. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Jun 30; 874: 27-37
59. Light PE, Kanji HD, Fox JE, French RJ: Distinct myoprotective roles of cardiac sarcolemmal and mitochondrial KATP channels during metabolic inhibition and recovery. *FASEB J.* 2001 Dec; 15(14): 2586-94
60. Hanouz JL, Zhu L, Persehaye E, Massetti M, Babatasi G, Khayat A, Ducouret P, Plaud B, Gérard JL: Ketamine Preconditions Isolated Human Right Atrial Myocardium: Roles of Adenosine Triphosphate-sensitive Potassium Channels and Adrenoceptors. *Anesthesiology.* 2005 Jun; 102(6): 1190-6

61. Yvon A, Hanouz JL, Haelewyn B, Terrien X, Massetti M, Babatasi G, Khayat A, Ducouret P, Bricard H, Gerard JL: Mechanisms of sevoflurane-induced myocardial preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology*. 2003 Jul; 99(1):27-33
62. Gross GJ, Fryer RM: Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 1999; 84: 973-9
63. Müllenheim J, Heinen A, Fräßdorf J, Schlack W, Thämer V: Additive cardioprotective effects of late and early preconditioning are mediated by opening of K_{ATP}-channels. *Eur J Physiol* 2001; 442: 178-87
64. Fräßdorf J: Das zweite Fenster der Myokardprotektion der ischämischen Präkonditionierung wird durch das Öffnen von Adenosintriphosphatsensitiven Kaliumkanälen vermittelt. Dissertation an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf 2001
65. Chien GL, Wolff RA, Davis RF, van WD: "Normothermic range" temperature affects myocardial infarct size. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1014-17
66. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Circ Res* 1987; 21: 737-46
67. Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Herbert D, Cohen MV, Downey JM: Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol* 1994; 267: H2383-90
68. Harvey RC, Walker MJ: Species considerations for anesthesia in research animals. In: Short CE (ed): *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1987, pp 380-92
69. Rath DP, Little CM, Zhang H, Jiang Z, Abduljalil AM, Zhu H, Tong X, Brown C, Hamlin RL, Robitaille PM: Sodium pentobarbital versus alpha-chloralose anesthesia. Experimental production of substantially different slopes in the transmural CP/ATP ratios within the left ventricle of the canine myocardium. *Circulation* 1995; 91: 471-75
70. Bardaji A, Cica J, Worner F, Schoenenberger A: Effects of anesthesia on acute ischemic arrhythmias and epicardial electrograms in the pig heart in situ. *Circ Res* 1990; 24: 227-31
71. Chakrabarty S, Thomas P, Sheridan DJ: Arrhythmias, haemodynamic changes and extent of myocardial damage during coronary ligation in rabbits anesthetized with halothane, alpha-chloralose or pentobarbitone. *Int J Cardiol* 1991; 31: 9-14
72. Kozłowski RZ, Ashford MLJ: Barbiturates inhibit ATP-K⁺ channels and voltage-activated currents in CRI-G1 insulin-secreting cells. *Br J Pharmacol* 1991; 103: 2021-29

73. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC: Differential effects of anesthetics on mitochondrial K_{ATP} channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002; 97: 15-23
74. Ko SH, Lee SK, YJ, Choe H, Kwak YG, Chae SW, Cho KP, Song HS: Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997; 87: 68-74
75. Müllenheim J, Fräßdorf J, Preckel B, Thämer V, Schlack W: Ketamine, but not S(+)-ketamine blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *Anesthesiology* 2001; 94: 630-36
76. McCullough JR, Normandin DE, Conder ML, Sleph PG, Dzwonczyk S, Grover GJ: Specific block of the anti-ischemic actions of cromakalim by sodium 5-hydroxydecanoate. *Circulation Research* 1991 Oct; 69(4): 949-58
77. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Land U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W: Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981; 101: 593-600
78. Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ: Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985; 121: 522-30
79. Birnbaum Y, Hale SL, Kloner A: Differences in reperfusion length following 30 minutes of ischemia in the rabbit influence infarct size, as measured by triphenyltetrazolium chloride staining. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 657-666
80. Cohen MV, Liu GS, Downey JM: Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation* 1991 Jul; 84(1): 341-49
81. Montrucchio G, Alloati G, Mariano F, de Paulis R, Comino A, Emanuelli G, Camussi G: Role of platelet-activating factor in the reperfusion injury of rabbit ischemic heart. *Am J Pathol*. 1990 Jul; 137(1): 71-83
82. Hamada K, Yamazaki J, Nagao T: Shortening of action potential duration is not prerequisite for cardiac protection by ischemic preconditioning or a K_{ATP} channel opener. *J Mol Cell Cardiol*. 1998 Jul; 30(7): 1369-79
83. Suzuki M, Sasaki N, Miki T, Sakamoto N, Ohmoto-Sekine Y, Tamagawa M, Seino S, Marbán E, Nakaya H: Role of sarcolemmal $K(ATP)$ channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest*. 2002 Feb;109(4):509-16
84. Uecker M, Da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M: Translocation of protein kinase c isoforms to subcellular targets in ischemic and anesthetic preconditioning *Anesthesiology* 2003; 99: 138-47
85. Toyoda Y, Friehs I, Parker RA, Levitsky S, McCully JD: Differential role of sarcolemmal and mitochondrial $K(ATP)$ channels in adenosine-enhanced ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 Dec; 279(6): H 2694-2703

86. Yang MK, Lee SH, Seo HW, Yi KY, Yoo SE, Lee BH, Chung HJ, Won HS, Lee CS, Kwon SH, Choi WS, Shin HS: KR-31761, a novel K(ATP)-channel opener, exerts cardioprotective effects by opening both mitochondrial K⁺(ATP) and sarcolemmal K⁺(ATP) channels in rat models of ischemia/reperfusion-induced heart injury. *J Pharmacol Sci.* 2009 Feb; 109(2): 222-32.
87. An J, Bosnjak ZJ, Jiang MT: Myocardial protection by isoflurane preconditioning preserves Ca²⁺ cycling proteins independent of sarcolemmal and mitochondrial KATP channels. *Anesth Analg.* 2007 Nov; 105(5): 1207-13, table of contents
88. Marinovic J, Bosnjak ZJ, Stadnicka A: Distinct roles for sarcolemmal and mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in isoflurane-induced protection against oxidative stress. *Anesthesiology.* 2006 Jul; 105(1): 98-104
89. Mathur S, Farhangkhgoee P, Karmazyn M: Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused myocardium. *Anesthesiology* 1999; 91: 1349-60
90. 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
91. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM: Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Bas Res Cardiol* 1997; 92: 159-67
92. Ping P, Takano H, Zhang J, Tang XL, Qiu Y, Li RC, Banerjee A, Dawn B, Balafonova Z, Bolli R: Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits. *Circ Res* 1999; 84: 587-604
93. Müllenheim J, Ebel D, Schlack W, Thämer V: Repeated cycles of ischemia are not more effective in inducing late preconditioning than one 5-min cycle. *Eur J Physiol* 2002; 443: 296
94. Ismaeil MS, Tkachenko I, Gamperl AK, Hickey RF, Cason BA: Mechanisms of isofluran-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 1999; 90: 812-21
95. Piriou V, Chiari P, Knezynski S, Bastien O, Loufoua J, Lehot JJ, Foex P, Annat G, Ovize M: Prevention of isoflurane-induced preconditioning by 5-hydroxydecanoate and gadolinium. *Anesthesiology* 2000; 93: 756-64
96. Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C, III: Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A₁ receptors and adenosine triphosphat-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2000; 92: 1692-1701
97. Iida H, Ohata H, Iida M, Watanabe Y, Dohi S: Isoflurane and sevoflurane induce vasodilatation of cerebral vessels via ATP-sensitive K⁺channel activation. *Anesthesiology* 1998; 89: 954-60

98. Crystal GJ, Zhou X, Gurevicius J, Czinn EA, Salem MR, Alam S, Piotrowski A, Hu G: Direct coronary vasomotor effects of sevoflurane and desflurane in situ canine hearts. *Anesthesiology* 2000; 92: 1103-13
99. Holmuhamedov EL, Wang L, Terzic A: ATP-sensitive K⁺ channel openers prevent Ca²⁺ overload in rat cardiac mitochondria. *J Physiol.* 99 Sep 1; 519 PT 2: 347-60
100. Holmuhamedov EL, Jovanovic S, Dzeja PP, Jovanovic A, Terzic A: Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function. *Am J Physiol.* 1998 Nov; 275 (5 PT 2): H1576-1576
101. Novalija E, Kevin LG, Camara AK, Bosnjak ZJ, Kampine JP, Stowe DF: Reactive oxygen species precede the ϵ isoform of protein kinase c in the anesthetic preconditioning signalling cascade. *Anesthesiology.* 2003 Aug; 99(2): 421-8
102. Das DK, Maulik N, Sato M, Ray PS: Reactive oxygen species function as second messenger during ischemic preconditioning of heart. *Mol Cell Biochem.* 1999 Jun; 196(1-2): 59-67
103. Bouwman RA, Musters RJ, van Beek-Harmsen BJ, de Lange JJ, Lamberts RR, Loer SA, Boer C: Sevoflurane-induced cardioprotection depends on PKC- α activation via production of reactive oxygen species. *Br J Anaesth.* 2007 Nov; 99(5): 639-45
104. Bouwman RA, Salic K, Padding FG, Eringa EC, van Beek-Harmsen BJ, Matsuda T, Baba A, Musters RJ, Paulus WJ, de Lange JJ, Boer C: Cardioprotection via activation of protein kinase C- δ depends on modulation of the reverse mode of the Na⁺/Ca²⁺- exchanger. *Circulation* 2006 Jul 4; 114(1 Suppl): I 226-32
105. An J, Rhodes SS, Jiang MT, Bosnjak ZJ, Tian M, Stowe DF: Anesthetic preconditioning enhances Ca²⁺-handling and mechanical and metabolic function elicited by Na⁺-Ca²⁺ exchange inhibition in isolated hearts. *Anesthesiology* 2006 Sep; 105(3): 541-9
106. Lange M, Smul TM, Blomeyer CA, Redel A, Klotz KN, Roewer N, Kehl F: Role of beta1-adrenergic pathway in anesthetic and ischemic preconditioning against myocardial infarction in the rabbit heart in vivo. *Anesthesiology* 2006 Sep; 105(3): 503-10
107. Annecke T, Kubitz JC, Kahr S, Hilberath JM, Langer K, Kemming GI, Rehm M, Bittmann I, Conzen PF: Effects of sevoflurane and propofol on ischemia-reperfusion injury after thoracic-aortic occlusion in pigs. *Br J Anaesth.* 2007 Mar 19;
108. Larsen JR, Aagaard SR, Hasenkam JM, Sloth E: Pre-occlusion ischemia, not sevoflurane, successfully preconditions the myocardium against further damage in porcine in vivo hearts. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2007 Apr; 51(4): 402-9

109. Raphael J, Rivo J, Gozal Y: Isoflurane-induced myocardial preconditioning is dependent on phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signalling. *Br J Anaesth.* 2005 Dec; 95(6): 756-63
110. Krolikowski JG, Weihrauch D, Bienengraeber M, Kersten JR, Wartier DC, Pagel PS: Role of ERK 1/2 p70s6K, and eNOS in isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion in vivo. *Can J Anaesth.* 2006 Feb; 53(2): 174-82
111. Wang C, Weihrauch D, Schwabe DA, Bienengraeber M, Wartier DC, Kersten JR, Pratt PFJr., Pagel PS: Extracellular signal-regulated kinases trigger isoflurane preconditioning concomitant with upregulation of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor expression in rats. *Anesth Analg.* 2006 Aug; 103(2): 281-88
112. Toma O, Weber NC, Wolter JI, Obal D, Preckel B, Schlack W: Desflurane preconditioning induces time-dependent activation of protein kinase C epsilon and extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 in the rat heart in vivo. *Anesthesiology* 2004 Dec; 101(6): 1372-80
113. Bolli R, Dawn B, Tang XL, Qiu Y, Ping P, Xuan YT, Jones WK, Takano H, Guo Y, Zhang J: The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Bas Res Cardiol* 1998; 93: 325-38
114. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marban E: Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 2000; 101: 439-45
115. Dawn B, Xuan YT, Guo Y, Rezazadeh A, Stein AB, Hunt G, Wu WJ, Tan W, Bolli R: IL-6 plays an obligatory role in late preconditioning via JAK-STAT signaling and upregulation of iNOS and COX-2. *Cardiovasc Res.* 2004 Oct 1; 64(1): 61-71.
116. Xuan YT, Guo Y, Han H, Zhu Y, Bolli R : An essential role of the JAK-STAT pathway in ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9050-5.
117. Xuan YT, Guo Y, Zhu Y, Han H, Langenbach R, Dawn B, Bolli R: Mechanism of cyclooxygenase-2 upregulation in late preconditioning. *J Mol Cell Cardiol.* 2003 May; 35(5): 525-37
118. Guo Y, Stein AB, Wu Wj, Zhu X, Tan W, Li Q, Bolli R: Late preconditioning induced by no-donors, adenosine A1 receptor agonists and delta-1 opioid receptor agonists is mediated by iNos. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 Nov; 289(5): H2251-7
119. Kudej RK, Shen YT, Peppas AP, Huang CH, Chen W, Yan L, Vatner DE, Vatner SF: Obligatory role of cardiac nerves and alpha1-adrenergic receptors for the second window of ischemic preconditioning in conscious pigs. *Circ Res.* 2006 Nov 24; 99(11):1270-6
120. Frassdorf J, Weber NC, Obal D, Toma O, Mullenheim J, Kojda G, Preckel B, Schlack W: Morphine induces late preconditioning in rat hearts in vivo: the involvement of opioid receptors and nuclear transcription factor kappaB. *Anesth Anlag.* 2005 Oct; 101(4): 934-41

121. Levy DE, Darnell JE Jr: Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 Sep; 3(9): 651-62
122. Wen Z, Zhong Z, Darnell JE Jr: Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. *Cell.* 1995 Jul 28; 82(2): 241-50
123. Xuan YT, TangXL, Banerjee S, Takano H, Li RC, Han H, Qiu Y, Li JJ, Bolli R: Nuclear factor-kappaB plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ Res.* 1999 May 14; 84(9): 1095-1109
124. Hiasa G, Hamada M, Ikeda S, Hiwada K: Ischemic preconditioning and lipopolysaccharide attenuate nuclear factor-kappaB activation and gene expression of inflammatory cytokines in the ischemia-reperfused rat heart. *Jpn Circ J.* 2001 Nov; 65(11): 984-90
125. Iliodromitis EK, Gaitanaki C, Lazou A, Aggeli IK, Gizas V, Bofilis E, Zoga A, Beis I, Kremastinos DT: Differential activation of mitogen-activated protein kinases in ischemic and nitroglycerin-induced preconditioning. *Basic Res Cardiol.* 2006 Jul; 101(4): 327-35
126. Ping P, Zhang J, Cao X, Li RC, Kong D, Tang XL, Qiu Y, Manchikalapudi S, Auchampach JA, Black RG, Bolli R: PKC-dependent activation of p44/p42 MAPKs during myocardial ischemia-reperfusion in conscious rabbits. *Am J Physiol.* 1999 May; 256(5 Pt 2): H1468-81
127. Wang Y, Guo Y, Zhang SX, Wu WJ, Wang J, Bao W, Bolli R: Ischemic preconditioning upregulates inducible nitric oxide synthase in cardiac myocyte. *J Mol Cell Cardiol.* 2002 Jan; 34(1): 5-15.
128. Wang Y, Kodani E, Wang J, Zhang SX, Takano H, Tang XL, Bolli R: Cardioprotection during the final stage of the late phase of ischemic preconditioning is mediated by neuronal NO synthase in concert with cyclooxygenase-2. *Circ Res.* 2004 Jul 9; 95(1): 84-91
129. Guo Y, Bao W, Wu WJ, Shinmura K, Tang XL, Bolli R: Evidence for an essential role of cyclooxygenase-2 as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning in mice. *Basic Res Cardiol.* 2000 Dec; 95(6): 479-84
130. Bolli R, Shinmura K, Tang XL, Kodani E, Xuan YT, Guo Y, Dawn B: Discovery of a new function of cyclooxygenase (COX)-2: COX-2 is a cardioprotective protein that alleviates ischemia/reperfusion injury and mediates the late phase of preconditioning. *Cardiovasc Res.* 2002 Aug 15; 55(3): 506-19
131. Shinmura K, Bolli R, Liu SQ, Tang XL, Kodani E, Xuan YT, Srivastava S, Bhatnagar A: Aldose reductase is an obligatory mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circ Res.* 2002 Aug 9; 91(3): 240-6
132. Li Q, Bolli R, Qiu Y, Tang XL, Guo Y, French BA: Gene therapy with extracellular superoxide dismutase protects conscious rabbits against myocardial infarction. *Circulation.* 2001 Apr 10; 103(14): 1893-8

133. Hoshida S, Yamashita N, Otsu K, Hori M: The importance of manganese superoxide dismutase in delayed preconditioning: involvement of reactive oxygen species and cytokines. *Cardiovasc Res.* 2002 Aug 15;55(3):495-505
134. Liu Y, Sato T, O'Rourke B, Marban E: Mitochondrial ATP-dependent potassium channels. Novel effectors of cardioprotection. *Circulation* 1998; 97: 2463-9
135. Pain T, Yang XM, Critz SD, Yue Y, Nakano A, Liu GS, Huesch G, Cohen MV, Downey JM: Opening of mitochondrial K_{ATP} channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 2000; 87: 460-6
136. Wang Y, Hirai K, Ashraf M: Activation of mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity. *Circ Res* 1999; 85: 731-41
137. Wang YG, Ashraf M: Role of protein kinase C in mitochondrial K_{ATP} channel-mediated protection against Ca^{2+} overload injury in rat myocardium. *Circ Res* 1999; 84: 1156-65
138. Toller WG, Montgomery MW, Pagel PS, Hettrick DA, Wartier DC, Kersten JR: Isoflurane-enhanced recovery of canine stunned myocardium – Role for protein kinase C *Anesthesiology* 1999; 91: 713-22
139. Kudoh A, Matsuki A: Sevoflurane stimulates inositol 1,4,5-triphosphate in skeletal muscle. *Anesth Analg* 2000; 91: 440-5
140. Chilian WM, Gross GJ: Prologue: ischemic preconditioning in cardiac vascular muscle. *Am Physiol* 1999; 277: H2416-H2417
141. Pabla R, Buda AJ, Flynn DM, Blesse SA, Shin AM, Curtis MJ, Lefer DJ: nitric oxide attenuates neutrophil-mediated myocardial contractile dysfunction after ischemia and reperfusion. *Circ Res* 1996; 78: 65-72
142. Cohen MV, Yang XM, Downey JM: Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused hearts. *Am J Physiol* 1999; 277: H1754-H1761
143. Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, Qiu Y, Zhang Q, Guo Y, Jadoon AK: Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide. *Circ Res* 1997; 81: 42-52
144. Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB: Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 1993; 342: 276-7
145. Loubani M, Hassouna A, Galinanes M: Delayed preconditioning of the human myocardium: signal transduction and clinical implications. *Cardiovasc Res.* 2004 Feb 15; 61(3): 600-9
146. Wang Y, Yin B, Liu S, Xues S: Cardioprotective effect by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 through late preconditioning in unstable angina patients. *Arch Med Res.* 2007 Jan; 38(1): 80-5

147. De Hert SG, ten Broecke PW, Mertens E, van Sommeren EW, de Blier IG, Stockmann BA, Rodrigus IE: Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology*. 2003 Apr; 98(4): 1028-29
148. De Hert SG, Cromheecke S, ten Broecke PW, Mertens E, De Blier IG, Stockmann BA, Rodrigus IE, van der Linden PJ: Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients. *Anesthesiology* 2003 Aug; 99(2): 314-23
149. De Hert SG, Vlasselaers D, Barbé R, Ory JP, Dekegel D, Donnadoni R, Demeere JL, Mulier J, Wouters P: A comparison of volatile and non-volatile agents for cardioprotection during on-pump coronary surgery. *Anaesthesia*. 2009 Sep; 64(9): 953-60
150. Lucchinetti E, Hofer C, Bestmann L, Hersberger M, Feng J, Zhu M, Ferrer L, Schaub MC, Tavakoli R, Genomi M, Zollinger A, Zaugg M: Gene regulatory control of myocardial energy metabolism predicts postoperative cardiac function in patients undergoing off-pump coronary artery bypass graft surgery: inhalational versus intravenous anesthetics. *Anesthesiology* 2007 Mar; 106(3): 444-57
151. Bein B, Renner J, Caliebe D, Hanss R, Bauer M, Fraund S, Scholz J: The effects of interrupted or continuous administration of sevoflurane on preconditioning before cardio-pulmonary bypass in coronary artery surgery. *Anesthesia*. 2008 Jul 5 [Epub ahead of print]
152. Landoni G, Biondi-Zoccai G, Zangrillo A, Bignami E, D'Avolio S, Marchetti C, Calabrò MG, Fochi O, Guarracino F, Tritapepe L, De Hert S, Torri G: Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2007 Aug; 21(4): 502-11
153. Bignami E, Biondi-Zoccai G, Landoni G, Fochi O, Testa V, Sheiban I, Giunta F, Zangrillo A: Volatile Anesthetics reduce mortality in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2009 Mar 18 [Epub ahead of print]
154. Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF: Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 1997; 87: 1182-90
155. Frässdorf J, Borowski A, Ebel D, Feindt P, Hermes M, Meemann T, Weber R, Müllenheim J, Weber NC, Preckel B, Schlack W: Impact of preconditioning protocol on anesthetic-induced cardioprotection in patients having coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009 Jun; 137(6): 1436-42, 1442.e1-2. Epub 2009 Feb 23.
156. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G, Kitakaze M, Chiaria P, Paquin S, Cornu C, Lecharny JB, Aussage P, Vicaut E, Pons A, Lehot JJ: Sevoflurane preconditioning with 1-MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br J Anaesth*. 2007 Nov; 99(5): 624-31

157. Jakobsen CJ, Berg H, Hindsholm KB, Faddy N, Sloth E: The influence of propofol versus sevoflurane anesthesia on outcome in 10,535 cardiac surgical procedures. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2007 Oct; 21(5):664-71
158. Ebel D, Mullenheim J, Frassdorf J, Heinen A, Huhn R, Bohlen T, Ferrari J, Sudkamp H, Preckel B, Schlack W, Thamer V: Effect of acute hyperglycaemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin treatment on myocardial ischemic late preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflugers Arch.* 2003 May; 446(2): 175-82
159. del Valle HF, Lascano EC, Negroni JA: Ischemic preconditioning protection against stunning in conscious diabetic sheep: role of glucose, insulin, sarcolemmal and mitochondrial KATP channels. *Cardiovasc Res.* 2002 Aug 15; 55(3): 642-59
160. Kristiansen SB, Lofgren B, Stottrup NB, Khatir D, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, Botker HE, Flyvbjerg A: Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2004 Oct; 47(10): 1716-21
161. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Carr RD, Yellon DM: Preconditioning the diabetic heart: the importance of Akt phosphorylation. *Diabetes.* 2005 Aug; 54(8): 2360-4
162. Tang XL, Takano H, Xuan YT, Sato H, Kodani E, Dawn B, Zhu Y, Shirk G, Wu WJ, Bolli R: Hypercholesterolemia abrogates late preconditioning via a tetrahydrobiopterin-dependent mechanism in conscious rabbits. *Circulation.* 2005 Oct 4; 112(14): 2149-56
163. Li Q, Guo Y, Xuan YT, Lowenstein CJ, Stevenson SC, Prabhu SD, Wu WJ, Zhu Y, Bolli R: Gene therapy with inducible nitric oxide synthase protects against myocardial infarction via a cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *Circ Res.* 2003 April 18; 92(7): 741-8
164. Li Q, Guo Y, Tan W, Stein AB, Dawn B, Wu WJ, Zhu X, Lu X, Xu X, Siddiqui T, Tiwari S, Bolli R: Gene therapy with iNOS provides long-term protection against myocardial infarction without adverse functional consequences. *Am J Physiol Circ Physiol.* 2006 Feb; 290(2): H584-9
165. Bolli R, Li QH, Tang XL, Guo Y, Xuan YT, Rokosh G, Dawn B: The late phase of preconditioning and its natural clinical application – gene therapy. *Heart Fail Rev.* 2007; 12: 189-199

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Privatdozent Dr. med. Jost Müllenheim für die kompetente Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Schlack danke ich zudem für die Überlassung meines Themas.

Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. med. Volker Thämer, in dessen Labor die Arbeit durchgeführt wurde.

Weiterer Dank gilt meinen Mitdoktoranden und Freunden, allen voran Dr. Florian Otto, Dr. Ralf Rulands und Dr. Elke Voß, die ebenfalls zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ein besonderer Dank gilt meiner Frau Janine für die tatkräftige mentale Unterstützung, letzte formale und inhaltliche Korrekturen sowie meinem kleinen Sohn Jannik, der mir gezeigt hat, was mit Willenskraft möglich ist. Beiden danke ich außerdem für ihre Liebe und Geduld.

Zuallerletzt danke ich meinem Bruder Timo, meinen Großeltern und am allermeisten meinen Eltern Ulrike und Ralph, ohne die ALLES nie soweit gekommen wäre und allen zuletzt genannten dafür das es sie gibt.

Lebenslauf

Name: Mirco Bauer
Geburtsdatum: 5. Mai 1976
Geburtsort: Hannover
Nationalität: deutsch
Familienstand: verheiratet

Berufliche Laufbahn

| | |
|-----------------|---|
| Seit 11.03.2010 | Niederlassung als Allgemeinmediziner |
| 20.01.2010 | Facharzt für Allgemeinmedizin |
| 04/09 – 12/09 | Praxis Bauer/Fischer Hannover |
| 01/08 – 03/09 | Praxis Burgwedel |
| 04/04 – 12/07 | Medizinische Klinik II Klinikum Hannover Siloah |
| 11/96 – 03/97 | Rettungsdienst Deutsches Rotes Kreuz Hannover Land |

Ausbildung

| | |
|-------------|---|
| 1997 – 2004 | Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf |
| 1996 | Ausbildung zum Rettungssanitäter |
| 1995 | Allgemeine Hochschulreife am Gymnasium Mellendorf |

Zivildienst

| | |
|-------------|-------------------------------------|
| 1995 - 1996 | Deutsches Rotes Kreuz Mellendorf |
|-------------|-------------------------------------|

Zusatzqualifikationen

A-Diplom bei der Deutschen Akupunktur
Gesellschaft Düsseldorf (in Ausbildung)

Grundkurs Sonographie

Zusatzbezeichnung Rettungsmedizin /
Notfallmedizin

Kurs Psychosomatische Grundversorgung

Manuelle Medizin (in Weiterbildung)

Fortbildung Hautkrebsscreening

Wissenschaftliche Arbeit

November 1999- Januar 2004, Institut für
experimentelle Anästhesiologie, HHU
Düsseldorf: „Additive Effekte von klassischer
und Sevofluran-induzierter
Präkonditionierung in vivo“,

“Sevoflurane confers additional
cardioprotection after ischemic late
preconditioning in rabbits”,
Anaesthesiology 2003; 99: 624-631